

## Elaboración de biopelícula a partir de las escamas, espinas y piel de Mojarra Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

MATA-GARCÍA, Moisés†\*, HERNÁNDEZ-RAMÍREZ, Daniel, VÁZQUEZ-BRIONES, María del Carmen y GONZÁLEZ-TOTO, Jorge

Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz. Av. Universidad Tecnológica Lote Grande 1, 96360 Nanchital, Ver

Recibido 12 de Octubre, 2017; Diciembre 8 de Junio, 2017

### Resumen

El desarrollo de la industria pesquera a nivel industrial y artesanal genera una gran cantidad de residuos entre los que se incluyen cabezas, piel, escamas, hueso, cartílago etc. En el presente trabajo se realizó la extracción de colágeno de los desechos de la mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) para la elaboración de una biopelícula biodegradable. Se realizó la extracción de colágeno a partir de los restos de la mojarra tilapia, y se comprobó mediante espectrofotometría IR; el espectro IR presenta las bandas relacionadas al colágeno: 3300 cm<sup>-1</sup>, 1655 cm<sup>-1</sup>, 1550 cm<sup>-1</sup> y 1250 cm<sup>-1</sup> (Camacho *et al.*, 2001). Se realizaron tres pruebas de plastificación del colágeno mediante una mezcla con agua, glicerina y alcohol polivinílico al 5%. La caracterización de la biopelícula indicó que el producto posee un 34.5% de hinchamiento, 19.19% de humedad y 0.2044% de cenizas. De acuerdo con lo anterior, se comprobó que los restos de la mojarra tilapia (escamas, cabeza, huesos y piel) pueden ser una fuente de colágeno, y que esta proteína se puede emplear en la elaboración de biopelículas biodegradables.

### Tilapia, colágeno, biopelícula

**Citación:** MATA-GARCÍA, Moisés, HERNANDEZ-RAMÍREZ, Daniel, VÁZQUEZ-BRIONES, María del Carmen y GONZÁLEZ-TOTO, Jorge. Elaboración de biopelícula a partir de las escamas, espinas y piel de Mojarra Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Revista de Ingeniería Tecnológica 2017. 1-4:20-28

### Abstract

The development of the fishing industry at industrial and artisanal level generates a large amount of waste including heads, skin, scales, bone, cartilage etc. In the present work the extraction of collagen from the debris of mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) was carried out for the elaboration of a biodegradable biofilm. The extraction of collagen from the remains of mojarra tilapia was performed, and it was verified by IR spectrophotometry; The IR spectrum presents the bands related to collagen 3300 cm<sup>-1</sup>, 1655 cm<sup>-1</sup>, 1550 cm<sup>-1</sup> and 1250 cm<sup>-1</sup> (Camacho *et al.*, 2001). Three collagen plastification tests were performed by mixing with water, glycerin and 5% polyvinyl alcohol. The characterization of the biofilm indicated that the product has a 34.5% swelling, 19.19% humidity and 0.2044% ash. According to the above, it was found that the remains of mojarra tilapia (scales, head, bones and skin) can be a source of collagen, and that this protein can be used in the production of biodegradable biofilms.

### Tilapia, collagen, biofilm

\*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: moisesmg2000@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

La pesca es una actividad de gran importancia económica en México, siendo cinco las principales entidades productoras de este tipo de alimentos en 2016: Sonora, con un volumen de 439 mil 652 toneladas; Sinaloa, 313 mil 830 toneladas; Baja California Sur, 162 mil 681 toneladas; Baja California, 138 mil 475 toneladas, y Veracruz, 94 mil 195 toneladas. Nuestro país ocupó el séptimo lugar como productor de mojarra tilapia a nivel mundial, con una producción de 156 mil 146 toneladas (SAGARPA, 2017).

El desarrollo de la industria pesquera a nivel industrial y artesanal genera una gran cantidad de residuos y pérdidas en el manejo, almacenamiento, distribución y comercialización. La industrialización de esta actividad genera residuos entre los que se incluyen vísceras, cabezas, piel, escamas, hueso, cartílago etc., los cuales representan un foco de contaminación sino son tratados adecuadamente (Guerard *et al.*, 2010).

