

OBTENCIÓN DE COLÁGENO AMNIÓTICO SOLUBLE A PARTIR DE LAS MEMBRANAS AMNIÓTICAS DE LA PLACENTA HUMANA

Yadira Fuentes Zamora¹, Gabriel M. Coto Valdés^{1,2},
Dayamí Dorta Fernández¹

¹Centro de Histoterapia Placentaria “Dr. Miyares Cao”, La Habana, Cuba

²Escuela Latinoamericana de Medicina, La Habana, Cuba

RESUMEN

Objetivo: estandarizar la técnica de obtención de colágeno amniótico soluble, determinar los indicadores de calidad y obtener un colágeno soluble, con un mayor rendimiento a escala piloto.

Materiales y Métodos: para la obtención de colágeno amniótico soluble se utilizaron 3 kg de membrana amniótica limpia, después de realizar el siguiente procedimiento: 1) las membranas amnióticas se lavaron con agua purificada; 2) luego, éstas se separaron de las otras membranas fetales; 3) se molieron en un molino tricárnico; 4) la masa molida se lavó, con una solución de cloruro de sodio al 3 %; 5) a continuación, se lavó con ácido acético, para eliminar el material no colagenoso. 6) Después de realizar los dos lavados, se pasó a la digestión de la masa, con pepsina; 7) se precipitó el colágeno, con etanol frío al 96 %; 8) al final se centrifugó el colágeno amniótico soluble.

Resultados: las modificaciones introducidas en este trabajo incrementaron el contenido de proteínas, desde un 24 % hasta el 95,41 %, con un rendimiento de 60,32 %. Se logró la obtención de alcohol residual, un producto colateral útil para la elaboración de lociones y tónicos.

Conclusiones: la estandarización del proceso en la obtención del colágeno amniótico soluble utilizado, proporciona una materia prima que cumple los indicadores de calidad establecidos, en la elaboración de dermocosméticos, con un mayor rendimiento a escala piloto.

Palabras clave: purificación, modificaciones, pepsina, membrana amniótica, colágeno, placenta

INTRODUCCIÓN

En el Centro de Histoterapia Placentaria “Dr. Carlos Miyares Cao” se elaboran diversos medicamentos derivados de la placenta humana, útiles para el tratamiento de diferentes enfermedades, como el vitiligo, la psoriasis y la alopecia areata, entre otras. Además, se obtienen dermocosméticos eficaces para retardar el proceso de envejecimiento celular⁽¹⁾.

La Amnioterapia Cosmética se comienza a desarrollar, con éxito, por el Dr. Carlos Miyares Cao y sus colaboradores a partir de la década del 80. Este proceso novedoso se crea para revitalizar el organismo, ya que permite actuar sobre la piel a diversas sustancias bioestimulantes extraídas de la placenta humana durante un período de nueve meses, necesario para revertir la involución normal de la piel ante el avance de los años⁽²⁾. El Centro de Histoterapia Placentaria produce el colágeno amniótico soluble (CAS), a partir de la membrana amniótica (MA) de la placenta humana, con características que difieren del obtenido en otras fuentes tradicionales. El CAS logrado contiene menos contaminantes que los derivados mediante el empleo de métodos convencionales, como el obtenido a partir de la piel de los animales, las escamas y las espinas de los peces, así como el derivado de los tendones de los mamíferos, entre otros⁽³⁻⁷⁾.

Los beneficios y las aplicaciones del CAS obtenido son equivalentes al colágeno comercial, citado con anterioridad, pero su

principal característica es que la membrana seleccionada está libre de contaminantes, por ser su técnica de obtención más sencilla. Esta diferencia genera ventajas respecto al uso de menos reactivos y materias primas, así como en su tiempo de obtención y el equipamiento empleado.

En la figura 1 se muestra la membrana amniótica, después de separarla de la membrana

coriónica y lavarla con agua purificada.

