

EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COLÁGENO EN PIEL DE BOVINOS

JUAN DAVID OLARTE PARDO
GERMAN ANDRÉS GALLO MUÑOZ

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE QUÍMICA
BOGOTÁ, D. C.
2020

EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COLÁGENO EN PIEL DE BOVINOS

JUAN DAVID OLARTE PARDO
GERMAN ANDRÉS GALLO MUÑOZ

Proyecto integral de grado para optar al título de:
INGENIERO QUÍMICO

Director:
CLAUDIO RAUL BERNAL BUSTOS
Sc. Doctor en Biotecnología y Seguridad Alimentaria

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ, D. C.
2020

Nota de aceptación

Ingeniero Dany Cárdenas

Ingeniero Orlando Castiblanco

Ingeniero Andrés Mílques

Bogotá D.C, Septiembre del 2020

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCIA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCIA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. MARÍA CLAUDIA APONTE GONZÁLEZ

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretaria General

Dra. ALEXANDRA MEJÍA GUZMAN

Decano de la Facultad de Ingenieras

Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa Ingeniería de Química

Ing. IVÁN RAMÍREZ MARÍN

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

Este logro quiero dedicarlo especialmente a Dios, a mi hermana Diana Olarte, mi hermosa abuela Cristina Pinzón y a mis padres Fabio José Olarte Rodríguez y Lilia Cristina Pardo Pinzón, quienes fueron y han sido el motor que me da la fuerza para salir adelante y luchar por mis sueños, gracias por cada palabra y frase de apoyo, gracias por estar en mis mejores momentos, pero también gracias por estar cuando más los he necesitado, sin embargo no son los únicos que hicieron parte de este gran sueño, quiero agradecer a mis amigos y compañeros que me han acompañado a lo largo de estos 5 años, sin ellos estoy seguro de que no estaría donde estoy ahora.

Juan David Olarte Pardo

DEDICATORIA

Quiero dedicar este triunfo a toda mi familia por ese apoyo incondicional que me han brindado, a mis tíos, tías y primos por sus mensajes de motivación y en especial a mis padres Jairo Gallo y Catherine Muñoz, por darme la oportunidad de poder cumplir este sueño, por su esfuerzo constante de querer sacarme adelante, por sus consejos y por el amor brindado hacia mi persona, Gracias.

German Andrés Gallo Muñoz

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	14
OBJETIVOS	15
MARCO REFERENCIAL	16
1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	26
1.1 RECEPCIÓN DE LA PIEL	26
1.2 CARACTERIZACIÓN DE LA PIEL	26
1.3 OBSERVACIÓN INICIAL	26
1.3.1 Medición de dureza y grosor.	27
1.3.2 Medición de pH.	27
1.3.3 Análisis de Calorimetría Diferencial.	27
1.3.4 Cuantificación de hidroxiprolina	28
1.3.5 Resultados de la caracterización	28
2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COLÁGENO	30
2.1 EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA	30
2.1.1 Hidrolisis Alcalina-Enzimática	30
2.1.2 Uso de la pepsina como agente solubilizante.	32
2.2 EXTRACCIÓN QUÍMICA	34
2.3 EXTRACCIÓN MIXTA	36
2.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN ALTERNATIVOS	38
2.4.1 Ultrasonido.	38
2.4.2 Ultrafiltración.	39
2.4.3 Microfiltración.	39
2.5 SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN	41
2.5.2 Matriz de decisión ponderada.	44
3. DISEÑO DEL ESCALAMIENTO PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN	47
3.1 CASO DE ESTUDIO	47
3.2 ESTUDIO DE MERCADO	48
3.2.1 Selección de público objetivo	48
3.2.2 Análisis de competencia.	49
3.3 ESTUDIO TÉCNICO	50
3.3.1 Localización del proyecto	50

3.3.2 Clase de tecnología	51
3.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	52
3.5 DESCRIPCIÓN DE EQUIPOS	54
3.6 DESCRIPCIÓN DE REACTIVOS	56
3.6.1 Hidróxido de Sodio.	56
3.6.2 Butil Alcohol.	57
3.6.3 Ácido Acético.	57
3.6.4 Cloruro de Sodio.	57
3.7 ORGANIZACIÓN DE LA PLANTA	59
4. ANÁLISIS FINANCIERO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN	62
4.1 ESTUDIO ORGANIZACIONAL	62
4.1.1 Selección de nómina.	62
4.1.3 Pagos de nómina.	63
4.2 ESTUDIO FINANCIERO	64
4.2.1 Costos de materia prima.	64
4.2.2 Costos de inversión de equipos.	65
4.3 VPN y TIR	67
4.4. FLUJO DE CAJA	69
5. CONCLUSIONES	72
6. RECOMENDACIONES	73
BIBLIOGRAFÍA	74
ANEXOS	81

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Pieles de bovino antes del curtido.	16
Figura 2. Triple hélice del Colágeno, tipo I, II y III.	18
Figura 3. Estructura de la molécula de colágeno, a) forma de triplete presente en las matrices colágenas, b) tropocolágeno, c) triple hélice, d) modelo del cuarto alternado penta fibrilar, cada flecha corresponde a moléculas de tropocolágeno.	19
Figura 4. Estructura de la prolina y la Hidroxiprolina.	20
Figura 5. Fibras de colágeno tipo I y II.	22
Figura 6. Mapa conceptual, métodos de extracción de Colágeno.	30
Figura 7. Reacciones en serie, Hidrolisis proteolítica.	32
Figura 8. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno por vía Enzimática.	34
Figura 9. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno por vía Química.	36
Figura 10. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno por vía Mixta.	38
Figura 11. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno utilizando equipos de Asistencia.	40
Figura 12. Diagrama de procesos de extracción de Colágeno.	52
Figura 13. Balance global de materia del proceso de extracción de Colágeno.	54
Figura 14. Diagrama PFD del proceso de extracción de Colágeno.	60
Figura 15. Diagrama de ilustración para el cálculo del VPN.	68
Figura 16. Diagrama de ilustración para el cálculo de la TIR.	69
Figura 17. Flujo de caja del proyecto.	70

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Resultados de la caracterización de la patente de Belichón.	29
Tabla 2. Rendimiento en la Extracción de Colágeno, a partir de cada método.	41
Tabla 3. Ítems de Calificación en la matriz de decisión	43
Tabla 4. Matriz de decisión ponderada.	44
Tabla 5. Precios de venta Colágeno Hidrolizado.	50
Tabla 6. Ítems de calificación en cuanto a la localización, servicios y adquisición de materia prima.	51
Tabla 7. Tipos de Durometro, Marca y precio.	56
Tabla 8. Tipos de pH metro, marca y precio.	56
Tabla 9. Costos de reactivos para proyección a planta piloto	58
Tabla 10. Cotización según riesgo, ARL 2020.	64
Tabla 11. Costos de equipos de Inversión.	65
Tabla 12. Tabla de Amortización del proyecto	67

GLOSARIO

AMINOÁCIDOS: son las unidades básicas que forman las proteínas. Su denominación responde a la composición química general que presentan, en la que un grupo amino (-NH₂) y otro carboxilo o ácido (-COOH) se unen a un carbono alfa (-C-). Las otras dos valencias de ese carbono quedan saturadas con un átomo de hidrógeno (-H) y con un grupo químico variable al que se denomina radical (-R).¹

COLÁGENO: es la proteína más abundante presente en el cuerpo humano, representando casi el 25% de la proteína total del cuerpo.²

HIDROXIPROLINA: la hidroxiprolina (OH-Pr) es un aminoácido no esencial que se sintetiza a partir de la prolina en el tejido colágeno, constituyendo un 13 % del contenido total de aminoácidos de dicho tejido.³

NUCHE: el nucho es la larva de una mosca, científicamente conocida como *Dermatobia cyaniventris* que evoluciona en el tejido subcutáneo de mamíferos.⁴

PEPSINA: la pepsina es una proteína de carácter y función enzimática que se encarga de hidrolizar las proteínas ingeridas en el estómago, se considera endopeptidasa porque rompe proteínas y las transforma en peptidasas.⁵

¹ AULA VIRTUAL DE BIOLOGÍA. Los aminoácidos. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (A) de la Universidad de Murcia [en línea]. [Consultado 01, julio, 2020]. Disponible en <https://www.um.es/molecula/prot02.htm>

² ELSEVIER CONNECT. Colágenos: tipos, composición, características y distribución en tejidos. [en línea]. [Consultado 01, julio, 2020]. Disponible en [<https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/colagenos-tipos-composicion-distribucion-tejidos>]

³ HERNÁNDEZ. Mercedes, MORALES Ligia. Importancia de la determinación de hidroxiprolina urinaria en diferentes patologías óseas.

⁴ TORRES. Alvaro. El Nucho. Periódico EL TIEMPO. [en línea] 22 de febrero 1994. Disponible en: (<https://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-50930>).

⁵ SEGOVIA, Belén. REDONDO, Nicolás. RUANO, Paula. PEPSINA. [en línea]. Universidad de Alcalá. [Consultado 01, julio, 2020]. Disponible en <http://www3.uah.es/chemevol/index.php/pepsina/>

RESUMEN

Las pieles bovinas son utilizadas como materia prima en la industria de curtiembres para aplicación en industrias textiles, sin embargo, la preparación de estas pieles implica una serie de productos contaminantes que afectan consecutivamente el ambiente. Extraer colágeno de la piel de bovinos puede plantearse como una alternativa a la de curtición del cuero, con el fin de lograr generar menos residuos y garantizar otra aplicación para la piel bovina. Existen diferentes metodologías para obtener colágeno, el cual por medio de una matriz de decisión y algunos ítems de evaluación como la eficiencia, los costos de equipos y reactivos, tiempo e impacto ambiental, se llegó a concluir que la mejor ruta de obtención de colágeno fue el método químico, puesto que mostro mejores calificaciones frente a los ítems de evaluación planteados, además es considerado como un método más rápido y más económico, sin embargo el rendimiento de extracción que se obtuvo en pieles bovinas según la literatura fue de un valor cercano al 11%.

Palabras clave: colágeno nativo, extracción, método químico, piel animal, planta piloto.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo busca promover una mayor aplicación a la piel de bovinos, ya que, actualmente los cueros y pieles bovinas sin incluir el cuerno, son utilizadas por empresas de curtiembres esto con el fin de obtener productos y ser comercializados en mercados nacionales e internacionales. Si bien es cierto era un negocio rentable años atrás, pues Colombia se perfilaba a ser uno de los mejores exportadores de pieles en Latinoamérica a países europeos que las demandaban, con el pasar de los años las pieles fueron perdiendo calidad y se fue introduciendo la idea de producir cueros sintéticos para la fabricación de textiles, lo que causó una disminución en la venta y comercialización de pieles al exterior. Las pieles utilizadas para empresas de curtiembres suelen representar una gran contaminación debido al uso de químicos que contienen metales pesados, ácidos y bases fuertes, además de solventes y productos tamponados. Por esta razón se desea evaluar la extracción de colágeno como subproducto de la piel bovina, ya que, así las pieles aglomeradas y desechadas a causa de la disminución en la exportación de estas, podría participar y tener una oportunidad de utilizarse en la fabricación de un producto con valor agregado.

El colágeno es una proteína constituyente de los tejidos conjuntivos, como la piel, los tendones y el hueso, es la proteína más abundante del organismo. Se caracteriza principalmente por su notable resistencia, a nivel industrial el colágeno llega a tener una amplia variedad de usos, ya sea en el campo médico, cosmético, alimenticio entre otros. El propósito de este trabajo es evaluar los distintos métodos de extracción de tal forma en que se pueda determinar el camino más viable y económico para la extracción. Los procesos de extracción más comunes son los que incluyen métodos químicos o enzimáticos, la vía química se caracteriza por ser un proceso económico y por utilizar reactivos tanto ácidos como básicos con el fin de separar y solubilizar las proteínas de colágeno presentes en la piel, mientras que la vía enzimática realiza el proceso de solubilización de fibras de colágeno por medio de enzimas, comúnmente se utiliza la pepsina como agente solubilizante para estos procesos, no obstante se pueden realizar procesos de extracción utilizando en conjunto estos dos métodos nombrados anteriormente, esto se conoce como extracción por vía mixta, usados normalmente para aumentar un poco el rendimiento del producto final. Adicionalmente, estos métodos pueden ser asistidos con técnicas alternativas, capaces de favorecer el rendimiento de extracción, obtener niveles de pureza más elevados y lograr disminuir un poco el impacto ambiental a través de la reducción del consumo de solventes y la generación de menos residuos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar técnico-financieramente la extracción de colágeno obtenido de piel de bovinos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la caracterización de la materia prima a partir de una revisión bibliográfica.
- Seleccionar el método de extracción de colágeno.
- Diseñar el escalamiento del proceso de extracción de colágeno.
- Realizar un análisis financiero del proceso de extracción de colágeno.

MARCO REFERENCIAL

MATERIA PRIMA

Si bien para la extracción de colágeno se utilizan varias especies animales, solo algunas aportan rendimientos de extracción viables en términos económicos, tal como lo menciona Almeida, et al, en el que las principales fuentes de obtención de colágeno son principalmente de origen porcino y bovino⁶, adicionalmente, el uso de la piel bovina como materia prima para el proceso de extracción de colágeno representa una transformación distinta a la que se conoce comúnmente que es la de la industria de las curtiembres, como se puede apreciar en la figura 1.

Figura 1. Piel de bovino antes del curtido.



Fuente: elaboración propia.

Piel Bovina: La piel bovina está compuesta principalmente por tres capas estructurales, la epidermis, dermis y la endodermis o tejido subcutáneo, en estas capas se encuentran los tejidos: epitelial, conjuntivo, muscular y nervioso. En la parte externa de la piel se encuentra la epidermis, esta capa es la encargada de recubrir y proteger la piel, esta capa está formada por epitelio estratificado plano o escamoso y está compuesto por 4 grupos de células principalmente, estas células son queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.⁷ La

⁶ ALMEIDA, P. F. SILVA, et al. Quality assurance and economical feasibility of an innovative product obtained from a byproduct of the meat industry in Brazil. Doi: 10.5897/AJBM2013.6977, African J. Business Management. Vol. 7(27), pp. 2745-756, (2013)

⁷ PALACIOS Julia. Tejidos, membranas, piel, derivados de la piel. [Consultado: el _ de Agosto del 2020]. Disponible en:

zona principal del cuero es la dermis o “corium” la cual representa un 85% del espesor de la piel en bruto, esta se subdivide en dos zonas, la dermis papilar, compuesta principalmente de fibras elásticas, vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas y fibras de colágeno y la dermis reticular compuesta de células conjuntivas y fibras de colágeno oblicuas y más gruesas que las presentes en la dermis reticular. Por último, se encuentra el tejido subcutáneo o endodermis, esta zona es la más cercana a la carne y a los músculos, su función principal es asegurar la adhesión de la piel al cuerpo del animal.⁸

COLÁGENO

El colágeno es una escleroproteína cuyo componente básico son tres cadenas polipeptídicas entrelazadas que dan origen a una estructura de triple hélice, compuesta por aproximadamente 1.050 aminoácidos cada una, la conexión de muchas de estas estructuras de triple hélice forman las fibrillas de colágeno⁹ como se puede apreciar en la figura 2. El colágeno se caracteriza por dar soporte estructural, mejorar la fuerza, la resistencia y flexibilidad de los tejidos, además el colágeno es el mayor componente del tejido animal, ya que debido a la unión de muchas cadenas de triple hélice es insoluble en agua, cada molécula tiene una longitud aproximada de 300 nm, un diámetro de 1.5 nm y un peso molecular de 300 kDa*. El colágeno posee una secuencia específica compuesta por unidades repetitivas de tres aminoácidos, esta unidad repetitiva es Glicina-X-Y, en donde la posición X está ocupada por el aminoácido prolina y en la posición Y generalmente se encuentra el aminoácido hidroxiprolina, en el cual según Colgrave¹⁰ es posible cuantificar la concentración de colágeno a partir de la determinación de hidroxiprolina.

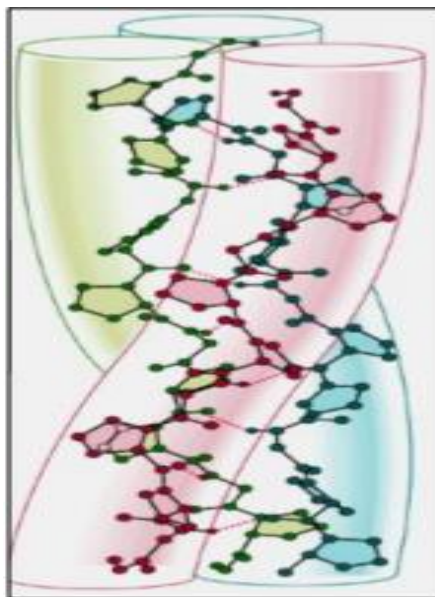
<https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/95/Tejidos%2C%20membranas%2C%20piel%20y%20derivados.pdf?1358605323>

⁸ FRANDSON, R. Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. Piel y estructuras asociadas. 1995. Citado por. ROJAS, Franklin. Estudio económico financiero del aprovechamiento de las grasas extraídas del residuo de descarte “Unche” derivado del proceso de curtiembre en el municipio de Villapinzon-Cundinamarca. 2010. Pág. 26.

⁹ GELITA, Colágeno componente esencial de nuestro cuerpo. [Sitio web]. [Consultado el 27 de septiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.gelita.com/es/conocimientos/colageno/que-es-el-colageno>.

¹⁰ COLGRAVE, Michelle. L. Hydroxyproline quantification for the estimation of collagen in tissue using multiple reaction monitoring mass spectrometry. 2008.

Figura 2. Triple hélice del Colágeno, tipo I, II y III.



Fuente: GELITA, Colágeno componente esencial de nuestro cuerpo. [Sitio web]. [Consultado el 27 de septiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.gelita.com/es/conocimientos/colageno/que-es-el-colageno>.

Estructura del Colágeno

Claudio Mamani¹¹ explica que la estructura del colágeno se encuentra formada por tres cadenas polipeptídicas, donde la estructura primaria corresponde a una repetición de la secuencia glicina, prolina, hidroxiprolina, estructurada en una única hélice denominada cadena (alfa). La combinación de estas tres cadenas (alfa) forma una estructura triple hélice, estabilizadas por puentes de hidrógeno y es conocida como tropocolágeno. Bailey & Light plantean que “El colágeno es una de las pocas proteínas que contiene elevada cantidad de hidroxiprolina, variando en un 12.5% de los tejidos conjuntivos”.¹²

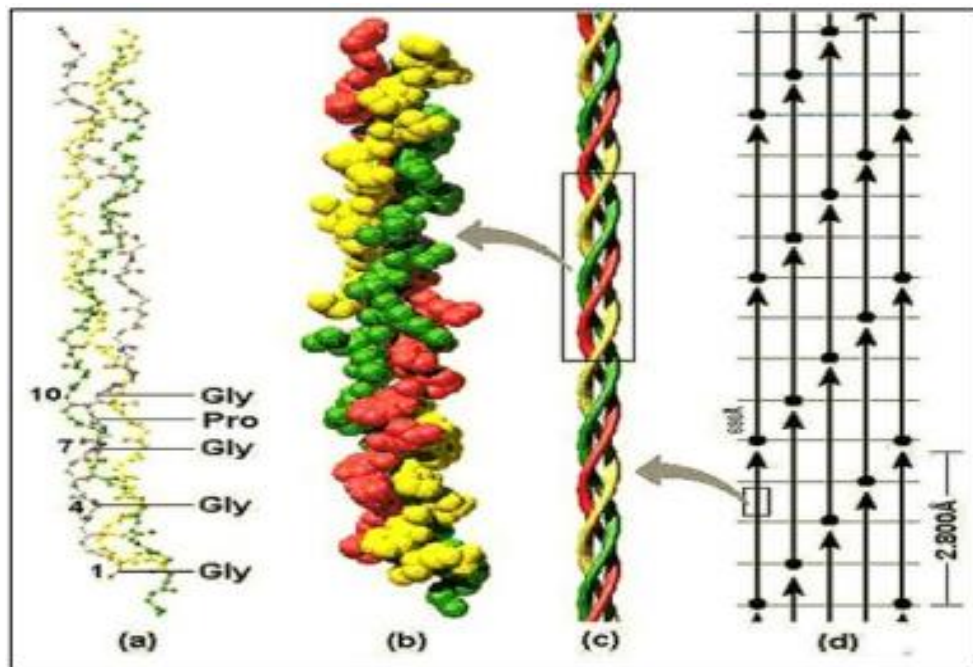
¹¹ MAMANI HUAMÁN, Claudio Alejandro. Obtención de colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Facultad de Ingeniería de Procesos. 2018. Pág. 16.