Los restos pesqueros, son una fuente rica en proteína que puede recuperarse, dándole un valor agregado a los desechos; la proteína principal en estos subproductos, es el colágeno (Gómez *et al.*, 2011).

El colágeno es un componente importante de todos los tejidos conectivos del cuerpo (músculos, dientes, huesos y piel) y se ha utilizado para la elaboración de alimentos funcionales, materiales de empaque biodegradable, películas fotográficas, productos de cosmetología y algunas otras aplicaciones en alimentos y medicina (Montero y Gómez-Guillén, 2000).

La proteína más abundante de origen animal es el colágeno (Muyonga *et al.*, 2004); está compuesto por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas (1000 aminoácidos por cadena) agrupadas en una estructura helicoidal, siendo esta la responsable de la rigidez y la resistencia de las fibras. (Prockop y Guzmán, 2002), se encuentra presente en todos los tejidos conectivos del cuerpo como, por ejemplo: músculos, dientes, huesos, tendones y piel, y debido a estas características, actualmente el colágeno es de gran importancia en el campo de los materiales biomateriales, la industria farmacéutica y cosmética (Serrano, 2011).

La producción de biopelícula a través de restos de pescado, representa una alternativa para el aprovechamiento de la piel, cabeza, huesos y escamas con la finalidad de aprovechar el colágeno de la mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*).

El presente trabajo se realizó con la finalidad de brindar un valor agregado a los desechos de la mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) a partir del desarrollo de biopelículas de colágeno, además de contribuir con la reducción de la contaminación ocasionada por los residuos de las actividades acuícolas y pesqueras de la zona.

## Justificación

El aprovechamiento integral de los recursos naturales, debe ser una tarea primordial para el ser humano.

De acuerdo a lo anterior, es necesario implementar técnicas para el aprovechamiento de los restos de la mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) que se generan como subproductos de las actividades acuícolas y pesqueras de la zona sur del estado de Veracruz.

Los restos de pescado (cabeza, escamas, piel y víceras), deben de emplearse como una fuente importante para la extracción de proteínas de gran valor comercial y nutricional, como lo es el colágeno, razón por la cual, se desarrolla el presente trabajo.

### Problema

En los municipios del sur de Veracruz, la pesca es una de las actividades predominantes por las habitantes de la zona, debido a la ubicación geográfica de la región. Por ende, los platillos tradicionales y de consume frecuente son el pescado y sus derivados.

De acuerdo con lo anterior, diariamente en la zona sur de Veracruz son desechados las cabezas, escamas, espinas y piel de la mojarra tilapia.

Desafortunadamente estos subproductos, ocasionan problemas de contaminación al medio ambiente, debido a que los comerciantes de estos productos pesqueros no cuenta con un tratamiento adecuado para los desechos orgánicos del pescado.

Otro problema que observamos, es el desaprovechamiento de los componentes que contienen los residuos del pescado, por ejemplo el colágeno.

### Hipótesis

La extracción del colágeno de los restos de la mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) permitirá la elaboración de biopelículas biodegradables.

### Objetivo General

Realizar la extracción del colágeno de los desechos de la mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) para la elaboración de biopelícula biodegradables.

### Objetivos específicos

- Obtener el colágeno a partir de restos de la tilapia (*Oreochromis niloticus*).
- Diseñar la metodología para la elaboración de una biopelícula a partir del colágeno de tilapia.
- Realizar la caracterización de la biopelícula de colágeno.

### Metodología de Investigación

Se utilizaron espinas, escamas y piel de mojarra tilapia (*Oreochromis niloticus*) recolectados en diferentes expendios de pescados con menos de 24 horas fileteado. Los residuos se transportaron a temperatura de 6°C aproximadamente hasta el laboratorio de química general de la Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz. En el laboratorio, se lavaron con abundante agua para eliminar residuos como polvo o tierra.

