

EFFECTO DE UNA CENTRIFUGACIÓN COMPLEMENTARIA EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y REOLÓGICA DEL AGUA DE COLA

EFFECT OF COMPLEMENTARY CENTRIFUGATION ON CHEMICAL AND RHEOLOGICAL COMPOSITION FROM STICKWATER

Santiago Valdez-Hurtado¹, Francisco Goycolea-Valencia², Enrique Márquez-Ríos³, Ramón Pacheco-Aguilar^{2*}

¹ Universidad Estatal de Sonora - Unidad Académica Navojoa. Blvd. Manlio Fabio Beltrones 810, Col. Bugambillas, C.P. 85875

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. P.O. Box 1735. Hermosillo, Sonora 83000, México.

³ Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora, Encinas y Rosales s/n. Hermosillo, Sonora, 83000. México.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la centrifugación complementaria en la composición química y reológica parcial, así como la biodegradabilidad del agua de cola de sardinas Monterey y sardina crinuda como alternativa en la recuperación de sólidos. Se utilizó agua de cola y se centrifugó para posteriormente aplicarle los análisis respectivos. Es de resaltar que la centrifugación complementaria reduce significativamente la concentración de sólidos totales, viscosidad, demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) y demanda química de oxígeno (DQO) a valores cercanos al 50 %. La concentración de colágeno en el agua de cola (11.7 mg/g y 3 mg/g) fue más alta que las observadas después de centrifugar (3.3 y 0.87 mg/g), además, la viscosidad presentó una relación con la concentración de colágeno/gelatina, que ayuda a calcular la biodegradabilidad. Esta, se calculó mayor de 2.5 pero menor de 5. Se concluye que la centrifugación complementaria como operación unitaria aumenta la recuperación de sólidos y mejora del tratamiento agua de cola

Palabras clave: Agua de cola, centrifugación, viscosidad, DBO₅, DQO.

ABSTRACT

The effect of the complementary centrifugation on the chemical and partial rheological composition, as well as the biodegradability of Monterey sardine and crinude sardine stickwater as alternative in the recovery of solids was evaluated. Was used stickwater and centrifuged to subsequently apply the respective analyzes. Complementary centrifugation significantly reduces the concentration of total solids, viscosity, biochemical oxygen demand (BOD₅) and chemical oxygen demand (COD), by almost 50%. The stickwater collagen concentration (11.7 mg/g and 3 mg/g) was higher than the concentrations in centrifuged stickwater (3.3 and 0.87 mg/g), also the viscosity was related to the collagen/gelatin concentration, which helps calculate biodegradability. This was calculated to be greater than 2.5 but less than 5. It is concluded that the complementary centrifugation as a unit operation increases the recovery of solids and improves the treatment of stickwater.

Keywords: Stickwater, centrifugation, viscosity, BOD₅, COD.

INTRODUCCIÓN

La pesca de pelágicos y camarón es una actividad económica importante en el desarrollo del Estado de Sonora México. El procesamiento de los mismo, se realiza en plantas congeladoras y reductoras que se encuentran muy cerca de los astilleros lo que impacta negativamente al ambiente (García-Sifuentes *et al.*, 2009). La industria reductora, utiliza a las especies pelágicas menores como la sardina, la anchoveta y la caballa, entre otras, como materia prima en la producción de harina y aceite de pescado (García-Sifuentes *et al.*, 2014). Las sardinas empleadas en la producción de harina de pescado se utilizan enteras, por lo que su material composicional como proteínas/aminoácidos, minerales (Na, Ca, Fe, P y K), lípidos y vitaminas (Shahidi y Janak, 2001), además de colágeno; están presentes en sus efluentes residuales (Deng-Cheng, 2002). El agua de cola (AC) es el subproducto de la elaboración de harina y aceite de pescado que se forma por la centrifugación del licor prensa y es fuente de vitamina B₁₂ (Johnson, 2002) y otras vitaminas solubles en agua (riboflavina, niacina y ácido pantoténico) (F.A.O 1986). Su composición química en promedio es de 8-10 % de sólidos totales, y varios autores la sitúan en 5.6 % de proteína, 0.6 % de grasa, 1.8 % de cenizas y 90-92 % de humedad (Almas, 1985; Del Valle y Aguilera, 1991; Goycolea *et al.*, 1997). Presenta una viscosidad de 9 cP (0.009 Pa.s) y una transmitancia de 0.39 % (575 nm) en una dilución 1:100 (Castillo *et al.*, 1987.). El método tradicionalmente utilizado para el tratamiento del AC consiste en la aplicación de calor para la eliminación de agua por evaporación a vacío para concentrar los sólidos. Estos últimos son recuperados e incorporados a la harina de pescado y el efluente final se desecha al mar, aunque en algunos casos no cumple con los indicadores mínimos establecidas en las normas oficiales mexicana para poder verterla, como en demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), la cual es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de 5 días y demanda química de oxígeno (DQO) la cual se define como la concentración de la masa de oxígeno equivalente a

*Autor para correspondencia: Ramón Pacheco Aguilar

Correo electrónico: rpacheco@ciad.mx

Recibido: 11 de noviembre de 2017

Aceptado: 09 de enero de 2018

la cantidad de dicromato consumida por la materia disuelta y suspendida cuando una muestra de agua se trata con este oxidante bajo condiciones definidas, siendo estos dos parámetros indicadores de potencial actividad metabólica debido a partículas orgánicas e inorgánicas en solución. En este estudio se realizó un análisis proximal y reológico parcial, DQO/DBO₅, viscosidad y de aminoácidos libres en AC antes y después de la aplicación de centrifugación complementaria (CC) como una alternativa en el tratamiento y recuperación de sólido del AC y observar la biodegradabilidad por la relación DQO/DBO₅ antes de descartarla al mar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

Se trabajó con AC de sardina Monterey (ACSM) (*Sardinops sagax* Jenyns 1842) y AC de sardina crinuda (ACSC) (*Opisthonema libertate* Günther 1867), las cuales se obtuvieron de la empresa PROPEGUAY, SA de CV en Guaymas, Sonora México. Las muestras fueron recolectadas en recipientes de plástico de un galón con tapones de rosca (Dirección General de Normas, 1980). Las muestras se enfriaron rápidamente en baño de hielo y se trasladaron al Laboratorio de Productos Pesqueros del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Una vez ahí, una parte de AC se sometió a centrifugación complementaria (CC) en una centrifuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Inc., Palo Alto, CA) a 17,648 *xg* a 25 °C durante 30 min. El sobrenadante obtenido se denominó agua de cola centrifugada (ACC) de sardina Monterey (ACCSM) y sardina crinuda (ACCSC) para ser utilizadas en cada una de las pruebas.

