

ANÁLISIS QUÍMICO DE COLÁGENO EN PIEL DE COLA DE ATÚN (*Thunnus atlanticus*) EN MEDIO ÁCIDO

CHEMICAL ANALYSIS OF COLLAGEN IN TUNA TAIL SKIN (*Thunnus atlanticus*) IN AN ACID MEDIUM

Moreno Morales, Shailili; Chacón, Ana; Mostue, Maj; Prin, José

Shailili Moreno Morales

smorenom2@uteq.edu.ec

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador

Ana Chacón

Universidad de Oriente, Venezuela

Maj Mostue

Universidad de Oriente, Venezuela

José Prin

Universidad de Oriente, Venezuela

Revista ESPAMCIENCIA

Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Ecuador

ISSN: 1390-8103

Periodicidad: Semestral

vol. 14, núm. 1, 2023

revista@espam.edu.ec

Recepción: 15 Marzo 2023

Aprobación: 28 Junio 2023

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/527/5274499007/>

DOI: https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v14i1.364



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Resumen: El colágeno es la proteína más abundante de origen animal. Esta investigación se realizó con el objetivo de extraer colágeno funcional de la piel de la cola de atún, se utilizó muestras comerciales de Cumaná, Venezuela. Se optimizó el método de extracción en medio ácido, obteniendo colágeno soluble con una concentración de ácido acético del 1,5% y cumpliendo con los estándares de pH establecidos. Se empleó espectrometría de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) se identificaron metales como cobalto, plomo, carbono, níquel, silicio, manganeso, hierro, cromo y cobre, siendo el hierro, manganeso y silicio los más abundantes. Los aminoácidos característicos del colágeno, glicina y prolina, estaban presentes en las muestras. Estas propiedades del colágeno presente en la piel de la cola de Atún pueden contribuir a disminuir la contaminación en zonas costeras y tienen potencial en la producción de colágeno.

Palabras clave: Atún, *Thunnus atlanticus*, colágeno, hidrolizados colagénicos, residuos pesqueros.

Abstract: Collagen is the most abundant protein of animal origin. This research was carried out with the objective of extracting functional collagen from the skin of the tuna tail, using commercial samples from Cumaná, Venezuela. The extraction method in an acid medium was optimized, obtaining soluble collagen with a 1.5% acetic acid concentration and complying with the established pH standards. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) was used to identify metals such as cobalt, lead, carbon, nickel, silicon, manganese, iron, chromium, and copper, with iron, manganese, and silicon being the most abundant. The characteristic amino acids of collagen, glycine and proline, were present in the samples. These properties of the collagen present in the skin of the tuna tail can contribute to reduce pollution in coastal areas and have potential in the production of collagen.

Keywords: Tuna, *Thunnus atlanticus*, collagen, collagen hydrolysates, fish waste.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son macromoléculas poliméricas formadas por unidades estructurales denominadas aminoácidos (AA), y representan un macronutriente esencial para el crecimiento y mantenimiento de las estructuras corporales (Rubio et al., 2017). Las proteínas de origen vegetal ofrecen beneficios para el medio ambiente y también para la salud, sin embargo, tienen menor efecto anabólico que las proteínas animales (Zhang et al., 2019).

Gracias a sus características químicas únicas, el colágeno se ha utilizado en diversos campos de la industria; actualmente tiene aplicaciones muy importantes en materiales biomédicos, en farmacéutica, cosmética y en alimentos, entre otros (Velarde-Rodríguez et al., 2015).

El colágeno nativo procedente de tejidos animales ricos en esta proteína permite obtener hidrolizados colagénicos, cuya ingesta ejerce efecto positivo sobre las patologías osteoarticulares degenerativas y el envejecimiento dérmico (Figures y Basés, 2015).

Es evidente la importancia de la producción de colágeno, ya que es una materia prima óptima para productos cosméticos y farmacéuticos, y también es un componente principal de productos de mayor valor agregado, como los que son aplicados en la ingeniería de tejidos y el tratamiento de heridas. Para estas aplicaciones tradicionalmente se ha empleado el colágeno de origen bovino y porcino, pero ya se han realizado diversos análisis de la utilización de fuentes diferentes como la piel de pescado (Cori et al., 2022). En muchos productos se ha sustituido el colágeno bovino por el de origen marino, ya que tiene mayor disponibilidad en contraposición con el colágeno tradicional de origen bovino (Quintero y Zapata, 2017).