* KDa: Unidad de masa molecular equivalente a 1.000 daltons. Un Dalton es la décima parte de la masa del átomo de carbono y equivale a $1,66 \times 10^{-24}$ g.

¹² BAILEY, A., y LIGHT, N. Connective tissue in meat and meat products. England. 1989. Citado por. MAMANI HUAMÁN, Claudio Alejandro. Obtención de colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo. 2018. Pág. 16.

El colágeno posee una secuencia de aminoácidos constituida por subunidades de repetición Glicina-X-Y, como se observa en la figura 3, aproximadamente el 35% de las posiciones no ocupadas por la glicina poseen los aminoácidos prolina e hidroxiprolina en las posiciones X y Y, respectivamente. Las extremidades de las cadenas polipeptídicas son globulares, en las que se localizan enlaces de sulfuro intermoleculares estabilizando la estructura de las fibrillas colágenas. El monómero de tropocolágeno de longitud con 1.5 nm de diámetro, permiten que se propicie una alta viscosidad a las soluciones y alta movilidad de los componentes iónicos. El colágeno es el componente más abundante de la piel y de los huesos, constituye un cuarto (25 %) parte de la masa total de las proteínas en los mamíferos, es una proteína estructural, la cual le da resistencia, refuerza, sostiene y da forma a todos los tejidos y órganos.

Figura 3. Estructura de la molécula de colágeno, a) forma de triplete presente en las matrices colágenas, b) tropocolágeno, c) triple hélice, d) modelo del cuarto alternado pentafibrilar, cada flecha corresponde a moléculas de tropocolágeno.

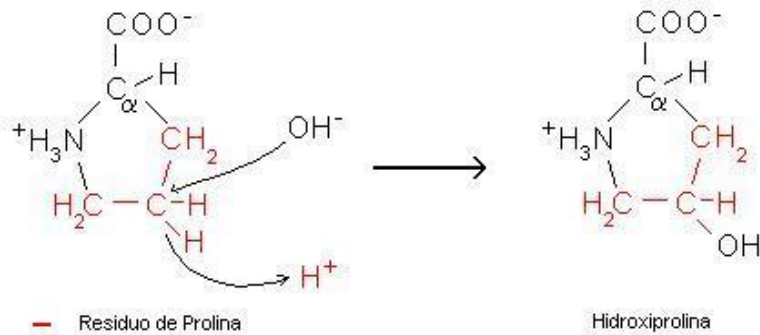


Fuente: SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). Bogotá D.C: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingenierías. 2011. Pág. 5 y 6.

Estructura de las proteínas

El colágeno contiene aproximadamente un 30% de glicina y un 25% de dos aminoácidos especiales. Serrano¹³ explica como la prolina es uno de ellos, el cual posee características parecidas a los aminoácidos alifáticos como la alanina y la glicina, la prolina tiene la capacidad de convertirse a 4-hidroxiprolina químicamente como se ilustra en la figura 4.

Figura 4. Estructura de la prolina y la Hidroxiprolina.



Fuente: SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). Bogotá D.C: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingenierías. 2011. Pág. 5 y 6.

La glicina proporciona una estructura compacta, por lo que, en cada vuelta completa de la hélice, un aminoácido debe posicionarse en el centro de la proteína, siendo la glicina, la cual permite que cada 3 aminoácidos se logre completar una vuelta a la hélice. Los aminoácidos esenciales se conocen como hidroxilisina e hidroxiprolina, los cuales tienen como función darle rigidez a la hélice. Por último, el contenido de aminoácidos restantes, pueden llegar a sufrir glicosilaciones y permitir la formación de puentes de hidrógeno, los cuales le dan más resistencia a las fibras.

Tipos de colágeno

Existen por lo menos 19 tipos de colágeno, y dos subclasificaciones generales tales como: Colágenos fibrilares, Colágenos no fibrilares.

¹³ SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). Bogotá D.C: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingenierías. 2011. Pág. 5 y 6.

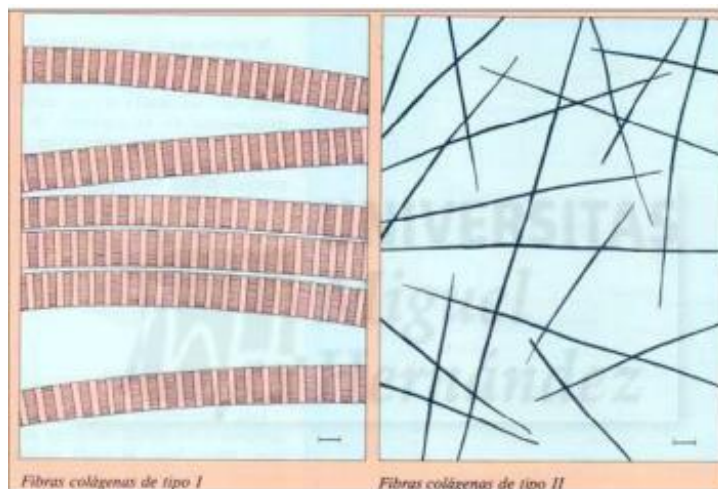
Colágenos fibrilares: Se caracterizan por tener una ruta biosintética semejante, un tamaño similar de las cadenas alfa ($M_r > 95.000$) y el dominio de triple hélice suele ser largo e interrumpido con una secuencia de aminoácidos Gly-X-Y repetida. Hacen parte de este grupo los colágenos tipo I, II, III.

Colágeno tipo I, es el más abundante y puede ser encontrado en la piel, más específicamente en la dermis, también se encuentra en tendones, ligamentos y huesos. Según Torley¹⁴ este colágeno es una proteína macromolecular constituida por tres cadenas polipeptídicas (dos alfa 1 y una de alfa 2) las cuales se encuentran entrelazadas de forma helicoidal en su porción central y en los extremos la amínica y carboxílica permanecen en la forma globular, este colágeno suele ser sintetizado por fibroblastos, condroblastos y osteoblastos. Su principal función es la de resistencia al estiramiento.

Colágeno tipo II, se localiza sobre todo el cartílago formando fibrillas finas, así como se muestra en la figura 5. Su principal función es la resistencia a la presión intermitente, este tipo de colágeno es el más utilizado en suplementos y estudios de la salud, además es sintetizado por condroblastos.

¹⁴ TORLEY, P. J, et al. The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and plate, soft, exudative (PSE) pork Meat Sci. 2000. Citado por. MAMANI HUAMÁN, Claudio Alejandro. Obtención de Colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo. 2018. Pág. 19.

Figura 5. Fibras de colágeno tipo I y II.



Fuente: TORLEY, P. J, et al. The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and plate, soft, exudative (PSE) pork Meat Sci. 2000. Citado por. MAMANI HUAMÁN, Claudio Alejandro. Obtención de Colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo. 2018. Pág. 19.

Colágenos no fibrilares: Suelen tener las siguientes características, cadenas alfa cortas ($M_r < 95.000$), interrupciones en la secuencia repetida de Gly-X-Y de los dominios de triple hélice y forman hojas que constituyen membranas basales.

Propiedades físicas del colágeno

Una de sus principales propiedades es su habilidad para formar geles, en la cual se puede medir la rigidez mediante el gelómetro Bloom, así entre más elevado sean los grados o valor Bloom, más sólido será el gel.

Viscosidad a las soluciones acuosas, la cual depende de la concentración de la gelatina y de la concentración de sólidos totales. El punto isoeléctrico de la gelatina obtenida por un proceso ácido está entre pH 7 y 9; si el valor del pH está cerca del punto isoeléctrico, la viscosidad y la hinchazón de la gelatina son bajas, la turbidez y la fuerza del gel será alta.¹⁵

Estabilidad

¹⁵ MAMANI HUAMÁN, Claudio Alejandro. Obtención de colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Facultad de Ingeniería de Procesos. 2018. Pág. 16.

La estabilidad está dada por los enlaces de hidrógeno y por el grupo amino, del cual hacen parte los enlaces peptídicos en los que se encuentra la glicina y los carbonilos de cualquier enlace peptídico. Los enlaces que se forman se dan en cada hebra o entre hebras por lo que se les conoce como enlaces intermoleculares e intercatenarios. Las fuerzas de Van der Waals también participan en la estabilidad de la proteína con interacciones de tipo físico. Conforme avanza la vida del individuo o animal, el número de enlaces cruzados lisina-al-lisina del colágeno irá aumentando, por lo que el colágeno en un recién nacido presenta pocos de estos enlaces, dando así un colágeno de consistencia blanda pero bastante flexible, conforme crece el individuo los enlaces del colágeno serán más fuertes y resistentes, pero menos flexible.

Síntesis del colágeno

Cuando una célula se divide para formar una igual a ella, se sintetizan todo tipo de macromoléculas de las que hacen parte las proteínas. Para este proceso molecular es necesario que ocurra la replicación, la transcripción y posteriormente la traducción.

Replicación: es el proceso por el cual el ADN de una célula se duplica antes de la división celular, esto con el fin de que cada célula tenga la misma información genética.

Transcripción: es el proceso en el que una secuencia de ADN es copiada a ARN mediante una enzima llamada ARN polimerasa.

Traducción: es el proceso en el que se convierte una secuencia de ARN mensajero, en una cadena de aminoácidos para formar una proteína, luego de esta etapa las proteínas sufren modificaciones y el colágeno es un ejemplo de ello. En el primer escenario el polipéptido recién traducido es hidroxilado e inmediatamente se unen moléculas de azúcar para formar el procolágeno, este contiene aproximadamente 500 regiones de N-terminal y C-terminal que no cuentan con la secuencia característica de las fibras de colágeno.

Tres moléculas de procolágeno se enrollan desde su región central formando una hélice triple, mientras esto ocurre las regiones descritas anteriormente se pliegan y forman estructuras globulares. Las hélices triples de procolágeno son exportadas al espacio extracelular, donde las regiones terminales son separadas con ayuda de enzimas, dejando como resultado la hélice triple de tropocolágeno. Las moléculas

se juntan y permiten el entrecruzamiento entre sí, para así formar una fibra de consistencia rígida y fuerte de colágeno.¹⁶

Desnaturalización

La desnaturalización de una proteína es un proceso endotérmico el cual se da mediante la ruptura de los enlaces que mantenían sus estructuras cuaternaria, terciaria y secundaria unidas, dejando solo la primera. Para estos casos las proteínas suelen transformarse en filamentos lineales y delgados que se entrelazan hasta formar compuestos fibrosos e insolubles en agua. Una proteína se puede desnaturalizar mediante la acción de calor excesivo, modificaciones en el pH, variación de la concentración, alta salinidad, agitación molecular entre otras. Por efecto del calor y la temperatura, la mayoría de proteínas suele experimentar efectos de desnaturalización entre los 50 y 60 °C, así mismo con ausencia de calor con temperaturas por debajo de los 10 y 15 °C.¹⁷

Usos y aplicaciones del colágeno

El colágeno actualmente es utilizado en muchas industrias a nivel nacional e internacional, según Potaros et al¹⁸ tiene diversos usos y aplicaciones en la industria farmacéutica, materiales biomédicos, industria cosmética e industria de alimenticia. Un biomaterial es una sustancia o combinación de elementos sintéticos o naturales, en los que los más utilizados suelen ser aleaciones metálicas, polímeros, cerámicos y sustancias biológicas. De las sustancias biológicas hace parte el colágeno que ha sido uno de los más empleados y comerciales. Lu et al¹⁹ explica que los biomateriales han sido de gran importancia para la ingeniería de tejidos, en los que se han realizado estudios de aplicación de colágeno para la parte del desarrollo cardiovascular con la función de permitir la adhesión celular y proliferar las células específicas en el tejido a tratar. También las esponjas de colágeno son usadas

¹⁶ SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). Bogotá D.C: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingenierías. 2011. Pág 10.

¹⁷ RIZK. Moustafa A, NASSER Y. Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY*. Vol. 32, No. (3): Pág. 1601-1609 (2016).

¹⁸ POTAROS, T., N. Raksakithai, et al. Characteristics of collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. 2009. Citado por. SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). 2011. Pág. 28.

¹⁹ LU, Q., K. Ganesan, et al. Novel porous aortic elastin and collagen scaffolds for tissue engineering. 2004. Citado por. SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). 2011. Pág. 29.

comúnmente como material biodegradable, la cual es empleado en implantes de tejido conectivo de huesos. Para la industria farmacéutica y cosmética tiene una gran importancia, ya que actualmente es usado para la prevención y tratamiento de arrugas, en producción de parches para heridas y en el desarrollo de medicamentos con liberación de principios activos. A partir de los 25 años de edad se va perdiendo colágeno del organismo, produciendo señales de envejecimiento, para disminuir este efecto se han creado productos como cremas, geles, lociones, mascarillas e inyecciones subcutáneas de aplicación directa en la piel. Adicional a esto también se han creado productos como champú, acondicionadores y tratamientos capilares a base de colágeno, que no hacen más que evitar la aparición del debilitamiento del cabello.

1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

El proceso de caracterización de la materia prima es una etapa fundamental para conocer y analizar las propiedades presentes en la piel bovina, estas propiedades permiten desarrollar ajustes en ciertas variables de proceso esenciales como lo es la temperatura de operación o el tiempo de reacción y todo esto comienza con el proceso de recepción de la materia prima:

1.1 RECEPCIÓN DE LA PIEL

El proceso inicia con el sacrificio del animal, luego del proceso de desposte la piel es separada y según la secretaría distrital de ambiente (2010) la piel se entrega generalmente en 2 presentaciones, pieles frescas y pieles saladas, Las pieles frescas son las que se encuentran en un periodo de tiempo corto desde el sacrificio del animal hasta el procesamiento de la piel, y que por las condiciones en las que se encuentra se puede iniciar sin ningún pretratamiento. Las pieles saladas son así con el fin de preservarlas y almacenarlas por un tiempo prolongado e impedir así, la aparición de microorganismos que conllevan a la putrefacción, la preservación se realiza principalmente por inmersión en salmuera, adición de sal común o sales metálicas.²⁰ En esta etapa se descarga y se almacenan temporalmente las pieles, tanto frescas como saladas, se limpian y se acondicionan.

1.2 CARACTERIZACIÓN DE LA PIEL

Para asegurar que el proceso extractivo obtenga los mejores resultados es necesario que la materia prima posea distintas características como lo son, dureza, grosor de la piel, edad del animal, raza entre otros, es por eso que antes de iniciar un proceso de extracción de colágeno es recomendable realizar ciertas pruebas a la piel para analizar la viabilidad del proceso²¹, algunas de las pruebas más comunes son:

1.3 OBSERVACIÓN INICIAL

Para llevar a cabo una buena extracción, es necesario observar la procedencia y condiciones de la piel, como lo son la presencia de marcas, heridas superficiales

²⁰ BEJARANO, Daniel y ROMERO, Angie. Procedimiento integral para el mejoramiento del sistema de producción y tratamiento de aguas residuales de curtiembres en el departamento Cundinamarca, provincia de Almeidas, Municipio de Villapinzón. 2017. Pág. 15 y 55.

²¹ OLARTE, Juan David. (San Benito, carrera 19 a #59 – 35 sur, Bogotá, Colombia, Entrevista a la empresa INPROPIELES LTDA, 2020)

causadas por malos procedimientos durante el desposte, heridas generadas por ciertos parásitos como lo son los “nuches” o heridas causadas durante el transporte del animal.²²

1.3.1 Medición de dureza y grosor. No todas las secciones de piel poseen la misma dureza o el mismo grosor, de hecho dependiendo de las condiciones del sacrificio del bovino la dureza de la piel puede cambiar debido al estrés causado durante el proceso, de acuerdo a estas variables se determinan los tiempos y temperaturas necesarias para la desnaturalización del colágeno, como lo explica la patente de Belinchón²³, la dureza de la piel depende del sector de la que fue tomada, si la extracción se realiza con muestras provenientes de la sección de falda o cuello su dureza puede rondar los 20 Shore A* y su temperatura de desnaturalización ronda los 50°C, mientras que zonas más duras como lo es el crupón que su dureza es superior a los 25 Shore A. la temperatura de desnaturalización es mucho mayor.

Adicionalmente, la medición de la dureza genera un valor inicial para el tiempo de solubilización de colágeno a partir de una vía ácida, tal como lo expresa Belinchón en su diseño de patente “El tiempo es mayor cuanto mayor sea el espesor de la piel y mayor sea su dureza. Pieles de 3mm de espesor y dureza inferior a 20 Shore A (zona blanda de las faldas) en tres días ya estarán dispuestas para la siguiente etapa. Pieles de más de 1cm de espesor y de la zona dura de la falda (mayor que 25 Shore A) necesitarán 6 días”.²⁴

1.3.2 Medición de pH. Este proceso de medición de potencial de hidrógeno es necesario para corroborar que la piel se encuentra en un estado neutral para no afectar el rendimiento de la acción enzimática.

1.3.3 Análisis de Calorimetría Diferencial. La calorimetría diferencial de barrido es una técnica de evaluación utilizada para registrar la cantidad de calor absorbido o cedido de la muestra de piel y a la temperatura en la ocurren estos fenómenos, para el caso de la desnaturalización del colágeno durante este procedimiento se observa un pico relativamente ancho por encima de la línea base de la calorimetría.

²² OLARTE, Juan David. (San Benito, carrera 19 a #59 – 35 sur, Bogotá, Colombia, Entrevista a la empresa INPROPIELES LTDA, 2020)

²³ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL. Procedimiento de obtención de colágeno a partir de la piel de un animal. Inventores: BELINCHÓN C. Pedro, LASA. Mikel, IZCO. Beatriz. España, Fecha de publicación 03, enero, 2003. PCT/ES2011/070467

* Shore A: Unidad de dureza que permite calcular la elasticidad de un elemento cuando se deja caer otro sobre él o se intenta atravesarlo con algo más duro.

²⁴ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL. Procedimiento de obtención de colágeno a partir de la piel de un animal. BELINCHÓN C. Pedro, LASA. Mikel, IZCO. Beatriz. Fecha de publicación 03, enero, 2003. España, PCT/ES201 1/070467.