Análisis químico y pH

Los análisis químicos (humedad, sólidos totales, proteína, lípidos, cenizas y pH) se realizaron como lo indica las normas del Association of Official Analytical Chemists - AOAC International (AOAC, 2000). La cuantificación de nitrógeno no proteico (NNP) se realizó mediante la técnica descrita por Woyewoda *et al.* (1986). De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1996), el pH se midió directamente en la muestra con un potenciómetro.

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅)

La DBO se calculó mediante la diferencia de oxígeno disuelto inicial (ODi) y oxígeno disuelto al quinto día (OD₅), obtenidas de la siguiente manera. Se tomaron 300 mL de cada muestra para realizar las diluciones de trabajo. Se elaboraron controles de glucosa-ácido glutámico al 2% y se colocaron en frascos Winkler para DBO₅ para cuantificar el oxígeno disuelto (OD), a 20 °C ± 1 °C con un ThermoOrion Oxímetro Modelo 233553-A01 (Orion, Inc., Beverly, MA). Los frascos Winkler se incubaron durante cinco días bajo las condiciones de temperatura anteriormente descritas. Transcurrido el tiempo de incubación, se determinó inmediatamente el oxígeno disuelto final (OD₅) después de destapar la botella Winkler evitando que la muestra absorba oxígeno del aire a 20 °C ± 1 °C (NMX-AA-028-SCFI, 2001).

Demanda química de oxígeno (DQO)

Para determinar la DQO se utilizó la metodología descrita en la Norma Mexicana (NMX-AA-030-SCFI-2001). Se tomaron 50 mL de cada muestra y se colocaron en un matraz. Se añadió 1 g de HgSO₄ y perlas de vidrio para homogeneizar. Posteriormente, se añadieron 25 mL de dicromato de potasio 0.042 M y se mezclaron mediante un movimiento circular. El sistema se conectó a un condensador con flujo de agua y se añadieron 75 mL de una solución de ácido sulfúrico (1.84 g/mL)/sulfato de plata (1%). La solución se calentó a ebullición y se dejó a reflujo durante 2 h. Los condensados se enfriaron y se lavaron con 25 mL de agua para posteriormente ser llevados hasta un volumen final de 300 mL. Se añadieron a la mezcla 3 gotas de fenantrolina, para valorarla con sulfato ferroso amoniacal 0.25 M. La titulación se detuvo después del cambio de color de azul verdoso a rojizo-marrón. La DQO se calculó utilizando la ecuación $DQO = [(V1-V2) \times M \times 8000] / V3-1$; donde V1 es el volumen en mL de sulfato ferroso amoniacal utilizado en el control; V2 es el volumen en mL de sulfato ferroso amoniacal utilizado en la muestra; V3 es el volumen de la muestra en mL y M es la molaridad del sulfato de ferroso amoniacal.

Coefficiente de biodegradabilidad

Se determinó utilizando la relación DQO/DBO₅ de acuerdo con la metodología descrita por Esener *et al.* (1981).

Sólidos sedimentables

Para la determinación, se homogeneizó previamente cada muestra y se colocaron en un cono de Imhoff, hasta llegar a la marca de 1 L, posteriormente se dejó en reposo durante 45 min a 25 °C. Pasado el tiempo de reposo, se desprendieron suavemente los sólidos adheridos a las paredes del cono con un agitador y se mantuvo en reposo otros 15 min adicionales. El volumen de los sólidos sedimentables se registró directamente de la escala graduada del cono como mL/L (NMX-AA-004-SCFI, 2000).

Materia flotante

Se utilizó 1 L de cada muestra previamente homogeneizada para posteriormente verterse a través de una malla con tamaño de poro de 50 mesh (0.3 mm). Se reportó como la presencia o ausencia de materia flotante en la malla (NMX-AA-006-SCFI, 2000).

Análisis de aminoácidos

La cuantificación de aminoácidos libres se realizó en un cromatógrafo Hewlett Packard Modelo GMBH líquida de alta presión (HPLC) acoplada a un detector de fluorescencia (Hewlett-Packard Co., Waldbron, Alemania) de acuerdo con la metodología descrita por Vázquez-Ortiz, *et al.* (2004) y el método de derivatización en pre-columna de Lindroth y Mopper (1979). Se tomó 1 mL de la muestra y se mezcló con 5 mL de ácido tricloroacético al 6% y se homogeneizó durante 2 min en una placa de agitación. La mezcla se centrifugó a 10,000 *xg* durante 15 min/4 °C. Posteriormente, se tomaron 300 µL

del sobrenadante y se transfirieron a un vaso de precipitados de 25 ml al cual se le adicionó 2.7 mL de agua grado HPLC. Se tomaron 100 μ L de esta solución y se le añadieron 100 μ L del estándar interno (ácido L- α -amino-n-butírico) y 800 μ L de agua grado HPLC. A continuación, se tomaron 250 μ L de esta mezcla y se colocaron en una jeringa equipada con un filtro de 0.22 micras, para después adicionarle 250 μ L de OPA (O-ftaldialdehído [(10 mg OPA + 250 μ L metanol + 37.5 μ L de solución de Brij 35 + 25 μ L de β -mercaptoetanol, aforados a 10 mL con buffer borato de potasio (pH 10.4))]). La mezcla se filtró, y el líquido se colocó en microtubos Eppendorf de color ámbar para ser derivatizadas (2 min/20 °C) y posteriormente se inyectaron en el cromatógrafo equipado con un loop de 20 μ L. La separación de aminoácidos se realizó en una columna de fase reversa (Varian, Inc., Palo Alto, CA) C18 octa-decil dimetilsilano de 10 cm x 4.6 mm y un tamaño de partícula de 3 micras que estaba conectado a una pre-columna (3 cm x 4.6 mm) empacada con el mismo material. Se utilizó un gradiente de un flujo de 2 mL/min [(A: 100% metanol] y [B: 10% metanol, 90% buffer de acetato], pH 7.3). Se registró el área de fluorescencia de los aminoácidos que se produjo y se integró utilizando el programa Chem Station (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA). Los aminoácidos se identificaron y se cuantificaron según el tiempo de retención y las áreas se compararon con los estándares de aminoácidos.

