



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

**"ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE  
INTERVIENEN EN LA EXTRACCION DE  
QUITINA Y QUITOSAN A PARTIR DEL  
EXOESQUELETO DE CAMARON".**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A N :

SIXTO BERROCAL ANA MARIA  
SOTO BAUTISTA ANA MARIA

ASESORES:

**Q.F.B. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO  
M.C. VIRGINIA LARA SAGAHON**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

199

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

7



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTTLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE MEXICO  
CUAUTTLAN, QUERETARO  
MEXICO

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTTLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:  
Estudio de las variables que intervienen en la extracción  
de quitina y quitosán a partir del exoesqueleto de camarón.

que presenta la pasante: Ana María Sixto Berrocal  
con número de cuenta: 8714359-2 para obtener el TITULO de:  
Ingeniera en Alimentos ; en colaboración con:  
Ana María Soto Bautista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlan Izcalli, Edo. de Méx., a 10 de Julio de 1966

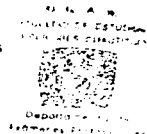
PRESIDENTE I.B.Q. Francisco Montiel Sosa  
VOCAL I.B.Q. Fernando Beristain  
SECRETARIO D.F.B. S. Patricia Miranda Castro  
PRIMER SUPLENTE Dra. Sara E. Valdés Martínez  
SEGUNDO SUPLENTE I.A. Alfredo Alvarez Cárdenas



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Estudio de las variables que intervienen en la extracción de quitina y quitosán a partir del exoesqueleto de camarón.

que presenta la pasante: Ana María Soto Bautista  
con número de cuenta: 8713118-9 para obtener el TITULO de:  
Ingeniera en Alimentos ; en colaboración con:  
Ana María Sixto Berrocal

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautilán Izcalli, Edo. de Méx., a 10 de Julio de 1996

PRESIDENTE : I.B.Q. Francisco Montiel Sosa  
VOCAL : I.B.Q. Fernando Beristain  
SECRETARIO : O.F.B. S. Patricia Miranda Castro  
PRIMER SUPLENTE : Dra. Sara E. Valdés Martínez  
SEGUNDO SUPLENTE : I.A. Alfredo Alvarez Cárdenas

**NADA SOMOS SI SOLOS CAMINAMOS,  
TODO SEREMOS SI NUESTROS PASOS  
CAMINAN JUNTO A OTROS PASOS DIGNOS...**

*S.I.M.*

***GRACIAS DIOS MIO, POR PERMITIRME SIMPLEMENTE SER***  
ANA MA SIXTO B

**A MIS PADRES, *FEDERICO* Y *ANA MARIA*, POR SU SACRIFICIO Y LUCHA, POR DARNOS EL TESORO MAS GRANDE SU AMOR Y SU APOYO INCONDICIONAL**

**A TI PAPA, YA QUE INCLICASTE EN MI EL CORAJE PARA ALCANZAR ESTA META QUE FUE COMO UNA COMPETENCIA Y QUIZA LA MAS DIFICIL**

**PARA TI MAMA, PORQUE ADENAS DE SER UNA AMIGA Y COMPAÑERA FIEL HAS ESTADO CONMIGO CUANDO MAS LO HE NECESITADO**

**A MIS HERMANOS *FEDERICO*, *GUILLEMO* Y *JOSE ANTONIO* POR SU APOYO Y SOBRE TODO PORQUE HAN SIDO UN EJEMPLO DE CORAJE, CONSTANCIA Y SABER ANTE TODOS LOS RETOS QUE LA VIDA NOS IMPONE**

**EN ESPECIAL A MI GRAN AMIGA *ANA* Y A SU *FAMILIA* POR SU DESINTERESADA AMISTAD Y PORQUE CON EL APOYO DE ELLA ESTE TRABAJO SALIO ADELANTE**

**CON CARINO PARA *INGY*, *TIBER*, *SARA*, *CARMEN*, *GIL* Y *TONO*, QUE DE ALGUNA FORMA SIEMPRE ME HAN BRINDADO SU MANO AMIGA**

**PARA *PATY* Y *VICKY* ASESORAS DE ESTE TRABAJO Y ENORMES MUJERES CON QUIEN LA VIDA NO TIENE OBSTACULOS**

CON AMOR, A TI *MAMA* POR SER UNA MUJER EXTRAORDINARIA QUE ME HA  
ALENTADO Y APOYADO INCONDICIONALMENTE EN ESTE LARGO Y SINUOSO  
CAMINO MIL GRACIAS

A MI *PAPA* (q e p d) POR SU LEGADO DE PERSEVERANCIA Y FORTALEZA

A MIS HERMANOS *IRENE, AMELIA, MARY, SOCORRO, MARTIN, TONÑO Y JOSE*.  
GRACIAS POR SU APOYO Y CONSEJOS

A TI *ALFONSO* POR TU AMOR Y PACIENCIA

PARA *FLOR* POR SU VALIOSA COLABORACION PARA LA REALIZACION DE  
ESTE TRABAJO

CON CARINO PARA MIS AMIGAS *ANA* Y *MARA* POR TODOS LOS DÜROS Y  
BELLOS MOMENTOS DE TRABAJO COMPARTIDOS, GRACIAS POR SU  
AMISTAD

A MIS ASESORAS *PATY* Y *LUCKY*, GRANDES MUJERES QUE ME BRINDARON SU  
AMISTAD Y CONOCIMIENTOS INEVALUABLES

**SINCERAMENTE**

**ANA MA. SOTO BAUTISTA**

AGRADECEMOS LAS ATENCIONES PRESTADAS PARA LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO DE LOS DRS MARIANO MARTINEZ Y ARMANDO CABRERA, DEL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA U N A M

DE EL M C RENE MIRANDA DEL LABORATORIO DE ORGANICA Y DE LA DRA L PATRICIA MARTINEZ DEL LABORATORIO DE REOLOGIA, DE LA FES CUAUTITLAN

## RESUMEN

La quitina es un polímero muy abundante en la naturaleza, ya que se encuentra como constituyente del exoesqueleto de los artrópodos y en las paredes de las células de muchos hongos y algas. Este polímero es de gran interés ya que su extracción a partir de los exoesqueletos de crustáceos representa una alternativa ecológica muy importante, porque estos desechos pueden aprovecharse como materia prima reduciéndose así su acumulación, y por consiguiente el problema ambiental que esto provoca en México y otras zonas pesqueras del mundo.

El principal derivado químico de la quitina es el quitosán (quitina parcial o totalmente desacetilada) ya que sus características de solubilidad lo han hecho atractivo para su aplicación en muy diversas industrias, por ejemplo como agente quelante, coagulante o aditivo en preparaciones farmacéuticas.

El proceso general para obtener quitina y quitosán a partir del caparazón de los crustáceos consiste básicamente en tres pasos: *desmineralización*, *desproteínamiento* y *desacetilación*, sin embargo se han desarrollado una variedad de procedimientos para preparar quitina y quitosán. Algunos de estos procedimientos están basados en reacciones químicas, mientras que otros en una combinación de reacciones químicas y enzimáticas. Estas diferencias en la preparación, así como las diferencias propias de la especie de donde proviene el material quitinoso, da como resultado un producto con diferentes propiedades tanto físicas como químicas.

Por lo anterior para un aprovechamiento potencial de los desperdicios generados durante el procesamiento del camarón, el objetivo de este trabajo fue estudiar las variables que influyen en la extracción química de la quitina a partir del exoesqueleto de camarón, preparar quitosán bajo diferentes condiciones de desacetilación y determinar el índice de consistencia de los diferentes quitosanes preparados para evaluar el efecto de las variables de desacetilación sobre el índice de consistencia.

En este trabajo se utilizaron los caparazones del camarón rojo o cristal (*Penaeus brevimistris*) y las variables estudiadas fueron la concentración del NaOH y HCl, la temperatura, el tiempo, el volumen de reacción, la agitación y sus interacciones.

Los resultados obtenidos en la extracción química de la quitina indicaron que durante la desmineralización las variables más importantes para reducir el contenido de minerales en el caparazón de camarón fueron la concentración de HCl, el volumen de reacción y su interacción, logrando reducir el contenido de minerales hasta en un 99.4% al utilizar HCl al 5% y un volumen de reacción 1.20 (p/v).



En la desproteínización las variables con efectos significativos para reducir el contenido de proteínas en el caparazón de camarón fueron la concentración de NaOH, la temperatura y el volumen de reacción, obteniendo un promedio de 0.158% de proteína residual en la quitina al utilizar la concentración de NaOH de 1.5%, la temperatura de ebullición y el volumen de reacción 1:20 (p/v).

Durante la desacetilación de la quitina se obtuvieron 16 muestras de quitosán que presentaron diferente solubilidad en ácido acético diluido así como un comportamiento de fluido pseudoplástico en aquellos que fueron caracterizados reológicamente, con el fin evaluar el efecto de las variables de desacetilación sobre el índice de consistencia. El análisis del diseño indicó que durante la desacetilación de la quitina, las variables que tuvieron efectos importantes sobre el índice de consistencia fueron la concentración de NaOH, la temperatura y su interacción.

# INDICE

<b>NOMENCLATURA.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>4</b>
<b>1. ANTECEDENTES.....</b>	<b>5</b>
1.1 FUENTES DE OBTENCION DE QUITINA.....	5
1.1.1 <i>Quitina en crustaceos</i> .....	6
1.1.2 <i>Desperdicios del camarón como fuente de quitina</i> .....	7
1.2 GENERALIDADES SOBRE QUITINA.....	14
1.2.1 <i>Estructura de la quitina</i> .....	14
1.2.2 <i>Propiedades de la quitina</i> .....	15
1.2.3 <i>Modificaciones químicas de la quitina</i> .....	16
1.2.4 <i>Propiedades del quitosán</i> .....	17
1.3 APLICACIONES DE POLÍMEROS QUITINOSOS.....	18
1.4 FORMAS DE OBTENCION DE LA QUITINA Y EL QUITOSAN.....	21
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>2. METODOLOGIA.....</b>	<b>28</b>
2.1 OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA (CAPARAZON DE CAMARON).....	28
2.1.1 <i>Origen de los desechos de camarón</i> .....	28
2.1.2 <i>Obtencion del polvo de camarón</i> .....	28
2.1.3 <i>Determinacion del tamaño de partícula</i> .....	28
2.1.4 <i>Análisis químicos de la materia prima</i> .....	31
2.2 DESPROTEINIZACION.....	31
2.3 DESMINERALIZACION.....	32
2.4 IDENTIFICACION DE LA QUITINA.....	34
2.4.1 <i>Análisis intrínsecos de la quitina</i> .....	34
2.4.2 <i>Pruebas cualitativas de solubilidad de la quitina</i> .....	34
2.5 OBTENCION DE QUITOSAN.....	34
2.5.1 <i>Pruebas cualitativas de solubilidad del quitosán</i> .....	35
2.5.2 <i>Caracterización reológica de las muestras de quitosán</i> .....	36
2.6 IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS DE QUITOSAN.....	36
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>38</b>
3.1 OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA.....	38
3.2 DESPROTEINIZACION DEL POLVO DE CAPARAZONES DE CAMARON.....	39
3.3 DESMINERALIZACION DEL POLVO DE CAPARAZONES DE CAMARON.....	41
3.4 DESPROTEINIZACION DEL POLVO DE CAMARON PREVIAMENTE DESMINERALIZADO A LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS.....	45
3.5 IDENTIFICACION DE LA QUITINA.....	49
3.6 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE LA QUITINA.....	49
3.7 OBTENCION DE QUITOSAN.....	49
3.8 CARACTERIZACION REOLOGICA DE LAS MUESTRAS DE QUITOSAN.....	53
3.9 IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS DE QUITOSAN.....	59

<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>SUGERENCIAS.....</b>	<b>64</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO 1. TECNICAS DE CONTROL.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXO 2. ANALISIS ESTADISTICOS.....</b>	<b>77</b>

## NOMENCLATURA

<b>LiCl</b>	cloruro de litio
<b>NaOH</b>	hidróxido de sodio
<b>KOH</b>	hidróxido de potasio
<b>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b>	ácido fosfórico
<b>NAG</b>	N-acetilglucosamina
<b>DMAC</b>	N,N-dimetilacetamida
<b>HCl</b>	ácido clorhídrico
<b>EDTA</b>	etilendinitrotetraacetato
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	carbonato de calcio
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	cloruro de calcio
<b>KBr</b>	bromuro de potasio
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	ácido sulfúrico
<b>CO<sub>2</sub></b>	dioxido de carbono
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	peróxido de hidrógeno
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	sulfato de amonio
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	sulfato de sodio
<b>CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O</b>	sulfato de cobre pentahidratado
<b>HBO<sub>3</sub></b>	ácido bórico
<b>NH<sub>4</sub></b>	amonio
<b>NH<sub>3</sub></b>	amoníaco
<b>BO<sub>3</sub></b>	ion borato
<b>K</b>	índice de consistencia
<b>n</b>	índice de comportamiento
<b>τ</b>	esfuerzo cortante
<b>γ̇</b>	velocidad de deformación

## INTRODUCCION

Actualmente, la importancia que tiene el cuidado del medio ambiente y el reciclaje del material de desecho, han forzado a las naciones a tratar de considerar alternativas que reduzcan las descargas de los desechos provenientes del procesamiento de los crustáceos, ya que su biodegradabilidad es muy lenta y pueden causar un grave problema de contaminación si no son tratados adecuadamente.

En este trabajo se propone como una alternativa de protección al medio ambiente, la utilización de los desechos generados en la industria camaronera mexicana, específicamente el caparazón de camarón, para obtener un biopolímero degradable que pueda ser utilizado en diferentes ramas de la industria.

Esto es posible, ya que estructuralmente el caparazón de camarón contiene cantidades significativas de quitina (20-30% a), la cual representa el segundo polímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Químicamente esta formada de unidades de N-acetilglucosamina unidas por enlaces  $\beta(1-4)$  principalmente, aunque también existen los enlaces  $\alpha$  y  $\gamma$ , dicha estructura le permite formar estructuras lineales extendidas en tejidos vivos. En virtud de ello, la quitina posee la capacidad de conferir soporte al esqueleto de crustáceos, insectos, arácnidos y la pared celular de algunos tipos de hongos.<sup>(1, 45)</sup>

El principal derivado químico de la quitina es el quitosán, que es quitina parcialmente desacetilada, el cual por ser soluble en agua ligeramente acidificada lo ha hecho atractivo para su aplicación en muy diversas ramas de la industria como la farmacéutica, la del papel, cosméticos, alimentos, en la agricultura y en el tratamiento de aguas de desecho.