En los anexos A y B se evidencian los termogramas resultantes de dos pruebas de calorimetría diferencial aplicadas en dos muestras de piel de distinto grosor, la primera muestra corresponde a una zona blanda de la piel, con una dureza de 20 Shore A. en la cual se evidencia que a partir de los 50°C se forma una desviación del termograma de la línea base, lo que indica el comienzo del proceso de desnaturalización térmica y al sobrepasar los 100°C se retoma a la línea base o el fin de la desnaturalización.

1.3.4 Cuantificación de hidroxiprolina. La hidroxiprolina es uno de los aminoácidos con mayor presencia dentro del colágeno constituyendo cerca del 13% de todo el tejido conectivo de la piel, la metodología para la cuantificación de hidroxiprolina se realizó siguiendo el método de Quintero y Zapata:

Las muestras de piel fueron sometidas a una hidrólisis ácida con HCl 6,0 M durante 12 horas a 90 °C, posteriormente se diluyó una alícuota del hidrolizado en relación 1:20 con agua destilada. 1 ml de la solución se mezcló con una relación igual de sulfato cúprico 0,01N, hidróxido de sodio 2,5 M, peróxido de hidrógeno al 6% y 0,1 ml de sulfato ferroso 0.05M. luego de agitar vigorosamente la muestra hasta que desaparecieran las burbujas de gas, se adiciono 4,0 ml de ácido sulfúrico 3N y 2 ml de la solución de p-dimetilaminobenzaldehído al 5%. Se calentó durante 16 min a 70 °C con un posterior choque térmico en un baño de hielo.²⁵

1.3.5 Resultados de la caracterización. En la siguiente tabla 1, se recopilaron datos obtenidos del análisis de muestras de piel, según la zona blanda y dura, estos datos fueron extraídos de la solicitud de patente de Belichón.²⁶

²⁵ QUINTERO. Julián, ZAPATA. José. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Vol. 28(1), 109-120 (2017) [en línea] [base de datos SCOPUS].

²⁶ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL. Procedimiento de obtención de colágeno a partir de la piel de un animal. BELINCHÓN C. Pedro, LASA. Mikel, IZCO. Beatriz. Fecha de publicación 03, enero, 2003. España, PCT/ES201 1/070467.

Tabla 1. Resultados de la caracterización de la patente de Belichón.

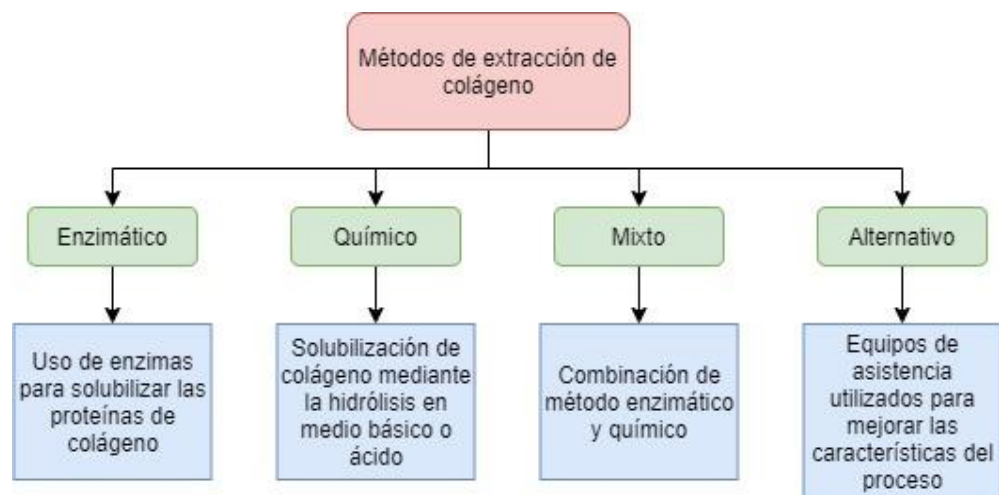
Zona de la piel	Dureza (Shore A.)	pH	Nivel de agua (%)	T inicial (°C)	T final (°C)
Blanda	20	12-13	70-80	50	100
Dura	25	12-13	70-80	55	110

Fuente: elaboración propia

2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COLÁGENO

Para realizar la extracción del colágeno a partir de la piel bovina se puede aislar por distintas vías o métodos, los más comunes o más utilizados son mediante vía química, vía enzimática o una mezcla entre estas dos, no obstante, existen métodos de extracción no convencionales como lo es la extracción por métodos alternativos. A continuación, en la figura 6, se puede apreciar los métodos de extracción anteriormente mencionados.

Figura 6. Mapa conceptual, métodos de extracción de Colágeno.



Fuente: elaboración propia.

2.1 EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA

Este método de extracción se caracteriza principalmente por utilizar enzimas como agentes encargados de la extracción del colágeno luego de la separación de proteínas y componentes no colágenicos, uno de los métodos clasificados dentro de la vía enzimática es la hidrólisis alcalina-enzimática.

2.1.1 Hidrolisis Alcalina-Enzimática. Este método consiste en una hidrólisis proteica en la cual se utilizan las enzimas proteolíticas caracterizadas por tener una actividad lenta y en muchos casos no logra completarse en su totalidad, este tipo

de hidrólisis es bastante específica por lo que estructuras como los aminoácidos no se ven afectadas durante el proceso.²⁷

Dicho proceso se lleva a cabo normalmente en un reactor, controlando las variables de agitación, pH, temperatura del reactor y tiempo de retención. El primer paso es estabilizar el potencial de hidrógeno y del sustrato por lo que éste inicialmente se disuelve en agua hasta que su pH y temperatura se regulen, una vez estabilizado el proceso se agrega la proteasa para iniciar el proceso de hidrólisis, conforme este progresa se observa una disminución del pH debido a la rotura de los enlaces peptídicos, para finalizar la hidrólisis, la enzima puede ser desactivada o inhibida por medio de la temperatura, o puede ser retirada mediante filtración y precipitación de la proteína.²⁸

Sustrato. El sustrato utilizado para este proceso de hidrólisis se puede encontrar en animales, vegetales o bacterias. Los residuos de la industria pesquera (vísceras de pescado) y de la industria cárnica (tendones o huesos) se utilizan como sustrato para estos procesos, así como también se le puede dar uso a los microorganismos como las algas, entre las fuentes de sustrato de origen vegetal los más utilizados son las proteínas de soja, trigo y arroz.²⁹

Etapas de la hidrólisis enzimática. La hidrólisis proteolítica no ocurre solo en una reacción, son varias reacciones en serie en las que se rompen los enlaces de distintas especies en equilibrio.

Se puede simplificar el proceso en tres reacciones en serie, la primera reacción es la formación de un complejo enzima-sustrato que es la proteína, seguido de una ruptura del enlace amídico dando como resultado la liberación del péptido, por último, el péptido resultante se separa de la enzima a través de un ataque nucleofílico de una molécula de agua³⁰, tal y como se puede observar la secuencia de reacciones en la figura 7.

²⁷ MAMANI HUAMÁN, Claudio Alejandro. Obtención de colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Facultad de Ingeniería de Procesos. 2018. Pág. 23.

²⁸ BENÍTEZ, R y PAGÁN, J. Hidrolizados de proteína, Procesos y aplicaciones. Acta bioquímica clínica latinoamericana. V42(2) P:228

²⁹ IBID. Pág. 229

³⁰ IBID. Pág. 230.

Figura 7. Reacciones en serie, Hidrolisis proteolítica.



E: enzima, S: sustrato, P, P': péptidos resultantes, k_x : constante velocidad de reacción.

Fuente: BENÍTEZ, R., PAGÁN, J. Hidrolizados de proteína, Procesos y aplicaciones.

Condiciones de la hidrolisis. Las variables que afectan en la eficiencia del proceso hidrolítico son temperatura, pH, relación enzima/sustrato y el tiempo de residencia, las 3 primeras variables determinan la velocidad de reacción y pueden influir en la especificidad de la enzima, respecto al tiempo de residencia, este afecta únicamente en el grado final de la hidrólisis.

Si el pH del medio es bajo, todos los grupos amino están protonados y parte del grupo carboxilo están desprotonados debido a la captación de protones de cada enlace peptídico roto, causando un aumento del pH. A pH neutro y alcalino la hidrólisis resulta en una disminución de pH, pues todos los carboxilos están desprotonados y solamente parte de los grupos amino están protonados.

Con el fin de prevenir un cambio de pH durante la hidrólisis, la reacción debería llevarse a cabo en un sistema buffer.³¹

2.1.2 Uso de la pepsina como agente solubilizante. Así como se mencionó en las generalidades del proyecto, la pepsina es una enzima digestiva que se crea en el sistema digestivo de ciertos animales y cumple la función de hidrolizar las proteínas presentes en el estómago. Para Nalinanon Sitthipong, et al³², al momento de utilizar esta enzima se realiza un proceso inicial de congelamiento del estómago del animal utilizando nitrógeno líquido según el proceso de Klomklao, Benjakul, y Visessanguan, el objetivo de este método es pulverizar el material para facilitar su manejo, la muestra de estómago pulverizado es suspendida en 50 mM de Fosfato de Sodio en un pH de 7.2 en una relación peso/volumen de 1:9, la mezcla es agitada a 4°C durante 30 minutos, después la suspensión es centrifugada por 30 minutos a

³¹ IBID. Pág. 231.

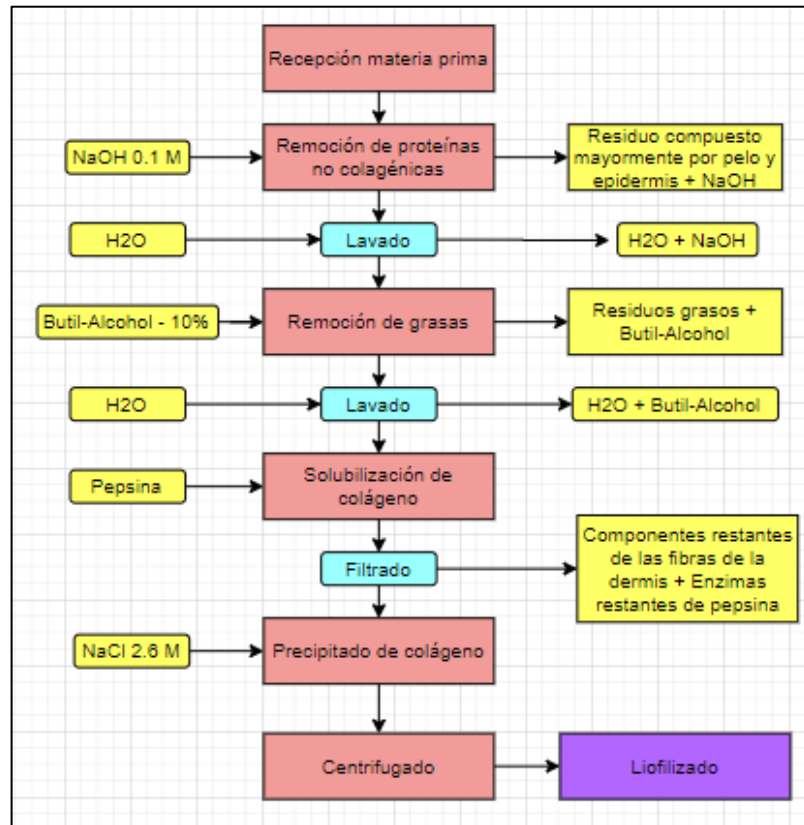
³² NALINANON, Sitthipong, BENJAKUL, Soottawat, et al. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) Food Chemistry (2006).

* g=RCF (Fuerza Centrifuga Relativa).

7700 g, al finalizar el proceso de centrifugado se ajusta el pH del sobrenadante utilizando ácido clorhídrico (HCl) 1M hasta llegar a 3, este proceso lleva 10 minutos aproximadamente, nuevamente se centrifuga la muestra por 30 minutos a 5000 g utilizando una centrifugadora refrigerante para mantener los 4°C. El sobrenadante resultante es fraccionado con Sulfato de Amonio al 20% y luego es disuelto y dializado en un buffer de 50 mM de acetato de Sodio en una relación peso/volumen de 1:15. Para liberar la enzima se utilizó 1 mM de Tirosina por minuto

Una vez activada la enzima es aplicada entre 10-20 Kilounidades por cada gramo de piel (piel después del proceso de remoción grasa) y la mezcla es agitada a 4°C por 24 a 48 horas, una vez terminado este proceso se precipitan las proteínas de colágeno por medio de cloruro de sodio (NaCl) a una concentración de 2.6M junto a 0.05M tris(hidroximetil)aminometano a un pH neutro (7.0), ya con el colágeno precipitado se necesita de un proceso de centrifugado a 4.000 r.p.m. durante 15 minutos, el colágeno resultante es separado y liofilizado para su conservación. El proceso se puede observar en la figura 8.

Figura 8. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno por vía Enzimática.



Fuente: NALINANON, Sitthipong. BENJAKUL, Soottawat. VISESSANGUAN, Wonnop. KISHIMURA, Hideki. *Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (Priacanthus tayenus)*. Food Chemistry. 104. Pág. 596 (2007).

2.2 EXTRACCIÓN QUÍMICA

Este método de obtención de colágeno es considerado como un método más económico, que el método enzimático anteriormente mencionado. Quintero y Zapata³³ explican cómo se desarrolla la extracción de colágeno soluble en ácido, el proceso consiste realizar la extracción en ausencia de enzimas mediante la hidrólisis en medios ácidos o básicos, por este método se consigue extraer colágeno parcialmente hidrolizado, que no es más que una mezcla de aminoácidos, péptidos y polipéptidos en forma de gelatina. El método de extracción con ácido es conocido

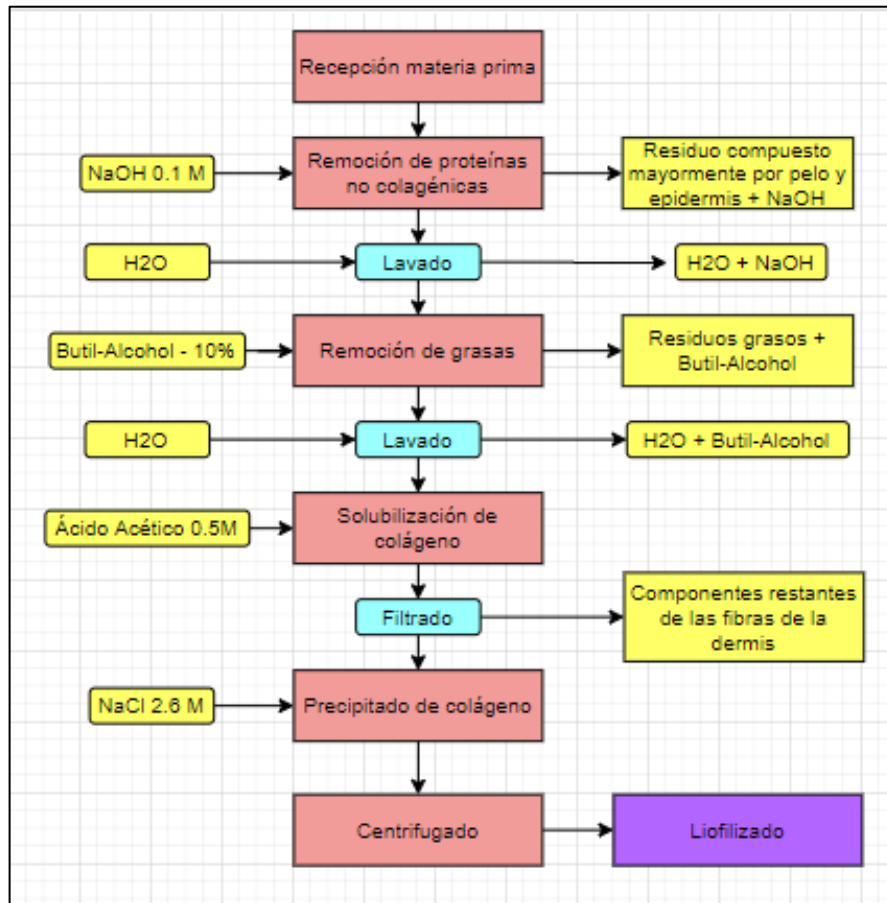
³³ QUINTERO. Julián, ZAPATA. José. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Vol. 28(1), 109-120 (2017)

normalmente como CSA y consiste primero en una desproteínización, para eliminar las proteínas que no pertenecen propiamente al colágeno o proteínas no colágenicas, y otros residuos superficiales. Según Moustafa A. Rizk y Nasser Y. Mostafa³⁴ este pretratamiento se realiza con una solución de NaOH normalmente a una concentración de 0.1 M por 6 h, cambiando la solución cada dos horas.

Después de retirar las proteínas no colágenas se debe retirar la capa grasa de la piel, para esto se realiza una inmersión de la piel en Butil-Alcohol al 10% en una relación peso/volumen de 1:10, este proceso se realiza por 18 horas y cada 6 horas se debe realizar un cambio de solución, al culminar las 18 horas la piel es limpiada con agua fría para eliminar los residuos tanto de hidróxido de sodio (NaOH) como de Butil-Alcohol y preparar la piel para el proceso de solubilización. Para solubilizar las proteínas se remoja la piel en una solución de 0.5M de ácido acético en una relación peso/volumen de 1:30 por 24 horas, al culminar el tiempo de remojo se realiza un proceso de filtrado y se precipitan las proteínas de colágeno por medio de cloruro de sodio (NaCl) a una concentración de 2.6M junto a 0.05M tris(hidroximetil) aminometano a un pH neutro (7.0), ya con el colágeno precipitado se necesita de un proceso de centrifugado a 4.000 r.p.m. durante 15 minutos, el colágeno resultante es separado y liofilizado para su conservación. Tal cual como se puede apreciar en la figura 9.

³⁴ RIZK. Moustafa A, NASSER Y. Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY. Vol. 32, No. (3). Pág. 1601-1609 (2016).

Figura 9. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno por vía Química.



Fuente: QUINTERO, Julián. ZAPATA, José. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Grupo de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Antioquia, Vol. 28(1), Pág. 109-120 (2017).