El colágeno, en el organismo humano tiene la función de estructurar y dar sostén. Su uso ayuda a prevenir los signos del envejecimiento, en la piel y el cabello, entre otros. Los beneficios más importantes del colágeno radican, en sus propiedades de hidratación, como en suavizar y reafirmar la piel. Entre sus aplicaciones principales están los tratamientos para el cuidado de la piel y la prevención del envejecimiento, su papel como hidratante, su incorporación en las cremas de uso nocturno, en las soluciones o cremas faciales limpiadoras, y las utilizadas en los tratamientos capilares y

Figura 1. Membrana amniótica limpia en la etapa de preparación de la MA



acondicionadores, entre otros⁽⁸⁾.

En el presente trabajo se exponen algunas modificaciones realizadas, en el proceso de obtención del colágeno amniótico y la estandarización de los parámetros operacionales, para obtener un CAS de una calidad fisicoquímica y microbiológica superior y un rendimiento mayor.

En este centro se obtiene el CAS, a partir de las MA de las placentas humanas certificadas, a escala de laboratorio, pero para satisfacer las demandas del mercado nacional e

internacional, se necesita la obtención del mismo a una escala piloto, con un rendimiento que le permita diversificar la cartera de productos dermocosméticos ya elaborados, con anterioridad a pequeña escala, como la crema facial, la loción para después de afeitarse, el tónico facial, el jabón, el creyón labial y está en vías de proyecto, un diagnosticador de uso odontológico, que permitan ampliar el mercado a partir de esta materia prima.

Objetivo: estandarizar la técnica de obtención de colágeno amniótico soluble, determinar los indicadores de calidad y obtener un colágeno soluble, con un rendimiento mayor a escala piloto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon membranas amnióticas obtenidas de placentas humanas testadas y certificadas⁽⁹⁾. Se estudió cada etapa del proceso, para fijar algunas variables, como la velocidad de agitación, el tiempo, la temperatura, la relación del peso y el volumen necesario, en el procesamiento de las mismas.

En la obtención del CAS se desarrolló un proceso de extracción que tuvo en cuenta el escalado de este producto, con un rendimiento adecuado, sin enfrentar dificultades técnicas.

Preparación de la membrana amniótica

La preparación de la materia prima se realizó mediante las operaciones siguientes:

Se lavaron las membranas fetales, con agua cruda hasta obtener eluatos libres de sangre.

Se mantuvieron las membranas fetales durante 8 horas, en agua purificada.

Se separaron las membranas amnióticas.

Se lavaron las membranas amnióticas, con agua purificada.

Se molieron las membranas amnióticas, en un molino tricárnico.

Se mencionan los pasos de forma general, pues no fue objetivo de este trabajo, presentar la estandarización de este procedimiento.

Extracción y purificación de colágeno, para 1 kg de membrana amniótica

Mantener las MA en agitación, mediante zaranda (100 rpm), sumergidas en cloruro de sodio, para eliminar las proteínas contaminantes.

Decantar el sobrenadante obtenido.

Lavar la masa decantada, con agua purificada.

Adicionar ácido acético, mediante agitación constante a 100 rpm, a la temperatura ambiente.

Decantar el sobrenadante y adicionar al precipitado, mediante agitación constante, una solución de ácido acético y de pepsina.

Decantar y almacenar el sobrenadante (2 - 8 °C).

Añadir etanol fino clase A (2 - 8 °C).

Centrifugar a 5 000 rpm.

Conservar ambas fracciones para su uso posterior⁽¹⁰⁻¹⁵⁾.

Caracterización del colágeno amniótico soluble

La caracterización de la materia prima del colágeno se hizo en los Laboratorios de Ensayos Físicoquímicos y Microbiológicos de Control de Calidad del Centro de

Histoterapia Placentaria “Dr. Carlos Miyares Cao”, donde se solicitó la determinación de los porcentajes correspondientes a los contenidos de los sólidos totales, las cenizas, el nitrógeno, las proteínas, el pH y la densidad. Además, se le realizaron las pruebas fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas.

