

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
ESCUELA DEPOSGRADO
UNIDAD DE POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



Comparación del rendimiento de colágeno de tilapia
“*Oreochromis niloticus*” roja, gris y la F1,
a los 9 meses de cultivo

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

MENCION:
BIOTECNOLOGÍA AGROINDUSTRIAL Y AMBIENTAL

Autor: Br. Salirrosas Fernández, Remigio David

Asesora: Dra. Prieto Lara, Zulita Adriana

TRUJILLO-PERÚ
2021

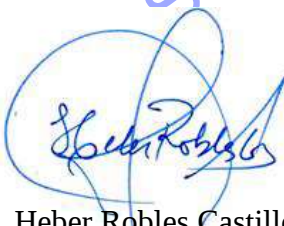
JURADO DICTAMINADOR

Los profesores que suscriben, miembros del jurado dictaminador, declaran que le presente informe se ha cumplido con los requisitos formales y fundamentales, siendo aprobado, con unanimidad.



Dr. José Mostacero León

PRESIDENTE



Dr. Heber Robles Castillo

SECRETARIO



Dra. Zulita Adriana Prieto Lara

ASESOR

DEDICATORIA

A **DIOS** por siempre estar a mi lado en los momentos más difíciles brindándome su bendición.

A mi madre **Hilda**, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional. A mi padre **Pedro** quien con su consejo ha sabido guiarme.

A mis hermanos **Luis, Julio y Susana** que siempre han estado a mi lado brindándome su apoyo, por todo este arduo camino y compartir conmigo momentos alegrías y fracasos. Y ser las personas más importantes en mi vida.

A mi esposa **Rosa**, por ser mi fortaleza y la persona más importante de vida. A mis hijas **Anghely y Camila**.

AGRADECIMIENTO

A mi asesora, la Dra. Prieto Lara, Zulita Adriana, mi más amplio agradecimiento por su paciencia ante mi inconsistencia, por su valiosa dirección y apoyo para seguir este camino de tesis y llegar a la conclusión del mismo.

A todos mis amigos, colegas y profesores, que me apoyaron en mi tesis: Blga. Nataly Reátegui (estudiante de maestría), Br. Luz Argomado, Br. Jan Pier Crespo, Blga. Mónica Arqueros, Blga. Linda Sánchez, Dr. Carlos Quijano, Ph. D. André Baby

FINANCIACIÓN

La tesis fue financiada por FONDECYT del proyecto: “Extracción de colágeno tipo I del híbrido de tilapia, roja y gris, y sus aplicaciones en productos naturales”.

N° de contrato: 123-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV.

INDICE

	Paginas
JURADO DICTAMINADOR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
INDICE	v
TABLAS DECONTENIDOS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIAL Y METODOS	4
III. RESULTADOS	10
IV. DISCUSIÓN	21
V. CONCLUSIONES	25
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
ANEXOS	32

TABLAS DE CONTENIDOS

Tabla 1. Resumen del Peso total, Peso de piel, cantidad de colágeno, proteínas totales y rendimiento de la tilapia Roja, Gris y F1.

Tabla 2. Rendimiento de la piel según el peso promedio corporal total, de la tilapia Roja, Gris y F1.

Tabla 3. Rendimiento de colágeno liofilizado ASC y PSC según el peso promedio corporal total, de la tilapia Roja, Gris y F1

BIBLIOTECA DE POSGRADO - UNT

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Rendimiento de Piel de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1, según el peso total.
- Figura 2. Rendimiento de Colágeno por los métodos de extracción ASC Y PSC de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1, según el peso de la piel.
- Figura 3. Rendimiento de Hidroxiprolina por los métodos de extracción ASC Y PSC de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1.
- Figura 4. Rendimiento de Hidroxiprolina por los métodos de extracción ASC Y PSC de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1.
- Figura 5. Viscosidad fraccional de los métodos de extracción ASC y PSC de la piel de *O. niloticus* de las tres líneas. AG: ASC Tilapia gris; AF1: ASC Tilapia F1; AR: ASC Tilapia Roja; PG: PSC Tilapia gris; PF1: PSC Tilapia F1; PR: PSC Tilapia Roja.
- Figura 6. Electroforesis SDS-PAGE de colágeno de piel de *O. niloticus* de las tres líneas por los métodos de extracción ASC y PSC. 1. marcador de proteína estándar, 2. ASC Tilapia gris; 3. ASC Tilapia Roja; 4. ASC Tilapia F1; 5. PSC Tilapia gris; 6. PSC Tilapia Roja; 7: PSC Tilapia F1.
- Figura 1. Anexo. A. Revisión de una hembra Roja si tiene alevines. B. Alevines de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”.
- Figura 2. Anexo. Alevines de *Oreochromis niloticus*. A. Gris. B. Roja. C. F1 (Híbrido).
- Figura 3. Anexo. Juveniles *Oreochromis niloticus* A. Tilapia Gris, B. Tilapia Roja, C. Tilapia F1.
- Figura 4. Anexo. Piel de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”. A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1.
- Figura 5. Anexo. Piel de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”, tratada con Ácido Acético a 0.5 M. A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1.
- Figura 6. Anexo. Protocolo para la extracción de colágeno de piel de Tilapia.
- Figura 7. Anexo. Colágeno liofilizado de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”. A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1 (Híbrido).
- Figura 8. Anexo. Peso total de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”, de las tres líneas.

RESUMEN

El objetivo de este estudio es comparar los rendimientos del colágeno de tilapia “*Oreochromis niloticus*” de tres líneas, de la Roja, Gris y la F1. Se utilizaron dos métodos de extracción para obtener colágeno soluble en ácido (ASC) y colágeno soluble en pepsina (PSC) de la piel de tilapia. El resultado del rendimiento de la piel según el peso corporal total fue de Roja: 4.22 ± 0.33 , Gris: 3.66 ± 0.36 y F1: $4.35 \pm 0.34\%$.

Los rendimientos de colágeno fueron: por ASC: Roja, 19.04 ± 0.59 ; Gris, 20.06 ± 2.20 ; F1, $20.28 \pm 1.86\%$ y por PSC: Roja, 21.10 ± 1.59 ; Gris, 21.21 ± 1.14 y F1, $21.10 \pm 1.59\%$. Los porcentajes de la hidroxiprolina fueron para ASC: Roja, 9.43; Gris, 9.81 y F1, 9.04 % y PSC: Roja, 10.64; Gris, 10.30 y F1, 10.33 %. Los valores de absorbancia UV visible de los colágenos ASC y PSC, se encuentran en los rangos (210 a 240 nm) establecidos para las proteínas colágenas. La temperatura de desnaturalización del colágeno ASC (Roja, 34 °C; Gris, 31.9 °C y F1, 34.9 °C), siendo ligeramente mayor al de PSC (Roja, 31.1 °C; Gris, 30 °C y F1, 31.1 °C). El perfil SDS-PAGE mostró que todas las muestras de colágeno ASC y PSC contenían dos cadenas α_1 y una cadena α_2 , característico del colágeno tipo I (α_1 : 117.72 kDa, α_2 : 111.92 kDa). los resultados sugieren que la piel de tilapia Roja, Gris y F1 son una gran alternativa al colágeno de mamífero.

ABSTRACT

The objective of this study is to compare the yields of the collagen of three-line “*Oreochromis niloticus*” tilapia, Red, Gray and F1. Two extraction methods were used to obtain acid soluble collagen (ASC) and pepsin soluble collagen (PSC) from tilapia skin. The result of the performance of the skin according to the total body weight was Red: 4.22 ± 0.33 , Gray: 3.66 ± 0.36 and F1: $4.35 \pm 0.34\%$.

The collagen yields were: by ASC: Red, 19.04 ± 0.59 ; Gray, 20.06 ± 2.20 ; F1, $20.28 \pm 1.86\%$ and by PSC: Red, 21.10 ± 1.59 ; Gray, 21.21 ± 1.14 and F1, $21.10 \pm 1.59\%$. The hydroxyproline percentages were for ASC: Red, 9.43; Gray, 9.81 and F1, 9.04% and PSC: Red, 10.64; Gray, 10.30 and F1, 10.33%. The UV visible absorbance values of the ASC and PSC collagens are within the ranges (210 to 240 nm) established for collagen proteins. The denaturation temperature of ASC collagen (Red, 34 °C; Gray, 31.9 °C and F1, 34.9 °C), being slightly higher than that of PSC (Red, 31.1 °C; Gray, 30 °C and F1, 31.1 °C). The SDS-PAGE profile showed that all the ASC and PSC collagen samples contained two $\alpha 1$ chains and one $\alpha 2$ chain, characteristic of type I collagen ($\alpha 1$: 117.72 kDa, $\alpha 2$: 111.92 kDa). The results suggest that Red, Gray and F1 tilapia skin is a great alternative to mammalian collagen

I. INTRODUCCIÓN

Oreochromis niloticus tilapia, es una de las principales especies producidas en la acuicultura mundial ocupa el tercer lugar en el mundo con 4165 mil Tn de producción en el 2018 (FAO, 2018). En el Perú, tilapia tiene una producción que equivale el 21% (4to lugar del cultivo de especies acuícolas (PNIPA, 2018). Del procesamiento de los peces se obtiene filete con un rendimiento de 25.5% del peso total, dejando subproductos como restos de cabeza, piel, huesos y vísceras en un 74.5% (Clement et al., 1994), de estos el 41.5% son utilizados en el proceso de ensilado fermentado de proteínas para alimento de animales (Bringas-Alvarado et al., 2018). De estos subproductos, la piel es el de mayor interés para la obtención de colágeno (Menezes et al., 2020).