Después del lavado se hizo la reducción del tamaño de los residuos, mediante corte con cuchillo de acero inoxidable.

### Extracción del colágeno

#### Extracción de grasas

Como primera etapa, las escamas, pieles y espinas son tratadas con solvente alcohólico. Esto se lleva a cabo con la finalidad de eliminar la grasa que contienen estos desechos. La realización de la extracción es necesaria para poder pasar a la etapa de desmineralización.

El solvente utilizado es el alcohol etílico puesto que es un solvente muy económico y accesible.

Se pesaron 300 gr de muestra y se le adicionó 300 ml de alcohol etílico y se colocaron a calentamiento por 1 hora a una temperatura de 50 °C, posteriormente se filtró y lavó la muestra con agua destilada.

### Desmineralización

La remoción de los carbonatos de calcio se logró mediante dos reactivos. El EDTA (ácido etilendiaminotetraacético); a una concentración de 0.5 M a 500 ml por 1.5 horas y a una temperatura ambiente, luego se procede a lavar y filtrar. Este reactivo actúa como blanqueador y un agente quelante que trabaja como un “secuestrador” de metales pesados.

Posteriormente la muestra se coloca en solución de HCl, de 500 ml con una concentración de 0.5 N a temperatura ambiente, bajo agitación constante, por tiempos de 1 hora. Al concluir este tiempo la muestra se filtró y lavó con agua destilada (Muyonga *et al.*, 2004).

### Hidrolisis en medio básico

La función de esta etapa es eliminar las proteínas distintas al colágeno, llevada a cabo con hidróxido de sodio. Este compuesto es un agente irritante que al entrar en contacto con las proteínas de los tejidos vivos produce su rompimiento por efectos de hidrólisis (Liu *et al.*, 2015).

Luego de la hidrólisis los aminoácidos y péptidos más pequeños se liberan al medio acuoso, pero al ser una base fuerte podría así mismo hidrolizar la molécula de colágeno a pesar de ser una molécula fibrosa y resistente, por esta razón no se emplearon altas temperaturas (Pal *et al.*, 2015).

Para el diseño experimental se utilizó 500 ml de NaOH al 0.5 N, a temperatura ambiente por un tiempo de 18 horas. Posteriormente la muestra se filtró y se lavó hasta obtener un pH neutro en el agua de lavado (Pal *et al.*, 2015).

### Solubilización del colágeno

En esta etapa se solubiliza en medio ácido el colágeno presente en las escamas, pieles y espinas de la mojarra, con este paso se termina el proceso de extracción.

El ácido utilizado es el ácido acético glacial, el cual actúa como el agente utilizado para solubilizar el colágeno; se utilizó al 5% acuoso durante un lapso de tiempo de 2 días a temperatura ambiente.

Para eliminar los sólidos no disueltos en la solución de ácido acético, se utilizó papel filtro # 40, donde se obtuvo 400 ml de nuestro colágeno soluble en ácido.

### Precipitación salina

En esta etapa se recupera el colágeno de la solución ácida precipitándolo con una solución de cloruro de sodio, gracias a las cargas iónicas que esta sal proporciona a la proteína permitiendo su precipitación. Para el diseño experimental se utilizó una relación 1:1 (colágeno soluble en ácido: Solución de NaCl). Se prepararon 400 ml de NaCl 2.5 M. (Liu *et al.*, 2016).

Las soluciones se mezclan y agitan, posteriormente fueron colocadas en un embudo de separación, para precipitar el colágeno.

### Colágeno en estado sólido

El colágeno precipitado se drenó del embudo de separación y colocó en tubos de ensaye, para llevarlo a la centrifuga.

Se utilizaron tubos de ensaye con capacidad de 8 ml aproximadamente, estos se colocaron en la centrifuga en 3 etapas: la primera fase por 2 minutos a 30 RPM (revoluciones por minutos), la segunda por 3 minutos a 35 RPM y la última por 5 minutos a 45 RPM; lo anterior se realizó para retirar el exceso de solución precipitante que aun se encontraba en el colágeno.