Extracción y cuantificación de colágeno

El colágeno se obtuvo usando el protocolo descrito por Hashimoto *et al.* (1979). Se tomaron 50 mL de cada muestra y se mezclaron con 500 mL de buffer de fosfato (pH 7.5, Fuerza iónica $I = 0.05$). La mezcla se homogeneizó y centrifugó 5,000 xg durante 15 min a 4 °C en una centrífuga refrigerada Beckman Modelo J2-21. Este proceso se repitió dos veces descartándose el sobrenadante. El precipitado se homogeneizó con 500 mL de buffer fosfato (pH 7.5, $I = 0.5$) y centrifugó a 5,000 xg 15 min a 4 °C; descartándose nuevamente el sobrenadante.

Después de esto, se añadió al precipitado NaOH 0.1 N y se agitó constantemente con un agitador magnético durante 8 h. La mezcla se centrifugó a 5,000 xg 15 min a 4 °C para separar el sobrenadante del precipitado, en el que se encuentra la proteína del estroma que incluye el colágeno. La fracción de contenido de colágeno se determinó de acuerdo con Vasquez-Ortiz *et al.* (2004), la cual consiste en la cuantificación de hidroxiprolina (Hyp) y su extrapolación al colágeno usando un factor de conversión de 10.9. Se pesaron 3 mg de muestra seca y libre de grasa y se colocaron en tubos de hidrólisis (Pierce Biotechnology Inc., Rockford, IL); se añadió la misma cantidad de ácido tioglicólico como antioxidante (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Posteriormente, las soluciones se mezclaron con 2.0 mL de HCl 6 N, se aplicó vacío y se cerraron los tubos para posteriormente calentarlos en una placa de calentamiento 6 h a 150 °C.

Al final de la hidrólisis, los tubos se enfriaron y se evaporaron bajo vacío a 65 °C en un evaporador rotatorio BUCHI

(Buchi, Flawil, Suiza). Los concentrados se resuspendieron en 2 mL de buffer de citrato de sodio 0.2 N y pH 2.2 (Pierce Biotechnology Inc., Rockford, IL). Enseguida, los concentrados se almacenaron en viales de 1.5 mL a 25 °C. La concentración Hyp se cuantificó con la ayuda del HPLC. Para ello, se utilizó 0.5 mL de buffer de borato 0.4 M y pH 10.4 (Pierce Biotechnology Inc., Rockford, IL) y añadidos a una alícuota de 125 μ L de la solución hidrolizada. Se tomaron 250 μ L de la dilución y se colocaron en una jeringa equipada con un filtro de 0.22 micras. Posteriormente, la solución filtrada se mezcló con 250 μ L de la solución derivatizante (2.0 mg/mL) NBD-C1 (7-cloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1, 3-diazol, $C_6H_6ClN_3O_3$) en metanol. La mezcla se calentó a 60 °C durante 5 min en un vial oscuro de 1.5 ml con tapa.

La reacción de la derivación se detuvo mediante la adición de 50 μ L de HCl 1M y se enfrió a 0 °C. Para el análisis se inyectaron 10 μ L del extracto final en un cromatógrafo Varian modelo 9012 (Varian, Corp., Palo Alto, CA). Para la separación Hyp, se utilizó una columna RP C18 octa-decil dimetilsilano de 10 cm x 4.6 mm de diámetro y un tamaño de partícula de 3 micras (Varian, Palo Alto, CA). Se utilizó una velocidad de flujo de 2 mL/min [(A: 100% de metanol y B: buffer de acetato de sodio 0.1 M (pH 7.3), metanol y tetrahidrofurano (900:95:5 v/v)] (Sigma, Chemical Co., México). Se midió la fluorescencia de la Hyp usando un detector de fluorescencia Varian II (Varian Corp., Palo Alto, CA) a 330 y 418 nm (excitación y emisión, respectivamente) e integró usando Varian Star version 4.0 chromatographic software.

La identificación y cuantificación de Hyp se obtuvo basándose en los tiempos de retención y el área bajo la curva contra un estándar. El contenido total de colágeno se expresó en mg de muestra seca por g y se determinó multiplicando el contenido Hyp por el factor 10.9 (Neuman y Logan, 1950).

Caracterización parcial reológica

La caracterización reológica se llevó a cabo en un reómetro Rheometrics Fluids Espectrómetro RFS II con RHIOS software version 4.2.X. (Rheometrics Inc., Piscataway, NJ). Las condiciones analíticas seleccionadas previamente fueron: deformación (γ) 50 %, transductor número 1, geometría de cono y plato (diámetro 50 mm), ángulo del cono 0.04 rad y una separación de 0.054 mm. Se utilizó el modelo de la ley de potencia o Ostwald de Wale ($\tau = K\dot{\gamma}^n$), para medir el comportamiento pseudoplástico, mientras que el coeficiente de consistencia (K) y el índice de flujo (n) se calcularon por medio de regresión lineal. La viscosidad aparente se midió en función de la velocidad de cizalla en el rango de 1-100 s^{-1} (Goycoolea *et al.*, 1997).

