



Estudio del proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross a partir de distintas concentraciones de queratinasas producidas por *Bacillus* sp., para la elaboración de bioplástico.

Hermoza Aguilar, Diana Estefania y Macías Zambrano, Diana Katherine

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología

Neira Mosquera, Juan Alejandro, PhD.

27 de febrero del 2023

Reporte de verificación de contenido

CERTIFICADO DE ANÁLISIS
register

Tesis_Hermezo_Macías - para plagio

3%
Similitudes

4%
Texto entre comillas
de similitudes entre comillas
< 1% idioma no reconocido

Nombre del documento: Tesis_Hermezo_Macías - para plagio.pdf
ID del documento: 802e09c95b002a4fb2234977703b60b02a4934b5
Tamaño del documento original: 1,12 Mo

Depositante: MILTON VINICIO UDAY PATIÑO
Fecha de depósito: 26/2/2023
Tipo de carga: interface
Fecha de fin de análisis: 26/2/2023

Número de palabras: 17.786
Número de caracteres: 109.300

Ubicación de las similitudes en el documento:

Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	TRABAJO DE TITULACION_SERPALVITERO.pdf TRABAJO DE TITULACION_SER... Documento presente de bibliografía de referencias 1 fuente similar	< 1%		Palabras similares: < 1% (24 palabras)
2	TRABAJO DE TITULACION_SERPALVITERO.pdf TRABAJO DE TITULACION_SER... Documento presente de bibliografía de referencias 1 fuente similar	< 1%		Palabras similares: < 1% (75 palabras)
3	CORRECCION_TESIS_DAVILA_BOMBEZ (1).pdf CORRECCION_TESIS_DAVILA_BOM... Documento presente de grupo 1 fuente similar	< 1%		Palabras similares: < 1% (39 palabras)
4	doi.org Dynamic evolution of the alpha (α) and beta (β) karstins has accompanied L... https://doi.org/10.1186/s12862-014-0249-3	< 1%		Palabras similares: < 1% (23 palabras)
5	Documento de otro usuario Documento presente de otro grupo 1 fuente similar	< 1%		Palabras similares: < 1% (21 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	Efecto de un pretratamiento alcalino-terroso y de irradiación con electrones acort... http://repositorio.cepa.edu.ec/bitstream/handle/123456789/10000/1/15887.pdf	< 1%		Palabras similares: < 1% (30 palabras)
2	repositorio.eape.edu.ec Obtenición de biopolímeros evaluando el almidón de doce... http://repositorio.eape.edu.ec/bitstream/handle/123456789/10000/1/15887.pdf	< 1%		Palabras similares: < 1% (32 palabras)
3	repositorio.espm.edu.ec Aprovechamiento de residuos orgánicos agrícolas: maíz... http://repositorio.espm.edu.ec/bitstream/handle/123456789/10000/1/15887.pdf	< 1%		Palabras similares: < 1% (30 palabras)
4	repositorio.ups.edu.ec Evaluación de comportamiento productivo de pollos camp... http://repositorio.ups.edu.ec/bitstream/handle/123456789/10000/1/15887.pdf	< 1%		Palabras similares: < 1% (27 palabras)
5	PROYECTO DE TITULACIÓN BIODIVERSIDAD FAICHE-BAL (GUALÁN, PLUA... Documento presente de bibliografía de referencias	< 1%		Palabras similares: < 1% (29 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

- <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.09.005>
- <https://doi.org/10.1063/molbui/mw165>
- <https://doi.org/10.3108/07388551.2012.794768>
- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100190>
- <https://doi.org/10.18270/ria.2019.480>

Firma:

.....

Ing. Juan Alejandro Neira Mosquera, PhD.

Director



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Estudio del proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross a partir de distintas concentraciones de queratinasas producidas por *Bacillus* sp., para la elaboración de bioplástico”** fue realizado por las señoritas **Hermoza Aguilar, Diana Estefania y Macías Zambrano, Diana Katherine**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 de febrero del 2023

Firma:

.....
Ing. Juan Alejandro Neira Mosquera, PhD.

C. C: 0501644470



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Nosotras, **Hermoza Aguilar, Diana Estefania y Macias Zambrano, Diana Katherine**, con cédulas de ciudadanía n° 1719823633 y n° 2300518368 declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **"Estudio del proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross a partir de distintas concentraciones de queratinasas producidas por *Bacillus sp.*, para la elaboración de bioplástico"** es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 de febrero del 2023

Hermoza Aguilar, Diana Estefania
C.C.: 1719823633

Macias Zambrano, Diana Katherine
C.C.: 2300518368



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Nosotras, **Hermoza Aguilar, Diana Estefania y Macias Zambrano, Diana Katherine**, con cédulas de ciudadanía n° 1719823633 y n° 2300518368, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: "Estudio del proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross a partir de distintas concentraciones de queratinasas producidas por *Bacillus sp.*, para la elaboración de bioplástico" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 de febrero del 2023

Hermoza Aguilar, Diana Estefania
C.C.: 1719823633

Macias Zambrano, Diana Katherine
C.C.: 2300518368

Dedicatoria

Esta meta alcanzada la dedico primeramente a Dios por guiarme y permitirme alcanzar este objetivo en la vida.

A mis padres, Walter y María quienes con su apoyo, esfuerzo y esmero me apoyaron incondicionalmente para lograr alcanzar mis metas académicas, mediante sus valores y conocimientos impartidos en el hogar.

Dedicado a mis hermanas Fátima y Verónica, abuelita María y mi preciosa sobrina Jazmín, que fueron un pilar muy importante en todo el proceso, motivándome a confiar en mí y a esforzarme.

A mi compañera de proyecto Diana M. y a Andrés M., con quienes compartí este proceso y me brindaron su amistad, paciencia, conocimiento y apoyo tanto en buenos como malos momentos.

A Wendy G., una amiga incondicional quien me acompañó desde el primer día que comenzó la travesía universitaria por su amistad y apoyo

A Milú y mi Gala quienes me acompañaron y brindaron su amor en los momentos más difíciles y en todas las amanecidas de estudio.

Diana Estefania Hermoza Aguilar

Dedicatoria

Primeramente, a Dios por estar conmigo en mis buenos y malos momentos, ser mi refugio, mi paz y la vez confidente para no desistir ante cualquier adversidad que he tenido a lo largo de la vida.

A mis Padres Marlene Zambrano; Máximo Macías...que me ayudan a ser mejor persona día a día. A mis hermanas Rita, Shaury, Sheyla y Meisy; y también mis sobrinas.

A Jesús Bermúdez, por estar conmigo en las buenas y en las malas; por no dejarme caer, por apoyarme, confiar en mí y en mis capacidades para lograr mis metas, y estar conmigo en los momentos más difíciles.

A Dianita H., mi compañera de proyecto y a Andrés M., por su amistad, tenerme paciencia, compartir buenos y malos ratos, y ser una grades consejeros en esta etapa importante en la vida dándome ánimos de no desistir.

A mis amigos que Dios me dio en el momento más adecuado y aprecio demasiado que estén en mi vida Karol C., Dustin P., Viviana C.; y a la vez a Pablo López y Belén Bozada

A mis grandes amigos Evelyn S., Alejandra S., Jazmín P., Brandon V., Oswaldo P., Fabian C., Carito B., los aprecio demasiado y gracias por todas sus ocurrencias...sin ustedes la esta etapa universitaria no tendría sentido.

A todas las personas que en su tiempo fueron importantes para mí, por la distancia dejamos de dialogar, los tengo en mi corazón

Diana Katherine Macías Zambrano

Agradecimiento

Agradezco a Dios por guiarme en el trayecto y permitirme cumplir esta meta académica.

A mis padres por todo el esfuerzo y dedicación que realizaron a su manera para apoyarme a lograr esta meta y hacer que el trayecto universitario sea más ameno, por el apoyo incondicional y motivación que me brindaron para seguir adelante.

A Evelyn M, mis hermanas Fátima y Verónica, mi abuelita María y mi sobrina Jazmín, por su motivación y apoyo brindado a lo largo de la carrera que me permitió avanzar.

A mis amigos, Diana M., Wendy G., Andrés M, Evelyn C., Deivis T., Adriana C., Jonny M., Boris T. y Alejandra T., por su amistad, apoyo, compañía y risas que compartimos en el transcurso de la carrera.

A mis tutores, docentes y laboratoristas que me guiaron en todo el proceso, Ing. Sungey Sánchez PhD, Ing. Juan Neira PhD, Dr. Renato Inca, Dra. Anabell Urbina, Ing. Cristhian Camacho, Ing. Jhoan Plua, Ing. Katty Medina, Ing. Gissella Ponce e Ing. Francisco Suasnavas, quienes me apoyaron, guiaron e inculcaron sus conocimientos para lograr esta meta.

Finalmente, también agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, sede Santo Domingo, que me acogió en sus instalaciones y brindo mediante su cuerpo docente diversos conocimientos y experiencias.

Diana Estefania Hermoza Aguilar

Agradecimiento

A Dios, Jesús Bermúdez, a mis padres y hermanas

A mis amigos de la universidad Diana H., Andrés M., Karol C., Brandon C., Jazmín P., Evelyn S., Alejandra S., Brandon V., Angie I., Deivis T., Adriana C., y Carol B.

A mis amigas Madeline Merchán, Aracely Pérez, Vanessa Granda, Jessica Mero y Mariel Ramírez.

A mis tutores Dra. Sungey Sánchez y Dr. Juan Neira; docentes Dr. Renato Inca, Dra. Anabell Urbina, Fís. Washo Ponce, Ing. Gisella Mantilla, Ing. Cristhian Camacho; laboratoristas Ing. Johan Plua, Ing. Katty Medina, Ing. Gissella Ponce e Ing. Francisco Suasnavas.

Al Ing. Cristian Jaramillo, Andrés Celi por su colaboración en este PIC.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por haberme brindado sus conocimientos.

A todos los creyeron y creen en mí, gracias.

Diana Katherine Macías Zambrano

Índice de Contenido

Carátula.....	1
Reporte de verificación de contenido.....	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento	8
Índice de Contenido.....	10
Índice de Tablas.....	18
Índice de Figuras	23
Resumen.....	25
Abstract	26
Capítulo I.....	27
Introducción.....	27
Objetivos	29
Objetivo general	29
Objetivos específicos	29
Hipótesis	29
Diseño de ABC de queratina	29
Hipótesis para el Factor A (Plumas de pollos)	29

Hipótesis para el Factor B (Medios de fermentación)	30
Hipótesis para el Factor C (Tiempo de fermentación)	30
Hipótesis para el Factor ABC (Interacción)	30
Diseño ABC de bioplástico	30
Hipótesis para el Factor A (Plumas de pollos)	30
Hipótesis para el Factor B (Concentración de queratina)	30
Hipótesis para el Factor C (Espesante).....	31
Hipótesis para el Factor ABC (Interacción)	31
Capítulo II.....	32
Revisión de Literatura.....	32
Plumas de pollo.....	32
Aprovechamiento de plumas de pollo.....	33
Aplicación de las plumas de pollos.....	33
Queratina de plumas de pollo	34
Hidrólisis enzimática.....	35
Bioplástico	35
Capítulo III.....	37
Metodología	37
Ubicación del área de investigación	37
Ubicación política	37
Ubicación ecológica.....	37

Ubicación geográfica.....	37
Materiales.....	39
Obtención de las plumas de Pollo Campero, Pollo Cobb, Pollo Ross.....	39
Acondicionamiento de plumas	39
Preparación de la solución bacteriana.....	40
Preparación de medio de cultivo e inoculación de los Bacillus sp.....	41
Identificación microbiana.....	43
Precipitación de la queratina.....	44
Densidad.....	44
Bioplástico	45
Humedad	45
Ceniza.....	46
Elasticidad	46
Biodegradabilidad.....	46
Métodos	47
Obtención y acondicionamiento de las plumas de pollo (Campero, Cobb y Ross).....	47
Extracción de la queratina.	47
Dilución del vial.....	47
Preparación de solución bacteriana.....	47
Fermentación sumergida.....	48
Identificación de proteínas	48

Biuret.....	48
Ninhidrina.....	48
Cuantificación de proteínas	49
Biuret.....	49
Caracterización microbiológica de queratina.....	51
Identificación microbiana.....	51
Precipitación de la queratina.....	52
Densidad.....	52
Bioplástico	53
Espesante: Glicerina	53
Espesante: Urea	53
Elasticidad	54
Humedad	54
Ceniza.....	55
Porcentaje de biodegradación del bioplástico	55
Análisis estadístico.....	57
Niveles y factores de investigación.....	57
Queratina.....	57
Interacción de tratamientos.....	58
Tipo de diseño	58
Repeticiones	59

Análisis estadístico	59
Análisis funcional.....	60
Variables evaluadas	60
Bioplástico	61
Interacción de tratamientos.....	62
Tipo de diseño	63
Repeticiones	63
Análisis estadístico	63
Análisis funcional.....	64
Variables evaluadas	64
Capitulo IV.....	65
Resultados	65
Identificación de proteínas	65
Caracterización microbiológica de queratina.....	67
Análisis Estadístico queratina hidrolizada	68
Análisis de varianza para las variables.....	68
Análisis de varianza para la variable pH.....	68
Análisis de varianza para la variable absorbancia.....	69
Análisis de varianza para la variable proteína	70
Análisis de varianza para la variable densidad.....	71

Resultados de la evaluación de distintos tipos de plumas (Campero, Cobb y Ross), en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)	71
Prueba de significancia de Tukey de tipos de plumas (Factor A)	71
Resultados de la evaluación de los medios de fermentación, en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)	73
Prueba de significancia de Tukey de los medios de fermentación (Factor B)	73
Resultados de los tiempos de fermentación, en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)	75
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Tiempo de fermentación (Factor C)	75
Resultados de la evaluación de Tipos de plumas*tipo de medios*tiempo de fermentación, en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)	78
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Interacciones (Tipos de plumas*tipo de medios*tiempo de fermentación) (Factor ABC)	78
Resultados de análisis de conglomeraciones	82
Análisis de componentes principales.....	83
Análisis estadístico de bioplástico	86
Análisis de varianza para las variables.....	86
Análisis de varianza para la variable.....	86
Prueba de significación de Tukey para concentración de queratina (Factor B)	91
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Espesante (Factor C).....	93
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Días de Interacciones (Factor ABC).....	95
Resultados de análisis de conglomeraciones.....	99

Análisis de componentes principales	100
Capítulo V	103
Discusión.....	103
Análisis estadístico queratina	104
Tipos de plumas (Factor A).....	104
Medios de fermentación (Factor B).....	105
Tiempo de fermentación (Factor C)	106
Del efecto de la Interacción ABC	106
Análisis estadístico bioplástico	106
Tipos de plumas (Factor A).....	108
Concentración de queratina (Factor B).....	108
Espesante (Factor C)	109
Interacción (Factor ABC).....	109
Capítulo VI	111
Conclusión	111
Queratina hidrolizada	111
Tipos de plumas (Factor A).....	111
Medios de fermentación (Factor B).....	111
Tiempo de fermentación (Factor C)	112
Interacción (Factor ABC).....	112
Bioplástico	113

Tipos de plumas (Factor A)	113
Concentración de queratina (Factor B)	113
Espesante (Factor C)	113
Interacción (Factor ABC)	113
Capítulo VII	115
Recomendaciones	115
Capítulo VIII	116
Bibliografía	116

Índice de Tablas

Tabla 1	39
<i>Materiales para acondicionamiento de las plumas de pollo.</i>	39
Tabla 2	39
<i>Materiales para realizar el deslipidado de las plumas de pollo.</i>	39
Tabla 3	40
<i>Insumos para la molienda de las plumas de pollo.</i>	40
Tabla 4	40
<i>Insumos para preparar la solución bacteriana.</i>	40
Tabla 5	41
<i>Insumos para preparar medio para la hidrólisis enzimática con Bacillus sp.</i>	41
Tabla 6	41
<i>Insumos para medir el pH.</i>	41
Tabla 7	41
<i>Insumos para medir la absorbancia.</i>	41
Tabla 8	42
<i>Insumos para cuantificación de proteína por método de Biuret.</i>	42
Tabla 9	42
<i>Insumos para la prueba de reacción Biuret y Ninhidrina para la detección de proteínas.</i>	42
Tabla 10	43
<i>Insumos para la caracterización microbiológica de la queratina.</i>	43
Tabla 11	43
<i>Insumos para realizar tinción Gram</i>	43
Tabla 12	44

<i>Materiales, insumos y reactivos para la precipitación de la queratina de los hidrolizados obtenidos</i>	44
Tabla 13	44
<i>Materiales, insumos y reactivos para medir la densidad</i>	44
Tabla 14	45
<i>Insumos empleados para la elaboración del bioplástico</i>	45
Tabla 15	45
<i>Materiales e insumos para medir el porcentaje de humedad del bioplástico</i>	45
Tabla 16	46
<i>Materiales e insumos necesarios para medir el porcentaje del bioplástico</i>	46
Tabla 17	46
<i>Materiales e insumos necesarios para medir la elasticidad del bioplástico</i>	46
Tabla 18	46
<i>Materiales e insumos necesarios para medir el porcentaje de biodegradabilidad del bioplástico</i>	46
Tabla 19	57
<i>Niveles y factores, que se han llevado a cabo en la investigación</i>	57
Tabla 20	58
<i>Interacciones de tratamientos (tipos de plumas de pollo, medios de fermentación y tiempo de fermentación)</i>	58
Tabla 21	60
<i>Esquema de ANOVA de producción de queratinas</i>	60
Tabla 22	61
<i>Niveles y factores, que se han llevado a cabo en la investigación</i>	61
Tabla 23	62

<i>Tratamientos comparados en la elaboración del bioplástico con queratinas obtenidas a partir de distintos tipos de plumas de pollo y espesantes.</i>	62
Tabla 24	64
<i>Esquema de ANOVA de producción del bioplástico.</i>	64
Tabla 25	50
<i>Valores para construir la curva de calibración.</i>	50
Tabla 26	65
<i>Prueba cualitativa de Biuret por color para la detectar la presencia de proteínas.</i>	65
Tabla 27	66
<i>Prueba cualitativa de Ninhidrina por color, para la detectar la presencia de proteínas.</i> ..	66
Tabla 28	68
<i>Análisis de Varianza para pH</i>	68
Tabla 29	69
<i>Análisis de Varianza para absorbancia</i>	69
Tabla 30	70
<i>Análisis de Varianza para Proteína</i>	70
Tabla 31	71
<i>Análisis de Varianza para densidad</i>	71
Tabla 32	72
<i>Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A)</i>	72
Tabla 33	73
<i>Prueba de significación de Tukey para Medios de fermentación (Factor B)</i>	73
Tabla 34	75
<i>Prueba de significación de Tukey para Tiempo de fermentación (Factor C)</i>	75
Tabla 35	78

<i>Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor ABC)</i>	78
Tabla 36	83
<i>Matriz de correlaciones entre las variables estudiadas.</i>	83
Tabla 37	84
<i>Análisis de componentes principales</i>	84
Tabla 38	86
<i>Análisis de Varianza para Humedad</i>	86
Tabla 39	87
<i>Análisis de Varianza para Ceniza</i>	87
Tabla 40	88
<i>Análisis de Varianza para Elasticidad</i>	88
Tabla 41	89
<i>Análisis de Varianza para Biodegradabilidad</i>	89
Tabla 42	90
<i>Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A)</i>	90
Tabla 43	91
<i>Prueba de significación de Tukey para concentración de queratina (Factor B)</i>	91
Tabla 44	93
<i>Prueba de significación de Tukey para Espesante (Factor C)</i>	93
Tabla 45	95
<i>Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor ABC)</i>	95
<i>Dendograma de análisis de conglomeraciones</i>	99
Tabla 46	100
<i>Matriz de correlaciones entre las variables estudiadas para el bioplástico.</i>	100
Tabla 47	101

<i>Análisis de componentes principales</i>	101
--------------------------------------------------	-----

Índice de Figuras

Figura 1	38
<i>Mapa de ubicación geográfica del área de investigación.</i>	38
Figura 2	50
<i>Curva de calibración realizada a través de diferentes soluciones de caseína.</i>	50
Figura 3	67
<i>Resultados de tinción Gram en muestras de queratina hidrolizada.</i>	67
Figura 4	72
<i>Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A)</i>	72
Figura 5	74
<i>Prueba de significación de Tukey para Medios de fermentación (Factor B)</i>	74
Figura 6	76
<i>Prueba de significación de Tukey para Tiempo de fermentación (Factor C)</i>	76
Figura 7	79
<i>Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor ABC)</i>	79
Figura 8	82
<i>Dendograma de análisis de conglomeraciones</i>	82
Figura 9	85
<i>Criterios de representación gráfica del análisis de componentes principales</i>	85
Figura 10	90
<i>Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A)</i>	90
Figura 11	92
<i>Prueba de significación de Tukey para Concentración de queratina (%) (Factor B)</i>	92
Figura 12	94
<i>Prueba de significación de Tukey para Espesante (Factor C)</i>	94

Figura 13.....	96
<i>Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor AXBXC).....</i>	<i>96</i>
Figura 14.....	99
<i>Dendograma de análisis de conglomeraciones.....</i>	<i>99</i>
Figura 15.....	102
<i>Criterios de representación gráfica del análisis de componentes principales para el bioplástico.....</i>	<i>102</i>

Resumen

Al ser considerado los productos avícolas, como de primera necesidad, hay que tener en cuenta los procesos que ocurren para la obtención de estos y su vez tomar en cuenta la cantidad de desechos que se generan en su producción; es decir desechos de plumas, sangre, huesos y entre otros. El presente estudio, tiene como finalidad extraer la queratina mediante hidrólisis enzimática de plumas de tres tipos de aves, empleando como microorganismo productor de queratinasas el *Bacillus* sp., a través de una fermentación sumergida, para la elaboración de bioplástico. Para realizar esto, se tomaron en cuenta metodologías alternativas que permitan extraer queratinas y a su vez elaborar el bioplástico; en este caso en la fermentación sumergida para que ocurra la hidrólisis enzimática fue necesario realizar un medio compuesto por sodio fosfato di básico y potasio fosfato monobásico en conjunto con extracto de levadura, mientras que para el bioplástico se ocupó la queratina a diferentes concentraciones (8,33 % y 17%), almidón, y como espesante glicerol y urea. Obteniéndose como mejor resultado en la obtención de queratina el realizado con plumas del pollo campero y en el bioplástico al usar como espesante la urea debido a que otorgó mayor elasticidad; determinando en sí como mejor tratamiento el que contenía plumas de pollo Ross + 17% + Urea. Mientras que respecto a los bioplásticos que contenían glicerol, presentaron mayor biodegradabilidad.