Después de las fases de centrifugación, el contenido de los tubos de ensaye se colocó en una caja Petri de vidrio, para realizar el secado del colágeno en una estufa de convección forzada por 45 minutos a una temperatura de 105 °C.

El colágeno seco, se retira de la estufa y se almacenó para su posterior uso en la elaboración de la biopelícula biodegradable.

### Elaboración de la biopelícula

En este paso se realiza la biopelícula a base de colágeno, con una mezcla de agua, plastificantes como la glicerina y el alcohol polivinílico. Para la parte experimental se realizan 3 ensayos, variando la cantidad de alcohol polivinílico.

Las mezclas se colocaron en cajas Petri, y se dejan a una temperatura de 20 °C por 24 horas para su secado.

Prueba	Temp	Mezcla	Cantidad
a	60 °c	Colágeno	2 gr
		Agua	12 ml
		Pva al 5%	2 ml
		Glicerina	0.5 ml
b	60 °c	Colágeno	2 gr
		Agua	12 ml
		Pva al 5%	4 ml
		Glicerina	0.5 ml
c	60 °c	Colágeno	2 gr
		Agua	12 ml
		Pva al 5%	8 ml
		Glicerina	0.5 ml

**Tabla 1** Formulación de biopelícula (*Elaboración propia*).

### Pruebas de caracterización

#### Caracterización parcial del colágeno y biopelícula

Se tomaron muestras de los ensayos realizados (extracción de colágeno y elaboración de biopelícula) y se le cuantifico la humedad, cenizas y se les efectuó el análisis por espectrofotometría de infrarrojo. Se realizó también una prueba de porcentaje de hinchamiento y de biodegradabilidad a la biopelícula.

#### Determinación de humedad de la biopelícula de colágeno y biopelícula

Los métodos de determinación de humedad por secado se fundamentan en la evaporación del agua contenida en la muestra, y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} * 100 \quad (1)$$

Dónde:

$P_3$ : masa en gramos de la cápsula con las cenizas

$P_2$ : masa en gramos de la cápsula con la muestra

$P_1$ : masa en gramos de la cápsula vacía

### Determinación de ceniza del colágeno y biopelícula

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica del residuo.

$$\% \text{ cenizas totales} = \frac{P_3 - P_1}{P_2} * 100 \quad (2)$$

Dónde:

$P_3$ : masa en gramos de la cápsula con las cenizas

$P_2$ : masa en gramos de la cápsula con la muestra

$P_1$ : masa en gramos de la cápsula vacía

### Análisis del colágeno y biopelícula en el IR

La determinación de los grupos funcionales del colágeno, se efectuó mediante el estudio de los grupos funcionales empleando el análisis por espectrofotometría de infrarrojo usando el equipo Spetrum One Perkin Elmer.

### Análisis de hinchamiento de la biopelícula

Para la realización de este análisis se utilizaron dos muestras en forma circular, estas se colocaron en 100 ml de agua destilada contenida en un recipiente de cristal. Se pesó las películas secas ( $P_1$ ) y posteriormente se introdujeron las películas por un período de 24 h a temperatura ambiente, y finalmente se pesaron las muestras húmedas ( $P_2$ ).

El porcentaje de hinchamiento fue calculado de acuerdo a la fórmula:

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{P_2 - P_1}{P_1} * 100 \quad (3)$$

### Degradabilidad de biopelículas

Para esta prueba, las biopelículas fueron expuestas al medio ambiente por un periodo de 7 días.

### Resultados

Después de realizar el protocolo de extracción se obtuvo una mezcla proteica de color blanco perla, de textura gelatinosa y espesa.

El colágeno extraído de los restos de la mojarra tilapia, se plastificaron de acuerdo con la tabla 1, obteniéndose los siguientes resultados.