De esta manera se plantea el aprovechamiento de estos desechos para la obtención de dos productos con alto valor agregado como son la **Quitina** y **Quitosán**, de los cuales se espera que su demanda en el mundo presente un aumento repentino en las próximas décadas.

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1. FUENTES DE OBTENCION DE QUITINA

QUITINA del griego CHITON, significa Túnica. Es un polisacárido proteico córneo, insoluble, que constituye el exoesqueleto de los Artropodos (crustáceos, algunos moluscos e insectos) y las paredes de las células de muchos hongos y algas (12, 13, 41, 44, 52). En la tabla 1, se presenta el contenido de quitina en algunos crustáceos, insectos, órganos de moluscos y hongos.

Tabla 1. Contenido de QUITINA en Crustáceos, insectos, órganos de moluscos y hongos.

TIPO	CONTENIDO DE QUITINA (%)	TIPO	CONTENIDO DE QUITINA (%)
Crustáceos		Insectos	
-Camareto cangrejo	72.10	-Cucaracha Periplaneta	2.0
-Camareto carinos	0.4-3.3	-Cucaracha Blatella	18.1 10.0
	8.29		35.0
	64.29	-Escarabajo Coleoptera	2.45 27.48
-Camareto king (Paralithodes)	35.00		2.1
-Camareto azul (Callinectes)	11.00	-Escarabajo Tenetrio	4.0
			31.3
-Camareto rojo (Decapoda, osten)	13.1-8	-Escarabajo más	16.6
-Camaron Crinon	5.8	-Mosaca vertebrada deptera	8.8
	69.1		
-Camaron Alaska	28.0	-Mariposa ozútre prius	65.0
-Langosta neotropis	69.8	-Saltamontes	2.4
	6.7		20.0
-Langosta homarus	60.8-70	-Gusano de seda Bombyx	14.2
-Percebe lejas	56.3	-Gusano de cera Galleria	33.2
Hongos		Organos de moluscos	
-Aspergillus niger	32.0	-Concha de almeja	6.1
-Penicillium notatum	18.5	-Concha de ostra	3.6
-Penicillium chrysogenum	20.1	-Esqueleto de calamar	41.0
-Saccharomyces cerevisiae	2.0		
-Alveola rousii	44.5	-Krill (concha desproteínizada)	10.2-8.2
-Lactaria vellosus	19.0		

Fuente: Knorr Dietrich, 1984. Use of chitinous polymers in food. Food Technology 38 (1):85.

### 1.1.1. Quitina en crustáceos

Los animales que forman el reino de los Artrópodos son sin duda los que lograron el mejor resultado biológico. Se conocen siete clases de Artrópodos: los trilobitos, los crustáceos, los quilópodos, los diplopodos, los aracnidos, los merestomas y los insectos.

Todos los Artrópodos son de cuerpos segmentados cubiertos de un exoesqueleto duro, quitinoso, segregado por el epitelio subyacente. La cutícula tiene una capa externa cerosa impermeable al agua, una capa media rígida y una capa externa flexible de quitina. La capa rígida se adelgaza en algunas regiones, por ejemplo en las articulaciones de las patas y entre los segmentos del cuerpo, esto permite que la cutícula en conjunto se pueda doblar. Esta capa protege al cuerpo contra la desecación excesiva y del ataque de los enemigos, además brinda sostén a los tejidos blandos subyacentes.<sup>(56)</sup>

De las siete clases de Artrópodos que se conocen, la que nos interesa, por el momento es la crustácea. Los crustáceos se diferencian de los otros Artrópodos por tener dos pares de antenas o tentáculos sensitivos, un par de mandíbulas, dos pares de maxilares sobre su cabeza y por su respiración branquial. Tienen el cuerpo recubierto de un tegumento calcáreo al cual deben su nombre (Crustacosta o corteza).

El exoesqueleto, el cual protege al cuerpo y provee unión a los músculos de los crustáceos, está formado de segmentos heterónomos agrupados regularmente en tres regiones: Perion, Pleon y Telson y es secretado sobre toda la superficie del cuerpo por una capa de células, la epidermis (hipodermis). Varía desde un delgado, flexible e indiferenciado saco, hasta un caparazón masivo y rígido.<sup>(56, 57)</sup>

El exoesqueleto está compuesto de dos partes: una epicutícula sin quitina o cera y una cutícula quitinosa. Por dondequiera el integumento es a menudo endurecido por la deposición de sales de calcio. Secretiones de las glándulas dérmicas en varias partes del cuerpo sirven para una gran variedad de propósitos: atrapar partículas de alimento antes de ser tragadas, formar una capa gelatinosa alrededor del cuerpo para resistir la desecación, cementar a el animal a una superficie y cementar granos de arena o filamentos de alga para hacer madriguera.<sup>(56)</sup>

Los crustáceos son la única clase de Artrópodos primariamente acuática, unas veces pelágicos nadadores y otras reptantes, marchando sobre el fondo, casi todos son marinos pero algunos viven en agua dulce. En relación con sus diversos generos de vida pueden presentar apéndices de formas muy variadas, en lo cual se basa en gran parte su clasificación.<sup>(51, 56, 57)</sup>

Los crustáceos se clasifican en dos grandes grupos: 1) Entomostráceos o crustáceos inferiores y 2) Malacostráceos o crustáceos superiores.

Los entomostráceos, son generalmente pequeños y de organización sencilla. Los segmentos del cuerpo son variables y carecen de apéndices abdominales o leopodos.

**Ejemplo, los percebes y caramujos** Dentro de este grupo se encuentran varios ordenes <sup>(20)</sup>.

- a) Filópodos o Branquiópodos cuyo cuerpo puede estar protegido, o no, por un caparazón bivalvo de escudo, sus patas aplanadas, adaptadas para la natación, la respiración y la masticación Ejemplo *Artemia*
- b) Copépodos presentan un cuerpo con cinco segmentos torácicos y cinco abdominales, la segunda antena es natatoria. Este orden es muy abundante en nuestros mares y constituye una gran fuente de alimentación para los peces. Forman parte del plancton animal (Zooplancton)
- c) Cirripodos o Cirropodos son animales fijos en estado adulto, su cuerpo no es segmentado. Están protegidos por un manto incrustado de piezas calcificadas

Los Malacostráceos son de organización más complicada, de cuerpo diferenciado en cabeza, tórax y abdomen, con varios segmentos del cuerpo y dos series de apéndices pereopódicos y pleopódicos. En este grupo se mencionan también varios ordenes dentro de los cuales los de mayor significación son los siguientes <sup>(20)</sup>

- a) Los Estomópodos, presentan los cuatro últimos segmentos torácicos al descubierto, su rostro es móvil, tienen cinco pares de apéndices maxilares, siendo el segundo par muy robusto. Presenta un abdomen más desarrollado, con pleopodos. Ejemplo *Squilla* (Cangrejo)
- b) Los Decápodos son los más importantes desde el punto de vista económico e industrial. Presentan diez pereopodos (patas ambulatorias) a lo que alude su nombre. Tienen también el caparazón muy desarrollado. Entre sus representantes más importantes tenemos la langosta de mar (*Penaeus*), el cangrejo ermitaño o soldado (*Pagurus*), de abdomen blanco, al cual protege alojándose en las conchas vacías de moluscos gastropódicos, las diferentes clases de jabras (*Callinectes* y *Portunus*) y otros cangrejos de nuestras costas, los diferentes camarones marinos con el género *Penaeus* y los camarones de río con el género *Macrobrachium*, como representantes más importantes.

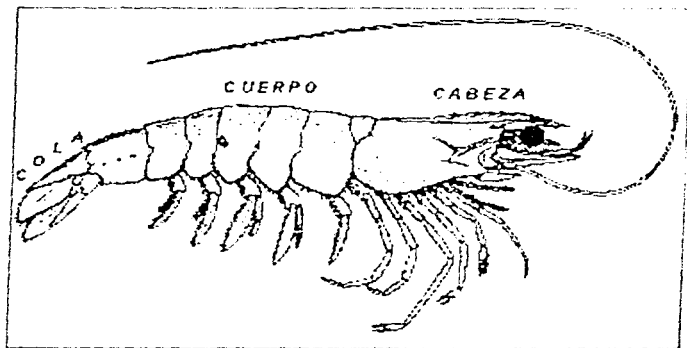
### 1.1.2. Desperdicios del camarón como fuente de quitina

El camarón como ya se mencionó, es un crustáceo marino comestible, de cuerpo comprimido y antenas largas, presenta apéndices diferentes que le sirven para cumplir funciones distintas. Su cuerpo está protegido por un caparazón quitinoso, incrustado de carbonato cálcico que forma una armadura muy consistente y articulada, la cual deja en libertad de movimientos a su cuerpo y sus miembros <sup>(21, 20)</sup>

La figura 1 muestra el cuerpo de un camarón, el cual consta de tres regiones con segmentación muy desigual: cefalotorax, abdomen y telson <sup>(20, 21)</sup>



- a) Cefalotórax o Perión: gran pieza calcárea en que se asientan las extremidades ambulatorias, esta dividida por un surco en dos porciones, cabeza y tórax. Por delante se prolonga en forma puntiaguda y recibe el nombre de rostro.
- b) Abdomen o Pleon: consta de seis segmentos (metámeros) articulados, cada uno con su par de apéndices. Sirve de asiento a las extremidades natatorias.
- c) Telson: lo constituyen dos segmentos sin apéndices, con los dos uropodos, forma la aleta caudal.



**Figura 1. Camarón Rojo ó Cristal (*Penaeus brevirostris*)**

La composición química del camarón fresco se muestra en la tabla 2

**Tabla 2 Composición química del camarón.**

COMPONENTE	CONTENIDO (%)
Agua	78.42
Proteína	18.53
CHOS	1.76
Grasa	0.88
Minerales	0.31

Fuente: Braverman J.R.S., 1980. *Introducción a la bioquímica de los alimentos. Edt. El manual moderno México*

Además el camarón contiene grandes cantidades de aminoácidos como son glicina, leucina, prolina, arginina, alanina, ácido glutámico, histidina, isoleucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Es fuente de vitaminas como ácido pantoténico, riboflavina, ácido fólico, niacina, biotina y vitamina B<sub>12</sub>.<sup>(19)</sup>

La masa de caparazón, considerada como desperdicio, equivale aproximadamente al 35% del peso total del camarón.<sup>(20)</sup> Estos desperdicios contienen quitina, proteína y carbonato de calcio en porcentajes que pueden variar en los siguientes rangos.<sup>(18, 21)</sup>

- Proteína 34.0-40% (28% adventicia y 12% ligada firmemente)
- CaCO<sub>3</sub> 18.1-33%
- Quitina 18.1-27%

El camarón es una especie que se encuentra distribuida en los litorales mexicanos del Pacífico, Golfo y Caribe, así como en esteros y lagunas costeras. Dentro de las especies que se desarrollan en aguas nacionales se tienen:<sup>(1, 22)</sup>

a) EN EL LITORAL GOLFO-CARIBE

-Camarón café	<i>Penaeus aztecus</i>
-Camarón rosa o rojo	<i>Penaeus brasiliensis</i>
-Camarón de roca	<i>Stomatopoda brevirostris</i>
-Camarón siete barba	<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>
-Camarón rosado	<i>Penaeus duorarum</i>
-Camarón blanco	<i>Penaeus setiferus</i>
-Camarón rojo o gigante	<i>Hymenopenaeus robustus</i>

## b) EN EL LITORAL DEL PACIFICO

-Camaron azul	<i>Penaeus stylirostris</i>
-Camaron blanco	<i>Penaeus vannamei</i>
-Camaron café	<i>Penaeus californiensis</i>
-Camaron piedra, de roca	<i>Stomatopoda pumillata</i>
-Camaron rojo o cristalino	<i>Penaeus brevisirostris</i>
-Camaron siete barbas	<i>Xiphopenaeus riveti</i>
-Camaron blanco	<i>Penaeus occidentalis</i>
-Camaron botalon	<i>Trachypenaeus similis</i>
-Camaron cebra	<i>Trachypenaeus fauci</i>

Han sido descritas cerca de 318 especies de camarón, divididas en cuatro subfamilias: *Arctamidae*, *Solenocerinae*, *Stomatopoda* y *Penaeinae*. La familia *Penaeidae*, constituye principalmente las especies comerciales de camarón de nuestros litorales. Se encuentran tanto en aguas someras como en profundas (desde la línea de la playa hasta profundidades de 27 m), en regiones tropicales, subtropicales y templadas. En el estado adulto y fresco, se distinguen las diferentes especies por su coloración. La talla comercial varía de 11.5 a 20 cm<sup>(20, 21)</sup>.

En mar abierto se supone que la alimentación de camarón está formada por residuos de prácticamente todas las formas marinas tales como: moluscos, peces, algas, crustáceos, anélidos y demás fauna marina. Debido a sus hábitos de nadadores demersales, están más relacionados con la fauna bentónica demersal, por lo tanto el nicho ecológico de los *Penaeidos*, posee la función de nutrición del animal dentro de la comunidad según las relaciones con el alimento disponible, está ubicado dentro de omnívoro con tendencia a carnívoro.

El crecimiento de estos crustáceos es superficialmente discontinuo, a esta modalidad se le denomina muda o cambio de tegumento, técnicamente llamado proceso de ecdisis. En cada muda, que es periódica, el camarón abandona el tegumento íntegramente, permitiendo, por simple absorción de agua, el aumento inmediato de tamaño y peso. El nuevo tegumento se endurece posteriormente por acumulación de sales de calcio y el agua es reemplazada por tejidos.

Debido al ritmo de crecimiento acelerado estos animales llegan al tamaño comercial antes de un año, variando ello con las especies y regiones. Sin embargo los camarones viven un periodo corto, de un año y medio a dos aproximadamente, por lo cual están una sola vez en la región costera, lo mismo que la región de reproducción y pesca de alta mar. Esto constituye en hecho importante para la regulación de la pesquería.

Las especies del Pacífico que más se capturan en aguas oceánicas son, en orden de importancia, el camarón café, el azul, el blanco y el rojo. La temporada de pesca se encuentra reglamentada estableciéndose una veda anual, del 1º de marzo al 15 de septiembre en aguas protegidas y del 15 de abril al 31 de octubre en altamar.

En cuanto a su producción en el Golfo de México, el camarón color rosa, se pesca en dos zonas al sur del Golfo. El camarón pardo, se pesca en el norte y oeste de Yucatán. El camarón blanco se captura alrededor de la desembocadura del río Mississippi, disminuyendo su producción al este y al oeste, además de una pequeña bolsa en la punta sur del Golfo cercano a Yucatán. Estas áreas camaronerías no son continuas, debido, en parte, a que el tipo de fondo no permite arrastres.

