

Application of residual blue shark skin (*Prionace glauca*) clarifying sugarcane juice

Annel Cadillo, Ing.¹; Santos Mercedes-Cardenas, Ing.¹; Deysi Valdiviezo-Quipuscoa, Ing.¹; Guillermo Linares, Dr.²
¹ Ingeniería Agroindustrial. Universidad Privada del Norte (UPN). Perú. acadillo378@gmail.com; santos1mercedes@gmail.com; deysi.valdiviezo1998@outlook.com

² Departamento de Ciencias Agroindustriales. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. glinares@unitru.edu.pe

Abstract– The fishing industry and the consumption of seafood products generates a large amount of waste that results in environmental pollution, including fish skin, which can be used for the extraction of food additives. Thus, the objective of the study was to evaluate the effect of the use of gelatin extracted from blue shark skin (*Prionace glauca*) in the clarification of cane juice, to determine the optimal concentrations and temperatures of the process through the response surface methodology. As a result, optimal concentrations between 1.8 g / L and 2.8 g / L and temperatures between 47.7 ° C and 50 ° C were obtained. The gelatin extracted from blue shark skin showed an excellent capacity as a clarifying agent, making it an alternative for the use of fish waste in industrial applications.

Keywords– Blue shark waste, shark skin, collagen, gelatin, clarification, sugarcane juice.

DOI: 10.24127/2414-3078.v1i1.1000

48

78- 8- 2071-4-1 2414- 3 0

Aplicación de residuos de tiburón azul (*Prionace glauca*) como clarificante de jugo de caña

Application of residual blue shark skin (*Prionace glauca*) clarifying sugarcane juice

Annel Cadillo, Ing.¹; Santos Mercedes-Cardenas, Ing.¹; Deysi Valdiviezo-Quipuscoa, Ing.¹; Guillermo Linares, Dr.²
¹ Ingeniería Agroindustrial. Universidad Privada del Norte (UPN). Perú. acadillo378@gmail.com; santoslmercedes@gmail.com; deysi.valdiviezo1998@outlook.com

² Departamento de Ciencias Agroindustriales. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. glinares@unitru.edu.pe

Resumen– *La Industria pesquera y el consumo de productos del mar, genera gran cantidad de residuos que derivan en la contaminación del ambiente, entre ellos la piel de los peces, que puede ser utilizada para la extracción de aditivos de uso alimentario. En este contexto, el objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la utilización de gelatina extraída de piel de tiburón azul (*Prionace glauca*) en la clarificación de jugo de caña, para determinar las concentraciones y temperaturas óptimas del proceso mediante la metodología de superficie de respuesta. Como resultado se obtuvieron concentraciones óptimas entre 1.8 g/L y 2.8 g/L y temperaturas entre 47.7 °C y 50 °C. La gelatina extraída de piel de tiburón azul mostró una excelente capacidad como agente clarificante, convirtiéndose en una alternativa para el aprovechamiento de residuos pesqueros en aplicaciones industriales.*

Palabras clave– *Residuos de tiburón azul, piel de tiburón, colágeno, gelatina, clarificación, jugo de caña de azúcar.*

Abstract– *The fishing industry and the consumption of seafood products generates a large amount of waste that results in environmental pollution, including fish skin, which can be used for the extraction of food additives. Thus, the objective of the study was to evaluate the effect of the use of gelatin extracted from blue shark skin (*Prionace glauca*) in the clarification of cane juice, to determine the optimal concentrations and temperatures of the process through the response surface methodology. As a result, optimal concentrations between 1.8 g / L and 2.8 g / L and temperatures between 47.7 ° C and 50 ° C were obtained. The gelatin extracted from blue shark skin showed an excellent capacity as a clarifying agent, making it an alternative for the use of fish waste in industrial applications.*

Keywords– *Blue shark waste, shark skin, collagen, gelatin, clarification, sugarcane juice.*

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial al año se generan 2,010 millones de toneladas de desechos sólidos tanto de actividades industriales y domésticas [1]. La actividad pesquera genera residuos que representan entre el 50 - 70% del peso total de la materia prima recolectada [2], de los cuales el 30% son pieles y huesos ricos en colágeno [3]; pese a ello, el uso de estos residuos esta solo destinado a la elaboración de alimento balanceado o como fertilizante, generando un bajo valor agregado. En países como Japón, España, Francia y Tailandia, donde la actividad pesquera

es importante para su economía, la contaminación generada representa cifras alarmantes a causa del vertido de residuos provenientes de esta industria [2].