Palabras clave: Queratina, Hidrólisis enzimática, Plumas de pollo, *Bacillus* sp., Bioplástico.

Abstract

Since poultry products are considered a basic necessity, it is necessary to take into account the processes that occur to obtain them and the amount of waste generated in their production, i.e., waste feathers, blood, bones, and others. The purpose of this study is to extract keratin by means of enzymatic hydrolysis of feathers from three types of birds, using *Bacillus* sp. as keratinase-producing microorganism, through submerged fermentation, for the production of bioplastic. In this case, in the submerged fermentation, for the enzymatic hydrolysis to occur, it was necessary to use a medium composed of sodium di-basic phosphate and potassium monobasic phosphate together with yeast extract, while for the bioplastic, keratin was used at different concentrations (8.33% and 17%), starch, and glycerol and urea as a thickener. The best result in obtaining keratin was obtained with the one made with free-range chicken feathers and in the bioplastic by using urea as a thickener because it gave greater elasticity; determining as the best treatment the one containing Ross chicken feathers + 17% + Urea. The bioplastics containing glycerol showed greater biodegradability.

Keywords: Keratin, Enzymatic hydrolysis, Chicken feathers, *Bacillus* sp., Bioplastic.

Capítulo I

Introducción

En el Ecuador, el sector productivo avícola presenta un futuro prometedor, dado la gran aceptación y demanda que poseen los huevos y la carne de pollo, esto es debido principalmente a su precio asequible y elevado valor nutricional, por ello se consideran a los productos avícolas de primera necesidad, dado que son parte de la canasta básica familiar (Galarza et al., 2016).

Las plumas de pollo son un tipo de fibra animal que posee buenas propiedades físicas y mecánicas, también son una gran fuente de proteína, estas se generan como desecho en gran cantidad, por ende, su valor económico es mínimo. Las plumas de estas aves al ser uno de los principales desechos que las industrias avícolas generan como residuo, forman parte de los residuos contaminantes que se pueden aprovechar, dado que en estas se encuentran hasta un 90% de materia proteica, principalmente queratina y aminoácidos (Farhad Ali et al., 2021; Ramakrishnan et al., 2018)

La queratina es una proteína estructural de carácter fibroso, la cual se encuentra formada por diversos aminoácidos, esta proteína en su estado natural presenta características hidrofóbicas, siendo insoluble tanto en agua como en solventes orgánicos dada su alta estabilidad química. Sin embargo, es posible su síntesis mediante tratamientos químicos o enzimáticos. El proceso de hidrólisis de queratina puede producir aminoácidos hidrosolubles, los cuales poseen diversas aplicaciones a nivel industrial, desde aditivo en el pienso de animales hasta emplearse para formulaciones de productos cosméticos (Quintero-Curvelo et al., 2017).

Los plásticos son sin duda uno de los materiales más valorados y cumplen una función casi indispensable en la vida de las personas, desde el envasado de alimentos hasta diversas aplicaciones de mayor complejidad como en la biomedicina. Ante ello los materiales bioplásticos pueden llegar a sustituir gradualmente los diversos plásticos a base de petróleo fósil o de polímeros sintéticos (Ramakrishnan et al., 2018).

Actualmente, los polímeros sintéticos no biodegradables son una de las causas principales de contaminación ambiental, dado que el constante aumento del efecto invernadero causado por la producción, uso y quema indiscriminada de materiales sintéticos, ha producido un incremento de CO₂ en la capa de ozono, lo que provoca una elevación de las temperaturas terrestres y oceánicas (Farhad Ali et al., 2021).

Los métodos de eliminación de residuos sintéticos o naturales, regularmente se realizan por medio de la incineración de estos, por ende, estos aportan al incremento de CO₂ emitido a la atmósfera, ante esta problemática, es de gran relevancia buscar un material renovable, alternativo o biodegradable, que merme la contaminación sin reducir las propiedades y alterar los costos productivos. Por ello, se plantea emplear desechos de origen agrícola como las plumas de pollos para mejorar las propiedades del producto y a la vez reducir el impacto ambiental mediante la producción de polímeros de carácter biodegradable (Singh et al., 2021).

Objetivos

Objetivo general

Estudiar el proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross a partir de distintas concentraciones de queratinasas producidas por *Bacillus* sp., para la elaboración de bioplástico.

Objetivos específicos

Evaluar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de las queratinas considerando tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross.

Analizar la incidencia de distintas concentraciones de queratinas producidas por *Bacillus* sp., para la elaboración de bioplástico.

Establecer el efecto de dos tipos de espesantes (Glicerina y urea), para la elaboración de bioplástico a partir de queratinas obtenidas de tres tipos de aves (Plumas), Pollo Campero, Pollo Cobb y Pollo Ross.

Determinar mediante análisis fisicoquímicos las características del bioplástico obtenido.

Hipótesis

Diseño de ABC de queratina

Hipótesis para el Factor A (Plumas de pollos)

Ho: Las especies de pollos como fuente de plumas no influye en la cantidad de queratina producida en la hidrólisis enzimática.

Ha: Las especies de pollos como fuente de plumas influye en la cantidad de queratina producida en la hidrólisis enzimática.

Hipótesis para el Factor B (Medios de fermentación)

Ho: El tipo de medio de fermentación no influye en la cantidad de queratina hidrolizada obtenida

Ha: El tipo de medio de fermentación influye en la cantidad de queratina hidrolizada obtenida

Hipótesis para el Factor C (Tiempo de fermentación)

Ho: El tiempo de fermentación no influye en la cantidad de queratina hidrolizada obtenida.

Ha: El tiempo de fermentación influye en la cantidad de queratina hidrolizada obtenida.

Hipótesis para el Factor ABC (Interacción)

Ho: La interacción entre el tipo de plumas de pollos, tipo de medio de cultivo y el tiempo de fermentación no influye en la cantidad de queratina hidrolizada obtenida.

Ha: La interacción entre el tipo de plumas de pollos, tipo de medio de cultivo y el tiempo de fermentación influye en la cantidad de queratina hidrolizada obtenida.

Diseño ABC de bioplástico**Hipótesis para el Factor A (Plumas de pollos)**

Ho: La queratina dependiendo de la especie de pollo empleada como fuente de plumas no influye en la calidad del bioplástico.

Ha: La queratina dependiendo de la especie de pollo empleada como fuente de plumas influye en la calidad del bioplástico.

Hipótesis para el Factor B (Concentración de queratina)

Ho: La concentración de queratina no influye en la elaboración del bioplástico.

Ha: La concentración de queratina influye en la elaboración del bioplástico.

Hipótesis para el Factor C (Espesante)

Ho: La aplicación de distintos tipos de espesantes (Urea y glicerina) no influye en la elaboración de bioplástico.

Ha: La aplicación de distintos tipos de espesantes (Urea y glicerina) influye en la elaboración de bioplástico.

Hipótesis para el Factor ABC (Interacción)

Ho: La interacción entre el tipo de plumas de pollos, Concentración de queratina y tipo de espesante no influye en el bioplástico obtenido.

Ha: La interacción entre el tipo de plumas de pollos, Concentración de queratina y tipo de espesante no influye en el bioplástico obtenido.

Capítulo II

Revisión de Literatura

Plumas de pollo

Las plumas son resultado de un proceso complejo de evolución desde los dinosaurios hasta las actuales aves, siendo estas de gran importancia y su vez versátiles dado que han ido variando en muchos tipos de plumas con distintas maneras de camuflaje, vuelo, atracción sexual y retención de calor, esto ha permitido a las aves actuales poder adaptarse en diferentes ambientes (Bhattacharjee et al., 2016).

Casi todas las plumas contienen queratina alfa y beta, en donde el grupo de queratinas alfa se relaciona con los cuernos, las uñas, las pezuñas y el cabello, y las del grupo beta se pueden encontrar en estructuras como las escamas, garras, caparazones, pico y plumas (Bhattacharjee et al., 2016).

Las plumas en la mayoría de las aves poseen una función de gran relevancia de barrera cumpliendo diferentes funciones como la protección y termorregulación del ave, a su vez por su estructura que posee un porcentaje de grasa, esta actúa de forma impermeable impidiéndoles mojarse completamente (Florida Rofner, 2019).

Las plumas de pollo están compuestas por diversas partes, estas incluyen el raquis, el calamus, el vexilo y las barbas. En cuanto al raquis es la parte central de la pluma, que proporciona una estructura rígida y una conexión con el cuerpo del ave. El calamus es la base de la pluma, que se inserta en la piel del ave y está rodeado por una vaina córnea. El vexilo es la parte de la pluma que se extiende a lo largo de ambos lados del raquis, y este a su vez está formado por numerosas barbas. Las barbas son estructuras ramificadas que se extienden desde el vexilo, y que están unidas entre sí por ganchos diminutos llamados barbicelos (Lin et al., 2022)

Aprovechamiento de plumas de pollo

A nivel mundial, las industrias avícolas que procesan la carne de aves producen elevadas cantidades de residuos de plumas, esto equivale a 40×10^9 kilos anuales de plumas como residuos. Por ende, las plumas de pollo son consideradas como material de desecho en la industria avícola, pese a ello, también son consideradas como una fuente sostenible y renovable de fibras proteicas. En su mayoría se desechan como residuo y pequeñas cantidades se emplean para producir harina de plumas y fertilizante. Siendo en su mayoría eliminados como residuos a través de la incineración o enterrando en vertederos, lo cual, al no ser tratado adecuadamente este residuo biológico, aporta al deterioro ambiental y la propagación de enfermedades (Tesfaye, Sithole, & Ramjugernath, 2017) .

Actualmente, existen diversos estudios que mencionan una gran variedad de posibles aplicaciones para los desechos de plumas de pollo, que pueden llegar a beneficiar al ser humano o al medio ambiente. Por ejemplo, aplicaciones textiles como la producción de telas absorbentes mezcladas con fibras de algodón y plumas de pollo como lo mencionan (Kakonke et al., 2020), así como puede ser empleada en plásticos, cosméticos, productos farmacéuticos y biomédicos (Tesfaye, Sithole, & Ramjugernath, 2017)

Los cambios en la economía, responsabilidad ambiental y el creciente interés en emplear materias primas de carácter renovable y sostenible, así como la necesidad de reducir el consumo de recursos de petróleo no renovables, han dado apertura a encontrar nuevas formas de tratar los desechos de plumas (Tesfaye, Sithole, Ramjugernath, et al., 2017).

Aplicación de las plumas de pollos

Actualmente las plumas de pollos tienen aplicaciones muy limitadas en la industria, además de ser empleadas en la alimentación animal, aplicaciones en composites y otros productos, la mayoría de estas son desechadas en los vertederos (Khosa et al., 2013).

Por lo general, las plumas de pollo son aprovechadas para la producción de harina, un subproducto con alto valor proteico generado de los desechos de plumas de pollo de la industria avícola, este subproducto se emplea como aditivo en los balanceados para la dieta alimenticia de peces, aves, cerdos y vacunos. En el Ecuador, PRONACA, PROFASA y ANHALZER, son las principales empresas dedicadas a la producción de balanceados y harina de plumas de pollos (Florida Rofner, 2019; Robalino, 2016).

De acuerdo con (Bernhart & Fasina, 2009), las plumas de pollos sirven como componente de cama de aves de corral, al ser combinadas con el estiércol de pollo y otros materiales de la cama como virutas de madera, aserrín o cáscaras de arroz, sirven a su vez como materia prima para producir bioenergía y otras aplicaciones de valor agregado como abono con altos niveles de nitrógeno, fósforo y potasio.

Queratina de plumas de pollo

Se puede encontrar queratinas alfa en vertebrados, pero las de tipo beta son únicamente en reptiles y aves. En las aves, la beta queratina se encuentra en las escamas, las garras, en queratinocitos y en las plumas (Greenwold et al., 2014).

Tanto las plumas rígidas como las livianas tienen en sus componentes queratinas y proteínas córneas y la estructura de estas les confiere elasticidad y resistencia, lo que le permite evitar fracturas. Según (Lingham-Soliar, 2017), la beta queratina tiene la propiedad de ser el polímero de origen natural más resistente que se conoce hasta la actualidad.

La rigidez de las plumas se genera por la fuerte unión entre la matriz polimérica amorfa y los filamentos, esto se logra por la eficiencia de la unión entre la matriz polimérica amorfa y los filamentos poliméricos de β -queratina. Es precisamente la eficiencia de este enlace lo que ha eludido los detalles de la microestructura de las plumas mediante métodos convencionales de determinación de la estructura (Lingham-Soliar, 2017),

Método de obtención

Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática se caracteriza por ser una ruptura química o como su nombre mismo lo dice enzimática de moléculas de diferentes compuestos (aminoácidos que conforman los péptidos).

La hidrólisis proteica, la cual se realiza mediante reactores donde se controla las condiciones como: pH, temperatura y el tiempo que se demora el proceso, tiene como objetivo separar aminoácidos de forma individual irrumpiendo la estructura primaria mediante la ruptura de enlaces amida covalentes los cuales unen a los aminoácidos. La desnaturalización de las proteínas ocurre en el medio cuando se cambian las variables de pH y temperatura generando que los grupos R básicos y ácidos pierdan su enlace iónico impidiéndoles la formación del enlace salinos, produciendo una reformación en la proteína (Benítez et al., 2008; Timberlake, 2013).

Se caracteriza por desarrollarse en distintas fases por qué ocurre una serie de reacciones simultaneas de ruptura de enlaces, primero se da la elaboración del complejo enzima-sustrato, luego pasa a la ruptura del enlace amílico obteniendo de forma libre el péptido para que este mediante un ataque nucleofílico separe la molécula de agua de la enzima (Benítez et al., 2008).

Bioplástico

Los bioplásticos están conformados por dos tipos de plásticos que son los biobasados y los biodegradables. Son construidos mediante materias primas de origen renovables que pueden ser o no biodegradables (Meneses et al., 2007).

Los bioplásticos han tomado gran impulso en la industria con un 65% sustituyendo el plástico convencional por envases y productos que se degraden en poco tiempo, este avance

se utiliza hoy en día en la industria agrícola, industria electrónica, e industria farmacéutica elaborando herramientas o partes que se degraden en poco tiempo favoreciendo al medio ambiente y frenando la contaminación masiva producida por el consumismo humano (Villada et al., 2008)

Un bioplástico puede está constituido por materia orgánico, biomasa y recursos naturales renovables como el uso de vegetación, microorganismos y algas. Este método de elaboración surge como un sustituyente al uso de plásticos de poliestireno y polipropileno con los que se elaboran productos de vida corta. Este requiere ser sometido a un proceso en el cual los microorganismos o enzimas lo transformen en compuestos simples como CO₂ o CH₄, lo que se conoce como biodegradación (Daniella & García, 2019)

La biodegradación de un plástico depende de su estructura química y no de la materia prima utilizada en su producción, por lo que tener un origen biobasado no garantiza que sea biodegradable. La mineralización es el proceso mediante el cual se produce la transformación del carbono orgánico del plástico en CO₂ o CH₄ (Charro, 2015; Vázquez et al., 2021).

Para que un plástico sea considerado biodegradable, se requiere que este proceso pueda ser medido de manera estandarizada en un tiempo y condiciones específicos. Es común que la biodegradación de un plástico ocurra al mismo tiempo que otros procesos de degradación causados por factores como la radiación UV, la temperatura, la fricción o la humedad, lo que dificulta la evaluación del papel de cada uno de ellos en la degradación del material (Charro, 2015; Vázquez et al., 2021).

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

Ubicación política

País:	Ecuador
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón:	Santo Domingo
Parroquia:	Luz de América
Sector:	Vía Quevedo, Km 24

Ubicación ecológica

Zona de vida:	Ecológica
Altitud:	Bosque Húmedo Tropical
Temperatura:	25 °C
Precipitación:	2860 mm/año
Humedad relativa:	85%
Heliofania:	680 horas luz/año
Suelos:	Franco arenosos

Ubicación geográfica

El presente proyecto de integración curricular se realizó en los laboratorios de Microbiología en Alimentos, Bromatología y Biociencias, y Biotecnología Industrial, instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, sede Santo Domingo

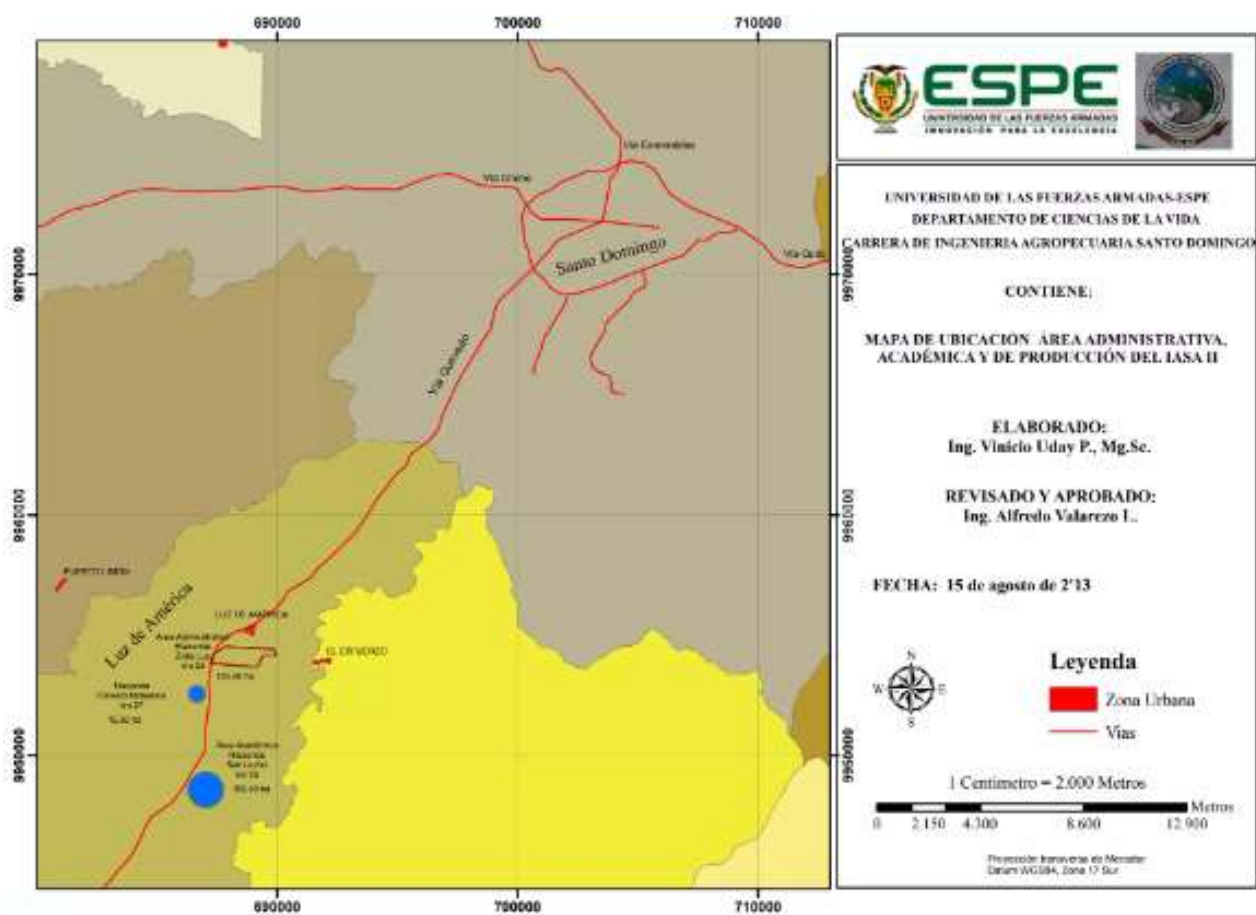
Latitud: 00°24' 36°

Longitud: 00°24' 36°

Altitud: 270 msnm

Figura 1

Mapa de ubicación geográfica del área de investigación.



Nota. Mapa propiedad de Ing. Vinicio Uday.

Materiales

Obtención de las plumas de Pollo Campero, Pollo Cobb, Pollo Ross

Acondicionamiento de plumas

Tabla 1

Materiales para acondicionamiento de las plumas de pollo.

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Estufa	Hipoclorito de sodio al 5%	Vasos de precipitación 2000 mL	Plumas de pollo
Balanza	Agua	Tamiz	
	Jabón	Espátula	
		Bandejas de aluminio	

Tabla 2

Materiales para realizar el deslipidado de las plumas de pollo.

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Estufa	Metanol	Vasos de precipitación de 2000 mL	Plumas de pollo
Balanza	Cloroformo	Papel filtro	
Sorbona		Embudo	
		Bandejas de aluminio	
		Probetas de 500 mL	
		Varilla de agitación	
		Papel industrial	

Tabla 3

Insumos para la molienda de las plumas de pollo.

Equipos	Insumos	Muestra
Balanza	Tijera	Plumas de pollo
Molino	Mesa	
	Fundas	

Preparación de la solución bacteriana

Tabla 4

Insumos para preparar la solución bacteriana.

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Espectrofotómetro	Agua destilada estéril	Frasco con tapa rosca 500 mL	Liofilizado de <i>Bacillus</i> sp
Centrífuga Quarzo	Cloruro de sodio	Tubos de ensayo Gradilla Parafilm	
Vórtex		Probeta 250 mL Mechero Asa de siembra	

Preparación de medio de cultivo e inoculación de los *Bacillus* sp.

Tabla 5

*Insumos para preparar medio para la hidrólisis enzimática con *Bacillus* sp.*

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Balanza	Sodio fosfato dibásico	Matraz 250 mL	Plumas de pollo
	Potasio fosfato		
Potenciómetro	monobásico	Vaso de precipitación	
Agitador orbital	Extracto de levadura	2000 mL	Solución Bacteriana
Cámara de flujo	Agua destilada	Varilla de agitación	
laminar	Hidróxido de potasio		
	Agua destilada		

Tabla 6

Insumos para medir el pH.

Equipos	Insumos	Muestra
Potenciómetro	Piseta	Plumas de pollo
	Vaso de precipitación	

Tabla 7

Insumos para medir la absorbancia.

Equipos	Insumos	Muestra
Espectrofotómetro	Piseta	Fermentado de las plumas
Quarzo	Vaso de precipitación de 25 mL	

Tabla 8

Insumos para cuantificación de proteína por método de Biuret.

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Espectrofotómetro	Hidróxido de sodio	Magneto	Plumas de pollo
Plato agitador	Yoduro de potasio	Frasco color ámbar de 500 mL	
Baño María	Sulfato de cobre (II) pentahidratado		
Balanza	Na ₂ EDTA		

Tabla 9

Insumos para la prueba de reacción Biuret y Ninhidrina para la detección de proteínas.