La zona más rica del producto es la zona de Campeche que produce un 70% de volumen de esta pesquería de alta mar. Las especies de camarón más explotadas, por los pescadores mexicanos, son, en orden de importancia: el camarón rosado (*Penaeus duorarum*), el cate (*Penaeus californiensis*), el blanco (*Penaeus vannamei*) y el camarón rojo o cristal (*Penaeus brevispinis*). La captura en este Litoral se lleva a cabo durante todo el año, siendo la época de mayor abundancia de junio a septiembre.<sup>16, 17</sup>

En México el volumen de captura del camarón en la última década, ha tenido una producción constante entre 60 y 80 mil toneladas anuales en peso vivo<sup>18, 20</sup>, como se muestra en la figura 2.

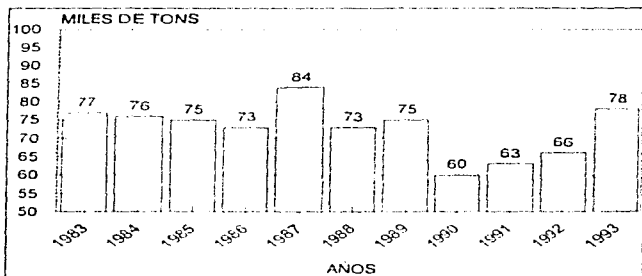


Fig. 2. Producción de camarón en México en la última década.

Para 1993 el volumen de captura en peso vivo y peso desembarcado se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Volumen de captura en peso vivo y desembarcado.

	Peso vivo	Peso desembarcado
Camarón	78,096 tons	60,088 tons

Fuente: Anuario estadístico de Pesca, 1993  
Secretaría de Pesca México

Siendo el volumen de producción pesquera en peso vivo por litoral el que se muestra en la tabla 4

**Tabla 4 Volumen de producción en peso vivo por litoral.**

	Total	Pacífico	Golfo y Caribe
Camarón	78,006 tn	51,027	26,979

Fuente: Anuario estadístico de Pesca, 1993.  
Secretaría de Pesca, México

Los principales productores por Estado correspondientes al Litoral del Pacífico y el Litoral del Golfo y del Caribe se muestran en las tablas 5 y 6

**Tabla 5. Volumen de la producción pesquera de camarón en peso vivo por origen y entidad federativa, 1993.**

(TONELADAS)

LITORAL Y ENTIDAD	TOTAL	ALTAMAR	CLTIVO	ESTEROS Y BAHÍAS
TOTAL	78006	41380	11846	24780
LITORAL DEL PACIFICO	51027	20148	11753	19136
BATA CALIFORNIA	473	473	-	-
PAJA CALIFORNIA SUR	782	430	83	296
SONORA	10518	6755	2054	1709
SINALOA	27181	8945	8510	9726
NAYARIT	218	158	812	1848
JAISCO	85	2	-	83
COLIMA	29	312	-	8
GUERRERO	142	57	-	85
OAXACA	4611	2171	-	2440
CHIAPAS	1097	875	294	2968
LITORAL DEL GOLFO Y CARIBE	26979	21242	93	5644
TAMAULIPAS	13504	9596	93	3815
VERACRUZ	1355	1330	-	216
TABASCO	183	170	-	13
CAMPESIN	10183	8595	-	1588
YUCATAN	79	68	-	11
QUINTANA ROO	1475	1474	-	-

Fuente: Anuario estadístico de pesca, 1993. Secretaría de Pesca, México

**Tabla 6. Volumen de la producción pesquera de camarón en peso desembarcado por origen y entidad federativa, 1993.**

(TONELADAS)

LITORAL Y ENTIDAD	TOTAL	ALTAMAR	CULTIVO	ESTEROS Y BAHÍAS
TOTAL	60688	29254	11846	18988
LITORAL DEL PACÍFICO	58974	15075	11753	14976
BAJA CALIFORNIA	294	294	-	-
BAJA CALIFORNIA SUR	489	267	83	299
SONORA	7686	4564	2054	1068
SINALOA	20470	5591	8510	6369
NAYARIT	2550	99	812	1639
JALISCO	85	7	-	83
COLIMA	208	201	-	7
GUERRERO	136	54	-	82
OAXACA	3324	1447	-	1877
CHIAPAS	3682	576	294	2812
LITORAL DEL GOLFO Y CARIBE	21164	16159	93	4912
TAMAULIPAS	11362	7802	93	3467
VERACRUZ	1448	1210	-	238
TABASCO	114	106	-	8
CAMPICHE	7271	6082	-	1189
YUCATAN	80	43	-	37
QUINTANA ROO	916	916	-	-

Fuente: Anuario estadístico de pesca, 1993. Secretaría de Pesca, México.

Actualmente, México es uno de los principales proveedores mundiales de camarón y ocupa el séptimo lugar en volumen capturado, del cual entre 20 y 30 mil toneladas se destinan al mercado de exportación de Canadá, España, Estados Unidos, Inglaterra y Japón principalmente y el resto al consumo nacional aparente (5,33,70).

Si consideramos que el 35% del peso total del camarón es considerado como desecho y el 18.1-27% de este desecho es quinita (dependiendo del método de procesamiento y la especie, esto quiere decir que si México tiene en promedio una captura de 70,000 toneladas anuales de camarón, 24,500 toneladas serían de desecho, lo que representaría aproximadamente 4,134.5 - 6,015 toneladas de quinita. Lo que deja ver claramente que efectivamente los desechos provenientes del camarón representan una fuente barata de quinita, dándose así una alternativa para el aprovechamiento del material de desecho proveniente del mar.

## 1.2. GENERALIDADES SOBRE QUITINA.

La quitina es un biopolímero natural muy abundante en la naturaleza, junto con otros materiales (proteínas y sales minerales) aparece como constituyente estructural de los Artrópodos, hongos y algas unicelulares. Químicamente se describe como  $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa o  $\beta$ -1-4 N-acetil-D-glucosamina. En la naturaleza se encuentra en distintas configuraciones,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  quitina, siendo la más abundante la  $\alpha$ -quitina<sup>(19, 17, 28, 50)</sup>

La quitina es un polisacárido formado de unidades de aminoazúcares (2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa), unidas por enlaces del tipo  $\beta$ -1-4<sup>(29)</sup>. En este biopolímero los grupos amino se encuentran acetilados, por lo que la quitina corresponde a una anada de ácido acético<sup>(44)</sup>. Este aminopolisacárido es de tipo lineal, llegando a formar cadenas de miles de unidades de N-acetilglucosamina, por ejemplo, el peso molecular de la quitina puede ser de  $1-2 \times 10^7$ , pero puede variar considerablemente debido a los métodos de extracción<sup>(17, 19, 28, 26, 50)</sup>.

### 1.2.1. Estructura de la quitina

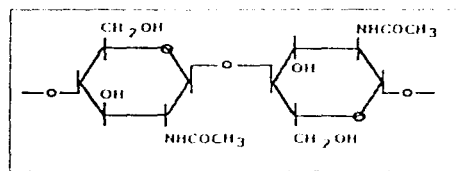


Fig. 3. Estructura química de la quitina.

Estructuralmente la quitina es similar a la celulosa, un polímero de unidades de glucosa, en particular el tipo de enlace intermonómeros es del tipo 1,4 para ambos. La diferencia entre los dos polímeros es que el grupo hidroxilo en la posición C-2 de la celulosa es reemplazado en la quitina por un grupo acetamido (-NHCOCH<sub>3</sub>).

La quitina de diferentes fuentes ha mostrado ser estructuralmente similar aunque su asociación con proteína y carbonato de calcio, puede diferir con las especies de mariscos<sup>(17)</sup>.

Como uno de los tres diferentes sistemas moleculares aparte del sistema de celulosa y del colágeno, la quitina normalmente aparece como mucopolisacárido, esto es, conjugado

con proteínas <sup>(11)</sup> De ahí que la quitina no es una identidad polimérica simplemente, sino que representa una familia de productos derivados de complejos quitina-proteínas naturales <sup>(7)</sup>

El sistema de la quitina es el reverso del sistema colágeno, en el sistema de la quitina se tiene un recuadro de polisacárido fibroso, reforzado y modificado por una matriz de proteína y en el sistema colágeno se tiene un recuadro de proteína reforzado y modificado por una matriz de polisacárido <sup>(11)</sup>

### 1.2.2. Propiedades de la quitina.

La quitina es un sólido blanco, que generalmente posee algunos grados de cristalinidad, dependiendo de la especie de la cual provenga, tiene una extraordinaria combinación de propiedades: dureza, bioactividad y biodegradabilidad.

La quitina es insoluble en agua y solventes ordinarios como ácidos diluidos, álcalis calientes y solventes orgánicos. Solo es soluble en ácidos fuertes, en algunos fluoroalcoholes y ciertas soluciones de sales hidrotópicas, pero estos presentan el inconveniente de alterar la estructura química de la quitina, por lo que es inconveniente su uso <sup>(7, 11)</sup>. Otros sistemas de disolventes más complejos tales como ácidos carboxílicos, ácidos cloroacéticos y ácido fórmico, han sido reportados <sup>(16)</sup>. Una solución de LiCl/N-metil piperidiona es atractiva para solubilizar a la  $\beta$ -quitina y formar monofilamentos, y al solubilizar a la  $\beta$ -quitina en una mezcla de ácido fórmico-clorohidrocarbónico, se forman películas transparentes con una simple evaporación del solvente <sup>(19, 26, 52)</sup>

El sistema de solvente adecuado para que la quitina no se degrade es el N,N-dimetilacetamida en solución con cloruro de litio (LiCl) al 5%, el cual da una solución de jarabe de quitina que puede ser extruida o hilada en alcohol o acetona para hacer filamentos. El descubrimiento de este sistema ha dado la oportunidad de poder determinar la rotación óptica de la quitina y considerar esta como un parámetro adicional en la medida de sus propiedades físicas, lo cual es útil en el control de calidad del polímero, sobre todo cuando se emplea en evaluaciones biológicas <sup>(7, 19)</sup>

Con una congelación y descongelación repetida de la quitina en solución alcalina, esta puede ser totalmente disuelta y se asume que este proceso ocurre ya que la estructura de la quitina se hace muy quebradiza <sup>(11)</sup>

La higroscopicidad de la quitina es casi igual a la de las fibras de celulosa y considerablemente mayor que aquellas de fibras ramificadas, solo que la quitina es menos activa y permeable en su superficie al agua que las fibras de celulosa. El poder higroscópico de la quitina, la quitina microcristalina y el quitosán es significativamente más alto que el de la celulosa microcristalina y, posiblemente la diferencia se encuentra en la cantidad de grupos salinos y proteínas de los materiales <sup>(19, 41)</sup>



### 1.2.3. Modificaciones químicas de la quitina.

La quitina es considerada como un nuevo tipo de material polimérico con grandes posibilidades de aplicación con respecto a la celulosa, ya que es un aminopolisacárido capaz de sufrir muchas modificaciones químicas mediante reacciones adicionales, obteniéndose un gran número de derivados que presentan diferentes propiedades físicas y químicas, con diversas aplicaciones.<sup>(42)</sup> A continuación se presentan algunas de las modificaciones químicas que puede sufrir la quitina:

Una hidrólisis química o enzimática de la quitina da como productos oligómeros de aminoazúcares tales como N-acetilglucosamina, quitobiosa y quitotriosa, los cuales tienen potenciales de uso muy importantes en medicina.<sup>(18, 42)</sup> Mediante hidrólisis en medio ácido, la quitina se transforma en quitobiosa, que es un aminoazúcar formado por dos unidades de N-acetilglucosamina.<sup>(19)</sup>

La quitina microcristalina se puede preparar a partir de quitina mediante una hidrólisis con ácido fosfórico en 2-propanol, se azulla la dispersión acuosa, se filtra y posteriormente se seca el material filtrado. Esta forma microcristalina de la quitina es de más fácil dispersión, bajo peso molecular, en comparación con el de la quitina nativa, tiene poder para secuestrar el agua y muestra buenas propiedades emulsificantes con capacidad emulsionante de 900-147ml de aceite/g de quitina cuando es dispersada para usarse en la producción de una emulsión.<sup>(27, 30, 31)</sup>

El procedimiento para la preparación de quitina coloidal consiste en la disolución y la precipitación de la quitina en ácido clorhídrico concentrado (37% de pureza) y la dispersión del precipitado de quitina en agua. Esta quitina coloidal sirve como sustrato de quitinasa y como fuente de carbono y nitrógeno a microorganismos quitinolíticos.<sup>(17, 51)</sup>

La quitina como biopolímero no soluble en agua puede ser desacetilada y convertida en quitosán, mediante una hidrólisis con NaOH o KOH a temperaturas elevadas, siendo este un polímero modificado en sus grupos funcionales (los grupos acetamido son hidrolizados y se liberan los grupos amino), lo cual lo hace hidrosoluble y con propiedades reológicas diferentes con una amplísima gama de aplicaciones a nivel industrial como se muestra en la tabla 7.<sup>(18, 42)</sup> La preparación de quitosán se hace hasta garantizar que se va a obtener un producto completamente soluble en diluciones de ácido clorhídrico o ácidos orgánicos, así como insoluble en solventes alcalinos.<sup>(19)</sup>

La sulfatación de la quitina y quitosán es una modificación atractiva, ya que presenta la posibilidad de preparar polisacáridos anticoagulantes (quitosán sulfatado) con una estructura similar a la de la heparina. Para la sulfatación se han empleado varios agentes que incluyen ácido sulfúrico concentrado, sulfuro trióxido/piridina, sulfuro trióxido/sulfuro dióxido y ácido clorosulfónico, pero de estos solo el penúltimo es comúnmente usado.<sup>(42)</sup>

El derivado de la quitina que mayor atención y usos ha recibido es el quitosán, que es la forma desacetilada de la quitina, químicamente descrita como (1-4)-2-amino-2-deoxi- $\beta$ -D-glucosa, siendo un polielectrolito hidrofílico. Al igual que la quitina, es uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza, es muy buen polícatión y tiene aplicaciones industriales extremadamente importantes.<sup>(19, 21, 43, 60)</sup> En la figura 4 se presenta la estructura química del quitosán.

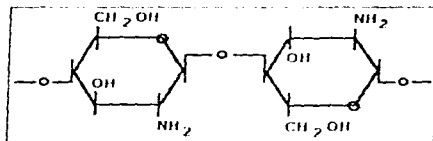


Fig. 4. Estructura química del quitosán.

