

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

DATOS INFORMATIVOS

Proyecto Interno Proyecto Semilla Proyecto Junior Proyecto Multi e Interdisciplinario

Título del proyecto:
Análisis de la toxicidad de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas obtenidos a partir de los subproductos en la industria agropecuaria

Investigación básica Investigación aplicada Investigación pedagógica Innovación

DEPARTAMENTO(S):

1. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA
2. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS NUCLEARES

LÍNEA(S) DE INVESTIGACIÓN (verificable en el SAEW):

1. Propiedades de los alimentos (330920)
2. Síntesis orgánica no convencional

Resumen de información del director y colaboradores del proyecto		
<u>Director</u>		
Apellidos y nombres	Departamento	Título de mayor nivel (Ing., M.Sc., Ph.D)
MOSQUERA JORDÁN	DECAB	Ph.D.
MAURICIO ESTEBAN		
<u>Colaborador(es)</u>		
Apellidos y nombres	Departamento	Título de mayor nivel Ing., M.Sc., Ph.D)
ÁVILA VELEZ JENNY	DECAB	M.Sc..
MARCELA		
SINCHE SIERRA MARCO	DEMEX	M.Sc.
VINICIO		

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Proyecto Interno Proyecto Semilla Proyecto Junior Proyecto Multi e Inter Disciplinario

Investigación Básica Investigación Aplicada Investigación Pedagógica Innovación

DEPARTAMENTO(S):

1. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA
2. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS NUCLEARES

LINEA(S) DE INVESTIGACIÓN:

1. Propiedades de los alimentos (330920)
2. Síntesis orgánica no convencional

1 Proyecto de Investigación

Título: ANÁLISIS DE LA TOXICIDAD DE HIDROLIZADOS PEPTÍDICOS CON ACTIVIDADES BIOLÓGICAS OBTENIDOS A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AGROPECUARIA

Resumen del proyecto (máximo 200 palabras)

Los modelos animales aplicados al estudio de toxicidad han sido usados durante años, en pruebas de nuevos ingredientes alimentarios, pero principalmente en la caracterización y desarrollo de productos farmacéuticos, sin embargo, actualmente se va optado por métodos que no empleen mamíferos, entre los que se puede mencionar al pez cebrá y nemátodos. El presente trabajo tiene como objetivo, evaluar la toxicidad ocasionada por péptidos bioactivos, realizando bioensayos en embriones de pez cebrá (*Danio rerio*) y nemátodos (*Caenorhabditis elegans*). El proyecto iniciará con la obtención de hidrolizados peptídicos a partir de subproductos agropecuarios, tales como plumas, cabezas y patas de pollo, suero de leche, torta de soya, torta de palmiste y polvillo de arroz. Posterior a la hidrólisis enzimática se realizará un fraccionamiento mediante diafiltración, con membranas de corte de 100, 50, 10 y 3 KDa. En las fracciones obtenidas, se realizarán análisis de toxicidad. Para el ensayo en embriones del pez cebrá se incubarán embriones y se evaluarán diferentes concentraciones de las fracciones peptídicas. En cuanto al ensayo en nemátodos se sincronizará el estadio de los organismos y se evaluarán diferentes concentraciones de las fracciones peptídicas para el posterior análisis de los microorganismos al microscopio. Finalmente, en las fracciones peptídicas que presenten mayor actividad biológica y menor toxicidad, se realizarán digestiones "in vitro" para conocer la resistencia de los productos obtenidos, a la digestión.

Palabras clave (4-6): Compuestos bioactivos, gelatina, hidrolizados peptídicos, ácidos grasos