2.3 EXTRACCIÓN MIXTA

Estos métodos de extracción pueden ocurrir combinando técnicas tanto enzimáticas como químicas, esto dependiendo de las necesidades y limitantes de cada proceso. Estos procesos son de uso típico en la extracción de colágeno, ya sea con altas temperaturas, procesos enzimáticos, uso de solventes y demás. Se ha estandarizado un proceso mixto que inicia con la separación y remoción de componentes no colágenicos de la piel a través de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) normalmente a una concentración de 0.1 M y al igual que por la vía

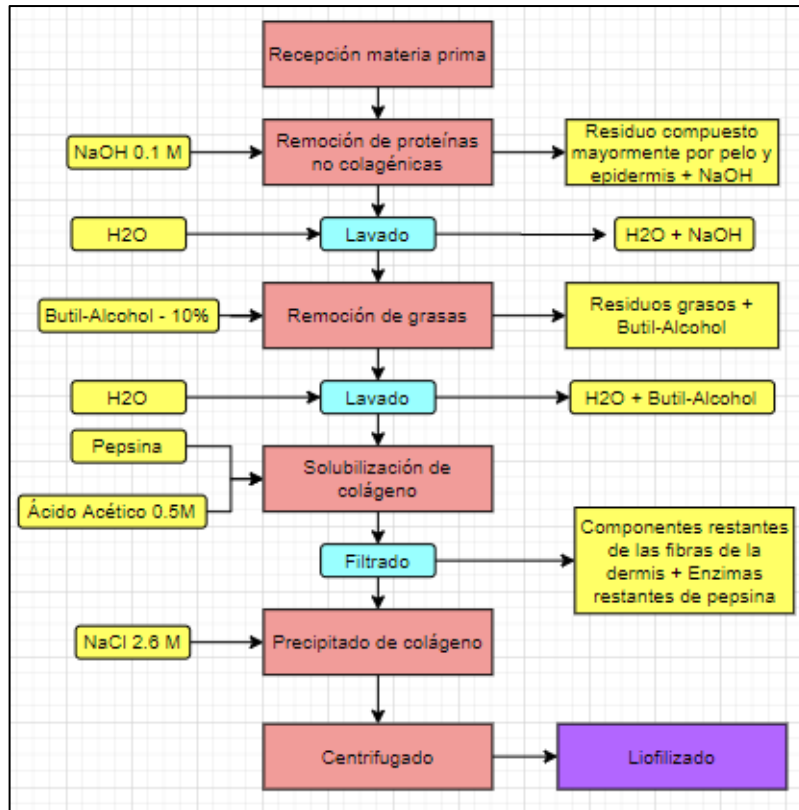
química es necesario mantener las muestras dentro de la solución en un lapso de 6 a 8 horas cambiando el reactivo cada 2 horas³⁵, después de la remoción de los componentes no colágenicos es necesario lavar las muestras para eliminar cualquier traza de hidróxido de sodio presente en las mismas, una vez se remuevan las proteínas no colágenas comienza la etapa de solubilización de colágeno mediante el uso de microorganismos. El proceso se puede apreciar siguiendo la figura 10.

Acuña³⁶ explica que los procesos químicos suelen ser muy agresivos y por ende, deterioran tanto el valor nutricional de la proteína como sus propiedades tecnológicas. Lo que se busca realmente con esta combinación es poder obtener un rendimiento de extracción más alto, y es ahí donde aparecen los métodos físicos, correspondientes a procesos de ultrafiltración, microfiltración, ultrasonido entre otros. Los cuales son usados y combinados para aumentar el rendimiento de los procesos enzimáticos y químicos, ayudando a disminuir el uso de solventes, aumentar la efectividad, aumentar pureza, generación de menos residuos, bajo consumo de energía y reducciones en costos de operación.

³⁵ MOUSTAFA, Rizk. NASSER, Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY*. Vol. 32, No. (3): Pág. 1601-1609 (2016).

³⁶ ACUÑA, Antia. Efecto de ultrasonidos en el proceso de extracción de proteínas de Co-productos animales y escalado del proceso. España: Universidad de Oviedo. Máster Universitario en Biotecnología Alimentaria. 2017. Pág. 10.

Figura 10. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno por vía Mixta.



Fuente: POTAROS, T. RAKSAKULTAHAI, N. et al. Characteristics of collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart Journal*. 2009.

2.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN ALTERNATIVOS

En esta sección se tuvieron en cuenta distintas técnicas de asistencia las cuales son utilizadas para aumentar el rendimiento en la extracción de colágeno, estas técnicas son:

2.4.1 Ultrasonido. El método de ultrasonido consiste en un conjunto de ondas mecánicas que componen un entorno físico que altera las propiedades físicas y funcionales, Según Zhang³⁷ en un líquido el efecto de las ondas de ultrasonido se basa en la cavitación, el mecanismo de formación, crecimiento y colapso de

³⁷ AKRAM, Ayesha, ZHANG Chunhui. Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. China, Beijing. 2020. Pág. 1.

pequeñas burbujas. En el medio líquido se da la presencia de burbujas que por medio de múltiples ciclos pueden llegar a crecer por medio de la absorción de un gas o vapor, formarse y luego colapsar. Una vez colapsa se logra liberar la energía absorbida y junto con esto, generar efectos mecánicos como el calor local y la alta presión. El continuo colapso de burbujas provoca el rompimiento de las paredes superficiales de las partículas, además, si se compara este método con otro método convencional, los ultrasonidos son considerados como una técnica rápida, no invasiva y no destructiva, ya que los valores obtenidos permiten hacer un juicio acerca de la idoneidad de la materia prima, por consiguiente Bello³⁸ explica que además de ser rápido y no destructivo pueden ser aplicados de manera continua en una línea de producción. Los ultrasonidos son usados para detectar defectos como poros, fisuras, conocer las propiedades básicas de líquidos y sólidos como la composición, estructura entre otros. Además de esto ayudan a mejorar las diferentes características de la materia prima o del producto, mejorar la eficiencia de extracción y cuentan con diferentes aplicaciones en productos alimenticios, polimerización en plásticos, proporción de mezclas, etc.³⁹

Adicionalmente a estos procesos extractivos existen nuevas tecnologías que facilitan ciertas etapas presentes en la mayoría de los procesos como lo son la ultrafiltración y la microfiltración, estas tecnologías son referentes a la filtración previa al precipitado del colágeno.

2.4.2 Ultrafiltración. El método de ultrafiltración o separación por membrana se da a presiones bajas y por diferencia en el tamaño de solutos, donde las moléculas grandes realizan movimientos horizontales en relación a la membrana y se produce un perfil de concentraciones en la solución llamada polarización, es muy utilizada debido al bajo consumo de energía, como lo es la evaporación y al aumento en el nivel de la pureza en el producto final.⁴⁰

2.4.3 Microfiltración. El método de microfiltración es un proceso de filtración por membrana en la cual el medio microporoso retiene los sólidos suspendidos en el fluido, permitiendo remover materia orgánica, coloides, bacterias entre otras. El

³⁸ BELLO, José. Jamón Curado Aspectos científicos y tecnológicos. España. Ediciones Díaz de Santos. 2008. Pág. 509. Consultado el 1 de Julio del 2020. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=5Tqkq1rCH50C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

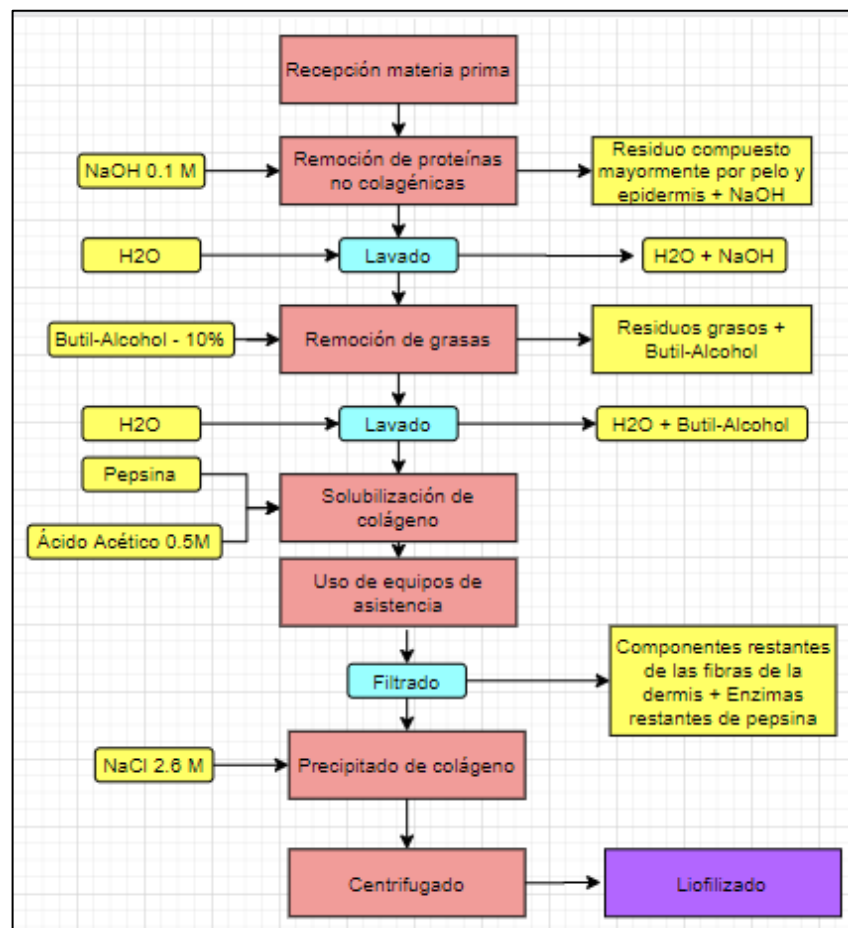
³⁹ SANTOS DE LA CRUZ, Eulogio, et al. El ultrasonido y su aplicación. Revista de la facultad de Ingeniería Industrial. 2005. Pág. 25-28. Consultado el 1 de Julio del 2020. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/indata/Vol8_n1/a05.pdf

⁴⁰ SERNA, Liliana, et al. Efecto de la ultrafiltración sobre las propiedades reológicas de gelatina comestible de origen bovino. 2010. Pág. 2.

tamaño del poro oscila desde 0.1 hasta 1 micras o micrones. Este método de microfiltración no requiere de presión, basta con la presión atmosférica y suele utilizarse como pretratamientos para osmosis inversa o como un proceso independiente de filtración.⁴¹

En la siguiente figura 11, se puede apreciar la metodología de extracción con asistencia de equipos alternativos.

Figura 11. Diagrama de bloques del proceso de extracción de Colágeno utilizando equipos de Asistencia.



Fuente: AYESHA. Akram, CHUNHUI. Zhang. Extraction of collagen II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. China, Beijing. 2020. Pág. 13 5./10.1016/j.ultsonch.2020.105053.

⁴¹ HUISMAN, I.H. MEMBRANE SEPARATIONS. Microfiltration. Encyclopedia of Separation Science. Academic Press, 2003. Consultado el 3 de Julio de 2020. Disponible en: <https://www.carbotecnia.info/encyclopedia/microfiltracion/>

A continuación, en tabla 2 se puede apreciar el porcentaje del rendimiento de la extracción con cada método. Teniendo en cuenta que estos resultados de rendimiento en la extracción de colágeno se realizaron con diferentes tipos de piel, como la de los peces, el cual fue sometida a los distintos tipos de extracción.

Tabla 2. Rendimiento en la Extracción de Colágeno, a partir de cada método.

Concepto	Métodos de extracción			
	Enzimático	Químico	Mixto	Alternativo
Eficiencia del proceso (rendimiento)	28,03% ⁴²	19,1% ⁴³	53,68% ⁴⁴	84% ⁴⁵

Fuente: elaboración propia

2.5 SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Para realizar la selección del método de extracción más óptimo, se diseñó una matriz de decisión capaz de evaluar distintos aspectos que se consideraron importantes al momento de la decisión.

2.5.1 Matriz de decisión. La selección del método más conveniente para el proyecto se realizó a partir de una matriz de decisión evaluando cada componente necesario para los procesos extractivos, dándole un puntaje y calificación a cada ítem y así, determinar cuantitativamente el método que mejor se acople a los requerimientos y objetivos del proyecto, para cada ítem se determinó un rango entre 1-10 puntos, teniendo en cuenta el grado de importancia en el proceso y para cada método una calificación de 1-5.

Los ítems que se tuvieron en cuenta durante la evaluación fueron:

⁴² JEEVITHAN. Elango. WU. Wenhui, NANPING. Wang, LAN. He, BAO. Bin Isolation, purification and characterization of pepsin soluble collagen isolated from silvertip shark (*Carcharhinus albimarginatus*) skeletal and head bone. *Process Biochemistry*. China. P 1769 (2014).

⁴³ WANG. Lingzhao, YANG Bao, DU Xiuqiao, YANG Yinfen, LIU, Jianlong. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9 (2008) 605.

⁴⁴ NALINANON, Sitthipong. BENJAKUL, Sootawat. VISESSANGUAN, Wonnop. KISHIMURA, Hideki. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*. 104. p 596 (2007).

⁴⁵ AYESHA. Akram, CHUNHUI. Zhang. Extraction of collagen II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. China, Beijing. 2020. Pág. 5./10.1016/j.ultsonch.2020.105053.

- **Costos de insumos y reactivos:** Costos de compra y mantenimiento de los reactivos y solventes necesarios para realizar el proceso de extracción, estos costos se tienen en cuenta según las proporciones que se indiquen en los artículos científicos como lo son, por ejemplo: "Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications"⁴⁶, "Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken Sternal cartilage; physicochemical and functional properties"⁴⁷ y "Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*)"⁴⁸.
- **Costos de equipos:** Costos y requerimientos de los equipos involucrados en el proceso de extracción, este ítem incluye los costos tanto de compra como de mantenimiento de los equipos, así como los controles necesarios para mantener el correcto funcionamiento del proceso, en los artículos científicos analizados⁴⁹ se encontraron descripciones de equipos de extracción que nos permitieron determinar los posibles costos de inversión.
- **Eficiencia del proceso:** Se evalúa y compara el porcentaje de extracción de colágeno de todos los métodos de extracción, para esta información se tuvieron en cuenta los artículos "Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta."⁵⁰, "NALINANON, Sitthipong. BENKJAKUL, Soittawat. VIESSANGUAN, "Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*)"⁵¹," Extraction of collagen-II with pepsin

⁴⁶ MOUSTAFA, Rizk. NASSER, Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY*. Vol. 32, No. (3). Pág. 1601-1609 (2016).

⁴⁷ NOREEN, Ayesha. ZHANG, Chunhui. Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. *Somochemistry* 64 (2020) doi 105053

⁴⁸ NALINANON, Sitthipong. BENKJAKUL, Soittawat. VIESSANGUAN, Wonnop. KISHIMURA, Hideki. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry* 104. (2007). Pág. 594-595

⁴⁹QUINTERO, Julián. ZAPATA, José. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. *Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Grupo de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Antioquia*, Vol. 28(1), 109-120 (2017).

⁵⁰ IBID P 112.

⁵¹ NALINANON, Sitthipong. BENKJAKUL, Soittawat. VIESSANGUAN, Wonnop. KISHIMURA, Hideki. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry* 104. (2007). Pág. 594-595.

and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties”⁵².

- **Tiempo:** Este ítem abarca los tiempos de producción de colágeno, desde la preparación de la materia prima hasta la liofilización del colágeno. Para poder determinar los tiempos de reacción totales de cada proceso de extracción se realizaron la sumatoria de tiempos especificados de cada sub-proceso de extracción.^{53,54,55}
- **Impacto Ambiental:** Cantidad de residuos y subproductos resultantes de cada proceso, así como su peligrosidad o toxicidad, debido a que en los artículos científicos no se describía el manejo de los residuos del proceso de extracción se analizó este ítem a partir de los reactivos y solventes que se utilizan en cada método de extracción y como son tratados como residuos.

A continuación, el puntaje de cada ítem de acuerdo a su importancia, se puede observar en la tabla 3.

Tabla 3. Ítems de Calificación en la matriz de decisión

ÍTEM DE CALIFICACIÓN	PESO (1-10)
Menores costos de insumos y reactivos	4
Menores costos de equipos	5
Mayor eficiencia del proceso	8
Menor tiempo de reacción	5
Menor impacto ambiental	6

Fuente: elaboración propia

El ítem al que mayor peso se le asignó fue al de la eficiencia del proceso (8 puntos), debido a que al culminar cada proceso extractivo lo más importante será evaluar qué tan eficaz fue para solubilizar y separar el colágeno de la piel, el siguiente ítem, es el de impacto ambiental con un peso de 6 puntos ya que para un proceso

⁵² NOREEN, Ayesha. ZHANG, Chunhui. Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. *Somochemistry* 64 (2020) doi: 105053.

⁵³ IBID Pág. 3,4

⁵⁴ MOUSTAFA, Rizk. NASSER, Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY*. Vol. 32, No. (3). Pág. 1604, 1605 (2016).

⁵⁵ NALINANON, Sitthipong. BENKJAKUL, Soittawat. VIESSANGUAN, Wonnop. KISHIMURA, Hideki. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry* 104. (2007). Pág. 594-595

sustentable y rentable es necesario que los procesos realizados generen una cantidad baja de residuos y que puedan ser de fácil manejo, los ítems de costos de equipos y tiempo del proceso se les determinó un peso de (5 puntos) a cada uno, debido a que si bien es importante mantener una presencia constante en ciertos procesos que contengan microorganismos o enzimas el tiempo que se demora el proceso no es tan extenso, pasa lo mismo con el coste de los equipos, puesto que, se tiene en cuenta que los costos de inversión pueden ser recuperados de acuerdo con la evaluación del horizonte del proyecto, por último, el ítem de costos de insumos y reactivos obtuvo el menor peso (4 puntos), debido a que los reactivos se pueden conseguir en distintas presentaciones, precios y calidades por lo que se tiene un abanico de posibilidades mucho mayor para seleccionar lo que mejor se ajuste al proceso deseado.

2.5.2 Matriz de decisión ponderada. Para el desarrollo de la matriz de decisión ponderada se evaluaron los 5 ítems anteriormente mencionados junto a su respectivo peso o valor frente a los 4 métodos de extracción presentados en el documento, para cada calificación de ítem respecto a los 4 métodos se seleccionó un número entero entre el 1 al 5, para obtener los resultados se multiplicó el peso de cada ítem con el valor de calificación dado y después se realizó la sumatoria de cada ítem para obtener un valor cuantificable y determinar el método más viable para el proceso, tal como se puede apreciar en la tabla 4.

Para las calificaciones de cada ítem respecto a los métodos de extracción se seleccionaron valores del 1 al 5, siendo 1 la opción menos viable o la que posee mayores falencias y 5 la más apta para ese ítem.

Tabla 4. Matriz de decisión ponderada.

Concepto	Valor o Peso	Método Enzimático	Método Químico	Método Mixto	Método Alternativo
Menor costos Insumos y reactivos	4	2	4	3	3
Menor costos Equipos	5	2	4	3	1

Mayor eficiencia del proceso	8	3	3	4	5
Menor tiempo de reacción	5	2	4	2	3
Menor impacto ambiental	6	4	3	3	3
Sumatoria (Σ)		76	98	87	90

Fuente: Elaboración propia.

2.5.3 Análisis de datos de la matriz. Luego del desarrollo aritmético de la matriz se logra apreciar que para este proyecto es más viable la extracción de colágeno mediante la vía química, principalmente por el tiempo de menor reacción al de los demás métodos⁵⁶, si bien es necesario mantener controles de temperatura durante los procesos para evitar la desnaturalización del colágeno, no hay necesidad de controlar tantas variables como en los métodos enzimáticos o mixtos, los cuales manejan enzimas que se deben mantener una temperatura adecuada al igual que un pH óptimo para que su rendimiento sea aceptable.

Otro aspecto a tener en cuenta es la adquisición de los reactivos y solventes necesarios para desarrollar la extracción, si bien sabemos que la pepsina es un agente que se encuentra presente en el sistema digestivo de los animales, su aislamiento y extracción acarrea gastos adicionales al proyecto lo cual disminuye su viabilidad, por otro lado la vía química; empleando hidróxido de sodio (NaOH) el cual es posible encontrar en cualquier casa química, permite la separación de las proteínas no colágenicas, y para la solubilización y precipitación de las proteínas colágenicas se utiliza ácido acético (CH₃COOH) y cloruro de sodio (NaCl). Respecto a los métodos alternativos como la extracción ultrasónica los costos de materia prima son económicos debido a que no requieren algún medio para funcionar, sin embargo, estas tecnologías aún se encuentran en estudio y su distribución y uso es limitada, razón por la cual se le otorga una baja calificación. Lo mismo sucede con

⁵⁶ MOUSTAFA, Rizk. NASSER, Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY. Vol. 32, No. (3): Pág. 1602-1603 (2016).

el método enzimático debido a que la preparación de la pepsina necesaria para solubilizar el colágeno requiere de un método bastante costoso incluyendo procesos como la criogenización con Nitrógeno líquido (N₂)⁵⁷.

