

# Extracción de colágeno en medio ácido-básico a partir de los cascos de bovinos

## *Collagen Extraction in Acid-Base Mediums from Bovine Hooves*

CARLOS ROBERTO PERALTA MENDOZA\*

NEIFY ASTRID RIVERA PÉREZ\*\*

LUCILA GUALDRÓN RIVERA\*\*\*

### RESUMEN

En el presente artículo se expone cómo en este estudio se desmineralizó la materia prima en estado natural con NaOH al 5 % y al 7 %, y  $C_6H_8O_7$  al 5 %, esto con el propósito de determinar cuál de las dos concentraciones de NaOH adecuaba el material para poder ser reducido por medio de la operación de licuado. De igual manera, al producto se le determinó humedad, cenizas, grasa y proteína; además, se le aplicaron pruebas funcionales para evaluar la calidad del producto obtenido. Las condiciones de extracción que obtuvieron las mejores características físicoquímicas y funcionales fueron la concentración de NaOH al 7 % con el  $C_6H_8O_7$  al 5 %, sometiendo luego el producto a centrifugado, dado que en estas condiciones se obtuvo un alto contenido de proteína (queratina-colágeno) de alrededor del 80 %.

**Palabras clave:** colágeno, queratina, tratamiento ácido-básico, proteína.

### ABSTRACT

This article outlines how raw material was demineralized in natural state in this study with 5% and 7% NaOH, and 5%  $C_6H_8O_7$ . This is in order to determine which of the two NaOH concentrations was able to adapt the material to be reduced through blending operation. Similarly, the product's moisture, ashes, fat and protein were determined; in addition, functional tests were applied in order to evaluate the quality of the resulting product. The extraction conditions reflecting the best physicochemical and functional characteristics were the concentration of 7% NaOH with 5%  $C_6H_8O_7$ , then subjecting the product to centrifugation, since a high content of protein of approximately 80% was obtained (keratin-collagen) in these conditions.

**Keywords:** Collagen, keratin, acid-basic treatment, protein.

FECHA DE ENVÍO: 12 DE FEBRERO DEL 2012 • FECHA DE ACEPTACIÓN: 19 DE MARZO DEL 2012

\*Ingeniero de Alimentos, Universidad de La Salle, Colombia. Correo electrónico: cperalta10@unisalle.edu.co.

\*\*Ingeniera de Alimentos, Universidad de La Salle, Colombia. Correo electrónico: neify\_rivera@hotmail.com.

\*\*\*Ingeniera Química MSc. Docente investigador, Universidad de La Salle, Colombia. Correo electrónico: hgualdron@unisalle.edu.co.

## Introducción

En Colombia existe una cuantiosa generación de residuos sólidos provenientes de los mataderos que se desperdician diariamente. Así como en muchos países, en Colombia la utilidad de un desecho de matadero está estrechamente ligada a diversos factores técnicos y socioeconómicos inherentes a la región en la que se encuentre localizado el centro de sacrificio y a las condiciones técnicas, propias de cada matadero. También se resalta el hecho de que en el país no existen políticas definidas sobre el manejo de los desechos del faenado, ni entidad oficial o privada que normatice sobre ellos. Situaciones similares han podido ser observadas por algunos organismos internacionales como la FAO, en otros países de América Latina (Falla, 2011).

Uno de los productos de desperdicio son los cascos de los bovinos; esta materia prima posee, en su mayor proporción, proteínas y a la vez estas se encuentran compuestas por queratina (proteína bastante sulfatada que provee al casco de dureza), colágeno (tiene un regular contenido de grasa, humedad, microminerales [Se, Cu, Zn] y macrominerales [Ca, S]) (Acuña, 2011). Estos minerales también ayudan a dar dureza a este tipo de material; el zinc participa en la formación del casco al inducir la producción de queratina.

Sin embargo, es importante mencionar que anualmente se generan aproximadamente 1072 toneladas de cascos (dato obtenido del número de cabezas sacrificadas durante el 2010) (DANE, 2010); este tipo de material no es utilizado en ningún proceso industrial a pesar de que es rico en proteína. Por esta razón, el presente trabajo tiene como finalidad extraer colágeno a partir de los cascos de bovinos, determinando la calidad del producto final por medio de pruebas funcionales y fisicoquímicas, lo cual permitirá conocer el principal componente de este material.