#### 1.2.4. Propiedades del quitosán.

##### A. Propiedades catiónicas.

El quitosán es un polielectrolito a pH's ácidos. Presenta una alta densidad de carga, una carga por unidad de glucosamina. Por su carga positiva interactúa fuertemente con muchos materiales que portan cargas negativas (por ejemplo, proteínas, polisacáridos aniónicos, ácidos nucleicos, etc.) dando una neutralidad eléctrica.

El quitosán es un excelente floculante debido a su gran número de grupos  $-NH_3^+$  que pueden interactuar con los coloides cargados negativamente. Se adhiere fácilmente a polímeros naturales semejantes al pelo y la piel, los cuales están compuestos de mucopolisacáridos y proteínas cargados negativamente.<sup>(11, 52)</sup>

Los complejos formados con quitosán y muchos iones de metal son usados en la quelación de hierro, cobre y magnesio, también pueden ser usados para remover iones de metales pesados tóxicos como: plata, plomo, cadmio, mercurio y cromo.<sup>(11, 52)</sup>

##### B. Propiedades biológicas

Muchas de las preparaciones del quitosán tiene aplicaciones biomedicas debido a su no toxicidad y biodegradabilidad. El quitosán reduce los niveles de colesterol en sangre y estimula el sistema inmune. Cuando se adiciona quitosán a una semilla se tienen

incrementos en la producción de la cosecha, aparentemente debido a la protección que da durante la germinación de la semilla<sup>19,31,32</sup>

### **C. Propiedades químicas.**

El quitosán, polímero de alto peso molecular, es un poliamino lineal cuyo grupo amino es fácilmente disponible para reacciones químicas y formación de sales con ácidos. El quitosán puede ser considerado como un derivado de la celulosa, donde el primero (C-6) y segundo (C-3) grupos hidroxilos pueden ser usados para fabricar nuevos derivados<sup>31,32</sup>

### **D. Propiedades de solución.**

Las propiedades de solución del quitosán dependen de la forma en que se encuentre el grupo amino, ya sea libre (-NH<sub>2</sub>) o como ion amonio (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). El quitosán es insoluble en agua a pH's neutros y es altamente soluble en diluciones de ácido nítrico, marginalmente soluble en 0.5% de ácido fosfórico e insoluble en ácido sulfúrico en cualquier concentración y temperatura. El quitosán no es soluble en cualquier solvente orgánico común (por ejemplo dimetilformaldehído y el dimetilsulfóxido), solo se disuelve bien en polímeros acidificados. Los mejores solventes para el quitosán son soluciones acuosas que contienen de 0.2 a 100% de ácido fórmico y ácido acético<sup>19,31,32</sup>

### **E. Propiedades funcionales (viscosidad).**

La viscosidad de las soluciones de quitosán está en función de diversos factores tales como el tipo y la concentración del solvente, la temperatura, el peso molecular del polímero, el pH y la presencia de ciertas sales en la solución. La propiedad que tiene el polímero de formar soluciones viscosas en ácido acético o solventes miscibles en agua acidificados con ácido acético, lo hacen atractivo para su posible uso como espesante y estabilizante de emulsiones<sup>12,19</sup>

## **1.3. APLICACIONES DE POLÍMEROS QUITINOSOS.**

Los polímeros quitinosos han sido utilizados en diversas áreas tales como las industrias químico-farmacéuticas, agroalimentarias y tratamiento de aguas. Algunas aplicaciones de polímeros quitinosos se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Aplicaciones de polímeros quitinosos.**

APLICACION	POLIMERO
Como agente quelante	quitosan, quitina
Aditivos en industria papelera y textil	quitosan, quitina
Adhesivos	quitosan, quitina
Coagulante	quitosan, quitina microcristalina
En productos fotograficos	quitosan
Portador de medicamentos	quitina
Accelerador de cicatrizacion	quitina
Material para suturas quirurgicas	quitina
Aditivo en la industria de alimentos	quitina quitosan y quitina microcristalina
Aditivo en preparaciones farmaceuticas	quitosan, quitina

Fuente: Berkeley R.C.W., 1979, Skjakbrack Gudmund, 1988.

El quitosan debido a que posee grupos amino libres los cuales contribuyen a sus propiedades polielectrolíticas, además de su fácil disolución en ácidos diluidos, es mucho más utilizado que la quitina de la cual se deriva. Otros usos de estos polímeros han sido como componentes de cosméticos, como agentes insecticidas para el control de plagas de plantas y en nutrición animal.<sup>(17, 18, 20, 21)</sup>

Características tales como dureza, biodegradabilidad y bioactividad, hacen de la quitina y sus derivados, materiales que en la industria procesadora de alimentos pueden ser empleados para modificar o controlar las propiedades funcionales de los alimentos, ya sea como regulador de formación de cristales de hielo en alimentos congelados, agente espesante, texturizante, quelante, emulsificante, etc., para la elaboración de aderezos, salsas, bebidas, pastelería, embutidos, gelatinas, productos lácteos, etc.<sup>(17, 18)</sup>

La quitina microcristalina producida por hidrólisis ácida controlada, es apropiada para ser utilizada como un espesante y estabilizador que supera en mucho (10 a 20 veces más eficiente) a otros polímeros empleados comúnmente como la celulosa microcristalina, para la elaboración de mayonesas, manteca de cacahuete y otros alimentos tipo emulsión.<sup>(17, 19, 21)</sup>

La propiedad coagulante o quelante de la quitina y el quitosan dada por su naturaleza polielectrolítica, hacen de estos polímeros un producto ideal para la separación de coloides y partículas suspendidas que se generan durante la elaboración de ciertos tipos de alimentos, permitiendo además de la reducción de sólidos totales, la recuperación de materiales, tales como proteínas, grasas y carbohidratos de buena calidad, que pueden ser reciclados como alimentos o forraje para animales.<sup>(19, 21)</sup>

Como agente coagulante en la industria de tratamiento de aguas residuales el quitosan ha llamado mucho la atención, debido a su efectividad en la separación de coloides y partículas dispersas en el agua.<sup>(22)</sup> Este compuesto ha sido aprobado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica en concentraciones no

mayores de 10 mg/l para el tratamiento de agua potable<sup>(49)</sup>. El quitosano ha sido evaluado como coagulante en el tratamiento de aguas de desecho provenientes de industrias alimentarias tales como el procesamiento de vegetales, aves, rompimiento de huevos, activación de lodos de cervecería, empaquetamiento de carnes, procesamiento de camarón, de frutas, coagulante en suero de quesería y en la recuperación de diferentes cultivos de microalgas utilizadas en maricultura<sup>(19,32,43,45,53)</sup>.

La quitina y el quitosano pueden ser empleados para remover sustancias no deseadas (sólidos en suspensión) en algunos productos como jugos, cerveza y bebidas en general. Son propuestos como agentes para el tratamiento de aguas residuales debido tanto a su capacidad de remover sólidos, como a su propiedad de secuestrar metales pesados<sup>(54)</sup>. La quitina en forma de gel también puede ser usada como soporte o excipiente para algunos medicamentos<sup>(42,51,60)</sup>.

Los filamentos producidos por la solubilización de quitina en un sistema de cloruro de litio y dimetilacetamida, aceleran los procesos de cicatrización en heridas, siendo un material ideal para la fabricación de suturas quirúrgicas ya que esos filamentos son absorbibles y no alergénicos<sup>(57,60)</sup>.

El suero de leche combinado con quitina microcristalina puede reemplazar hasta en un 20% las formulaciones de alimentos para animales, sin producir algún efecto adverso y si mejorando el valor nutritivo y las características organolépticas del producto<sup>(55)</sup>.

La quitina y el quitosano también poseen la propiedad de absorber enzimas, por lo que pueden utilizarse ya sea para la purificación o inmovilización de sistemas enzimáticos<sup>(59, 51,52,60)</sup>.

La quitina también puede ser empleada como sustrato para la producción de proteína unicelular de muy buena calidad que puede ser incorporada en alimentos balanceados para animales y para la producción de quitinasa en un proceso fermentativo con microorganismos. Por medio de hidrólisis enzimática produce N-acetilglucosamina (NAG) que puede utilizarse en laboratorio como reactivo analítico<sup>(55,56)</sup>.

La quitina como fuente de NAG es muy importante, ya que este monosacárido y su forma alquilada pueden adicionarse a la leche y sus derivados para atenuar el problema de la mala digestión por intolerancia a la lactosa debido a una deficiencia primaria de la enzima galactosidasa<sup>(57,60)</sup>. La NAG, que de manera natural solo se encuentra en el calostro y leche materna, y sus derivados alquilados tiene un efecto promotor de crecimiento (factor bifido) para la bacteria *Lactobacillus bifidus* que al igual que otros microorganismos como *Lactobifidus* son parte importante de la flora intestinal normal, dichos microorganismos intervienen en procesos de asimilación de productos lácteos, particularmente ayudando a desdoblar la lactosa de la leche y sus derivados. Es por esto que se ha considerado la administración de productos alquilados de NAG a personas que padecen de intolerancia a la lactosa para ayudar a atenuar el problema, favoreciendo el crecimiento de la bifidobacteria que genera la lactasa necesaria para el desdoblamiento de dicho disacárido<sup>(57)</sup>.

Otra importante aplicación de la NAG y sus alqui-derivados es que junto con el suero de leche pueden ser utilizados como complementos en dietas para alimentación animal, que además de proporcionar un complemento rico en carbohidratos y proteínas de alta calidad, promueven el crecimiento de la flora intestinal que puede atenuar la mala absorción de la lactosa y por consiguiente problemas tales como cólicos y diarreas severas a que están propensos los animales que incluyen en su dieta considerables cantidades de suero de leche.<sup>(17, 60)</sup>

La quitina y quitosán además tienen la capacidad de formar películas biodegradables que pueden presentar una barrera superior al oxígeno, menor fuerza de tensión y mayor flexibilidad comparadas con empaque de películas sintéticas semejantes al polipropileno.<sup>(17)</sup>

Combinando a la quitina con DMAC y LiCl se obtienen películas que son usadas en el tratamiento de aguas por ósmosis inversa. La quitina mediante un tratamiento con ácido metasulfónico y n-butírico anhídrido se utiliza para obtener polvo de quitina n butirato, el cual mediante un molde forma lentes de contacto con permeabilidad de oxígeno de  $14 \times 10^{-11}$  (cm<sup>2</sup>/s) (mlO<sub>2</sub>/ml x mmHg). Asimismo el quitosán mediante un tratamiento con ácido acético diluido, diludo-sieti-sulfosido y cloruro de litio forma una película que puede ser moldeada en lentes de contacto.<sup>(17, 60)</sup>

La quitina también puede ser utilizada parcialmente desacetilada para obtener películas con diferentes propiedades tratada ya sea con HCl-NaOH o ácido acético diluido. Y para preparar un gel mediante su entrecruzamiento con glutaraldehído.<sup>(60)</sup>

#### 1.4. FORMAS DE OBTENCIÓN DE LA QUITINA Y EL QUITOSÁN

El proceso general, a nivel laboratorio, para la obtención de quitina y quitosán a partir del caparazón de los crustáceos envuelven tres pasos principalmente.<sup>(17, 19, 51, 60)</sup>

- 1 Remoción del material proteico o des-proteinización
- 2 Eliminación de las sales minerales o desmineralización
- 3 Para obtener quitosán se requiere de una desacetilación de la quitina

Sin embargo y de acuerdo a la literatura existen un gran número de métodos para la extracción de quitina, basados fundamentalmente en un tratamiento con ácidos diluidos para la eliminación de sales minerales (CaCO<sub>3</sub>) y un tratamiento con alcali diluido a altas temperaturas para solubilizar las proteínas asociadas.<sup>(17, 27, 50)</sup>

Debido a que estos tratamientos químicos son tan drásticos para la remoción de minerales y proteínas que se encuentran en estrecha relación con el material quitinoso, se pueden tener efectos inmediatos en la degradación del producto obtenido, produciendo cambios

químicos, tales como desacetilación y depolimerización de la quitina. Por lo tanto, para reducir el efecto desnaturalizante sobre la quitina, se han propuesto otros tratamientos.

Se ha propuesto el uso de Etilenditrotetracetato (EDTA) como otro agente descalcificante. Con respecto a otros tratamientos para la desproteización, la digestión enzimática ha sido estudiada por algunos investigadores.<sup>(12, 51, 66)</sup>

La conversión de quitina a quitosán es llevada a cabo mediante un tratamiento con solución de hidróxido de sodio o potasio concentrado a altas temperaturas, para remover algunos o todos los grupos acetil de el polímero. Esta remoción de los grupos acetil dependerá de los tratamientos previos de la quitina nativa y del método utilizado para la obtención del quitosán.<sup>(42)</sup> El grado de de-acetilación del quitosán puede ser evaluado por tres diferentes métodos: espectroscopía de infrarrojo (IR), por espectrofotometría ultravioleta (UV) y por titulación.<sup>(7, 8, 45, 51)</sup>

En general, los tratamientos químicos son más utilizados para la extracción de quitina y quitosán, y en forma general solo difieren en tiempos, temperaturas, reactivos (alcalis y ácidos), concentración de los mismos, agitación y origen de los desechos utilizados, como se muestra en las Tablas 8 y 9.

Durante los procesos de extracción de la quitina, se generan efluentes en cuya composición se encuentran compuestos orgánicos importantes, tales como pigmentos (astaxantina), proteínas y cloruro de calcio, los cuales pueden ser recuperados para nuevas aplicaciones. La astaxantina tiene posibles uso como colorante en la dieta de salmonidos, el cloruro de calcio se puede utilizar para la obtención de hidroxapatita (compuesto usado en la elaboración de placas dentales y ortopedias) y las proteínas pueden usarse para la alimentación de otras especies animales e inclusive en la dieta del hombre.<sup>(56)</sup>

En la figura 5 se ilustra la utilización de los desechos del camarón como una industria alternativa para la obtención de quitina y sus derivados.