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron en el software NCSS versión 5.1 (Kaysville, UT) mediante un análisis de varianza de un factor y comparación múltiple de medias por la prueba de Duncan, con nivel de significancia de 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químicos y reológicos del agua de cola y agua de cola centrifugada

Los resultados observados en los análisis químicos y reológicas parciales del agua de cola (AC) y agua de cola centrifugada (ACC) mostraron una amplia variación (Tabla 1). El efluente mostró una composición heterogénea y compleja que se forma por una gran cantidad de materia orgánica e inorgánica y potencialmente oxidables (en solución y suspensión). Asimismo, los resultados de la Tabla 1 muestran un impacto positivo por parte de la CC en todos los parámetros evaluados. El porcentaje de recuperación de lípido (% R) en ACCSC fue del 92.3 %, mientras que para ACCSM fue del 98.9 %. Con estos resultados se propone que la implementación de una CC como una operación unitaria podría ayudar a la recuperación de los sólidos sedimentables debido a la separación por diferencias en las densidades. La variabilidad observada de AC y ACC en la caracterización fisicoquímica está de acuerdo con estudios previos que han hecho hincapié en que estas diferencias dependen de varios factores, como la especie, la temporada de captura, los hábitos alimentarios, la condición física, la manipulación de la captura y el proceso de desarrollo de la harina de pescado (Stansby y Dassow, 1963). Los resultados encontrados en este trabajo concuerdan con la composición y el pH de AC de diferentes

especies. Del Valle y Aguilera (1991) informaron que el AC de sardinas chilenas (*Sardinops sagax*) contenía 9.4 % de sólidos totales, 7.1 % proteína cruda, 3% de grasa y 2.3% de cenizas. Soares *et al.* (1973) y Castillo *et al.* (1987) reportaron que AC de arenque (*Brevoortia tyrannus*) contenía 6.9 % de sólidos y proteína cruda de 4.5%. Por otro lado, se puede observar que la CC tuvo un impacto importante en la reducción de DQO y DBO₅ del 41.7% y 44.9%, respectivamente en ACCSC, así como del 56.6 % y 70.4 %, respectivamente en el ACCSM. La CC redujo sustancialmente la DBO₅ y DQO, aunque no lo suficiente para alcanzar lo permitido por las normas mexicanas (NOM, 2001) para los efluentes industriales (400-480 mg/L de DQO y 200-400 mg/L de DBO₅). La relación DQO/DBO₅ (biodegradabilidad) obtenidos mostraron un índice de menos de 2.5 en AC y ACC de sardina crinuda que sugiere un efluente biodegradable que podría ser utilizado en los sistemas biológicos, tales como lodos activados. Además, el AC y ACC de sardina Monterey también se puede considerar como tal, a pesar de presentar coeficientes de biodegradabilidad mayores de 2.5 pero su rango se posicionó por debajo de 5. Una alta relación DQO/DBO₅ indica una mayor proporción de material biodegradable (es decir, disponibilidad de O₂), y una relación baja indica que es poco oxígeno disponible.

Además, DBO₅ está inversamente relacionada con el oxígeno disuelto (OD); por lo tanto, una alta lectura en DBO₅

Tabla 1. Caracterización parcial y fisicoquímica del AC y ACC de la industria productora de harina de pescado.
Table 1. Partial and physicochemical characterization from AC and ACC of the fishmeal industry.

	Sardina Crinuda (SC)			Sardina Monterey (SM)		
	AC	ACC	R%	AC	ACC	R%
Humedad (%)	88.8 ± 0.054	94.7 ± 0.18		91.0 ± 0.02	94.2 ± 0.10	
Sol. Tot. (%)	11.2 ± 0.05	5.3 ± 0.16	52.3	9.0 ± 0.02	5.8 ± 0.10	35.6
Proteína (%)	5.2 ± 0.34	3.3 ± 0.30	36.5	3.0 ± 0.36	2.7 ± 0.03	10.0
Lípidos (%)	2.2 ± 0.31	0.17 ± 0.01	92.3	5.1 ± 0.24	0.053 ± 0.01	98.9
Cenizas (%)	2.0 ± 0.05	2.3 ± 0.03		1.4 ± 0.13	1.7 ± 0.03	
NPN (%)	1.5 ± 0.23	1.2 ± 0.02	20.0	1.4 ± 0.09	1.3 ± 0.07	7.1
pH	6.2 ± 0.1	6.2 ± 0.20		6.7 ± 0.20	6.6 ± 0.10	
DQO (mg O ₂ /L)	96.000 ± 4.397	56.000 ± 5.656	41.7	166.000 ± 14.142	72.000 ± 3.157	56.6
DBO ₅ (mg O ₂ /L)	42.433 ± 3.113	23.400 ± 3.104	44.9	57.000 ± 7.637	16.900 ± 9.000	70.4
CB	2.3	2.4		2.8	4.3	
Sól. Sed.	Ausente	Ausente		Ausente	Ausente	
Mat. Flotante	Ausente	Ausente		Ausente	Ausente	
η (Pa.s) 10 ⁻³	8.3 ± 0.8	5.9 ± 0.6	28.9	4.1 ± 0.5	1.5 ± 0.1	63.4

n	3
p	<0.05
AC	Agua de Cola
ACC	Agua de Cola Centrifugada
R%	Recuperación (porcentaje recuperado por centrifugación)
DQO	Demanda Química de Oxígeno
BOD5	Demanda Bioquímica de Oxígeno
CB	Coefficiente de Biodegradabilidad (DQO/DBO5)
NPN	Nitrógeno No-proteico
η	Viscosidad aparente

indica una baja concentración en OD debido a que las bacterias están consumiendo el oxígeno que está disponible en el mar. Esto indica que menos OD está disponible en el agua, por consecuencia esto afecta a los peces y otros organismos acuáticos (Waziri y Ogugbuaja, 2010). El material flotante y los sólidos sedimentable se reportaron ausentes bajo las condiciones analíticas propuestas. La ausencia aparente de sólidos suspendidos corroborar la complejidad de los fluidos y sugieren que la gran cantidad de proteína que se encuentra en estas suspensiones crea dificultades en la separación de fases utilizando períodos cortos de tiempo o en la ausencia de la fuerza centrífuga. Además, la aplicación de la CC modifica los parámetros cuantificados inicialmente. Este resultado podría tener un gran impacto sobre la adecuación del presente proceso industrial, sin la necesidad de realizar ajustes en el tratamiento de AC para cada especie o mezclas que se utilizan en la producción de harina de pescado. La introducción de CC podría producir un aumento en la eficiencia de la gestión y el tratamiento AC en el proceso industrial actual y reducir el consumo de energía. Del mismo modo, CC permitió la recuperación de sólidos, proteínas y lípidos, que se puede evaluar como ingredientes alimentarios (es decir, subproductos/productos de valor añadido) y forma una alternativa para su inclusión actual en la producción de harina de pescado. De acuerdo con la Tabla 1 y teniendo en cuenta la gran cantidad de AC que se genera por la producción de harina de pescado por temporada ($\approx 20,000$ ton de sardina en Sonora), este volumen podría generar al menos 120,000 ton AC (Irlanda-Francis, 2002). Al menos 3,600 ton de proteínas podrían ser recuperados de AC de sardina Monterey y 5,000 ton de AC de sardina crinuda. Esta proteína podría utilizarse como ingredientes de origen animal para las formulaciones de alimentos humanos y en la fabricación de otros productos de valor añadido (por ejemplo, saborizantes, péptidos bioactivos, etc) y no añadirse necesariamente a la producción de harina de pescado como se lleva a cabo actualmente.

