

# **ESTUDIO DE COLÁGENO Y GELATINA COMO POTENCIALES MATERIAS PRIMAS PARA INGENIERÍA TISULAR**

**Víctor Manuel Perez-Puyana\*, José Fernando Rubio-Valle, Antonio Guerrero, Alberto Romero**

*Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sevilla, Sevilla.*

E-mail de correspondencia: [vperez11@us.es](mailto:vperez11@us.es)

## **Resumen**

La Ingeniería de Tejidos es una disciplina biomédica que consta de tres elementos principales: células, factores de crecimiento y andamios. Para la elaboración de los andamios hay que considerar tanto el proceso de fabricación como las características de la materia prima utilizada. Dentro de este contexto, el objetivo principal de este trabajo fue la caracterización fisicoquímica de diferentes materias primas (concentrados proteicos de gelatina y colágeno tipo I) que se usan normalmente para la elaboración de andamios. Así, se evaluó desde su punto isoelectrónico hasta su composición química y aminoacídica. Los resultados demostraron que las proteínas analizadas presentan un alto contenido proteico (superior al 80% en peso), con un contenido aminoacídico típico de colágeno, presentando potenciales cualidades para su uso en la elaboración de andamios.

## **1. Introducción**

El campo de la ingeniería de tejidos (IT) ha crecido exponencialmente debido a las posibles soluciones presentadas para la recuperación y regeneración de tejidos (Zohora y Azim, 2014). Uno de los elementos más estudiados en IT es el andamio, que es la estructura tridimensional en la que las células se insertan con factores de crecimiento para desarrollar su crecimiento y diferenciación. Las propiedades de los andamios dependen de la materia prima utilizada para su elaboración.

Los polisacáridos (quitosano, alginato, agarosa, etc.) y proteínas (colágeno, gelatina, fibrina, fibronectina, etc.) son los biopolímeros más utilizados para el desarrollo de andamios (Perez-Puyana, Rubio-Valle, Jiménez-Rosado, Guerrero, y Romero, 2020) derived from the fabrication of hydrogels and freeze-drying. The scaffolds were produced with 1 wt% of two different biopolymers, i.e. gelatin (GE. Entre ellos, el colágeno es uno de los polímeros más utilizados para la fabricación de andamios.

La estructura básica del colágeno es similar para todos ellos, basada en 3 cadenas poliméricas que forman una triple hélice (Perez-Puyana, Romero, y Guerrero, 2016).

Por todo eso, el objetivo principal de este estudio es la caracterización fisicoquímica de concentrados de proteína de colágeno tipo I de diferentes fuentes (cerdo y pescado) como potenciales materias primas de andamios para IT.

## **2. Materiales y métodos**

### ***2.1. Materiales***

Se utilizaron concentrados de proteína de colágeno y gelatina de dos fuentes diferentes, respectivamente: cerdo (HI95 y T95) y pescado. Los dos primeros fueron suministrados por Essentia Protein Solutions (Dinamarca), mientras que el colágeno de pescado fue suministrado por Henan Boom Gelatin Co. Ltd (China).

### ***2.2. Caracterización de los concentrados proteicos***

#### ***Composición química***

Cuantificación de proteínas: el contenido de proteínas se determinó utilizando un microanalizador LECO CHNS-932 (Leco Corporation, EE. UU.).

Cuantificación de lípidos: se utilizó el método Soxhlet para cuantificar el contenido de lípidos. En el presente estudio, consistió en calentar y volatilizar un solvente (hexano) a 80 °C y, posteriormente, condensar el disolvente para ponerlo en contacto con el colágeno (durante 4 h). El contenido de lípidos se calculó con la diferencia del peso inicial y final tras realizar el método Soxhlet.

Cuantificación de cenizas: Primero, se calcinaron 2 g de CG a 550 °C en un horno de mufla durante 4-5 h. El contenido de cenizas se calculó a partir de la diferencia en peso del aislado de proteína antes y después del tratamiento.

#### ***Solubilidad proteica***

La solubilidad de la proteína se determinó a diferentes valores de pH. Se prepararon dispersiones acuosas (aproximadamente 1 g de proteína / 40 ml) con tampones a diferentes valores de pH. Las muestras se homogeneizaron y posteriormente se centrifugaron durante 20 min a 15000 rpm y 10 °C. Los sobrenadantes se recogieron para medir el contenido de proteínas por el método de Markwell (Markwell, Haas, Bieber, y Tolbert, 1978).