Tabla 8. Métodos para la extracción de quitina

Especie	DESPROTEINIZACION					DESMINERALIZACION			
	Concentración de Alcali	Temp. C	Tiempo <sup>a</sup> hr	Vol. Reac. w/v	Concentración de HCl	Temp. C	Tiempo hr	Vol. Reac. w/v	
LANGOSTA	1N NaOH	100	12x5 <sup>***</sup>	1.5.5	2N	ambiente	5	1.9	
	5% NaOH	80-85	1.5x2 <sup>***</sup>	--	2N	0	48	1.5.5	
	10% NaOH	ambiente	2 <sup>***</sup>	--	5% a 37%	70	2x2 <sup>***</sup>	--	
	10% NaOH	100	2.5	1.50	90% formico	-20	4	--	
KRILL	3.5% NaOH	90-95	2	1.10	0.6N	ambiente	2	1.22	
	3.5% NaOH	25	2	--	3.5%	20	1.5	1.4	
	3% KOH	95	2	1.10	22%	ambiente	2	1.10	
CAMARON (11.5-20 cm)	2% NaOH	100	1	--	1N	ambiente	0.5	3x <sup>****</sup>	
	1% NaOH	65	2	1.10	0.5N	ambiente	--	1.11	
	1% KOH	90	2	1.20	2.5%	20	1	1.10	
	4% NaOH	100	1	--	5%	ambiente	--	--	
	pH=11.5 NaOH	50	1	1.30	8%	70	5	1.10	
LANGOSTINO	3.5% NaOH	65	2	1.10	1N	ambiente	0.6	1.15	
PEZ ESPADA	10% NaOH	105-107	1x3 <sup>***</sup>	exceso	10%	ambiente	192	exceso	
CANGREJO	1% NaOH	80	2x2 <sup>***</sup>	--	1N	ambiente	12x2 <sup>***</sup>	--	
	2% KOH	90	2	1.20	2.5%	20	1	1.10	
	1N NaOH	50	0	--	1N	20	3	--	
	5% NaOH	90	2	--	5%	ambiente	24	--	
CAMARON (2.5-5.0 cm)	5% NaOH	reflajo	2	1.15-20	5%	ambiente	2	1.15-20	
	5% NaOH	100	0.5	1.1	5%	ambiente	1	1.20	
	0.5 NaOH	100	0.5	2.3	1.25N	ambiente	1	--	
CALAMAR	2M NaOH	ambiente	toda la noche	1.10	1M	ambiente	toda la noche	1 <sup>a</sup>	
	2M NaOH	100	4	1.10	--	--	--	--	

\*\*\* Tres veces la cantidad necesaria estequiométricamente de CaCO<sub>3</sub> en las hebras secas

\*\* Segunda extracción

• Numero de repeticiones del tratamiento alcalino

a) NaOH preparado para cada día

b) Cuando el producto final es quitosán



Tabla 8. Métodos para la extracción de quitina (continuación)

Especie	DECCOLORACION				REF.
	Reactivo	Temp. C	Tempo min	Vol. Reac. ml	
LANGOSTA	etanol-éter	ambiente	lavado	--	24
	NaOCl	frio	--	--	24 <sup>(a)</sup>
	etanol-acetona	ambiente	lavado	--	11
	etanol-éter	ambiente	lavado	--	58
KRILL	Cloroformo	--	--	--	2
	acetato acéf.	30	30	14	16
	--	--	--	--	55
CAMARON	--	--	--	--	12
	--	--	--	--	59
	acetona	--	--	--	50
	--	--	--	--	54
	--	--	--	--	18
LANGOSTINO	acetona y 0.315% NaOCl	ambiente	c	110	44
PEZ ESPADA	éter dietil	ambiente	180	--	46
CANGREJO	acetona	reflujo	--	--	38
	acetona	--	--	--	50
	3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	--	--	--	14
	ácido H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	frio	300	120	15 <sup>(b)</sup>
CAMARON (PRAWN)	acetona	reflujo	45	115-20	29
	0.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	ambiente	toda la noche	--	40
	NaOCl	frio	30	--	36
CALAMAR	--	--	--	--	74
	--	--	--	--	34 <sup>(a)</sup>

- Tres veces la cantidad necesaria estequiométrica de CaCO<sub>3</sub> en las lavadas secas
- Segunda extracción
- Número de repeticiones del tratamiento alcalino
- a NaOH preparado para cada día
- b Cuando el producto final es quitosán

Tabla 9. Métodos para la obtención de quitosán

Especie	Atmosfera	Conc. de alcali	Temp (°C)	Desacetilación			Viscosidad	Ref.
				Tiempo (hr.)	vol. de reacción (W/W x 1)	Desacetilación (%)		
Langosta	A/N*	55% KOH	100-140	0.5-15	1-100	65-81.2	--	35
Cangrejo	N	45% NaOH	60	2x1-4*	--	57-90	--	38
			110	1x1-3*	--	78-96	--	38
			140	1x3**	--	99	--	38
			reflux	20	1-17	--	67	2
Camarón	N	50% NaOH	100	0.5-5	--	68-78	--	59
	N	50% NaOH	145-150	1/12	1-10	--	5110 <sup>3</sup>	12
	A	50% NaOH	145-150	1/4	--	--	311 <sup>4</sup>	12
				1/12	1-10	--	460 <sup>5</sup>	12
	A	50% NaOH	60	1/4	--	--	117 <sup>7</sup>	12
				2***	1-4	--	290 <sup>1</sup>	54
Camarón (Prawu)	A	50% NaOH	30	24	1-59	87	530 <sup>1</sup>	1
				48	1-42	--	440 <sup>2</sup>	1
				72	1-28	--	380 <sup>3</sup>	1
				144	1-14	--	780 <sup>4</sup>	1
				1	1-65	--	309 <sup>5</sup>	40
				2	--	--	186 <sup>6</sup>	36
Krill	A	50% NaOH	80-96	1/3	--	56-68	342	16
	A	39% KOH <sup>1</sup>	reflux	20	1-17	--	60 <sup>2</sup>	2
	N	40% NaOH	80	1x1-1*	1-20	80-97	--	74

\* A: aire N: nitrógeno

<sup>1</sup> disuelto en etanol al 95% + etilen glicol

<sup>2</sup> Solución al 1% en ácido acético al 5%

<sup>3</sup> Solución al 1% en ácido acético al 2%

<sup>4</sup> Solución al 1% en ácido acético al 1%

<sup>5</sup> Solución al 1% en buffer de acetato (ácido acético 0.2M + acetato de sodio 0.1M)

<sup>6</sup> Tiempos separados de tratamiento alcalino

<sup>7</sup> 3 tiempos separados de tratamiento alcalino y un tratamiento alcalino adicional después de la transformación de la muestra a una pieza delgada

\*\*\* Calculador seco

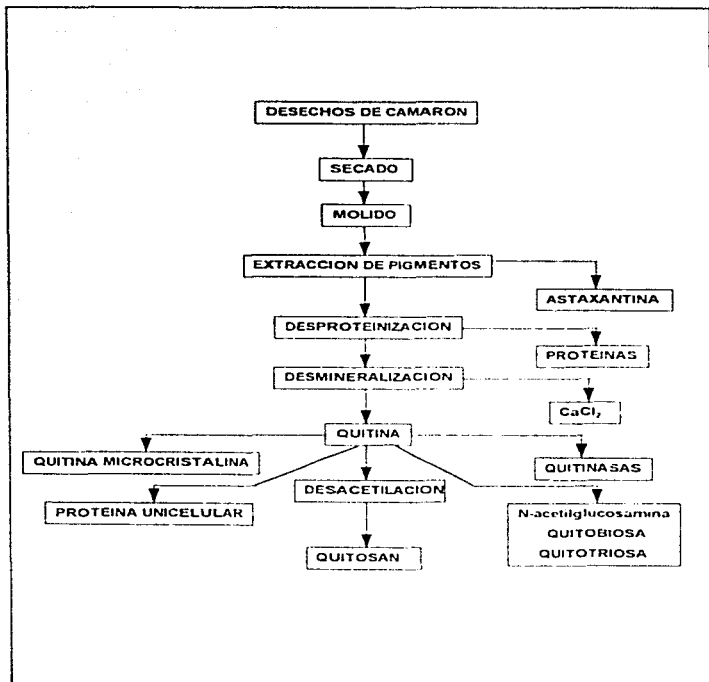


Fig. 5. Esquema de la utilización de los desechos del camarón.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVOS GENERALES:**

- Estudio de las variables que influyen en la extracción química de quitina a partir del exoesqueleto de camarón
- Estudio de la relación del índice de consistencia de quitosanes preparados bajo diferentes condiciones de desacetilación

### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- 1 Determinar cuales son las variables que influyen significativamente en la hidrólisis alcalina para la eliminación total de las proteínas presentes en el exoesqueleto de camarón
- 2 Determinar cuales son las variables que influyen significativamente en la hidrólisis ácida para la eliminación total de los minerales presentes en el exoesqueleto de camarón
- 3 Identificar a la quitina obtenida bajo las condiciones de desproteización y desmineralización establecidas
- 4 Estudiar las variables que influyen en la etapa de desacetilación de la quitina obtenida y su relación con el índice de consistencia
- 5 Identificar el quitosán obtenido bajo las diferentes condiciones de desacetilación

## **2. METODOLOGIA.**

La metodología para el desarrollo experimental se realizó de acuerdo al cuadro metodológico que se muestra en la figura 6

### **2.1. OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA (CAPARAZON DE CAMARON).**

#### **2.1.1. Origen de los desechos de camarón.**

Se obtuvieron los desechos de camarón, formados principalmente por los caparazones que incluyen cuerpo, cabeza y cola. La especie de camarón que se utilizó para este estudio fue el camarón rojo o cristal. Los desechos fueron separados de la parte comestible después de un cocimiento previo del camarón para su comercialización en una marisquería.

#### **2.1.2. Obtención del polvo de camarón.**

Después de recolectar los desechos fueron trasladados al laboratorio y sometidos a varios lavados con abundante agua, para remover los trozos de carne residual.

Una vez lavados los caparazones se colocaron en charolas de metal y se secaron a 32°C durante 24 horas.

Se llevó a cabo la reducción de tamaño mediante una molienda gruesa, seguida de una molienda fina, la primera se realizó en una levadora y la segunda en un micromolino de cuchillas Willey (Scientific Apparatus Philadelphia P. A. U. S. A.).

La recolección de estos desechos se hizo hasta obtener 1.150 Kg de polvo, el cual fue utilizado durante toda la etapa experimental.

#### **2.1.3. Determinación del tamaño de partícula.**

Se realizó un análisis granulométrico para la distribución del tamaño de partícula promedio de la muestra molida. El tamizado fue llevado a cabo utilizando una serie de tamices normalizados.

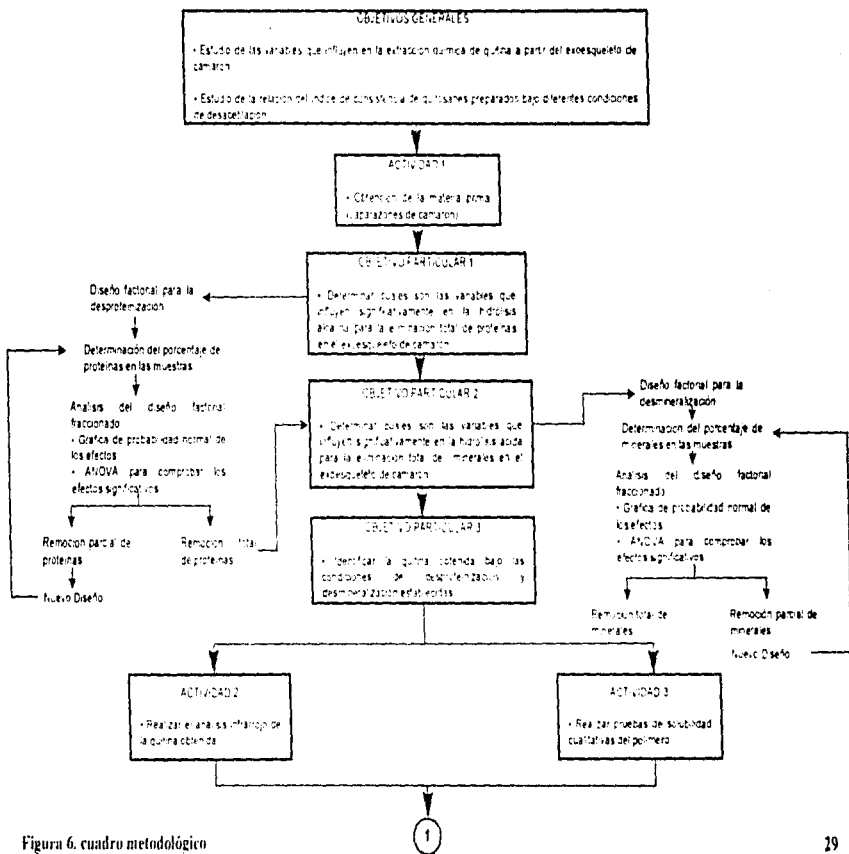


Figura 6. cuadro metodológico

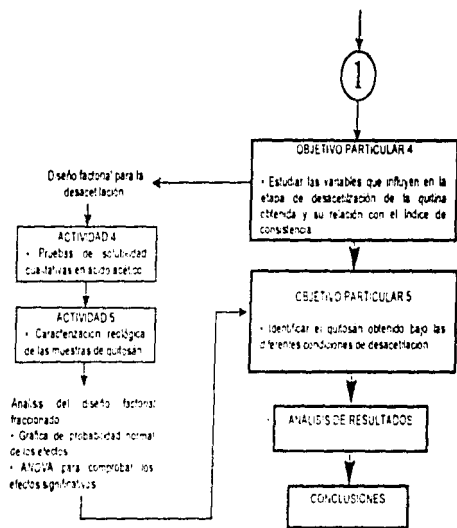


Figura 6. Cuadro metodológico (continuación)

#### 2.1.4. Análisis químicos de la materia prima.

Se realizaron algunos análisis químicos a la materia prima como control para los experimentos posteriores, las pruebas realizadas fueron:

- **Humedad:** Se realizó de acuerdo al método por estufa del A O A C <sup>(1)</sup> (**Anexo 1**)
- **Cenizas:** Se realizó de acuerdo al método general del A O A C <sup>(1)</sup> (**Anexo 2**)
- **Nitrógeno total:** Se empleó el método Micro-kjeldahl del A O A C <sup>(1)</sup> (**Anexo 3**)
- **Porcentaje de proteína:** Se realizó por el método de Takiguchi <sup>(11)</sup> (**Anexo 4**)

#### 2.2. DESPROTEINIZACION.

Para la extracción química de la quitina es necesario que se eliminen las proteínas contenidas en los caparazones de camarón, para lo cual es necesario realizar una hidrólisis alcalina.

**Objetivo:** Determinar cuáles son las variables que influyen significativamente en la hidrólisis alcalina para la eliminación total de las proteínas presentes en el exoesqueleto del camarón.