2	<p>Objetivos, relevancia, productos y resultados esperados de esta propuesta de investigación</p> <p>2.1 Objetivos</p> <p>2.1.1 Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none">• Analizar la toxicidad de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas obtenidos a partir de subproductos de la industria agropecuaria. <p>2.1.2 Objetivos Específicos</p> <ol style="list-style-type: none">a) Determinar las condiciones óptimas para la obtención de hidrolizados peptídicos a partir de subproductos agropecuariosb) Analizar las actividades biológicas de los hidrolizados peptídicos (antioxidante, antihipertensiva, antimicrobiana)c) Fraccionar los hidrolizados peptídicos mediante membranas de corte de diferentes tamaños moleculares, con el fin de determinar las fracciones que presenten las mayores actividadesd) Analizar en las fracciones obtenidas, el nivel de toxicidad mediante modelos "in vivo" <p>Definir el cambio de actividad de las fracciones con actividades biológicas, tras un proceso de digestión "in vitro"</p> <p>2.2 Detalle de los resultados esperados (con relación a los objetivos)</p> <ol style="list-style-type: none">a) Obtener fracciones peptídicas con actividades biológicas (antioxidante, antihipertensiva, antimicrobiana) a partir de subproductos agropecuarios.b) Determinar los niveles de toxicidad de las fracciones peptídicas obtenidas, mediante el uso de dos modelos "in vivo"c) Los resultados de este Proyecto contribuirán a entender de mejor forma la importancia de las hidrólisis proteicas en la obtención de productos con nuevas características nutricionalesd) Los resultados del Proyecto contribuirán a definir una metodología, para analizar la posible toxicidad de nuevos productos, que puedan ser consumidos por la población														
3	<p>Relevancia de la propuesta de investigación y su relación con la(s) líneas de investigación</p> <p>El presente proyecto de investigación se enmarca dentro de alimentos funcionales, sin embargo, marca una nueva línea de trabajo dentro del Departamento, incorporando técnicas de determinación de toxicidad, que aportarán a determinar la inocuidad de nuevos productos o sustancias en el organismo humano.</p>														
4	<p>Productos esperados</p> <table><tr><td>a. Publicaciones científicas (obligatorio);</td><td><input checked="" type="checkbox"/></td></tr><tr><td>b. Disertación a la Comunidad Politécnica;</td><td><input type="checkbox"/></td></tr><tr><td>c. Proyecto de Titulación;</td><td><input checked="" type="checkbox"/></td></tr><tr><td>d. Tesis de Grado (maestría o doctorado);</td><td><input checked="" type="checkbox"/></td></tr><tr><td>e. Aplicación tecnológica construida o implementada;</td><td><input type="checkbox"/></td></tr><tr><td>f. Patente presentada;</td><td><input type="checkbox"/></td></tr><tr><td>g. Perfil de proyecto de mayor impacto científico, técnico, pedagógico o de innovación.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr></table>	a. Publicaciones científicas (obligatorio);	<input checked="" type="checkbox"/>	b. Disertación a la Comunidad Politécnica;	<input type="checkbox"/>	c. Proyecto de Titulación;	<input checked="" type="checkbox"/>	d. Tesis de Grado (maestría o doctorado);	<input checked="" type="checkbox"/>	e. Aplicación tecnológica construida o implementada;	<input type="checkbox"/>	f. Patente presentada;	<input type="checkbox"/>	g. Perfil de proyecto de mayor impacto científico, técnico, pedagógico o de innovación.	<input type="checkbox"/>
a. Publicaciones científicas (obligatorio);	<input checked="" type="checkbox"/>														
b. Disertación a la Comunidad Politécnica;	<input type="checkbox"/>														
c. Proyecto de Titulación;	<input checked="" type="checkbox"/>														
d. Tesis de Grado (maestría o doctorado);	<input checked="" type="checkbox"/>														
e. Aplicación tecnológica construida o implementada;	<input type="checkbox"/>														
f. Patente presentada;	<input type="checkbox"/>														
g. Perfil de proyecto de mayor impacto científico, técnico, pedagógico o de innovación.	<input type="checkbox"/>														