En la piel de tilapia el colágeno tipo I es el más abundante con aplicaciones en la fabricación de biomateriales por ser biocompatibles, degradable, se absorbe fácilmente y por su baja antigenicidad muy útil en la ingeniería de tejidos (Ge et al., 2020 y Li et al., 2018). Wang et al. (2018) trabajo con colágeno tipo I hidrolizado de tilapia, en ratones demostrando su acción antioxidante útil contra el envejecimiento.

El colágeno es una proteína más abundante en la matriz extracelular, existen 28 tipos de colágenos cuya característica más común es la presencia de cadenas polipeptídicas, constituidas por tripletes repetidos Gly-X-Y con Prolina (Pro) e Hidroxiprolina (Hyp), siendo el colágeno más abundante el tipo I que se encuentra en tendones, la piel, la córnea y los huesos de los vertebrados (Gelse, Pöschl y Aigner, 2003; Ricard-Blum, 2011 y Silver, Jaffe y Shah, 2018). En tilapia el colágeno se caracteriza por la presencia de dos cadenas polipeptídicas α_1 y una cadena polipeptídica α_2 , característico del colágeno tipo I y con una temperatura de desnaturalización menor en comparación al de mamífero (Li et al.,

2018). La piel de tilapia también se caracteriza por tener un mayor contenido de hidroxiprolina en comparación de otras especies acuática, importante en la estabilidad térmica del colágeno (Menezes et al., 2020) y estabilidad en su estructura de triple hélice al tratamiento con medios ácidos o enzimáticos utilizados en el proceso de extracción de colágeno de la piel. (Chen et al., 2016).

Para la extracción de colágeno se realiza una fase de pretratamiento de la piel a base de hidróxido de sodio y butanol con la finalidad de eliminar proteínas no colágenas y grasas, seguida por la aplicación de los métodos más usados para la extracción de colágeno, el método ácido acuoso (ASC) que se utiliza el ácido acético (Nagai y Suzuki, 2000) y el proceso enzimático a base de pepsina (PSC) (Li et al., 2018).

El rendimiento de colágeno de piel de tilapia por ASC es menor a comparación con PSC, por acción de la pepsina hidroliza los telopéptidos, lo que permite una alta solubilidad del colágeno originando un mayor rendimiento (Nalinanon et al., 2007). Song et al. (2019) los rendimientos de colágeno de fueron ASC:19.07% y PSC:19.61%, resultados similares en especies, como *Misgurnus anguillicaudatus* con ASC:22.42% y PSC:27.32% (Wang, Liu y Zhou, 2018), en *Mystus macropterus* con ASC:16.8% y PSC:28.0% (Zhang, Liu y Li, 2009) y *Ictalurus punctatus* con ASC:25.8% y PSC:38.4% (Liu, Li y Guo, 2007), porcentaje menores en comparación al rendimiento de colágeno de bovino que fue reportado en 54.3%(Gómez-Lizárraga et al., 2011)

La universidad nacional de Trujillo cuenta con reproductores que requieren evaluaciones sobre las bondades de las líneas de tilapia respecto a la calidad y rendimiento de colágeno, que podrían usarse como una fuente potencial para la extracción de colágeno.

El objetivo de este estudio es comparar los rendimientos del colágeno en tilapia “*Oreochromis niloticus*” de tres líneas, de la roja, gris y la F1, también se comparará en función del peso de los individuos a los 9 meses de edad.

BIBLIOTECA DE POSGRADO - UNT

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Ubicación Geográfica

La investigación se llevó a cabo en el Centro Experimental de Genética de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2 Material Biológico

Se utilizó piel de tilapia, "*Oreochromis niloticus*", de las líneas roja, gris y F1 (híbrido) con pesos promedios de 231 ± 21 g, 183 ± 19 g y 232 ± 13 g respectivamente, de 9 meses de cultivo del Centro Experimental de Genética de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.3 Metodología

2.3.1 Obtención del material biológico

Para la obtención del material biológico se seleccionaron y cruzaron reproductores, en proporción de 2:1 (1 macho con dos hembras). Se cruzaron machos *O. niloticus* Roja con hembras *O. niloticus* Roja, machos *O. niloticus* Gris con hembras *O. niloticus* Gris y machos *O. niloticus* Roja con hembras *O. niloticus* Gris (Prieto et al., 2016) en piscinas de 4.8 m³ de capacidad de agua útil a una temperatura de 25 ± 1 °C, oxígeno disuelto de 5 mg/l.

Los alevines de *O. niloticus* fueron cosechados y mantenidos en piscinas de 4.8m³ de capacidad de agua, alimentados con alimento comercial de 40% de proteína hasta los 9 meses de edad.

2.3.2 Extracción de Piel

Para la extracción de la piel, los peces se sacrificaron por punción en la médula espinal, se procedió a extraer la piel haciendo un corte a la altura de vértebra dorsales y a nivel de la cabeza, con una toalla se procederá a extraer la piel con mucho cuidado, los residuos de la piel (músculo) se eliminaron manualmente. Se lavó con agua de grifo y enjuago con agua destilada a temperatura ambiente. La piel se cortó en pedacitos de $1 \times 1 \pm 0.2$ cm. y se conservó a -20°C .

2.3.4 Pretratamiento de la Piel

Para la eliminación de las proteínas no colágenas se utilizó como pretratamiento NaOH al 0,1 M en una relación de muestra /solución de 1:20 (p / v) por 24 horas. Las pieles tratadas con NaOH se lavaron con agua destilada hasta neutralizar al hidróxido para ser tratadas con n-butanol al 10% con una relación muestra solución 1:20 (p / v) por 24 horas para eliminar las grasas y otros residuos. Las pieles tratadas con n-butanol, se lavaron con agua destilada quedando listas para la extracción de colágeno (Li et al., 2018).

2.3.5 Extracción de Colágeno

Para la extracción del colágeno, todos los procedimientos se realizaron 4°C .

2.3.5.1 Extracción de Colágeno método acuoso (ASC)

La extracción se inició con la adición de ácido acético 0,5 M en una relación muestra / solución de 1:50 (p / v) por 48 horas (Li et al., 2018).

El extracto se filtró al vacío con papel whatman N° 4 para extraer el colágeno, se liofilizó y se almacenó en frascos ámbar a 4°C .

2.3.5.2 Extracción de Colágeno método enzimático (PSC)

Para la extracción enzimática, el pretratamiento fue igual que el método acuoso, para la extracción de colágeno se utilizó ácido acético 0,5 M con pepsina al 0,1% en una relación muestra / solución de 1:50 (p / v) por 48 horas (Li et al., 2018).

El extracto se filtró al vacío con papel whatman N° 4 para extraer el colágeno, luego se liofilizó y se almacenó en frascos ámbar a 4 °C.

2.3.6 Rendimiento

1. **Rendimiento de piel según el peso total**, se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento Piel (\%)} = (\text{Peso de piel fresca} / \text{Peso total}) \times 100$$

2. **Rendimiento de Colágeno de ASC Y PSC liofilizado según el peso de piel**, según Buimbar et al., (2019). Se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento Colágeno (\%)} = (\text{Peso de Colágeno liofilizado g} / \text{Peso piel g}) \times 100$$

2.3.7 Porcentaje de Hidroxiprolina

El porcentaje de hidroxiprolina se midió usando el kit Hydroxyproline Assy kit (MAK008, Sigma-Aldrich, USA) y un lector de placas (iMark, Bio Rad, Japon).

Las muestras liofilizadas de colágeno ASC y PSC se diluyeron en agua ultrapura, a concentración de 0.1%. Para la muestra estándar de hidroxiprolina, se diluyó 10 ul de Hidroxiprolina de 1mg/ml con 90 ul agua ultrapura, obteniendo una concentración de 0.1 mg/ml. Se agregó 0ul (Blanco), 2u, 4, 6, 8 y 10 ul de la solución de Hidroxiprolina de 0.1mg/ml en una placa de 96 pocillos, para obtener estándares 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1ug/ml. por cada pocillo (estándar y muestras) se

agregó 94 ul de tampón de oxidación con 6 ul de Cloroquina T, se incubó por 5 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente. Para cada pocillo (estándar y muestras) se agregó 50 ul de DMAB con 50 ul de ácido perclórico / isopropanol, se incubó por 90 minutos en oscuridad y a 60 °C. la absorbancia se midió a una longitud de onda de 560 nm.