**Variables:**

- **Independientes:** Concentración de NaOH ([NaOH]), temperatura, tiempo, volumen de reacción y agitación.

- **Dependiente:** Porcentaje de proteína residual
- **De respuesta:** Porcentaje de proteína residual
- **Constantes:** Origen de la materia prima y diámetro de partícula de la materia prima.



### Niveles de variación:

VARIABLES (desproteínezación)	NIVELES	
	1	2
[NaOH] (%)	0.5	1.5
Temperatura (°C)	30	ebull
Tiempo (h)	1	3
Vol de reacción	1.10	1.20
Agitación	No	Si

Basandose en las variables anteriores se realizó un experimento en un diseño completamente aleatorio con un arreglo factorial fraccionado, empleando la fracción principal del diseño  $2^{5-1}$  de resolución V.<sup>(29)</sup>

Para llevar a cabo cada uno de los tratamientos del experimento planteado para la desproteínezación, se tomaron 5 gramos de la muestra la cual fue colocada en un vaso de precipitados con la cantidad de NaOH según el volumen de reacción correspondiente a cada tratamiento. Se colocaron los vasos en agitadores magnéticos (Corning Glass Works Model P C -353 stirrer) con temperatura y agitación controladas.

Transcurrido el tiempo de cada tratamiento, se les retiró el NaOH y se lavaron con agua destilada hasta llegar a pH neutro. Posteriormente las muestras fueron secadas en una estufa (Aparatos de Laboratorio BG) a temperatura de 50-60 °C por 12 horas.

Las muestras secas fueron pesadas y analizadas (por triplicado) en cuanto a su contenido de nitrógeno y proteína según el método de Microkjeldahl y Takiguchi (Anexo 3 y 4).

### 2.3. DESMINERALIZACIÓN.

Para continuar con la extracción química de la quitina, una vez eliminadas las proteínas, se requiere de una hidrólisis ácida para remover los minerales presentes en el caparazón de camarón.

**Objetivo** Determinar cuales son las variables que influyen significativamente en la hidrólisis ácida para la eliminación total de los minerales presentes en el exoesqueleto del camarón.

**VARIABLES:**

- Independientes Concentración de HCl ([HCl]), temperatura, tiempo, volumen de reacción y agitación
- Dependiente Porcentaje de minerales residual
- De respuesta Porcentaje de minerales residual
- Constantes Origen de la materia prima y diametro de partícula de la materia prima

**Niveles de variación:**

VARIABLES (desmineralización)	NIVELES	
	1	2
[HCl] (%)	2.5	5
Temperatura (°C)	20	30
Tiempo (h)	1	3
Vol. de reacción	1-10	1-20
Agitación	No	Si

Basandose en las variables anteriores se realizó un experimento en un diseño completamente aleatorio con un arreglo factorial fraccionado, empleando la fracción principal del diseño  $2^{3-1}$  de resolución  $V^{(III)}$

Para llevar a cabo cada uno de los tratamientos del experimento planteado para la desmineralización, se tomaron 1 gramo de la muestra la cual fue colocada en un vaso de precipitados con la cantidad de HCl según el volumen de reacción correspondiente a cada tratamiento. Se colocaron los vasos en agitadores magnéticos (Coring Glass Works Model P C -353 stirrer) con temperatura y agitación controladas.

Transcurrido el tiempo de cada tratamiento, se les retiro el HCl y se lavaron con agua destilada hasta llegar a pH neutro. Posteriormente las muestras fueron secadas en una estufa (Aparatos de Laboratorio BG) a temperatura de 50-60 °C por 12 horas.

Las muestras secas fueron pesadas y analizadas (por triplicado) en cuanto a su contenido de minerales según el metodo de general para determinar cenizas (**Anexo 2**)

## 2.4. IDENTIFICACION DE LA QUITINA.

**Objetivo:** Identificar la quitina obtenida bajo las condiciones de desproteinización y desmineralización establecidas.

Para cumplir con este objetivo se realizaron las siguientes actividades:

### 2.4.1. Análisis infrarrojo de la quitina.

Para realizar el espectro infrarrojo (IR), la muestra se preparo mediante la técnica de la pastilla o disco prensado con bromuro de potasio. En esta técnica, la muestra previamente molida y seca fue minamente mezclada con el KBr, para posteriormente prensarse hasta obtener una pastilla transparente.

El espectro obtenido se interpreto con las tablas correspondientes de espectros de IR y se comparo con lo reportado en la literatura para quitina, de acuerdo a las bandas características de la molécula en las mismas regiones del espectro.

### 2.4.2. Pruebas cualitativas de solubilidad de la quitina.

Se pesaron 5mg de la quitina obtenida y fueron solubilizados en 1ml de diferentes solventes: HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a diferentes concentraciones y una solución de N,N-dimetilacetamida en solución con cloruro de litio al 5%, para la determinación cualitativa de la solubilidad.

## 2.5. OBTENCION DE QUITOSAN.

Para la obtención de quitosán es necesaria una desacetilación de la quitina, mediante una hidrólisis alcalina, para remover algunos o todos los grupos acetil del polímero.

Una vez establecidas las condiciones para la extracción de la quitina, este polímero fue desacetilado para la obtención de diferentes muestras de quitosán y determinar su índice de consistencia.

**Objetivo:** Estudiar las variables que influyen en la etapa de desacetilación de la quitina obtenida y su relación con el índice de consistencia.

**Variables:**

- Independientes: Concentración de NaOH ([NaOH]), temperatura, tiempo, volumen de reacción y agitación
- Dependiente: Índice de consistencia (K)
- De respuesta: Índice de consistencia (K)
- Constantes: Quitina obtenida

**Niveles de variación:**

FACTORES (desacetilación)	NIVELES	
	BAJO	ALTO
[NaOH] (%)	50 p/v	50 p/p
Temperatura (°C)	100	Ebull
Tiempo (h)	0.5	1
Vol de reacción	1-10	1-20
Agitación	No	Si

Basandose en las variables anteriores se realizó un experimento en un diseño completamente aleatorio con un arreglo factorial fraccionado, empleando la fracción principal del diseño  $2^{3-1}$  de resolución  $V^{(19)}$

Para llevar a cabo cada uno de los tratamientos del experimento planteado para la desacetilación se tomaron 2.5 gramos de quitina, la cual fue colocada en un vaso de precipitados con la cantidad de NaOH necesario, según el volumen de reacción correspondiente a cada tratamiento. Los vasos son colocados en agitadores magnéticos (Corning Glass Works Model P.C. -353 stirrer) con temperatura y agitación controladas.

Una vez transcurrido el tiempo de cada tratamiento, se les retiró el NaOH y se lavaron con agua destilada hasta llegar a pH neutro, posteriormente las muestras fueron secadas en una estufa (Aparatos de Laboratorio BG) a temperatura de 50-60 °C por 12 horas.

### **2.5.1. Pruebas cualitativas de solubilidad del quitosán.**

5 mg de cada una de las muestras de quitosán obtenidas fueron solubilizados en 1ml de ácido acético diluido (1 y 2% v/v) para determinar la solubilidad de las muestras cualitativamente

### **2.5.2. Caracterización reológica de las muestras de quitosán.**

#### **Variables:**

- Independiente Velocidad de deformación
- Dependiente Esfuerzo cortante
- De respuesta K y n
- Constantes Concentración de las soluciones de quitosán, concentración del ácido acético y temperatura

#### **Niveles de variación:**

- Velocidad de deformación 0-1000 s<sup>-1</sup>

Para llevar a cabo la caracterización reológica de cada una de las 16 muestras obtenidas de los diferentes tratamientos de desacetilación, se utilizó un reómetro electrónico Física Rheolab MC100, equipado con un sistema Rheologic RS y con termostato. En todos los casos se prepararon soluciones de quitosán al 1% (p/v) con ácido acético al 2% (v/v). Las determinaciones se realizaron utilizando la geometría de cono y plato, teniendo la solución a una temperatura constante de 25 °C

Con los resultados se construyeron gráficas de esfuerzo cortante vs velocidad de deformación para conocer el comportamiento reológico que presentaban las soluciones

## 2.6. IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS DE QUITOSÁN.

**Objetivo:** Identificar el quitosán obtenido bajo las diferentes condiciones de desacetilación

Para cumplir este objetivo se realizaron espectros infrarrojo del quitosán obtenido. Al realizar el espectro infrarrojo (IR), las muestras se prepararon mediante la técnica de la pastilla o disco prensado con bromuro de potasio. En esta técnica, las muestras previamente molidas y secas fueron íntimamente mezcladas con el KBr, para posteriormente prensarse hasta obtener una pastilla transparente.

Los espectros obtenidos se interpretaron con las tablas correspondientes de espectros de IR y se compararon con el de la quitina.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION.

#### 3.1. OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA.

El polvo obtenido de los caparazones de camarón tuvo un diámetro medio superficial de 0.2312 mm. Cosío y cols. 1982<sup>(18)</sup> y No y cols 1995<sup>(19)</sup>, muestran que el tamaño de partícula que pasa por la malla 20-60 (0.85-0.25mm) influye en el rendimiento de extracción de proteína, mientras que en la desmineralización no. En este trabajo se tomaron en cuenta estos rangos para la obtención del polvo, logrando que el tamaño promedio de la distribución se encontrara entre la malla 60-65 (0.25-0.21mm).

En la tabla 10 se pueden observar los resultados del análisis químico del polvo de caparazones de camarón Cosío y cols. 1982<sup>(18)</sup> y Kobelke 1989<sup>(13)</sup>, reportan que los rangos de la composición química de los desperdicios de camarón pueden variar de proteínas 34.9-40%, carbonato de calcio 18.1-33% y quitina 18.1-27%. Al comparar estos rangos con los valores reportados en la tabla 10, se observa que el contenido de proteína es ligeramente menor al valor reportado mientras que el de carbonato de calcio es ligeramente mayor, esto es debido a que los valores dependen de diferentes factores tales como la especie del camarón, la edad, el sazón, la deposición de sales minerales<sup>(21,22)</sup>.

Tabla 10. Análisis Químico del Caparazón de Camarón.

Análisis Químico	%
Humedad	6.53
Cenizas	34.20
Nitrogeno total <sup>(*)</sup>	10.47
Proteínas (Takiguchi)	24.95

*NOTA: Las determinaciones se hicieron por triplicado*

*(\*) Polvo previamente desmineralizado*

En la tabla 10 se reporta el contenido de proteína determinado por el método micro-Kjeldahl (Anexo 3) en el cual se cuantifica el nitrógeno total que hay en la muestra, y el determinado por el método de Takiguchi (Anexo 4) el cual es un método específico para cuantificar el contenido de proteína en muestras de quitina. Los resultados de la tabla 10, fueron un parámetro para determinar la cantidad de proteínas y minerales que se removieron en cada uno de los tratamientos utilizados en la obtención de quitina.

### 3.2. DESPROTEINIZACION DEL POLVO DE CAPARAZONES DE CAMARON.

Los datos que se presentan en la tabla 11, corresponden a los porcentajes de nitrógeno total (determinados por el método de Microkeljdhah) obtenidos en cada una de las muestras de los 16 tratamientos realizados para la desproteínización del caparazón de camarón. En dicha tabla también se incluye el resultado del contenido de nitrógeno total en el polvo de camarón sin tratamiento alguno.

Tabla 11. Resultados del % de nitrógeno total residual.

Nº de tratamiento	% Nitrógeno total residual en la muestra	% Nitrógeno total removido en la muestra
1	17.22	4.65
2	13.72	24.03
3	11.76	34.88
4	8.96	50.38
5	14.56	19.37
6	13.02	27.90
7	5.32	70.54
8	8.82	51.16
9	8.96	50.38
10	13.86	23.25
11	8.54	52.71
12	7.56	58.13
13	14.14	21.70
14	12.74	29.45
15	8.54	52.71
16	9.10	49.61
Polvo de camarón	18.06	0

*NOTA: La determinación se hizo con el método de micro-Kjelkdahl y por triplicado*

Los resultados que se muestran en la tabla 11 indican que la presencia de minerales en el polvo de los caparazones de camarón, interfiere en la remoción y determinación del contenido de nitrógeno de las muestras, ya que el porcentaje de nitrógeno obtenido para el polvo de camarón sin ningún tratamiento fue de 18.06%, valor que es menor al determinado experimentalmente para el polvo de caparazones de camarón previamente desmineralizado (30.47%) mostrado en la tabla 10.

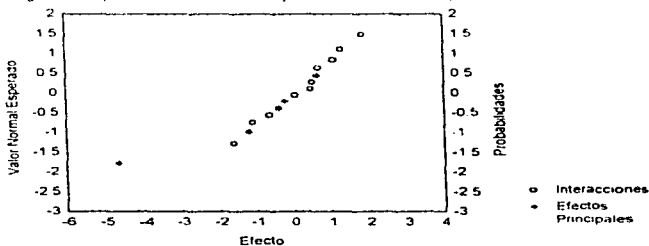
Debido a lo anterior se decidió que para llevar a cabo la extracción de quitina era necesario, como primer paso, encontrar las condiciones que permitieran eliminar los minerales presentes



en el polvo de caparazones de camarón, y una vez que se obtuvieran los resultados de esta hidrólisis efectuar la etapa de desproteínización. Esto además de permitir reducir la influencia que tienen los minerales en la determinación de proteínas, representa una ventaja para la recuperación de las proteínas presentes en los efluentes generados en la etapa de desproteínización. No H.K. y Meyers S.P. 1995<sup>(48)</sup>, mencionan que algunos autores han encontrado que cuando es un objetivo la recuperación de proteínas, es preferible realizar la desmineralización de los caparazones antes de la desproteínización para un máximo rendimiento de proteína y calidad de la misma.

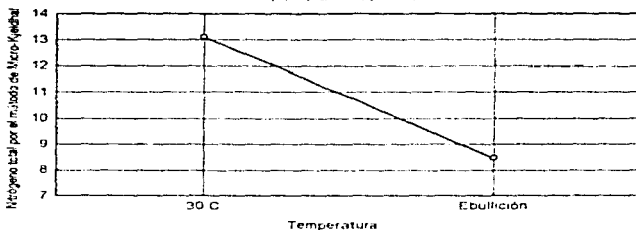
No obstante, con los resultados de la tabla 11 se construyó la gráfica de probabilidad normal de los efectos (gráfica 1) para ver cuales eran los factores de mayor importancia en esta hidrólisis.