Diseño experimental

Se desarrolló un diseño experimental, para evaluar la etapa crítica de la obtención de CAS, la hidrólisis enzimática ácida, con pepsina y $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ⁽¹⁶⁻¹⁷⁾.

El método experimental se aplicó para la extracción del colágeno de las pieles, a partir de las MA de la placenta humana; se tomaron en cuenta las características específicas de la investigación experimental, como la manipulación de las variables independientes y el control de las variables dependientes o de respuesta. Las variables independientes correspondieron al tiempo de la hidrólisis enzimática ácida y a la temperatura; además, como variable dependiente, para el análisis del contenido de proteínas, se utilizó el método de Kjeldahl^[17]. En la elaboración del diseño experimental se empleó el diseño tipofactorial 22, mediante el software Minitab 17. Se consideraron factores relevantes, como su obtención a las temperaturas de 4 °C y 25 °C y el factor tiempo, también con dos variantes (16 y 36 horas). Para el análisis de los resultados se desarrolló el análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95 %, que incluyó la significancia estadística de cada uno de los términos del modelo ajustado (Valor P), los efectos estimados en cada término, el coeficiente de determinación del modelo (R²) y la carencia de ajuste,

con el fin de establecer la exactitud del modelo, para representar los datos experimentales. En la tabla 1, se puede apreciar el diseño factorial, con dos factores, cuatro combinaciones y tres replicas, que representaron un total de 12 corridas.

Determinación del rendimiento del proceso de extracción a escala de laboratorio

El rendimiento del proceso de obtención de colágeno representa la masa de colágeno extraído, entre la masa de las membranas amnióticas ingresadas al proceso. El cálculo se realizó según la ecuación 1.

$$\% R = M_{\text{colágeno}} / M_{\text{membranas}} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

R = rendimiento del proceso, (%)

M colágeno = masa de colágeno obtenidos, (g)

M membranas = masa de membranas amnióticas ingresadas, (g)

Tabla 1. Diseño experimenta 2² en la etapa de las hidrólisis enzimática, mediante el software Minitab 17

No.	Temperatura (°C)	Tiempo (h)
1	4	16
2	25	16
3	4	36
4	25	36
5	4	16
6	25	16
7	4	36
8	25	36
9	4	16
10	25	16
11	4	36
12	25	36

RESULTADOS

Diseño experimental

En la tabla 2, se evidencian los resultados del diseño experimental 22. A partir de los mismos, se eligieron las condiciones de la temperatura y el tiempo, donde el porcentaje de proteínas fue mayor. Se enfatizó, en el contenido de las proteínas, debido a que esta variable está influenciada por los diferentes procesos de extracción.

En el análisis de varianza (ANOVA) se corroboró que,

para los factores de la temperatura, el tiempo y la interacción de ambas variables, se detectó un efecto significativo, con respecto al contenido de proteínas (95 % de confianza), ya que sus valores P fueron menores de 0,05. El factor temperatura tuvo un efecto significativo mayor.

En la tabla 3, se presenta el

Tabla 2. Resultados del diseño experimental de la variable respuesta, según el porcentaje de proteínas obtenido, en la etapa de la hidrólisis enzimática.

No.	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Proteína (%)
1	4	16	56,25
2	25	16	94,45
3	4	36	24,00
4	25	36	87,20
5	4	16	59,30
6	25	16	95,30
7	4	36	24,69
8	25	36	89,30
9	4	16	60,35
10	25	16	96,58
11	4	36	23,25
12	25	36	90,35

resultado de la aplicación del ANOVA y en la tabla 4, el ajuste del modelo obtenido, para relacionar las variables.