Respecto al impacto ambiental el método de extracción por vía química es que obtiene el más bajo puntaje, esto debido a los residuos que maneja durante toda la cadena de extracción, como se mencionaba anteriormente este proceso maneja reactivos como ácidos e hidróxidos que si bien se pueden reutilizar llega a un punto en el que es necesario desecharlos y realizar un tratamiento de aguas residuales para poder descargar estos residuos en afluentes o ponerlos a disposición de los medios encargados.

La variable tiempo es fundamental a la hora de seleccionar el método de extracción de colágeno debido a que la acción enzimática permite un mayor rendimiento de extracción de colágeno, sin embargo el tiempo necesario para este método es bastante alto comparado con la velocidad de extracción del colágeno nativo por vía química, con respecto a los métodos alternativos el uso de equipos de asistencia como lo es el equipo de ultrasonido implica un gasto mayor de tiempo ya que es un proceso adicional al que normalmente se ha planteado y requiere un par de horas más para poder finalizar el proceso de extracción.

⁵⁷ NALINANON, Sitthipong. BENJAKUL, Soottawat y VISESSANGUAN, Wonnop. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). 2007, Vol 104, p. 594.10.1016/j.foodchem.2006.12.035

3. DISEÑO DEL ESCALAMIENTO PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN

Para poder dimensionar la planta de extracción de colágeno nativo a una escala de planta piloto fue necesario el desarrollo de un caso de estudio, para poder encontrar una solución a un problema o una oportunidad de aprovechamiento como lo es en este caso, se puede asemejar por ejemplo con el alto porcentaje de pieles no “aptas” para el proceso de curtido de cueros.

3.1 CASO DE ESTUDIO

Para poder realizar el escalamiento del proceso extractivo de colágeno se optó por realizar el escalamiento del proceso de extracción partir de un caso de estudio de una empresa de curtiembres llamada INPROPIELES LTDA, ubicado en la carrera 19 a #59 – 35 sur en el barrio San Benito en la localidad de Tunjuelito en la ciudad de Bogotá D.C; el barrio San Benito se caracteriza por ser un barrio dedicado casi en su totalidad al proceso de curtiembres, desde la recepción de la piel después del proceso de desposte del bovino hasta la venta y comercialización de productos terminados como chaquetas, correas, bolsos entre otros elementos elaborados en cuero. La piel es entregada por medio de un intermediario que es el encargado de negociar y adquirir las pieles desde distintos sitios como lo son los frigoríficos Guadalupe y San Martín, para la industria de curtiembres es necesario utilizar una piel con ciertas especificaciones como lo son, el tamaño, el grosor y finalmente que la piel se encuentre sin ningún tipo de modificación o daño, tales como marcas de propiedad, heridas a causa de filamentos o alambres, nuches⁵⁸, cualquier tipo de infección o maltrato, resequedad y/o enfermedades cutáneas.

Según datos suministrados por la industria INPROPIELES LTD⁵⁹, aproximadamente de 1000 pieles que son vendidas en frigoríficos o plantas de beneficio solo 400 se consideran “aptas” o útiles para la industria de curtiembres mientras que los 600 restantes son desechadas o utilizadas para distintos fines, el más común es para crear juguetes caninos, a partir de esta información se puede realizar una base de cálculo en la cual de un 100% de pieles que salen de las plantas de beneficio o frigoríficos tan solo un 40% son aptos para el uso textil y un 60% son utilizadas para los demás fines, es así como a partir de una base de 100 kg de piel bovina 40 kg

⁵⁸ El nuche es la larva de una mosca, científicamente conocida como *Dermatobia cyaniventris* que evoluciona en el tejido subcutáneo de mamíferos. Disponible en: (<https://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-50930>).

⁵⁹ OLARTE, Juan David. (San Benito, carrera 19 a #59 – 35 sur, Bogotá, Colombia, Entrevista a la empresa INPROPIELES LTDA, 2020).

serán destinados a la industria textil y los 60 kg restantes podrán ser utilizados como materia prima para el proceso extractivo de colágeno.

3.2 ESTUDIO DE MERCADO

Para dar inicio a este estudio, primero se debe identificar el problema por el cual se desea realizar el análisis y es que años atrás la piel de bovino era utilizada solo y exclusivamente para fines textiles lo que generaba una alta demanda en el mercado internacional y nacional. En la actualidad y con el pasar de los años se ha venido buscando otra aplicación para las pieles de bovino, ya que con la implementación de cueros sintéticos y demás, la demanda de pieles en Colombia ha venido perdiendo peso cada año, lo que genera aglomeración, desperdicio y residuos de piel, de acuerdo a la Secretaria Distrital de ambiente se generan en promedio 1.157 ton/mes de residuos sólidos en Bogotá, resultado del procesamiento de 70.000 pieles por mes. De esta cifra el 8.47% corresponde a residuos de sal, el 18.1% a residuos de sebo, el 5.7% a residuos de unche, el 11.5% a residuos de pelambre, el 9.6% a residuos de recorte, el 9% a residuos de lodos PTAR y el 37.5% a residuos por virutas de cuero.⁶⁰ La extracción de Colágeno es una propuesta que se ha venido desarrollando para la aplicación de pieles que no logran llegar a ocupar su lugar en la fábrica de textiles, y que por este motivo resultan rechazadas y desperdiciadas, la venta y comercialización de colágeno hidrolizado en el mundo es un tema importante a tener en cuenta, ya que este es utilizado como suplemento el cual aporta elasticidad a la piel y ayuda facilitar el cambio de células muertas para reducir los signos de envejecimiento. Si bien es cierto con el paso del tiempo la producción de colágeno en el cuerpo empieza a disminuir de manera natural, por esta razón se recurre a un producto el cual es sometido a un proceso de hidrólisis, es decir que se descompone en partículas pequeñas para que el cuerpo pueda asimilarlas, digerirlas y procesarlas de manera más fácil, de ahí su nombre de colágeno hidrolizado.⁶¹

3.2.1 Selección de público objetivo. Este producto está enfocado a personas adultas mayores de 25 años y en su preferencia personas de la tercera edad, teniendo en cuenta que después de los 25 se empieza a perder el 1.5% del total

⁶⁰ RAMIREZ, Jorge. Evaluación de la gestión integral de residuos sólidos en las curtiembres de San Benito. Universidad Militar Nueva Granada. 2014. Pág. 18.

⁶¹ EL UNIVERSAL, el colágeno hidrolizado y sus usos. [Sitio web]. [Consultado: 4 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.eluniversal.com.mx/menu/que-es-el-colageno-hidrolizado-y-para-que-sirve>

corporal de colágeno, a esto hay que sumarle factores externos como el estrés, la radiación solar y los cambios fisiológicos propios de la edad.⁶²

3.2.2 Análisis de competencia. El colágeno nativo después del proceso de hidrólisis se puede obtener en el mercado de suplementos alimenticios y productos cosméticos optamos por la rama alimenticia ya que se encontraron mayores posibilidades de incursionar en el mercado debido a su demanda en el país, en sitios de páginas web, como locatel, mercado libre, Ana María Lajusticia ⁶³ en el cual es posible encontrar los catálogos donde se encuentran productos de colágeno hidrolizado en diferentes presentaciones, en un rango de precios que oscilan entre los 25.000 y 160.000 pesos colombianos, un valor que ronda entre los 6.5 y 42 US. Para este estudio de mercado se plantean 3 alternativas en la que se incluyen los siguientes laboratorios, como se puede apreciar en la tabla 5, en la cual por medio de su oficio ofrecen un producto final al mercado y así mismo el valor de comercialización, presentación, cantidad y precio por gramo de producto. La empresa GELITA S.A es reconocida por ser un fabricante de péptidos de gelatina y colágeno para las industrias farmacéuticas y alimentarias, tiene su sede principal en Alemania y lleva muchos años comercializando productos en el mercado internacional, además cuenta con varios puntos de producción en Brasil y México, en lo que corresponde al cubrimiento y venta de colágeno hidrolizado a los países latinoamericanos. La implementación de una planta piloto y producción de colágeno podría ser una gran oportunidad para el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan promover la innovación del país en un periodo de tiempo corto, con el fin de elaborar un producto mínimo viable que cuente con las características de ser un producto garantizado en el mercado, ofrezca buena calidad y se pueda acceder a él por un costo económico.

⁶² HOLA.COM, ¿Por qué perdemos colágeno con la edad? [Sitio web]. [Consultado el 6 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.hola.com/estar-bien/20200303161889/razones-perdida-colageno-piel-gt/>

⁶³ ANAMARIA LAJUSTICIA. Catalogo Productos, Colágeno Hidrolizado. [Sitio web]. [Consultado el 29 de septiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.anamarialajusticia.es/producto/>

Tabla 5. Precios de venta Colágeno Hidrolizado.

Información Colágeno Hidrolizado						
Producto Hidrolizado	País	Apariencia	Laboratorio	Cantidad (g)	Precio x gramos (\$)	Precio (\$) COP
Colágeno	Colombia	Polvo	Biopronat	700	36	25.200
Colágeno	Brasil	Polvo	Gelita	500	96	48.000
Colágeno	Colombia	Polvo	Ana Maria Lajusticia	450	355	160.000

Fuente: elaboración propia

3.3 ESTUDIO TÉCNICO

Para el estudio técnico se contemplan y evalúan los aspectos técnicos y operativos del proyecto, desde el uso eficiente de los recursos disponibles para el proceso de extracción hasta la localización y nómina de la planta de producción, tal como lo expresa Gómez Mónica "Todo estudio técnico tiene como principal objetivo el demostrar la viabilidad técnica del proyecto que justifique la alternativa técnica que mejor se adapte a los criterios de optimización."⁶⁴

3.3.1 Localización del proyecto. Para la ubicación de la planta de producción se evaluaron dos locaciones ambas pertenecientes a las salidas del casco urbano de la ciudad, la primera locación tiene lugar en el sector industrial de la Calle 13, mientras que la segunda locación queda ubicada en el sector industrial de la autopista sur.

Estas dos locaciones se seleccionaron a partir de ciertas características necesarias para evaluar la ubicación más viable para el proyecto, algunas de estas características son: servicios de transporte, estado de las vías, servicios públicos y mercado de materias primas, a través de estos ítems y una matriz de decisión simple se otorgó una calificación de 1 a 5 a cada ítem comparándolo con las dos ubicaciones y se seleccionó la ubicación que obtenga el puntaje más alto, tal y como se muestra en la tabla 6.

⁶⁴ GÓMEZ ALAMILLA, Mónica. "Proyecto de Inversión para la Instalación de un Gimnasio en el Municipio de Tultitlán, Estado de México". Facultad de economía UNAM. México. Pág 53.

Tabla 6. Ítems de calificación en cuanto a la localización, servicios y adquisición de materia prima.

ÍTEM	UBICACIÓN	
	Calle 13	Autopista Sur
Servicios de transporte	3	4
Estado de las vías	4	2
Servicios públicos	3	4
Mercado materias primas	2	5
TOTAL	12	15

Fuente: elaboración propia

A partir de los resultados de la matriz de decisión es posible afirmar que el sector comprendido en la autopista sur posee mayores ventajas con respecto al sector de la calle 13, esto se debe principalmente a que la mayoría de industrias de curtiembre y de sacrificio bovino se encuentran en la zona sur de la ciudad, sin embargo la calle 13 ofrece un mejor estado de las vías ya que no maneja un tráfico pesado de la misma forma que lo hace la autopista sur, por otra parte la autopista sur ofrece servicios de transporte más económicos debido a que esta salida de la ciudad no maneja costos de peaje, costos que si se encuentran presentes en la salida de la calle 13.

3.3.2 Clase de tecnología. Para la producción de colágeno se decidió optar por una alternativa tecnológica de producción mecanizada debido a que existen grandes pedidos del producto, tal como lo expresa el estudio de mercado, la demanda de colágeno se encuentra en constante aumento, además es necesario cumplir con ciertas normas de calidad ya que es un producto de uso personal y hay un mayor requerimiento de capital para inversión.⁶⁵

$$V_c = 150 \frac{\$}{g} * 1000 \frac{g}{kg} * 3.126 \frac{kg}{lote} * 3 \frac{lotes}{semana} * 4 \frac{semanas}{mes}$$

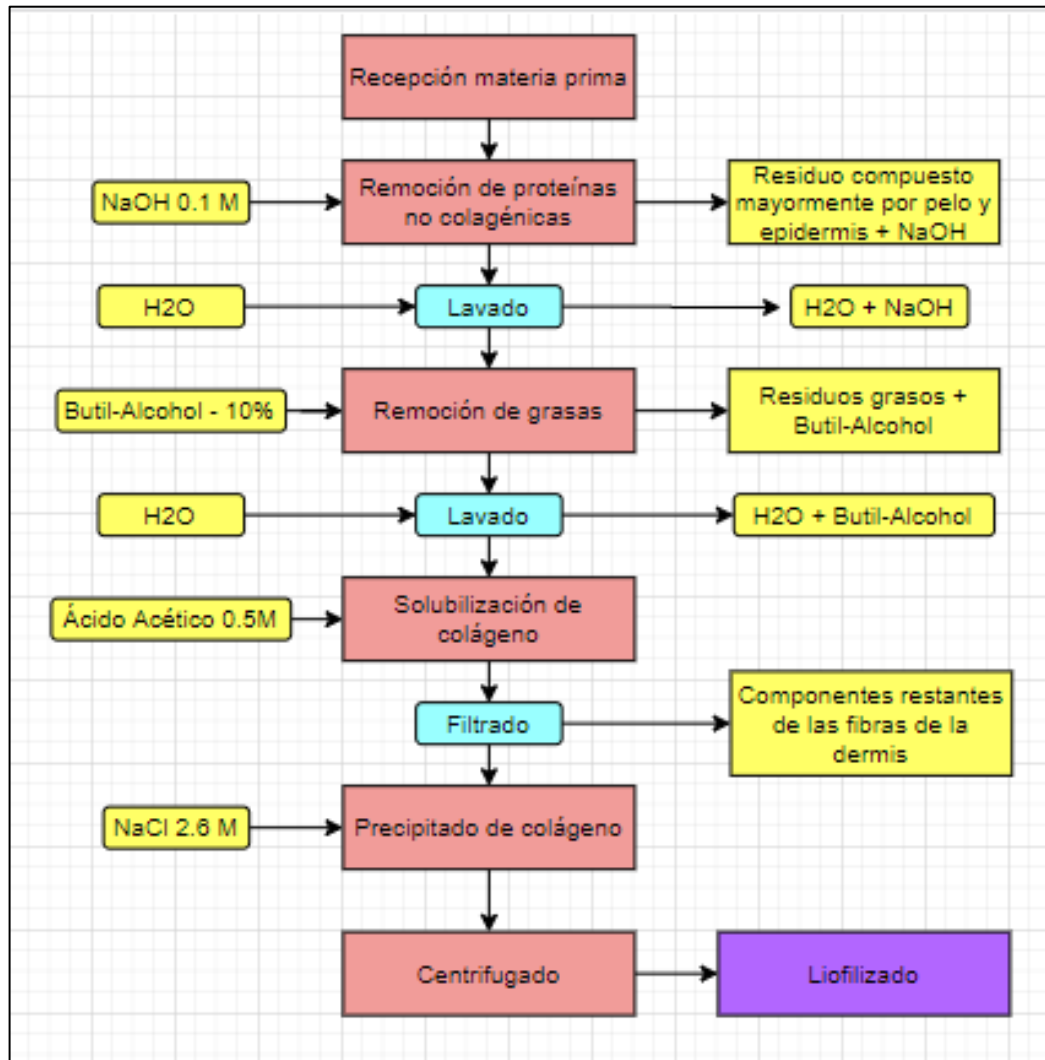
$$V_c = \$5'626.800 COP$$

⁶⁵ MEZA. Jhonny de Jesús. Evaluación Financiera de Proyectos. Vol. 2. Ed, Ecoe ediciones, Pág. 27. 2010.

3.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Para describir el proceso de extracción de colágeno nativo inicialmente se desarrolló un diagrama de procesos para identificar la cantidad de equipos y corrientes necesarias dentro del proceso, como lo muestra la figura 12.

Figura 12. Diagrama de procesos de extracción de Colágeno.



Fuente: QUINTERO, Julián. ZAPATA, José. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Grupo de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Antioquia, Vol. 28(1), Pág.109-120 (2017).

Tal como se aprecia en la figura 12, el proceso se puede separar en 6 etapas las cuales son:

- Remoción de proteínas no colágenas
- Remoción de grasas
- Solubilización de colágeno
- Precipitación de colágeno
- Centrifugado
- Liofilizado

Las primeras etapas correspondientes a la remoción de componentes que no son propios del colágeno requieren un lavado posterior para eliminar cualquier presencia de los reactivos químicos utilizados (NaOH y Butil-Alcohol) y para el almacenamiento del colágeno en el proceso final es necesario un proceso de liofilización el cual puede o no estar presente en la planta de producción. Debido a que no se pudo realizar la experimentación a partir de un laboratorio no se pudieron tomar datos experimentales, sin embargo a partir de la revisión bibliográfica se pudieron obtener y comparar datos con bastante similaridad de materia prima, como lo son los resultados obtenidos en el artículo de Li Dong et al⁶⁶ cuya materia prima es la misma a la evaluada en este proyecto más sin embargo maneja procesos adicionales; Los resultados obtenidos por Li Dong a partir de una solubilización por vía mixta fueron de un 10.42% de extracción de colágeno nativo para una muestra pretratada con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y un 41.31% para la extracción de colágeno nativo a partir de un pretratamiento con ácido clorhídrico (HCl).

Con respecto al balance de materia se decidió por realizar un balance global, como se aprecia en la solución del balance global de materia a figura 13 debido a que no se encontró información referente a los residuos involucrados en el proceso de extracción de colágeno, por lo cual el dimensionamiento de la planta se tomará constante el proceso al volumen de entrada y los resultados de extracción se ceñirán al proceso de extracción del artículo de Li Dong y se utilizará el resultado de extracción con un pretratamiento de EDTA (10.42%), a partir de este resultado se puede calcular la cantidad de colágeno nativo presente en los 60 kg de materia prima, este resultado se calcula hallando el 10.42% de 60 kg lo que genera una cantidad de colágeno de 6.252 kg de colágeno.

$$M_{entrada} = M_{salida}$$

⁶⁶ LI. Dong, YANG. Wei, LI. Guo-ying, Extraction of native collagen from limed bovine split wastes through improved pretreatment methods. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. China Vol. 83, Pág. 1045. (2008).

$$\begin{aligned}
 M_{\text{entrada}} &= M_{\text{colágeno}} + M_{\text{residuo}} \\
 M_{\text{colágeno}} &= (\gamma_{\text{colágeno}} * M_{\text{colágeno}}) \\
 M_{\text{entrada}} &= (\gamma_{\text{colágeno}} * M_{\text{entrada}}) + M_{\text{residuo}} \\
 60 \text{ kg} &= (0.1042 * 60 \text{ kg}) + M_{\text{residuo}} \\
 M_{\text{colágeno}} &= 6.252 \text{ kg} \\
 M_{\text{residuo}} &= 53.748 \text{ kg}
 \end{aligned}$$

Figura 13. Balance global de materia del proceso de extracción de Colágeno.



