

INFORME DE AVANCE

Proyecto: Aprovechamiento de residuos de lagarto para obtención de colágeno hidrolizado, Tierra Comunitaria de Origen Tacana I, La Paz Bolivia.

Pilar estratégico:	Conservación, Biodiversidad y Medio Ambiente
Demanda Social PIBT-JB:	Promoción de Empresas comunitarias Productivas
Coordinador del proyecto:	Ms.C. Lily Salcedo Ortiz
Investigadores:	Ph.D. Giovanna Almanza
Becarios:	Lic. Gabriela Tarquino Lic. María Dina Mamani
Unidad Académica proponente:	Instituto de Investigaciones Químicas
Contraparte técnico DINA/PIBT-JB:	Lic. Magaly Mendoza Apaza
Área de implementación:	Municipio de San Buenaventura
Comunidades beneficiadas:	Cachichira, Carmen del Emero, Tequeje y Copacabana
Coordinación interinstitucional:	CIPTA, WCS Bolivia,
Ejecución:	Financiera: 50%, Física: 55%
Duración del proyecto:	Inicio: 1 de agosto de 2019 Fin: 30 de Junio de 2020
<p>Triple hélice del colágeno</p> <p>Colágeno tipo I: $[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2(I)$; tendones, huesos y piel Colágeno tipo II: $[\alpha 1(II)]_3$; cartilago Colágeno tipo III: $[\alpha 1(III)]_3$; vasos, piel recién nacido, pared intestinal</p> <p>Hélice del colágeno Triple hélice del colágeno Triple hélice del colágeno (corte sagital)</p>	

1. Introducción

El área de aprovechamiento del lagarto en la Tierra Comunitaria de Origen Tacana I (TCO Tacana I) tiene una superficie de 1.298 km² (34% del territorio), incluyendo sectores del río Beni, arroyos y lagunas. La población aprovechada es de machos adultos, estimada en 3.884 individuos (15% de la población total de lagartos), para asegurar la conservación de las hembras. La cuota de extracción permitida es de 630 individuos (16% de la población de machos adultos), con una talla mínima de captura de 180 cm de longitud total (hocico-cola). Otra medida de conservación es la época de cacería,

que se realiza al finalizar la época seca, en el mes de octubre, para no interferir con el período de reproducción de la especie.

Los indicadores de monitoreo de las cosechas: sitios de captura, sexo, talla promedio, peso y esfuerzo invertido, muestran que las poblaciones de lagartos se mantienen estables y que su aprovechamiento es sostenible en el tiempo. Esta actividad está contribuyendo al control de los cuerpos de agua, evitando la caza ilegal del lagarto y del caimán negro (*Melanosuchus niger*), especie que se encuentra en situación vulnerable.

Importancia del Aprovechamiento del Lagarto

- Generación de ingresos para las familias involucradas en el aprovechamiento del lagarto y aporte económico a las comunidades y sus organizaciones.
- Fortalecimiento de capacidades técnicas de los socios en la planificación del manejo, el monitoreo y la gestión empresarial comunitaria.
- Alianzas estratégicas con instituciones estatales, entidades científicas y empresas que valoran productos provenientes de bosques bien conservados.
- Investigaciones científicas que respaldan las acciones de manejo y permiten definir cuotas de extracción con respaldo técnico.
- Fortalecimiento de la gestión territorial como resultado del manejo sostenible del lagarto, la conservación de los cuerpos de agua y la creación de oportunidades económicas basadas en la conservación.

El colágeno es la proteína que probablemente más abunda en el cuerpo, es una proteína dura, fuerte, fibrosa e insoluble, constituye parte de una familia de proteínas relacionadas entre sí, pero genéticamente diferentes, cuya principal característica es de orden estructural.

Su molécula consiste en tres cadenas polipeptídicas helicoidales denominadas cadenas α , cada una de éstas conformadas por aproximadamente 1000 aminoácidos. Estas cadenas se enrollan formando una triple hélice que se mantiene mediante puentes de hidrógeno intermoleculares.

Hasta el momento se han identificado 46 diferentes cadenas polipeptídicas en vertebrados, las cuales componen 28 diferentes tipos de colágeno. Cada uno de estos tipos de colágeno lleva a cabo funciones especializadas en diversos tejidos y tienen modos distintivos de organización supramolecular. Los más abundantes forman la base estructural de la piel, tendones, huesos y cartílagos entre otros tejidos,

concentrándose en mayor proporción los de tipo I, II y III, siendo el colágeno de tipo I el predominante en la mayoría de animales. (Jordán, 2014)

La principal función del colágeno consiste en mantener e impedir la deformación de los tejidos, ya que es la proteína que más abunda en el organismo, constituyendo cerca del 30% de las proteínas de nuestro cuerpo el 6% en peso total seco del cuerpo humano.