El modelo de regresión pronosticó un valor de confianza de 99,75 % de la proteína estimada, con la siguiente ecuación de regresión:

P r o t e i n a

$$(\%)=83,64+0,680*T-2,001*t+0,067*T*t \quad (\text{Ecuación 2})$$

En la ecuación 2 del modelo ajustado, con los términos significativos se observó el buen ajuste del modelo al presentar un error estándar de los estimados y un error absoluto medio bajos, así como un R2 alto y que explicó el 99,75 % de la variabilidad, en el porcentaje de las proteínas. Como el valor P del estadígrafo de Durbin Watson fue mayor que 0,05, no existió indicación de autocorrelación en los residuos, con un 95 % de confianza.

Tabla 3. Análisis de varianza, en la etapa de la hidrólisis enzimática

Análisis de varianza					
Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F-Valor	P-Valor
MODELO	3	9 633,90	3 211,30	1 463,56	0,000
Lineal	2	9 039,16	4 519,58	2 059,82	0,000
Temperatura (°C)	1	7 769,38	7 769,38	3 540,92	0,000
Tiempo (h)	1	1 269,79	1 269,79	578,71	0,000
Interacción entre 2 términos	1	594,74	594,74	271,05	0,000
Temperatura * Tiempo (°C * h)	1	594,74	594,74	271,05	0,000
ERROR	8	17,55	2,19		
TOTAL	11	9 651,45			

Artículos Originales

El análisis de las figuras 2 y 3, permitió corroborar los resultados anteriores. La figura 2 muestra que, los efectos de la temperatura y el tiempo fueron significativos ($\alpha = 0,05$). Además, el mayor efecto correspondió a la temperatura (A), porque fue el parámetro que más se extendió. El efecto para la interacción de entre la temperatura y el tiempo (AB), fue el menor.

En la figura 3, se aprecia que la gráfica de probabilidad

normal de los residuos cumplió, con el supuesto de que los residuos tuvieron una distribución normal. En la gráfica de residuos vs ajustes se verificó que, los residuos se distribuyeran de forma aleatoria y tuvieran una varianza constante, ya que los puntos se ubicaron de forma aleatoria a

Figura 2. Diagrama de Pareto, que muestra los efectos de la temperatura, el tiempo y la interacción entre ambos, en la etapa de la hidrólisis enzimática del colágeno amniótico soluble.