Equipos	Reactivos	Insumos
Cocineta	Sulfato cúprico	Goteros
	Hidróxido de sodio al 20%	Pipeta 10 mL
	Alcohol al 96%	Gradilla
	Ninhidrina	Vaso de precipitación 2 mL

Tabla 10

Insumos para la caracterización microbiológica de la queratina.

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Cámara de flujo laminar	PDA	Cajas Petri	Queratina obtenida
Autoclave	Agua de peptona	Tubos de ensayo	
Balanza	Agua destilada	Gradilla	
Micropipeta de 1000 ul		Parafilm	
		Frascos de 500 mL	
		Mechero	

Identificación microbiana

Tabla 11

Insumos para realizar tinción Gram

Equipos	Reactivos	Insumos
Microscopio	Safranina	Varilla de agitación
	Lugol	Porta objetos
	Cristal violeta	Piseta
	Alcohol - cetona	Goteros
	Aceite de inmersión	Asa
	Agua destilada	Mechero

Precipitación de la queratina

Tabla 12

Materiales, insumos y reactivos para la precipitación de la queratina de los hidrolizados obtenidos.

Equipos	Reactivos	Insumos
Sorbona	Ácido sulfúrico al 96%	Vasos de precipitación
Potenciómetro	Hidróxido de sodio al 1 N	Piseta
		Embudo
		Papel filtro

Densidad

Tabla 13

Materiales, insumos y reactivos para medir la densidad.

Equipos	Reactivos	Insumos
Balanza analítica	Agua destilada	Picnómetro 25 mL
		Probeta 25 mL
		Piseta
		Goteros

Bioplástico

Tabla 14

Insumos empleados para la elaboración del bioplástico.

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Balanza	Hidróxido de sodio al 0.1 M	Vaso de precipitación 250 mL	Queratina obtenida
Cocineta	Ácido acético al 0.1 M	Varilla de agitación	Almidón de yuca
	Urea		
	Glicerol		

Humedad

Tabla 15

Materiales e insumos para medir el porcentaje de humedad del bioplástico.

Equipos	Insumos	Muestra
Estufa	Crisol	Bioplástico
Balanza	Pinza	
	Desecador	
	Pinza	

Ceniza**Tabla 16**

Materiales e insumos necesarios para medir el porcentaje del bioplástico.

Equipos	Insumos
Mufla	Crisol
Balanza	Pinza
Cocineta	Desecador

Elasticidad**Tabla 17**

Materiales e insumos necesarios para medir la elasticidad del bioplástico.

Equipos	Insumos	Muestra
Dinamómetro	Regla	Bioplástico
Cámara de video		

Biodegradabilidad**Tabla 18**

Materiales e insumos necesarios para medir el porcentaje de biodegradabilidad del bioplástico.

Equipos	Insumos	Muestra
Balanza	Espátula	Bioplástico
Estufa	Bandejas de aluminio	

Métodos

Obtención y acondicionamiento de las plumas de pollo (Campero, Cobb y Ross)

Las Plumas del pollo campero fueron donadas por el “FRIGORIFICO POPULAR”, Ross por medio del Ing. Cristian Jaramillo y Cobb por la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” sede SD.

Para realizar el acondicionamiento de las plumas, se procedió a lavar las mismas con una solución de hipoclorito de sodio al 5% y jabón para eliminar restos de uñas, sangre, piel y mal olor de las plumas. Luego de esto, se pesaron las plumas y se procedió a secar las plumas a una temperatura de 50°C, para secarlas y después deslipidarlas con el uso de metanol - cloroformo (1:1 v/v).

Una vez realizado el deslipidado, se procedió a terminar de secar las plumas durante 2 días en la estufa a una temperatura de 50°C. Luego de esto, se procedió a trocear, moler y tamizar las plumas para facilitar la fermentación de estas.

Extracción de la queratina.

Dilución del vial

Se diluyó los *Bacillus* sp., liofilizados usando 2 mL de agua de peptona y se sembraron en agar PDA.

Preparación de solución bacteriana

Primeramente, las bacterias sembradas en agar PDA, se disolvieron en una solución que contenía 2,13 g de cloruro de sodio (NaCl) en 250 mL de agua estéril.

Para obtener la solución bacteriana adecuada, fue necesario diluirlas hasta obtener 0,8 unidades de Absorbancia, a una densidad óptica de 600 nm, en el espectrofotómetro. Para realizar esto, fue necesario centrifugar y realizar lavados de los precipitados para llegar a la absorbancia requerida y poder obtener el número de UFC presentes en la solución.

En este caso, para conocer el número de UFC presentes en la solución, se tomó en cuenta la siguiente fórmula:

$$Y_{\text{abs}} = 1,218 \times 10^{-9} \text{ abs/UFC} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot X_{\text{UFC/mL}} + 0,094 \text{ (abs)}$$

Ecuación 1. Fórmula para conocer el número de UFC.

Fermentación sumergida

En sí se realizaron dos tipos de medios de fermentación en donde el primero consistía, según la metodología de (Mazotto et al., 2011), se realizó el medio de cultivo que contenía 179 mL de la solución de sodio fosfato dibásico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) a 0.06 M, 70 mL de la solución de potasio fosfato monobásico (KH_2PO_4) a 0.06 M y 1 mL extracto de levadura al 1% y el otro medio se empleó la misma metodología, pero con extracto de levadura al 5%.

Una vez preparado los medios de fermentación, se añadieron 9 g de plumas de pollo y se inocularon 4 mL de la solución bacteriana para luego ser incubado a 37 °C con una agitación de 300 rpm.

Identificación de proteínas

Biuret

En cada tubo de ensayo, se añadieron 2 mL de la muestra, a su vez, también 2 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 20% y 5 gotas de sulfato cúprico (CuSO_4) diluido al 1%.

Ninhidrina

Para preparar el reactivo de ninhidrina; fue necesario pesar 2,5 g del reactivo y disolverlo en 50 mL de etanol absoluto.

Luego de haber preparado el reactivo, en 3 mL de muestra, se añadieron 5 gotas del reactivo de ninhidrina y se llevó a un baño maría a 100 °C durante 10 min.

Cuantificación de proteínas

Biuret

A través de esta prueba cuantitativa, se determinó la proteína total presente en las muestras obtenidas de queratina; por ende, Se empleó la metodología descrita por (Suárez, 2017). Para obtener el reactivo de Biuret fue necesario diluir 3,8 g Sulfato cúprico pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y 6,7 g de Na_2EDTA en 700 mL de agua destilada. Una vez diluidos los reactivos y a su vez mezclados, se adicionó 200 mL de hidróxido de sodio (NaOH) a concentración 5N y 1 g de yoduro de potasio (KI) como estabilizante, con la finalidad de prevenir la oxidación del cobre.

Para esta prueba, es importante construir una curva de calibración. Por lo cual fue necesario realizar una solución patrón de caseína a una concentración 10 mg/mL, a través de una solución de 1 g de caseína disuelta en 100 mL de hidróxido de sodio (NaOH) a concentración 0,1 M. De tal manera que a partir de esta solución patrón obtenida, se prepararon 20 mL de las soluciones a una concentración de 8 mg/mL, 6 mg/mL, 4 mg/mL y 2 mg/mL con agua destilada.

Una vez preparadas las soluciones, se tomaron 0,5 mL de cada una de ellas y se colocaron en cada tubo de ensayo. Luego a cada una de estas, se añadieron 2 mL de agua destilada, 1 mL del reactivo de Biuret y se dejó incubar a 25 °C durante 30 min.

Después, se transfieren las soluciones a una celda de espectrofotómetro y se realiza la lectura a una longitud de onda de 540 nm. Obteniéndose en sí la absorbancia de cada una de las soluciones de caseína para construir la curva de calibración.

Tabla 19

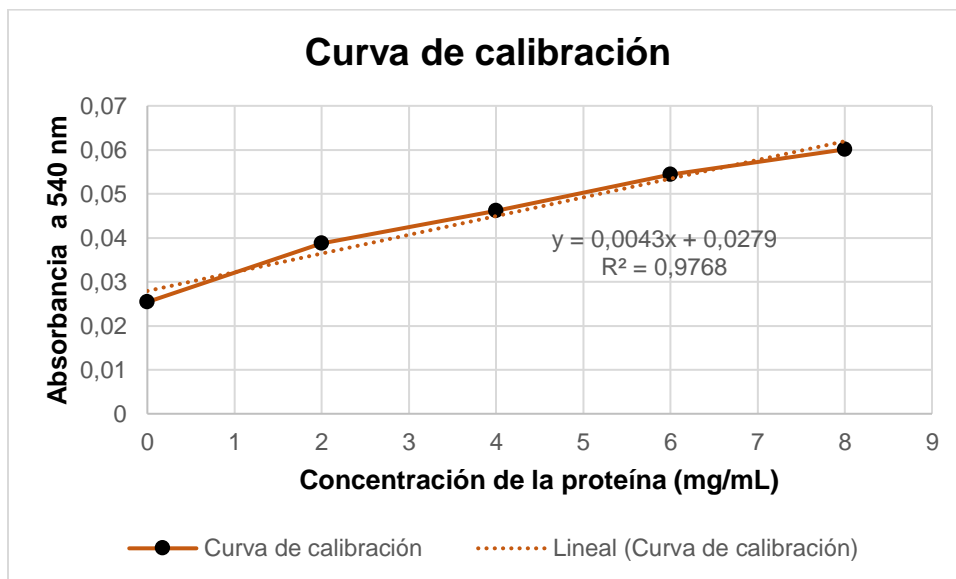
Valores para construir la curva de calibración.

Concentración (mg/mL)	Volumen de la solución patrón (mL)
0	0
2	4
4	8
6	12
8	16

Nota. Para obtener el volumen de la solución se aplicó la fórmula $c_1v_1=c_2v_2$.

Figura 2

Curva de calibración realizada a través de diferentes soluciones de caseína.



Nota. Para determinar la concentración de queratina hidrolizada obtenida, a través de la fórmula $y = 0,0043x + 0,0279$

Para llevar a cabo la lectura de las muestras de la queratina, de cada uno de los hidrolizados obtenidos a través de la fermentación, se procedió a tomar 0,5 mL de las queratinas y se colocaron los respectivos tubos de ensayo. Después de esto se añadieron 2 mL de agua destilada a cada tubo, 1 mL de reactivo de Biuret, y se dejó incubar a 25 °C durante 30 min. Una vez concluida la incubación de las muestras, se realizó la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 540 nm, a cada una de ellas en el espectrofotómetro.

La concentración de proteína se determinó a través de la fórmula:

$$y = 0,0043x + 0,0279$$

Ecuación 2. Fórmula de la pendiente obtenida en la curva de calibración

Donde:

y= Absorbancia medida de la queratina hidrolizada a 540 nm

x= Concentración de la proteína

Caracterización microbiológica de queratina

En este caso, se realizaron diluciones seriadas de las queratinas obtenidas con agua de peptona hasta el factor de dilución 10^{-3} , una vez realizado esto, se sembró 1 mL de la dilución en AGAR PDA y se incubaron las muestras a 38°C durante 48 h

Identificación microbiana

A través de tinción Gram, de acuerdo con la metodología de (González Meléndez et al., 2020), se colocó una gota de agua destilada en el portaobjetos, se procedió a hacer un frotis y homogeneización de la colonia escogida en el medio de cultivo. Una vez realizado esto, se fijó el frotis con la llama del mechero sin quemar la muestra, después de esto, se añadió la solución de cristal violeta hasta cubrir toda la muestra durante 10 s; es decir toda el área del frotis. Luego se procede a lavar el portaobjeto, a su vez también añadir Lugol durante 10 s y

lavar para retirar el exceso de yodo. Al concluir esta parte, se procedió a adicionar gotas de alcohol cetona durante 10 s y lavar nuevamente la muestra con agua a chorro desde la piseta, para agregar safranina durante 10 s y lavar nuevamente y dejar secar al ambiente. Finalmente, al haber concluido la tinción, se visualizó la muestra al microscopio con los objetivos 40x y 100x

Precipitación de la queratina

De acuerdo con la metodología de (Bujahico Huertas & Flor Tipiana, 2021), para precipitar la queratina de cada uno de los hidrolizados obtenidos a través de la fermentación, fue necesario llevar las muestras a baño maría durante 30 min a 50 ° C y dejarlas enfriar durante 1 h. Después de esto, se procede a ajustar el pH con ácido sulfúrico (H₂SO₄) hasta llegar a 3.5, lográndose apreciar la separación-sólido.

Una vez precipitada la proteína, fue necesario realizar un filtrado para separar cualquier impureza presente. Además, se adicionó hidróxido de sodio (NaOH) 1 N al filtrado con la finalidad de hasta llegar a un pH 13 y solubilizarla, para obtener la queratina.

Densidad

La densidad de la queratina se determinó a través del método del picnómetro. En este caso se usó un picnómetro de 25 mL vacío a una temperatura de 23° C

Primeramente, se procedió a pesar el picnómetro vacío (P₀); luego se adicionó agua destilada hasta llenarlo completamente y se volvió a pesar nuevamente (P₂). Después de esto, se llenó completamente el picnómetro con queratina y se volvió a pesar (P₂)

Por ende, la densidad se calculó con la siguiente fórmula

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Ecuación 3. Formula de la densidad

Bioplástico

Para la elaboración del bioplástico, el porcentaje de queratina empleados fue de 8,33% y de 17%.

Espesante: Glicerina

Primeramente, en un vaso de precipitación, se mezclaron 10 g de almidón de yuca con 100 mL de destilada. Una vez realizada esta mezcla, se procedió a añadir 10 mL de glicerina y 15 mL de ácido acético a concentración 0,1M, finalmente según el tratamiento a realizar, se añadieron 12 y 25 mL del hidrolizado de queratina respectivamente al tratamiento. Ya realizada la mezcla, esta se mantuvo en agitación constante y en calentamiento alrededor de 10 minutos, hasta llegar al punto de hervor y a su vez quede viscosa. En caso de que la viscosidad de la mezcla sea alta, es necesario adición de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M para disminuirla

Luego se depositó la mezcla en bandejas de aluminio o en platos de poliestireno para dejarlo secar en la estufa a 42°C durante dos días.

Espesante: Urea

En este caso como lo mencionan (Demera Velásquez & Meza Andrade, 2021), se mezclaron 15 g de almidón de yuca con 100 mL de agua destilada, luego se añadieron 5 g de urea y 10 mL de ácido acético a concentración 0.1 M, finalmente según el tratamiento a realizar, se añadieron de 12 y 25 mL de queratina respectivamente al tratamiento. Una vez realizada esta mezcla, la misma se mantuvo en agitación constante y en calentamiento alrededor de unos 10 minutos, hasta llegar al punto de hervor y a su vez esta quede viscosa. Al elaborar el bioplástico este tiende a ser demasiado viscoso, por ende, fue necesario añadir 5 mL de NaOH para disminuir su viscosidad.

Finalmente, se procedió a verter la mezcla en bandejas de aluminio o poliestireno para dejarlos secar en la estufa a 42°C durante dos días.

Elasticidad

Con el uso de un dinamómetro y a su vez un soporte universal, se determinó la fuerza necesaria para generar la ruptura del bioplástico al momento de ser estirado de acuerdo a la metodología empleada por (Demera Velásquez & Meza Andrade, 2021).

Humedad

En este caso, según el ensayo de (Romero Rojas, 2017), la humedad se determinó a través de la pérdida de peso por calentamiento. Esta técnica consiste en medir la cantidad de agua que se encuentra presente en la muestra después del calentamiento en la estufa a través de los siguientes pasos:

Primeramente, se secan los crisoles en la estufa a una temperatura de 130° C durante unos 30 min. y se deja secar a temperatura ambiente en un desecador; luego de esto, se procede a pesar el crisol vacío.

Después de esto, se homogenizo la muestra y se pesó 2 g de ella y se llevó a la estufa a 130° C durante dos horas. Una vez transcurrido el tiempo de secado, se retiraron las muestras de la estufa y se colocaron en un desecador alrededor de media hora para después pesar

Para el cálculo de la determinación de humedad, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%H = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_0} \right) \cdot 100$$

Ecuación 4. Fórmula para determinar la humedad presente en las muestras

Dónde:

W2= Peso del crisol + la muestra antes del secado

W1= Peso del crisol + la muestra después del secado

W0=Peso de la muestra en gramos

Ceniza

En este procedimiento, de acuerdo con lo mencionado por (Romero Rojas, 2017), es necesario que el crisol se encuentre limpio y seco. Por lo cual, secaron en la estufa a 100 °C durante 30 minutos y se dejar enfriar a temperatura ambiente para luego pesarlos.

Una vez pesado el crisol vacío, se añade aproximadamente 2 g de la muestra, para luego ser llevados a la mufla a una temperatura de 600° C durante 3 horas hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón. Finalmente, se retira el crisol con las muestras de ceniza, se deja enfriar en desecador y se procede a pesar.

Para el cálculo de la determinación de ceniza, se aplicó la siguiente fórmula

$$c = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_0} \right) \cdot 100$$

Ecuación 5. Fórmula para determinar el porcentaje de ceniza en la muestra

Dónde:

W2: Peso del crisol + la muestra calcinada

W1: Peso del crisol vacío

W0: Peso de la muestra (g)

Porcentaje de biodegradación del bioplástico

Esta prueba como mencionan (Demera Velásquez & Meza Andrade, 2021; Sernaqué et al., 2020) , consiste en medir el porcentaje de pérdida de peso del bioplástico al momento de ser introducido en el suelo, hasta que haya sido degradado alrededor de un 30%.

Por ende, se usaron laminas del bioplástico con dimensiones de 5 cm x 5 cm, mismas que fueron tomadas su peso inicial (W_0), antes de ser enterradas a unos 3,5 cm de profundidad en muestras de tierra húmedas. Después de ser enterradas, se tomaron datos de las muestras a los 15 días y se calculó el % de biodegradabilidad con la siguiente fórmula.

$$\%WL = \left(\frac{W_0 - W_F}{W_0} \right) \cdot 100$$

Ecuación 6. Fórmula para determinar el porcentaje de biodegradabilidad del bioplástico

Donde:

W₀ = Corresponde al peso inicial del bioplástico después del secado, previo al entierro

W_f = Peso final de la muestra, después del entierro.

Análisis estadístico

Niveles y factores de investigación

El siguiente estudio se clasificó por niveles y factores del experimento

Queratina

Tabla 20

Niveles y factores, que se han llevado a cabo en la investigación.

Factores	Simbología	Niveles
Plumas de Pollos (A)	a0	Campero
	a1	Cobb
	a2	Ross
Medios de fermentación (B)	b0	Medio 1 (Solución de sales mineral + extracto de levadura 0,1%)
	b1	Medio 2(Solución de sal mineral + extracto de levadura 0,5%)
Tiempo de fermentación (C)	c0	7 días
	c1	14 días

Interacción de tratamientos

Tabla 21

Interacciones de tratamientos (tipos de plumas de pollo, medios de fermentación y tiempo de fermentación).

<i>N°</i>	<i>Interacciones</i>	<i>Unidades experimentales</i>
T1	a0b0c0	Campero + Medio 1 + 7 días
T2	a0b0c1	Campero + Medio 1 + 14 días
T3	a0b1c0	Campero + Medio 2 + 7 días
T4	a0b1c1	Campero + Medio 2 + 14 días
T5	a1b0c0	Cobb + Medio 1 + 7 días
T6	a1b0c1	Cobb + Medio 1 + 14 días
T7	a1b1c0	Cobb + Medio 2 + 7 días
T8	a1b1c1	Cobb + Medio 2 + 14 días
T9	a2b0c0	Ross + Medio 1 + 7 días
T10	a2b0c1	Ross + Medio 1 + 14 días
T11	a2b1c0	Ross + Medio 2 + 7 días
T12	a2b1c1	Ross + Medio 2 + 14 días

Tipo de diseño

En el presente estudio, se aplicó un ANOVA con arreglo trifactorial AxBxC (3x2x2), en donde el factor A son las Plumas de pollo, el B medios de fermentación y C el tiempo de fermentación

Repeticiones

El diseño experimental se aplicaron 3 repeticiones por cada tratamiento, obteniendo un total de 36 unidades experimentales

Análisis estadístico

En este caso, el esquema del ANOVA para el estudio del proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas). Pollo campero, Cobb y Ross a partir de queratinasas producidas por *Bacillus* sp., a través de dos medios de fermentación y teniendo en cuenta los días de fermentación

Tabla 22

Esquema de ANOVA de producción de queratinas.

Fuente de Variación		Grados de libertad
Plumas de pollos (A)	a-1	2
Medios de fermentación (B)	b-1	1
Tiempo de fermentación (C)	c-1	1
AxB	(a-1) (b-1)	2
AxC	(a-1) (c-1)	2
BxC	(b-1) (c-1)	1
AxBxC	(a-1) (b-1) (c-1)	2
Réplicas	r-1	2
Error experimental		22
Total		35

Análisis funcional

Variables evaluadas

- pH
- Absorbancia
- Densidad

- Proteína total

Bioplástico

Tabla 23

Niveles y factores, que se han llevado a cabo en la investigación.

Factores	Simbología	Niveles
	a0	Campero
Plumas de pollos (A)	a1	Cobb
	a2	Ross
	b0	8,33%
Concentración de queratina (B)	b1	16,6%
	c0	Glicerina
Espesante (C)	c1	Urea

Interacción de tratamientos**Tabla 24**

Tratamientos comparados en la elaboración del bioplástico con queratinas obtenidas a partir de distintos tipos de plumas de pollo y espesantes.

N°	Interacciones	Unidades experimentales
T1	a0b0c0	Campero + 8.33% queratina + Glicerina
T2	a0b0c1	Campero+ 8.33% queratina + Urea
T3	a0b1c0	Campero + 17% queratina + Glicerina
T4	a0b1c1	Campero + 17% queratina + Urea
T5	a1b0c0	Cobb + 8.33% queratina + Glicerina
T6	a1b0c1	Cobb + 17% queratina + Urea
T7	a1b1c0	Cobb 17% queratina + Glicerina
T8	a1b1c1	Cobb 17% queratina + Urea
T9	a2b0c0	Ross + 8.33% queratina + Glicerina
T10	a2b0c1	Ross + 8.33% queratina + Urea
T11	a2b1c0	Ross 17% queratina + Glicerina
T12	a2b1c1	Ross 17% queratina + Urea

Tipo de diseño

En el presente estudio, se aplicó un ANOVA con arreglo trifactorial AxBxC (3x2x2), en donde el factor A son las Plumas de pollo, el B las concentraciones de queratina y C los espesantes.