Atributo /Prueba	A	B	C
Color	amarillenta	amarillenta	Ligera-amarillenta
Textura	Rugosa	Semi-rugosa	Lisa
Apariencia	Opaca	Opaca	Transparente
Elasticidad	No	No	Sí

**Tabla 2** Características de las biopelícula (Elaboración propia).



**Figura 1** Biopelícula prueba A.



**Figura 2** Biopelícula prueba B.



**Figura 3** Biopelícula prueba C.

De acuerdo a lo anterior, la biopelícula que presentó los mejores atributos, fue la obtenida en la formulación C.

Las pruebas de caracterización a la biopelícula se realizaron a la correspondiente a la prueba C.

### Caracterización parcial del colágeno y biopelícula

A continuación, se presentan los valores de humedad y cenizas del colágeno y de la biopelícula C.

Prueba/muestra	Colágeno	Biopelícula
Humedad	70.9198 %	19.1936 %
Cenizas	0.1149 %	0.2044 %

**Tabla 2** Caracterización parcial del colágeno y biopelícula (Elaboración propia)

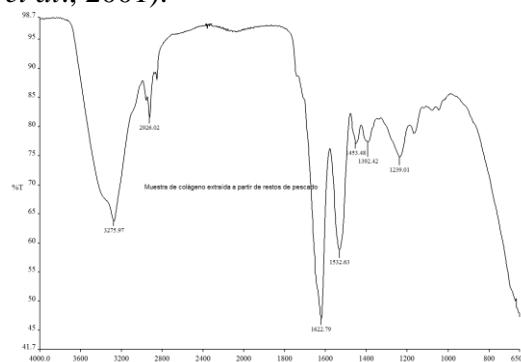
Quintero y Zapata (2017) reportaron una humedad de 95.6% de humedad para colágeno extraída a partir de restos de tilapia roja (*Oreochromis spp*), la diferencia entre ambos valores se explica a que, en el presente trabajo se aplicó una etapa de secado para eliminar el agua presente en la muestra de colágeno extraída.

El valor para las cenizas se explica debido a la etapa de la desmineralización de las escamas de pescado usando EDTA resultando en un método efectivo, ya que se efectuó la quelación de los iones  $Ca^{2+}$  en solución (Pati *et al.*, 2010).

### Análisis del colágeno y biopelícula en el IR

En la figura 4, se puede apreciar el espectro de infrarrojo del colágeno, donde se observa ciertos picos característicos y grupos funcionales, del colágeno.

En esta figura 4 se muestra el espectro IR del colágeno obtenido donde se presenta las bandas relacionadas al colágeno: 3300  $cm^{-1}$ , 1655  $cm^{-1}$ , 1550  $cm^{-1}$  y 1250  $cm^{-1}$  (Camacho *et al.*, 2001).



**Figura 4** Espectro IR de la biopelícula. (Elaboración propia)

De acuerdo con la figura 5, se verificó que existe una disminución de amplitud en la zona funcional del espectro correspondiente a las vibraciones por estiramiento que presentan absorbancias entre 3000 y 3900  $\text{cm}^{-1}$  y las vibraciones por doblamiento del grupo OH entre las 1650  $\text{cm}^{-1}$  debido a la modificación química del colágeno.

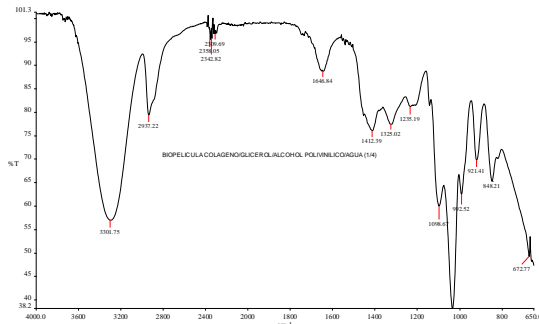


Figura 5 Espectro IR de la biopelícula. (Elaboración propia)

Se presenta una flexión del OH del agua a 1650  $\text{cm}^{-1}$ , lo que confirma el carácter higroscópico del biopolímero (Conley, 1979).