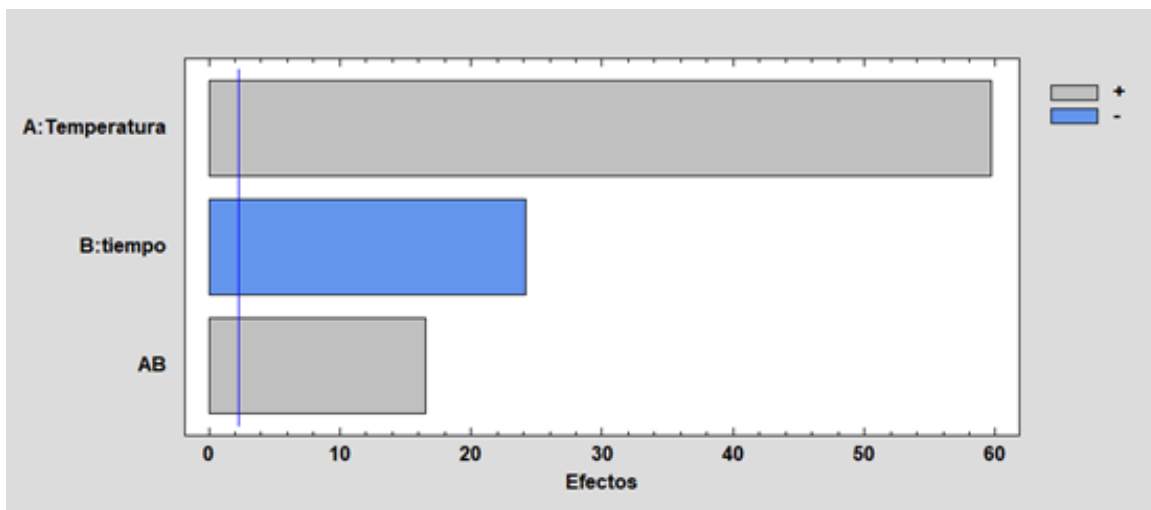
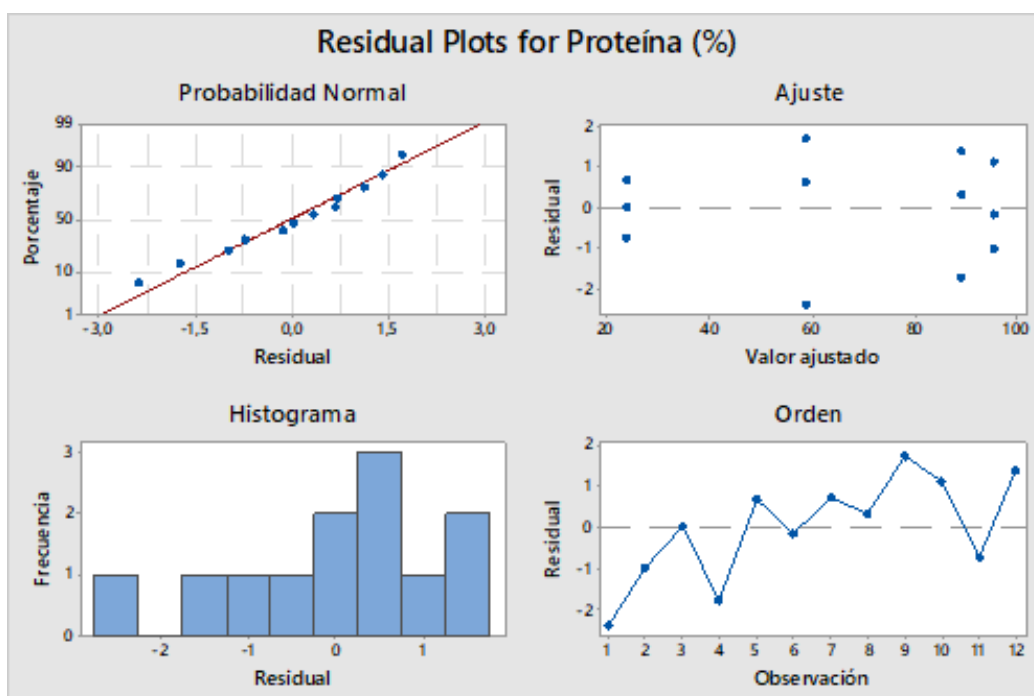


Figura 3. Gráficas de “Probabilidad normal”, “Residuos vs ajustes”, “Residuos vs orden” y el Histograma en la etapa de hidrólisis enzimática.