Repeticiones

El diseño experimental se aplicaron 3 repeticiones por cada tratamiento, obteniendo un total de 36 unidades experimentales.

Análisis estadístico

En este caso, el esquema del ANOVA para el estudio del proceso de extracción de queratina mediante hidrólisis enzimática en tres tipos de aves (Plumas). Pollo campero, Cobb y Ross a partir de distintas concentraciones de queratinasas producidas por *Bacillus* sp. Para la elaboración de bioplástico.

Tabla 25

Esquema de ANOVA de producción del bioplástico.

Fuente de Variación		Grados de libertad
Plumas de pollos (A)	a-1	2
Concentración de queratina (B)	b-1	1
Espesante (C)	c-1	1
AxB	(a-1) (b-1)	2
AxC	(a-1) (c-1)	2
BxC	(b-1) (c-1)	1
AxBxC	(a-1) (b-1) (c-1)	2
Réplicas	r-1	2
Error experimental		22
Total		35

Análisis funcional

Variables evaluadas

- Humedad
- Ceniza
- Elasticidad
- Biodegradabilidad




Capitulo IV

Resultados

Identificación de proteínas

Tabla 26




Prueba cualitativa de Biuret por color para la detectar la presencia de proteínas.

Prueba de Biuret	
Muestras	Resultados
Plumas de Pollo Campero 	Positivo
Plumas de Pollo Cobb 	Positivo
Plumas de Pollo Ross 	Positivo

Nota. La prueba de Biuret por color confirma la presencia de queratinas con resultados positivos (coloración violeta) y negativos (color celeste).

Tabla 27

Prueba cualitativa de Ninhidrina por color, para la detectar la presencia de proteínas.

Prueba de Ninhidrina	
Muestras	Resultados
Plumas de Pollo Campero 	Positivo
Plumas de Pollo Cobb 	Positivo
Plumas de Pollo Ross 	Positivo

Nota. La prueba de ninhidrina por color confirma la presencia de queratinas con resultados positivos (coloración violeta) y negativos (sin coloración).

Caracterización microbiológica de queratina

Figura 3

Resultados de tinción Gram en muestras de queratina hidrolizada.



Nota. La tinción Gram muestra la presencia de *Bacillus* sp. en la queratina hidrolizada, estas se identifican por su forma de bacillus en bastones con extremos redondeados.

Análisis Estadístico queratina hidrolizada

Análisis de varianza para las variables

Análisis de varianza para la variable pH

Tabla 28

Análisis de Varianza para pH

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipos de plumas	1,27801	2	0,639006	393,28	0,0000
B: Medios de fermentación	0,00455625	1	0,00455625	2,80	0,1082
C: Tiempo de fermentación	6,31266	1	6,31266	3885,16	0,0000
D: Replicas	0,00510417	2	0,00255208	1,57	0,2303
INTERACCIONES					
AB	0,0522375	2	0,0261188	16,07	0,0000
AC	1,35026	2	0,675131	415,51	0,0000
BC	0,00225625	1	0,00225625	1,39	0,2512
ABC	0,0315875	2	0,0157937	9,72	0,0009
RESIDUOS	0,0357458	22	0,00162481		
TOTAL (CORREGIDO)	9,07242	35			

La tabla 28 muestra el análisis de varianza para la variable pH, donde se encontró diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas), en el factor C (Tiempos de fermentación C), así como en las interacciones AB (tipo de pluma – medio de fermentación), AC (tipo de pluma – tiempo de fermentación) y ABC (tipo de pluma – medio de fermentación - tiempo de fermentación). No hubo diferencia significativa en el factor B (Medios de

fermentación) así como en la interacción BC (medio – tiempo de fermentación) ni en las réplicas, en este último se indica normalidad de los datos empleados.

Análisis de varianza para la variable absorbancia

Tabla 29

Análisis de Varianza para absorbancia

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipos de plumas	0,000314196	2	0,000157098	14043,05	0,0000
B: Medios de fermentación	0,00172225	1	0,00172225	153952,82	0,0000
C: Tiempo de fermentación	0,000227004	1	0,000227004	20292,05	0,0000
D: Réplicas	7,22222E-9	2	3,61111E-9	0,32	0,7275
INTERACCIONES					
AB	0,000525047	2	0,000262523	23467,10	0,0000
AC	0,00134536	2	0,000672681	60131,31	0,0000
BC	0,00006724	1	0,00006724	6010,62	0,0000
ABC	0,00230989	2	0,00115494	103240,98	0,0000
RESIDUOS	2,46111E-7	22	1,11869E-8		
TOTAL (CORREGIDO)	0,00651124	35			

De acuerdo con la tabla 29, el análisis de varianza, se encontró diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas A), factor B (Medios de fermentación) y factor C (Tiempos de fermentación), así como en las interacciones AB, AC, BC y ABC (tipo de pluma – medio de fermentación – tiempo de fermentación). No hubo diferencia significativa en las réplicas lo que indica normalidad de los datos empleados.

Análisis de varianza para la variable proteína

Tabla 30

Análisis de Varianza para Proteína

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipos de plumas	16,7037	2	8,35184	17676,79	0,0000
B: Medios de fermentación	92,288	1	92,288	195329,05	0,0000
C: Tiempo de fermentación	11,8336	1	11,8336	25045,99	0,0000
D: Replicas	0,000605556	2	0,000302778	0,64	0,5364
INTERACCIONES					
AB	28,4704	2	14,2352	30129,06	0,0000
AC	72,1633	2	36,0817	76367,41	0,0000
BC	3,66084	1	3,66084	7748,23	0,0000
ABC	125,307	2	62,6535	132607,09	0,0000
RESIDUOS	0,0103944	22	0,000472475		
TOTAL (CORREGIDO)	350,438	35			

En la tabla 30, se observa diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas), factor B (Medios de fermentación) y factor C (Tiempos de fermentación), así como en las interacciones AB, AC, BC y ABC (tipo de pluma – medio de fermentación – tiempo de fermentación). No existe diferencia significativa en las réplicas.

Análisis de varianza para la variable densidad

Tabla 31

Análisis de Varianza para densidad

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipos de plumas	0,000572222	2	0,000286111	1,44	0,2576
B: Medios de fermentación	0,0140028	1	0,0140028	70,64	0,0000
C: Tiempo de fermentación	0,000469444	1	0,000469444	2,37	0,1381
D: Replicas	0,000105556	2	0,0000527778	0,27	0,7687
INTERACCIONES					
AB	0,00327222	2	0,00163611	8,25	0,0021
AC	0,00440556	2	0,00220278	11,11	0,0005
BC	0,000225	1	0,000225	1,14	0,2983
ABC	0,04155	2	0,020775	104,80	0,0000
RESIDUOS	0,00436111	22	0,000198232		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0689639	35			

La tabla 31 muestra diferencia significativa en factor B (medios de fermentación) y en las interacciones AB, AC, y ABC. No hubo diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas), factor C (Tiempos de fermentación) ni en la interacción BC, así como en las réplicas.

Resultados de la evaluación de distintos tipos de plumas (Campero, Cobb y Ross), en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)

Prueba de significancia de Tukey de tipos de plumas (Factor A)

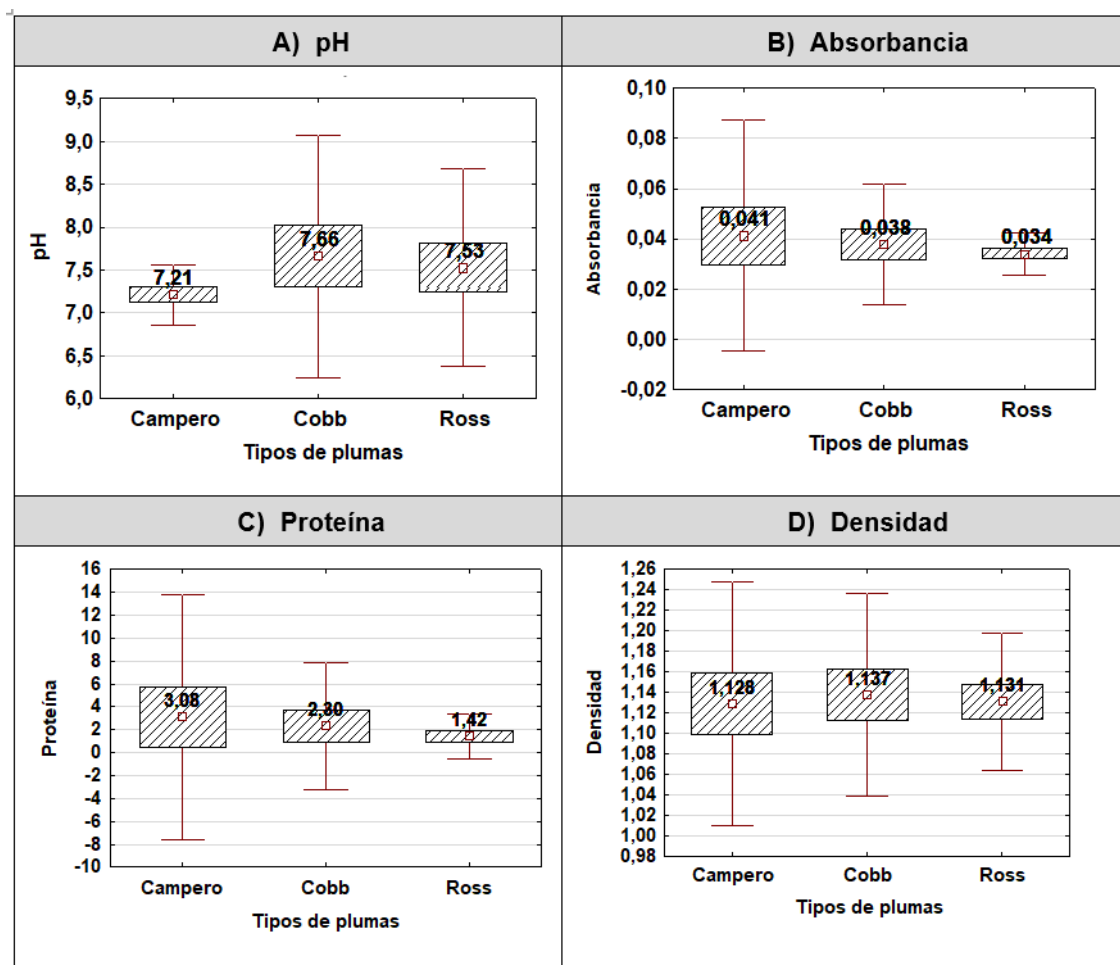
Tabla 32

Resumen de la Prueba de significación de (Tukey $p < 0,05$) para Tipos de plumas (Factor A)

Tipos de plumas	pH	Absorbancia	Proteína (mg/mL)	Densidad
A0: Campero	7,21 ^A	0,034 ^A	3,09 ^C	1,128 ^A
A1: Cobb	7,66 ^B	0,038 ^B	2,30 ^B	1,137 ^A
A2: Ross	7,53 ^C	0,041 ^C	1,42 ^A	1,131 ^A

Figura 4

Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A)



En la tabla 32 (figura 4A) en pH, se producen tres grupos independientes, donde el Grupo A: Campero presenta un valor de 7,21; el Grupo B: Cobb indicó 7,66 y el Grupo C: Ross indicó 7,53.

Respecto a Absorbancia (figura 4B), se aprecian tres grupos independientes, donde el Grupo A: Campero tiene un valor de 0,034; en el Grupo B: Cobb 0,038; y en el Grupo C: Ross 0,041 respectivamente.

En la proteína (figura 4C), se obtuvieron tres grupos independientes, donde el Grupo A: Ross tiene 1,42 mg/mL de proteína; en el Grupo B: Cobb con 2,30 mg/mL y el Grupo C: Campero 3,09 mg/mL.

Para densidad (figura 4D), existe la presencia de un grupo homogéneo, siendo el Grupo A: conformado por Campero, Cobb y Ross. El cual valores de 1,128; 1,137 y 1,131, respectivamente.

Resultados de la evaluación de los medios de fermentación, en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)

Prueba de significancia de Tukey de los medios de fermentación (Factor B)

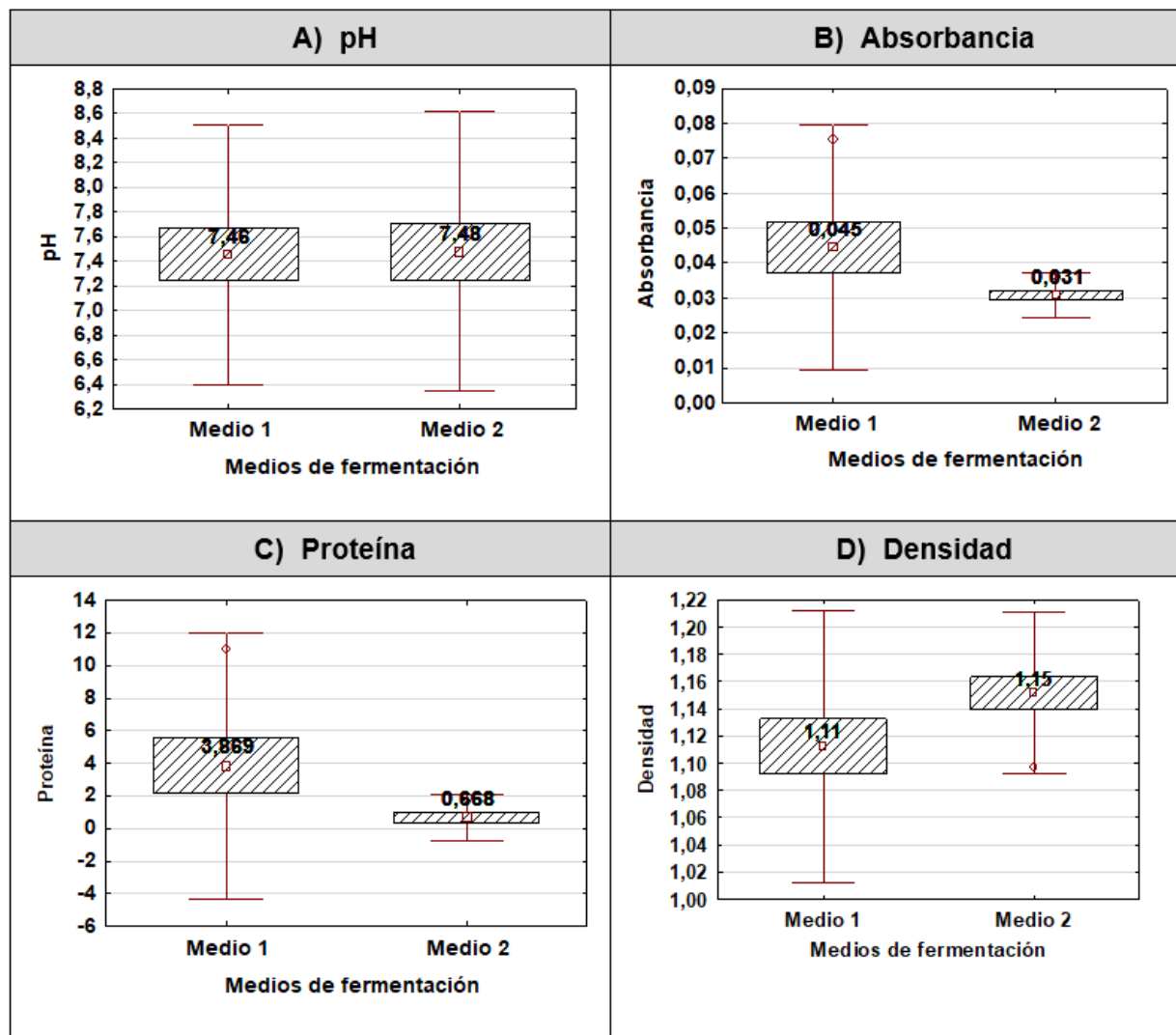
Tabla 33

Prueba de significación de Tukey para Medios de fermentación (Factor B)

Tipo de medio	pH	Absorbancia	Proteína (mg/mL)	Densidad
B0: Medio 1	7,46^A	0,045^A	3,87^A	1,112^A
B1: Medio 2	7,48^A	0,031^B	0,67^B	1,152^B

Figura 5

Prueba de significación de Tukey para Medios de fermentación (Factor B)



En la figura 5A, tabla 33, en pH indica la presencia de un grupo homogéneo. Siendo el grupo A (medio 1 y medio 2), demostrando valores de 7,46 y 7,48 respectivamente.

En cuanto a la absorbancia (figura 5B), se aprecian dos grupos independientes de la siguiente manera: Grupo A (Medio 1) presenta un valor de 0,045; mientras que Grupo B (Medio 2) un valor de 0,031.

La variable proteína (figura 5C), se observa dos grupos independientes de la siguiente forma, donde el Grupo A (Medio 1) es de 3,87 mg/mL; y el Grupo B (Medio 2) indica un valor de 0,67 mg/mL.

En cuanto a la densidad (figura 5D), de igual manera se presencia dos grupos independientes, donde el Grupo A (Medio 1) presentando un valor de 1,112; y el Grupo B (Medio 2) un valor de 1,152.

Resultados de los tiempos de fermentación, en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Tiempo de fermentación (Factor C)

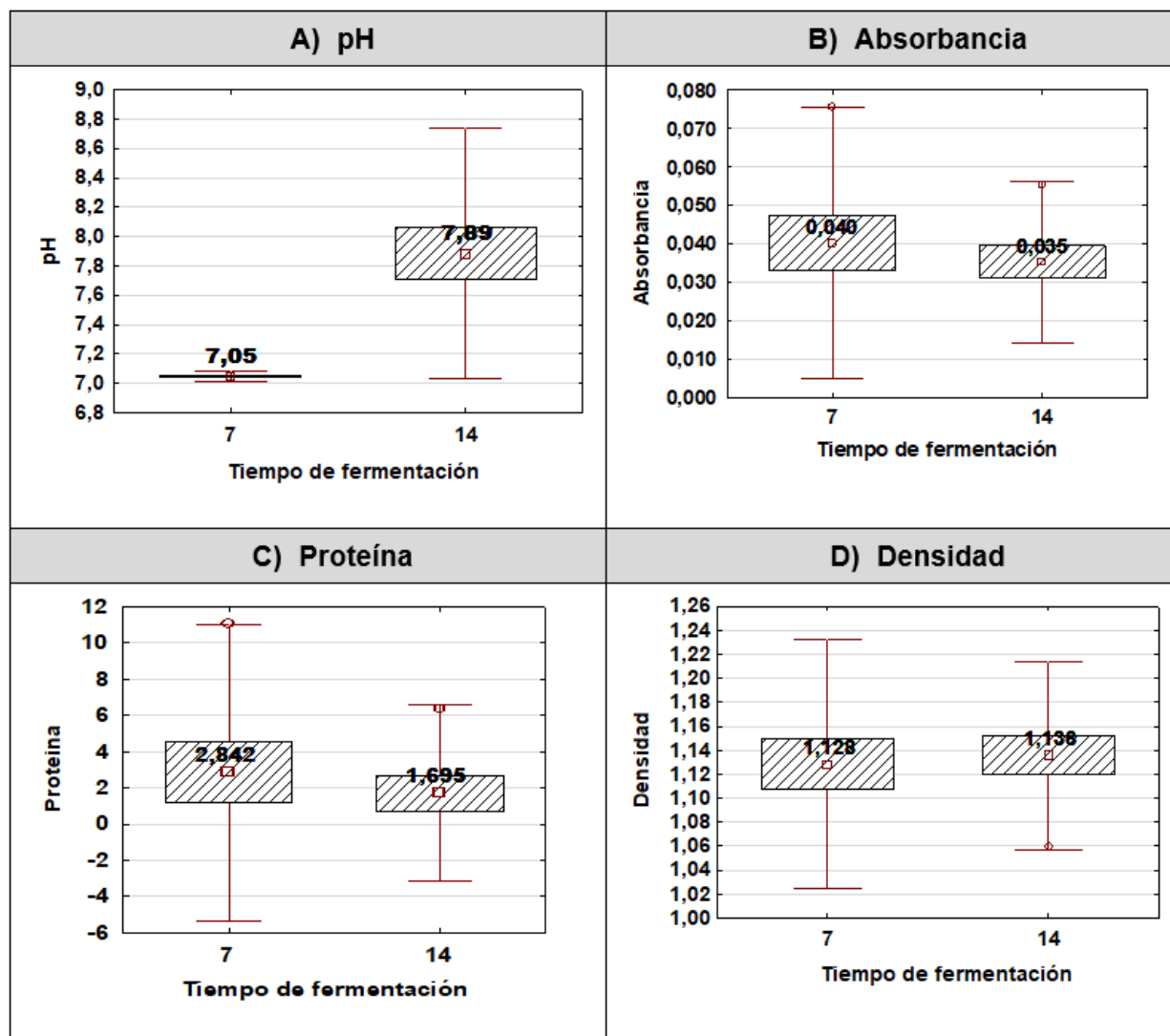
Tabla 34

Prueba de significación de Tukey para Tiempo de fermentación (Factor C)

Tiempo de fermentación	pH	Absorbancia	Proteína	Densidad
C0: 7	7,05^A	0,040^B	2,84^B	1,128^A
C4: 14	7,89^B	0,035^A	1,7^A	1,136^A

Figura 6

Prueba de significación de Tukey para Tiempo de fermentación (Factor C)



En la tabla 34, (figura 6A), en pH hay la presencia de dos grupos independientes, donde el Grupo A (7 días de fermentación) presenta un valor de 7,05; el Grupo B (14 días de fermentación) indicó un valor de 7,89.

Respecto a Absorbancia (figura 6B), ante la presencia de dos grupos independientes, se aprecia que el Grupo A (14 días de fermentación) tiene un valor de 0,035 y en el Grupo B (Tiempo de 7 días de fermentación) un valor de 0,040.

En cuanto a la proteína (figura 6C), manifiesta dos grupos independientes, siendo uno de ellos el Grupo A (14 días de fermentación) con una concentración de 1,7 mg/mL de proteína. Mientras que en el Grupo B (7 días de fermentación) con una concentración de 2,84 mg/mL

Para densidad (figura 6D), se mostró la formación de un grupo homogéneo, el Grupo A (7 y 14 días de fermentación) demostrando valores de 1,128 y 1,136 respectivamente.