Como proteína estructural, el colágeno es un producto con demanda creciente. La principal fuente de extracción de colágeno ha sido hasta el momento de los residuos del beneficio de especies bovinas y de la piel, huesos y cartílagos de cerdo (Schoenfeld, 2020). Estas fuentes tradicionales de colágeno presentan dificultades y son inapropiadas para muchos grupos religiosos y étnicos, debido a limitaciones socio-culturales. En el caso del judaísmo y el islam se prohíbe el consumo de productos relacionados con el cerdo, y para los hindúes el consumo de productos relacionados con las reses, y también se ven restricciones en su consumo por condiciones de salud, ya que, se teme ante enfermedades como la encefalopatía espongiiforme bovina y la fiebre aftosa (Alvarado-Ortiz, 2021). Otro tipo de limitación son los costos de obtención de colágeno de bovinos, ya que se ve afectado por el alto valor que tiene el levante de este tipo de animales y de la baja productividad en colágeno.

Debido a la problemática anterior, la comunidad científica se ha propuesto investigar y encontrar fuentes alternativas de materia prima para la obtención de colágeno; estudiando aquellas que provienen del medio acuático y a los residuos que generan las empresas procesadoras de pescados, tales como pieles, huesos, vísceras y escamas (Zanfrillo et al., 2022).

El colágeno de piel de pescado ha tomado mucha importancia y, a la vez, se ha convertido en una solución al problema ambiental de las empresas de procesamiento de pescado. En la producción de filete, se generan diferentes residuos, como son la piel, los huesos, escamas, vísceras y cabeza, los que constituyen entre un 50-70% del peso total de la materia prima. Al aumentar la producción de filete es evidente que también habrá un aumento en la generación de residuos (García-Sifuentes et al., 2020).

Estos desperdicios generan grandes problemas ambientales, ya que muchas plantas de procesamiento no realizan un manejo adecuado, por lo que, afectan principalmente a las fuentes de agua. En la mayoría de las plantas que se dedican al procesamiento de pescado, los residuos son enterrados o vertidos a los cuerpos de agua sin ningún tratamiento. Las plantas procesadoras de mayor tamaño los utilizan en la elaboración de harina de pescado y productos de consumo animal. En términos generales, por falta de procesadoras con adecuadas normas ambientales y procesos estandarizados, los residuos son considerados sin ningún valor y manipulados inadecuadamente. Entre los desperdicios, la piel es el de mayor importancia y potencial, ya que constituye aproximadamente el 30% y además es considerada rica en colágeno, por lo cual llama la atención

como fuente de esta proteína (Gómez et al., 2022). El colágeno presente en la piel de los residuos pesqueros, es una proteína importante y aprovechable, como material de armazón que de forma y resistencia estructural. La piel tiene un 74% de colágeno Tipo I (Devlin, 2019).

El *Thunnus atlanticus*, es una especie de atún cuya clasificación científica lo ubica en el reino: Animalia; filo: Chordata; clase: Actinopterygii; orden: Perciformes; familia: Scombridae; Género: *Thunnus* y especie: *atlanticus*. Estos peces tienen características morfológicas que les permiten ser buenos nadadores; con cuerpo fusiforme, cabeza pronunciada en forma de pirámide triangular, y su piel está lubricada con un "mucus" que reduce la fricción con el agua (Saillant et al., 2022). Se encuentra distribuido en todos los mares del mundo, su pesca y consumo es creciente y la industria pesquera no hace uso eficiente de las colas de atún, estas son generalmente desperdiciadas y, con ellas, la piel que las recubre.

Con base en lo expuesto, se realizó un estudio de la extracción de colágeno soluble en ácido acético en la piel de la cola de atún, así como de algunas características químicas de este biomaterial, procesada en las industrias pesqueras asentadas en la ciudad de Cumaná, estado Sucre; lo cual propiciará su uso en la industria como un material tecno-funcional, aportando información para darle valor agregado a estos residuos mediante la obtención de productos como el colágeno o los hidrolizados colagénicos y, de esta manera, impulsar un desarrollo sustentable y redituable, en un futuro cercano, de estos desechos que representan hasta ahora un pasivo ambiental las zonas costeras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ejemplares de atún comercial del mercado municipal de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, Venezuela. Seleccionando los de edad adulta (longitud entre 70 y 90 cm, medidos desde la boca hasta la aleta caudal). Para la extracción del colágeno se procesaron las pieles de tres colas, cortando y separando los residuos de tejido muscular, por raspado con un cuchillo, luego fueron cortadas, lavadas con agua destilada, y guardadas bajo refrigeración (5°C, 24h).

La investigación experimental optimizó el método extracción del colágeno (Córdova y Solari, 2015). Se lavaron 6 muestras de piel de 3,0 g c/u con dos porciones de 20 mL de solución de NaCl 0,15 mol/L, tres de estas muestras se suspendieron c/u en 30 mL de ácido acético 1,5 %v/v, mientras que las otras 3 se suspendieron en el mismo volumen de solución de ácido acético, pero de concentración 5,0 % v/v, y se refrigeraron a 5 °C por 48 horas. Todas las soluciones se filtraron y los residuos insolubles se extrajeron secuencialmente (4 veces) por 24 horas. Se reunieron los filtrados y el colágeno se precipitó con NaCl 2,0 mol/L. La separación del colágeno soluble en ácido se realizó por centrifugación (T: 20°C - 5°C, 5 min a 2000rpm). De esta forma se obtuvo el colágeno nativo, manteniéndose bajo refrigeración hasta su purificación.