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Estudio de la composición

La composición química de las proteínas de colágeno se resume en la **Tabla 1**. Curiosamente, las tres muestras mostraron un contenido proteico superior al 90 %. Por lo tanto, la composición química del colágeno obtenido de la materia prima de cerdo (cerdo HI95 y cerdo T95) fue similar al colágeno de pescado. El resto hasta completar el 100% corresponde a la humedad de las muestras.

**Tabla 2.** Composición química de los colágenos estudiados.

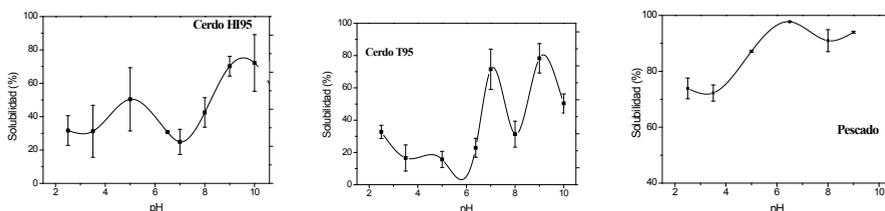
Proteína Origen	PROTEÍNAS (%)	LÍPIDOS (%)	CENIZAS (%)
Cerdo (HI95)	94,2 $\alpha$	0,7A	0,3a
Cerdo (T95)	90,4 $\beta$	0,8A	0,7b
Pescado	97,9 $\alpha$	0,6A	0,3a

**Fuente:** elaboración propia.

Nota: Letras diferentes corresponden a valores significativamente diferentes.

#### 3.2 Solubilidad proteica

Los valores de solubilidad de proteínas para los concentrados de proteínas de colágeno en función del pH se muestran en la Figura 1.



**Figura 2.** Solubilidad proteica de las materias primas analizadas en función del pH.

**Fuente:** elaboración propia.

La solubilidad de colágeno alcanzó un máximo de aproximadamente un 80% para proteínas de colágeno de cerdo, presentando una mayor solubilidad a un valor de pH básico. Los perfiles obtenidos fueron similares, con un gran aumento en la solubilidad más allá del pH 7 y un mínimo en el rango de pH 5-7. Sin embargo, el colágeno de pescado presentó la mayor solubilidad en todo el rango de pH, alcanzando los valores máximos (aproximadamente 95%) a pH básico al igual que los otros.

#### 4. Conclusiones

Como conclusión general, la caracterización de las diferentes proteínas de colágeno tipo I revela altos contenidos en proteínas, obteniendo valores de concentración de más del 90% para las proteínas de pescado y cerdo (HI95 y T95) en base seca. Además, la solubilidad de la proteína alcanza un máximo del 80% en condiciones básicas para la proteína de cerdo, mientras que el colágeno de pescado presenta un máximo de aprox. 100% observando una disminución a pH 8 debido a la presencia de proteínas miofibrilares en la composición.

#### Agradecimientos

Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por MICINN (RTI2018-097100-B-C21). Los autores agradecen su apoyo financiero. A su vez, los autores agradecen la beca predoctoral de Víctor Manuel Pérez Puyana (VPPI-US).

#### Referencias bibliográficas

- Markwell, M. A. K., Haas, S. M., Bieber, L. L., y Tolbert, N. E.** (1978). A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Analytical Biochemistry*, 87(1), 206–210. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90586-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90586-9)
- Perez-Puyana, V., Romero, A., y Guerrero, A.** (2016). Influence of collagen concentration and glutaraldehyde on collagen-based scaffold properties. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 104(A), 1462–1468. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35671>
- Perez-Puyana, V., Rubio-Valle, J. F., Jiménez-Rosado, M., Guerrero, A., y Romero, A.** (2020). Alternative processing methods of hybrid porous scaffolds based on gelatin and chitosan. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 102, 103472. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103472>
- Zohora, F. T., y Azim, A. Y. M. A.** (2014). Biomaterials As Porous Scaffolds for Tissue Engineering Applications: a Review. *European Scientific Journal*, 10(21), 186–209. <https://ejournal.org/index.php/esj/article/view/3853>