En el Perú, durante la última década (2009 - 2019), la industria pesquera ha experimentado un incremento del 42.6% en sus niveles de producción [4], mediante el uso de tecnología de punta, sin embargo, uno de los problemas de mayor impacto es la emisión de residuos, tanto líquidos, como el agua de bombeo, agua de cola, sanguaza y aguas industriales durante la producción de harina de pescado [5], y residuos sólidos cuando el pescado es destinado al consumo humano directo como recortes de fileteado, pieles, escamas, huesos, entre otros [6].

La mayoría de estos residuos no se utilizan, sino que se depositan en vertederos, se queman o se arrojan en cuerpos de agua que causan graves problemas ambientales al ecosistema terrestre y acuático [7]. Frente a esta problemática, el sector industrial está trabajando en la búsqueda de soluciones para el tratamiento de los residuos líquidos. Sin embargo, el tratamiento de los residuos sólidos parece no tener aún la debida atención por parte de un gran sector industrial.

Algunos residuos sólidos como la piel, huesos y escamas contienen altos niveles de colágeno, de modo que su utilización es una interesante opción para obtener una mayor rentabilidad y una gestión eficiente de los residuos [8].

El colágeno

El colágeno es la proteína más abundante de los organismos heterótrofos constituyente de los tejidos conjuntivos como la piel, los tendones y huesos. Está compuesto por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas agrupadas en una estructura helicoidal, siendo esta la responsable de la rigidez y la resistencia de las fibras [9].

Tradicionalmente, el colágeno se ha obtenido de fuentes de origen porcino y bovino. Sin embargo, en la actualidad se busca nuevas fuentes de extracción de esta proteína, debido al rechazo hacia las enfermedades bovinas y a creencias de índole

Digital Object Identifier: (only for full papers, inserted by LACCEI).
ISSN, ISBN: (to be inserted by LACCEI).

religioso. Una fuente que actualmente se estudia es la piel de pescado, como residuo del proceso de fileteo [10].

El colágeno es un producto utilizado en diversas industrias, especialmente en la alimentaria como estabilizante, espesante y texturizante, aumentando la consistencia, elasticidad y estabilidad en diferentes alimentos como yogures, helados, quesos y otros [11]. Así mismo, tecnologías emergentes como la microencapsulación emplean el colágeno como agente encapsulante de compuestos bioactivos, vitaminas, lípidos, aminoácidos, minerales, aromas, colorantes, microorganismos probióticos y otros aditivos [12], además de la aplicación como clarificante de bebidas [13].

Clarificación de bebidas mediante colágeno

La clarificación es un proceso de eliminación de coloides que comprometen la claridad y causan turbidez e inestabilidad en jugos recién prensados y bebidas fermentadas. Para la eliminación de polifenoles, proteínas y componentes indeseables, se han estudiado varios agentes clarificantes como enzimas, gelatina, caseína, albúmina de huevo, alginato, taninos, bentonita, entre otros [14]. El uso efectivo de los agentes clarificantes requiere la optimización de sus métodos de preparación, así como la determinación de las concentraciones adecuadas necesarias para lograr la clarificación deseada.

El tratamiento enzimático generalmente conduce a la degradación de la pectina en la clarificación de jugos de frutas y otras bebidas. Mientras que proteínas como la gelatina, caseína y albúmina de huevo, con carga positiva, atraen materiales cargados negativamente; los polisacáridos, con carga negativa a un pH más bajo pueden actuar como agentes clarificantes al unir y precipitar proteínas cargadas positivamente de soluciones acuosas [15].

Existen diversos métodos para la clarificación de los jugos. Sin embargo, en la actualidad se está optando por la utilización de clarificantes naturales como el quitosano [16], carbón activado y colágeno, que se caracterizan por hacer una operación simple, de alta eficiencia y bajo costo [17].

Muchas investigaciones se han centrado en tratamientos de clarificación mediante clarificadores naturales, con excelentes propiedades de floculación basadas en la neutralización de cargas [18]. Jridi et al. [19] realizaron una clarificación con gelatina de piel de sepia (*Sepia officinalis*) en jugo de manzana. La gelatina de piel de sepia mostró una fuerza de gel relativamente alta y no tuvo impacto en los parámetros bioquímicos del jugo tratado, con una máxima clarificación alcanzada a una concentración de colágeno del 10% p/v.