## Materiales y métodos

En primera instancia, el tratamiento ácido-básico comenzó lavando los cascos con abundante agua; también se aplicó un tratamiento térmico a una temperatura de 90 °C por 30 minutos para limpiar el material; luego se procedió a secar y pesar el material para continuar el proceso. La materia prima se separó en dos partes iguales, una parte se sumergió en hidróxido de sodio al 7 % y la segunda parte en concentración al 5 %. Las dos muestras, después de estar en contacto con este

reactivo al medio ambiente por 24 h, se sometieron a lavados continuos hasta alcanzar un pH neutro; en seguida las dos muestras por separado se sumergieron en ácido cítrico al 5 % durante 45 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se lavaron de nuevo para alcanzar un pH neutro.

Una vez desmineralizados los cascos, se llevaron a licuado para la reducción de tamaño de la partícula en estado húmedo. Al obtener este licuado se procedió a un nuevo lavado con agua destilada a 60 °C. Posteriormente, la solución se centrifugó para recuperar la mayor cantidad de la proteína obtenida (unión colágeno-queratina); se procedió a secar el producto en el interior de un horno de bandejas a una temperatura de 50 °C por 24 horas. Por último, se realizaron las pruebas fisicoquímicas y de funcionalidad al producto centrifugado y filtrado (figura 1).

La materia final, obtenida después del proceso de secado, se sometió a pruebas fisicoquímicas y de funcionalidad.

### ***Pruebas fisicoquímicas***

Humedad: por el método tradicional según AOAC, 925.09.

Ceniza: por el método gravimétrico según AOAC, 923.03.

Grasa: por el método de extracción etérea según AOAC, 922.06.

Proteína: por el método Kjeldahl según AOAC, 2001.11.

### ***Pruebas de funcionalidad***

De igual manera, al producto final se le aplicaron estas pruebas, en emulsificación, retención de agua y gelificación, con los que se analizó la funcionalidad y calidad de la proteína extraída.

Emulsificación: se determinó la emulsificación tomando unos gramos de muestra colágeno-queratina, que se diluyeron en agua destilada. Estas soluciones proteicas se agitan durante 10 s, utilizando una licuadora industrial y, posteriormente, se adiciona aceite vegetal comercial y se emulsiona durante 120 s. Las emulsiones son centrifugadas a 2000 rpm por 10 min. La actividad emulsificante se calcula por medio de la ecuación 1: porcentaje de emulsificación:

