

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO HIALURÓNICO EN LA MEMBRANA INTERSTICIAL DE LAS CÁSCARAS DE HUEVO GENERADAS COMO RESIDUOS EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA

DETERMINATION OF HYALURONIC ACID CONTENT IN THE INTERSTITIAL MEMBRANE OF EGGHELLS GENERATED AS WASTE IN THE BAKERY INDUSTRY

Autores (Authors): Rodríguez Hidalgo María Alejandra; Moreno Valencia Sebastián Alejandro; Patichoy Calpa Santiago.

Facultad (Faculty): de INGENIERÍA

Programa (Program): INGENIERÍA DE PROCESOS

Asesor (Support): MSc. Hugo Andrés Gomajoa Enríquez

Fecha de terminación del estudio (End of the research): Abril del 2024

Modalidad de Investigación (Kind of research): Trabajo de Grado

PALABRAS CLAVE

ACIDO HIALURONICO (AH)
PAPAÍNA
DIGESTIÓN ENZIMÁTICA
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA
SÉRUM

KEY WORDS

HYALURONIC ACID (AH)
PAPAIN
ENZYMATIC DIGESTION
LIQUID CHROMATOGRAPHY
SERUM

RESUMEN: El AH es un polisacárido glucosaminoglicano, el cual es un componente de uso potencial en la industria cosmética, extraído principalmente de tejidos animales a través de complejos y robustos procesos. En esta investigación, el AH fue obtenido y caracterizado mediante procesos fisicoquímicos, a partir de la MCH generada como residuo. El AH fue separado por medio de una digestión enzimática con papaína a una temperatura constante 60°C, y las variables de estudio fueron el

tiempo, 8, 16 y 24 horas, y la relación de papaína 10, 20 y 30 mg/g MCH respectivamente. Se realizó una determinación cuantitativa de AH por cromatografía líquida HPLC donde se determinó que el factor tiempo no es estadísticamente significativo en la separación de AH, mientras que la relación de papaína tiene una alta correlación en el rendimiento de AH. Mientras tanto, el rendimiento más alto de AH, $14,58 \pm 0,18$ mg/L, se obtuvo de las muestras incubadas a 24 horas, con una concentración de papaína 20 mg: g MCH y que decrece en una mayor concentración de enzima. Por último, se realizó un diseño de mezclas en la formulación de un sérum facial de AH, con el fin de encontrar la formulación adecuada para obtener el mayor porcentaje de capacidad antioxidante, el cual, por método DPPH, se obtuvo un resultado del 78,00%, el cual se presenta en la formulación con 4,00 % de AH, 70,00 % de agua destilada, 21,00 % de glicerina y 5,00% de ácido ascórbico.

ABSTRACT: *HA is a glycosaminoglycan polysaccharide, which is a component of potential use in the cosmetic industry, extracted mainly from animal tissues through complex and robust processes. In this research, HA was obtained and characterized by physicochemical processes, from the HCM generated as waste. HA was separated by enzymatic digestion with papain at a constant temperature of 60°C, and the study variables were time, 8, 16 and 24 hours, and the ratio of papain 10, 20 and 30 mg/g MCH, respectively. Quantitative determination of HA by HPLC liquid chromatography was performed where it was determined that the time factor is not statistically significant in HA separation, while the papain ratio has a high correlation in HA yield. Meanwhile, the highest HA yield, 14.58 ± 0.18 mg/L, was obtained from samples incubated at 24 hours, with papain concentration 20 mg: g MCH and decreasing in higher enzyme concentration. Finally, a mixture design was carried out in the formulation of a facial serum of HA, in order to find the appropriate formulation to obtain the highest percentage of antioxidant capacity, which, by DPPH method, a result of 78.00% was obtained, which is presented in the formulation with 4.00 % of HA, 70.00 % of distilled water, 21.00 % of glycerin and 5.00% of ascorbic*

acid.

CONCLUSIONES: El análisis detallado de un proceso experimental para extraer AH de MCH mediante hidrólisis enzimática con papaína. Se observa una consistencia y precisión en las mediciones fisicoquímicas de las MCH, con un pH promedio de $7,97 \pm 0,59$ y una moderada variabilidad. La humedad exhibe una mayor dispersión, mientras que la densidad muestra una mínima variabilidad. Sin embargo, el contenido de ceniza es notablemente elevado.

En cuanto a la digestión enzimática y el análisis estadístico, se realizaron múltiples experimentos a una temperatura constante de 60°C y con concentraciones variables de papaína. La concentración de papaína mostró la mayor significancia en la producción de AH, mientras que el tiempo de reacción no pareció ser una variable significativa. La concentración promedio de AH obtenida fue de aproximadamente $12,37 \pm 1,88$ mg/L en el diseño experimental.