5	Descripción y metodología y diseño del proyecto
----------	--



6.1 Descripción, metodología y diseño del proyecto (Máximo dos carillas)

- Descripción del proyecto

• INTRODUCCIÓN. ESTADO DEL ARTE

En los últimos años, el uso de modelos animales ha ido incrementado, principalmente en el área de farmacología (Barrio et al., 2015); sin embargo, debido a la polémica generada en torno al uso de mamíferos se ha descartado a los roedores como principales individuos de experimentación, optando por otros modelos animales (Etheridge, 2010). En el Ecuador aún persiste el uso de mamíferos en estudios de toxicidad, aunque se tiende a reducir el número de animales a utilizar, debido a que representa menor costo de los ensayos (Rubio, 2013). El pez cebrá (*Danio rerio*), se ha transformado en los últimos años en uno de los modelos biológicos con alta importancia, al igual que el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (Berry et al., 2007); esto se debe a que los resultados obtenidos por medio de modelos animales son más eficientes en cuanto a tiempo y costo en comparación a los realizados de manera in vitro, reemplazando además a otros modelos animales como los roedores (Moreno, 2013). Sin embargo, a pesar de que ambos modelos animales son relativamente nuevos, se ha realizado un mayor número de estudios en pez cebrá (Cayuela, Alcaraz y Angelín, 2012). Entre los estudios realizados se puede mencionar el estudio de nuevos fármacos e ingredientes funcionales, estudios nutricionales y en acuicultura (Pérez y Danitza, 2011), aplicación de nuevas tecnologías de genómica y proteómica (Rocha, Ruiz, Estepa y Coll, 2011), alimentación humana, entre otros (Rocha, Ruiz y Coll, 2002). En la industria agroalimentaria se hace énfasis a los estudios de toxicidad referentes a residuos de plaguicidas en los alimentos, así como también de estudios comparativos de biofertilizantes (Moreno, 2013). Mientras que en nemátodos, se han realizado estudios enfocados a la recuperación ambiental, análisis de toxicidad en agua (Kronberg et al., 2014), desarrollo y funcionamiento de neuronas, análisis de genoma, entre otros (Navarro, 2003). Es posible el uso de peces cebrá para este tipo de análisis debido a que tiene aproximadamente el 70% de similitud genética con los humanos, y puede llegar al 80% cuando se trata de genes.

La actividad agropecuaria, al igual que cualquier actividad humana, produce restos y residuos (Álvarez et al., 2012). La producción avícola genera subproductos, tales como plumas, vísceras, y órganos como cabezas y patas de animales sacrificados que son considerados como productos de escaso interés comercial y precios muy bajos. Por lo cual es necesario encontrar alternativas de aprovechamiento que proporcionen un valor agregado a los mismos (Almeida et al., 2012). Las patas de pollo son el 4% del peso de pollo y su composición tiene un 20% de colágeno, el cual puede ser utilizado en la obtención de gelatina (Certad & Pérez, 2001). Las plumas crudas, por su parte, contienen un 71,19% de proteína que también puede ser aprovechada (A. De Dios, 1996). Las cabezas de pollos, junto a las patas y plumas son residuos que se podrían utilizar para nuevos productos que les den un valor más noble y mayor valor comercial (Almeida et al., 2012). El suero de leche es también subproducto de la producción lechera, al cual en la actualidad se lo ha aprovechado efectivamente en la elaboración de productos por sus propiedades funcionales y su alto contenido de nutrientes. (Marshall, 2004; Madureira 2007). Entre los componentes del suero, el de mayor importancia son las proteínas ya que sus propiedades y aplicaciones pueden beneficiar en la nutrición infantil hasta la de ancianos (Rojas, Ruiz, 2014). El interés de la industria en este subproducto se encuentra en elaborar nuevos productos con componentes bioactivos específicos. (Mendes, 2011). La mayoría de desechos agrícolas se caracterizan por poseer un alto contenido de proteína y energía. Ya sea subproductos de la producción de aceite como de la soya y la palma africana o subproductos de molinería como el polvillo de arroz (Cuadrado, 2008; Gallardo, Gaggiotti, 2003).

La hidrólisis enzimática de diferentes tejidos obtenidos a partir de los residuos, dan lugar a la obtención de péptidos con una potencial actividad biológica, lo cuales pueden ser entendidos como agentes nutraceuticos per se, o bien pueden ser incluidos en la formulación de alimentos funcionales. El estudio de péptidos con función bioactiva a partir de diversas fuentes proteicas como: leche, ciertos vegetales, huevos, entre otros, ha alcanzado relevancia en investigaciones nacionales e internacionales (Philanto-Leppälä, 2000, Miguel et al., 2004, Jauhiainen et al. 2007, Pedroche et al. 2007).

Es preciso evaluar la concentración de toxinas en proteínas hidrolizadas para no sobrepasar la dosis letal en caso de que éstas sean utilizadas para elaborar productos de interés industrial. En los últimos años, la toxicología relacionada con los alimentos ha tomado gran importancia. Los productos alimenticios tóxicos pueden provocar desde leves malestares hasta casos fatales (Valle, Vega, 2000).

PLANTEAMIENTO DEL PROYECTO

- El proyecto plantea el análisis de la toxicidad de fracciones de hidrolizados proteicos, con propiedades antioxidantes, antihipertensivas (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II [ACE]) y antimicrobianas, obtenidos a partir del aprovechamiento de subproductos agropecuarios, tales como cabezas, patas de pollo, plumas, torta de soya, polvillo de arroz y torta de palmiste.