Ktari et al. [20], extrajeron gelatina de la piel de *Salaria basilisca*, mediante un proceso asistido por pepsina comercial,

el cual fue aplicado para la clarificación de jugo de manzana a concentraciones de 2, 4, 6, 8 y 10 g/L), incubando a 25 °C durante 12 horas. La tasa máxima de clarificación del jugo de manzana se alcanzó con una concentración de 2 g/L, demostrando que la gelatina extraída puede ser considerada como un buen agente clarificante de zumos de frutas.

Otras investigaciones relacionadas con la clarificación de bebidas a partir de colágeno fueron realizadas por Zhang et al. [15], quienes usaron colágeno hidrolizado preparado a partir de virutas de piel de cerdo como clarificante en una bebida de crisantemo. Se logró optimizar la dosis de colágeno hidrolizado, el pH, la temperatura y el tiempo de clarificación obteniendo la transmitancia más alta con una dosis de 0.8 g/L, pH 5.45, una temperatura de 29 °C y una duración de 3 h, mejorando la calidad sensorial y la estabilidad de almacenamiento de la bebida.

Debido a la problemática de contaminación ambiental que generan los residuos de la industria pesquera, se justifica la búsqueda de procedimientos que permitan aprovechar estos residuos para la extracción de colágeno, y su aplicación como agente clarificante de jugos de frutas, incrementando de esta manera la eficiencia y la velocidad de clarificación, como alternativa al uso de coagulantes y/o floculantes químicos usados tradicionalmente a nivel industrial.

En tal sentido, el objetivo del estudio fue evaluar el efecto del colágeno extraído de la piel de tiburón azul (*Prionace glauca*) en la clarificación de jugo de caña, a fin de determinar las concentraciones y temperaturas óptimas de operación.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. *Materiales, reactivos y equipos*

Para la obtención del jugo se utilizó caña de azúcar de la variedad H32-8560 proveniente del distrito de Laredo (Trujillo, Perú). Asimismo, para la extracción de gelatina de piel de tiburón azul se utilizó agua destilada, hidróxido de sodio (NaOH), ácido cítrico y bisulfito de sodio (Su Man Pflücker e Hijos S.A., Trujillo, Perú). Los instrumentos y equipos incluyen pH metro (Hanna, HI 98127, Estados Unidos), baño maría (Memmert, WNE 45, Alemania), estufa de convección forzada (Memmert, UN 30, Alemania) y espectrofotómetro UV-Vis (Vernier, VSP-UV, Estados Unidos).

B. *Extracción y acondicionamiento*

Para la extracción de jugo se hizo una limpieza a la materia prima y luego se procedió a extraer el jugo de caña mediante un molino e inmediatamente se agregó bisulfito de sodio, 500 ppm [21].

Para la extracción de gelatina se siguió la metodología propuesta por Miano et al. [22] con algunas modificaciones. Se empleó piel de tiburón azul (*Prionace glauca*) adquirido del Mercado Mayorista Pesquero de Trujillo, Perú. Las pieles de tiburón azul se lavaron con agua potable y se cortaron en cuadrados de 1 cm x 1 cm de lado para un pretratamiento con NaOH 0.1 N en la proporción piel/solución de 1/3 (p/v) a temperatura de 10 °C durante 48 horas. Luego, se colocaron las muestras en recipientes con una solución fría de ácido cítrico 0.025 M (10 – 12 °C) durante 1 hora y en una relación de piel/solución de 1/5. Posteriormente, se enjuagaron con abundante agua fría (10 – 12 °C) hasta obtener un pH neutro. Esta operación se realizó con la finalidad de evitar la formación de sales y facilitar la extracción [23].

En la etapa de extracción se colocaron en un vaso de precipitación las pieles pretratadas, con agua destilada en la proporción 1/4 (p/v) y fueron expuestas a una temperatura de 60 °C por 240 minutos, empleando baño maría. Se filtró la suspensión con una malla y el filtrado (gelatina en solución) se refrigeró a 10 °C por 24 horas. Finalmente, la gelatina obtenida se colocó en una estufa a 60 °C por 24 horas para obtener láminas de gelatina deshidratada [22].