2.3.8 Espectros UV-Vis

La absorbancia se midió usando un espectrofotómetro de UV (NanoDrop One, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.), según el método de Yang et al., (2016) con una ligera modificación. Las muestras liofilizadas de colágeno ASC y PSC se diluyeron en ácido acético al 0.5M, a concentración de 0.1%. El espectro UV se midió a una longitud de onda 190 nm a 400 nm.

2.3.9 Determinación de la temperatura de desnaturalización

La temperatura de desnaturalización se determinó a partir de los cambios de viscosidad usando Digital Viscometer (NDJ-5S, A & E Lab (UK)Co. LTD., China), según el método de Zhang et al., (2007) con una ligera modificación. Las muestras liofilizadas de colágeno (ASC y PSC) se diluyeron una concentración de 0.1% en ácido acético 0,1M. La viscosidad de las soluciones se midió utilizando husillo N° 1 a una velocidad de 60 RPM, con cambios de temperaturas de 5 a 45°C, con intervalo de 5°C, para elevar la temperatura de las soluciones se utilizó un Thermo Shaker (TSI-100, A&E Lab (UK)Co. LTD., China). la viscosidad fraccional (V_f) se halla con la siguiente fórmula:

$$V_f(T^\circ) = (\eta_{sp}T^\circ - \eta_{sp}45^\circ C) / (\eta_{sp}5^\circ C - \eta_{sp}45^\circ C), \text{ donde } \eta_{sp} \text{ es viscosidad}$$

específica y $\eta_{sp}T^\circ$ es viscosidad específica en cada temperatura.

La temperatura de desnaturalización se determinó como la temperatura del punto medio, donde los cambios de viscosidad alcanzaron 0,5.

2.3.10 Electroforesis en gel de SDS-Poliacrilamida(SDS-PAGE)

SDS-PAGE se realizó según el método de Laemmli (1970) con una ligera modificación. Las muestras de colágeno (ASC y PSC) liofilizada al 0.5% con ácido acético 0.1M, se mezclaron con un tapón de muestra (Tris-HCl 0.5M pH 6.8, glicerol, SDS 10%, azul de bromofenol 1%, 2-mercaptoetanol y agua destilada) en relación de 1:1, se calentó a 95 °C por 60 segundos y se dejó enfriar a temperatura ambiente, la proteína estándar (Colágeno tipo I de piel de ternera) se diluyó 30 mg en 1ml de agua destilada, luego se carga 20 ul de las muestras junto con las muestra del gel de poliacrilamida. Se usó gel poliacrilamida discontinuo formado por un separador de 7.5% (Tris-HCl 1.5M pH 8.8, SDS 10%, acrilamida/bisacrilamida 30%, APS 10%, TEMED y agua destilada) y el gel concentrador al 4%de (Tris-HCl 0.5M pH 6.8, SDS 10%, acrilamida/bisacrilamida 30%, APS 10%, TEMED y agua destilada). Para el corrido de las bandas se trabajó con un , tampón de electroforesis (tris base, glicina, SDS y agua destilada), voltaje de 65 V por 6 horas, cumplido el tiempo se retiró los geles de la cámara (Mini-Protean tetra cell, Bio-Rad) para ser teñidos con azul brillante de Cromassie R-2550 al 1% (p/v), ácido acético y metanol por 5 horas, para luego teñir con una solución decolorante (etanol 96% y ácido acético 99.8%) por 6 horas en agitación suave. Los pesos moleculares de las proteínas se analizaron mediante la ubicación de las bandas.

2.3.11 Análisis estadístico

Se analizará los resultados pesos promedios corporal total, y las muestras del colágeno liofilizados serán analizados en las diferentes pruebas (rendimiento de colágeno, porcentaje de hidroxiprolina, absorbancia máxima de UV visible y temperatura de desnaturalización) los datos serán recolectados y analizados estadísticamente.

Los datos fueron expresados en valores promedio y desviación estándar. Utilizando el análisis de varianza para la comparación de promedios y la prueba de tukey en la contratación de promedios, con un valor de significancia de $\alpha=0.05$

BIBLIOTECA DE POSGRADO - UNTE

III. RESULTADOS

3.1 Rendimiento

Los peces de tilapia, *O. niloticus*, de las líneas Roja, Gris y F1 tiene como rendimiento de la piel (Fig. 1 y Tabla 2) según peso promedio corporal total (Wt) es de 4.22 ± 0.33 , 3.66 ± 0.36 y $4.35 \pm 0.34\%$ respectivamente. Los de mayor rendimiento piel son de la tilapia Roja y F1 sin diferencia significativa ($P > 0.05$), a diferencia de la tilapia Roja y Gris con diferencia significativa ($P < 0.05$), siendo la gris la de menor rendimiento.

El rendimiento de colágeno de ASC (Fig. 2 y tabla 1 y 3) según el peso promedio de peso de piel de la Tilapia Roja, Gris y F1 es de 19.04 ± 0.59 , 20.06 ± 2.20 y $20.28 \pm 1.86\%$, sin diferencia significativa ($P > 0.05$). El rendimiento de colágeno de PSC (Fig. 2 y tabla 1 y 3) según el peso promedio de peso de piel de la Tilapia Roja, Gris y F1 es de 21.10 ± 1.59 , 21.21 ± 1.14 y $21.10 \pm 1.59\%$, sin diferencia significativa ($P > 0.05$).

El porcentaje de la Hidroxiprolina ASC (Fig. 3 y tabla 1) de tilapia Roja, Gris y F1 fue de 9.43, 9.81 y 9.04 % respectivamente, y el porcentaje de la Hidroxiprolina PSC de la tilapia Roja, Gris y F1 fue de 10.64, 10.30 y 10.33 %. Los mayores porcentajes de Hidroxiprolina ASC es de la tilapia gris y para PSC es la tilapia Roja.

3.2 Espectros UV-Vis

Se evaluó el espectro UV-Visible del colágeno ASC y PSC de piel de *O. niloticus* de las tres líneas (Roja, Gris y F1) al 0.1% diluidos en ácido acético 0.1M. se obtuvo como resultado sus máximas absorbancias para el colágeno extraído por el método ASC de la roja, gris y F1 fueron 233 nm, 235 nm y 234 nm respectivamente, resultados similares en la absorbancia máxima para el colágeno extraído por el método PSC de la roja, gris y F1 con 234, 235 y 237 nm respectivamente (Figura 6).

3.3 Determinación de la temperatura de desnaturalización

Se evaluó la temperatura de desnaturalización del colágeno ASC y PSC (Fig. 7) de piel de *O. niloticus* de las tres líneas (Roja, Gris y F1) al 0.1% diluidos en ácido acético 0.1M, calculando las curvas de desnaturalización térmica y la de la determinación de la viscosidad fraccional, se obtuvo como temperatura de desnaturalización del colágeno ASC de la piel de tilapia de la Roja, Gris y F1 fue de 34 °C, 31.9 °C y 34.9 °C respectivamente y para el colágeno PSC de la piel de tilapia de la Roja, Gris y F1 fue de 31.1 °C, 30 °C y 31.1 °C respectivamente.

3.4 Electroforesis en gel de SDS-Poliacrilamida(SDS-PAGE)

Se evaluó el SDS-PAGE del colágeno liofilizado ASC y PSC de piel de *O. niloticus* de las tres líneas (Roja, Gris y F1) al 0.5% con ácido acético 0.1M, se observó que para los colágenos liofilizados por los métodos ASC y PSC de las tres líneas las bandas son muy similares. Con pesos moleculares entre 117.72 kDa a 111.92 kDa, son las de mayor densidad corresponden a las cadenas $\alpha 1$ y $\alpha 2$, y con peso molecular de 188.45kDa corresponde a la banda de la cadena β (Fig. 8).

Tabla 1. Resumen del Peso total, Peso de piel, cantidad de colágeno y rendimiento de la tilapia Roja, Gris y F1

Tratamientos	W total (g)	W Piel (g)	Colágeno (mg)	Hidroxirolina (%)
ASC Roja	231.3 ± 21.30	8.93 ± 0.61	1.70 ± 0.16	9.43
ASC Gris	183.3 ± 19.39	6.93 ± 1.37	1.39 ± 0.12	9.81
ASC F1	232.0 ± 13.15	8.53 ± 0.42	1.73 ± 0.16	9.04
PSC Roja	231.3 ± 21.30	8.53 ± 0.42	1.80 ± 0.12	10.64
PSC Gris	183.3 ± 19.39	6.93 ± 1.37	1.47 ± 0.29	10.30
PSC F1	232.0 ± 13.15	8.53 ± 0.42	1.80 ± 0.12	10.33

* Promedio ± desviación estándar

Tabla 2. Rendimiento de la piel según el peso promedio corporal total, de la tilapia Roja, Gris y F1

Tilapia	W t (g)	W Piel (g)	R(%)
Roja	231.3 ± 21.30	9.7 ± 1.01	4.22 ± 0.33 ^a
Gris	183.3 ± 19.39	6.7 ± 1.18	3.66 ± 0.36 ^b
F1	232.0 ± 13.15	10.1 ± 0.33	4.35 ± 0.34 ^a

* Promedio ± desviación estándar. a, b: Diferencias significativas entre tilapia Gris y F1 $p < 0.05$. a, a: sin diferencias significativas entre tilapia Roja y F1 $p > 0.05$.