La viscosidad también fue reducida por CC, siendo más impactante en AC de sardina Monterey, la cual reportó un cambio cercano al 63 % (0.0041 a 0.0015 Pa-s); mientras que en AC de sardina crinuda descendió de 0.0083 a 0.0059 Pa-s, equivalentes al 28.9 %. El efecto de la CC en la reducción en viscosidad y en la recuperación de sólidos, proteínas y lípidos llevó a ambas ACC a condiciones iniciales en composición química similares, lo cual podría representar un impacto positivo en la optimización en la eficiencia de tratamiento de este subproducto, reduciendo el consumo de energía y uso de enzimas independientemente de la especie que se utilice. En este sentido, los datos obtenidos, son comparables con los descritos por Castillo *et al.* (1987), los cuales reportaron que el AC de arenque (*Brevoortia tyrannus*) presentaba una viscosidad de 9 cP (0.009 Pa-s), ligeramente más alta que la del presente estudio.

La diferencia entre la viscosidad de AC puede ser debido a la composición de proteína en ambos efluentes, lo cual es directamente proporcional a la composición química de cada especie de sardinas. La sardina crinuda presenta

escamas más grandes que la sardina Monterey, por lo tanto, mayor contenido de tejido conectivo (colágeno) que une las escamas y la piel (Ramírez, 1995). Según Karayannakidis y Zotos (2016), la temperatura de desnaturalización-solubilización del colágeno es ≈ 45 °C, similares a las temperaturas que son las utilizadas en el procesamiento de sardina para la producción de harina de pescado (90-95 °C), el colágeno del tejido conectivo sufre desnaturalización y se convierte en gelatina.

Por lo tanto, durante el proceso de ebullición que se realiza mediante inyección de vapor, el colágeno de la piel de la sardina crinuda sufre esta degradación a gelatina y se incorpora como un componente en el AC. Estos resultados se demostraron cualitativamente cuando las muestras de AC de sardina crinuda y Monterey se almacenaron bajo refrigeración (1 °C) antes de cada prueba de caracterización, comportándose de forma diferente. El AC de sardina Monterey permaneció líquida en condiciones de refrigeración (1 °C), pero el AC de sardina crinuda bajo las mismas condiciones de almacenamiento, gelificó recuperando su fluidez al alcanza la temperatura ambiente (datos no presentados), lo cual concuerda con lo descrito por van Esch y Feringa (2004) y Alpes *et al.* (2011) quienes señalan que la gelatina forma geles termorreversibles a temperatura ≤ 20 °C.

Para la mayoría de los parámetros que fueron cuantificados (Tabla 1), la CC del AC reduce significativamente las diferencias iniciales entre ambas especies, lo que pudiera homogenizar las muestras de AC independientemente del origen de la especie y al mismo tiempo permitiría optimizar la recuperación de sólidos, proteínas y lípidos, que pueden ser evaluados como ingredientes alimentarios (subproductos/productos de valor añadido). Este proceso forma una estrategia alternativa para su inclusión dentro de la producción de harina de pescado actual.

En base a lo anterior, se propone en la Figura 1 incluir la CC como una operación unitaria para la obtención de harina de pescado y tratamiento del AC.

Análisis de aminoácidos, hidroxiprolina y colágeno

La Tabla 2 muestra la composición de aminoácidos después de la hidrólisis ácida del AC y ACC de sardina Monterey. En ambos casos, la glicina (Gly) fue el aminoácido con la mayor concentración de 25 y 12 mg/g, respectivamente. Los resultados también mostraron un contenido significativo de aminoácidos esenciales, principalmente lisina (Lys) y leucina (Leu), mientras que en la Tabla 3 se observa la relación entre prolina, hidroxiprolina, colágeno/gelatina principal promotora de la viscosidad.

También se observa una alta concentración de aminoácidos esenciales para el ser humano, lo que sugiere que un alto valor nutricional de la proteína es potencialmente recuperable. Soares *et al.* (1973) y Green *et al.* (1976) reportaron que Gly tenía la mayor concentración de aminoácidos en la AC de bacalao (*Theragra chalcogramma*) y salmón (*Oncorhynchus spp.*), respectivamente. El resultado de la composición de aminoácidos de este estudio confirma la