METODOLOGÍA Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Para el análisis de la toxicidad de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas, se iniciará con el aprovechamiento de subproductos agropecuarios, tales como patas, cabezas y plumas de pollo, suero de leche, tortas de soya y de palmiste y polvillo de arroz, los mismos que son utilizados en su mayoría para la elaboración de alimentos balanceados para la cría de animales. A partir de estos subproductos se obtendrán dichos hidrolizados proteicos.

1. Determinar las condiciones óptimas para la obtención de hidrolizados peptídicos a partir de subproductos agropecuarios

Los hidrolizados peptídicos se obtendrán mediante el uso de diferentes enzimas, tales como pepsina (pepsina de mucosa estomacal porcina, Sigma-Aldrich), Alcalasa (proteasa de *Bacillus licheniformis*, Sigma-Aldrich), Tripsina (Sigma-Aldrich), Bromelina (Obtenida a partir de corazones de piña *Ananas comosus*) con el fin de obtener péptidos de diferentes tamaños moleculares. La especificidad de la proteasa afecta no sólo el tamaño, sino también la cantidad y la secuencia de aminoácidos de los péptidos, que a su vez influye en la actividad de los hidrolizados (Chen *et al.*, 1995; Jeon *et al.*, 1999; Wu *et al.*, 2003).

2. Analizar las actividades biológicas de los hidrolizados peptídicos (antioxidante, antihipertensiva, antimicrobiana)

En los diferentes hidrolizados proteicos obtenidos, se analizará en cada uno de ellos su actividad antioxidante, antihipertensiva y antimicrobiana. La actividad antioxidante se analizará mediante el método de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazol-6-sulfónico) descrito por Re *et al.* (1999). La actividad antihipertensiva se determinará mediante la capacidad de las muestras para inhibir la enzima ACE. La actividad inhibidora de la ACE se evaluará por medio de cromatografía líquida alta resolución en fase reversa (RP-HPLC), utilizando una columna C18, según el método descrito por Wu, Aluko y Muir (2002). La actividad antimicrobiana de las fracciones peptídicas se realizará de acuerdo al método descrito por Gómez-Guillén *et al.* (2010).

3. Fraccionar los hidrolizados peptídicos mediante membranas de corte de diferentes tamaños moleculares, con el fin de determinar las fracciones que presenten las mayores actividades

Existe evidencia de que las actividades biológicas están fuertemente influenciadas por el tamaño de los péptidos, así como su sitio de corte (Jung *et al.*, 2006; Li-Chan *et al.*, 2012). En cada uno de los hidrolizados obtenidos, se realizará un proceso de diafiltración, a través de membranas de corte (Amicon ultra-15) de 3, 10, 50 y 100 KDa, con el fin de analizar en las diferentes fracciones peptídicas las actividades biológicas presentes en los péptidos.

4. Analizar en las fracciones obtenidas, el nivel de toxicidad mediante modelos "in vivo"

En cada fracción obtenida se procederá a analizar el nivel de toxicidad en 2 modelos "in vivo". El primer análisis se lo realizará en el nematodo *Caenorhabditis elegans* mediante el método descrito por Wu *et al.*, (2012) con sus materiales y métodos. Un segundo ensayo de toxicidad se realizará en embriones de peces cebrá (*Danio rerio*), siguiendo el método descrito por Massarsky *et al.*, (2014) con sus materiales y métodos. Con estos análisis se pretende analizar la dosis letal de las fracciones peptídicas en los embriones de ambos organismos, y conocer si son potencialmente seguras para el consumo humano.

5. Definir el cambio de actividad de las fracciones con actividades biológicas, tras un proceso de digestión "in vitro"

En las fracciones peptídicas que presenten mayores actividades biológicas y además tengan los niveles más bajos de toxicidad, se realizará una digestión "in vitro", de acuerdo al método descrito por Herregods *et al.*, (2011) con sus materiales y métodos. Al producto de la digestión, se le realizará un nuevo análisis de actividad (antioxidante, antihipertensiva, antimicrobiana) con el fin de compararla con la actividad de la fracción antes de la digestión, y conocer de este modo, si los péptidos podrían soportar la digestión gastrointestinal y, por ende, saber de una mejor manera, si la actividad encontrada en las fracciones, puede o no cumplir su efecto esperado

Referencias

- Almeida, P., Salles, J., Farías, T., Santana, J., (2012). Aprovechamiento de patas de pollo como alternativa para disminuir residuos generados en los mataderos. Recuperado de: <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v23n4/art06.pdf> (Junio, 2016).
- Álvarez, J., Florido, A., Pinto, F., Rodríguez, M., Del Val, A., Yáñez M., (2012). Producción y Consumo Sostenibles y Residuos Agrarios. Estudio realizado por la Subdirección General de Residuos de la empresa Acanto Agroambiental. España. Recuperado de: http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/publicaciones/Residuos_agrarios_tcm7-232332.pdf (Junio, 2016).