Los diferentes extractos colagénicos se dializaron utilizando papel celofán incoloro sumergido en agua destilada fría (10°C), utilizando un sistema de mezclado continuo con agitador magnético (1000 rpm) durante 4 horas, y cambiando el agua cada hora; se monitoreó el contenido salino del agua del lavado por reacción con AgNO₃. Las muestras purificadas se guardaron bajo refrigeración para los análisis posteriores.

Se determinó el % de humedad y los residuos sólidos por gravimetría. El pH se midió con un pHmetro, marca Denver modelo Ultra Basic, y el análisis por ICP-OES, con un espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente, marca Perkin Elmer modelo Optima 5300 DV.

El colágeno se hidrolizó mediante reflujo por una hora a 100°C, con HCl 19,0 % v/v. El hidrolizado se refrigeró para realizar análisis de aminoácidos por cromatografía de papel, e identificar glicina y prolina en las muestras por comparación de los factores de retención (Rf) experimentales con los teóricos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La piel se extrajo bajo dos concentraciones diferentes de acidez (1,5 y 5,0% v/v) y se realizaron 4 extracciones sucesivas (una por 48 h y las otras cada una por 24 h). Durante las primeras 48 horas del proceso se produjo un hinchamiento, causado por la separación entre el colágeno y el resto del tejido de la piel, con CH_3COOH . Los solventes ácidos diluidos son usados en la metodología básica de Sykes y Bailey (1971), siendo el acético, clorhídrico o la solución amortiguadora de citrato, los más utilizados para disolver la mayor parte del colágeno nativo, aunque se limita a la porción de colágeno no entrecruzado, con excepción de las fibras entrecruzadas, que pueden estar prevalentes debido a su labilidad frente al pH del solvente (3.0), el cual disocia a dichos enlaces y por efectos de las fuerzas repulsivas de las cadenas de la triple hélice, causan el hinchamiento de las estructuras fibrilares (Zhao et al., 2021). En esta investigación se logró extraer el colágeno nativo de la piel de atún en CH_3COOH diluido (1,5 y 5,0% v/v). Por lo tanto, se solubilizó el colágeno con ácido acético 1,5% v/v y de modo contrario con concentraciones más altas, 5,0% v/v se debilitaron las uniones hidrófobas dentro de la triple hélice o tropocolágeno, ya que estas interacciones entrecruzadas son menos lábiles que aquellas encontradas en el exterior de estas fibras y quedaron sujetas a la alta concentración del solvente de extracción. Con base en esto, se puede inferir que el extracto colagénico con mayor porcentaje fue el extraído con CH_3COOH diluido a 1,5% v/v.

En el extracto colagénico obtenido con CH_3COOH al 5,0% v/v, en primer lugar, se precipitó menor cantidad con respecto al colágeno extraído a 1,5% v/v y se solubilizó en agua a temperatura ambiente formando un gel con mucha facilidad; esto se debe a que al aumentar la concentración de ácido se originó una posible desnaturalización parcial del colágeno. Cuando este proceso ocurre, la triple hélice α pierde su estructura helicoidal por la disociación de los enlaces de hidrógeno entre las cadenas polipeptídicas (Vitale et al., 2019).

En el proceso de obtención de los extractos colagénicos, solubles en ácido acético (CH_3COOH) a 1,5 y 5,0% v/v, se tomaron en cuenta varias consideraciones. Los métodos utilizados habitualmente para la separación de proteínas puras se basan en su distinta solubilidad a determinadas condiciones: concentración de reactivos, temperatura, pH próximo o alejado de su punto isoeléctrico y la fuerza iónica del medio, de modo que, por regla general se favorece la eliminación de materiales no colagenosos, que pueden interferir en el proceso.

En este estudio los residuos no colagenosos fueron removidos de la materia prima con lavados de solución de hidróxido de sodio 0,1 mol/L, previo a la extracción de la muestra. Otros trabajos de investigación han reportado lavados con las mismas soluciones variando el tiempo de exposición y la concentración de la base (Quintero y Zapata, 2017).

El promedio del porcentaje de humedad obtenido para los extractos colagénicos de 1,5 y 5,0% v/v en ácido acético se observa en el Cuadro 1, así como el % de residuos y pH.

CUADRO 1.
Contenido de agua y de materia seca del colágeno de la piel de la cola *T. atlanticus* soluble en ácido acético.