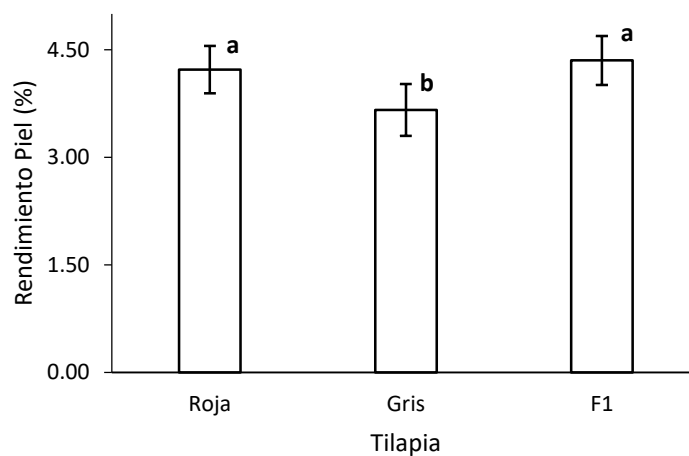


Figura 1. Rendimiento de Piel de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1, según el peso total.

Tabla 3. Rendimiento de colágeno liofilizado ASC y PSC según el peso promedio corporal total, de la tilapia Roja, Gris y F1

Método	W Piel	W Col. Liof.	R%
ASC Roja	8.93 ± 0.61	1.70 ± 0.16	19.04 ± 0.59 ns
ASC Gris	6.93 ± 1.37	1.39 ± 0.12	20.06 ± 2.20 ns
ASC F1	8.53 ± 0.42	1.73 ± 0.16	20.28 ± 1.86 ns
ASP Rojo	8.53 ± 0.42	1.80 ± 0.12	21.10 ± 1.59 ns
ASP Gris	6.93 ± 1.37	1.47 ± 0.29	21.21 ± 1.14 ns
ASP F1	8.53 ± 0.42	1.80 ± 0.12	21.10 ± 1.59 ns

* Promedio ± desviación estándar. ns: sin diferencias significativas entre tilapia Roja, Gris y F1 $p > 0.05$.

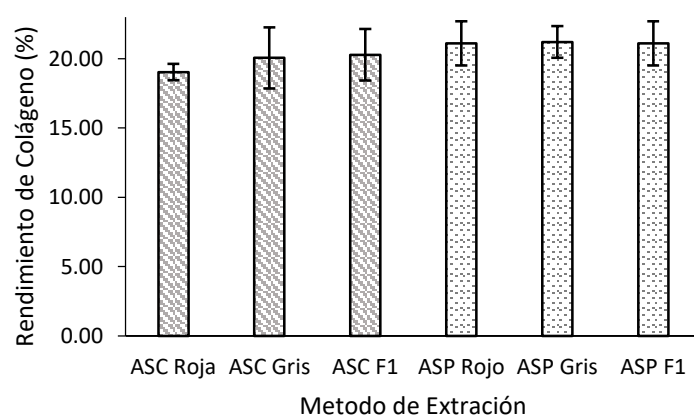


Figura 2. Rendimiento de Colágeno por los métodos de extracción ASC Y PSC de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1, según el peso de la piel.

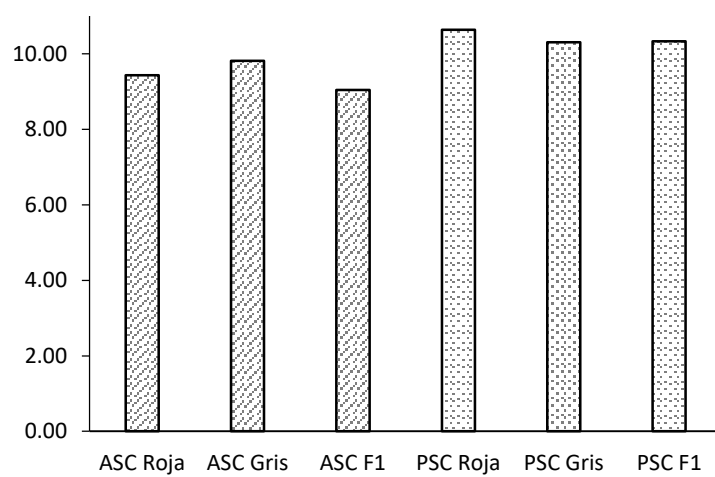


Figura 3. Rendimiento de Hidroxiprolina por los métodos de extracción ASC Y PSC de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, Gris y F1.

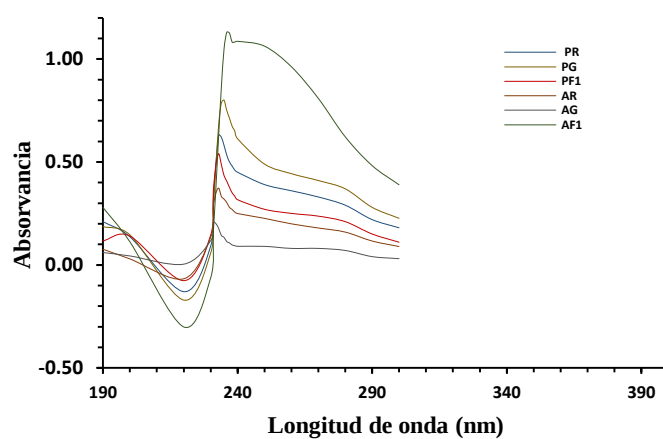


Figura 4. Espectro UV-visible de los métodos de extracción ASC y PSC de la piel de *O. niloticus* de las tres líneas. AG: ASC Tilapia gris; AF1: ASC Tilapia F1; AR: ASC Tilapia Roja; PG: PSC Tilapia gris; PF1: PSC Tilapia F1; PR: PSC Tilapia Roja

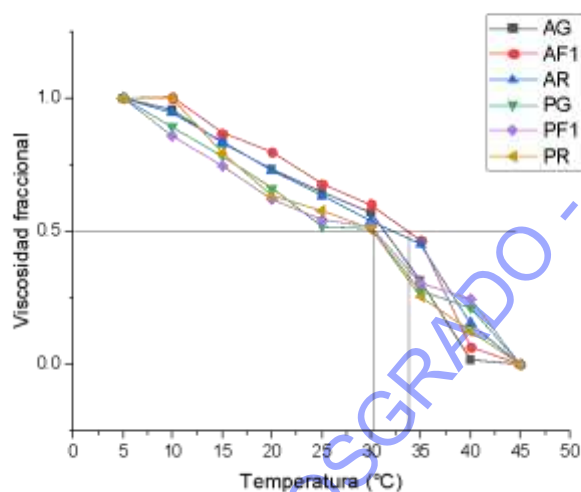


Figura 5. Viscosidad fraccional de los métodos de extracción ASC y PSC de la piel de *O. niloticus* de las tres líneas. AG: ASC Tilapia gris; AF1: ASC Tilapia F1; AR: ASC Tilapia Roja; PG: PSC Tilapia gris; PF1: PSC Tilapia F1; PR: PSC Tilapia Roja.

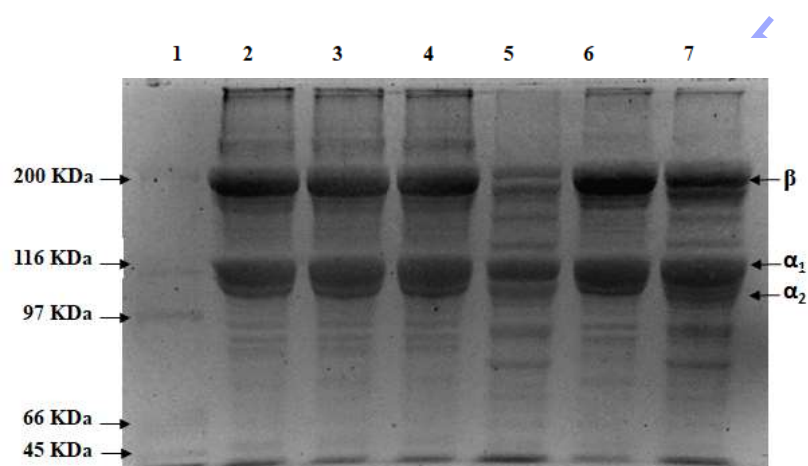


Figura 6. Electroforesis SDS-PAGE de colágeno de piel de *O. niloticus* de las tres líneas por los métodos de extracción ASC y PSC. 1. marcador de proteína estándar, 2. ASC Tilapia gris; 3. ASC Tilapia Roja; 4. ASC Tilapia F1; 5. PSC Tilapia gris; 6. PSC Tilapia Roja; 7. PSC Tilapia F1.

IV. DISCUSIÓN

Se trabajó con *O. niloticus*, tilapia Roja, Gris y F1 de nueve meses de edad con pesos promedios de 231 ± 21.30 , 183 ± 19.39 y 232 ± 13.15 g respectivamente; obteniendo rendimiento de piel de 4.22 ± 0.33 , 3.66 ± 0.36 y $4.35 \pm 0.34\%$ respectivamente, con resultados muy parecido a los obtenidos por Simões et al. (2007) con un rendimiento de 3.68 %, pero valores inferiores al obtenido por Souza y Maranhão (2001) con 6.56% y Macedo-Viegas et al. (2007) con 4.77 a 5.71%. Se podría decir que los valores podrían variar según la forma de extracción de la piel.