Fisiológicamente el cuerpo humano reduce la producción de colágeno endógeno después de la adolescencia, alcanzando disminución en la proporción correspondiente al 1% por año después de los 30 años. A los 50 tenemos sólo el 35% de colágeno necesario para regenerar la piel, los huesos, discos intervertebrales, músculos, tendones, cartílagos, articulaciones, es decir, todos los órganos y tejidos de soporte del cuerpo. (Melo)

Colágeno hidrolizado

Comparado con el colágeno en estado natural que presenta una macroestructura, que disminuye su biodisponibilidad en el organismo.

Los estudios clínicos demuestran que la ingesta continuada de Colágeno Hidrolizado ayuda a reducir el dolor articular de desgaste, a ralentizar la pérdida de masa ósea y a atenuar los signos de envejecimiento dérmico. Estos resultados, junto con su alto nivel de seguridad y tolerancia, hacen del CH un suplemento adecuado para tomar a largo plazo, indicado para prevenir y tratar enfermedades crónicas degenerativas (artrosis y osteoporosis), así como para prevenir y atenuar el envejecimiento dérmico. (Juher, 2015)

Otros estudios han sugerido la eficacia del colágeno hidrolizado en el tratamiento de la artrosis. El uso de este agente se basó en la hipótesis de que el colágeno hidrolizado contiene abundantes aminoácidos que jugarían un papel en la síntesis de colágeno, uno de los principales componentes de la matriz extracelular. La segunda hipótesis contemplaba la posibilidad que estos agentes, al estimular la síntesis de colágeno de la matriz por los condrocitos, proporcionarían una mejoría sintomática en el tratamiento de la artrosis. Los hidrolizados de colágeno han sido utilizados como suplementos alimentarios y su perfil de seguridad los hace interesantes como agentes terapéuticos. De hecho se ha publicado que la ingestión de 10 g de colágeno hidrolizado durante 60 días reduce el dolor en pacientes afectados de artrosis de rodilla y/o cadera. (Benito P., 2002)

2. Objetivos

1. Establecer los parámetros necesarios en la obtención de colágeno hidrolizado de una muestra alterna (pata de vaca)
2. Determinar la concentración de colágeno obtenido por métodos físicos de extremidades distales de lagarto originario de la TCO, Tacana I.
3. Obtener el método físico adecuado para concentrar colágeno a partir de extremidades distales de lagarto originario de la TCO, Tacana I.
4. Obtener grado de hidrólisis de colágeno obtenido de lagarto (*Caimán yacaré*) con aplicación de proteasa natural (papaína y bromelina)
5. Determinar el análisis proximal del producto (colágeno hidrolizado) obtenido a partir de partes distales de lagarto
6. Socializar los resultados a través de un taller de intercambio de ideas en base a los resultados obtenidos de colágeno hidrolizado a partir de desechos de lagarto de TCO Tacana I

3. Metodología

Describir las actividades realizadas hasta diciembre de 2019 y el material y/o equipo que utilizaron con el financiamiento. Con fotos de los procesos

Obtención de Colágeno

Para la obtención de colágeno se empleó el procedimiento descrito por (Benito P., 2002) con una modificación en la materia prima, se utilizó patas de bovino.

Preparación de la materia prima

Una vez obtenida la materia prima, se procedió a limpiar las patas de bovino con agua potable con el fin de eliminar restos de huesos, grasa y cualquier otra materia extraña que interfiera con el producto final.



Fotografía 1: Proceso de preparación de la materia prima

Extracción del colágeno

Se procedió a la extracción del colágeno colocando las patas de bovino en una olla a presión, llevando a ebullición por hora y media.

Se filtró en caliente con la ayuda de un tamiz y una gaza, se dejó enfriar para que gelatinice y poder extraer la película de grasa que se forma como una en la parte superior, todo se realizó por triplicado.



Fotografía 2: Extracción de Colágeno y limpieza de la grasa generada

N	Masa de patas de bovino (kg)	Volumen de Agua (L)	Tiempo de cocción (horas)	volumen de colágeno (L)
1	2.773	8	1.5	3.650
2	2.664	8	1.5	5.045
3	3.200	8	1.5	5.340

Determinación de la densidad (Método gravimétrico. AOAC)

1. Medir 10 mL de la muestra en una probeta graduada.
2. Pesar la muestra hasta peso constante
3. Expresar los resultados en peso/volumen.