**Análisis de hinchamiento**

El porcentaje de hinchamiento para la biopelícula se determinó en 34.5 %. Esta propiedad se explica debido al carácter higroscópico del colágeno modificado. Esta propiedad le confiere a la biopelícula potencial para ser empleado como biorecubrimiento en alimentos.

**Degradabilidad de biopelícula**

La biopelícula al finalizar el día 7 de exposición al medio ambiente, presentó las siguientes características que se presentan en la tabla 2.

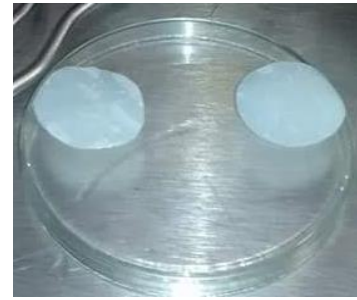


Figura 6 Biopelícula de colágeno día 1

En la figura 6, se puede apreciar la apariencia de la biopelícula al día 1 de exposición al medio ambiente.

Característica	Día 1	Día 7
Color	Transparente	Amarillenta
Textura	Suave	Rugosa
Flexibilidad	Adecuada	Quebradiza

Tabla 3 Prueba de exposición al ambiente

En la figura 7, se puede apreciar la apariencia de la biopelícula al día 7 de exposición al medio ambiente.



Figura 7 Biopelícula de colágeno día 7

**Conclusiones**

La metodología desarrollada para la obtención de una biopelícula a partir de residuos (piel, espinas y escamas) de la tilapia (*Oreochromis niloticus*), permitió obtener un producto con características potenciales para ser utilizado en diferentes ámbitos de la industria, principalmente en la industria alimentaria como empaque para alimentos.



## Agradecimiento

Se agradece a la Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz, por todas las facilidades para el desarrollo del presente trabajo.

## Referencias

- Camacho, N. P., West, P., Torzilli, P. a, & Mendelsohn, R. (2001). FTIR microscopic imaging of collagen and proteoglycan in bovine cartilage. *Biopolymers* 62(1): 1–8.
- Conley, R.T., (1979). Espectroscopía infrarroja. Ed. Alambra. España.
- Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López-Caballero, M.E. y Montero, M.P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*. 25, (8):1813-1827.
- Guerard, F., Decourcelle, N., Sabourin, C., Floch-Laizet, C., Laurent, L.G., Pascal, L.F., Florence, G., Ronan, L.D., Pascal, J. y Patrick, B. (2010). Recent developments of marine ingredients for food and nutraceutical applications: a review. *Journal des sciences Halieutique et Aquatique*. 2, 21-27.
- Quintero, J y Zapata, J.E. (2017). Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Grupo de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Antioquia 28(1): 109-120.
- Liu, H. y Huand, K., (2016). Structural Characteristics of Extracted Collagen from Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Bone: Effects of Ethylenediaminetetraacetic Acid Solution and Hydrochloric Acid Treatment. *International Journal of Food Properties*, 19(1), 63-75.
- Montero, P. y Gómez-Guillén, M.C. 2000. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus bosci*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. *Journal of Food Science*. 65, (3):434-438.
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B. y Duodu, K. G., (2004). Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). En línea: <http://10.1016/j.foodchem.2003.06.006>, *Food Chemistry* 85(1), 81–89.
- Pal, G., Nidheesh, T. y Suresh, P., (2015). Comparative study on characteristics and in vitro fibril formation ability of acid and pepsin soluble collagen from the skin of catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*). *Food Research International*, 76, 804-812.
- Pati, F., Adhikari, B., & Dhara, S. (2010). Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource technology*, 101(10), 3737-3742.
- Prockop, DJ. Guzmán, NA. (2002). Tiempos médicos. Capítulo 4 “El colágeno”. España.
- SAGARPA. (2017). Sonora primer lugar en México en producción pesquera y acuícola. SAGARPA Base de datos.
- Serrano, GJC. (2011). Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis*) y cachama (*Piaractusbrachypomus*). Universidad Nacional de Colombia. Colombia