Los rendimientos de Colágeno liofilizado ASC de Tilapia Roja, Gris y F1 (19.04 ± 0.59 , 20.06 ± 2.20 y 20.28 ± 1.86 % respectivamente) son ligeramente menores en comparación con el Colágeno liofilizado PSC (21.10 ± 1.59 , 21.21 ± 1.14 y 21.10 ± 1.59 % respectivamente). El rendimiento de ASC es menor debido a los enlaces cruzados entre las cadenas de la región de los telopeptidos originando una baja solubilidad (Zhang et al., 2007; Zeng et al., 2012), cuando se utiliza pepsina, hidroliza las regiones de los telopeptidos sin dañar la integridad de la triple hélice del colágeno, lo que le da una alta solubilidad del colágeno originando un mayor rendimiento (Nalinanon, Benjakul y Kishimura, 2007). En otros trabajos realizados con piel de tilapia tuvieron resultados similares con 19.80% (ASC) y 20.03% (PSC) (Li et al., 2018) y 19.07% (ASC) y 19.61% (PSC) (Song et al., 2019). En especies diferentes como piel de Bagre del Canal “*Ictalurus punctatus*” (38.5%, PSC; 25.8%, ASC) (Liu, Li & Guo, 2007), piel de Locha “*Misgurnus anguillicaudatus*” (27.32%, PSC; 22.42%, ASC) (Wang, Pei & Zhou, 2018), piel de aleta de bagre longbarbel “*Mystus macropterus*” (28.0%, PSC; 16.8%ASC) (Zhang, Liu & Li, 2009) y caparazón de tortuga china de caparazón blando “*Pelodiscus sinensis*” (2.8%, PSC; 1.0%, ASC) (Li et al., 2020).

El porcentaje de hidroxiprolina de tilapia Roja, Gris y F1 es ASC: 9.43, 9.81 % y 9.04 y PSC: 10.64, 10.30 y 10.33%, estos valores son similares a los reportados por Chen et al., (2016) trabajando con piel y escama de tilapia (ASC: 9% y 10%), pero ligeramente mayor a los reportados por Sun et al. (2017) trabajando con piel tilapia, 7.9% y 8.6% para ASC y PSC respectivamente y Li et al. (2018) también trabajaron con piel tilapia, reportando 8.0 % y 7.0 % para ASC y PSC respectivamente. La cantidad de hidroxiprolina cambia de acuerdo a la especie como *Esox Lucius* (ASC: 6.6% y PSC: 6.7%) (Kozłowska et al., 2015), patas de pollo (ASC: 9.5 % y PSC: 9.9 %) (Zhou et al., 2016) y hueso de ovino *Ujumuqin sheep* (ASC: 9.5 % y PSC: 10.1 %) (Gao et al., 2018). La cantidad de hidroxiprolina también depende del medio ambiente como *Misgurnus anguillicaudatus* (ASC: 9.5 % y PSC: 8.0 %) (Wang et al., 2018), especie de agua fría y el Lucio norteño "*Esox Lucius*" (ASC: 6.6 % y PSC: 6.7 %) (Kozłowska et al., 2015), especie de agua fría con menor cantidad de hidroxiprolina. La hidroxiprolina permite la estabilidad del colágeno por la formación de enlaces de hidrógeno a través de su grupo hidroxilo, permitiendo la estabilidad del triple hélice, como consecuencia mayor estabilidad térmica (Burjanadze, 1979).

En esta investigación se obtuvo la absorbancia máxima de UV visible entre 233 a 237 nm para los colágenos ASC y PSC de la línea roja, Gris y F1, que es similar al colágeno ASC y PSC de hueso de oveja (231.3 a 231.8 nm) (Gao et al., 2018), colágeno ASC de caparazón blando de tortuga "*Pelodiscus sinensis*" (230 nm) (Yang et al., 2016) y colágeno PSC de bagre de canal "*Ictalurus punctatus*" (232 nm) (Liu, Li y Guo, 2007). Se sabe que la máxima longitud de onda de absorbancia de una proteína por lo general es de 280 nm por la presencia de aminoácidos aromáticos triptófano, tirosina y fenilalanina (Liu, Li & Guo, 2007; Ahmed, Haq y Chun, 2019),

en cambio para las proteínas colágenas es de 210 a 240nm (Bhuimbar, Bhagwat y Dandge, 2019; Wang et al., 2018), debido a la presencia de los grupos funcionales $C = O$, $-COOH$, $CONH_2$ en las cadenas polipeptídicas del colágeno (Edwardset al., 1997). Este resultado nos demuestra su alta pureza por no presentar absorbancia máxima de 280nm.

La temperatura de desnaturalización del colágeno ASC de la tilapia Roja, Gris y F1 (34, 31.9 y 34.9 °C) es mayor al colágeno PSC de las tres líneas (31.1, 30 y 31.1 °C), esto resultados se deben a la acción de la pepsina que hidroliza los enlaces peptídicos haciéndolo menos estables. Los valores de la Td del colágeno ASC y PSC son valores similares a los obtenidos por especies de agua cálidas como Sun et al. (2017) con Tilapia "*O. niloticus*" (ASC: 35.2 °C y PSC: 34.5 °C), Wang et al., (2018) con pile de Locha "*Misgurnus anguillicaudatus*" (ASC: 36.03 °C y PSC: 33.61 °C) y fueron más altos a especies de aguas frías como Li et al. (2013) con Caballa española "*Scomberomorus niphonius*" (ASC: 15.12 °C y PSC: 14.66 °C), como consecuencia, la temperatura corporal influye a la Td. Estos resultados de colágeno ASC y PSC, tiene valores menores al colágeno de hueso de oveja (ASC: 42.31 °C y PSC: 38.91 °C) (Gao et al., 2018) por su baja cantidad de hidroxiprolina como Zhang, Liu y Li. (2009) con de piel de barbo largo bagre "*Mystus macropterus*", demostraron que a mayor cantidad de hidroxiprolina mayor será la estabilidad térmica (ASC: 42.31 °C y PSC: 38.91 °C).

El SDS-PAGE del colágeno ASC y PSC de tilapia de las tres líneas Roja, Gris y F1, se observaron la presencia dos cadenas α_1 y una cadena α_2 , cuyas masas moleculares son 117.72kDa y 111.92kDa, respectivamente y la presencia de una cadena reticular (dímero β) con masa molecular 188.45 kD. Las bandas de ASC fue similar al PSC, a pesar de la acción de la pepsina de hidrolizar la región telopeptida, sin afectar la

estructura del triple hélice (Ogawa et al., 2003). Sato et al. (2000) trabajo con piel de bobino demostrando que la pepsina elimina los enlaces entrecruzados transformado una cadena β en dos cadenas α , por esta razón ASC tiene menor rendimiento, por tener mayor cantidad de cadenas reticulares que PSC. Estos resultados obtenidos son similares a lo que obtuvo Sun et al. (2017) con piel de tilapia (ASC y PSC; α_1 : 125 kDa y α_2 : 114 kDa), Li et al. (2018) con piel de tilapia (ASC y PSC; α_1 : 110 kDa y α_2 : 100 kDa), otros resultados con otras especies fueron similares como las que obtuvo Wang et al. (2018) con piel de locha "*Misgurnus anguillicaudatus*" (ASC y PSC; α_1 : 127 kDa y α_2 : 115 kDa), Kozłowska et al. (2015) con Lucio norteño "*Esox Lucius*" (ASC y PSC; α_1 : 118 kDa y α_2 : 108 kDa) y Santos et al. (2013) con colágeno de becerro (α_1 : 125.38 kDa, α_2 : 117.33 kDa y β : 173.56 kDa). Kimuar et al. (1998) trabajaron con diferentes especies acuáticas concluyendo, para que sea colágeno de tipo I debe tener principalmente las cadenas α_1 y α_2 , entonces de acuerdo a los resultados podemos decir que el colágeno de piel de tilapia ASC y PSC de las tres líneas (Roja, Gris y F1) es del tipo I.