**Gráfica 1. Probabilidad normal de los efectos sobre la desproteínización**  
Nitrógeno total por el Método de Micro-Kjeldhal, Media = 10.781,  $\sigma = 3.063$



La gráfica de probabilidad normal de los efectos (gráfica 1), mostró que la variable significativa en la remoción de las proteínas del caparazón de camarón fue la temperatura. Utilizando la temperatura de 30 °C, el contenido de nitrógeno se redujo a un promedio de 13.11%, a una temperatura de ebullición, se obtuvo un porcentaje de nitrógeno promedio de 8.45, con un error estándar de los promedios de 3.84 (Gráfica 2). Por lo tanto, la condición con la que se obtuvo una mayor desproteínización fue la temperatura de ebullición. Desde este punto de vista, la concentración de NaOH, el tiempo, el volumen de reacción y la agitación no afectaron de manera significativa la remoción de proteínas.

**Gráfica 2.**  
**Medias del Efecto Principal de la Temperatura**  
 $F(1,14)=22.63, p<0003$



Sin embargo, más adelante se vio que estos resultados no presentaron el mismo comportamiento, al realizarse nuevamente el evento de la desproteínezación utilizando el polvo de los caparazones del camarón previamente desmineralizado y el método de Takiguchi para la determinación del porcentaje de proteína residual en las muestras.

### 3.3. DESMINERALIZACION DEL POLVO DE CAPARAZONES DE CAMARÓN.

En la tabla 12 se reporta la cantidad de minerales residuales en las muestras de cada uno de los 16 tratamientos realizados según el diseño experimental planteado para la desmineralización.

**Tabla 12. Resultados del % minerales residuales (Primer diseño).**

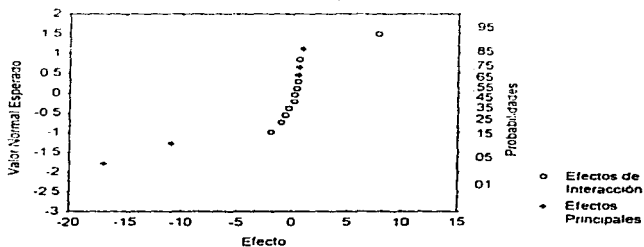
Nº de Tratamiento	% Minerales residual en la muestra	% Minerales removidos en la muestra
1	27.81	18.25
2	2.97	91.26
3	29.66	12.81
4	5.45	83.98
5	24.71	12.66
6	5.9	82.65
7	28.63	15.84
8	2.19	93.56
9	6.78	80.07
10	0.6	98.23
11	10.85	68.10
12	1.94	94.29
13	12.15	64.28
14	0.4	98.82
15	10.78	68.31
16	1.01	97.03

*NOTA: La determinación se hizo por triplicado*

Con los resultados de la tabla 12 fue construida la gráfica de probabilidad normal de los efectos (gráfica 3), para ver cuales eran los factores más importantes que intervienen en la desmineralización del polvo de caparazones de camarón para obtener quitina

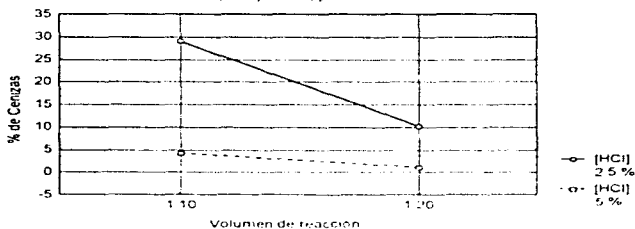
**Gráfica 3. Probabilidad normal de los efectos sobre la desmineralización**

% GENIZAS Media = 11.051,  $\sigma = 11.289$



La grafica de probabilidad normal de los efectos sobre la desmineralizacion (grafica 3) y el analisis de varianza (Anexo 5.1) de estos resultados, mostro que las variables significativas en la remocion de los minerales del caparazon de camaron fueron: la concentracion de HCl y el volumen de reaccion, asi como su interaccion. El efecto de la interaccion se observa claramente en la grafica 4. Si se utiliza HCl al 2.5%, el cambio de 1.10 a 1.20 en el volumen de reaccion redujo el porcentaje de cenizas promedio de 28.95 a 10.14, respectivamente. Por otro lado el utilizar el HCl a una concentracion del 5% redujo las cenizas en promedio de 4.13% a 0.98% en los volúmenes de reaccion de 1.10 x 1.20 respectivos. Por lo tanto, las condiciones en las que se obtuvo una mayor desmineralizacion fueron acido clorhidrico al 5% y volumen de reaccion 1.20, con un porcentaje promedio de cenizas de 0.575% y un error estandar de 0.79. La temperatura, el tiempo y la agitacion no afectaron de manera significativa el proceso de desmineralizacion.

Gráfica 4.  
Medias de la Interacción [HCl] y Volumen de reaccion  
 $F(1, 12)=97.89, p< 0.000$



Para disminuir aun mas el porcentaje promedio de minerales en el caparazon, de acuerdo a los resultados anteriores, se planteo un nuevo diseño experimental completamente aleatorio en un arreglo factorial (tabla 13), con dos nuevos niveles de las variables que tuvieron mayor importancia en la desmineralizacion (concentracion de HCl y volumen de reaccion), la temperatura, el tiempo y la agitacion fueron mantenidos en el nivel mas practico para trabajar, ya que no afectan de manera significativa la desmineralizacion.

**Tabla 13. Variables y niveles del segundo diseño para la desmineralización.**

VARIABLES (Desmineralización)	NIVELES	
	alto	bajo
HCl % (v/v)	8	6
Temperatura °C	30	30
Tiempo (horas)	1	1
Volumen de reacción (p/v)	1 30	1 25
Agitación	Si	Si

En la tabla 14 se reportan los resultados del porcentaje de minerales residual obtenido en las muestras de cada uno de los tratamientos y su replica en el segundo diseño planteado para la desmineralización

**Tabla 14. Resultados del %Minerales (Segundo diseño).**

Nº de tratamiento	% Minerales residuales en la muestra	% Minerales removidos en la muestra
17	1 0	97 06
18	0 89	97 38
19	0 99	97 08
20	0 59	98 26
REPLICAS **		
17	0 9	97 35
18	0 8	97 64
19	0 99	97 08
20	0 89	97 38

NOTA: - \*\* Se refiere a la replica de cada tratamiento  
 - La determinación del % de minerales se hizo por triplicado

El analisis de varianza (Anexo 5 2) de estos resultados mostro que la concentración de HCl y el volumen de reacción, así como su interacción, ya no tuvieron un efecto significativo en la remoción de los minerales del caparazón. Esto indica que aunque se aumentó la concentración de HCl y el volumen de reacción, ya no se disminuyó el contenido residual de minerales, por lo que no se obtuvo ninguna ventaja al utilizar niveles más altos de estas variables y si represento un gasto mayor de reactivo

Por lo anterior las condiciones más convenientes para realizar la desmineralización del caparazón de camarón fueron la concentración de HCl al 5% y un volumen de reacción 1.20, a una temperatura de 30 °C, por 1 hora con agitación.

De acuerdo al estudio realizado por No y Meyers 1995 <sup>(44)</sup> en cuanto a las condiciones para la remoción de minerales, los resultados obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de los reportados en la literatura y en particular al reportado por Suryanarayana R. 1987 <sup>(45)</sup>, en donde se establece la misma concentración y temperatura, no indicando ni tiempo ni volumen de reacción, siendo este parámetro estadísticamente significativo e importante ya que la cantidad de ácido debe ser estequiométricamente equivalente o mayor a la cantidad de minerales presentes en los caparazones, para asegurar que se realice completamente la reacción.

En estudios anteriores como reportan No y Meyers 1995 <sup>(44)</sup>, obtuvieron tiempos de reacción que van de 0.5 - 8 horas dependiendo del método de preparación, en este trabajo el tiempo de reacción fue de 1 hr, siendo un factor importante ya que tiempos prolongados de desmineralización pueden causar degradación del polímero.

### **3.4. DESPROTEINIZACION DEL POLVO DE CAMARON PREVIAMENTE DESMINERALIZADO A LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS.**

Después de reducir el contenido de minerales del polvo de caparazones de camarón a las condiciones establecidas, se procedió a determinar cuáles eran las variables significativas en la desproteínización de dicho polvo, para la obtención de quitina.

Cabe mencionar que el contenido de proteínas residual de las muestras de quitina obtenidas en cada uno de los tratamientos del diseño, fue determinado por el método de Takiguchi <sup>(51)</sup>, ya que este es un método específico para determinar el contenido de proteínas en muestras de quitina.

En la tabla 15 se presentan los porcentajes de proteína residual determinados por el método de Takiguchi, de cada una de las muestras de los 16 tratamientos del diseño planteado para la desproteínización del polvo desmineralizado.

Los resultados presentados en la tabla 15 indican que existen tratamientos con los cuales se logra la eliminación total del contenido de proteínas en el caparazón, obteniéndose muestras de quitina libres de proteína. Con estos resultados fue construida la gráfica de probabilidad normal de los efectos (gráfica 5), para ver cuáles eran los factores más importantes que intervienen en la desproteínización del polvo de caparazones de camarón para obtener quitina.

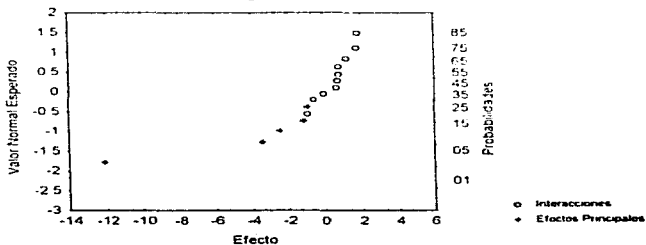
**Tabla 15. Resultados del % Proteínas residuales.**

N° de Tratamiento	% Proteína residual en la muestra	% Proteína removida en la muestra
1	17.38	30.36
2	13.43	46.19
3	3.79	84.81
4	0.75	96.99
5	20.22	18.97
6	9.04	63.79
7	2.48	90.06
8	0.00	100.0
9	14.06	43.66
10	11.06	55.68
11	0.079	99.68
12	0.316	98.73
13	11.534	53.79
14	8.848	64.55
15	1.22	95.11
16	0.00	100.00

*NOTA: La determinación se hizo por el método de Takiguchi y por triplicado*

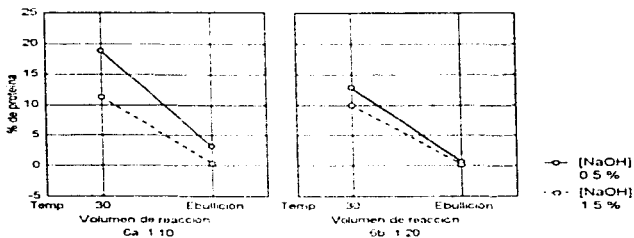
**Gráfica 5. Probabilidad normal de los efectos sobre la desproteínización**

Proteína por el método de Takiguchi. Media = 7.137,  $s = 6.888$



La gráfica de probabilidad normal de los efectos sobre la desproteínezación (gráfica 5) y el análisis de varianza (Anexo 5.3) de estos resultados muestran que las variables significativas en la remoción de las proteínas del caparazón del camarón fueron la concentración de NaOH, el volumen de reacción y la temperatura, esto se observa claramente en la gráfica 6 (6a y 6b). Los efectos de estos tres variables fueron independientes, es decir, no hubo interacciones significativas. El efecto más importante fue el de la temperatura, ya que al aumentarla de 30 °C hasta la temperatura de ebullición (88-89 °C) disminuyó en un 12.11 el porcentaje de proteínas. Los efectos de la concentración de NaOH y el volumen de reacción, aunque significativos fueron más pequeños. Al aumentar la concentración de NaOH de 0.5 a 1.5% y el volumen de reacción de 1:10 a 1:20, disminuyó el porcentaje de proteína de 3.41 a 2.5 respectivamente. El error estándar de los efectos fue de 0.81%. No se encontró significancia en los efectos del tiempo y la agitación. Utilizando la concentración de 0.5% o 1.5% de NaOH, la temperatura de ebullición y el volumen de reacción 1:20 se obtuvieron porcentajes de proteína promedio de 0.6-0.9 x 0.158 respectivamente, con un error estándar de 1.15.

**Gráfica 6. Efectos de la temperatura, concentración de NaOH y volumen de reacción en la desproteínezación.**



Como se puede observar en la gráfica 6b, el efecto principal del NaOH es pequeño, se puede utilizar tanto el nivel alto de la concentración de NaOH (1.5%) como el nivel bajo (0.5%) y en ambos casos se aproxima a un valor promedio del 0% de proteína.

Debido a lo anterior las condiciones más convenientes para realizar la desproteínezación del caparazón de camarón fueron la concentración de NaOH al 0.5% o 1.5%, la temperatura de ebullición y un volumen de reacción 1:20, por 1 hora con agitación. Con dichas condiciones



de extracción encontradas en el presente estudio se logró una remoción del 99.35% y del 99.84% de proteínas respectivamente

Estas condiciones de trabajo obtenidas, son menos drásticas que las que se reportan en los estudios hechos por Bough y cols. 1978<sup>(43)</sup> y Suryanarayana y cols. 1987<sup>(44)</sup>, en donde el tiempo es el mismo pero la concentración de NaOH es del 3% y 4% respectivamente y la temperatura es de 100 °C. Estos autores no indican el volumen de reacción, siendo este parámetro significativo para la remoción de las proteínas del caparazón de camarón.

En estudios anteriores como reportan Na y Meyers 1995<sup>(45)</sup>, se obtuvieron tiempos de reacción que van de 1 - 2 horas dependiendo del método de preparación, en el presente trabajo el tiempo de reacción fue de 1 hr, siendo este un factor importante ya que un tratamiento alcalino prolongado bajo severas condiciones causa despolimerización y desacetilación del polímero.

En la tabla 16 se resumen las condiciones establecidas en el presente trabajo para la desmineralización y desproteización del polvo de caparazones de camarón en la extracción química de la quitina.

**Tabla 16. Condiciones establecidas para la extracción química de Quitina a partir del Caparazón de camarón.**

DESMINERALIZACION		DESPROTEINIZACION	
HCl % (v/v)	5	NaOH % (p/v)	0.5 o 1.5
Temperatura °C	30	Temperatura °C	88-90
Tiempo (horas)	1	Tiempo (horas)	1
Vol. de reacción (p/v)	1:20	Vol. de reacción (p/v)	1:20
Agitación	SI	Agitación	SI

Con estas condiciones el rendimiento de quitina obtenida a partir de los caparazones de camarón fue de 26.1% en peso seco. Cabe mencionar que este rendimiento puede variar, dependiendo del material y de la especie utilizada.