Concentración del CH ₃ COOH (% v/v)	Repetición en la medida	% humedad	% residuos sólidos	pH
1,5	1	92,420	7,58	3,39
	2	88,480	11,52	
	3	89,260	10,74	
Promedio	-	90,053	9,937	-
5,0	1	89,330	10,670	2,55
	2	91,150	8,850	
	3	92,433	7,567	
Promedio	-	90,971	9,029	-

Igual que en los alimentos, la determinación del contenido de agua, analíticamente llamado humedad, es uno de los análisis más importantes, utilizados en el proceso y control de productos de origen natural para su comercialización, debido a que se garantiza su estabilidad. Se determina por la pérdida de la masa que sufre el alimento cuando se somete a una combinación de tiempo y temperatura, y el material que se obtiene se conoce como residuo sólido. El porcentaje de humedad varía entre un 60 y 95% en los alimentos naturales (Tirado et al., 2015).

El promedio del porcentaje de humedad obtenido para los extractos colagénicos de 1,5 y 5,0% v/v en ácido acético fue de 90,053 y 90,971% respectivamente (Cuadro 1), estos resultados son similares a los reportados para diferentes tipos de alimentos naturales (Tirado et al., 2015) e hidrolizados de colágenos de origen marino (Daza y Rodríguez, 2017).

Existe mayor porcentaje de humedad en el producto que se extrajo a concentración de ácido 5,0% v/v y esto implica que contiene menor cantidad de residuos sólidos (9,029%), mientras que el colágeno que se solubilizó en ácido con menor concentración presentó mayor porcentaje de materia seca (9,937%) y menor porcentaje de humedad.

Por otro lado, el pH y la fuerza iónica son factores muy importantes que pueden afectar esta solubilidad del colágeno, es decir, se debe tener en cuenta que la solubilidad del colágeno es generalmente mínima a pH isoeléctrico (6,6) y aumenta en torno a este punto al aumentar o disminuir el pH del medio. Por otro lado, esta proteína es soluble a fuerza iónica baja, mientras que precipita a fuerza iónica elevada (Devlin, 2019).

Entre los requisitos fisicoquímicos del colágeno según la Norma Técnica Colombiana, NTC 3750 (1995) para uso cosmético, el pH requiere valores de 3-4, por lo que el colágeno extraído con ácido acético 1,5% v/v de la piel de cola del *T. atlanticus* satisface esta norma, que es la mínima que debe cumplirse para aplicarse en productos cosméticos. El pH del colágeno extraído con ácido acético a 1,5% v/v fue 3,39 y el 5,0% v/v de 2,55, el primero presentó insolubilidad en agua y el segundo fue parcialmente hidrosoluble. Esta condición se debe a que el colágeno obtenido a 5,0% v/v se encontró más alejado del pH isoeléctrico (Devlin, 2019). Esta proteína tiene gran importancia en la industria farmacéutica y cosmética para la prevención y tratamiento de arrugas, en la producción de parches para heridas y en el desarrollo de medicamentos con liberación de los principios activos.

Análisis elemental cualitativo del colágeno por Espectroscopia de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICPOES)

El término “metal pesado” se refiere a aquellos metales de la tabla periódica cuya masa específica es superior o igual a $5,0 \text{ g/cm}^3$ cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20, excluyendo generalmente a los metales alcalinos y alcalino-térreos (Londoño-Franco et al., 2016). El término resulta impreciso si se tiene en cuenta las propiedades físico-químicas de los elementos, especialmente las propiedades iónicas que definen la capacidad de acomplejamiento y las propiedades biológicas. La denominación de metal pesado puede ser utilizada para referirse de forma global a cualquier metal que sea contaminante ambiental. Junto a estos, hay otros elementos químicos que, aunque son metaloides, se suelen clasificar como metales pesados por presentar orígenes y comportamientos asociados, como el caso del astato y antimonio (Cazorla et al., 2022).

En los seres vivos, se diferencian dos grupos de metales pesados: los esenciales y no esenciales, aunque el límite entre ambos grupos no está claramente delimitado y la lista de elementos biológicamente importantes aumenta con el tiempo (Heredia, D. R., 2021). Se reconocen como elementos esenciales al: Fe, Mn, Zn, Cu, Co y Mo, como elementos beneficiosos al Ni y Cr, y se consideran que no tienen ninguna función biológica elementos como: Cd, Hg, As y Pb (Duguma y Janssens, 2021). Los metales pesados, ya sean esenciales o no, pueden llegar a ser tóxicos cuando su aporte es excesivo y afectan negativamente el crecimiento y reproducción de los organismos, pudiendo causarles incluso la muerte (Céspedes et al., 2022).

Según el análisis cualitativo por ICP-OES se encontró presencia de Co, Pb, Cd, Ni, Si, Mn, Fe, Cr y Cu y ausencia de los elementos Hg, Zn y Al en las muestras de colágeno.