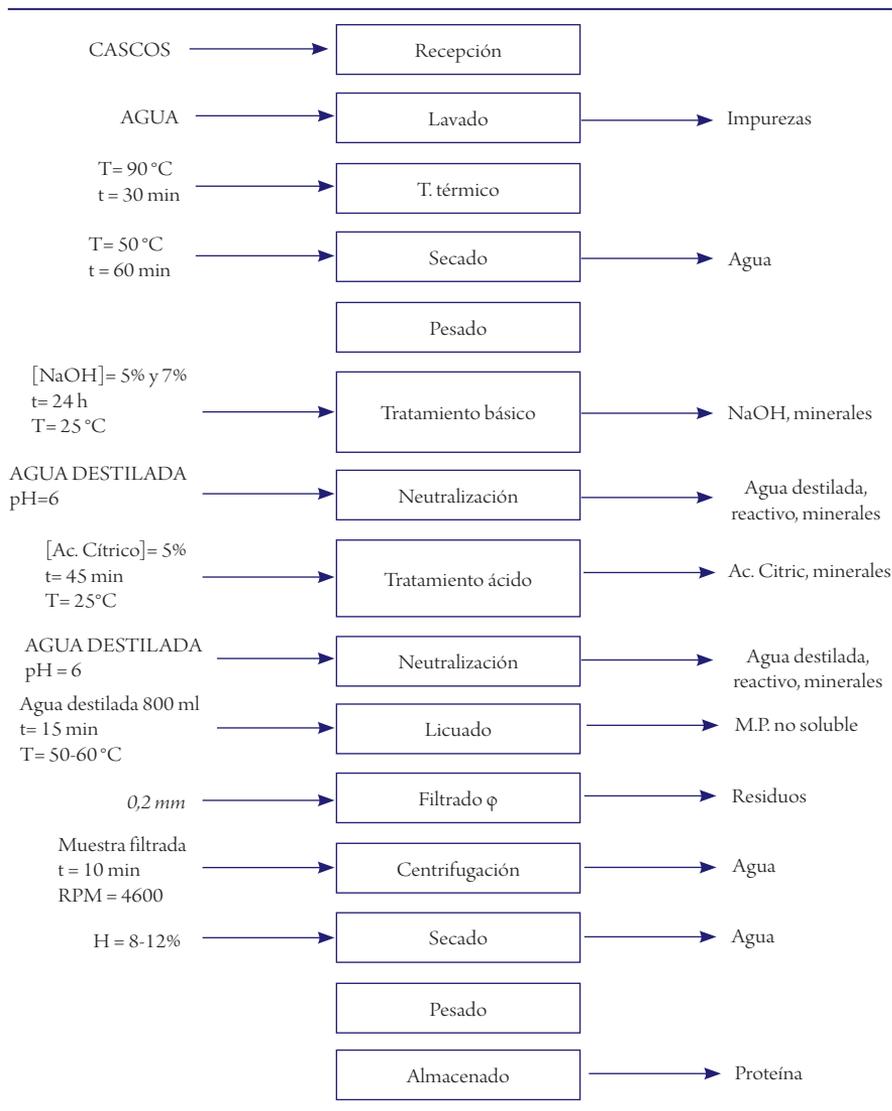


Figura 1. Flujo de extracción de colágeno a partir de los cascos de bovinos

Fuente: elaboración propia.

$$\% \text{Emulsificación} = \frac{\text{Volumen final de la emulsión}}{\text{Volumen inicial de la emulsión}} \times 100 \quad (1)$$

Gelificación: se colocó la muestra en un *beacker* y se adicionó agua caliente; posteriormente se agitó y se dejó enfriar la solución. Una vez fría la muestra debe estar gelificada.

Capacidad de retención de agua: se pesó 1 g de muestra y se colocó en un tubo de centrífuga, se adicionó 30 ml de agua destilada, se agitó y se dejó en reposo por 18 h. Después de este tiempo se centrifugó a 3000 rpm por 20 min. Luego se decantó el sobrenadante y se pesó el residuo rehidratado; después se llevó a secado y nuevamente a pesaje. La capacidad de retención de agua se expresa como la cantidad de agua retenida por gramo de muestra seca.

Análisis estadístico: se planteó un diseño factorial completamente al azar con los tratamientos por triplicado de funcionalidad y fisicoquímicas de las concentraciones de NaOH para la extracción de proteína. De esto se calculó por estadística descriptiva para todas las variables por tratamiento en pruebas de funcionalidad y fisicoquímicas, donde se realizaron análisis de varianza (Anova) que comparó promedios a partir de la varianza de todos sus componentes. El Anova indica si las diferencias encontradas entre los promedios de cada variable se deben al efecto del tratamiento.

Se establecen las hipótesis del diseño experimental.

Hipótesis nula: no hay diferencia significativa entre las medias de los rendimientos de producción de proteína y funcionalidad.

Hipótesis alterna: si hay diferencia significativa entre las medias de los rendimientos de producción de proteína y funcionalidad.

Balances de materia: se realizó el balance de materia en las operaciones de secado, lavado, filtrado y centrifugado, tomando una base de cálculo de 100 g de materia prima. Los datos numéricos mostrados se obtuvieron durante la experimentación. Este balance se realizó con el objetivo de determinar el rendimiento de la materia prima en la transformación de esta (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de extracción de proteína

EXPERIMENTACIÓN $\bar{x} \pm \alpha$	(% 1 <sup>RA</sup> . 30 MIN		(% 2 <sup>RA</sup> . 60 MIN		(% 3 <sup>RA</sup> . 70 MIN	
	CENTRIFUGADO	FILTRADO	CENTRIFUGADO	FILTRADO	CENTRIFUGADO	FILTRADO
NaOH / 5 M C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> /5 M	23,84 ± 0,51	26,41 ± 0,14	47,36 ± 0,22	68,23 ± 0,27	49,46 ± 0,62	69,77 ± 0,61
NaOH / 7 M C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> /5 M	39,55 ± 0,41	32,51 ± 0,45	79,05 ± 0,08	63,68 ± 0,33	79,82 ± 0,32	66,51 ± 0,62

Fuente: elaboración propia.