V. CONCLUSIONES

- El rendimiento de piel de la tilapia F1 fue ligeramente mayor a la Roja y la gris fue la de menor rendimiento.
- El rendimiento de colágeno ASC (Roja. Gris y F1) fue ligeramente menor al PSC (Roja. Gris y F1), por la presencia de enlaces cruzados entre las cadenas en la región de los telopéptidos originando una baja solubilidad.
- El rendimiento de hidroxiprolina de los colágenos ASC y PSC no hubo diferencias.
- absorbancia máxima de UV visible del colágeno ASC y PSC estuvieron en los rangos establecido para las proteínas colágenas (210 a 240nm) demostrando su pureza.
- La Td del colágeno ASC es mayor al PSC esto resultados se deben a la acción de la pepsina que hidroliza los enlaces peptídicos haciéndolo menos estables.
- El SDS-PAGE del colágeno ASC y PSC se observaron la presencia dos $\alpha 1$ y una cadena $\alpha 2$, característico del colágeno tipo I.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, R.; Haq, M.; Chun, B-S. (2019). Characterization of marine derived collagen extracted from the by-products of bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 135: 668-676.
- Bhuimbar, MV, Bhagwat P and Dandge P. (2019). Extraction and characterization of acid soluble collagen from fish waste: Development of collagen-chitosan blend as food packaging film.” *Journal of environmental chemical engineering*, 7: 102983.
- Bi C, Li X, Xin Q, Han W, Shi C, Guo R, Zhong J. (2019). Effect of extraction methods on the preparation of electrospun/electrosprayed microstructures of tilapia skin collagen. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 128 (2): 234-240.
- Bringas-Alvarado L., Zamorano-Ochoa A., Rojo-Rodríguez JB., González-Félix M L., Pérez-Velázquez M., Cárdenas-López JL., Navarro-García G. (2018). Evaluación del ensilado fermentado de subproductos de Tilapia y su utilización como ingrediente en dietas para Bagre de Canal. *Biotecnia*, 20(2): 85-94.
- Burjanadze TV. (1979). Hydroxyproline content and location in relation to collagen thermal stability. *Biopolymers*, 18(4):931-8.
- Clement R., Lovell RT. (1994). Comparison of processing yield and nutrient composition of cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*), 119(2-3): 0–310.
- Chen J, Li L, Yi R, Xu N, Gao R, Hong B. (2016). Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *LWT - Food Science and Technology*, 66:453e459.

- Duan R, Zhang J, Du X, Yao X, Konno K. (2009). Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry*, 112:702–706.
- Edwards HGM, Farwell DW, Holder JM, Lawson EE. (1997). Fourier-transform Raman spectroscopy of ivory: II. Spectroscopic analysis and assignments. *Journal of Molecular Structure*, 435(1):49-58.
- FAO. (2018) El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma. Disponible en: <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.
- Gao L-L, Wang Z-Y, LI Z, Zhang C-X, Zhang D-Q. (2018). The characterization of acid and pepsin soluble collagen from ovine bones (*Ujumuqin sheep*). *Journal of Integrative Agriculture*, 17(3):704–711.
- Ge B, Wang H, Li J, Liu H, Yin Y, Zhang N, Qin S. (2020). Comprehensive Assessment of Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*) Collagen Hydrogels for Wound Dressings. *Marine Drugs*, 18(4):178.
- Gelse K., Pöschl E., Aigner T. (2003). Collagens—structure, function, and biosynthesis, 55(12), 1531–1546.
- Gomez-Lizarraga K, Pina-Barba C, Rodriguez-Fuentes N, Romero M. (2011). Obtención y caracterización de colágena tipo I a partir de tendón bovino. *Superf. Vacío*, 24 (4): 137-140.
- Kimura Sh, Zhu X-P, Matsui R, Shijoh M, Takamizawa S. (1998). Characterization of Fish Muscle Type I Collagen. *Journal of Food Science*, 53(5): 1988- -1315.

- Kozłowska J, Sionkowska A, Skopinska-Wisniewska J, Piechowicz K. (2015). Northern pike (*Esox lucius*) collagen: Extraction, characterization and potential application. *Int J Biol Macromol*, 81:220-7.
- Laemmli UK. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, (5259):680-5.
- Li C, Song W, Wu J, Lu M, Zhao Q, Fang C, Wang W, Park YD, Qian GY. (2020). Thermal stable characteristics of acid- and pepsin-soluble collagens from the carapace tissue of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Tissue Cell*, 67:101424.
- Li J, Wang M, Qiao Y, Tian Y, Liu J, Qin S, Wu W. (2018). Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical scaffold material for tissue engineering. *Process Biochemistry*, 74: 156-163.
- Liu H, Y, Li D, Guo SD. (2007). Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*), 101 (2), 621–625.
- Li Z-R, Bin Wang B, Chang-feng Chi Ch-F, Zhang Q-H, Gong Y-D, Tang J-J, Luo H-Y, Ding G-F. (2013). Isolation and characterization of acid soluble collagens and pepsin soluble collagens from the skin and bone of Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*). *Food Hydrocolloids*, 31:103-113.
- Macedo-Viegas E, Rodriguesde Souza ML, Kronka S do N. (2007). ESTUDO DA CARCAÇA DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*), EM QUATRO CATEGORIAS DE PESO. *Revista UNIMAR*, 19(3):863-870.
- Menezes MDLLR, Ribeiro HL, Abreu FOMDS, Feitosa JPA, Filho MSMS. (2020). Optimization of the collagen extraction from Nile tilapia skin (*Oreochromis*

- niloticus) and its hydrogel with hyaluronic acid. Colloids Surf B Biointerfaces, 189:110852.
- Nalinanon S, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H. (2007). Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Chemistry, 104(2):593-601.
- Neuman RE & Logan MA. (1949). The Determination of Hydroxyproline. J. biol. Chem. 299-306.
- Ogawa M, Moody MW, Portier RJ, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. Biochemical properties of black drum and sheepshead seabream skin collagen. J Agric Food Chem. 2003;51(27):8088-92.
- PNIPA, 2018. SISTEMA NACIONAL DE INNOVACIÓN EN PESCA Y ACUICULTURA, fundamentos y propuesta 2017-2022. Serie: Estudios de Preinversión 3. 2018. Disponible en: <https://www.pnipa.gob.pe/wp-content/uploads/2019/02/PESCA-Y-ACUICULTURA-3-1.pdf>
- Prieto Z, Arqueros M, Salirrosas D, Gastañudi D, Fernández R. (2016). Heterosis para el peso corporal en los híbridos del cruce de *Oreochromis niloticus* roja y gris. SCIENDO, 19(1): 25-35.
- Ricard-Blum, S. (2011). TheCollagenFamily. Cold Spring HarbPerspect Biol. 1-19.
- Rodrigues de Souza¹ ML e Maranhão TCF. (2001). Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. Maringá, 23(4):897-901.
- Santos MH, Silva RS, Dumont VC, Neves JS, Mansur HS, Heneine LGD. 2013). Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for

potential bioengineering applications. *Materials Science and Engineering: C*, 33 (2):790-800.

Sato K, Ebihara T, Adachi E, Kawashima S, Hattori S, Irie S. (2000). Possible involvement of aminotelopeptide in self-assembly and thermal stability of collagen I as revealed by its removal with proteases. *J Biol Chem*, 275(33):25870-5.

Simões MR, Ribeiro C de FA, Ribeiro S de CA Park KJ, Murr FEX. (2007). Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 27(3): 608-613.

Silver FH, Jaffe M, Shah RS. (2018). 11 - Structure and behavior of collagen. *Handbook of Properties of Textile and Technical Fibres (Second Edition)*. The Textile Institute Book Series, 345–365.

Song W-K, Liu D, Sun L-L, Li B-F, Hou H. (2019). Physicochemical and Biocompatibility Properties of Type I Collagen from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) for Biomedical Applications. *Marine Drugs*, 17(3), 137.

Sun L, Hou H, Li B, Zhang Y. (2017). Characterization of acid- and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 99:8-14.

Thuanthong M, De Gobba C, Sirinupong N, Youravong W, Otte J. (2017). Purification and characterization of angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatine produced by an enzymatic membrane reactor. *Journal of Functional Foods*, 36: 243–254.

- Wang J, Pei X, Liu H, Zhou D. (2018). Extraction and characterization of acid-soluble and pepsin-soluble collagen from skin of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Int J Biol Macromol*, 106:544-550.
- Wang L, Yang B, Du X, Yang Y, Liu J. (2018). Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 604–607.
- Yang Y, Li C, Song W, Wang W, Qian G. (2016). Purification, optimization and physicochemical properties of collagen from soft-shelled turtle calipash. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89:344-352.
- Zeng S, Yin J, Yang S, Zhang C, Yang P, Wu W. (2012). Structure and characteristics of acid and pepsin-solubilized collagens from the skin of cobia (*Rachycentron canadum*). *Food Chem*, 135(3):1975-84.
- Zhang M, Liu, W, Li G. (2009). Isolation and characterisation of collagens from the skin of largemouth longbarbel catfish (*Mystus macropterus*), 115(3), 826–831.
- Zhang Y, Liu W, Li G, Shi B, Miao Y. Wu X. (2007). Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chemistry*, 103: 906–91.
- Zhou C, Li Y, Yu, Xiaojie Y, Hua Y, Haile M, Yagoub, AEA.; Cheng Y, Hu J, Otu PNY. (2016). Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. *LWT - Food Science and Technology*, 74:145–153.

ANEXOS

BIBLIOTECA DE POSGRADO - UNT

ANEXO 1

Obtención de alevines de tilapia “*Oreochromis niloticus*” de las tres líneas: Roja, Gris y F1.