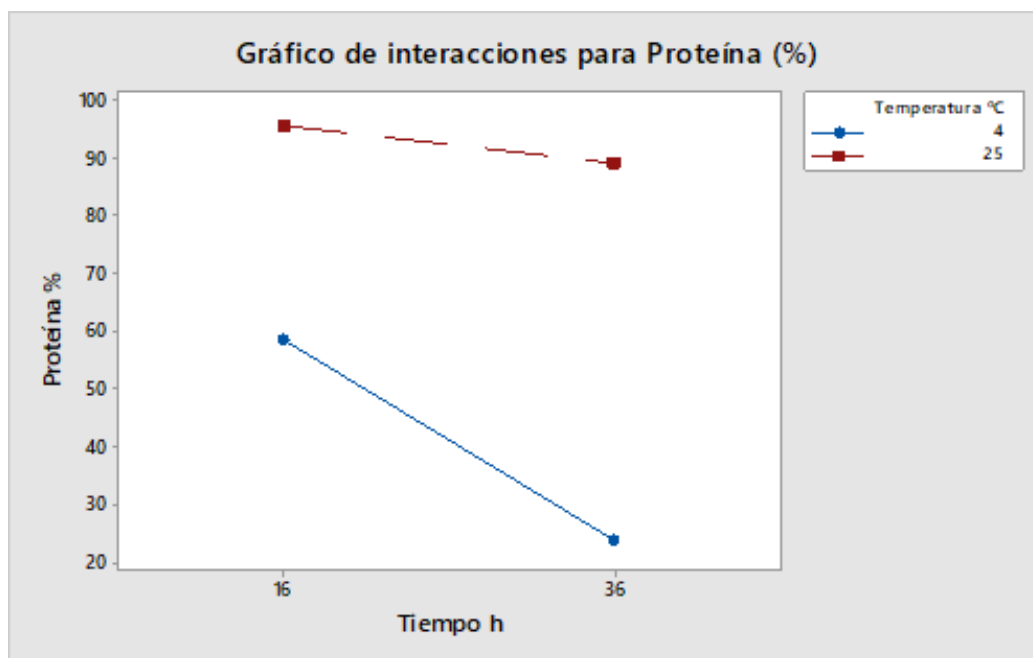
ambos lados del 0, sin patrones detectables en los puntos. Los residuos mostrados en la gráfica de residuos vs orden se ubicaron alrededor de la línea central, demostrando que los residuos

fueron independientes.

En la figura 4, se presentan las variables correspondientes a la temperatura y el tiempo. Se aprecia que, el mayor porcentaje de proteína se obtuvo a 25 °C y 16 h.

Caracterización de las muestras obtenidas de colágeno

Figura 4. Gráfico de interacciones para proteínas en la etapa de hidrólisis enzimática



A partir de los resultados obtenidos, en el diseño experimental, se realizaron tres lotes experimentales consecutivos de CAS, para determinar su composición química, en una base seca y los promedios de las muestras evaluadas se exponen en la tabla 5. En los resultados se evidenció un bajo contenido de impurezas (4,02 %), con un alto contenido de proteína (95,41 %), no se identificó, en las muestras analizadas, la presencia de bacterias y hongos patógenos, por lo que se cumplió

con las especificaciones de calidad establecidas. En los ensayos físicoquímicos no existió variabilidad en el método, ya que el coeficiente de variación (CV) no excedió del 5 %^(9, 18).

Determinación del rendimiento del proceso de extracción a escala de laboratorio

Al elaborar los tres lotes experimentales, el promedio del rendimiento fue del 60,32 % de CAS, según la ecuación 1, esto significa que, por cada 1 kg de MA se obtienen 603,2 g de proteínas; además, se obtuvieron residuos de suma importancia, por su valor proteico y sus propiedades, como son las soluciones de cloruro de sodio, el ácido acético y la sangre, que pueden utilizarse, en otras aplicaciones, como los colirios amnióticos para los animales y los biofertilizantes,. El

Artículos Originales

Tabla 5. Resultados de los métodos de ensayos empleados, en la caracterización del colágeno amniótico soluble obtenido

Variables	M1	M2	M3	X	σ	CV %	Criterio de aceptación
pH	3,44	3,45	3,45	3,45	0,01	0,17	Cumple
Sólidos totales %	1,39	1,44	1,36	1,40	0,04	3,00	Cumple
Cenizas (% base seca)	3,95	4,03	4,08	4,02	0,07	1,63	Cumple
Nitrógeno (% base seca)	15,11	15,28	15,44	0,21	0,01	2,71	Cumple
Proteína (% base seca)	94,45	95,3	96,51	95,41	1,05	1,10	Cumple
Densidad 20 (°C)	1,22	1,27	1,25	1,25	0,03	2,02	Cumple
Conteo total (CT) (UFC/mL)	<10	<10	<10	-	-	-	Cumple
Patógenos	No	No	No	-	-	-	Cumple
	presencia	presencia	presencia				
	Ausencia	Ausencia	Ausencia	-	-	-	Cumple

alcohol residual obtenido, rico en pequeños péptidos se emplea en la confección de lociones para después de afeitarse, en los jabones y en el creyón labial.