De igual manera, el análisis cualitativo de metaloides (Al), metales (Zn, Pb, Co, Cd, Cr, Hg, Ni, Fe, Cu, Mn) y no metales (Si) realizado al colágeno extraído con los dos tratamientos, permitió determinar la presencia de algunos elementos en las dos muestras de colágeno extraída (Cuadro 2).

CUADRO 2
Análisis cualitativo por ICP-OES de varios elementos en colágeno de la piel de la cola de atún (*T. atlanticus*) en ácido acético.

Elemento	Colágeno soluble en CH ₃ COOH (1,5% v/v)	Colágeno soluble en CH ₃ COOH (5,0% v/v)
Zn	-	-
Pb	+	+
Co	+	+
Cd	+	+
Ni	+	+
Fe	+	+
Si	+	+
Hg	-	-
Mn	+	+
Cr	+	+
Cu	+	+
Al	-	-

Esta investigación muestra que, a través de la extracción del colágeno se puede deducir que la piel contiene los elementos determinados y que fueron solubilizados durante el proceso de extracción con ácido acético 1,5 y 5,0% v/v. No se puede referir el grado de toxicidad solo con este análisis cualitativo, ya que sería necesario cuantificar estos metales y compararlo con los estándares permitidos por las normas nacionales e

internacionales para metales pesados. No se encontraron referencias bibliográficas sobre determinación de elementos en colágeno de organismos acuáticos para comparar estos resultados.

El hierro es un elemento esencial para el funcionamiento de órganos y tejidos de animales superiores, incluyendo peces, debido a su papel importante en el transporte de oxígeno y la respiración celular. Los peces pueden absorber hierro soluble del agua por la membrana branquial y la mucosa intestinal (Rodríguez y Botero, 2015). Sin embargo, debido a las bajas concentraciones de hierro soluble, el alimento es considerado como la mayor fuente de hierro para los peces en aguas naturales (González-Acosta y Rosado-Puccini, 2022). Algunos residuos de vasos capilares quedan adheridos a la piel durante el proceso de limpieza, y con ello el hierro detectado en las muestras de colágeno.

El hierro, también tiene una función de mayor importancia en la síntesis del colágeno. En otras proteínas raramente se encuentran residuos de los aminoácidos hidroxiprolina e hidroxilisina, pero sí se hallan en el colágeno. Se ha demostrado que estos aminoácidos especiales no se incorporan al colágeno durante la síntesis proteica, sino que se producen por acción de la prolilhidroxilasa en presencia de α -cetoglutarato, Fe^{+2} , O_2 y ácido ascórbico. El carbono δ de un residuo de lisina puede ser hidroxilado en una reacción catalizada por la lisilhidroxilasa, dando un residuo hidroxilisina en una reacción muy similar a la hidroxilación de la prolina. Esto es necesario para que tenga lugar el extenso entrecruzamiento que se producen en las fibras de colágeno mientras se ensamblan en el espacio extracelular. La hidroxilisina se encuentra tanto en la región helicoidal como en las pequeñas zonas no helicoidales terminales, donde tiene un importante papel en la formación de interacciones cruzadas intermoleculares (Salvador-Clavell, 2020).

Con respecto al silicio (Si), este es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre. La evidencia de este en diferentes estudios de tejidos sugiere que el silicio es importante en la formación de los huesos de los animales. Además, las investigaciones veterinarias y con animales de laboratorio, han arrojado como resultado que este elemento es necesario para la síntesis del colágeno, pero se desconoce aún el mecanismo por el cual lo efectúa, ya que no existe hasta ahora interés en este sentido (Ríos et al., 2020). La presencia del silicio en la piel del *T. atlanticus* es un indicio de la importancia que debe tener este elemento en la estructura molecular del tejido en estudio.

Algunos organismos como por ejemplo la esponja *Tethya aurantia*, son llamadas esponjas silíceas, ya que depositan sílice en espículas que le dan soporte y la defienden contra depredadores; por ello se podría inferir que el *T. atlanticus* también podría contener en su estructura de su piel silicio unido al colágeno para producir un polímero parecido a los polisiloxanos, comercialmente conocidos como siliconas, este tipo de polímero está formado por oxígeno, silicio y como grupos laterales, radicales orgánicos diversos. Los enlaces silicio-oxígeno son fuertes y la cadena que forman es muy flexible lo que explicaría en buena medida las propiedades de estos polímeros (Miraldo, 2018). El colágeno es una proteína con características especiales que sirve de soporte, protección y fuerza a los tejidos donde se encuentra. La piel es el tejido de mayor longitud que se encuentra en el *T. atlanticus* y sus características físicas varían dependiendo de la zona corporal del pez, por ejemplo, el área de la cola es densa en comparación con la del estómago, por lo tanto, tendrán funciones distintas en este organismo (Salas y del Río, 2018).