Resultados de la evaluación de Tipos de plumas*tipo de medios*tiempo de fermentación, en la producción de queratina hidrolizada (Tukey $p < 0.05$)

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Interacciones (Tipos de plumas*tipo de medios*tiempo de fermentación) (Factor ABC)

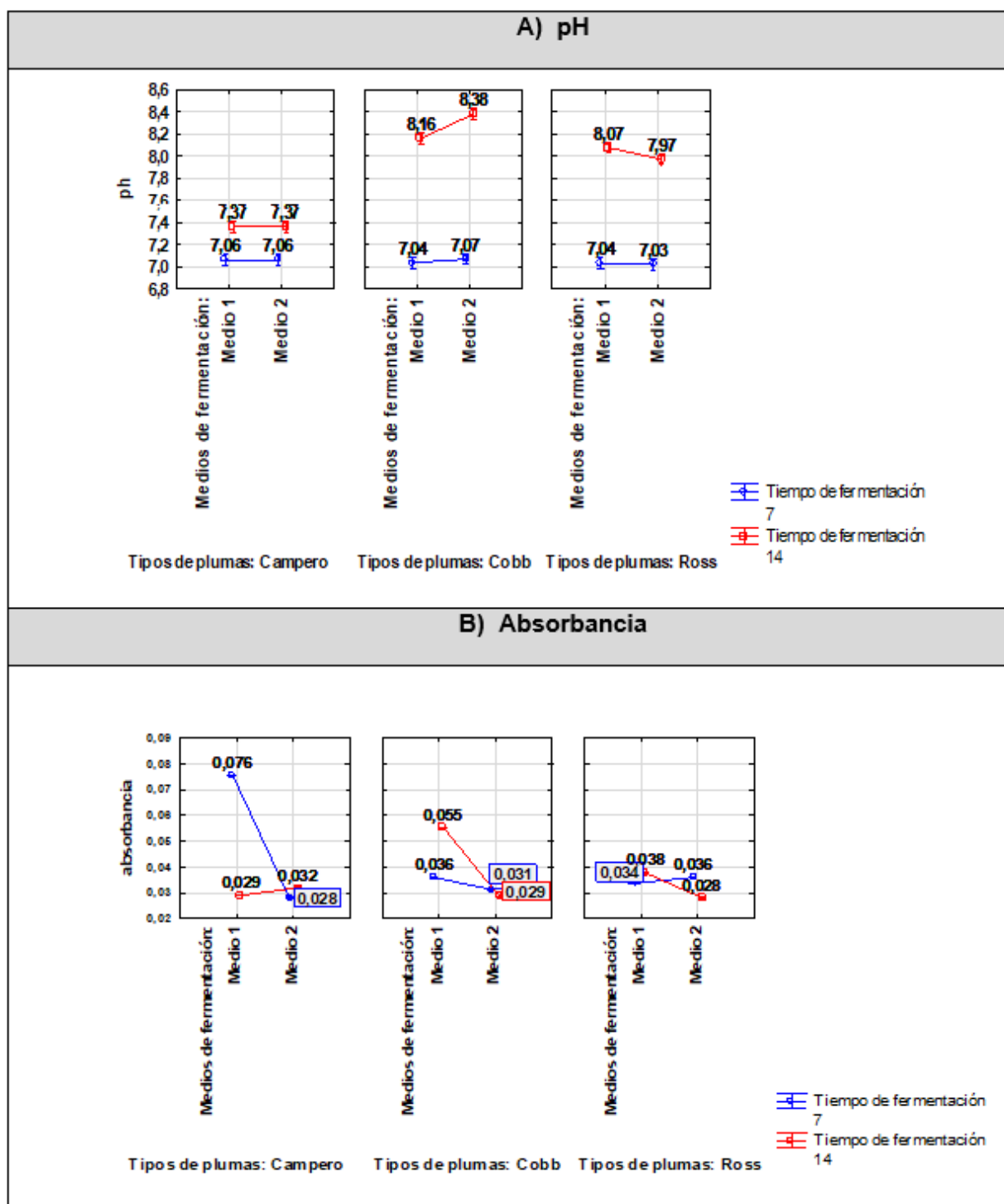
Tabla 35

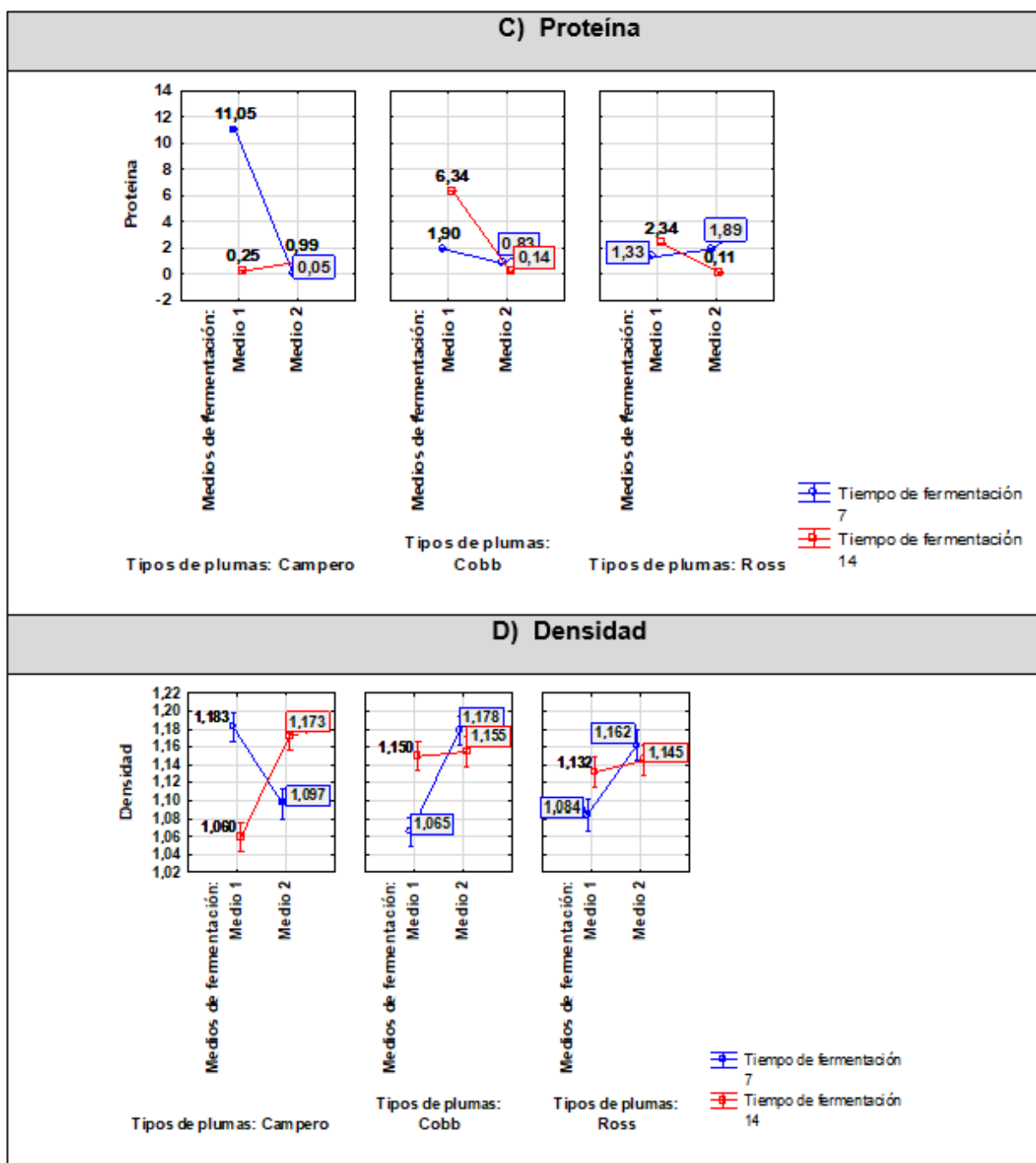
Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor ABC)

Interacciones	pH	Absorbancia	Proteína	Densidad
A0B0C0: Campero + Medio 1 + 7	7,07 ^A	0,076 ^J	11,05 ^J	1,183 ^D
A0B0C1: Campero + Medio 1 + 14	7,37 ^B	0,029 ^C	0,25 ^C	1,060 ^A
A0B1C0: Campero + Medio 2 + 7	7,06 ^A	0,028 ^A	0,05 ^A	1,097 ^{AB}
A0B1C1: Campero + Medio 2 + 14	7,37 ^B	0,032 ^E	0,99 ^E	1,173 ^{CD}
A1B0C0: Cobb + Medio 1 + 7	7,04 ^A	0,036 ^G	1,90 ^G	1,066 ^A
A1B0C1: Cobb + Medio 1 + 14	8,16 ^D	0,055 ^I	6,34 ^I	1,150 ^{CD}
A1B1C0: Cobb + Medio 2 + 7	7,07 ^B	0,031 ^D	0,83 ^D	1,178 ^D
A1B1C1: Cobb + Medio 2 + 14	8,38 ^E	0,029 ^B	0,15 ^B	1,155 ^{CD}
A2B0C0: Ross + Medio 1 + 7	7,04 ^A	0,034 ^F	1,33 ^F	1,084 ^A
A2B0C1: Ross + Medio 1 + 14	8,08 ^{CD}	0,038 ^H	2,34 ^H	1,132 ^{BC}
A2B1C0: Ross + Medio 2 + 7	7,03 ^A	0,036 ^G	1,89 ^G	1,162 ^{CD}
A2B1C1: Ross + Medio 2 + 14	7,97 ^C	0,028 ^A	1,1 ^{AB}	1,145 ^{CD}

Figura 7

Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor ABC)





En la figura 7A, tabla 35, se aprecian los resultados de la prueba de Tukey para Interacciones (ABC). En p H, el Grupo A conformado por: Campero + Medio 1 + 7 (7,07), Campero + Medio 2 + 7 (7,06), Cobb + Medio 1 + 7 (7,04), Ross + Medio 1 + 7 (7,04) y Ross + Medio 2 + 7 (7,03), presentan valores menores al Grupo B: Campero + Medio 1 + 14 (7,37),

Campero + Medio 2 + 14 (7,37), Cobb + Medio 2 + 7 (7,07), estos a su vez son menores a los del grupo C: Ross + Medio 2 + 14 (7,97) y a los del Grupo D: Cobb + Medio 1 + 14 (8,16) y la interacción del Grupo CD: Ross + Medio 1 + 14 (8,08), siendo los valores más altos los del Grupo E: Cobb + Medio 2 + 14 (8,38).

En la figura 7B, en absorbancia el Grupo A, está compuesto por las interacciones: Campero + Medio 2 + 7 (0,028), Ross + Medio 2 + 14 (0,028), obteniendo valores menores a los siguientes grupos, aquellos van aumentando sus valores según la cantidad de proteína presenten; el Grupo B: Cobb + Medio 2 + 14 (0,029), Grupo C: Campero + Medio 1 + 14 (0,029), Grupo D: Cobb + Medio 2 + 7 (0,031), Grupo E: Campero + Medio 2 + 14 (0,032), Grupo F: Ross + Medio 1 + 7 (0,034), Grupo G: Ross + Medio 2 + 7 (0,036), Cobb + Medio 1 + 7 (0,036), Grupo H: Ross + Medio 1 + 14 (0,038), Grupo I: Cobb + Medio 1 + 14 (0,055), Grupo J: Campero + Medio 1 + 7 (0,076).

En la figura 7C, en proteína, en el Grupo A: Campero + Medio 2 + 7 días (0,05 mg/mL) se aprecian valores más bajos que en los demás grupos; Grupo AB: Ross + Medio 2 + 14 días (1,1 mg/mL); Grupo B: Cobb + Medio 2 + 14 días (0,15 mg/mL), Grupo C: Campero + Medio 1 + 14 días (0,25 mg/mL), Grupo D: Cobb + Medio 2 + 7 días (0,83 mg/mL), Grupo E: Campero + Medio 2 + 14 días (0,99 mg/mL), Grupo F: Ross + Medio 1 + 7 días (1,33 mg/mL), Grupo G: Cobb + Medio 1 + 7 días (1,90 mg/mL), Ross + Medio 2 + 7 días (1,89 mg/mL), Grupo H: Ross + Medio 1 + 14 días (2,34 mg/mL), Grupo I: Cobb + Medio 1 + 14 días (6,34 mg/mL). Siendo el Grupo J: Campero + Medio 1 + 7 días (11,05 mg/mL), con el valor más alto de proteína.

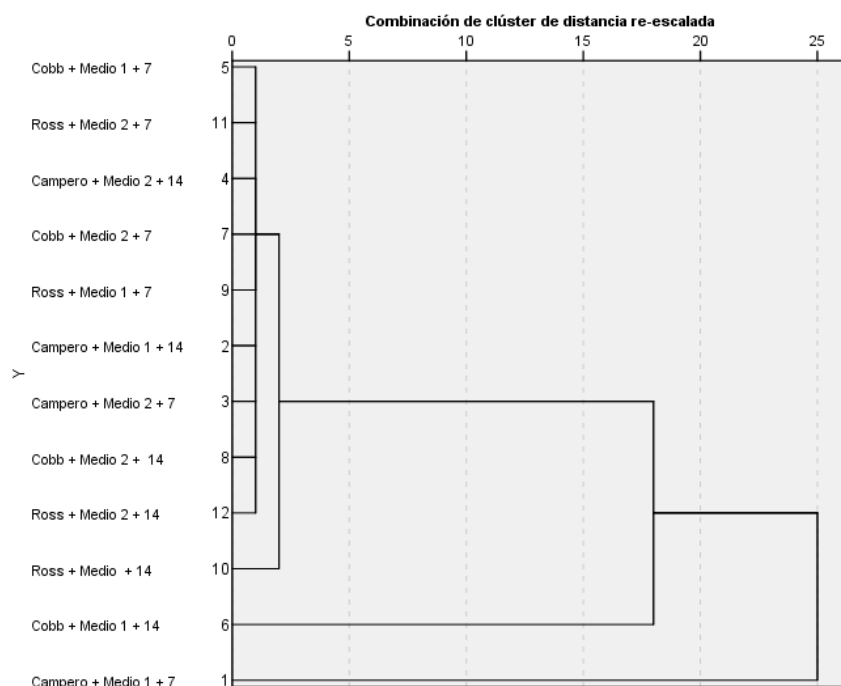
En la figura 7D, en los valores de densidad con respecto a las interacciones, se aprecia en Grupo A: Campero + Medio 1 + 14 días (1,060), Cobb + Medio 1 + 7 días (1,066), Ross + Medio 1 + 7 días (1,084), Grupo AB: Campero + Medio 2 + 7 días (1,097), Grupo BC: Ross + Medio 1 + 14 días (1,132), Grupo CD: Campero + Medio 2 + 14 días (1,173), Cobb + Medio 1 +

14 días (1,150), Cobb + Medio 2 + 14 días(1,155), Ross + Medio 2 + 7 días (1,162), Ross + Medio 2 + 14 días (1,145), mientras que en el Grupo D: Cobb + Medio 2 + 7 días (1,178) y Campero + Medio 1 + 7 días (1,183) presentó mayor absorbancia que los demás grupos

Resultados de análisis de conglomeraciones

Figura 8

Dendograma de análisis de conglomeraciones para los factores de estudio



La figura 8, en los conglomerados de vecinos cercanos obtenidos a partir de la aplicación de distintos tratamientos con similitudes entre las variables estudiadas (Tipos de plumas de pollo, Tipo de medio, Tiempo de fermentación), se aprecia que los valores más cercano entre los tratamientos Cobb+ Medio 1+ 7 con Ross+ Medio 2 +7; Campero + Medio 2+

14; Cobb+ Medio 2+ 7; Ross+ Medio 1+ 7; Campero+ Medio 1+ 14, Campero+ Medio 2+ 7; Cobb+ Medio 2+ 14 y Ross+ Medio 2+ 14; mientras que el tratamiento Campero + Medio 1+ 7 muestra menos similitud al resto de tratamientos.

Análisis de componentes principales

Tabla 36

Matriz de correlaciones entre las variables estudiadas.

		pH	Absorbancia	Proteína	Densidad
Correlación	pH	1,000	-,066	-,064	,211
	Absorbancia	-,066	1,000	1,000 ^a	,379
	Proteína	-,064	1,000 ^a	1,000	,381
	Densidad	,211	,379	,381	1,000

La tabla 36 se aprecia una correlación idéntica entre la absorbancia y la proteína, esto se refiere al uso de la absorbancia para calcular la concentración de la proteína obtenida, por tanto, se comprende que, a medida que la absorbancia aumenta, la cantidad de proteína también, siendo directamente proporcional.

Tabla 37

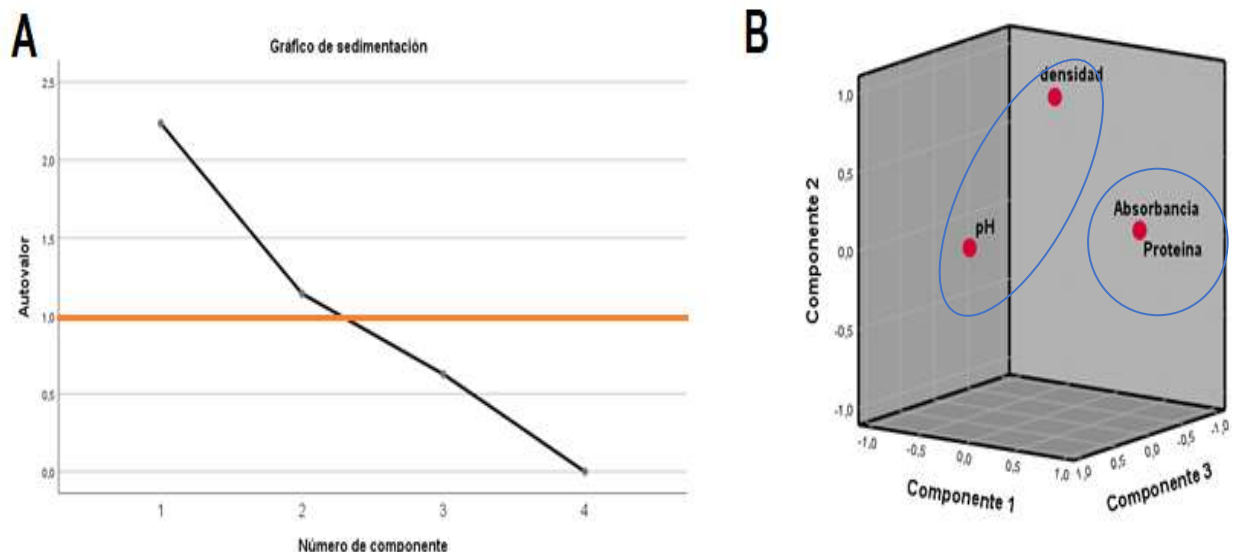
Análisis de componentes principales

Componente	Autovalores iniciales			Sumas de cargas al cuadrado de la extracción			Sumas de cargas al cuadrado de la rotación		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
	1	2,234	55,849	55,849	2,234	55,849	55,849	1,986	49,650
2	1,141	28,532	84,381	1,141	28,532	84,381	1,011	25,282	74,933
3	,625	15,618	99,999	,625	15,618	99,999	1,003	25,067	99,999
4	2,249E- 5	,001	100,000						

La tabla 37 correspondiente al análisis de componentes principales, indica dos componentes para explicar en conjunto los resultados obtenidos, lo que se corresponde también en el gráfico de sedimentación en la figura 9A y al gráfico de componentes de la figura 9B. De este modo, las variables se pueden agrupar en dos conjuntos, el primero que depende entre si (absorbancia y proteína) y el segundo que no dependen entre si (pH y densidad)

Figura 9

Criterios de representación gráfica del análisis de componentes principales



Nota. A) Gráfico de sedimentación: se visualizan los autovalores de los componentes obtenidos. Autovalores mayores que 1 indican que hay una ganancia al utilizar dicho factor, es decir, es útil y representa el número de variables que ocupa para el análisis. B) Gráfico de espacio rotado, muestra la relación de los variables en los componentes, se visualizan dos componentes en los ejes x, y. Dentro del primer componente se encuentran las variables de densidad, cantidad de proteína y absorbancia, mientras que en el segundo componente se encuentra el pH.

La figura 9B muestra una imagen tridimensional de la ubicación de las variables en los componentes. Las variables que más se aproximan al centro del plano con coordenadas (0,0,0) indican una aproximación de la media. Valores positivos muestran una correlación positiva de los resultados con respecto a las otras variables, en cambio, valores negativos indican una correlación contraria.

Análisis estadístico de bioplástico

Análisis de varianza para las variables

Análisis de varianza para la variable

Tabla 38

Análisis de Varianza para Humedad

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Plumas de pollos	178,35	2	89,1749	1062852,01	0,0000
B: Concentración de queratina (%)	28,5423	1	28,5423	340188,21	0,0000
C: Espesante	418,1	1	418,1	4983226,53	0,0000
D: Réplicas	0,000104167	2	0,0000520833	0,62	0,5467
INTERACCIONES					
AB	59,0101	2	29,505	351662,82	0,0000
AC	120,253	2	60,1263	716629,12	0,0000
BC	0,878906	1	0,878906	10475,45	0,0000
ABC	224,97	2	112,485	1340681,02	0,0000
RESIDUOS	0,00184583	22	0,0000839015		
TOTAL (CORREGIDO)	1030,11	35			

La tabla 38, en humedad, muestra diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas), factor B (Concentración de queratina) y factor C (Tipo de espesante), así como en las interacciones AB, AC, BC, ABC, mientras que las réplicas no indican diferencia significativa.

Tabla 39*Análisis de Varianza para Ceniza*

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Plumas de pollos	0,346287	2	0,173144	1116,24	0,0000
B: Concentración de queratina (%)	29,4035	1	29,4035	189561,07	0,0000
C: Espesante	0,0203062	1	0,0203062	130,91	0,0000
D: Réplicas	0,0009375	2	0,00046875	3,02	0,0692
INTERACCIONES					
AB	0,475312	2	0,237656	1532,14	0,0000
AC	0,587512	2	0,293756	1893,81	0,0000
BC	1,16101	1	1,16101	7484,88	0,0000
ABC	1,81704	2	0,908519	5857,12	0,0000
RESIDUOS	0,0034125	22	0,000155114		
TOTAL (CORREGIDO)	33,8153	35			

La tabla 39, en ceniza, muestra diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas), factor B (Concentración de queratina) y factor C (Tipo de espesante), así como en las interacciones AB, AC, BC, ABC, mientras que las réplicas no indican diferencia significativa.