C. Proceso de clarificación

Se realizó en tubos de ensayo con 10 mL de jugo de caña, a los cuales se agregó la gelatina a concentraciones entre 0.8 y 4.8 g/L. Una muestra de jugo sin gelatina fue usada como control. Asimismo, estas muestras se sometieron a temperaturas que oscilaron entre 30 y 50 °C por 4 horas en baño maría. Posteriormente, se colocó en refrigeración a 10 °C por 24 horas. Se obtuvo una muestra a partir de la línea de 7 mL de cada tubo de ensayo para medir la transmitancia (%) con el espectrofotómetro UV-Vis a longitudes de onda entre 520 y 550 nm. Una alta transmitancia indica un mejor efecto del clarificante [17].

C. Optimización de las condiciones de clarificación

Se empleó el Diseño Rotacional Central Compuesto (DCCR) de segundo orden con resultados en superficies de respuesta. El planeamiento factorial fue del tipo $2k + 2*k + 3pc = 11$ experimentos (pc: puntos centrales). En la Tabla 1 se muestra los niveles de las variables independientes (X_1 : concentración de gelatina en g/L; X_2 : temperatura en °C).

TABLA 1
NIVELES DE LOS FACTORES ESTUDIADOS

Variables	Niveles				
	-1.4142	-1	0	+1	+1.4142
X_1	0.8	1.8	2.8	3.8	4.8
X_2	30.0	33.0	40.0	47.7	50.0

Se construyó modelos del tipo: $Y \approx \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$. Donde $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{11}, \beta_{22},$ y β_{12} :

Coefficientes de regresión; Y: Respuesta, en función de los coeficientes significativos para la variable respuesta (% de transmitancia).

Se realizó ANVA para los modelos y el cálculo de los coeficientes de determinación (R^2), pruebas que permitieron validar estadísticamente los modelos.

Luego, se generó superficies de respuesta con el Software IBM SPSS Statistics 24.0 (IBM Corp., Armonk, Estados Unidos), para buscar las regiones de interés [24] y finalmente, se validó los resultados comparando los valores de transmitancia estimados con el modelo propuesto y los valores experimentales para determinar el error promedio absoluto.

II. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A partir de la gelatina extraída de la piel de tiburón azul se obtuvo los valores de transmitancia que se muestran en la Tabla 2.

TABLA 2
RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LOS TRATAMIENTOS

N°	Variables independientes		Variable dependiente
	Gelatina (g/L) X_1	Temperatura (°C) X_2	Transmitancia (%) X_3
1	1.8	47.7	31.550
2	1.8	33	24.322
3	3.8	47.7	30.761
4	3.8	33	19.275
5	0.8	40	31.842
6	4.8	40	26.242
7	2.8	30	16.943
8	2.8	50	43.152
9	2.8	40	26.669
10	2.8	40	26.915
11	2.8	40	26.424

Con el tratamiento 8 (concentración de 2.8 g/L a 50 °C) se obtuvo el mayor porcentaje de transmitancia (43.152%) en el jugo de caña, lo que evidencia que ha concentraciones bajas de gelatina y a temperaturas altas, el efecto clarificante es mayor.

A. Factores de influencia en la clarificación

En la Tabla 2, se observa que el aumento en la transmitancia del jugo de caña, de 30% a más de 43% no estuvo influenciada por el aumento en la concentración de gelatina, sino por la temperatura, alcanzando el valor de 43.152% a 50 °C. No obstante, a medida que la dosis de gelatina aumentó hasta 4.8 g/L, el efecto clarificante disminuyó, en concordancia con estudios previos [17,19], donde no obtuvieron mayor clarificación al incrementar la concentración de gelatina.

Según Fu et al. [25], la dosificación de colágeno puede influir en el efecto de clarificación porque el clarificador puede interactuar con las sustancias suspendidas basadas en la

neutralización de carga y formación de puentes, induciendo precipitaciones, y por tanto producir la clarificación del medio.

No obstante, de acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla 2) a temperaturas entre 30 - 33 °C, el movimiento térmico molecular del colágeno y las sustancias suspendidas en el jugo de caña fueron débiles, provocando menos interacciones moleculares, y por tanto, menos precipitación (baja transmitancia). Sin embargo, a medida que la temperatura aumentó entre 47.7 °C y 50 °C, el movimiento térmico molecular del colágeno y las sustancias suspendidas mejoró, en consecuencia, la precipitación aumentó (mayor transmitancia).