Fuente: LI. Dong, YANG. Wei, LI. Guo-ying, Extraction of native collagen from limed bovine split wastes through improved pretreatment methods. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. China Vol. 83, Pág. 1045. (2008).

3.5 DESCRIPCIÓN DE EQUIPOS

Para determinar el número de equipos necesarios con el fin de realizar el proceso extractivo de colágeno se analizó el diagrama de procesos de la figura 12, si bien se logran apreciar 4 procesos básicos, no es necesario utilizar un equipo por cada proceso como lo describe Li Dong en su artículo Extraction of native collagen from limed bovine split wastes through improved pretreatment methods en el cual mencionan un bombo rotativo en el proceso inicial mas no se menciona una extracción de la materia prima durante el resto del proceso extractivo⁶⁷, por lo que por ejemplo, los primeros pasos de remoción de proteínas no colágenas y remoción de grasas incluyendo sus respectivas etapas de lavado se pueden realizar en un mismo equipo a través de una válvula en la parte inferior del equipo la cual permitiría remover los solventes y reactivos presentes en cada proceso sin tener que retirar la materia prima, lo cual otorga una gran ventaja para mantener las condiciones de

⁶⁷ LI, Dong, YANG, Wei. LI. Guo-ying. Extraction of native collagen from limed bovine split wastes through improved pretreatment methods. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. China Vol. 83, Pág. 1045 (2008)

asepsia a lo largo del proceso. Por otra parte, para el proceso de solubilización de colágeno es recomendable realizarlo en un equipo aparte debido a que este es el proceso más largo de todos, con un tiempo de reacción de 24 horas⁶⁸ por lo que mientras se lleva a cabo esta solubilización se pueden realizar en paralelo los procesos de remoción de proteínas no colágenas y remoción de grasas los cuales poseen un tiempo de reacción de 6 horas y 18 horas respectivamente,⁶⁹ es así como se pueden manejar dos lotes de forma paralela para manejar de un modo más eficiente los tiempos de producción.

Otra ventaja que nos otorga el uso de una menor cantidad de equipos para el proceso extractivo del colágeno es la facilidad de conectar las corrientes de servicio para los distintos requerimientos del proceso como lo son las conexiones a la energía eléctrica para el poder del motor y conexiones hidráulicas para el proceso de lavado de las pieles, esto nos permite diseñar una planta de producción más simplificada y eficaz.

La última etapa del proceso de extracción de colágeno es la liofilización, este proceso se realiza con el propósito de conservar el producto a través de cambios térmicos y de presión, lo más importante del método es que no altera la estructura fisicoquímica del producto y permite su conservación sin cadena de frío, ya que su bajo porcentaje de humedad permite obtener una elevada estabilidad microbiológica⁷⁰ para este proceso se decidió utilizar un equipo liofilizador de escala piloto, el equipo fue cotizado en High-tech Zone, de la ciudad de Zhengzhou, China, la cual ofrece el equipo Freeze dryer BFD-50F. con área de bandeja de 0.5 4m², un material de acero inoxidable AISI 304 y un consumo de 220V.

Medidor de dureza o durómetro Los procesos previos a la extracción de colágeno nativo son los procesos de caracterización de la piel, algunas de estas mediciones se pueden realizar de una forma sencilla con equipos no tan costosos como lo son los durómetros, Los campos de aplicación del durómetro digital para Shore A son especialmente las gomas blandas, los elastómeros, el caucho natural, neoprenos, resina para colada, PVC blando, piel entre otros, por lo que es posible evaluar la piel bovina. . Se pueden apreciar los diferentes tipos de durometros en la siguiente tabla 7.

⁶⁸ MOUSTAFA, Rizk. NASSER, Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY*. Vol. 32, No. (3). Pág. 1602. (2016).

⁶⁹ *IBID*. Pág. 1603. (2016).

⁷⁰ PARZANESE. Magali. Tecnologías para la industria alimentaria, Liofilización de alimentos. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. [en línea]. Argentina Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revistas/nota.php?id=209>

Tabla 7. Tipos de Durometro, Marca y precio.

Durometros		
ÍTEM	Marca	Precio (COP)
Durómetro digital	PCE-DD A.	582.267
Durometro análogo shore A	X.F	666.400

Fuente: elaboración propia.

pH metro: La medición del pH se realiza con el fin de corroborar que las pieles se encuentren en un estado neutro, adicionalmente el pH metro se utiliza para controlar los niveles de acidez dentro de los procesos de extracción. Se pueden apreciar los diferentes tipos de pH metros en la siguiente tabla 8.

Tabla 8. Tipos de pH metro, marca y precio.

pH metro		
ÍTEM	Marca	Precio (COP)
Medidor de pH	MW-102.	560.564
Durometro análogo shore A	X.F	666.400

Fuente: elaboración propia.

3.6 DESCRIPCIÓN DE REACTIVOS

En esta sección se encuentran los reactivos para llevar a cabo la extracción, en la cual se mencionan sus conceptos y apariencias, además de su costo de obtención por presentación. Los reactivos de los cuales se tiene información son de carácter analítico para uso de laboratorio.

3.6.1 Hidróxido de Sodio. Es una base fuerte conocida como soda cáustica, a temperatura ambiente se suele encontrar en estado sólido blanco cristalino sin olor, el cual con el tiempo va absorbiendo humedad del aire. Cuando es disuelta en agua o se neutraliza con ácido libera gran cantidad de calor, el cual puede llegar a encender materiales combustible.⁷¹ El costo del hidróxido de sodio es de aproximadamente 85.000 COP por kg.⁷²

⁷¹ WIKIPEDIA, Hidróxido de sodio. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Hidr%C3%B3xido_de_sodio

⁷² AUROSQUIMICOS, Ltda. La mano amiga de su laboratorio. Hidróxido de Sodio sólido. Cotización. Bogotá. Nit:900.127.133-2.

3.6.2 Butil Alcohol. Es un alcohol compuesto por 4 carbonos y 10 moléculas de hidrógeno, se encuentra naturalmente como subproducto de la fermentación de azúcares y otros carbohidratos.⁷³ Es necesario en el proceso de extracción de colágeno para retirar y remover algunas impurezas además de grasas que puedan quedar en la piel. El butil alcohol es de difícil adquisición ya que este es utilizado para la producción de estupefacientes en el país, sin embargo, se logró encontrar el precio de este en la red de internet por un costo alrededor de 33 US en una concentración del 99%.⁷⁴

3.6.3 Ácido Acético. Conocido también como ácido etanoico el cual en disoluciones acuosas puede llegar a perder el protón del grupo carboxilo para dar su base conjugada, su pH es moderadamente ácido con un valor de 4,8 y se le determina por ser un ácido de carácter débil.⁷⁵ Es necesario para el proceso de extracción en la etapa de solubilización de proteínas, buscando obtener moléculas de colágeno en la disolución presente. El costo del ácido acético es de aproximadamente 84.000 COP por litro.⁷⁶

3.6.4 Cloruro de Sodio. Es conocido normalmente como sal común o sal de mesa, es un compuesto iónico formado por un catión de sodio (Na^+) y un anión de cloro (Cl^-) con múltiples aplicaciones en la industria, la medicina entre otros.⁷⁷ Es necesario para la etapa de precipitación. Este tiene un valor de aproximadamente 61.000 COP por kg.⁷⁸

A continuación, se estima los costos de reactivos para la extracción de colágeno a proyección de planta piloto los cuales tienen un valor aproximado, tal como se puede observar en la tabla 7. Los valores reales correspondientes a los reactivos en estado analítico y según su presentación se pueden observar en el Anexo C.

⁷³ WIKIPEDIA, Butil Alcohol o Butan-1-ol. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Butan-1-ol>

⁷⁴ ALFAAESAR. 1-butanol, 99%. [Sitio web]. [Consultado el 14 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.alfa.com/es/catalog/L13171/>

⁷⁵ WIKIPEDIA, Ácido Acético. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_ac%C3%A9tico#:~:text=El%C3%A1cido%20ac%C3%A9tico%20\(tambi%C3%A9n%20llamado,2H4O2\).](https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_ac%C3%A9tico#:~:text=El%C3%A1cido%20ac%C3%A9tico%20(tambi%C3%A9n%20llamado,2H4O2).)

⁷⁶ AUROSQUIMICOS, Ltda. La mano amiga de su laboratorio. Ácido acético. Cotización. Bogotá. Nit:900.127.133-2.

⁷⁷ WIKIPEDIA, Cloruro de Sodio. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Cloruro_de_sodio

⁷⁸ AUROSQUIMICOS, Ltda. La mano amiga de su laboratorio. Cloruro de Sodio. Cotización. Bogotá. Nit: 900.127.133-2.

A continuación, se procede a calcular el volumen necesario en ml para llevar a cabo la extracción de colágeno teniendo claro que estos fueron realizados con reactivos analíticos. Las disoluciones se hallaron con ayuda de la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{10} = \frac{\text{Masa de la muestra}}{\text{Masa de la muestra} + \text{ml de diluyente}}^{79}$$

Para el consumo del Hidróxido de Sodio (NaOH) en la extracción se realizó lo siguiente:

$$\frac{1}{10} = \frac{60 \text{ kg de piel}}{60 \text{ kg de piel} + X}$$

Teniendo en cuenta que X, corresponde a los ml de solución para la etapa de retiro de proteínas no colágenicas. Despejando la incógnita X, nos da como resultado.

$$X = 540 \text{ L de Solución de NaOH}$$

El mismo cálculo se realizó para el butil alcohol el cual nos dio como resultado 540 L de solución de butil alcohol y para el ácido acético se tuvo en cuenta otra proporción.

$$\frac{1}{30} = \frac{60 \text{ kg de piel}}{60 \text{ kg de piel} + X}$$

$$X = 1740 \text{ L de Solución de Ácido acético}$$

Por lo que se puede analizar que al usar reactivos analíticos se utilizan volúmenes grandes de solución con reactivos y que por esta razón también se elevan los costos en la producción.

Por otro lado, es necesario el Cloruro de Sodio (NaCl) a una concentración 2.6 molar, para la precipitación del colágeno.

Tabla 9. Costos de reactivos para proyección a planta piloto

⁷⁹ ARANA, Inés. Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología. Diluciones y concentraciones, muestras líquidas y sólidas. Universidad del país vasco. [Consultado el 30 de septiembre del 2020]. Disponible en: https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/1654/mod_resource/content/1/Tema_1._Diluciones_y_concentraciones.pdf

Reactivos	Precio	Costo COP
Hidróxido de Sodio (kg)	85.000	183.000
Butil-Alcohol (L)	126.000	4.156.000
Ácido Acético (L)	84.000	6.815.000
Cloruro de Sodio (kg)	61.000	100.000
	TOTAL	11.254.000

Fuente: elaboración propia.

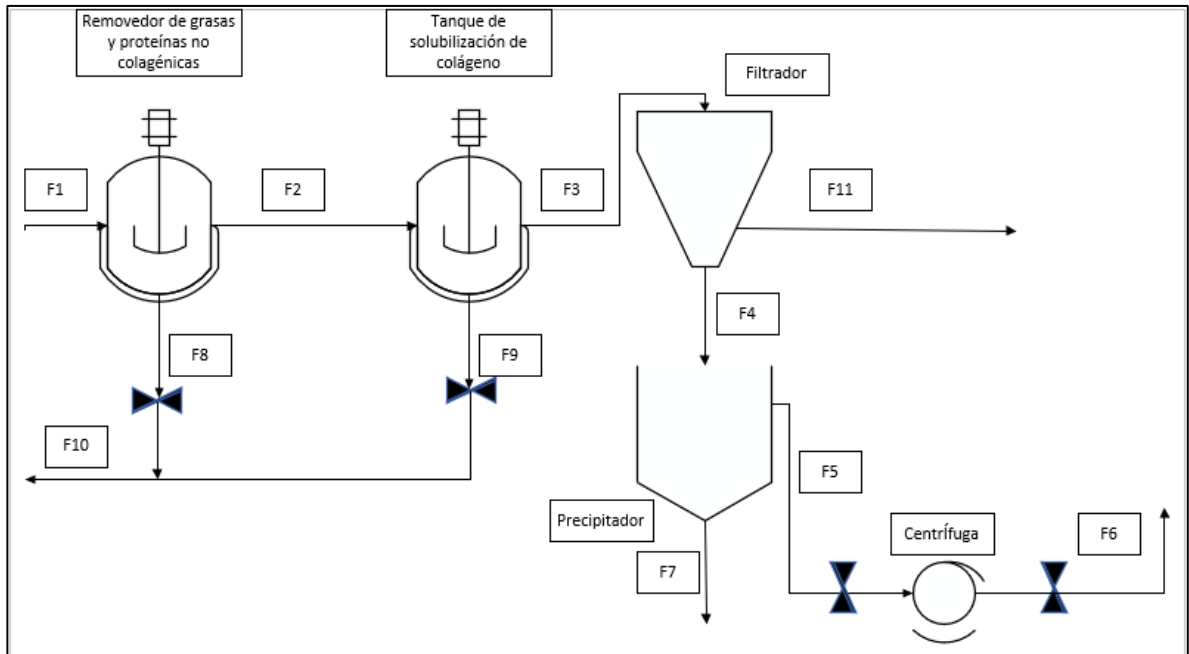
3.7 ORGANIZACIÓN DE LA PLANTA

Para desarrollar el dimensionamiento de la planta se ubicaron los dos equipos de agitación, el equipo de precipitado y el filtro, esto con el fin de obtener las medidas mínimas necesarias para el dimensionamiento total de la planta de extracción de colágeno nativo a partir a una escala de planta piloto.

A continuación, en la figura 14, se muestra el diagrama PFD, para la extracción de colágeno, el secuenciamiento del diagrama se sustenta en el artículo del Journal of chemical technology and Biotechnology de China en el cual extraen colágeno nativo a partir de piel bovina a nivel de planta piloto.⁸⁰

⁸⁰ LI, Dong, YANG, Wei. LI. Guo-ying. Extraction of native collagen from limed bovine split wastes through improved pretreatment methods. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. China Vol. 83, Pág. 1045 (2008)

Figura 14. Diagrama PFD del proceso de extracción de Colágeno.



Fuente: elaboración propia.

Descripción de flujos:

- **F1:** En el flujo 1 se encuentra la entrada de la materia prima, sin ningún proceso previo.
- **F2:** Luego del proceso de remoción de grasas y proteínas no colágenicas el flujo consta de cadenas proteicas de colágeno adheridas a las fibras de la piel.
- **F3:** En el flujo 3 ya se encuentran solubilizadas las proteínas de colágeno por lo que se procede a separar la proteína del resto de componentes.
- **F4:** Luego del filtrado se encuentra el colágeno junto a otros componentes formando una solución miscible.
- **F5:** El resultado de la remoción del sobrenadante es la proteína de colágeno ya separada.
- **F6:** Luego de la centrifugación se espera obtener una proteína de colágeno tipo II con alta pureza, el producto ya está listo para el proceso de liofilización.
- **F7:** El residuo del precipitado se dispone en un área de residuos en el que tratarán el cloruro de sodio.
- **F8:** El flujo residual del proceso de remoción de grasas y proteínas no colágenicas está compuesto de residuos de pelo, piel bovina, grasa animal

entre otros componentes de la epidermis, así como los solventes NaOH y Butil-Alcohol.

- **F9:** En el flujo 9 se espera obtener los residuos de piel solubilizada, así como una dilución de ácido acético y agua.
- **F10:** Suma de flujos 8 y 9.
- **F11:** Residuo proveniente del proceso de filtrado.

4. ANÁLISIS FINANCIERO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN

Para realizar el análisis financiero del proceso extractivo de colágeno se realizó la formulación teórica del proyecto teniendo en cuenta las variables de inversión de costos de adquisición de equipos, pagos de nóminas entre otros costos, así mismo se decidió manejar una proyección de precios constantes en la cual tanto el precio de venta del producto como los costos de producción del mismo se mantendrán constantes a lo largo del tiempo, los costos de venta se ajustaron comparando los precios de varias empresas para dar un precio competitivo a los clientes, con respecto a los análisis de factibilidad se desarrolló un flujo de caja evaluado a un tiempo de 15 meses, durante este intervalo de tiempo se determinó el Weighted Average Cost of Capital (WACC) para determinar de mejor forma los costos de inversión independientemente de las fuentes de financiación y así determinar una tasa que genere un valor agregado para la inversión del proyecto, adicionalmente se utilizaron ciertos métodos de evaluación de proyectos de inversión como la Tasa Interna de Retorno (TIR) y el Valor Presente Neto (VPN).

4.1 ESTUDIO ORGANIZACIONAL

El estudio organizacional se realizó para dar a conocer de manera detallada la organización de la planta de extracción de colágeno en caso de que el producto comience a competir en el mercado local, esto incluye determinar la nómina de la planta, asignar las responsabilidades de la misma y determinar los pagos y gastos obligatorios de producción.

4.1.1 Selección de nómina. Para la distribución de cargos se determinó inicialmente las actividades necesarias para la producción de colágeno a la escala ajustada anteriormente y se analizó que se requiere de dos operarios de planta para llevar a cabo el proceso productivo debido a la cantidad de procesos implicados y las cantidades determinadas, se requiere también de un ingeniero químico que controle el proceso y determine la calidad de los productos y por ultimo un gerente administrativo que controle la comercialización del producto y el funcionamiento de la planta, las responsabilidades asociadas a los cargos serán:

- **Operario de planta:** Atender la alimentación y salida de cada proceso, así como de llevar el tiempo de reacción de los mismos para manejar los rendimientos esperados, cargar y descargar la materia prima proveniente de los puntos de acopio.

- **Ingeniero Químico:** El ingeniero químico deberá de controlar el proceso y estar al pendiente de las variables del control del proceso, adicionalmente será el encargado de realizar pruebas de calidad del proceso, así como de realizar los balances de caja.
- **Gerente administrativo:** El gerente administrativo tiene a cargo el manejo de recursos humanos y demás secciones relacionadas, tiene como responsabilidad organizar y distribuir los pagos de nómina, así como coordinar las compras de materia prima por parte de los proveedores.

4.1.2 Pagos de nómina. Para determinar los pagos de nómina de cada trabajador de planta se determinó a partir de información suministrada a través de un sitio web ⁸¹ por lo que el salario del ingeniero químico y el del director administrativo será de un millón quinientos mil pesos (1'500.000 COP), respecto al salario del operario de planta trabajará con un salario de un millón de pesos (1'000.000 COP) incluyendo su aporte o cotización a la ARL dependiendo del riesgo que pueda plantear el proceso extractivo de colágeno, la Administración de riesgos laborales o ARL es definido por Coneo como “entidades aseguradoras de vida que desarrollan sus actividades con los seguros laborales; es decir, son aseguradoras que cubren riesgos de tipo laboral, incluidos aquellos que se puedan generar de camino al lugar de trabajo”.⁸² Para el año 2020 el salario mínimo legal vigente (S.M.L.V.) encuentra establecido en 877.803 COP y según datos de la compañía SafetYA el aporte respectivo al ARL para un S.M.L.V. ⁸³ En la siguiente tabla 8, se muestran los valores de cotización según el riesgo.