Determinación de Sólidos Totales (Método gravimétrico por secado. AOAC)

1. Pesar 5 g de muestra preparada (20°C) en cápsulas de porcelana previamente taradas.
2. Evaporar sobre un baño de vapor por 30 minutos, exponiendo la mayor parte de la superficie externa del crisol al vapor.
3. Llevar los crisoles a la estufa a 100°C ± 2°C.
4. Después de 3 horas de desecación, enfriar los crisoles en un desecador
5. Pesar los crisoles rápidamente. Repetir hasta que la diferencia no sea mayor de 0,5 mg (Periodos de 30 min)
6. Calcular el porcentaje de sólidos totales de cada muestra y tomar el promedio.
7. Expresar los resultados en peso/volumen.



Determinación de Humedad (Método gravimétrico por secado. AOAC)

1. Se pesó de 5g de la muestra.
2. Coloque la muestra en un horno a 105°C por 8 horas.
3. Deje enfriar la muestra en un desecador.
4. Pese nuevamente cuidando de que el material no este expuesto al medio ambiente



Hidrolisis Enzimática de Colágeno

Para la hidrolisis proteica se emplean diferentes técnicas, en este caso se utilizara la técnica descrito por (Benitez, 2008) y (Lopez, 1977) con algunas modificaciones en el tema de relación sustrato/enzima y tiempo de reacción.

Se emplearan dos enzimas dos de disponibilidad natural: la enzima Papaína que es una proteasa que se encuentra en la resina de la papaya y la enzima Bromelina que se encuentra en el jugo de la piña.

Para cada prueba se utilizó un reactor que consta de un balón de fondo redondo de 10,0L con control de agitación y temperatura, y un manto de calor.

En el balón se añade 5L de colágeno, con una agitación de 400 rpm y se lleva a las condiciones óptimas de temperatura y pH de la enzima.

Volumen inicial de colágeno (mL)	pH colágeno	Masa de enzima (g)	Volumen de colágeno Hidrolizado (mL)
5000	7.26	1	980
5000	7.36	1	1000
5000	6.32	1	1000

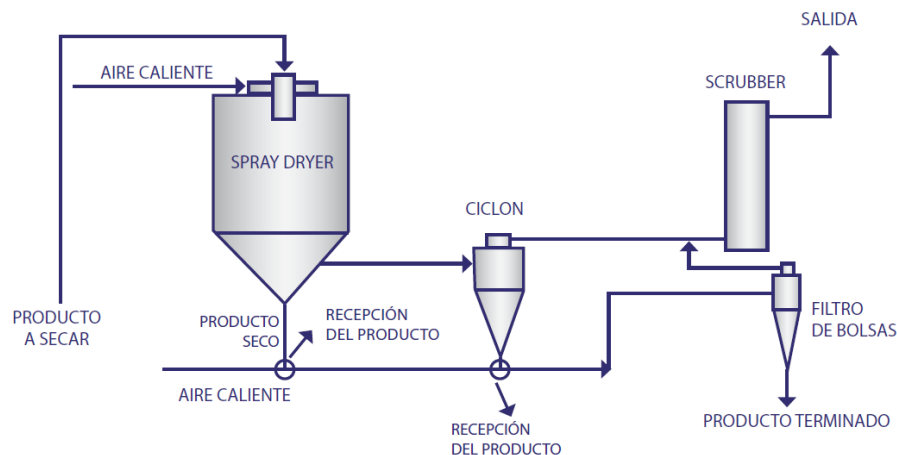
Secado por aspersión

Esta tecnología permite la obtención de un producto en polvo a partir de un material líquido concentrado. Su principio de operación se basa en la atomización del producto generando de esta forma pequeñas microgotas, las cuales al estar en contacto con una corriente de aire caliente (entre 150o C a 300 o C) son pulverizadas, el aire actúa como medio de calefactor y fluido de transporte.

El contacto del producto con el aire caliente es crítico con respecto al rendimiento y calidad de secado. Las condiciones aquí establecidas como flujo de aire, temperatura de entrada y salida del mismo, temperatura de alimentación, diámetro de gota, velocidad de aire, etc., determinan las propiedades del producto final.

Finalmente el polvo obtenido es enfriado y envasado.

Partes que conforma un secador



4. Resultados alcanzados

En base a los objetivos planteados cuales los resultados alcanzados. Con fotos

Resultados: Tabla 1. Características físicas de colágeno de bovino

Parámetros	I	II	III
Densidad (g/mL)	1,913	1,898	1,905
Solidos Totales (%)	10,01	9,98	10,10
Humedad	6,90	6,89	7,03

Tabla 2. Características físicas de colágeno hidrolizado de bovino

Parámetros	I	II	III
Densidad (g/mL)	1,025	1,033	1,029
Solidos Totales (%)	8,80	8,23	8,51
Humedad (%)	6,50	6,45	6,68

Tabla3. Parámetros para el secado de colágeno hidrolizado

	C.H. con pancreatina	C.H. con colagenasa	C.H. con papaína
FLUJO DE AIRE Hz	45	45	50
TEMPERATURA DE ENTRADA °C	170	170	170
ATOMIZADOR Hz	350	350	350
ALIMENTACIÓN DEL PRODUCTO mL/min	45	45	45