El análisis cromatográfico corroboró la presencia de AH en los extractos obtenidos, mientras que la caracterización fisicoquímica del extracto de AH mostró un pH promedio de $6,5 \pm 0,56$, indicando coherencia con el rango óptimo para el AH. Además, se obtuvo una Media LS de $14,58 \pm 0,18$ de AH respecto a una concentración de 20 mg de papaína dando lugar a una diferencia significativa y siendo heterogéneo respecto a los grupos analizados el DE.

Además, se utilizó un diseño de mezclas para la elaboración de un sérum facial con AH, donde se encontró que la mezcla con mayor capacidad antioxidante fue el número tres, con una composición específica.

Se destaca la metodología convencional para la higienización de las CH, aunque no se realizó un análisis microbiológico en este estudio. Se compararon los métodos de separación de MCH y se destacó el rendimiento obtenido en este estudio.

El proceso experimental demostró la viabilidad de extraer AH de MCH mediante hidrólisis enzimática, con resultados consistentes en la caracterización fisicoquímica y el análisis cromatográfico. Los factores como la concentración de papaína mostraron una influencia significativa en la producción de AH, mientras que el tiempo de reacción no tuvo un efecto pronunciado.

CONCLUSIONS: *Detailed analysis of an experimental process to extract HA from HCM by enzymatic hydrolysis with papain. Consistency and precision in the physicochemical measurements of the MCHs is observed, with an average pH of 7.97 ± 0.59 and moderate variability. Moisture exhibits greater scatter, while density shows minimal variability. However, ash content is notably high.*

As for enzymatic digestion and statistical analysis, multiple experiments were conducted at a constant temperature of 60°C and varying concentrations of papain. The concentration of papain showed the highest significance in HA production, while reaction time did not appear to be a significant variable. The average HA concentration obtained was approximately 12.37 ± 1.88 mg/L in the experimental design.

Chromatographic analysis corroborated the presence of HA in the extracts obtained, while the physicochemical characterization of the HA extract showed an average pH of 6.5 ± 0.56 , indicating consistency with the optimum range for HA. In addition, a mean LS of 14.58 ± 0.18 of HA was obtained with respect to a concentration of 20 mg papain giving rise to a significant difference and being heterogeneous with respect to the analyzed groups the DE.

In addition, a mixture design was used for the preparation of a facial serum with HA, where it was found that the mixture with the highest antioxidant capacity was number three, with a specific composition.

The conventional methodology for sanitization of CHs is highlighted, although microbiological analysis was not performed in this study. MCH separation methods were compared and the performance obtained in this study was highlighted.

The experimental process demonstrated the feasibility of extracting HA from MCH by enzymatic hydrolysis, with consistent results in physicochemical characterization and chromatographic analysis. Factors such as papain concentration showed a significant influence on HA production, while reaction time did not have a pronounced effect.

RECOMENDACIONES: Se sugiere realizar pruebas detalladas microbiológicas después de hacer la respectiva higienización de las CH para determinar si existe presencia de microorganismos patógenos.

Es importante promover la investigación sobre compuestos activos provenientes de residuos orgánicos como el AH, ya que contribuye al avance en el campo de la producción industrial de productos de interés en los diferentes campos investigativos.

Profundizar en la investigación sobre metodologías de purificación de AH para una futura comercialización de este componente, en áreas de alta demanda, como la industria cosmética o farmacéutica.

Tener en cuenta rangos de tiempos en minutos para evidenciar si el factor tiempo sigue siendo insignificante respecto a la variable de respuesta, y respecto al otro factor, concentración de papaína.

A pesar de los resultados de referentes bibliográficos que expresan que la mejor temperatura de hidrólisis enzimática con papaína para la obtención de AH es 60°C,

se podría establecer la temperatura como una variable de estudio, y no dejarla fija para evidenciar el efecto sobre la variable de respuesta.

RECOMMENDATIONS: *It is suggested to perform detailed microbiological tests after the respective sanitization of the CH to determine if pathogenic microorganisms are present.*

It is important to promote research on active compounds from organic wastes such as HA, since it contributes to progress in the field of industrial production of products of interest in different research fields.

To deepen research on HA purification methodologies for a future commercialization of this component, in areas of high demand, such as the cosmetic or pharmaceutical industry.

To take into account time ranges in minutes to demonstrate if the time factor is still insignificant with respect to the response variable, and with respect to the other factor, papain concentration.

In spite of the results of bibliographic references that express that the best enzymatic hydrolysis temperature with papain to obtain HA is 60°C, the temperature could be established as a study variable, and not leave it fixed to demonstrate the effect on the response variable.