A partir del resultado obtenido, del que correspondió a un rendimiento de 1 kg (R = 60,32 %), se calculó la cantidad de CAS presente en 3 kg de materia prima, que es fue la cantidad aproximada de MA empleada, para la elaboración de un lote a escala piloto. Este resultado se calculó, hallando el 60,32 % de 3 kg, lo que generó una cantidad de CAS de 1,8 kg.

$\% R = (M \text{ colágeno}) / (M \text{ membrana}) * 100 = (0,6032 \text{ kg}) / (1 \text{ kg}) * 100 = 60,32 \%$ (Ecuación 1)

DISCUSIÓN

La membrana amniótica es resistente, transparente, delgada, rica en colágeno y no tiene conductos sanguíneos, conexiones nerviosas ni canales linfáticos (19); debido a estas características está libre de contaminantes y su técnica de obtención fue más simple que las expuestas en este trabajo, donde

se muestran diferentes fuentes y métodos de obtención de colágeno.

Los primeros pasos utilizados para la selección y el lavado de la MA fueron cruciales, en el proceso de obtención del CAS, así como en la separación de la MA de la membrana coriónica, evitando que quedaran restos de esta última. El ácido acético se empleó también para eliminar las impurezas, facilitando el acceso de la enzima (pepsina) al sustrato, en el proceso de hidrólisis parcial. Esta hidrólisis enzimática ofrece una mejor selectividad de reacción y es menos dañina para el colágeno. Por lo tanto, tiene el potencial de maximizar el rendimiento de colágeno y la pureza del producto extraído⁽¹⁵⁾.

En el proceso de la precipitación se empleó el etanol al 96 %, en vez

del cloruro de sodio (NaCl), lo que garantizó un hidrolizado final, con un contenido de sales más bajo. Se trabajó a la temperatura ambiente (25 °C) y con ello, se disminuyeron los costos de la operación, pues no se emplearon temperaturas bajas (alrededor de los 4°C) durante el proceso. Las modificaciones propuestas garantizaron una mayor cantidad de CAS (60,32 %), con una calidad fisicoquímica y microbiológica, que superó a la obtenida con la metodología anterior, donde solo se obtuvo un 24 % de rendimiento.

CONCLUSIONES

Se estandarizan las etapas de obtención del colágeno amniótico soluble en el laboratorio, antes de llevarlo a una escala piloto. Se determina que, a través de un diseño experimental, la temperatura y el tiempo óptimo para la hidrólisis ácida del colágeno corresponden a 25 °C y 16 h.