En la Figura 1, se muestra el diagrama de Pareto, para evaluar el efecto de la concentración de gelatina y la temperatura en la transmitancia del jugo de caña, lo que demostró que solo existe un efecto lineal significativo de la temperatura sobre la variable transmitancia.

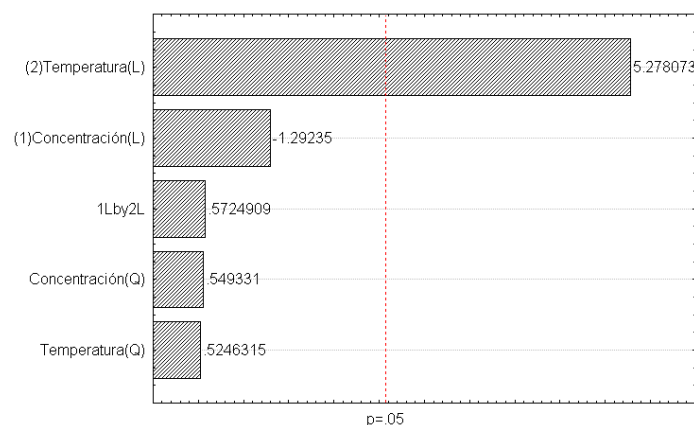


Fig. 1 Efecto de la concentración de gelatina y temperatura sobre la transmitancia.

Futuros estudios son necesarios, en los cuales se evalúen otros parámetros de tratamiento como el pH, puesto que según Serrano [9], el pH de la bebida a clarificar debe estar cercano al punto isoelectrico del colágeno (5.5), a fin de disminuir su solubilidad, y por tanto, facilitar su interacción con las sustancias suspendidas del medio y agilizar la formación y movimiento del precipitado, logrando un mejor efecto clarificante. De igual modo, es necesario el estudio de concentraciones de gelatina menores a 1.8 g/L y con temperaturas mayores a 50 °C con el fin de evaluar el efecto de estos parámetros en rangos más amplios.

B. Modelado matemático

El análisis de regresión (Tabla 3) muestra que en la variable transmitancia, los efectos individuales de los coeficientes de regresión no fueron significativos ($p > 0.05$).

Sin embargo, en la Tabla 4 se muestra el análisis de varianza de la regresión y tal como se observa, el modelo

propuesto para la transmitancia fue significativo ($p < 0.05$), y junto a su alto coeficiente de determinación ($R^2 = 0.858$), indica lo adecuado del modelo para predecir la variable transmitancia.

TABLA 3
COEFICIENTES DE REGRESIÓN PARA LA VARIABLE TRANSMITANCIA

Factor	Transmitancia (%)	
	Coefficientes	p
Intercepto	39.03140	0.547303
(1) Concentración (g/L)(L)	-9.80356	0.421987
Concentración (g/L)(Q)	0.46300	0.606411
(2) Temperatura (°C)(L)	-0.79447	0.777810
Temperatura (°C)(Q)	0.01674	0.622259
1L x 2L	0.14436	0.591769
R ²	0.858	
R ² ajustado	0.715	

El modelo de regresión encontrado sigue la siguiente ecuación:

$$Y_1 = 39.0314 - 9.80356 X_1 + 0.463 X_1^2 - 0.79447 X_2 + 0.01674 X_2^2 + 0.14436 X_1 X_2.$$

Donde: Y₁: porcentaje de transmitancia; X₁: concentración de gelatina (g/L); y, X₂: temperatura de clarificación (°C).

TABLA 4
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE TRANSMITANCIA

Variable	Fuente	SS	GL	CM	F	F tabla	p
X ₃	Regresión	418.767	5	83.753	6.458	0.198	0.031
	Residuos	64.850	5	12.970			
	Total SS	483.617	10				

En la Figura 2 se muestra la superficie de respuesta para la variable transmitancia (%) en función de la temperatura y la concentración de gelatina. Los mayores porcentajes de transmitancia se muestran en las regiones de color rojo, mientras que los porcentajes más bajos se dan en la región de color verde. Asimismo, se observa que a altas temperaturas se puede obtener un jugo con un alto porcentaje de transmitancia sin que la concentración afecte. No obstante, la zona óptima de operación se encuentra entre concentraciones de gelatina de 1.8 y 2.8 g/L y a temperaturas entre 47.7 y 50 °C (valores dentro de los rangos estudiados). De la misma forma, a partir de 40 °C también se puede obtener altos valores de transmitancia, pero utilizando bajas concentraciones de gelatina.