Tabla 40*Análisis de Varianza para Elasticidad*

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Plumas de pollos	0,89915	2	0,449575	1926,75	0,0000
B: Concentración de queratina (%)	3,3856	1	3,3856	14509,71	0,0000
C: Espesante	36,1802	1	36,1802	155058,11	0,0000
D: Réplicas	0,00166667	2	0,000833333	3,57	0,0454
INTERACCIONES					
AB	3,25265	2	1,62632	6969,96	0,0000
AC	0,4578	2	0,2289	981,00	0,0000
BC	0,055225	1	0,055225	236,68	0,0000
ABC	4,24865	2	2,12432	9104,25	0,0000
RESIDUOS	0,00513333	22	0,000233333		
TOTAL (CORREGIDO)	48,4861	35			

La tabla 40, en elasticidad, muestra diferencia significativa en el factor A (Tipos de plumas), factor B (Concentración de queratina) y factor C (Tipo de espesante), así como en las interacciones AB, AC, BC, ABC. También se halló diferencia entre las réplicas realizadas lo que indica que los datos no siguen una tendencia de normalidad.

Tabla 41*Análisis de Varianza para Biodegradabilidad.*

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Plumas de pollos	178,869	2	89,4345	5781,06	0,0000
B: Concentración de queratina (%)	31,6688	1	31,6688	2047,07	0,0000
C: Espesante	1586,23	1	1586,23	102534,10	0,0000
D: Replicas	0,0442042	2	0,0221021	1,43	0,2610
INTERACCIONES					
AB	55,3159	2	27,6579	1787,81	0,0000
AC	122,821	2	61,4106	3969,59	0,0000
BC	1,41016	1	1,41016	91,15	0,0000
ABC	223,885	2	111,943	7235,98	0,0000
RESIDUOS	0,340346	22	0,0154703		
TOTAL (CORREGIDO)	2200,58	35			

La tabla 41, en biodegradabilidad, presenta diferencia significativa el factor A (Tipos de plumas), factor B (Concentración de queratina) y factor C (Tipo de espesante), así como en las interacciones AB, AC, BC, ABC, mientras que las réplicas no indican diferencia significativa.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Tipos de plumas (Factor A)

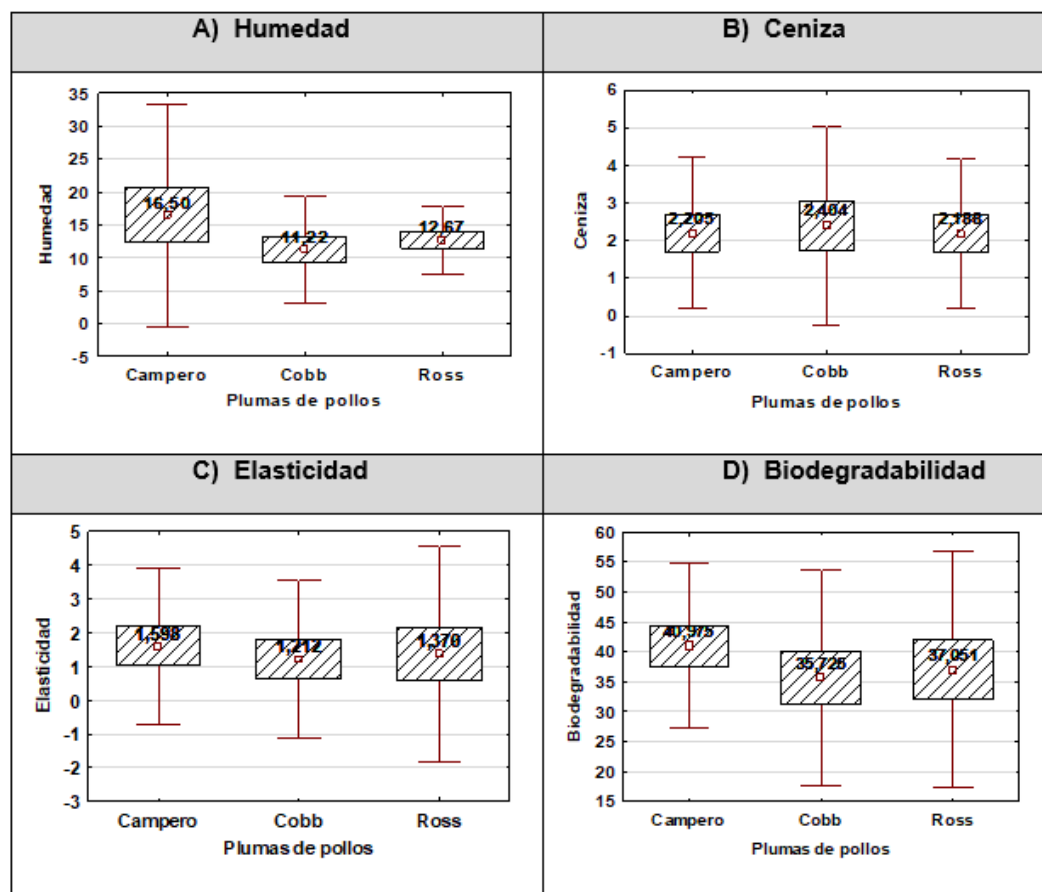
Tabla 42

Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A).

Tipos de plumas	Humedad	Ceniza	Elasticidad	Biodegradabilidad
A0: Campero	16,50 ^C	2,21 ^B	1,60 ^C	40,98 ^C
A1: Cobb	11,22 ^A	2,40 ^C	1,21 ^A	35,73 ^A
A2: Ross	12,67 ^B	2,19 ^A	1,37 ^B	37,05 ^B

Figura 10

Prueba de significación de Tukey para Tipos de plumas (Factor A)



En la tabla 42, figura 10, se observa en humedad tres grupos independientes de la siguiente manera: Grupo A: Cobb presenta un valor de 11,22; el Grupo B: Ross indicó 12,67 y el Grupo C: Campero indicó 16,50.

En ceniza se aprecia tres grupos independientes, el Grupo A: Ross con 2,19 %; en el Grupo B: Campero con 2,21 %; y en el Grupo C: Cobb con 2,40 % respectivamente.

En la elasticidad, se comprenden tres grupos independientes, donde el Grupo A: Cobb con un valor de 1,21; en el Grupo B: Ross con 1,37 y en el Grupo C: Campero con 1,60.

Para Biodegradabilidad, se obtuvieron tres grupos independientes, donde el Grupo A: Cobb con un valor de 35,73%; en el Grupo B: Ross tiene 37,05% y en el Grupo C: Campero 40,98%.

Prueba de significación de Tukey para concentración de queratina (Factor B)

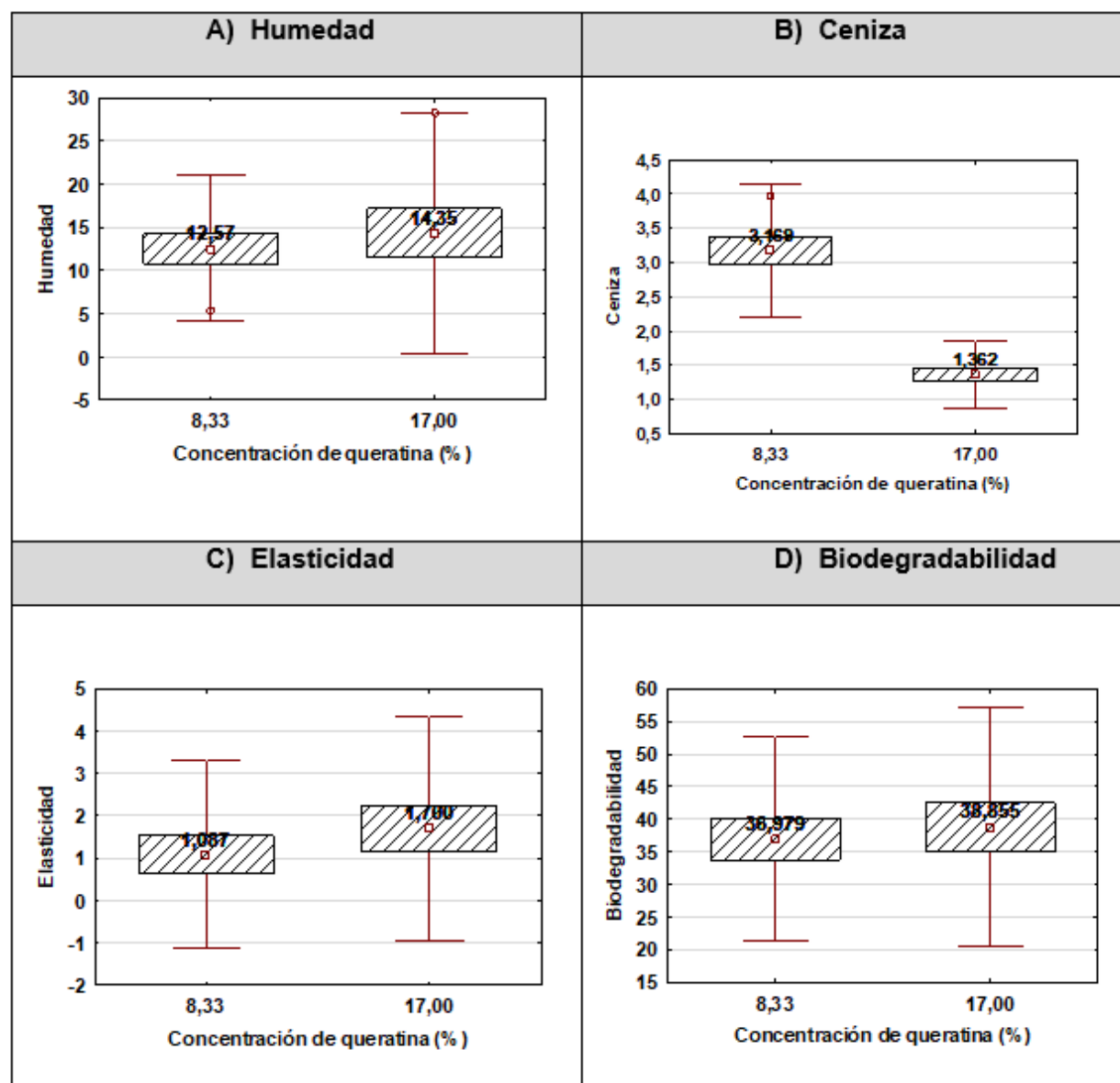
Tabla 43

Prueba de significación de Tukey para concentración de queratina (Factor B).

Concentración de queratina (%)	Humedad	Ceniza	Elasticidad	Biodegradabilidad
B0: 8,33%	12,57^A	3,17^B	1,09^A	36,98^A
B1: 17%	14,35^B	1,36^A	1,70^B	38,86^B

Figura 11

Prueba de significación de Tukey para Concentración de queratina (%) (Factor B)



En la tabla 43 (figura 11 A), en humedad, se observan dos grupos independientes, el Grupo A (Concentración de queratina de 8,33%) un valor de 12,57%; mientras que en Grupo B (Concentración de queratina de 17%) un valor de 14,35%.

Respecto a ceniza (figura 11B), se visualiza dos grupos independientes, donde el Grupo A (Concentración de queratina de 17%) presentó un valor de 1,36 %; el Grupo B (Concentración de queratina de 8,33%) con un valor de 3,17 % respectivamente.

En la elasticidad (figura 11C), se obtuvieron dos grupos independientes, donde el Grupo A (Concentración de queratina de 8,33%) presentó un valor de 1,09; el Grupo B (Concentración de queratina de 17%) un valor de 1,70.

Para Biodegradabilidad (figura 11D), se obtuvieron dos grupos independientes, donde el Grupo A (Concentración de queratina de 8,33%) presentó un valor de 36,98%; el Grupo B (Concentración de queratina de 17%) un valor de 38,86%.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Espesante (Factor C)

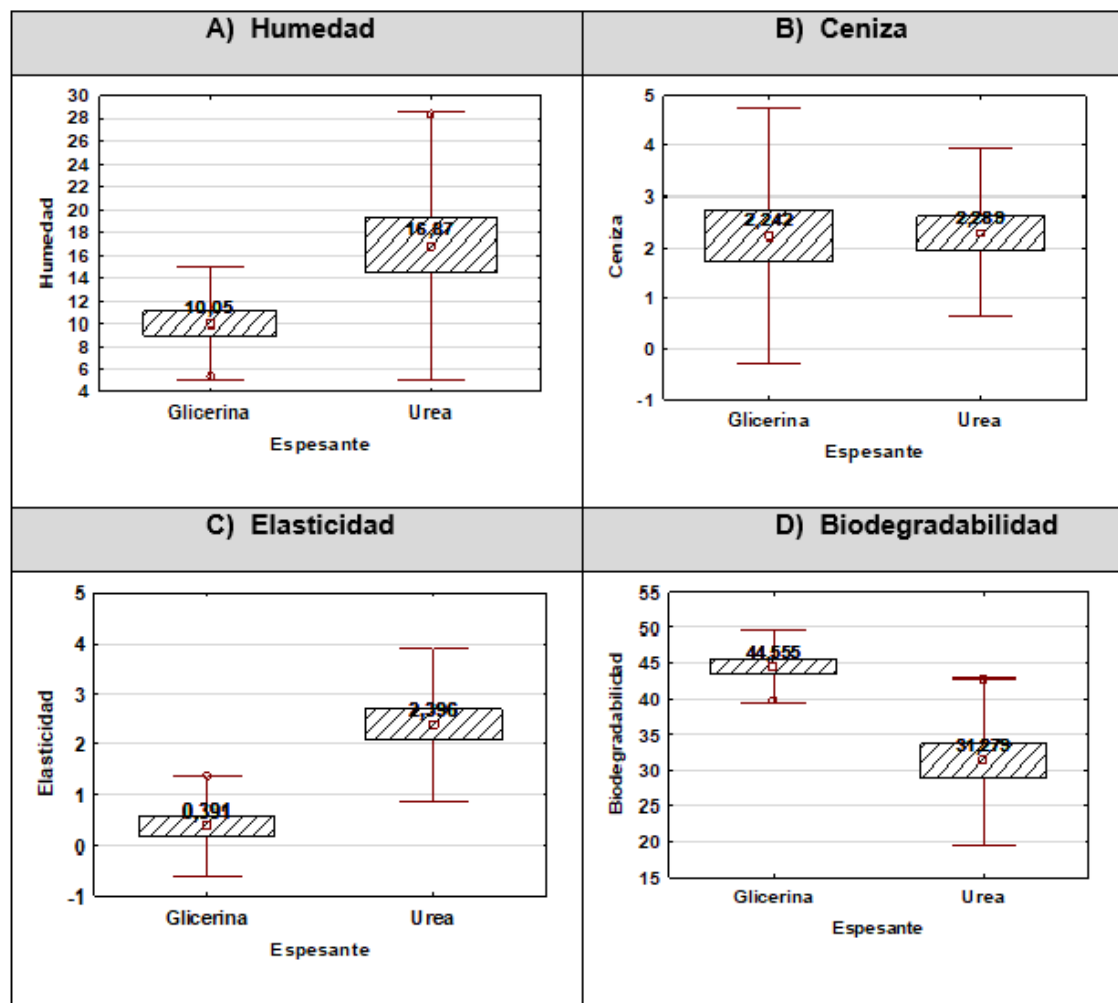
Tabla 44

Prueba de significación de Tukey para Espesante (Factor C)

Espesante	Humedad	Ceniza	Elasticidad	Biodegradabilidad
C0: Glicerina	10,05 ^A	2,24 ^A	0,39 ^A	44,56 ^B
C4: Urea	16,87 ^B	2,29 ^B	2,40 ^B	31,28 ^A

Figura 12

Prueba de significación de Tukey para Espesante (Factor C)



En la tabla 44, figura 12A, se observa en humedad dos grupos independientes, donde el Grupo A (Glicerina) presentó un valor de 10,05%; el Grupo B (Urea) con valor de 16,87%.

Respecto a ceniza (figura 12B), se conforman dos grupos independientes, donde el Grupo A (Glicerina) presentó un valor de 2,24; el Grupo B (Urea) 2,29% respectivamente.

En la elasticidad (figura 12C), se obtuvieron dos grupos independientes, donde el Grupo A (Glicerina) presentó un valor de 0,39; el Grupo B (Urea) un valor de 2,40.

Para Biodegradabilidad (figura 12 D), se obtuvieron dos grupos independientes, donde el Grupo A (Urea) presentó un valor de 31,28% menor al Grupo B (Glicerina) con un valor de 44,56%.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$), Días de Interacciones (Factor ABC)

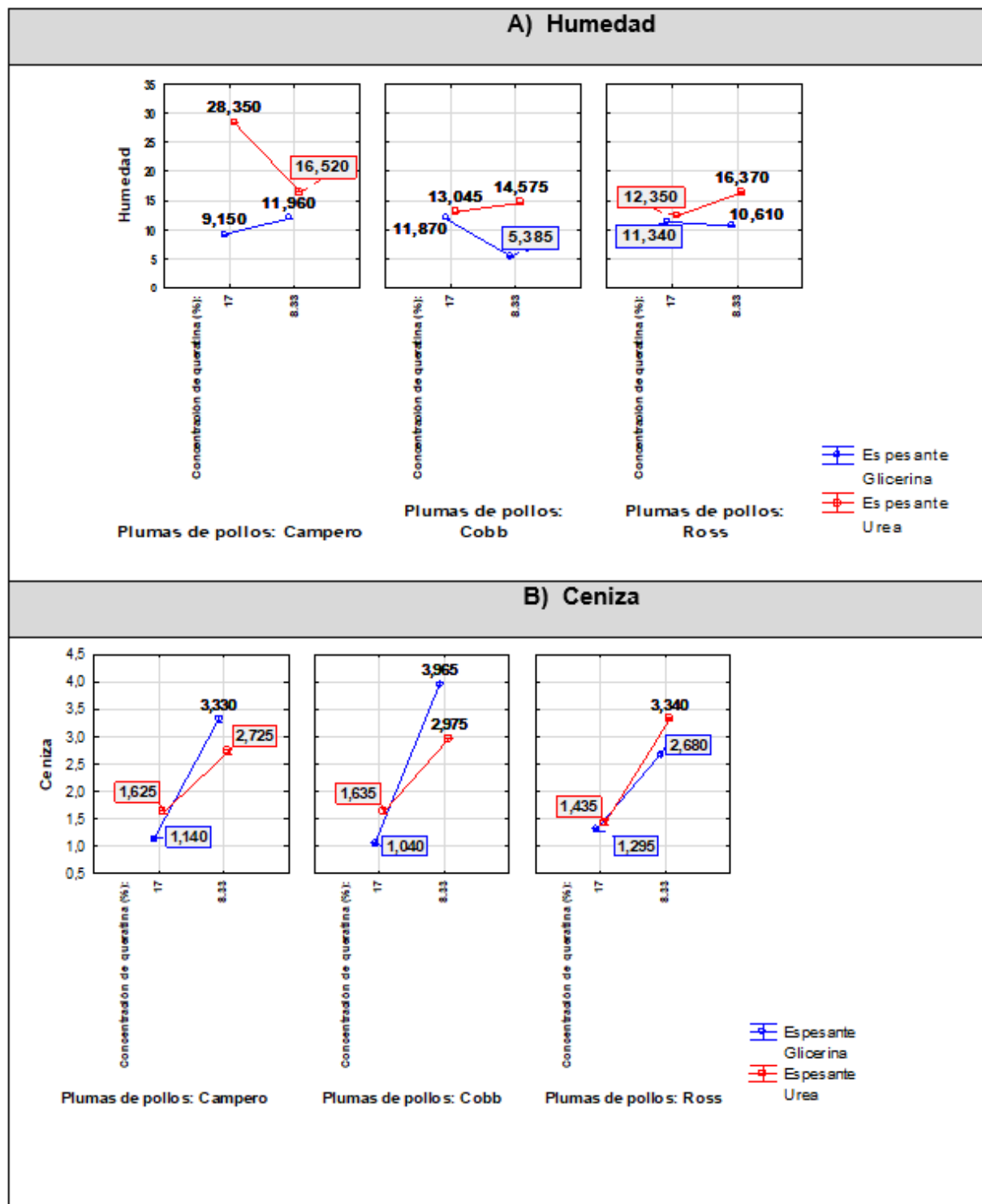
Tabla 45

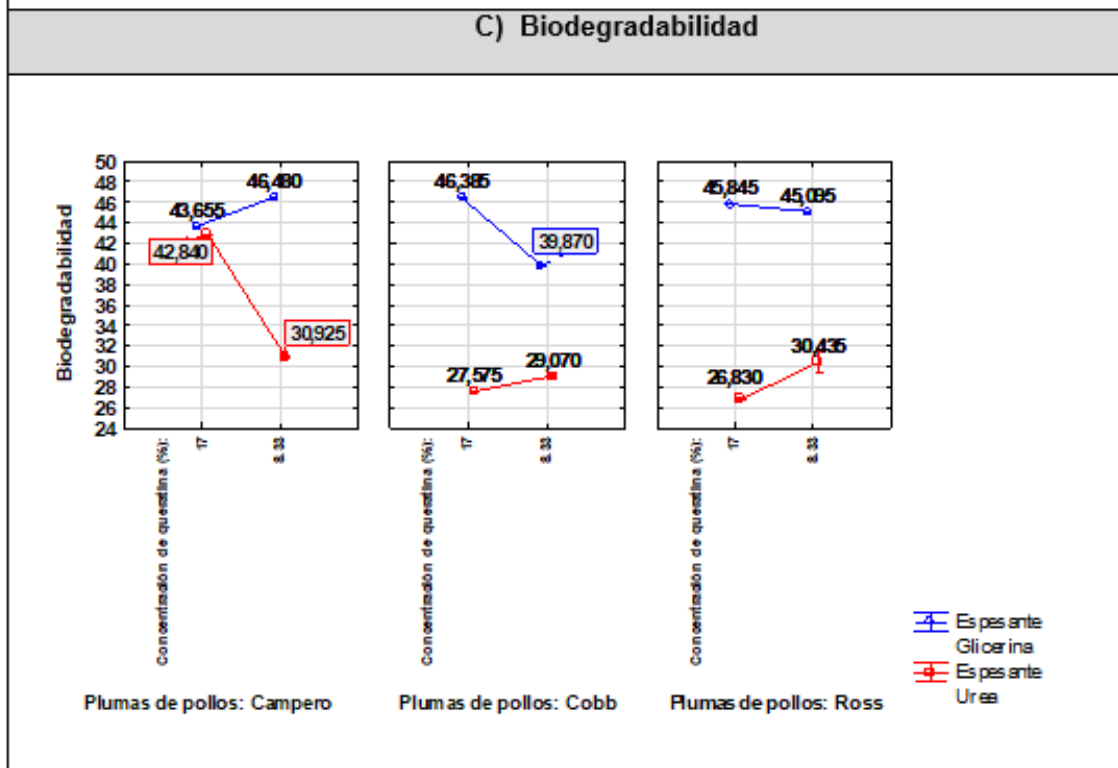
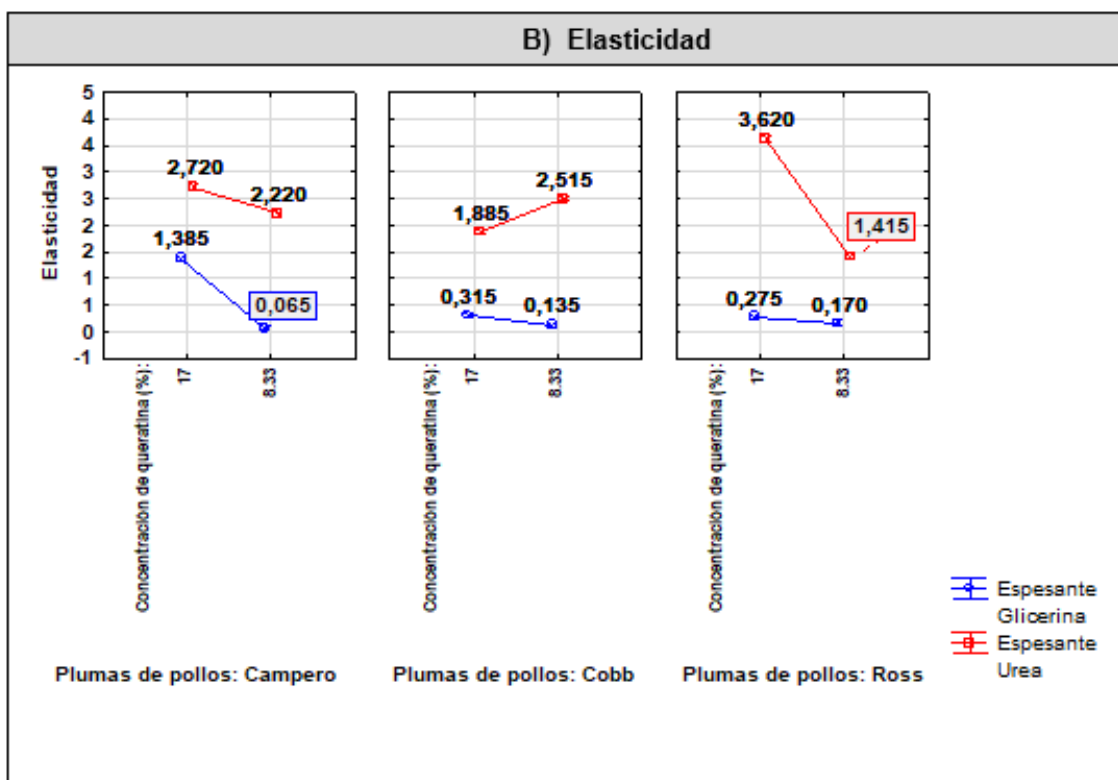
Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor ABC).