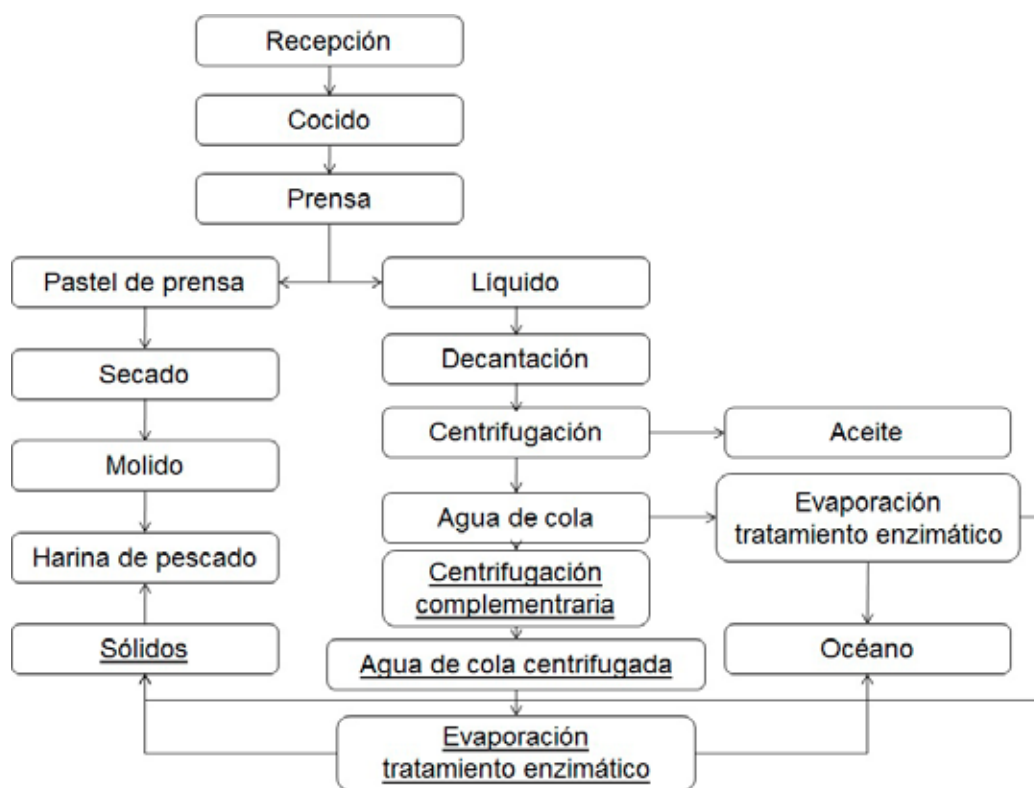


Figura 1. Diagrama de flujo propuesto para la operación de la industria productora de harina de pescado.
Figure 1. Proposed flow diagram for the operation of the fish meal industry.

Tabla 2. Composición de aminoácidos del AC de sardina Monterey generada por la industria productora de harina de pescado.

Table 2. Amino acid composition of the Monterey sardine AC generated by the fish meal industry.

Aminoácidos	mg of aminoácido / g de material seca	
	AC	ACC
Asp	13 ± 0.73	4 ± 0.31
Glu	23 ± 1.45	10 ± 0.7
Ser	6 ± 0.42	3 ± 0.14
His	11 ± 0.43	6 ± 0.43
Gly	25 ± 2.15	12 ± 1.26
Thr	9 ± 0.71	3 ± 0.13
Arg	13 ± 0.70	5 ± 0.32
Ala	18 ± 0.63	8 ± 0.42
Tyr	4 ± 0.28	2 ± 0.16
Met	4 ± 0.33	2 ± 0.15
Val	8 ± 0.29	3 ± 0.27
Phe	6 ± 0.38	4 ± 0.21
Ile	6 ± 0.57	4 ± 0.2
Leu	13 ± 0.79	5 ± 0.26
Lys	16 ± 1.02	6 ± 0.26

n 3
 p <0.05
 AC Agua de Cola
 ACC Agua de Cola Centrifugada

Tabla 3. Concentración de prolina, hidroxiprolina, colágeno/gelatina y viscosidad del AC y ACC de sardina crinuda y sardina Monterey.
Table 3. Concentration of proline, hydroxyproline, collagen/gelatin and viscosity from crinude sardine and Monterey sardine AC and ACC.

	Sardina crinuda			Sardina Monterey		
	AC	ACC	R %	AC	ACC	R%
Prolina (mg/g)	22.1 ± 1.0	5.4 ± 0.1	75.6	0.234 ± 0.1	0.02 ± 0.00	91.4
Hidroxiprolina (mg/g)	1.07 ± 0.4	0.3 ± 0.1	72.0	0.275 ± 0.0	0.08 ± 0.02	70.9
Colágeno/gelatina (mg/g)	11.7 ± 0.8	3.3 ± 0.1	71.8	3.0 ± 1.4	0.87 ± 0.05	71.0
η (Pa.s) X 10 ³	8.3 ± 0.8	5.9 ± 0.6	28.9	4.1 ± 0.5	1.5 ± 0.10	63.4

urgente necesidad de recuperación de proteína del AC para usos adicionales. Por ejemplo, de 120,000 ton de AC que se produce cada temporada, sería posible recuperar 6,840 ton de aminoácidos esenciales de la sardina Monterey. Varios estudios han señalado las propiedades nutricionales de la proteína del AC utilizado en dietas para animales (Zarkadas, 1986; Hulan y Proudfoot, 1987).

También, el presente estudio, reportó la presencia de colágeno mediante la cuantificación de Hyp, lo cual es altamente sugerente de la presencia de viscosidad del AC y ACC además de afectar su comportamiento reológico como lo señala Goycoolea *et al.* (1997). La presencia de Hyp fue mayor en AC que en ACC de ambas especies, diferencia atribuida a la CC y contrasta mayormente en la Fig. 2, en donde se muestra la tendencia directamente proporcional en el contenido de colágeno y viscosidad de AC y de ambas especies.

Caracterización reológica

Ambas muestras de AC de sardina crinuda y Monterey, así como sus correspondientes ACC mostraron un tipo de comportamiento no Newtoniano del tipo pseudo-plástico (Fig. 3). Lo anterior hizo hincapié en la importancia en la velocidad de cizalla como un parámetro experimental en la medición de la viscosidad.

Los resultados muestran que conforme aumenta la velocidad de cizalla, la diferencias entre las viscosidades entre ambas especies se hizo menos evidente, lo que podría ocultar el efecto del tratamiento que deben evaluarse si no se considera. Del mismo modo, se observa la gama de velocidades de corte comprendido entre 10 a 100 s⁻¹, en el que se ha establecido la correlación lineal con la viscosidad. Esta información se utilizó como base para el cálculo de "K" y el establecimiento de las condiciones experimentales de velocidad de cizalla en la evaluación del efecto del tratamiento en este estudio.

Por otra parte, en la Tabla 4 se presenta la relación directamente proporcional en la concentración de sólidos de AC y ACC con la consistencia de flujo (K). Además, la Tabla 1 muestra diferencias significativas (p <0.05) entre la viscosidad inicial de ACSC y ACSM (8.3 y 4.1 Pa.s X 10³, respectivamente). La diferencia se debió a un mayor contenido de sólidos totales en ACSC (11.2 y 9 %, respectivamente) que fue principalmente el resultado del contenido en colágeno (11.7 y 3.0 mg/g, respectivamente) (Tabla 4).