- Barrio, D., Ávila, A., Solimano, P., Piñuel, L., Boeri, P., Zubillaga, F. y Canttoni, E. (2015). El pez cebra (danio rerio) como un sistema modelo para la valoración biológica de las toxinas producidas por la marea roja. *Revista Senasa*, 8 (1), 1-2.
- Berry, J., Patrick, M., Gibbs, D. y Schamale, M. (2007). The zebrafish (*Danio rerio*) embryo as model system for identification and characterization of developmental toxins from marine and freshwater microalgae. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 145 (1), 4-8.
- Cayuela, M., Alcaraz, F. y Angelín, M. (2012). El Pez Cebra, al Servicio de la Investigación en Cáncer. *Revista Eubacteria* 28 (1), 1-4.
- Certad, M., Pérez, B., (2001). Características de la Gelatina de Patas de Pollo Obtenida por un Proceso Ácido. Recuperado de: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27540/2/articulo6.pdf> (Junio, 2016).
- Chen, H. -, Muramoto, K., & Yamauchi, F. (1995). Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β -conglycinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 574-578.
- Cuadrado, L. Valoración energética de polvillo de arroz y afrecho de trigo utilizado en la alimentación de cuyes. (Tesis de Grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador. Recuperado de: dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/1659/1/17T0828.pdf (Junio, 2016).
- De Dios, A. (1996). Análisis de la transformación de pluma crudac como fuente de proteína para *panaeus vannameid*. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Nuevo Leon. México. Recuperado de: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080073226.pdf>
- Etheridge, S. (2010). Paralytic shellfish poisoning: Seafood safety and human health perspectives. *Toxicon* 56 (1), 108-122.
- Gómez-Guillén, M. C., López-Caballero, M. E., Alemán, A., López de Lacey, A., Giménez, B., & Montero, P. (2010). Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. Sea by-products as raw material: New ways of application, 89-115.
- Herregods, G., Van Camp, J., Morel, N., Ghesquière, B., Gevaert, K., Vercruyssen, L., Smaghe, G. (2011). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of gelatin hydrolysates and identification of bioactive peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2), 552-558. doi:10.1021/jf1037823
- Jeon, Y. -, Byun, H. -, & Kim, S. -. (1999). Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes. *Process Biochemistry*, 35(5), 471-478.
- Jung, W. -, Mendis, E., Je, J. -, Park, P. -, Byeng, W. S., Hyoung, C. K., Yang, K. C., & Kim, S. -. (2006). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry*, 94(1), 26-32.
- Kronberg, M., Clavijo, A., Moya, A., Heredia, O., Pagano, E. y Munarriz, E. (2014). Utilización del nemátodo *Caenorhabditis elegans* en ensayos de toxicidad de muestras de agua. Recuperado de: <http://www.ina.gov.ar/ifrh-2014/Eje2/2.19.pdf> (Junio, 2016).
- Marsall, K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine review*.
- Massarsky, A., Dupuis, L., Taylor, J., Eisa-Beygi, S., Strek, L., Trudeau, V. L., & Moon, T. W. (2013). Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development. *Chemosphere*, 92(1), 59-66.
- Mendes da Silva, L. (2011). Potential applications of whey proteins in the medical fields. En *Engineering aspects of milk and dairy products*.
- Moreno, M. (2013). Mantenimiento en el laboratorio del pez cebra (*Danio rerio*). (Tesis para obtener el grado en Biología). Universidad del País Vasco, País Vasco, España.
- Navarro, R. (2003). El nemátodo *Caenorhabditis elegans* como modelo de estudio del desarrollo. *Mensaje biológico XXVII*, 158-160.
- Pérez, L. y Danitza, C. (2011). Modificación de las condiciones de crianza y crecimiento en etapa larval y juvenil en pez cebra (*Danio rerio*). (Memoria para optar al título Profesional de Ingeniero Agrónomo Mención Producción Animal). Universidad de Chile, Santiago, Chile
- Pihlanto-Leppälä, A. (2000). Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: opioid and acetylcholinesterase inhibitory peptides. *trends in Food Science & technology*, 11(9), 347-356.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.