Interacciones	Humedad	Geniza	Elasticidad	Biodegradabilidad
A0B0C0: Campero + 8,33% + Glicerina	11,96 ^F	3,33 ^I	0,06 ^A	46,48 ^K
A0B0C1: Campero + 8,33% + Urea	16,52 ^K	2,73 ^G	2,22 ^F	30,93 ^E
A0B1C0: Campero + 17% + Glicerina	9,15 ^B	1,14 ^B	1,39 ^D	43,66 ^H
A0B1C1: Campero + 17% + Urea	28,35 ^L	1,63 ^E	2,72 ^H	42,84 ^G
A1B0C0: Cobb + 8,33% + Glicerina	5,39 ^A	3,97 ^J	0,14 ^B	39,87 ^F
A1B0C1: Cobb + 8,33% + Urea	14,58 ^I	2,98 ^H	2,52 ^G	29,07 ^C
A1B1C0: Cobb + 17% + Glicerina	11,87 ^E	3,92 ^A	0,32 ^C	46,39 ^K
A1B1C1: Cobb + 17% + Urea	13,05 ^H	1,64 ^E	1,89 ^E	27,58 ^B
A2B0C0: Ross + 8,33% + Glicerina	10,61 ^C	2,68 ^F	0,17 ^B	45,10 ^I
A2B0C1: Ross + 8,33% + Urea	16,37 ^J	3,34 ^I	1,42 ^D	30,44 ^D
A2B1C0: Ross + 17% + Glicerina	11,34 ^D	1,30 ^C	0,28 ^C	45,85 ^J
A2B1C1: Ross + 17% + Urea	12,35 ^G	1,44 ^D	3,62 ^I	26,83 ^A

Figura 13

Prueba de significación de Tukey para Interacciones (Factor AXBXC)





En la figura 13A en la prueba de significación de Tukey para Interacciones (ABC) (tabla 45). En humedad se observa el valor más bajo en el Grupo A: Cobb + 8,33% + Glicerina (5,39%), mostrando que estos valores son menores a, Grupo B: Campero + 17% + Glicerina (9,15%), Grupo C: Ross + 8,33% + Glicerina (10,61), Grupo D: Ross + 17% + Glicerina (11,34%), Grupo E: Cobb + 17% + Glicerina (11,87%), Grupo F: Campero + 8,33% + Glicerina (11,96%), Grupo G: Ross + 17% + Urea (12,35%), Grupo H: Cobb + 17% + Urea (13,05), Grupo I: Cobb + 8,33% + Urea (14,58), Grupo J: Ross + 8,33% + Urea (16,37%), Grupo K: Campero + 8,33% + Urea (16,52%) siendo los valores más altos los del Grupo L: Campero + 17% + Urea (28,35%).

En la figura 13B, en ceniza, se aprecia que el Grupo A: Cobb + 17% + Glicerina (3,92), obtuvo valores menores con respecto a los demás grupos presentes; el Grupo B: Campero + 17% + Glicerina (1,14%), Grupo C: Ross + 17% + Glicerina, (1,30%), Grupo D: Ross + 17% + Urea (1,44%), Grupo E: Cobb + 17% + Urea (1,64%), Grupo F: Ross + 8,33% + Glicerina (2,68%), Grupo G: Campero + 8,33% + Urea (2,73%), Grupo H: Cobb + 8,33% + Urea (2,98%), Grupo I: Ross + 8,33% + Urea (3,34%) y Campero + 8,33% + Glicerina (3,33%), Grupo J: Cobb + 8,33% + Glicerina (3,97%).

En la figura 13C, en elasticidad se muestran valores más bajos en el Grupo A: Campero + 8,33% + Glicerina (0,06), Grupo B: Cobb + 8,33% + Glicerina (0,14) y Ross + 8,33% + Glicerina (0,17), Grupo C: Cobb + 17% + Glicerina (0,32) y Ross + 17% + Glicerina (0,28), Grupo D: Campero + 17% + Glicerina (1,39), Ross + 8,33% + Urea (1,42), Grupo E: Cobb + 17% + Urea (1,89), Grupo F: Campero + 8,33% + Urea (2,22), Grupo G: Cobb + 8,33% + Urea (2,52), Grupo H: Campero + 17% + Urea (2,72) y Grupo I: Ross + 17% + Urea (3,62).

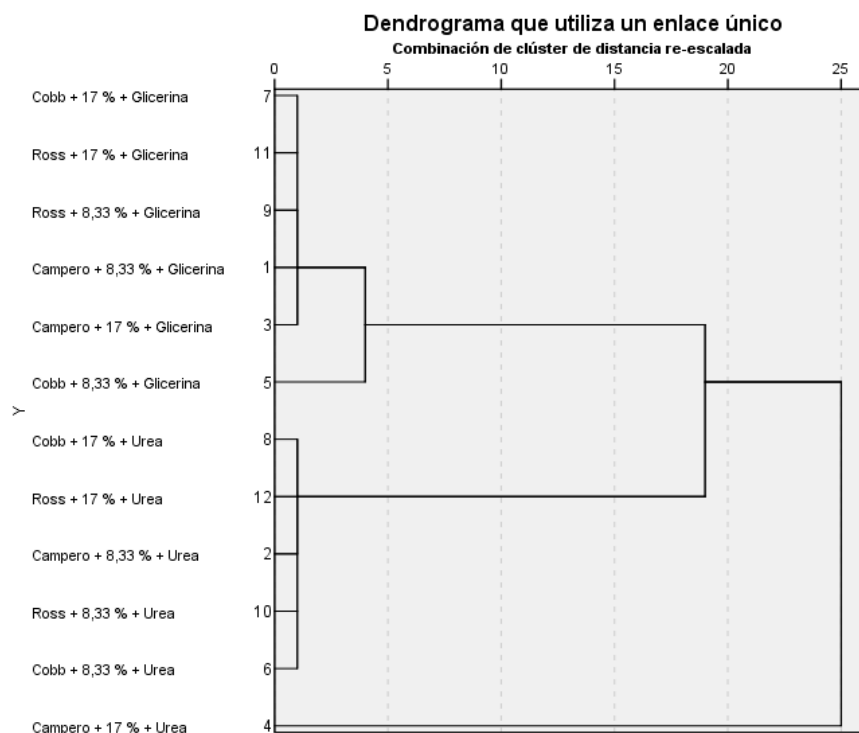
En la figura 13D, en biodegradabilidad con respecto al Grupo A: Ross + 17% + Urea (26,83) se encuentran los tratamientos con menos % de biodegradabilidad, en el Grupo B:

Cobb + 17% + Urea (27,58), Grupo C: Cobb + 8,33% + Urea (29,07), Grupo D: Ross + 8,33% + Urea (30,44), Grupo E: Campero + 8,33% + Urea (30,93), Grupo F: Cobb + 8,33% + Glicerina (39,87). A partir del grupo G hasta el grupo K, presentan mayores porcentajes de biodegradabilidad, demostrándose en Grupo G: Campero + 17% + Urea (42,84%), Grupo H: Campero + 17% + Glicerina (43,66%), Grupo I: Ross + 8,33% + Glicerina (45,10%), Grupo J: Ross + 17% + Glicerina (45,85%), Grupo k: Campero + 8,33% + Glicerina (46,48%) y Cobb + 17% + Glicerina (46,39%).

Resultados de análisis de conglomeraciones

Figura 14

Dendrograma de análisis de conglomeraciones



Nota. Dendrograma de clústeres (conglomerados) en los que se pueden agrupar los distintos tratamientos aplicados.

La figura 14 muestra los conglomerados obtenidos a partir de similitudes entre las variables estudiadas (Tipos de plumas de pollo, Concentración de queratina y Tipo de espesante), apreciándose dos grupos, el primero con los valores más cercanos entre los tratamientos Cobb+ 17%+ Urea con Ross+ 17%+ Urea, Campero+ 8,33%+ Urea, Ross+ 8,33%+ Urea, Cobb+ 8,33%+ Urea; mientras que el tratamiento Campero + 17%+ Urea, muestra menos similitud al resto de tratamientos.

Análisis de componentes principales

Tabla 46

Matriz de correlaciones entre las variables estudiadas para el bioplástico.

		Humedad	Ceniza	Elasticidad	Biodegradabilidad
Correlación	Humedad	1,000	-,171	,546	-,134
	Ceniza	-,171	1,000	-,256	-,155
	Elasticidad	,546	-,256	1,000	-,733
	Biodegradabilidad	-,134	-,155	-,733	1,000

La tabla 46 muestra la matriz de correlación entre las variables estudiadas del bioplástico, demostrando correlación de 0,546 entre la humedad y la elasticidad.

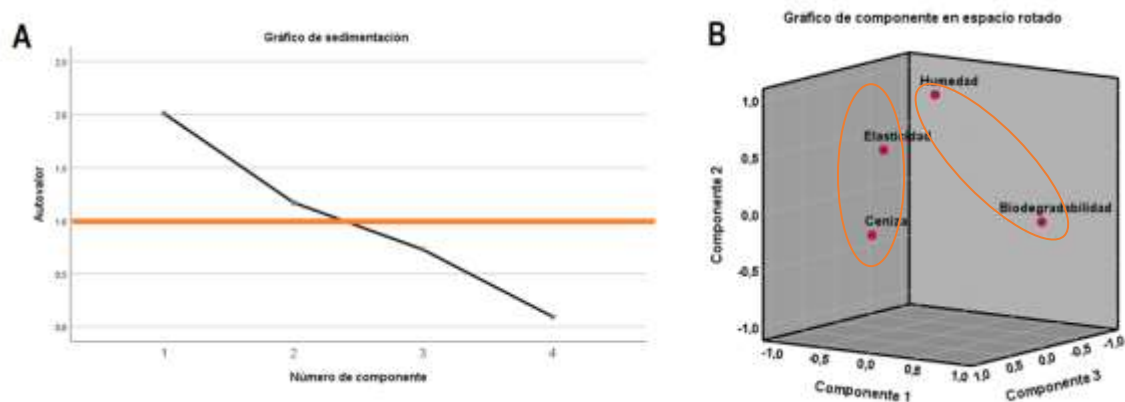
Tabla 47*Análisis de componentes principales*

Componente	Autovalores iniciales			Sumas de cargas al cuadrado de la extracción			Sumas de cargas al cuadrado de la rotación		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
	1	2,010	50,243	50,243	2,010	50,243	50,243	1,579	39,479
2	1,170	29,248	79,491	1,170	29,248	79,491	1,154	28,849	68,328
3	,726	18,158	97,649	,726	18,158	97,649	1,062	26,539	94,866
4	,094	2,351	100,000	,094	2,351	100,000	,205	5,134	100,000

La tabla 47 correspondiente al análisis de componentes principales, indica que existe mayor variabilidad en dos componentes (humedad y ceniza), para explicar en conjunto los resultados obtenidos que solo con las variables individuales, lo que se corresponde también en el gráfico de sedimentación en la figura 15A y al gráfico de componentes de la figura 15B. De este modo, las variables se pueden agrupar en dos conjuntos, primero (elasticidad y ceniza) y segundo (humedad y biodegradabilidad).

Figura 15

Criterios de representación gráfica del análisis de componentes principales para el bioplástico



En la figura 15A, se muestra Gráfico de sedimentación. Criterio gráfico donde se visualizan los autovalores de los componentes obtenidos. Autovalores mayores que 1 (línea naranja) indican que hay una ganancia al utilizar dicho factor, es decir, es útil y representa el número de variables que ocupa para el análisis.

En cambio, en la figura 15B se muestra el gráfico de espacio rotado que representa la relación de los variables en los componentes, se visualizan dos componentes en los ejes x, y. Dentro del primer componente se encuentran las variables de humedad y biodegradabilidad, mientras que en el segundo componente se encuentra la ceniza y elasticidad.

Capítulo V

Discusión

Daroit & Brandelli (2014), Qiu et al. (2020), mencionan que, por lo general, se conoce que las queratinasas son proteasas obtenidas principalmente por enzimas queratinolíticas, estas son producidas tanto por bacterias como por hongos. En este caso, los *Bacillus* sp. tienen la capacidad de producirlas. Estas queratinasas tienen la función de alterar la estructura de queratina debido a que desestabiliza sus enlaces disulfuro, por lo cual, al usar desechos queratinosos como un sustrato de fermentación con el uso de microorganismos genera un manejo eficiente de desechos permitiendo una factible hidrólisis enzimática. En consecuencia, al realizar una fermentación sumergida con bacterias queratinolíticas, estas generaran en el medio valores de pH neutros a alcalinos en un rango de 7.5 – 9, concordando con los valores de pH obtenidos en la fermentación en un lapso de siete días, la fermentación empleando plumas de pollo Cobb tuvo un pH de 7,66 y Ross con un pH de 7,53, demostrando resultados alentadores ante la hidrólisis enzimática de las plumas para obtener queratina de las plumas de pollo.

Según Sobucki et al. (2017) en su investigación, al sexto día de fermentación hubo un máximo de producción de proteasas capaces de degradar las plumas de pollo, pero al pasar el sexto día, la producción de proteasas (queratinasas) fue disminuyendo, por consiguiente, esto permitió obtener mayor hidrolizado de queratina. Esto a su vez concuerda con la interacción del tratamiento campero + medio 1 + 7 días, en el cual se consiguió mayor cantidad de proteína. Por otra parte, al realizar la curva de calibración y obtener la fórmula de la pendiente se puede determinar que la absorbancia con la concentración de proteína es directamente proporcional; es decir que, a mayor absorbancia (biomasa), mayor será la concentración de proteína.

Vázquez-Jorge et al. (2014), menciona que la prueba de identificación de proteína Biuret se torna de color violeta al reaccionar con la muestra, debido a que reconoce uniones peptídicas, correspondiente a la formación de complejos de coordinación entre los cationes cúpricos en un medio alcalino con las uniones peptídicas. Mientras que, ante la prueba de ninhidrina, el reactivo actúa con muestras que presenten al menos un grupo amino y uno carboxilo libre, manifestándose como resultado positivo la aparición de un color violeta o amarillo. Esto explica que, en ambas pruebas realizadas, las muestras tomaron una coloración violácea.

Análisis estadístico queratina

Tipos de plumas (Factor A)

En este factor, entre las plumas de tres razas de pollo se determinó que, las plumas de pollo raza Cobb tuvieron mayor pH (7,66); mientras que la raza Ross tuvo una mayor absorbancia (0,041) y la raza Campero tuvo mayor proteína (3,09).

En este caso Muñoz Calle & Pintado Gómez (2016), Zhiñin Guerrero (2019), mencionan que la alimentación del pollo campero es más natural y menos intensiva; favoreciendo en sí al crecimiento lento del ave, por ende, tiene mayor rusticidad y su carne es más firme. Por otra parte Mora Ulloa (2012), menciona que su origen genético es diferente al pollo broiler (Cobb y Ross); es decir, al ser un ave mucho más rustica, puede ser criada en sistemas semi-intensivos, como en galpones con acceso a patios que permitan realizar una alimentación balanceada a base de granos. Por ende, el pollo Broiler (Cobb y Ross), se crían en total confinamiento o en galpones en condiciones adecuadas de alimentación, sanidad y manejo con el fin de permitir expresar su potencial genético. Esto nos da a comprender la dificultad de molienda de las plumas campero y a su vez, la obtención de mayor cantidad de proteína, debido a que esta ave no se enfoca en expresar su potencial genético.

Sharma et al. (2022), menciona que el crecimiento bacteriano con *Bacillus velezensis* en las plumas genera un cambio en el pH de 7 a 9,5, al momento de realizarse la hidrólisis enzimática, esto concuerda con los resultados obtenidos al usar *Bacillus* sp., obteniéndose valores de pH entre 7,21 – 7,53.

Medios de fermentación (Factor B)

En cuanto a los medios de fermentación, se debe tener en cuenta que, lo único que varía es el porcentaje del extracto de levadura; es decir, el medio 1 extracto de levadura al 0,1%, mientras que, el medio 2 extracto de levadura al 0,5%. En este caso, según NEOGEN (2019), se debe considerar que el extracto de levadura estimula el crecimiento bacteriano, debido a que es una fuente de nitrógeno orgánico.

En este caso, se apreció que el medio 1 refiere mayor absorbancia y cantidad de proteína; es decir, obtuvo una concentración de 3,87 mg/mL; mientras que, el medio 2 tuvo un pH de 7,48 y una densidad mayor en comparación al medio 1.

Según Sharma et al. (2022), la actividad de queratinasas producidas por microorganismos mantienen un amplio rango de trabajo con respecto al pH, el cual puede ser de 7 – 11, haciendo referencia en su investigación que, el pH óptimo para producir queratinasas, a través de *Bacillus velezensis*, es de 10.

Con respecto al pH, Catalina & Zorro (2018), mencionan que, a través de un procedimiento queratinolítico, el pH se encuentra por encima de 7, debido a que permite aumentar la producción de enzimas queratinasas.

Shavandi et al. (2017), hace referencia a las condiciones máximas de degradación de plumas por *Bacillus subtilis*, donde es a 40 °C, a un pH de 11, durante 7 días. Demostrando que, la hidrólisis enzimática realizada se encuentra en el rango óptimo de pH para el medio 1.

Tiempo de fermentación (Factor C)

Según Catalina & Zorro (2018), mencionan que, el tiempo de fermentación, para este caso realizado por algunos días, dependerá de la eficacia del microorganismo para producir la enzima. En este caso, se apreció que la fermentación en el día 14 tuvo menores concentraciones de proteínas, con un total de 1,7 mg/mL; mientras que, en el día 7, tuvo un total de 2,84 mg/mL.

Del efecto de la Interacción ABC

En el caso de la interacción en el grupo J (campero+ medio 1+ 7 días de fermentación), se obtuvo mejor producción de queratina (proteína), mientras que el grupo A (campero+ medio 2+ 7 días) se obtuvo una menor cantidad.

Sharma et al. (2022), menciona en su investigación que, a través del método de Bradford a 570 nm, se obtuvo mayor cantidad de proteína soluble entre los días 3 – 4 de fermentación, siendo de 83,985 mg/mL. Esto se puede comparar con la concentración de proteína obtenida a través de la prueba de Biuret a 540 nm, la cual fue de 11,05 mg/mL, correspondiente a la iteración del tratamiento de plumas de pollo campero + en medio 1 + 7 días. Por otra parte, también menciona que, la degradación completa de la queratina en plumas de pollo variará, a partir del 1 a 6 días, debido a que, a menor tiempo, mejor será su hidrólisis. De tal manera que, en su investigación, la degradación de queratina tuvo una mayor eficiencia en 4 días, concordando con la cantidad de proteína obtenida al día 7, siendo mayor que la del día 14.

Análisis estadístico bioplástico

De acuerdo con Shavandi et al. (2017), una película pura de queratina es demasiado frágil y quebradiza, por lo que, es necesario la adición de un plastificante (glicerol), a diferentes

concentraciones de este reactivo, lo que aumenta la capacidad de solubilización y degradabilidad. Esto trae algunas limitaciones, debido a que el glicerol puede lixiviarse de la película, en una solución acuosa y liberarse. Esto concuerda con los resultados obtenidos en la elaboración del bioplástico, ya que la muestra obtenida era muy flexible, pero a su vez, tenía una apariencia húmeda, después del secado; siendo casi imposible despegar el bioplástico del envase donde se encontraba.

Por otra parte, Charro (2015), menciona que, en la mezcla del almidón con un plastificante, se tiende a formar un almidón termoplástico; por lo cual, esta plastificación se logra a través de un plastificante adecuado, mediante la aplicación de calor y agitación continua, para tener una fase fundida homogénea, con el fin de lograr un grado de gelatinización. Esta gelatinización dependerá del contenido y del tipo de plastificante. De tal manera que, se debe considerar escoger un plastificante adecuado para obtener un prototipo ideal del bioplástico.