El efecto de la CC en la viscosidad fue significativo en ambos casos, pero tuvo una mayor magnitud en ACSM con una recuperación del 63 % (4.1 a 1.5 Pa.s X 10³) en comparación con ACSC, la cual fue de 28.9 % (de 8.3 a 5.9 Pa.s X

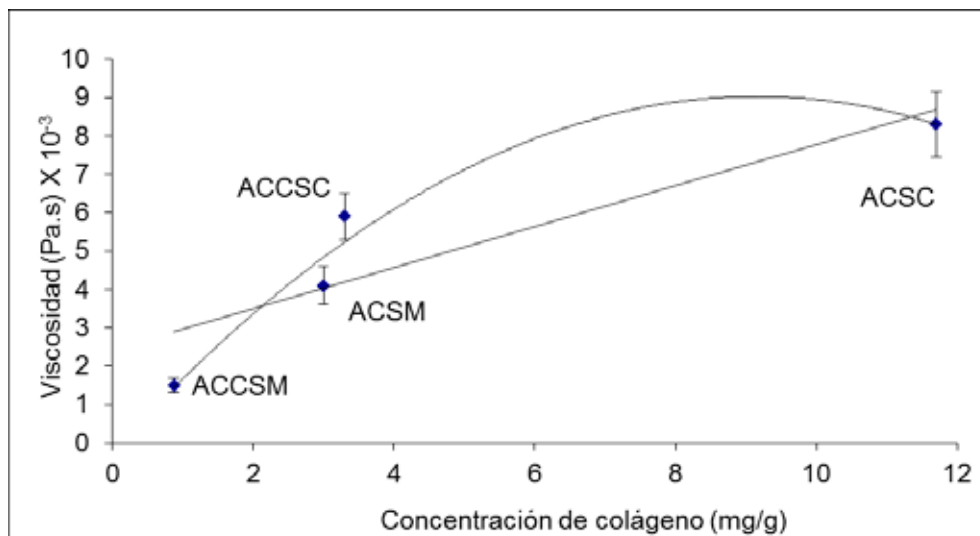


Figura 2. Tendencia en la concentración de colágeno de AC y ACC vs. viscosidad inicial en sardina crinuda y sardina Monterey.
Figure 2. Trend in collagen concentration of AC and ACC vs. initial viscosity in crinude sardine and Monterey sardine.

Tabla 4. Caracterización reológica parcial del AC y ACC de sardina crinuda y sardina Monterey
Table 4. Partial rheological characterization of crinude sardine and Monterey sardine AC y ACC.

Efluente	Colágeno (mg/g)	n	K (Pa·s 10 ⁻³)	Viscosity (Pa·s 10 ⁻³)	Sólidos Totales
ACSC	11.7	0.83	4.2	8.3	11.2
ACCSC	3.3	0.88	2.7	5.9	5.3
ACSM	3.0	0.88	3.6	4.1	9.0
ACCSCM	0.87	0.84	3.1	1.5	5.8

n	3
p	<0.05
ACSC	Agua de cola de sardina crinuda
ACCSC	Agua de cola centrifugada de sardina crinuda
ACSM	Agua de cola de sardina Monterey
ACCSCM	Agua de cola centrifugada de sardina Monterey
K	Coefficiente de consistencia
n	Índice de flujo

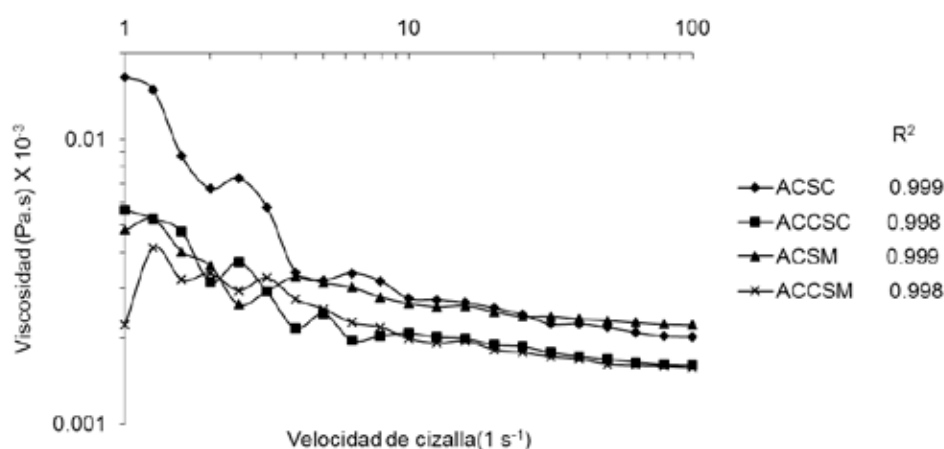
10³). Sin embargo, la viscosidad de ACCSC (5.9 Pa.s X 10³) fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que la viscosidad ACCSCM (1.5 Pa.s X 10³). Esta diferencia se explica por el colágeno residual (3.3 mg/g vs. 0.87 mg/g, respectivamente) (Tabla 4), pero no debido a una diferencia en el contenido de sólidos totales. Estos resultados confirman la importancia del colágeno en la viscosidad del AC y establecieron una tendencia entre ambas variables (Fig. 2), señalando, que el contenido de colágeno es responsable de la mayor viscosidad en ACSC que la observada en ACSM.

La Tabla 4 muestra una relación directamente proporcional de la concentración de sólidos del AC y ACC con la consistencia de flujo (K), lo cual es consistente con los hallazgos de Del Valle y Aguilera (1991) quienes reportaron que la viscosidad del AC se ve afectada por la concentración de sólidos. El comportamiento no Newtoniano pseudo-plástico

del AC y ACC que se muestra en la Fig. 3 se confirmó debido a que los índices de flujo (η) fueron menores de 1. Del mismo modo, valores mayores de "K" coincidieron con viscosidades más altas, en concordancia con lo reportado por Goycoolea *et al.* (1997).

CONCLUSIONES

El agua de cola es un efluente complejo que es producido por la industria pesquera que causa problemas graves de contaminación si se desecha sin tratamiento directamente al mar. Como consecuencia, el AC debe ser tratado para reducir la contaminación del medio ambiente. La industria pesquera centra su atención en la recuperación de sólidos para obtener material que puede ser utilizado para diversos fines, tales como un suplemento alimentario y farmacéutico y otros usos tecnológicos. Los resultados del presente estudio



ACSC	Agua de cola de sardina crinuda
ACCSC	Agua de cola centrifugada de sardina crinuda
ACSM	Agua de cola de sardina Monterey
ACCSCM	Agua de cola centrifugada de sardina Monterey

Figura 3. Viscosidad vs. velocidad de cizalla del AC y ACC de sardina crinuda y sardina Monterey.