⁸¹ INDEED Bizmark Colombia. Salarios de Ingeniería química, operario de planta y recursos humanos en Bizmark Colombia. [sitio web] Disponible en: https://co.indeed.com/cmp/Bizmark-Colombia/salaries?job_category=engchem.

⁸² CONEO. Margarita, Conozca qué es una ARL, cuales con sus funciones y que ley las regula en Colombia. Colombia Diario la República [en línea] 28 agosto 2019. Disponible en <https://www.larepublica.co/especiales/especial-salud-agosto-2019/conozca-que-es-una-arl-cuales-con-sus-funciones-y-que-ley-las-regula-en-colombia-2901676>.

⁸³ SAFETYA. Pago de aportes a la ARL aumenta en el 2020. SafetYA. [En línea] Publicado: diciembre 26 del 2019. Actualizado: febrero 28, 2020. Disponible en: <https://safetya.co/pago-de-aportes-a-la-arl-aumenta-en-el-2020/>

Tabla 10. Cotización según riesgo, ARL 2020.

Nivel de Riesgo	% Cotización (%)	Valor a pagar (COP)
Riesgo I	0.522	4.852
Riesgo II	1.044	7.164
Riesgo III	2.436	21.383
Riesgo IV	4.350	38.184
Riesgo V	6.960	61.095

Fuente: elaboración propia

Según la normativa de clasificación de riesgos para el ARL las labores del ingeniero químico y el operario se pueden encontrar en una clasificación de riesgo V por lo que el aporte de afiliación será de 6.96% del salario, eso significa un aporte de \$104.400 COP para el ingeniero químico y \$69.600 COP para el operario.

4.2 ESTUDIO FINANCIERO

El estudio financiero se determinó a partir de los flujos vistos anteriormente y expresados en un flujo de caja para determinar su viabilidad financiera en términos de métodos de evaluación de proyectos como la Tasa interna de retorno (TIR) o el Valor presente neto (VPN), estos métodos serán evaluados a partir de los costos de materia prima, de los equipos y demás gastos de producción.

4.2.1 Costos de materia prima y reactivos. Una de las principales ventajas a nivel financiero del proyecto es el costo de la materia prima, la piel bovina si bien es un subproducto conocido a nivel industrial, su costo de compra es bastante asequible ya que se considera como un producto “*commoditie*” o sin valor agregado, debido a que no ha sufrido ningún cambio físico o químico que le otorgue un valor adicional de compra. El frigorífico Guadalupe es una de las plantas de sacrificio bovino más grandes de Bogotá, categorizadas por el INVIMA en “Clase 1” en el 2015 permite que esta planta de sacrificio pueda exportar carne de res a otros países. El frigorífico Guadalupe brinda información actualizada sobre los precios de ciertos productos y subproductos de la industria cárnica entre los cuales se encuentra la piel bovina, según información de su sitio web la piel tiene un precio de \$150 COP por cada kilogramo (\$/kg) por lo que para las bases de cálculo realizadas en este proyecto en la cual la alimentación del proceso es de 60 Kilogramos de piel, su costo de compra es de tan solo \$9.000 COP.⁸⁴ Adicionalmente se tienen en

⁸⁴ EFEGE. Información Precios. [sitio web]. Frigorífico Guadalupe Ltda. Disponible en: <https://www.efege.com/indicadores.html>

cuenta los costos de los reactivos y solventes utilizados en el proceso de extracción, los cálculos de flujos, así como los costos de reactivos se encuentran descritos en el capítulo 3, en la tabla 9.

4.2.2 Costos de equipos. A partir del capítulo 3 del proyecto se evaluaron y seleccionaron los equipos que más se ajustaran a los requerimientos planteados, para el diseño y cotización de los equipos fue realizado por la empresa ITALNOX S.A.S. NIT: 900583068-6, no se tuvo en cuenta los costos energéticos ni los costos por servicios. Los valores de inversión de equipos se resumieron en la siguiente tabla 9.

Tabla 11. Costos de equipos de Inversión.

Descripción	Cantidad	Valor (COP)
Equipos de agitación	2	8'500.000
Equipo de filtración	1	1'800.000
Mallas	1	600.000
Precipitador	1	1'300.000
Equipo liofilizador	1	50'272.000
Durómetro	1	582.000
pH metro	1	865.000
	TOTAL	72'419.000

Fuente: elaboración propia

El costo final de inversión de compra equipos es de \$ 72'419.000 COP, sin embargo, los costos pueden elevarse al estimar los costos de instalación y funcionamiento. Este valor se tendrá en cuenta como valores de activos fijos y será incluido dentro del flujo de caja para el periodo 0 de evaluación, del total de la inversión planteada, el 70% será a través de recursos propios y el 30% restante será financiado a través de un préstamo bancario, según el blog financiero “rankia” una de las mejores tasas de crédito para pymes⁸⁵ para agosto del 2020 la ofrece el banco AV. Villas con una tasa de interés del 10.95%⁸⁶ efectivo anual (e.a.), sin embargo para la proyección del flujo de caja que se plantea dentro del proyecto se requiere de una tasa efectiva

⁸⁵ Pymes: Pequeñas y medianas empresas.

⁸⁶ VELEZ. Luis Eduardo, Mejores tasas de crédito para pymes agosto 2020 [blog]. Rankia. Colombia 01 de mayo de 2020. Disponible en <https://www.rankia.co/blog/mejores-creditos-y-prestamos-colombia/3927261-mejores-tasas-credito-para-pymes-agosto-2020>

mensual (e.m) para poder evaluar la amortización de la financiador durante cada mes, este cálculo se desarrolló a partir de la ecuación: ⁸⁷

$$[P(1 + t_x)^n = P(1 + t_y)^n]$$

Donde:

P: Valor financiado

t_x : Tasa de interés periódica

n: número de veces que se liquida la tasa periódica en el período expresado.

$$21.725.700(1 + 0.1095)^1 = 21.725.700(1 + t_y)^{12}$$
$$t_{e.m.} = 0.8446\%$$

Una vez hallada la tasa de interés efectiva mensual se desarrolló la tabla 10, correspondiente a la amortización del proyecto para así, determinar los pagos de amortización del valor financiado a lo largo de la proyección fijada que en este caso fue de 15 meses.

⁸⁷ MEZA. Jhonny de Jesús. Matemática financiera aplicada. ECOE Ediciones Ltda. Bogotá. 4° Edición, 144 p. (2011) ISBN 978-958-648-728-3

Tabla 12. Tabla de Amortización del proyecto

Periodo	Pago	Pago capital	Pago interés	Saldo
0				\$ 21.725.780
1	\$ 1.548.332,74	\$ 1.364.538,35	\$ 183.800,10	\$ 20.361.241,75
2	\$ 1.548.332,74	\$ 1.376.082,35	\$ 172.256,11	\$ 18.985.159,40
3	\$ 1.548.332,74	\$ 1.387.724,00	\$ 160.614,45	\$ 17.597.435,39
4	\$ 1.548.332,74	\$ 1.399.464,15	\$ 148.874,30	\$ 16.197.971,24
5	\$ 1.548.332,74	\$ 1.411.303,62	\$ 137.034,84	\$ 14.786.667,63
6	\$ 1.548.332,74	\$ 1.423.243,24	\$ 125.095,21	\$ 13.363.424,38
7	\$ 1.548.332,74	\$ 1.435.283,88	\$ 113.054,57	\$ 11.928.140,50
8	\$ 1.548.332,74	\$ 1.447.426,38	\$ 100.912,07	\$ 10.480.714,12
9	\$ 1.548.332,74	\$ 1.459.671,61	\$ 88.666,84	\$ 9.021.042,51
10	\$ 1.548.332,74	\$ 1.472.020,43	\$ 76.318,02	\$ 7.549.022,07
11	\$ 1.548.332,74	\$ 1.484.473,73	\$ 63.864,73	\$ 6.064.548,35
12	\$ 1.548.332,74	\$ 1.497.032,37	\$ 51.306,08	\$ 4.567.515,97
13	\$ 1.548.332,74	\$ 1.509.697,27	\$ 38.641,19	\$ 3.057.818,70
14	\$ 1.548.332,74	\$ 1.522.469,31	\$ 25.869,15	\$ 1.535.349,40
15	\$ 1.548.332,74	\$ 1.535.349,40	\$ 12.989,06	\$ 0,00

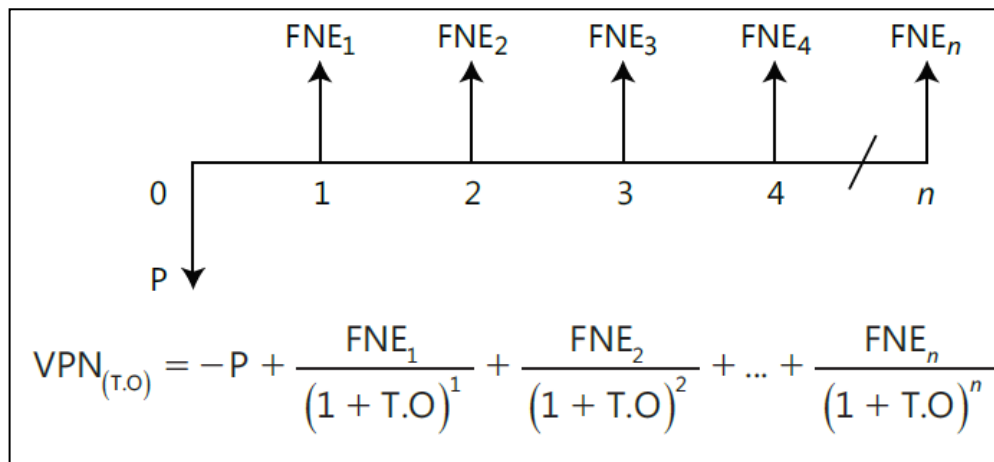
Fuente: elaboración propia.

4.3 VPN y TIR

El Valor Presente Neto (VPN) y la Tasa Interna de Retorno (TIR) fueron los métodos de evaluación de inversión de proyectos que se utilizaron para la realización del análisis financiero del proyecto. En el libro *Matemática Financiera Aplicada*, Meza define el VPN como “una cifra monetaria que resulta de comparar el valor presente de los ingresos con el valor presente de los egresos”, para calcular el valor presente neto consiste en comparar los ingresos con los egresos en pesos de la misma fecha.⁸⁸ La ecuación del VPN se calcula de la siguiente forma y se puede observar en la figura 15.

⁸⁸ MEZA. Jhonny de Jesús. *Matemática financiera aplicada*. ECOE Ediciones Ltda. Bogotá. 4° Edición, pág. 496. (2011) ISBN 978-958-648-728-3

Figura 15. Diagrama de ilustración para el cálculo del VPN.



Fuente: MEZA. Jhonny de Jesús. Matemática financiera aplicada. ECOE Ediciones Ltda. Bogotá. 4° Edición, pág. 496. (2011) ISBN 978-958-648-728-3

Donde:

P: Inversión Inicial.

FNE: Flujos netos de efectivo

T.O: Tasa de oportunidad

La Tasa Interna de Retorno o TIR es definida por Meza como “la tasa de interés que hace que el VPN=0 o, también, la tasa de interés que iguala el valor presente de los flujos descontados con la inversión”⁸⁹, esta tasa de interés es el valor máximo al que un inversionista puede solicitar el préstamo de inversión para obtener beneficios, para calcular la TIR se puede realizar a través de herramientas tecnológicas como softwares de economía tales como PEAT⁹⁰ o SeniorConta⁹¹, a través de Excel, o mediante la siguiente ecuación, ver figura 16.

⁸⁹ IBID P.517

⁹⁰ PEAT. La nueva herramienta de Análisis Económico de Proyectos. [sitio web]. Disponible en: <https://www.software-shop.com/producto/peat>

⁹¹ SeniorConta. Programa de Contabilidad financiera y analítica para PYMES. España [sitio web] Disponible en: <https://www.dsgsoftware.com/programa-de-contabilidad>

Figura 16. Diagrama de ilustración para el cálculo de la TIR.

$$VPN = 0 = -P + \frac{FNE_1}{(1 + TIR)^1} + \frac{FNE_2}{(1 + TIR)^2} + \dots + \frac{FNE_n}{(1 + TIR)^n}$$

Ordenando la ecuación, se tiene:

$$P = \frac{FNE_1}{(1 + TIR)^1} + \frac{FNE_2}{(1 + TIR)^2} + \dots + \frac{FNE_n}{(1 + TIR)^n}$$

Fuente: MEZA. Jhonny de Jesús. Matemática financiera aplicada. ECOE Ediciones Ltda. Bogotá. 4° Edición, pág. 496. (2011) ISBN 978-958-648-728-3

Donde:

P: Inversión Inicial.

FNE: Flujos netos de efectivo

VPN: Valor Presente Neto

4.4. FLUJO DE CAJA

Para analizar un posible periodo de recuperación de la inversión se realizó una proyección a 15 meses, en los cuales se evaluará la utilidad bruta (ingresos – costos de operación), utilidad antes y después de impuestos (impuestos, gastos e ingresos no operacionales, intereses y depreciaciones) y el flujo neto de caja utilizando los valores de amortizaciones y pagos de nómina, este flujo se desarrolló con un costo de producto de \$150 COP/gramo. por lo que los ingresos por servicios mensuales serán de \$5'626.800 COP, los valores del VPN y la TIR se obtuvieron a través de la herramienta computacional de Excel, en esta se calculó el flujo neto de caja mes a mes para observar y analizar las pérdidas o ganancias del proyecto a lo largo del horizonte del proyecto, en la figura 17 se puede observar un fragmento del flujo de caja durante los primeros periodos.

Figura 17. Flujo de caja del proyecto.

Periodo	0	1	2	3	4
Ingresos por servicio (+)	-	\$ 11.253.600	\$ 11.253.600	\$ 11.253.600	\$ 11.253.600
Costos de operación (-)	-	\$ 11.541.000	\$ 11.541.000	\$ 11.541.000	\$ 11.541.000
Utilidad bruta	\$ 0	-\$ 287.400	-\$ 287.400	-\$ 287.400	-\$ 287.400
Gastos no operacionales (-)	-	\$ 378.000	\$ 383.670	\$ 389.425	\$ 395.266
Gastos Financieros (Intereses) (-)	-	\$ 428.865	\$ 401.929	\$ 374.766	\$ 347.372
Depreciaciones (-)	-	\$ 1.664.727	\$ 1.664.727	\$ 1.664.727	\$ 1.664.727
Ingresos No Operacionales (+)	-	-	-	-	-
Utilidad antes de Impuestos (=)	\$ 0	-\$ 2.758.992	-\$ 2.737.726	-\$ 2.716.317	-\$ 2.694.765
Impuestos (-)	-	-\$ 910.467	-\$ 903.450	-\$ 896.385	-\$ 889.273
Utilidad despues de Impuestos (=)	\$ 0	-\$ 910.467	-\$ 1.834.277	-\$ 1.819.933	-\$ 1.805.493
Depreciaciones (+)	-	\$ 1.664.727	\$ 1.664.727	\$ 1.664.727	\$ 1.664.727
Amortizaciones (Abono a capital) (-)	-	\$ 3.183.911	\$ 3.210.847	\$ 3.238.011	\$ 3.265.404
Inversiones	-	-	-	-	-
Activos Fijos	\$ 72.419.000	-	-	-	-
Diferidos	\$ 0	-	-	-	-
Capital de Trabajo	-	\$ 3.690.000	\$ 3.690.000	\$ 3.690.000	\$ 3.690.000
Créditos recibidos	\$ 50.693.300	-	-	-	-
Flujo Neto de Caja	-\$ 21.725.700	-\$ 6.119.652	-\$ 7.070.397	-\$ 7.083.217	-\$ 7.096.170

Fuente: elaboración propia.

Uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta en este flujo de caja es que para los flujos de efectivo se utilizaron valores constantes tanto de ingresos como de egresos, por lo que la utilidad bruta será la misma a lo largo de la proyección del flujo, desafortunadamente desde el primer periodo de evaluación se observa que los costos de operación o costos de producción son prácticamente el doble de los ingresos de venta del producto por lo que la utilidad bruta del flujo será negativa y el proyecto no presentará viabilidad alguna, sin embargo, se calcularon los métodos de evaluación de proyectos de inversión.

El VPN para el periodo de evaluación 4 se calculó de la siguiente forma:

$$VPN = -21'275.700 + \frac{-6'119.652}{(1 + 0.0085)^1} + \frac{-7'070.397}{(1 + 0.0085)^2} + \frac{-7'803.217}{(1 + 0.0085)^3} + \frac{-7'096.170}{(1 + 0.0085)^4}$$

$$VPN: -49'546.036$$

De la misma forma se proyectó el flujo de caja al tiempo establecido anteriormente (15 periodos), el cálculo del valor presente neto no fue positivo, el Valor presente neto en el periodo 15 fue de -\$ 72'412.000 COP, esto debido al flujo neto de efectivo de carácter negativo y el alto costo de los equipos involucrados en el proceso extractivo, este factor confirma que el proyecto de evaluación de extracción de colágeno nativo a partir de piel bovina no es viable a la escala proyectada y con los

reactivos definidos, es por esto que una de las principales recomendaciones del proyecto será la evaluación y selección de reactivos necesarios para un proyecto que pueda competir tanto a nivel técnico como a nivel financiero.

5. CONCLUSIONES

- En la etapa de caracterización la medición de la dureza de la piel, juega un papel muy importante ya que a partir de esta medición se puede llegar a estimar cual es la temperatura de desnaturalización del colágeno en la piel, esto puede variar puesto que la medida es diferente dependiendo de la zona donde se tome. Si la zona es rígida, será mayor su temperatura de desnaturalización y viceversa, las diferentes razas y sexos de los animales pueden llegar a causar inconvenientes en la estandarización del grosor y de la calidad que se desea para la extracción.
- El objetivo principal del proyecto era poder extraer las proteínas de colágeno en su estructura nativa por lo que luego de un análisis a partir de una matriz de decisión se concluyó que realizar una extracción de colágeno a través del método químico es la ruta más viable y económica para poder extraer esta proteína.
- Para desarrollar un escalamiento de producción a nivel planta piloto es necesario evaluar y determinar no solo la eficiencia y rendimiento del proceso sino tener en cuenta varios aspectos igual de esenciales para la extracción como lo son la selección de solventes o el método de extracción, adicionalmente es necesario el análisis técnico para poder determinar y asignar los roles de cada operario de planta ya que esto conlleva a un funcionamiento óptimo, es necesario afirmar que se recomienda realizar el dimensionamiento de la planta con las medidas reales de cada equipo.
- Luego de calcular y analizar los métodos de análisis de inversión descritos en el flujo de caja, se puede concluir que el proyecto de extracción de colágeno a partir de piel bovina no resulta viable económicamente a la escala de producción planteada, debido a sus bajos ingresos por venta y sus altos costos de producción.

6. RECOMENDACIONES

- Así como es necesario evaluar la efectividad de los equipos determinados en el proyecto, se recomienda dimensionar los equipos de filtrado y precipitado debido a las pérdidas adquiridas en los procesos previos a la extracción.
- Se recomienda tener en cuenta los residuos del proceso.
- Si se quiere obtener un rendimiento de extracción más alto se recomienda evaluar los equipos de asistencia anteriormente mencionados, razón por la cual son capaces de aumentar la pureza y concentrar más la proteína.