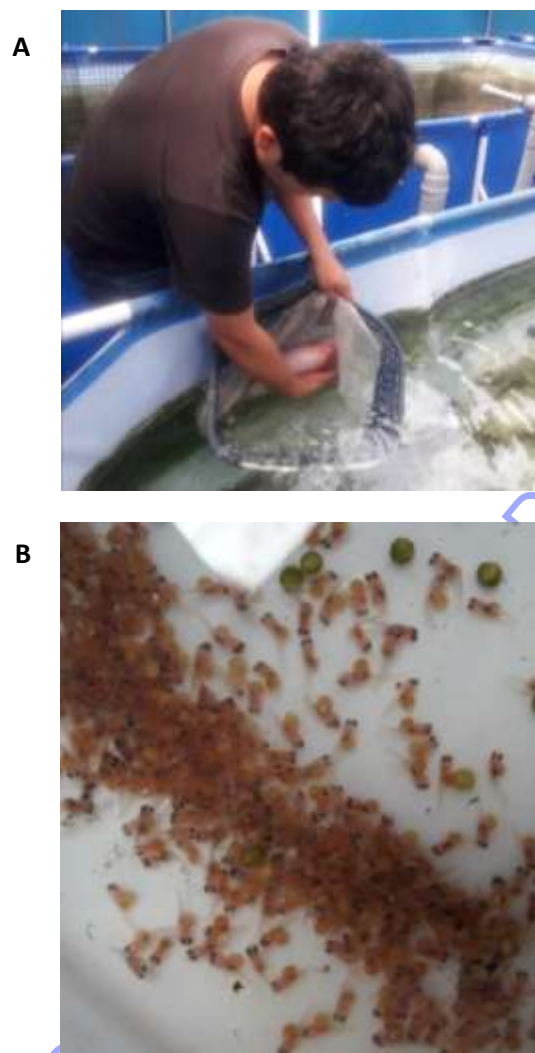


Figura 1. A. Revisión de una hembra Roja si tiene alevines. B. Alevines de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”.

ANEXO 2

Alevines de tilapia “*Oreochromis niloticus*” Roja, Gris y F1

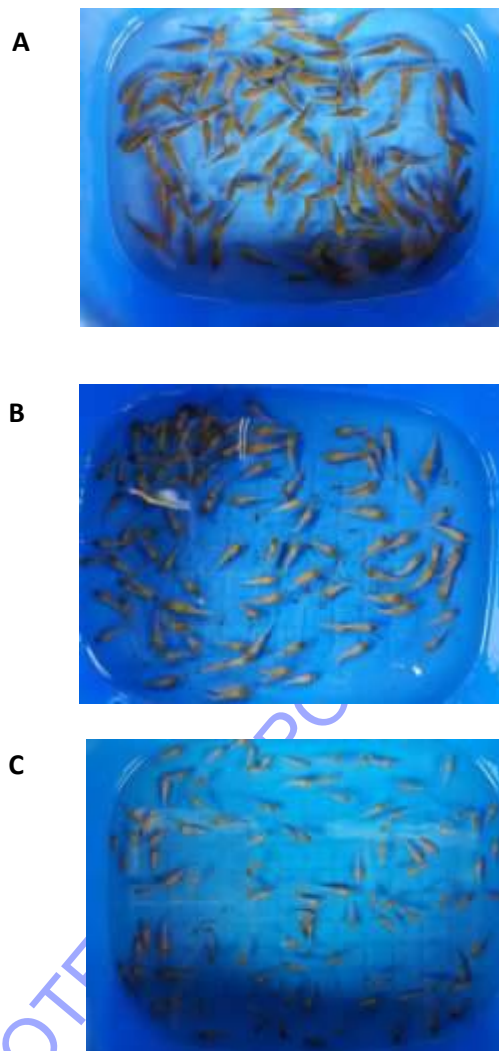


Figura 2. Alevines de *Oreochromis niloticus*. A. Gris. B. Roja. C. F1 (Híbrido).

ANEXO 3

Tilapia “*Oreochromis niloticus*”, líneas Roja, Gris y F1

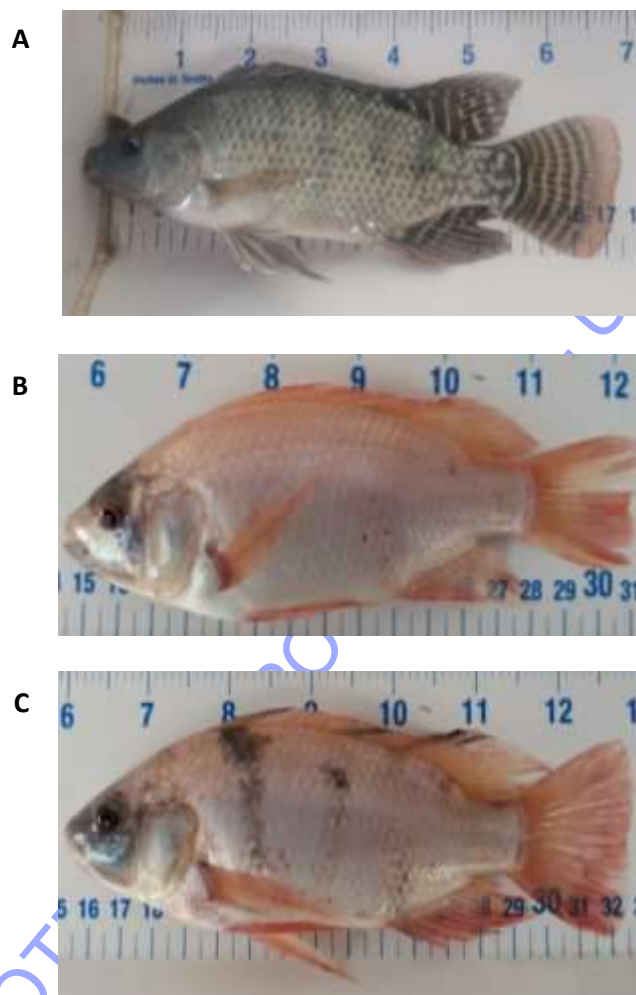


Figura 3. Juveniles *Oreochromis niloticus* A. Tilapia Gris, B. Tilapia Roja, C. Tilapia F1

ANEXO 4

Piel de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”. A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1

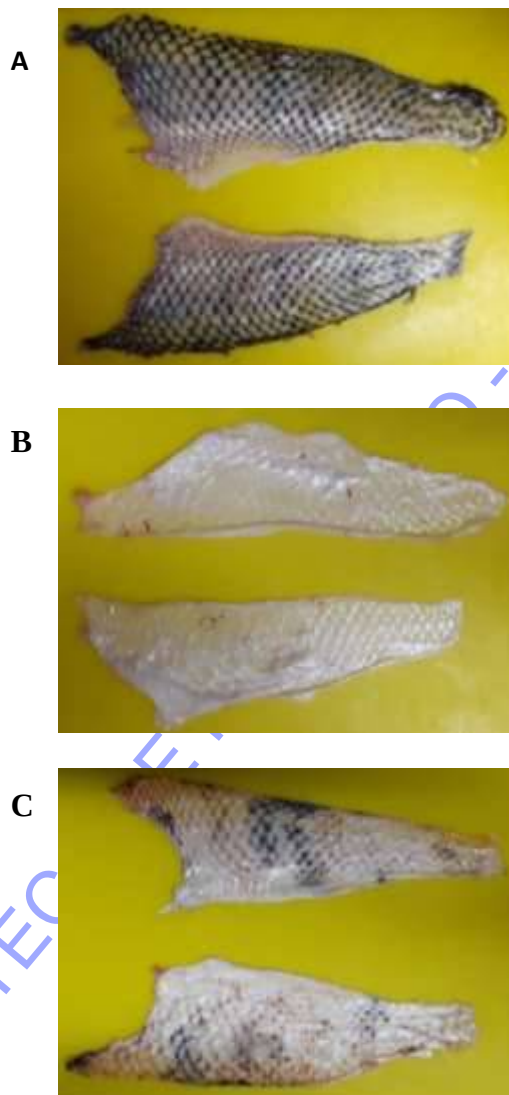


Figura 4. Piel de Tilapia, “*Oreochromis niloticus*”. A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1.