Figure 3. Viscosity vs. shear rate from crinude sardine and Monterey sardine AC y ACC.

apoyan la importancia y la conveniencia de la introducción de una centrifugación complementaria para el tratamiento actual del AC como una operación unitaria adicional con la finalidad de eliminar los compuestos sólidos presentes, colágeno/gelatina, y disminución de DBO₅, DQO, así como la viscosidad.

REFERENCIAS

- Almas, K. 1985. Application of crossflow membrane technology in the fishing industry. *Desalination*. 53 (1-3): 167-180.
- Alpesh Patel y Kibret Mequanint 2011. Hydrogel Biomaterials, Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges, Reza Fazl (Ed.). pp 275-296
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis of A.O.A.C International. Agricultural Chemical, contaminants, drugs. 17a. Ed. Maryland E.E.U.U.
- Castillo, P., Rao, R. y Liuzzo, J. 1987. Potential of acid activated clay in the clarification of menhaden stickwater. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 22 (4): 471-489.
- Del Valle, J. y Aguilera, J. 1991. Physicochemical characterization of raw fish and stickwater from fish meal production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 54 (3): 429-441.
- Deng-Cheng, L. 2002. Better utilization of by-products from the meat industry. Thesis PhD. Department of Animal Science. National Chung-Hsing University. Taiwan. 1-15 p.
- Dirección General de Normas. (DGN). NMX-AA-003-1980. Aguas Residuales. Muestreo. México, DF.
- Esener, A. A., Roels, J.A. y Kossen, N. W. N. 1981. The bioenergetic correlation of COD to BOD. *Biotechnology Letters*. 3(4): 193-196.
- F.A.O. (Food and Agriculture Organization). 1986. Fisheries technical paper. The production of fish meal and oil. Rome, Italy, Agriculture Organization of the United Nations. 142 p.
- García-Sifuentes, C. O., Pacheco-Aguilar, R., Carvallo-Ruiz, G., Lugo-Sánchez, M. E., y García-Sánchez, G. 2014. Aproximación experimental al tratamiento de agua de cola. *Biotecnía*. 16(1): 26-31.
- García -Sifuentes, C.O., Pacheco-Aguilar, R., Valdez-Hurtado, S. Marquez-Rios, E, Lugo-Sanchez, M. E y Ezquerra-Brauer, J. M. 2009. Impact of stickwater produced by the fishery industry: treatment and uses. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos- Journal of Food*. 7(1): 67-77.
- Goycoolea, F., Nieblas, J., Noriega, L. e Higuera-Ciajara, I. 1997. Temperature and concentration effects on the flow behaviour of stickwater. *Bioresource Technology*. 59(2-3):217-225.
- Green, J.H., Paskell, S. L. y Goldmintz, D. 1976. Lipolytic fermentations of stickwater by *Geotrichum candidum* and *Candida lipolytica*. *Applied and Environmental Microbiology*. 31(4): 569-575.
- Hashimoto, K., Watabe, S., Kono, M. y Shiro, K. 1979. Muscle protein composition of sardine and mackarel. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 45(11): 1435-1441.
- Hulan, H.W. y Proudfoot, F. G. 1987. The effect of adding white fish meal containing enzyme digested or untreated stickwater solids to diets for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 16(4): 253-259.
- Irlanda-Francis, G.G. 2002. Contaminación de la Bahía de Guaymas. Dirección General de Medio Informativo. Universidad de Sonora. Hermosillo, México.
- Johnson, H.M. 2002. Market outlook in the international fish & seafood sector. Alternative products/uses and food safety issues. Office of the commissioner for aquaculture development. 1-22 p.
- Karayannakidis, P. D. y Zotos, A. 2016. Fish Processing By-Products as a Potential Source of Gelatin: A Review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 25(1): 65-92
- Lindroth, P. y Mopper, K. 1979. High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with O-phthalaldehyde. *Analytical Chemistry*. 51(11): 1667-1674.
- Neuman, R.E., y Logan, M.A. 1950. The determination of hydroxyproline. *Journal of Biological Chemistry*. 184(1): 299-306.
- NMX-AA-004-SCFI-2000. Determinación de sólidos sedimentables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Dirección General de Normas. México, DF.
- NMX-AA-006-SCFI-2000. Determinación de materia flotante en aguas residuales y residuales tratadas. Dirección General de Normas. México, DF.
- NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de Agua. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Dirección General de Normas. México, DF.
- NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de Agua. Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Dirección General de Normas. México, DF.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-001-ECOL-1996. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. México DF.
- Ramírez, J.C. 1995. Implementación de métodos complementarios para eficientar el descamado de sardina crinuda (*Opisthonema* sp). Tesis maestría. Coordinación de Tecnología de los Alimentos de Origen Animal. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México. 111 p.
- Shahidi, F. y Janak, K. 2001. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*. 12(12): 435-464.
- Soares, J., Miller, D. Cuppett, S. y Bauersfeld, P. 1973. A review of the chemical and nutritive properties of condensed fish solubles. *Fishery Bulletin*. 71(1): 255-265.
- Stansby, M. E. y Dassow, J.A. 1963. Industrial fishery Technology. Ed. NY, EUA, Reinhold Publications Co.
- van Esch, J. H. y Feringa, B.L. 2004. Gels. *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*. Taylor & Francis Publisher. 586-596. 17 August 2004.
- Vázquez-Ortiz, F., Morón-Fuenmayor, O y González-Méndez, N. 2004. Hydroxyproline measurement by HPLC: Improved method of total collagen determination in meat samples. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 27(17): 2771-2780.
- Waziri, M. y Ogugbuaja, V.O. 2010. Interrelationships Between physicochemical water pollution indicators: A case study of River Yobe-Nigeria. *American Journal of Scientific and Industrial Research*. 1(1): 76-80.
- Woyewoda, A., Shaw, S., Ke, P. y Burns, B. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian technical report to fisheries and aquatic sciences. Nova Scotia, Canada. 1448 pp.
- Zarkadas, C.G. 1986. The amino acid and mineral composition of white fish meal containing enzyme-digested or untreated stickwater solids. *Animal Feed Science and Technology*. 14(3): 291-305.