- Rocha, A., Ruis, S. y Coll, J. (2002). Método sencillo para producir huevies embrionados de pez cebra. *Prod. Sanid. Anim.* 17 (1-2), 93-102. Recuperado de: http://www.inia.es/gcontrec/pub/rocha2_1161097533500.pdf (Junio, 2016).
- Rocha, A., Ruiz, S., Estepa, A. y Coll, J. (2011). *Biología molecular de los peces: Interés y aplicaciones.* Revista AquaTIC 15 (1). Recuperado de: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=129> (Junio, 2016).
- Rojas, M. Ruiz, J. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. Recuperado de: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2015/05/TSIA-82-Hernandez-Rojas-et-al-2014.pdf> (Junio, 2016).
- Rubio, P. (2013). Diseño y elaboración de un lipo gel antiinflamatorio de *Baccharis teindalensis* Kunt (chilca). (Tesis de grado para optar el título de Química Farmacéutica). Universidad Central del Ecuador, Quíto, Ecuador.
- Valle, P., Vega, M., (2000). *Toxicología de alimentos.* Instituto Nacional de Salud Pública. México. Recuperado de: <http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Toxicologiaderaliemnatosar.pdf> (Junio, 2016).
- Wu, H. -, Chen, H. -, & Shiau, C. -. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36(9-10), 949-957
- Wu, J., Aluko, R. E., & Muir, A. D. (2002). Improved method for direct high-performance liquid chromatography assay of angiotensin-converting enzyme-catalyzed reactions. *Journal of Chromatography A*, 950(1-2), 125-130.
- Wu, Q., Nouara, A., Li, Y., Zhang, M., Wang, W., Tang, M., ... & Wang, D. (2013). Comparison of toxicities from three metal oxide nanoparticles at environmental relevant concentrations in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 90(3), 1123-1131.



6 Tiempo de dedicación de docentes, infraestructura, equipos y fondos adicionales.

6.1 Tiempo máximo de dedicación semestral del Director del proyecto, de los docentes participantes y otros colaboradores.

El tiempo de dedicación máximo será de acuerdo al tipo de proyecto:

Proyecto	Director	Colaboradores
PII y PIS	16 HSS	8 HSS
PIJ y PIMI	20 HSS	10 HSS

Nombre	Rol (director o colaborador)	Horas de dedicación	Departamento
Mauricio Mosquera	Director	16	DECAB
Jenny Avila	Colaborador	8	DECAB
Marco Sinche	Colaborador	8	DEMEX

6.2 Infraestructura y equipos

- HPLC-ICP-MS; pHmetro, Reómetro, neveras y congeladores, laboratorios

6.3 Breve justificación del equipo requerido

- Para la realización de este proyecto se solicita una cabina de bioseguridad tipo II. Este equipo servirá para llevar a cabo todos los experimentos de manera inocua, el congelador de -80 °C ayudará a conservar las enzimas, cepas microbianas y las muestras. El liofilizador es de suma importancia para deshidratar las muestras para su conservación y posteriores análisis

6.4 Fondos Adicionales

- Otros fondos de otros organismos (si los hubiere)

7 Declaración del Director del Proyecto

Declaro que la presente propuesta es de mi autoría y de los colaboradores mencionados y que no ha sido presentada en ninguna convocatoria de otra institución pública o privada solicitando el financiamiento total del proyecto.

DIRECTOR DEL PROYECTO
 Nombre: *Mauricio Mosquera*
 CC: *1714583541*

Quito, 18 de Julio de 2016
(lugar y fecha)

DECLARACIÓN DEL JEFE DE DEPARTAMENTO

Esta propuesta ha sido aprobada por el Consejo del Departamento de DECAB....., en sesión del día 18 Julio 2016 mediante resolución No. 739. Las instalaciones, incluyendo personal, edificios, equipo y recursos financieros están a disposición del proponente y sus colaboradores de acuerdo con las especificaciones que se encuentran en esta propuesta.

JEFE DEL DEPARTAMENTO
 Nombre: *Francisco Castro*
 CC: *1709297751*

Quito, 18 de Julio de 2016
(lugar y fecha)