## Resultados y discusión

Se realizó por triplicado cada experimentación obteniendo una diferencia significativa en cada extracción. En la primera extracción se observó menor porcentaje de proteína debido a que el tiempo de lavado (30 min) fue inferior al de la segunda y tercera extracción, esto significa que el efecto del tiempo de lavado con respecto a la obtención de la proteína es directamente proporcional; a mayor tiempo de lavado mayor será la extracción, encontrando que un límite de tiempo de 70 min fue el más adecuado.

El porcentaje de proteína en mayor proporción, se vio reflejado en la tercera experimentación (79,82 %) al 7 % de NaOH obtenida por medio de la operación de centrifugado. Los análisis fisicoquímicos de la materia prima se realizaron por triplicado (tabla 2).

Tabla 2. Resultados promedio de la composición bromatológica del casco

PRODUCTO $\bar{x} \pm \alpha$	HUMEDAD (%)	PROTEÍNA (%)	GRASA (%)	CENIZA (%)
Casco bovino	12 ± 1,66	80 ± 1,76	0,92 ± 1,96	7,08 ± 1,93

Fuente: elaboración propia.

Con estos análisis se detectó una diferencia significativa en cuanto a la proteína obtenida de la materia prima analizada (80 %) y la reportada por el frigorífico (58,07 %). La diferencia puede estar en el método utilizado para la obtención de proteína debido a que en los análisis fisicoquímicos se realiza un análisis proximal.

Asimismo, la prueba de humedad presentó diferencias significativas, entre la materia prima analizada (12 %) y la reportada por el frigorífico (37,97 %). El valor reportado

en teoría no es confiable, ya que es un porcentaje de humedad demasiado alto, lo que significa que la muestra posiblemente no estaba en estado natural, esto quiere decir que los cascos fueron sumergidos en agua largo tiempo o no se realizó de forma correcta la prueba de humedad.

La proporción de grasa obtenida experimentalmente (0,92 %) es inferior al valor reportado en la teoría (2,69 %), esto es coherente ya que a la materia prima analizada se le realizó un tratamiento térmico con el propósito de retirar impurezas adheridas al casco y adecuarla para la molienda.

Finalmente el porcentaje de cenizas (7,08 %) de la muestra corresponde a los residuos inorgánicos que quedan después de quemar la materia orgánica representan el contenido mineral, es decir, el conjunto de nutrientes elementales que están presentes. Los análisis fisicoquímicos del producto se realizaron únicamente para la experimentación 3<sup>ra</sup> que fue la que obtuvo mayor rendimiento.

El contenido de proteína se obtuvo en mayor proporción en la tercera experimentación de la muestra centrifugada (79,82 %) al 7 % de NaOH y 5 % de  $C_6H_8O_7$ , este resultado es satisfactorio ya que se pudo extraer mayor porcentaje de proteína al esperado (58,07 %).

El producto final obtenido es una mezcla de enlaces péptidos que forman colágeno y queratina en los que se desconoce porcentaje en colágeno y porcentaje en queratina, durante su extracción, la proteína no demuestra propiedades de gelificación, dando a resaltar que la proteína mayoritaria en la materia prima es queratina por su carácter rígido (tabla 3).

Tabla 3. Resultados de las propiedades fisicoquímicas del producto

PRUEBA \ CONCENTRACIÓN	NaOH / 5 M $C_6H_8O_7$ / 5 M		NaOH / 7 M $C_6H_8O_7$ / 5 M	
	CENTRIFUGADO	FILTRADO	CENTRIFUGADO	FILTRADO
Cenizas $\bar{x} \pm \alpha$	4,83 $\pm$ 0,53	4,29 $\pm$ 0,42	5,61 $\pm$ 0,82	8,21 $\pm$ 0,91
Humedad $\bar{x} \pm \alpha$	12,03 $\pm$ 0,33	11,26 $\pm$ 0,29	10,11 $\pm$ 0,14	12,11 $\pm$ 0,63
Grasa $\bar{x} \pm \alpha$	0,62 $\pm$ 0,22	0,74 $\pm$ 0,13	0,51 $\pm$ 0,14	0,76 $\pm$ 0,08
Proteína $\bar{x} \pm \alpha$	49,46 $\pm$ 0,62	69,77 $\pm$ 0,61	79,82 $\pm$ 0,32	66,51 $\pm$ 0,62

Fuente: elaboración propia.