Para la aplicación de espesantes, se debe tener en cuenta las propiedades de estos. De acuerdo con Daniella & García (2019), el glicerol es soluble en agua, etanol, acetona y acetato de etilo, mientras que la urea es soluble en metanol, éter dietílico e insoluble con n-octanol; por lo cual, al ser usado como plastificante, reduce o disminuye la retrogradación del producto final. Esto se puede apreciar al momento de colocar el bioplástico bajo a tierra, lo cual, los prototipos que tenían glicerol en su composición tenían mayor biodegradabilidad. A través de la Norma ASTM D5488 --- 944, se comprende por biodegradabilidad como la capacidad de un material para descomponerse en metano, dióxido de carbono, agua y compuestos orgánicos o biomasa. Esta descomposición ocurre a través de una acción enzimática de microorganismos (Meneses et al., 2007).

Tipos de plumas (Factor A)

De acuerdo con Abril (2020), las queratinas que se obtienen de plumas de aves de corral empleando la hidrólisis, como método de obtención, forman una solución líquida, siendo este un material idóneo para la elaboración de bioplástico. En este caso de estudio, se emplearon tres tipos de raza de pollo como fuente de plumas para la obtención de bioplástico, considerando que, las variables de humedad, elasticidad y biodegradabilidad fueron altas, en el grupo que emplean las plumas de pollo campero, presentando un porcentaje de humedad del 16,50%, elasticidad del 1,60% y biodegradabilidad del 40,98%; mientras que en el grupo del pollo Cobb tuvo un valor de ceniza 2,40.

Al comparar los resultados del bioplástico obtenidos por Abril (2020), se obtuvo un mejor tratamiento utilizando 10% de queratina junto con 17% de glicerina, con una elasticidad del 39%; se puede deducir en base a los resultados obtenidos de elasticidad de 1,60% con la raza de pollo campero que, variar la raza o especie de ave como fuente de plumas para la obtención de la queratina que se emplea en el bioplástico, influye significativamente en la elasticidad del bioplástico obtenido, así como otros factores.

Concentración de queratina (Factor B)

De acuerdo con Mokrejš et al. (2017), al añadir 2% de hidrolizado de queratina, a la base de una pomada, aumenta el 23% de la hidratación; esto debido al potencial cosmético y dermatológico del hidrolizado de queratina. En comparación a los resultados de nuestro análisis, variando las concentraciones de queratina como agregado al bioplástico podemos destacar que, a una concentración de queratina de 8,33%, la humedad del bioplástico es de 12,57% y, a una concentración de 17% la humedad es de 14,35%; por ende, no se encuentra similitud entre los resultados obtenidos por Mokrejš et al. (2017), y nuestros ensayos. Esto debido a que el producto al que se aplica el concentrado de queratina es distinto y por ello, existen varios factores que generan una variación en el porcentaje de humedad del producto.

Espesante (Factor C)

De acuerdo con el análisis de humedad, al variar el tipo de espesante en los tratamientos, se obtuvo una humedad de 10,05% con glicerina como espesante y 16,87% con urea. A comparación de los resultados de Surya et al. (2021), obtuvieron $1,4 \pm 0,33$ % de contenido de humedad, al aplicar glicerol como espesante en sus tratamientos, considerando que sus bioplásticos fueron caracterizados a través de residuos de peces marinos; mostrando resultados similares en cuanto al porcentaje de humedad obtenidos en nuestros ensayos. De acuerdo con Lee et al. (2013), el glicerol, por naturaleza, es higroscópico, lo que facilita el almacenamiento de agua. Además Oluwasina et al. (2019), mencionan que, los bioplásticos empleados en envasado de alimentos no deberían presentar absorción de humedad, para evitar el deterioro de los alimentos. Por ende, los bioplásticos con porcentajes de humedad reducidos se considerarían recomendables para esta aplicación. En base a lo antes mencionado y considerando que el porcentaje de humedad de la urea es de 16,87%, es mayor que el presentado por la glicerina y los obtenidos por Surya et al. (2021), Teniendo en cuenta la recomendación de Oluwasina et al. (2019), la urea como espesante, en base a su porcentaje de humedad, no es recomendable para elaboración de bioplásticos empleados en envasado de alimentos, pese a ello, se podría considerar su aplicación dependiendo la funcionalidad final que se le pretenda otorgar al bioplástico.

Según Shavandi et al. (2017), la urea previene la recristalización del almidón, al ser usada como plastificante, pero a su vez los cristales de urea se tienden a separar, haciendo que el termoplástico sea rígido y frágil; mientras que, al usar glicerol, se forman enlaces de hidrogeno con el almidón, proporcionando mayor tenacidad y resistencia.

Interacción (Factor ABC)

Las variables más importantes fueron la biodegradabilidad y elasticidad. En el caso de la biodegradabilidad, dentro del grupo K se encontraron dos tratamientos que presentaron

valores mayores. Estos tratamientos fueron Campero + 8,33% + glicerina, con un valor de 46,48, y Cobb + 17% de queratina + glicerina, con un valor de 46,39. En el caso de elasticidad, solo el grupo I (Ross + 17% de queratina + urea) obtuvo un valor mayor de elasticidad, y el grupo H (campero + 17% +urea).

Según Villada et al. (2008), la interacción entre el almidón con plastificantes no acuosos, ya sea como compuestos nitrogenados, polialcoholes o ácido cítrico, disminuyen la absorción del agua en el almidón, causando que el material se vuelva frágil. Mientras que Shavandi et al. (2017), menciona que, la urea, como desnaturizante de proteínas, se ha utilizado para aumentar la solubilidad de la queratina en agua. Por ende, esto se puede relacionar ante el porcentaje de humedad obtenido en los bioplásticos que contenían como espesante la urea.

Capítulo VI

Conclusión

Queratina hidrolizada

Tipos de plumas (Factor A)

El tipo de pluma de pollo empleado como base para la obtención de queratina influye en la cantidad de queratina hidrolizada en el proceso de fermentación enzimática, esto se pudo corroborar en los resultados de la prueba de significancia de Tukey para los tipos de plumas de pollo empleados, en cuanto a este factor, al aplicar las variables del pH, absorbancia y cantidad de proteína en los tres tipos de plumas se comprobó diferencias entre sí, siendo el tipo de pluma Cobb el que presenta valores más alto de pH (7,66), el tipo de pluma Ross muestra mayores valores de absorbancia (0,041) mientras que el tipo de pluma Campero presenta el valor más alto de proteína obtenida (3,09 %). Además, se apreció que la densidad de los tres tipos de plumas es significativamente igual.

En base a lo antes mencionado y sabiendo que se busca la obtención de la queratina en el proyecto se concluye que el tipo de pluma Campero es la más adecuada en base a su alto rendimiento de producción de proteína (queratina).

Medios de fermentación (Factor B)

Los medios de fermentación empleado como base para la obtención de queratina influyen en la cantidad de queratina hidrolizada, siendo el medio 1 el que presentó valores más altos de absorbancia y cantidad de proteína mientras que el medio 2 presentó mayor valor de densidad. En cuanto a la variación de pH de los medios no se apreció diferencia significativa entre ellos.

Por ende, se determina que el medio de fermentación 2 a base de Solución de sal mineral + extracto de levadura 0,5% es el más eficiente en cuanto a la cantidad de queratina obtenida.

Tiempo de fermentación (Factor C)

El tiempo que demora la fermentación enzimática es un factor de gran relevancia a considerar para obtener un alto rendimiento en la obtención de queratina, en base a las variables medidas se concluye que la fermentación de 7 días presenta un pH menos básico (7.05), una mayor absorbancia (0.040) y una mayor cantidad de proteína obtenida (2.84 %) siendo resultados favorables para el estudio. En cuanto a la densidad no se apreció diferencia significativa a mayor tiempo de fermentación.

Interacción (Factor ABC)

De las interacciones de los factores aplicados para la obtención de queratina se encontraron cinco grupos significativos en la variable de pH los cuales entran en el rango 7 - 8.5 para la obtención de queratinas, siendo el grupo A el que presenta valores menos básicos de pH más cercanos al neutro (7.00).

En la variable de absorbancia y cantidad de proteína se presentaron ocho grupos significativos entre los tratamientos aplicados, siendo el grupo J el que presenta mayor absorbancia y cantidad de proteína con valores de 0.076 y 11.05% respectivamente, ambos correspondientes al primer tratamiento (interacción: Campero + Medio 1 + 7 días).

En cuanto a densidad se encontraron cinco grupos significativos en las interacciones, para esta variable los valores ideales corresponden a un rango de 1.15 – 1.20 que se aprecian en los grupos C y D.

Bioplástico

Tipos de plumas (Factor A)

De acuerdo con la prueba de significancia de Tukey se determinó que la pluma de raza Cobb la que presentó menor humedad (11,22%), en cuanto a cenizas, la pluma de raza Ross obtuvo menor cantidad de cenizas (materia orgánica) con un valor de 2,19%, mientras que para los parámetros de elasticidad y biodegradabilidad se obtuvieron los valores más altos con la pluma de raza Campero con 1,60 y 40,98 respectivamente.

Concentración de queratina (Factor B)

De acuerdo con las variables de humedad, cenizas, elasticidad y biodegradabilidad la concentración de queratina óptima para la elaboración de bioplástico es emplear un agregado de 17% de queratina dado que fue el % de queratina que obtuvo mejores resultados en cuanto a elasticidad (1,70) y biodegradabilidad (38,86), así mismo se obtuvo mayor cantidad de humedad (14,35), pero se diferenció en tener menor cantidad de ceniza (1,36).

Espesante (Factor C)

La aplicación de urea como espesante presentó mejor elasticidad (2,40) en el bioplástico, sin embargo, la adición de glicerina presentó mayor biodegradabilidad (44,56) del bioplástico. En cuanto a los parámetros de humedad y ceniza, la glicerina obtuvo los valores más bajos 10,55% y 2,24% respectivamente.

Interacción (Factor ABC)

En base a la interacción de los tratamientos aplicados durante el estudio. En el caso de la variable humedad se encontraron 11 grupos significativos. En la variable ceniza se presentaron 10 grupos significativos. En la variable de elasticidad se presentaron 9 grupos significativos, siendo el mejor tratamiento la combinación de pluma de raza Ross con 17% de proteína y adición de urea ya que presentó una elasticidad de 3,62. En cuanto a la variable de

biodegradabilidad los mejores tratamientos se presentaron con las combinaciones de Campero + 8,33% + Glicerina y Cobb + 17% + Glicerina obteniéndose 46,48% y 46,36% respectivamente.

Capítulo VII

Recomendaciones

Teniendo en consideración los resultados al variar el tipo de raza de pollo como fuente de plumas y sabiendo que se busca la obtención de la queratina (proteína) de pollos; se recomienda emplear las plumas de pollo de raza campero dado que se determinó que esta raza posee un alto rendimiento de producción de proteína.

En consecuencia, de la variación de concentración de extracto de levadura en el medio de fermentación empleado, se recomienda emplear Solución de sal mineral + extracto de levadura 0,5%, dado que esta formulación de medio fue la más eficiente en cuanto a la cantidad de queratina obtenida.

Conociendo que el tiempo de fermentación enzimática es un factor de gran relevancia a considerar para obtener un alto rendimiento de queratina y en base a los resultados obtenidos se recomienda realizar la fermentación en 7 días, dado que el aumentar el tiempo de este proceso no produce resultados favorables en cuanto al rendimiento.

En base a los resultados obtenidos, se recomienda en la elaboración de bioplástico emplear un agregado de 17% de queratina dado que fue el % de queratina que obtuvo mejores resultados en cuanto a propiedades de elasticidad (1,70) y biodegradabilidad (38,86),

Además, en base de la funcionalidad que se le pretenda dar al bioplástico se recomienda considerar la elección del espesante, dado que en base a los resultados el usar urea como espesante otorga mayor elasticidad al bioplástico en comparación a la glicerina. Sin embargo, si se busca mayor biodegradabilidad del biopolímero se recomienda el uso de glicerina como espesante.

Capítulo VIII

Bibliografía

- Abril, A. (2020). *Elaboración de bioplástico de queratina obtenida de residuos de plumas de aves de corral y quitosano* [Trabajo de titulación]. Universidad de las Américas.
- Benítez, R., Ibarz, A., Pagan, J., Bioquímica, A., & Latinoamericana, C. (2008). Química Biológica Actualización Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 42(2), 227–263.
- Bernhart, M., & Fasina, O. O. (2009). Moisture effect on the storage, handling and flow properties of poultry litter. *Waste Management*, 29(4), 1392–1398.
<https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2008.09.005>
- Bhattacharjee, M. J., Yu, C.-P., Lin, J.-J., Ng, C. S., Wang, T.-Y., Lin, H.-H., & Li, W.-H. (2016). Regulatory Divergence among Beta-Keratin Genes during Bird Evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 33(11), 2769–2780. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw165>
- Bujahico Huertas, G. K., & Flor Tipiana, D. J. (2021). *Queratina extraída de plumas de pollo y almidón obtenido de Ipomoea batatas fortificado con mucílago de Opuntia ficus-indica para la obtención de bioplástico* [Tesis]. Universidad César Vallejo.
- Catalina, P., & Zorro, R. (2018). *Evaluación de diferentes cepas queratinolíticas en la hidrólisis de plumas de pollo* [Tesis]. Universidad Nacional de Colombia.
- Charro, M. (2015). *Obtención de plástico biodegradable a partir de almidón de patata*. Universidad Central del Ecuador.
- Daniella, K., & García, O. (2019). *Producción de almidón de la arracacha (Arracacia Xanthorrhiza) para la obtención de un biopolímero de probable aplicación industrial*. Universidad de Pamplona.

- Daroit, D. J., & Brandelli, A. (2014). A current assessment on the production of bacterial keratinases. *Critical Reviews in Biotechnology*, 34(4), 372–384.
<https://doi.org/10.3109/07388551.2013.794768>
- Demera Velásquez, L. F., & Meza Andrade, K. R. (2021). *Obtención de biopolímero evaluando el almidón de dos variedades de malanga, blanca (Colocasia esculenta (L.) Schoot) y morada (Xanthosoma sagittifolium (L.) Schoot & Endl), dos espesantes y relación agua-almidón para la producción de empaques biodegradables* [Trabajo de titulación]. Universidad de las Fuerzas Armadas.
- Farhad Ali, Md., Sahadat Hossain, Md., Siddike Moin, T., Ahmed, S., & Sarwaruddin Chowdhury, A. M. (2021). Utilization of waste chicken feather for the preparation of eco-friendly and sustainable composite. *Cleaner Engineering and Technology*, 4, 100190.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100190>
- Florida Rofner, N. (2019). Plumas: Implicancia ambiental y uso en la industria agropecuaria. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 21(3), 225–237. <https://doi.org/10.18271/ria.2019.480>
- Galarza, J. C., David Ortíz, H., Catalina, C., & Morales, T. (2016). Manejo de desechos orgánicos y cumplimiento de la normativa legal ambiental en las avícolas de la provincia de Tungurahua. *Revista digital de Medio Ambiente "Ojeando la agenda"*, 44.
- González Meléndez, R. C., Cuevas, B. E., Cortés Cruz, M. E., & Orduña Sánchez, M. (2020). *Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Greenwold, M. J., Bao, W., Jarvis, E. D., Hu, H., Li, C., Gilbert, M. T. P., Zhang, G., & Sawyer, R. H. (2014). Dynamic evolution of the alpha (α) and beta (β) keratins has accompanied

- integument diversification and the adaptation of birds into novel lifestyles. *BMC Evolutionary Biology*, 14(1), 249. <https://doi.org/10.1186/s12862-014-0249-1>
- Kakonke, G., Tesfaye, T., Sithole, B., & Ntunka, M. (2020). Production and characterization of cotton-chicken feather fibres blended absorbent fabrics. *Journal of Cleaner Production*, 243, 118508. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118508>
- Khosa, M. A., Wu, J., & Ullah, A. (2013). Chemical modification, characterization, and application of chicken feathers as novel biosorbents. *RSC Advances*, 3(43), 20800–20810. <https://doi.org/10.1039/c3ra43787f>
- Lee, R., Pranata, M., Ustunol, Z., & Almenar, E. (2013). Influence of glycerol and water activity on the properties of compressed egg white-based bioplastics. *Journal of Food Engineering*, 118(1), 132–140. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.03.031>
- Lin, P.-Y., Huang, P.-Y., Lee, Y.-C., & Ng, C. S. (2022). Analysis and comparison of protein secondary structures in the rachis of avian flight feathers. *PeerJ*, 10. <https://doi.org/10.7717/peerj.12919>
- Lingham-Soliar, T. (2017). Microstructural tissue-engineering in the rachis and barbs of bird feathers. *Scientific Reports*, 7(1), 45162. <https://doi.org/10.1038/srep45162>
- Mazotto, A. M., Coelho, R. R. R., Cedrola, S. M. L., de Lima, M. F., Couri, S., Paraguai De Souza, E., & Vermelho, A. B. (2011). Keratinase production by three *Bacillus* spp. using feather meal and whole feather as substrate in a submerged fermentation. *Enzyme Research*, 2011(1). <https://doi.org/10.4061/2011/523780>
- Meneses, J., Corrales, C. M., & Valencia, M. (2007). Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista EIA*, 8, 57–67.

- Mokrejš, P., Hutřa, M., Pavlačková, J., & Egner, P. (2017). Preparation of keratin hydrolysate from chicken feathers and its application in cosmetics. *Journal of Visualized Experiments*, 2017(129). <https://doi.org/10.3791/56254>
- Mora Ulloa, Á. G. (2012). *Evaluación de los sistemas de alimentación semi-intensivo e intensivo del pollo campero para la zona interandina de Ecuador* [Tesis]. Universidad Católica.
- Muñoz calle, J. M., & Pintado Gómez, J. S. (2016). *Evaluación de pollos camperos en producción intensiva y semi-intensiva con suplementación de extracto de quillaja y residuos de hortalizas*. Universidad de Cuenca.
- NEOGEN. (2019). *Technical Specification Sheet Yeast Extract (NCM0218)*. www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalytical
- Oluwasina, O. O., Olaleye, F. K., Olusegun, S. J., Oluwasina, O. O., & Mohallem, N. D. S. (2019). Influence of oxidized starch on physicochemical, thermal properties, and atomic force micrographs of cassava starch bioplastic film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 282–293. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.150>
- Qiu, J., Wilkens, C., Barrett, K., & Meyer, A. S. (2020). Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function. *Biotechnology Advances*, 44, 107607. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107607>
- Quintero-Curvelo, G. A., Huertas-Díaz, W. A., & Ortega-David, E. (2017). Procesamiento de plumas de pollo para la obtención de queratina. *UGCiencia*, 23, 81–87. <https://doi.org/10.18634/ugcj.23v.0i.767>
- Ramakrishnan, N., Sharma, S., Gupta, A., & Alashwal, B. Y. (2018). Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization. *International Journal of Biological*

Macromolecules, 111, 352–358.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.037>

Robalino, H. (2016). *Propuesta de mejora en el funcionamiento de autoclaves para el aumento de producción de harina de plumas de pollo en la fabrica harinera chalen ubicada km 25 vía Guayaquil - Comuna Rio Verde, Cantón Santa Elena, provincia Santa Elena.*

Universidad estatal península de Santa Elena.

Romero Rojas, R. A. (2017). *Caracterización bromatológica y microbiológica de la harina con base en cáscaras de cacao (Theobroma cacao L.), para la elaboración de galletas* [Proyecto de investigación]. Universidad técnica estatal de Quevedo.

Sernaqué, A., Mogollón, L., Pecho, H., & Chacón, E. (2020). Biodegradabilidad de los bioplásticos elaborados a partir de cáscaras de Mangifera indica y Musa paradisiaca. *Centro de Investigaciones Agropecuarias*, 47(4), 22–31. <http://cagricola.uclv.edu.cu>

Sharma, I., Pranaw, K., Soni, H., Rawat, H. K., & Kango, N. (2022). Parametrically optimized feather degradation by *Bacillus velezensis* NCIM 5802 and delineation of keratin hydrolysis by multi-scale analysis for poultry waste management. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21351-9>

Shavandi, A., Silva, T. H., Bekhit, A. A., & Bekhit, A. E. D. A. (2017). Keratin: Dissolution, extraction and biomedical application. En *Biomaterials Science* (Vol. 5, Número 9, pp. 1699–1735). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c7bm00411g>

Singh, R., Sharma, R., Shaqib, M., Sarkar, A., & Chauhan, K. D. (2021). Biodegradable polymers as packaging materials. En S. Thomas, S. Gopi, & A. Amalraj (Eds.), *Biopolymers and their Industrial Applications* (pp. 245–259). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819240-5.00010-9>

- Sobucki, L., Ramos, R. F., & Daroit, D. J. (2017). Protease production by the keratinolytic *Bacillus* sp. CL18 through feather bioprocessing. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(29), 23125–23132. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9876-6>
- Suárez, O. (2017). *Obtención de queratina a partir de cabello humano para la formulación de un producto cosmético* [Trabajo de titulación]. Universidad Central del Ecuador.
- Surya, P., Arumugam, S., & Nithin, A. (2021). Eco-Friendly Preparation and Characterization of Bioplastic Films from Marine Fish Wastes. *Research square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-982850/v1>
- Tesfaye, T., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2017). Valorisation of chicken feathers: a review on recycling and recovery route—current status and future prospects. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(10), 2363–2378. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1443-9>
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D., & Chunilall, V. (2017). Valorisation of chicken feathers: Application in paper production. *Journal of Cleaner Production*, 164, 1324–1331. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.034>
- Timberlake, K. (2013). *Química general, orgánica y biológica: estructuras de la vida* (Pearson Educación).
- Vázquez, A., Espinosa, R., Beltrán, M., & Velasco Pérez, M. (2021). *Bioplásticos y plásticos degradables*.
- Vázquez-Jorge, Y., Guerra-Molina, L., Quintana-Tamayo, J., Ramírez-Arzuaga, J., Fernando-Ballester, R., & Vázquez-Jorge, Y. (2014). Caracterización físicoquímica y contenido de proteínas de extractos fluidos del ostión de mangle (*Crassostrea rizophorae*). *Revista cubana de química*, XXVI, 66.

Villada, H. S., Acosta, H. A., & Velasco, R. J. (2008). Investigación de Almidones Termoplásticos, Precursores de Productos Biodegradables. En *Información Tecnológica* (Vol. 19, Número 2). www.mater-bi.com],

Zhiñin Guerrero, M. B. (2019). *Crianza de pollos camperos para el mejoramiento de la economía familiar en zona urbano marginal*. [Trabajo de Titulación]. Universidad Técnica de Babahoyo.