Tabla 4. Parámetros encontrados para el secado en spray dryer con proceso secuencial

Parámetros	C.H. con papaína y bromelina
Flujo de aire hz	50
Temperatura de entrada °c	170
Atomizador hz	350
Alimentación del producto ml/min	45

Tabla 5. Rendimiento del colágeno hidrolizado y liofilizado

Masa de patas de bovino (kg)	Masa de colágeno liofilizado (kg)	Rendimiento de colágeno %
2,7060	0,127	4,69
2,5857	0,092	3,55
3,1066	0,18	5,79
Promedio		4,68±1,11

Tabla 6. Análisis proximal del colágeno y sus hidrolizados post secado por liofilización

Componente	Colágeno	C.H. Pancreatina	C.H. Colagenasa	C.H. Papaína
Humedad %	6,90±0,00	7,91±0,05	6,23±0,06	6,54±0,00
Materia Seca %	93,10±0,05	92,09±0,05	93,77±0,06	93,43±0,06
Cenizas %	0,93±0,03	3,81±0,02	3,47±0,06	3,20±0,09
Grasa %	0	0	0	0
*N%	15	16	16	15

CH: Colageno Hidrolizado

*Determinado por el LCA

Tabla 7. Cuantificación de Colágeno por el método Hidroxiprolina

	Hidroxiprolina %	Colágeno %
Colágeno hidrolizado obtenido	8,05	64,38
Colágeno Hidrolizado marca Bodylogic	7,76	62,07
Colágeno Hidrolizado marca Colnatur	7,55	60,44

En la Tabla 7 se presenta el porcentaje de colágeno basado en el valor de hidroxiprolina encontrada para cada muestra. Se observa que el colágeno obtenido un valor de 64,38% algo mayor en comparación a las otras dos muestras comerciales.



Secador spray dryer del IIQ



Colágeno hidrolizado secado en spray dryer

En octubre se viajó por vía aérea a Rurrenabaque para llegar a río Moa para realizar la colecta de partes distales de lagarto yacaré, a inicios de octubre.



A orillas del río Moa



Colecta de partes distales de lagarto

5. Actividades que faltan

Cronograma

Actividad	Fecha inicio de actividad	Fecha de conclusión de actividad
Actividad No. 2 del R.2 (2.2.) Obtener las condiciones físicas adecuadas (tiempo y número de extracciones por ebullición) para obtener mayor cantidad de colágeno a partir de partes distales de lagarto.	Marzo 2020	Mayo/2020
Actividad No.3 del R.2 (2.2.) Hidrolizar las muestras obtenidas con bromelina y papaína de forma secuencial en condiciones estándar de cada enzima aplicada y secar las muestras	Marzo 2020	Mayo/2020
Actividad No.3 del R.2 (2.3.)	Mayo/2020	Junio/2020

Cuantificar por métodos espectrofotométricos la cantidad de proteínas y la concentración de colágeno.		
Actividad No. 1 del R. 3 (3.1.) Optimizar tiempo y temperatura para obtener mayor rendimiento de colágeno a partir de partes distales de lagarto(4)	Abril/2020	Junio/2020
Actividad No. 1 del R. 4 (4.1.) Encontrar el tiempo adecuado para la máxima hidrolisis de colágeno con papaína y bromelina en condiciones de las enzimas naturales (4)	Abril/2020	Junio/2020
Actividad No. 1 del R. 4 (4.1.) Secar el producto (colágeno hidrolizado) de partes distales de lagarto con los parámetros de las pruebas preliminares en spray dryer y ajustar las mismas	Marzo/2020	Mayo/2020
Actividad No. 1 del R. 5 (5.1.) Realizar el análisis proximal del producto por métodos estándar AOAC (humedad, cenizas, grasas, proteínas y colágeno)	Abril/2020	Junio/2020
Actividad No. 1 del R. 6 (6.1.) Elaborar documento en ppt Imprimir dípticos o folleto del proceso de obtención de colágeno hidrolizado a partir de partes distales de lagarto	Junio /2020	Junio/2020

Presupuesto

ITEMS	Costo
Becarios	21600
Reactivos	25000
Instrumental Menor Médico-Quirúrgico	10000
Repuestos	9000
Papel de Escritorio	1000
Productos de Artes Gráficas, Papel y Cartón	1000
Gastos por alimentación y otros similares	500
Servicios de Imprenta y Servicios Fotográficos	1500

6. Observaciones y Recomendaciones

La parte más complicada fue la estandarización de las muestras alternas, por lo que se prevé realizar la estandarización con las partes distales de lagarto Yacaré con mayor celeridad.