El contenido de humedad es un factor importante en la calidad del producto, debido a que este factor facilita el desarrollo microbiano y constituye el medio en el cual se presentan las reacciones bioquímicas. El contenido de humedad promedio en todas las muestras analizadas es del 11 %, aproximadamente, indicando que la proteína puede llegar a tener un limitado desarrollo microbiano.

En el caso del contenido de cenizas del producto, se pudo observar que en las muestras centrifugadas se obtuvo alrededor del 5 % y en las muestras filtradas un 8 % tratadas con una concentración del 7 % de NaOH, esto indica que el producto posee un alto valor de material inorgánico, puesto que en los resultados bromatológicos da un valor aproximado del 7,08 %, siendo menor al filtrado con una concentración del 7 % con NaOH, esto puede deberse a que exista material residual de los reactivos utilizados.

No hay diferencia significativa entre los dos procedimientos en el contenido de grasa; en promedio se encuentra cerca del 0,6 % en las muestras, este bajo porcentaje se debe al tratamiento térmico (escaldado) al que fueron sometidos los cascotes.

Con el objetivo de medir la calidad del producto extraído se realizaron pruebas de emulsificación, retención de agua y gelificación (por triplicado) para los resultados obtenidos en la experimentación 3 y reportados en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de las propiedades funcionales del producto

EXPERIMENTACIÓN	% EMULSIFICACIÓN $\bar{x}$		RETENCIÓN DE AGUA		GELIFICACIÓN	
	CENTRIFUGADO	FILTRADO	CENTRIFUGADO	FILTRADO	CENTRIFUGADO	FILTRADO
NaOH / 5 M C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> / 5 M	2	40	1:1	1:4	Negativo	Negativo
NaOH / 7 M C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> / 5 M	83,06	62,1	1:7	1:6	Negativo	Negativo

Fuente: elaboración propia.

Con respecto a la emulsificación, se midió el porcentaje en cada muestra, dando diferencias significativas en cada ensayo. La proteína que fue tratada a concentración de NaOH al 7 %, dio valores de 83,06 % en la muestra centrifugada y 62,1 % en la filtrada, los resultados obtenidos a la concentración de NaOH al 5 % en los

que presentaron menor emulsificación, muestran que en la fuerza centrífuga fue superior a la capacidad de ligar aceite-agua.

La capacidad emulsificante se debe al proceso dinámico y energético en el que se crea la interface de aceite-agua, disminuyendo la tensión superficial de un líquido al otro, y evitando la coalescencia de las gotas del otro líquido (Costa, 2002). La capacidad emulsificante puede variar por la clase de proteína y grado de desnaturalización. Observando los resultados, se concluye que el nivel de emulsificación de la proteína extraída depende del tratamiento de extracción. Siendo el mejor procedimiento al 7 % de NaOH y con la operación de centrifugado. En las otras concentraciones tratadas se obtuvieron resultados inferiores debido a que se pudo haber afectado la proteína durante los procesos de extracción conservando otra clase de sustancias que afectan la emulsificación.

La disposición de la proteína para retener agua en su estructura molecular es directamente proporcional. La muestra centrifugada con concentración del 7 % de NaOH presentó mayor retención de agua debido a la alta disponibilidad de la proteína, ya que a mayor porcentaje de proteína mayor será la retención de agua.

En la determinación de la gelificación en todas las muestras extraídas dio un resultado negativo pues no se presentó solidificación en la muestra, es decir, no existen partículas que se encadenen y atrapen el agua, lo cual significa que el porcentaje de colágeno no es suficiente como para ser gelificado.

Para finalizar, la proteína que fue tratada a concentraciones de NaOH al 7 % por medio de la operación de centrifugación, presentó una adecuada emulsificación y retención de agua por la alta disponibilidad de proteína, y el contenido de la humedad, fue el ideal para un producto deshidratado, pero no podría ser utilizada en la industria alimenticia debido a que la proteína mayoritaria es queratina, la cual se caracteriza por su rigidez debido a los enlaces de disulfuro que la hace ser no digestible por el organismo.