El Mn es uno de los metales que también se encontró en las muestras de colágeno. Su presencia es muy importante en la síntesis del mismo. Es el cofactor metálico que junto a las enzimas glucosil y galactosil transferasas producen los enlaces entre los restos de hidroxilisina, con una unidad de un disacárido formado por un residuo de glucosa que está unido por un enlace ($1\alpha \rightarrow 2$) a un residuo de galactosa. La galactosa, a su vez, está acoplada a un grupo hidroxilode la hidroxilisina por un enlace glucosídico $1-\beta$. Aunque la acción de estos disacáridos en la molécula de colágeno es todavía desconocida, se cree que interviene dirigiendo la ordenación de las fibrillas (Salvador-Clavell, 2020).

Entre los metales pesados que generarían mayores problemas de toxicidad se encuentran: Cd, Cr, Pb, Hg, Ni y Zn. Estos elementos pesados a nivel de los peces, pasan al agua, son absorbidos por los microorganismos del plancton o las algas y de ahí a los peces pequeños, y así al de mayor tamaño que se comen a los pequeños.

Cuando consumimos pescados contaminados los metales que contienen llegan de este modo a nuestro organismo (Cazorla et al., 2022).

Según el análisis de ICP, el mercurio, cinc y aluminio no se encontraron presentes en los extractos colagénicos. Es muy importante esta observación debido a que el Zn y el Hg, generarían toxicidad si estuvieran presentes en altas proporciones. El Co, se considera un elemento esencial y es importante porque cumple varias funciones biológicas, mientras que el Pb y Cr, son elementos no esenciales, por lo tanto, su toxicidad dependerá de su evaluación cuantitativa. Con relación a este trabajo de investigación se puede señalar que la piel y por ende el colágeno del *T. atlanticus* contiene casi todos los elementos químicos analizados. El atún es un pez que crece de gran tamaño por lo que al consumir peces pequeños que habitan en aguas que contienen elementos químicos, esto ocasionaría la bioacumulación de los mismos por efecto de su magnificación. A efectos del consumo humano, el contenido de metales en peces se encuentra regulado. Entre los organismos internacionales que norman estos parámetros en peces se encuentra el Codex Alimentarius, según Alinorm 93/18 (Fernández y Ghiazza, 2015).

Análisis cuantitativo de plomo (Pb) por ICP-OES

En el cuadro 3, se encuentran los niveles de plomo, reportados como el promedio de tres mediciones por muestra, de los extractos colagénicos obtenidos en ácido acético 1,5 y 5,0% v/v.

CUADRO 3
Análisis cuantitativo de plomo (ppb) por ICP-OES en los extractos colagénicos solubles en ácido acético 1,5 y 5,0% v/v

Longitud de onda Pb (220,353 nm) $\mu\text{g}/\text{kg}$ de colágeno	
CH ₃ COOH 1,5% v/v	CH ₃ COOH 5,0% v/v
0,0851 +/- 0,0001	0,1058 +/- 0,0001

Según la FAO/OMS del Codex Alimentarius Comisión el nivel límite de Pb es de 0,1 mg/kg en tejido muscular de atún, mientras que el de la Unión Europea (Reglamento, CE N° 1881/2006 modificado por el CE N°629/2008) es de 0,3 mg/kg y de 0,5 mg/kg, adoptado por la mayoría de los países para el consumo humano. Estos límites no se pueden comparar con los que se obtuvieron en este estudio, ya que los valores de plomo están reportados en función de los Kg de colágeno y no del tejido.

A pesar que no existen referencias bibliográficas científicas, con respecto a los niveles de plomo en el colágeno de piel de peces, al hacer la comparación con los niveles de Pb del tejido muscular según todas las normas mencionadas anteriormente, se pudo observar que en ambas muestras estudiadas (1,5 y 5,0% v/v) los valores fueron 0,0851 y 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente, los cuales estuvieron muy por debajo de los límites reportados, esto quiere decir, que a pesar de que el plomo es extraído desde la piel hacia el colágeno, no representa un potencial problema de toxicidad y este material podría ser utilizado como un producto a nivel farmacológico, cosmetológico o en cualquier otra área clínica que se ha venido evaluando.

Cromatografía de papel

En la cromatografía radial sobre papel de filtro realizada a las dos fracciones de colágeno, se observaron dos manchas significativas, una de color rosa-lila intensa, y la otra de color amarillo pálido, correspondientes a glicina y prolina respectivamente (Cuadro 4).