BIBLIOGRAFÍA

ACUÑA, Antia. Efecto de ultrasonidos en el proceso de extracción de proteínas de Co-productos animales y escalado del proceso. Máster Universitario en Biotecnología Alimentaria. España. Universidad de Oviedo. 2017. Disponible en: http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/43612/6/TFM_AntiaAcu%C3%B1aGonzalez.pdf

ALFAAESAR. 1-butanol, 99%. [Sitio web]. [Consultado el 14 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.alfa.com/es/catalog/L13171/>

ANAMARIA LAJUSTICIA. Catalogo Productos, Colágeno Hidrolizado. [Sitio web]. [Consultado el 29 de septiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.anamarialajusticia.es/producto/>

ARANA, Inés, ORRUÑO, Maite y BARCINA, Isabel. Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología. Diluciones y concentraciones, muestras líquidas y sólidas. Universidad del país vasco. [Consultado el 30 de septiembre del 2020]. Disponible en: https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/1654/mod_resource/content/1/Tema_1._Diluciones_y_concentraciones.pdf

AUROSQUIMICOS, Ltda. La mano amiga de su laboratorio. Cotización de reactivos para laboratorio. Bogotá. Nit: 900.127.133-2.

AULA VIRTUAL DE BIOLOGÍA. Los aminoácidos. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (A) de la Universidad de Murcia [en línea]. [Consultado 01, julio, 2020]. Disponible en: [\[https://www.um.es/molecula/prot02.htm\]](https://www.um.es/molecula/prot02.htm)

AYESHA. Akram, CHUNHUI. Zhang. Extraction of collagen II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. China, Beijing. 2020. Pág. 13 5./10.1016/j.ultsonch.2020.105053.

BAILEY, A y LIGHT, N. Connective tissue in meat and meat products. England. Elsevier Science Publishers. 1989.

BEJARANO, Daniel y ROMERO, Angie. Procedimiento integral para el mejoramiento del sistema de producción y tratamiento de aguas residuales de curtiembres en el departamento Cundinamarca, provincia de Almeidas, Municipio de Villapinzón. 2017. Pág. 15 y 55.

BELLO GUTIERREZ, José. Jamón Curado: Aspectos Científicos y Tecnológicos. [Electrónico]. España. Ediciones Díaz de Santos. 2008. Pág. 509. [Consultado: 7 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=5Tqkq1rCH50C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

BENÍTEZ, R., PAGAN, J. Hidrolizados de proteína, Procesos y aplicaciones. Acta de Bioquímica latinoamericana 2008, Vol. 2, núm. 42. pp 36-227

CARBOTECNIA.INFO. Qué es la Microfiltración. [sitio web]. [27 de Julio 2020]. [Consultado: 18 de Julio de 2020]. Disponible en: <https://www.carbotecnia.info/aprendizaje/filtros-de-cartucho/que-es-la-microfiltracion/>

COLGRAVE, Michelle. ALLINGHAM, Peter y JONES, Alun. Hydroxyproline quantification for the estimation of collagen in tissue using multiple reaction monitoring mass spectrometry. Journal of Chromatography A. Australia. 2008. Vol. 1212, nro. 1 y 2, p. 150-153. [Consultado: 2 de agosto de 2020]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.011>.

CONEO. Margarita, Conozca qué es una ARL, cuales con sus funciones y que ley las regula en Colombia. Colombia Diario la República [en línea] 28 agosto 2019. Disponible en <https://www.larepublica.co/especiales/especial-salud-agosto-2019/conozca-que-es-una-arl-cuales-con-sus-funciones-y-que-ley-las-regula-en-colombia-2901676>.

CUERONET.COM. [sitio web]. Técnica del cuero: La piel. [01 07 2020]. Disponible en <http://www.cueronet.com/tecnica/lapiel.htm>

EFEGE. Información Precios. [sitio web]. Frigorífico Guadalupe Ltda. Disponible en: <https://www.efege.com/indicadores.html>

ELSEVIER CONNECT. Colágenos: tipos, composición, características y distribución en tejidos. [en línea]. [Consultado 01, julio, 2020]. Disponible en: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/colagenos-tipos-composicion-distribucion-tejidos>

EL UNIVERSAL, el colágeno hidrolizado y sus usos. [Sitio web]. [Consultado: 4 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.eluniversal.com.mx/menu/que-es-el-colageno-hidrolizado-y-para-que-sirve>

FRANDSON, R. Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. Piel y estructuras asociadas. 1995.

GELITA, Colágeno componente esencial de nuestro cuerpo. [Sitio web]. [Consultado el 27 de septiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.gelita.com/es/conocimientos/colageno/que-es-el-colageno>.

GÓMEZ ALAMILLA, Mónica. "Proyecto de Inversión para la Instalación de un Gimnasio en el Municipio de Tultitlán, Estado de México". Facultad de economía UNAM. México. Pág 1-154.

HERNÁNDEZ. Mercedes, MORALES Ligia. Importancia de la determinación de hidroxiprolina urinaria en diferentes patologías óseas. [30 06 2020] Disponible en: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v6n4/art1.pdf>

HOLA.COM, ¿Por qué perdemos colágeno con la edad? [Sitio web]. [Consultado el 6 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.hola.com/estar-bien/20200303161889/razones-perdida-colageno-piel-gt/>

HUISMAN, I.H. Membrane separations. Microfiltration. Encyclopedia of Separation Science. s.l.: Academic Press, 2003.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C. El instituto, 2018 ISBN 9789588585673 153 p.

INDEED Bizmark Colombia. Salarios de Ingeniería química, operario de planta y recursos humanos en Bizmark Colombia. [sitio web] Disponible en: https://co.indeed.com/cmp/Bizmark-Colombia/salaries?job_category=engchem

JEEVITHAN. Elango. WU. Wenhui, NANPING. Wang, LAN. He, BAO. Bin Isolation, purification and characterization of pepsin soluble collagen isolated from silvertip shark (*Carcharhinus albimarginatus*) skeletal and head bone. Process Biochemistry. China. P 1769 (2014).

LISTADO MERCADOLIBRE.COM, Colágeno Hidrolizado. [Sitio web]. [Consultado el 18 de Agosto del 2020]. Disponible en:

https://listado.mercadolibre.com.co/colageno-hidrolizado?matt_tool=66906522&matt_word=COLAGENO_HIDROLIZADO

LI, Dong, YANG, Wei. LI. Guo-ying. Extraction of native collagen from limed bovine split wastes through improved pretreatment methods. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. China Vol. 83, Pág. 1045 (2008).

LU, Q. GANESAN K. et al. Novel porous aortic elastin and collagen scaffolds for tissue engineering. Biomaterials 25. 2004.

MAMANI, Claudio. Obtención de Colágeno por el método de hidrólisis alcalina a partir de tarsos de pollo provenientes de la industria avícola en la región de Arequipa. Título de Ingeniero Químico. Arequipa, Perú. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Facultad de Ingeniería de Procesos. 2018. Pág. 107. [Consultado: 5 de Julio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/7216/IQmahuca.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

MEZA, Jhonny de Jesús. Evaluación Financiera de Proyectos. Vol. 2. Ed, Ecoe ediciones, Pág 27. (2010).

MEZA. Jhonny de Jesús. Matemática financiera aplicada. ECOE Ediciones Ltda. Bogotá. 4° Edición, 566 p. (2011) ISBN 978-958-648-728-3.

MOUSTAFA, Rizk. NASSER, Mostafa. Extraction and Characterization of Collagen from Buffalo Skin for Biomedical Applications. ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY. Vol. 32, No. (3). Pág. 1601-1609 (2016).

NALINANON, Sitthipong. BENJAKUL, Soottawat. VISESSANGUAN, Wonnop. KISHIMURA, Hideki. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Chemistry. 104. p 596 (2007).

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL. Procedimiento de obtención de colágeno a partir de la piel de un animal. BELINCHÓN C. Pedro, LASA. Mikel, IZCO. Beatriz. Fecha de publicación 03, enero, 2003. España, PCT/ES201 1/070467

PALACIOS, Julia. Tejidos, Membranas, Piel: Derivados de la piel. Escuela Universitaria de Enfermería. Universidad de Barcelona. [30 06 2020] Disponible en: <https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/95/Tejidos%2C%20membranas%2C%20piel%20y%20derivados.pdf?1358605323>

PARZANESE. Magali. Tecnologías para la industria alimentaria, Liofilización de alimentos. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. [en línea]. Argentina Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revistas/nota.php?id=209>

PEAT. La nueva herramienta de Análisis Económico de Proyectos. [sitio web]. Disponible en: <https://www.software-shop.com/producto/peat>

POTAROS, T. RAKSAKULTAHAI, N. et al. Characteristics of collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart Journal*. 2009.

QUINTERO, Julián. ZAPATA, José. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. *Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Grupo de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Antioquia*, Vol. 28(1), 109-120 (2017).

RAMIREZ, Jorge Andres. Evaluación de la gestión integral de residuos sólidos en las curtiembres de San Benito. Universidad Militar Nueva Granada. 2014. Pág. 18. Disponible en: <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/12026/curtiembres%20TRABAJO%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ROJAS, Franklin. Estudio económico financiero del aprovechamiento de las grasas extraídas del residuo de descarte "Unche" derivado del proceso de curtición en el municipio de Villapinzon-Cundinamarca. 2010. Pág. 26.

SANTOS DE LA CRUZ, Eulogio. VERA, Nestor. YENQUE, Julio. RAMÍREZ, David y PALOMINO, Máximo. El ultrasonido y su aplicación. *Revista de la facultad de ingeniería industrial*. 2005, Vol, 8, p. 25-28. [Consultado: 15 de Julio de 2020]. Disponible en: ISSN: 1810-9993 (Electrónico).

SEGOVIA, Belén. REDONDO, Nicolás. RUANO, Paula. PEPSINA. [en línea]. Universidad de Alcalá. [Consultado 01, julio, 2020]. Disponible en <http://www3.uah.es/chemevol/index.php/pepsina/>

SENIORCONTA. Programa de Contabilidad financiera y analítica para PYMES. España [sitio web] Disponible en: <https://www.dsgsoftware.com/programa-de-contabilidad>

SERNA, Liliana. VELÁSQUEZ, Mario y AYALA, Alfredo. Efecto de la ultrafiltración sobre las propiedades Reológicas de Gelatina Comestible de Origen Bovino. Colombia. Mayo del 2005, Vol, 21, p. 91-102. [Consultado: 8 de Julio de 2020]. doi: 10.1612/inf.tecnol.4418 it.10.

SERRANO GAONA, Jenifer Carolina. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*). Magister en Ingeniería Química. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. 2011. Pág. 103. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/4880/1/jenifercarolinaserranogaona.2011.pdf>

TORLEY, P. D'ARCY, By TROUT, G. The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and plate, soft, exudative PSE pork. Meat Sci. 2000.

TORRES. Alvaro. El Nuche. Periodico EL TIEMPO. [en línea] 22 de febrero 1994. Disponible en: (<https://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-50930>).

VELEZ. Luis Eduardo, Mejores tasas de crédito para pymes agosto 2020 [blog]. Rankia. Colombia 01 de mayo de 2020. Disponible en <https://www.rankia.co/blog/mejores-creditos-y-prestamos-colombia/3927261-mejores-tasas-credito-para-pymes-agosto-2020>

WANG. Lingzhao, YANG Bao, DU Xiuqiao, YANG Yinfen, LIU, Jianlong. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 9 (2008) 605.

WIKIPEDIA, Ácido Acético. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_ac%C3%A9tico#:~:text=El%20%C3%A1cido%20ac%C3%A9tico%20\(tambi%C3%A9n%20llamado,2H4O2\).](https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_ac%C3%A9tico#:~:text=El%20%C3%A1cido%20ac%C3%A9tico%20(tambi%C3%A9n%20llamado,2H4O2).)

WIKIPEDIA, Butil Alcohol o Butan-1-ol. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Butan-1-ol>

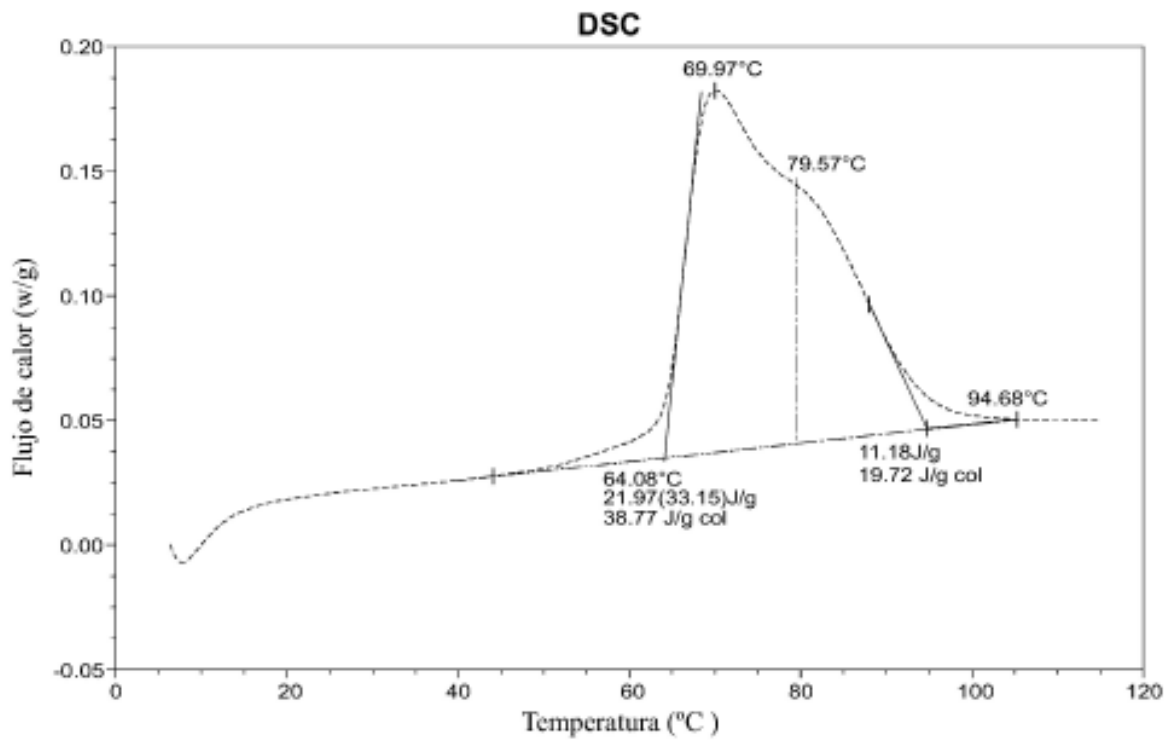
WIKIPEDIA, Cloruro de Sodio. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Cloruro_de_sodio

WIKIPEDIA, Hidróxido de sodio. [Sitio web]. [Consultado: 13 de agosto de 2020]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Hidr%C3%B3xido_de_sodio

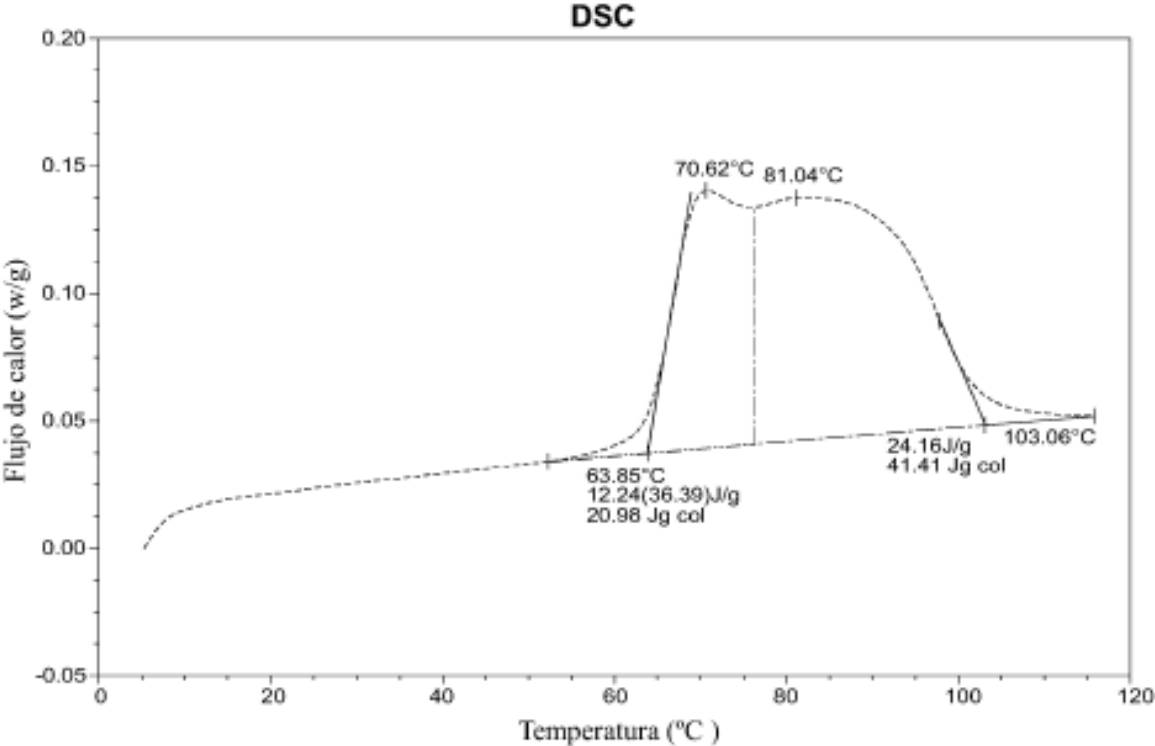
NOREEN, Ayesha. ZHANG, Chunhui. Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. Somochemistry 64 (2020) doi 105053

ANEXOS

ANEXO A.
CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO DE UNA MUESTRA BLANDA DE PIEL ANIMAL



**ANEXO B.
CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO DE UNA MUESTRA DE PIEL
ANIMAL**



ANEXO C. COTIZACIÓN DE REACTIVOS PARA LA EXTRACCIÓN DE COLÁGENO



Bogotá, 11 de Agosto de 2020

Señores
ANDRES GALLO
LABORATORIO
CIUDAD

COTIZACION No. 8R-270/20

ITEM	DESCRIPCION	MARCA	CANT	VUNITARIO	VTOTAL	IVA	ENTREGA
1	SODIO HIDROXIDO 0,1N FCOXLT	PANREAC	1	74.800	74.800	19	10 DIAS
2	SODIO HIDROXIDO FCOXKG	PANREAC	1	84.500	84.500	19	10 DIAS
3	ACIDO ACETICO GLACIAL 99,5% FCOXLT	PANREAC	1	83.600	83.600	19	10 DIAS
4	SODIO CLORURO FCOXKG	PANREAC	1	60.800	60.800	19	10 DIAS
5	TRISMA FCOX250GR	PANREAC	1	262.300	262.300	19	10 DIAS

CONDICIONES COMERCIALES

IVA : 19% NO INCLUIDO EN EL VALOR UNITARIO

PAGO : 35 DIAS F.F.

VIGENCIA : 30 DIAS

ENTREGA : ESPECIFICADA EN CADA ITEM DESPUES DE RECIBIDA LA ORDEN SALVO VENTA PREVIA

***LAS ENTREGAS ESTAN SUJETAS A LA DISPONIBILIDAD DE LOS FABRICANTES ***

*** GUSTOSOS DE PODER SERVIRLES ***

Atentamente,

SEBASTIAN RAMIREZ RAMIREZ
ASESOR QUIMICO