Se realizó un análisis de varianza de un solo factor a los resultados por triplicado de las pruebas fisicoquímicas y de funcionalidad. Donde el valor F crítico es inferior al F de los resultados obtenidos, evidencia que existen diferencias significativas entre los parámetros de funcionalidad de cada ensayo extraído, haciendo que cada muestra se comporte de manera independiente, aceptando la hipótesis alterna, lo cual

indica que existe poca homogeneidad entre los datos, con esto se puede afirmar que al variar la concentración de los reactivos, afecta su funcionalidad final, esto no sucede en la proteína ya que se tomaron los valores medios de cada ensayo en el que arrojó resultados donde el valor crítico de F es superior al F obtenido por los resultados, siendo en este caso que se acepta la hipótesis nula en el cual no hay diferencia significativa en los valores obtenidos.

En el balance de materia total, incluyendo centrifugado y filtrado se obtuvo un rendimiento aproximado de 19,2 % de proteína en masa (queratina-colágeno), lo cual significa una elevada pérdida de materia prima (20 %). Del resultado se puede deducir que es poco rentable utilizar este tipo de material en procesos industriales, ya que su baja cantidad de material proteico recuperado no es comparativamente significativo. Los resultados durante la extracción por triplicado presentaron resultados similares.

## Conclusiones y recomendaciones

- Las propiedades bromatológicas de la materia prima arrojaron resultados similares a los reportados teóricamente, excepto en proteína cuyo valor fue de 86 %.
- Una solución de hidróxido de sodio al 7 % y de ácido cítrico al 5 % produjo el mejor rendimiento en el proceso de extracción de la proteína.
- El rendimiento obtenido, de 19,2 % en el balance de materia, indica un alto porcentaje de pérdida en la materia prima, lo cual incide en manejo de grandes volúmenes de material.
- La proteína extraída, al no mostrar propiedades gelificantes indica que no cuenta con la cantidad de colágeno suficiente para realizar este cambio de estado, pero sí posee propiedades de emulsificación y retención de agua aprovechables como para ser utilizadas en algunas industrias.
- Se recomienda profundizar en el estudio de la separación de queratina y colágeno, para darle un uso industrial como en el campo cosmético.

- Es recomendable estudiar la aplicación de una hidrólisis a la muestra de colágeno - queratina extraída de los cascos de bovino para que este tipo de producto pueda hacerse digestible.
- Para la extracción de colágeno puro de los cascos bovinos no es adecuado ya que arrojaron resultados poco considerables, por lo que esta materia prima no es conveniente para colágeno pero sí para queratina.

## Referencias

- Acuña, R. (2004). Fisiopatología y profilaxis. En *Inter-Médica, cojeras del bovino* (93-100). Buenos Aires.
- Calvo M. (s. f.). *Bioquímica de los alimentos*. Universidad de Zaragoza. Recuperado de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/lectinas.html>
- Costa, A. (2009). *Estabilizantes, modificadores de textura y perseverantes*. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencia de la Producción. Recuperado de <http://www.slideshare.net/dicoello/estabilizadores-modificadores-de-textura-y-preservantes>.
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). *Sacrificio de ganado total nacional y regional-vacunos, porcinos y otras especies*. Recuperado de [http://www.dane.gov.co/index.php?option=com\\_content&view=article&id=247&Itemid=73](http://www.dane.gov.co/index.php?option=com_content&view=article&id=247&Itemid=73).
- Falla, C. (1997). *Tratamiento y utilización de residuos de origen animal, pesquero y alimenticio en la alimentación animal*. Recuperado de <http://books.google.com.co/books?id=ssK1bNa3XsMC&printsec=frontcover&dq=Tratamiento+y+utilizaci%C3%B3n+de+residuos+de+origen+animal,+pesquero&hl=es&cd=1#v=onepage&q&f=false>.
- Kemp, P.; Bell, E.; Falco, L. y Regan, K. (2005). *Composiciones de colágeno y métodos para su preparación*. Madrid: Organogénesis.
- Michele, R. y Marc, D. (2000). *Procedimiento para la preparación de colágeno de composición en ácidos aminados*. No. 2 148 481. Faugeres: Javenech.
- Restrepo, M. (2006). *Producción más Limpia en la Industria Alimentaria. Subproductos de la industria cárnica en la tapa de sacrificio*. Antioquia, Colombia. Bogotá: Universidad de La Salle.
- Rojas, F. (2010). *Extracción de gelatina de colágeno a partir de la piel de tilapia nilótica (oreochromis niloticus) en la piscícola New York S.A*. Bogotá: Universidad de La Salle.