CUADRO 4
Comparación de los Rf de los aminoácidos patrones y de los colágenos

Aminoácido	Rf patrones	Rf colágeno 1,5% v/v	Rf colágeno 5,0% v/v
Glicina	0,38	0,30	0,28
Prolina	0,50	0,48	0,42

El desarrollo de la cromatografía radial sobre papel de filtro realizada a las dos fracciones de colágeno (1,5 y 5,0% v/v en ácido acético), permitió observar dos manchas significativas, una de color rosado-lila intensa, y la otra de color amarillo pálido. La primera mancha identificada corresponde a la glicina, por ser este el aminoácido que se encuentra en mayor cantidad en el colágeno y que es determinante en la caracterización de la proteína. Así mismo, la mancha de color amarillo corresponde a la prolina, evidenciando que posiblemente en la secuencia repetitiva de la cadena polipeptídica G-X-Y (Devlin, 2019) aminoácido X puede ser la prolina.

Los Rf de la prolina fueron: 0,5; 0,48 y 0,41 para: el patrón, colágeno soluble en ácido acético 1,5% y colágeno soluble en ácido acético 5,0% v/v, respectivamente. Esta ligera variación puede deberse a que el colágeno de los tejidos tiene diferentes comportamientos en el medio, por lo tanto, un componente puede tener mayor o menor polaridad con el solvente dependiendo de la pureza del colágeno (Matsuhira y Meza, 2019).

CONCLUSIONES

Se optimizó el proceso de extracción del colágeno de la piel de la cola de atún (*T. atlanticus*), obteniendo las mejores propiedades fisicoquímicas del colágeno cuando se usa para la extracción ácido acético al 1,5% v/v y la precipitación con NaCl a 2,0 mol/L, en lugar del uso de ácido acético 5,0% v/v.

El colágeno soluble en CH₃COOH 1,5% v/v presentó menor % de humedad y mayor contenido de residuos sólidos, así como también un pH apropiado para ser usado como producto cosmetológico según las NTC.

El análisis cualitativo de elementos encontrados por ICP-OES (Fe, Mn, y Si), muestra que pueden estar acumulados en la piel para realizar algunas funciones básicas propias del colágeno. Mientras que el contenido de plomo no presentó valores que indicaran toxicidad, según los estándares de calidad.

Con base en la cromatografía radial de papel se identifican los aminoácidos glicina y prolina en ambas muestras, lo que indica que se extrajo colágeno en la piel del *T. atlanticus* y con posible secuencia repetitiva de los aminoácidos Gly-Pr-Y, en la estructura base del colágeno.

Finalmente, la obtención de colágeno a partir de residuos, como la piel, provenientes del procesamiento del pescado, puede ser aprovechado para beneficiar a la industria de alimentos, cosmetológica y aquellas dedicadas a la elaboración de materiales biomédicos, de esta manera los pasivos ambientales derivados de las empresas atuneras podrían originar productos de mayor valor agregado y a la vez, solucionar un problema de contaminación.