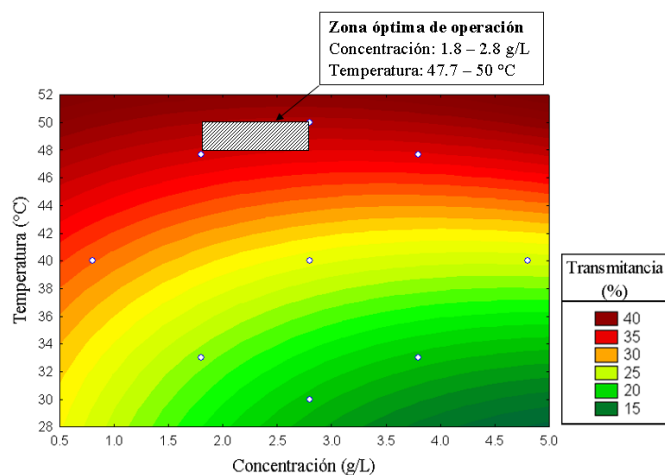


Fig. 2 Superficie de respuesta para la variable transmitancia.

D. Validación del modelo

Una vez determinada la zona óptima de operación, se procedió a realizar la validación de los resultados, para ello se comparó los valores de transmitancia estimados con el modelo propuesto y los valores experimentales. Como resultado se obtuvo un error promedio absoluto de aproximadamente 6.0% (Tabla 5). De modo que el modelo presenta una buena capacidad de predicción para la transmitancia en jugos de caña.

TABLA 5
VALIDACIÓN DEL MODELO PARA PREDECIR LA TRANSMITANCIA DEL JUGO DE CAÑA

Variables independientes		Transmitancia		
Concentración (g/L)	Temperatura (°C)	Experimento	Estimado	Error absoluto
3.8	47.7	30.761	34.822	13.203
1.8	47.7	31.55	35.472	12.431
2.8	50	43.152	37.548	12.986
3.8	33	19.275	18.579	3.613
2.8	30	16.943	18.569	9.600
1.8	33	24.322	23.472	3.493
4.8	40	26.242	25.364	3.345
0.8	40	31.842	31.110	2.300
2.8	40	26.669	26.385	1.065
2.8	40	26.915	26.385	1.970
2.8	40	26.424	26.385	0.148
Promedio				5.832

III. CONCLUSIONES

La gelatina extraída de piel de tiburón azul (*Prionace glauca*) mostró un excelente efecto clarificante en el jugo de caña de azúcar. Las condiciones óptimas para obtener una alta transmitancia en el jugo de caña mediante la metodología de superficie de respuesta fueron entre 1.8 g/L y 2.8 g/L de gelatina y entre 47.7 °C y 50.0 °C. No obstante, para futuros trabajos se recomienda aplicar temperaturas superiores a 40 °C, en combinación con bajas concentraciones de gelatina.