El rendimiento del proceso de extracción a escala de laboratorio, representa una obtención de CAS, con un rendimiento mayor de colágeno y una materia prima de una calidad fisicoquímica y microbiológica superior.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carrillo O, Valdés G, Tamayo A, Melgares P. Registro de Colágeno Amniótico Humano. Centro de Histoterapia Placentaria. 1996.
2. Centro de Histoterapia Placentaria. Registro de Cosméticos, Jabones, Detergentes y Perfumes de importación. Colágeno amniótico. 2020.
3. Serrano JC. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*) (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia. 2011. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8297>.
4. Solari A. Extracción de colágeno proveniente de residuos del procesamiento de *Engraulisringens* "ANCHOVETA". Ciencia e Investigación [Internet]. 2015;18 (2): p.65-68. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13609>.
5. Torres W, Pacheco R, Sotelo R.R, Rouzaud O, Ezquerro J.M. Caracterización parcial del colágeno extraído a partir del manto, aleta y tentáculos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). CYTA - Journal of Food. 2009. No.6 (2): p. 101-108. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/724/72411971003.pdf>.
6. Quintero J, Zapata J.E. Optimización de la extracción del colágeno soluble en ácido de subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. Información Tecnológica 2017. 28 (1): p. 109-120. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642017000100011&script=sci_abstract.
7. Peralta C.R, Rivera N.A, Gualdrón L. Extracción de colágeno en medio ácido-básico a partir de los cascos de bovinos. Revista Épsilon. 2012. 18 (5): p. 59-69. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/ep/vol1/iss18/5/>.
8. Beltrán, J. Valoración de la innovación tecnológica del proceso de obtención de colágeno a partir de piel de tilapia (*oreochromis*) para su aplicación en el mercado cosmético (Tesis de Magíster). Bogotá: Departamento de Ingeniería de Sistemas e Industrial. Universidad Nacional de Colombia; 2011.
9. Centro para el Control Estatal de Medicamentos. (2017). Buenas Prácticas Farmacéuticas Sistema Regulador en Cuba (Regulación No. 16-2012).
10. Casa L.M, Cabrera D.A. Extracción de gelatina mediante ácido acético utilizando como materia prima desechos de curtiembres. 2021.
11. Serna L, Pineda D, Ayala A. Aplicación de endopeptidasa alcalina en carnaza bovina para mejorar la calidad de la gelatina. Revista Colombiana De Química, 2007. 36 (2): p. 169-181. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309026672003>
12. Pinzon L.A. Evaluación de la extracción de colágeno en las secciones de cuello y falda de las pieles de bovinos (Tesis de grado). Bogotá: Facultad de Ingenierías; 2020. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3610864>.
13. Ramírez G. "Extracción de colágeno a partir de piel y huesos de "pez diablo" (*Hypostomusplecostomus*) (Tesis de grado). México: Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutierrez; 2017. Disponible en: <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/2947>.
14. Zumalacárregui L. (2018, octubre). Procesos de purificación no cromatográficos. Modulo Purificación.[Conferencia]. Facultad de Química ISPJAE, La Habana, Cuba.
15. Matinong A.M, Chisti Y, Pickering K. Collagen Extraction from Animal Skin. Biology. 2022; 11: 905. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biology11060905>.
16. Cañas A.O. Conferencia: Enzima: pepsina. Licenciatura: Químico Farmacobiólogo. Universidad Autónoma de Chiapas; 2021. Disponible en: <https://mazanafate.files.wordpress.com/2016/02/pepsina.pdf>.
17. García E. (2018, abril). Diseño de Experimentos y modelación estadística [Conferencia]. Facultad de Química ISPJAE, La Habana, Cuba.
18. Farmacopea de los Estados Unidos. (2018). USP-40/ NF-35.
19. Yábar J. Efecto de la membrana amniótica liofilizada como barrera en el proceso de regeneración ósea en tibia de conejo [Tesis de grado de Cirujano Dentista]. Lima: Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3166/Yabar_cj.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Artículos Originales

ABSTRACT

Objective: to standardize the technique for obtaining soluble amniotic collagen, to determine the quality indicators and to obtain a soluble collagen with a higher yield on a pilot scale.

Materials and Methods: to obtain Soluble Amniotic Collagen (CAS), 3 kg of clean amniotic membrane were used, after carrying out the following procedure: first, the amniotic membranes were washed with purified water, then they were separated from the other fetal membranes. , were ground in a tricarnic mill, the ground mass, washed with a 3% sodium chloride solution and then washed with acetic acid to remove non-collagenous material. After performing the two washes, the mass was digested with pepsin, the collagen was precipitated with cold 96% ethanol and finally the CAS was centrifuged.

Results: with the modifications introduced in this work, the protein content increased from 24% to 95.41% and the yield was 60.32%. It was possible to obtain residual alcohol, a collateral product, useful for the elaboration of lotions and tonics.

Conclusions: with the standardization of the process of obtaining the CAS, a raw material is achieved that meets the quality indicators for the production of dermocosmetics, with greater performance on a pilot scale.

Keywords: purification, modifications, pepsin