LITERATURA CITADA

- Alvarado-Ortiz Ureta, C. 2021. Las religiones: Su influencia en la alimentación.
- Cazorla, D., Gaibor, L., López, J., Medina, Y., y Perlaza, L. 2022. El enfoque ecosistémico en salud humana como estrategia para el abordaje metodológico del estudio de las relaciones entre el ambiente agrícola, los metales pesados y la salud humana. *UTCiencia" Ciencia y Tecnología al servicio del pueblo"*, 9(1):27-46.
- Córdova, J., & Solari, A. 2015. Extracción de colágeno proveniente de residuos del procesamiento de *Engraulis ringens* "Anchoveta".
- Cori, V. L. M., Mendieta, S. G. V., y Lizarraga, G. A. C. 2022. Producción de hidrogeles para la cicatrización de heridas superficiales de la piel. Encuentro Internacional de Educación en Ingeniería.
- Daza, T., y Rodríguez, W. 2017. Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima delvolase. *Anales Científicos*, 78 (2):251-259.
- Devlin, T. 2019. *Bioquímica con aplicaciones clínicas* (quinta ed.). Barcelona: Reverté.
- Duguma, B., y Janssens, G. P. 2021. Comparative evaluation of mineral status of soils under waterlogging and non-waterlogging grazing lands during the main rainy season in Jimma, Oromia Regional State, southwestern Ethiopia. *Arabian Journal of Geosciences*, 14(16):1-12.
- Fernández, L. E., y Ghiazza, A. E. 2015. Desarrollo de producto envasado a base de pescado (Doctoral dissertation, Universidad Argentina de la Empresa).
- Figures, T. y Basés, E. 2015. Revisión de los efectos beneficiosos de la ingesta de colágeno hidrolizado sobre la salud osteoarticular y el envejecimiento dérmico. *Nutrición Hospitalaria*, 32 (1): 62 – 66.
- García-Sifuentes, C. O., Scheuren-Acevedo, S. M., y Zamorano-Apodaca, J. C. 2020. Explorando diferentes subproductos considerados como residuos por la industria pesquera en México. *Biotecnía*, 22(2):61-69.
- Gómez, G. D. C. J., Lara, L. M., y Valenzuela, M. M. 2022. Categorización de residuos de pescado para la elaboración de subproductos de valor agregado. *Revista Ingenieros*, .(1):1.
- González-Acosta, J. A., y Rosado-Puccini, R. 2022. Composición del sedimento del sistema afluente-laguna de oxidación-efluente, en una granja intensiva de *Oncorhynchus mykiss*. *Revista de Medicina Veterinaria*, (44):47-59.
- Heredia, D. R. 2021. Metales pesados y salud. *Correo Científico Médico*, 25(4).
- Londoño-Franco, L.F., Londoño-Muñoz, P. T. and Muñoz-García, F. G. 2016. "Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal," *Biotecnología en el Sect. Agropecu. y Agroindustrial*, 14 (2): 145.
- Matsuhira, B., y Meza, R. E. 2019. Determinación por cromatografía de aminoácidos en *Iridaea ciliata* e *Iridaea laminarioides*.
- Miraldo, A. 2018. *Biomateriais bio-inspirados à base de sílica para aplicações biomédicas em tecidos duros* (Doctoral dissertation, Universidade de Coimbra).
- Quintero, J., y Zapata, J. 2017. Optimización de la extracción del colágeno soluble en ácido de subproductos de Tilapia roja (*Oreochromis spp*) mediante un diseño de superficie de respuesta. *Información Tecnológica*, 28 (1): 109 – 120.
- Ríos, E. A., Vega-Baudrit, J. R., Villegas, J. G., y Sánchez, J. A. 2020. Nanoestructuras de Silicio en Biomedicina y Biotecnología. *Momento*, (60): 18-40.
- Rodríguez, J. Z., y Botero, C. M. R. 2015. Aporte de elementos esenciales (Hierro, Cobre y Zinc) en especies de peces del Caribe Colombiano. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 65(Suplemento 2).
- Saillant, E. A., Luque, P. L., Short, E., Antoni, L., Reynal, L., Pau, C., y Hazin, F. 2022. Population structure of blackfin tuna (*Thunnus atlanticus*) in the western Atlantic Ocean inferred from microsatellite loci. *Scientific reports*, 12(1): 1-9.
- Salas, R. G., y del Río, M. M. V. 2018. Piel de cíclidos con utilidad en las quemaduras: perspectivas en la Medicina. *Revista UNIANDES de Ciencias de la Salud*, 1(1):038-052.
- Salvador-Clavell, R. 2020. Efecto de la estimulación mecánica sobre células madre aplicado a la regeneración de cartílago.

- Schoenfeld, P. 2020. Colágeno. Rejuvenece tu piel, fortalece las articulaciones, y siéntete más joven gracias a la dieta que aumenta la producción y el consumo de colágeno. EDITORIAL SIRIO SA.
- Sykes, B. C., y Bailey, A. J. 1971. Molecular weight heterogeneity of the α -chain sub-units of collagen. *Biochemical and biophysical research communications*, 43(2):340-345.
- Rubio Granero, C.; García García, A.; Cardona Serrate, F. 2017. Técnicas básicas de microbiología y bioquímica. Ed. Síntesis. ISBN: 9788490774779.
- Tirado, D. F., Montero, P. M., y Acevedo, D. 2015. Estudio comparativo de métodos empleados para la determinación de humedad de varias matrices alimentarias. *Información tecnológica*, 26(2):03-10.
- Vitale, P., Tasca, J., Bax, M., Flores, A., Politis, G. G., y Valenzuela, L. 2019. Análisis mediante FTIR de la conservación del colágeno y la posible contaminación en muestras óseas del Cuaternario pampeano. *Anales de Arqueología y Etnología*, 74 (2): 169-189.
- Velarde-Rodríguez, M., Beltrán-Acosta, A., Pichardo-Velarde, J., y Amezca-Vega, C. 2015. Extracción de colágeno a partir de pieles de tilapia. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 2 (4): 631-639.
- Zanfrillo, A. I., Maggiore, M., Campins, M., Rampi, M., Darago, A., Pinto Borges, A., y Vieira, E. 2022. Tecnología aplicada a la bioconversión de residuos sólidos de la industria pesquera.
- Zhang, Y.; Geary, T. y Simpson, B. 2019. Genetically modified food enzymes: a review. *Current Opinion in Food Science*, edited by de Menezes, C.R.; 25: 14–18 <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.01.002>.
- Zhao, C., Xiao, Y., Ling, S., Pei, Y. y Ren, J. 2021. Estructura del colágeno. En *Proteínas fibrosas* (págs. 17-25). Humana, Nueva York, NY.