REFERENCIAS

- [1] Banco Mundial. 2018. Los desechos: un análisis actualizado del futuro de la gestión de los desechos sólidos. Disponible en <https://www.bancomundial.org/es/news/immersive-story/2018/09/20/what-a-waste-an-updated-look-into-the-future-of-solid-waste-management>
- [2] Solari, A., Córdova, J. 2015. Extracción de colágeno proveniente de residuos del procesamiento de *Engraulis ringens* "anchoveta". *Ciencia e Investigación*, 18(2): 65-68.
- [3] Gómez-Guillén, M., Turnay, J., Fernández-Díaz, M., Ulmo, N., Lizarbe, M., Montero-García, P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16: 25-34.
- [4] Ministerio de la Producción. 2019. Reporte mensual de la evolución del sector pesca-agosto 2019. Disponible en <http://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/shortcode/estadistica-oe/estadistica-pesquera>
- [5] Suárez, N. 2010. Tributos medio ambientales como alternativa para disminuir el índice de contaminación de Chimbote – Perú. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- [6] ITP. 2018. Residuos de la Pesca: aprovechamiento y valor agregado. Disponible en: https://www.itp.gob.pe/archivos/vtic/PESCA_001-2018.pdf.
- [7] Bhumbar, M.V., Bhagwat, P.K., Dandge, P.B. 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*, 102983.
- [8] Govindharaj, M., Roopavath, U.K., Rath, S.N. 2019. Valorization of discarded Marine Eel fish skin for collagen extraction as a 3D printable blue biomaterial for tissue engineering. *Journal of Cleaner Production*, 230: 412-419.
- [9] Serrano, J. 2011. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp.*) y cachama (*Piaractus brachyomus*). Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [10] Velarde, M., Beltrán, A., Pichardo, J., Amezcua, C. 2015. Extracción de colágeno a partir de pieles de tilapia. *Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 2(4): 631-639.
- [11] Flores, C. 2017. Extracción de colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina. Tesis de Licenciatura. Riobamba, Ecuador.
- [12] Bravo, A., Dario, J., Vela, R., Arce, T., Alva, A., Tello, F. 2019. Gelatina a partir de piel de doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) y su uso como material encapsulante. *Revista TECNIA*, 29 (1):5-12.
- [13] López, I. 2014. Uso de clarificantes de proteína vegetal en vino tinto ecológico. Tesis doctoral. Universidad de la Rioja, España.
- [14] Pinto, A., Prestes, R., Alviero, T. 2013. Clarificación del jugo de manzana de dos cultivos utilizando tratamiento enzimático y colágeno hidrolizado. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 15(2): 137-146.
- [15] Sharma, H.P., Madan, A., Joshi, D.C. 2019. Clarifying agents. *Reference Module in Food Science*, 53-60.
- [16] Taştan, Ö., Baysal, T. 2017. Chitosan as a novel clarifying agent on clear apple juice production: Optimization of process conditions and changes on quality characteristics. *Food Chemistry*, 237: 818-824.

- [17]Zhang, Q.-X., Fu, R.-J., Yao, K., Jia, D.-Y., He, Q., Chi, Y.-L. 2018. Clarification effect of collagen hydrolysate clarifier on chrysanthemum beverage. *LWT- Food Science and Technology*, 91: 70–76.
- [18]Ortiz, E., Macias, V., Cabello, A. 2015. Precipitación de polifenoles de vino utilizando. *CyTA - Journal of Food*, 13(4): 597–602.
- [19]Jridi, M., Lassoued, I., Kammoun, A., Nasri, R., chaâbouni, M., Nasri, M., Souissi, N. 2015. Screening of factors influencing the extraction of gelatin from the skin of cuttlefish using supersaturated design. *Food and Bioproducts Processing*, 94: 525–535.
- [20]Ktari, N., Jridi, M., Nasri, R., Lassoued, I., Ben Ayed, H., Barkia, A., Nasri, M. 2014.Characteristics and functional properties of gelatin from zebra blenny (*Salaria basilisca*) skin. *LWT- Food Science and Technology*, 58: 602-608.
- [21]Comisión del Codex Alimentarius. 2017. Ratificación y/o revisión de niveles máximos para los aditivos alimentarios y coadyuvantes de elaboración en normas del codex. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/zh/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-711-49%252FWD%252Ffa49_05_Add.1s.pdf.
- [22]Miano, A., Rojas, C., Barraza, G. 2014. Influencia de la temperatura y tiempo de extracción en la fuerza de gel y rendimiento de gelatina obtenida a partir de piel de tollo (*Mustelus mento*). *Scientia Agropecuaria*, 5(3): 140-147.
- [23]Romero, R. 2016. Obtención de gelatina de piel de perico (*Coryphaena hippurus*) y caracterización de sus propiedades fisicoquímicas. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- [24]Marcelo-Diaz, R., Luján-Gonzales, V., Ramirez, L., Olano, M., Vargas, A., Rojas, M.L., Linares, G. Fenólicos a partir de residuos de café: Optimización del proceso de extracción. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(4): 405-410.
- [25]Fu, R., Yao, K., Zhang, Q., Jia, D., Zhao, J., Chi, Y. 2017. Collagen hydrolysates of skin shavings prepared by enzymatic hydrolysis as a natural flocculant and their flocculating property. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 182(1): 55–66.