ANEXO 5

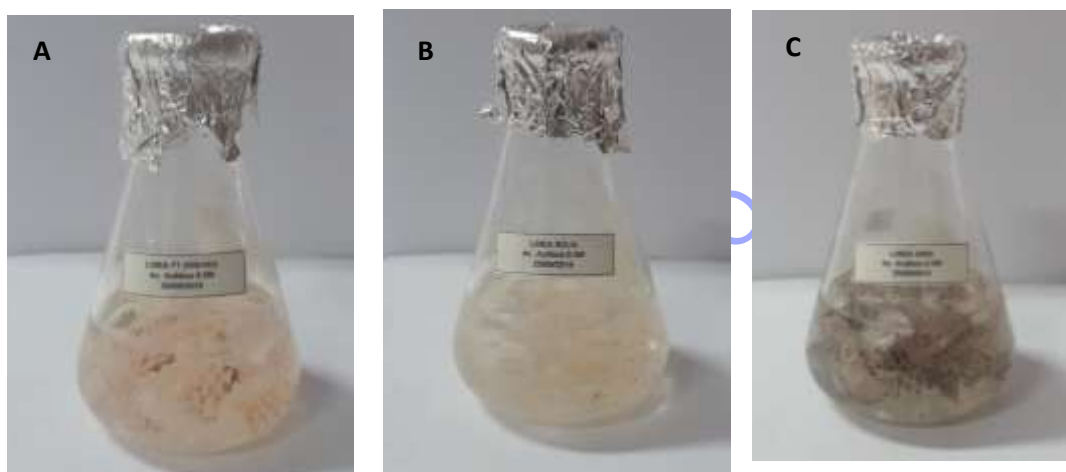


Figura 5. Piel de Tilapia, "*Oreochromis niloticus*", tratada con Ácido Acético a 0.5 M. A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1

ANEXO 6

Protocolo de Extracción de Colágeno

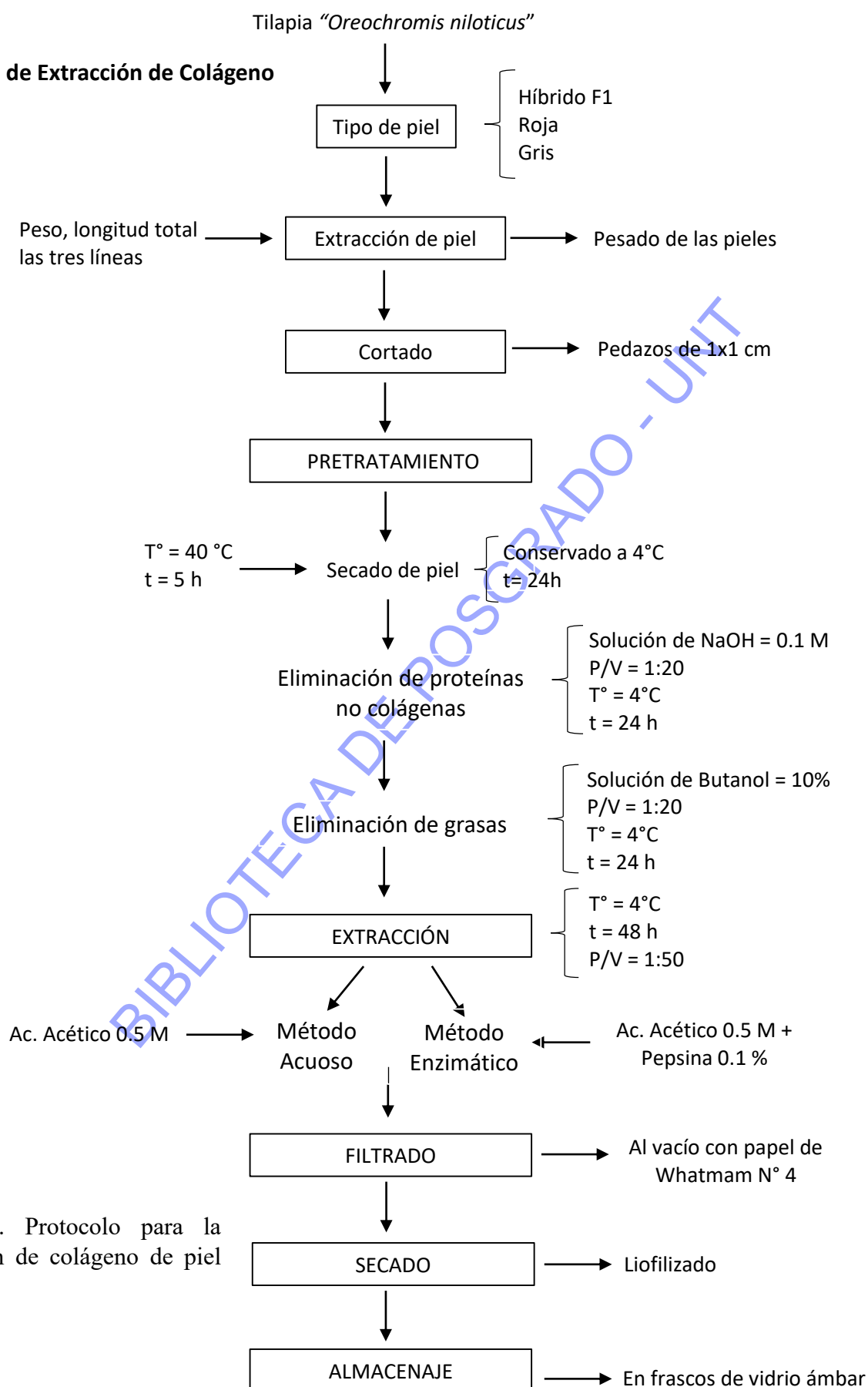


Figura 6. Protocolo para la extracción de colágeno de piel de Tilapia



Figura 7. Colágeno liofilizado de Tilapia, "*Oreochromis niloticus*". A. Línea Gris. B. Línea Roja. C. Línea F1 (Híbrido).

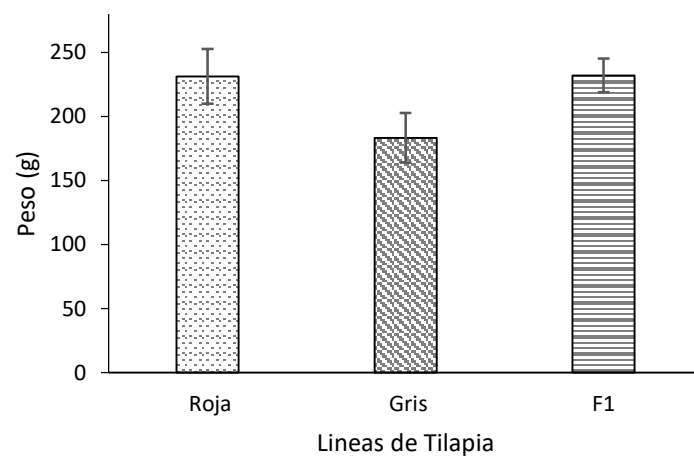


Figura 8. Peso total de Tilapia, "*Oreochromis niloticus*", de las tres líneas.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

DECLARACIÓN JURADA

Los autores suscritos en el presente documento DECLARAMOS BAJO JURAMENTO que somos los autores responsables legales de la calidad y originalidad del contenido del proyecto de investigación científica, así como, del informe de la investigación científica realizado.

TITULO: Comparación del rendimiento de colágeno de tilapia "*Oreochromis niloticus*" roja, gris y la F1, a los 9 meses de cultivo

<u>PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA</u>	<u>INFORME DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA</u>
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN ()	TRABAJO DE INVESTIGACIÓN (PREGRADO) ()
PREGRADO	
PROYECTO DE TESIS PREGRADO ()	TESIS PREGRADO ()
PROYECTO DE TESIS MAESTRIA ()	TESIS MAESTRÍA (X)
PROYECTO DE TESIS DOCTORADO ()	TESIS DOCTORADO ()

El equipo investigador integrado por:

Nº	APELLIDOS Y NOMBRES	FACULTAD	CONDICIÓN (NOMBRADO, CONTRATADO, MERITO, estudiante, OTROS)	CÓDIGO docente Número de matrícula del estudiante	Autor coautor asesor
1	Salirrosas Fernández, Remigio David	Posgrado	Estudiante	801150518	Autor
2	Prieto Lara, Zulita Adriana	Posgrado	Nombrada	2332	Asesora

.....
FIRMA

42153981
DNI

.....
FIRMA

17898937
DNI

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9782-1782>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
EN REPOSITORIO DIGITAL RENATI – SUNEDU

Trujillo, 21 de mayo de 2021

Los autores suscritos del INFORME DE INVESTIGACIÓN CIENTIFICA

Titulado: Comparación del rendimiento de colágeno de tilapia “*Oreochromis niloticus*” roja, gris y la F1, a los 9 meses de cultivo**AUTORIZAMOS SU PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL, REPOSITORIO RENATI – SUNEDU, ALICIA-CONCYTEC, CON EL SIGUIENTE TIPO DE ACCESO:**

- A. Acceso abierto: ☒
- B. Acceso restringido ☐ (datos del autor y resumen del trabajo)
- C. No autorizo su publicación ☐

Si eligió la opción restringido o No autoriza su publicación sírvase justificar

ESTUDIANTE DE PREGRADO: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN ☐ TESIS ☐

ESTUDIANTE DE POSGRADO: TESIS MAESTRIA ☒ TESIS DOCTORAL ☐

DOCENTE: INFORME DE INVESTIGACIÓN ☐ OTROS ☐

El equipo investigador integrado por:

Nº	APELLIDOS Y NOMBRES	FACULTAD	CONDICIÓN (NOMBRADO, CONTRATADO, MERITO, estudiante, OTROS)	CÓDIGO docente Número de matrícula del estudiante	Autor coautor asesor
1	Salirrosas Fernández, Remigio David	Posgrado	Estudiante	801150518	Autor
2	Prieto Lara, Zulita Adriana	Posgrado	Nombrada	2332	Asesora



 FIRMA

42153981
 DNI



 FIRMA

17898937
 DNI

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9782-1782>