Shahidi y Synowiecki 1991<sup>(46)</sup>, proponen una decoloración de la quitina obtenida a partir del caparazón del camarón para eliminar los pigmentos presentes y obtener un polvo blanco. Sin embargo en este trabajo no se consideró necesaria la despigmentación, ya que la quitina obtenida se un polvo blanco cristalino. Moolgani y cols. 1975<sup>(40)</sup>, reportaron que algunas veces no se considera la etapa de blanqueo del material, puesto que los polvos blanqueados de quitina reducen considerablemente la viscosidad final del producto de quitosán.

### 3.5. IDENTIFICACION DE LA QUITINA

En la figura 7 se puede observar el espectro infrarrojo de la quitina obtenida bajo las condiciones de desproteínización y desmineralización del caparazón de camarón establecidas en el presente trabajo y en la figura 8 el espectro de una quitina comercial de la marca SIGMA. En ellos puede apreciarse que, tanto la muestra comercial, como la obtenida experimentalmente, presentan las bandas características de la molécula en las mismas regiones del espectro, lo que indica que son la misma sustancia.

Ambos espectros muestran una señal ancha entre  $3100-3550\text{ cm}^{-1}$ . Esta puede deberse tanto a la presencia en la molécula de grupos hidroxilos, como a la existencia de una amida. En la quitina existen ambos grupos funcionales, pero la amida se confirma con la banda observada entre  $1510-1700\text{ cm}^{-1}$  y los hidroxilo con las señales localizadas entre  $1000-1160\text{ cm}^{-1}$  y  $1200-1450\text{ cm}^{-1}$ . Los enlaces carbono-oxígeno-carbono se caracterizan por la presencia de una banda entre  $1080-1160\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.6. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE LA QUITINA.

Se comprobó la insolubilidad de la quitina en agua, en ácido acético concentrado y diluido (1 y 2% v/v) y en ácidos fuertes diluidos tales como ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido clorhídrico (12.5, 25 y 50% v/v). Así como su solubilidad en el sistema de N,N-dimetilacetamida con LiCl al 5%, y en los siguientes ácidos concentrados: fosfórico, sulfúrico y clorhídrico.

Sin embargo los ácidos fuertes presentan el inconveniente de alterar la estructura química de la quitina, despolimerizando la molécula, por lo que es inconveniente su uso.

### 3.7. OBTENCION DE QUITOSAN.

La quitina obtenida fue sometida a una hidrólisis alcalina (desacetilación) a diferentes condiciones de acuerdo al diseño planteado, para la obtención de 16 diferentes muestras de quitosán. La solubilidad del quitosán en ácido acético diluido (1 y 2% v/v) fue diferente para cada una de las muestras obtenidas, como se muestra en la tabla 17.

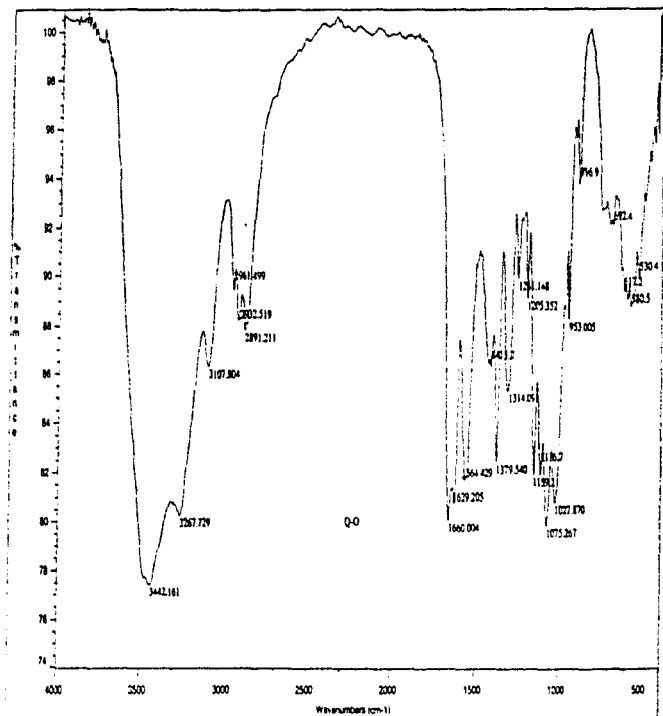


Fig. 7 Espectro de infrarrojo de la quitina obtenida experimentalmente.

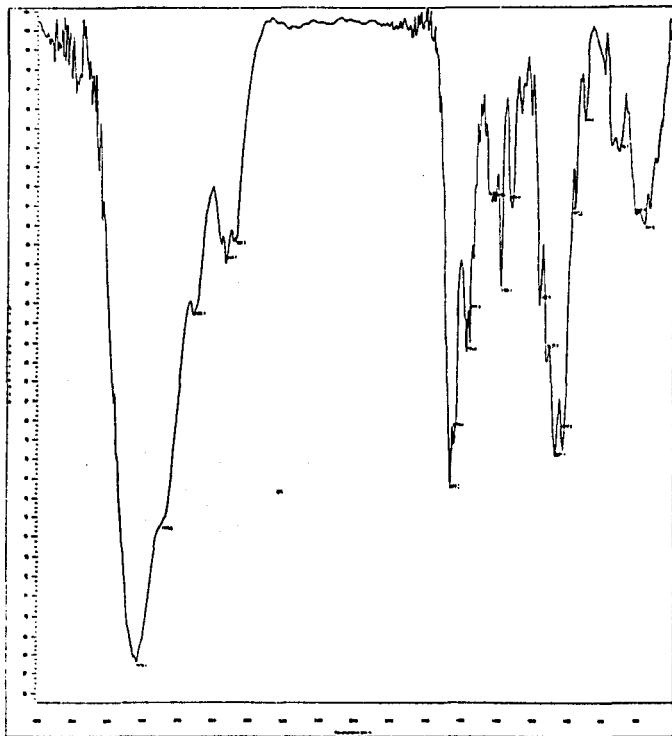


Fig. 8 Espectro de infrarrojo de la quitina comercial.

**Tabla 17 Solubilidad de las muestras de quitosán obtenidas bajo las diferentes condiciones de desacetilación.**

Nº muestra	Conc. NaOH (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Solubilidad en ác. acético 2%
QN-1	50 (p/v)	100	30	No
QN-2	50 (p/p)	100	30	Si *
QN-3	50 (p/v)	Ebullición	30	Si *
QN-4	50 (p/p)	Ebullición	30	Si
QN-5	50 (p/v)	100	60	No
QN-6	50 (p/p)	100	60	Si
QN-7	50 (p/v)	Ebullición	60	Si
QN-8	50 (p/p)	Ebullición	60	Si
QN-9	50 (p/v)	100	30	No
QN-10	50 (p/p)	100	30	Si
QN-11	50 (p/v)	Ebullición	30	Si *
QN-12	50 (p/p)	Ebullición	30	Si
QN-13	50 (p/v)	100	60	No
QN-14	50 (p/p)	100	60	Si
QN-15	50 (p/v)	Ebullición	60	Si
QN-16	50 (p/p)	Ebullición	60	Si

QN- Quitosán

\* Parcialmente solubles

Durante la desacetilación de la quitina es importante la producción de un quitosán que no presente problemas de solubilidad en ácido acético o fórmico diluido, ya que debido a esto, como menciona Berkeley 1979<sup>(6)</sup>, puede ser utilizado para la preparación de películas y fibras

La solubilidad del quitosán en este trabajo dependió de las condiciones de desacetilación, siendo la concentración de NaOH en su nivel alto y la temperatura en sus dos niveles, los factores de mayor importancia para que el quitosán obtenido fuera soluble. El tiempo aunque no fue un factor determinante para la obtención de un producto soluble es importante ya que en sus dos niveles fue el suficiente para la desacetilación de la quitina y para la producción de quitosanes solubles en ácido acético diluido sin ser degradados significativamente, ya que No HK y Meyers S P 1995<sup>(15)</sup>, han reportado que los tratamientos con alcali más allá de las 2 horas no desacetilan significativamente, sino que sirven solamente para degradar la cadena molecular

Con estos resultados se observa que es posible la preparación de quitosán soluble en ácido acético diluido sometiendo a la quitina a una hidrólisis con NaOH al 50% (p/p) a una temperatura de 100°C o de ebullición (134-135 °C) por 30 min, o con NaOH al 50% (p/v) a

una temperatura de ebullición (118-120 °C) por 30 min; teniendo un proceso más corto en comparación a los procesos reportados. Por ejemplo No HK y Meyers SP 1995 <sup>(49)</sup>, reportan que el quitosán soluble en ácido podrá ser formado con NaOH al 50% en un día usando 560ml de la solución para 10g de quitina, en dos días usando 420ml, en tres días usando 280ml y en seis días usando 140ml. Wu y Bough 1978 <sup>(49)</sup> encontraron que a una concentración de 35% de NaOH a 100 °C, se requiere un tiempo de desacetilación de 27 horas para obtener un producto soluble.

### 3.8. CARACTERIZACION REOLOGICA DE LAS MUESTRAS DE QUITOSAN.

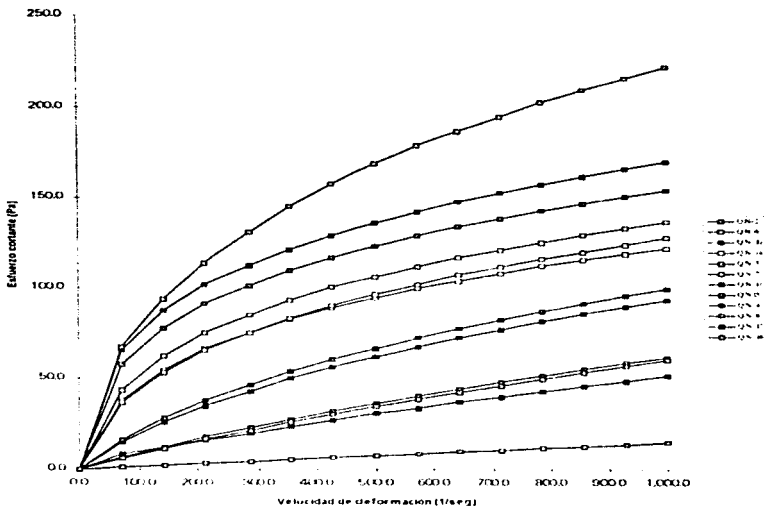
Las muestras de quitosán que fueron solubles en ácido acético se caracterizaron reológicamente, presentando un comportamiento de fluido pseudoplástico y diferentes índices de consistencia (K), estos resultados se muestran en la gráfica 7 (curvas de flujo de las muestras de quitosán) y en la tabla 18.

Tabla 18. Índices de consistencia y comportamiento del quitosán preparado bajo las diferentes condiciones de desacetilación.

Nº muestra	Índice de consistencia (K) (Pa seg <sup>0</sup> )	Índice de comportamiento (n)
QN-1	-----	-----
QN-2	13 677	0 352
QN-3	11 030	0 436
QN-4	1 170	0 636
QN-5	-----	-----
QN-6	8 608	0 402
QN-7	6 084	0 444
QN-8	0 020	0 943
QN-9	-----	-----
QN-10	16 001	0 343
QN-11	0 281	0 754
QN-12	1 320	0 628
QN-13	-----	-----
QN-14	7 261	0 410
QN-15	0 242	0 804
QN-16	0 197	0 823

----- No se determinó, se le da el valor de 0 para el análisis de diseño.

**Gráfica 7**  
**Curvas de Flujo de las Muestras de Qitosán,**



La caracterización reológica de las muestras de quitosán mostró que las soluciones de quitosán al 1% en ácido acético al 2%, fueron fluidos no newtonianos y tuvieron un comportamiento pseudoplástico como se muestra en la gráfica 7, ya que conforme aumenta la velocidad de deformación la viscosidad aparente de la solución ( $\tau$ ) disminuye, con  $n < 1$ , teniendo por

ecuación 
$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

donde

$K$  = índice de consistencia

$n$  = índice de comportamiento al flujo

$\tau$  = esfuerzo cortante

$\dot{\gamma}$  = velocidad de deformación

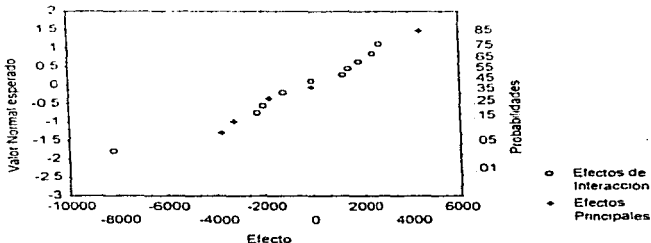
Los índices de consistencia de las soluciones de quitosán variaron de 0.020 a 16.001 Pa seg<sup>n</sup> dependiendo de las condiciones a las que fueron preparadas las muestras de quitosán

El comportamiento de las soluciones de quitosán obtenido coincide con lo reportado por Charalambous G y Doxastakis G (1959)<sup>(17)</sup>, los cuales mencionan que las soluciones de quitosán en ácidos orgánicos diluidos producen fluidos no newtonianos

Una vez que se obtuvieron los diferentes valores del índice de consistencia de las soluciones de quitosán se tomaron como respuesta para realizar la gráfica de probabilidad normal de los efectos (gráfica 8) y ver la influencia de las variables de desacetilación de la quitina sobre el índice de consistencia

Gráfica 8. Probabilidad normal de los efectos sobre la desacetilación

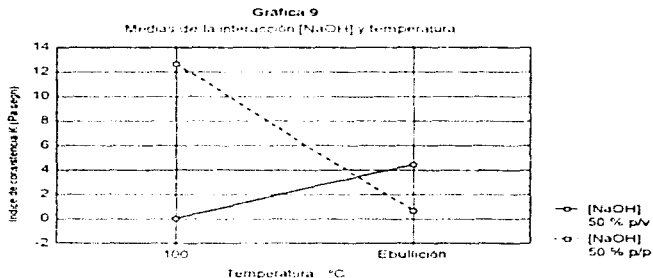
Índice de consistencia. Media = 4435.25, s = 6238.983





El análisis de la estructura factorial fraccionaria (gráfica 8) indicó que las variables de desacetilación de la quitina que tuvieron efectos importantes sobre el índice de consistencia de las soluciones de quitosán fueron la concentración de NaOH y la temperatura

En la gráfica 9, es evidente el efecto de la interacción entre la temperatura y la concentración de hidróxido de sodio. A la temperatura de 100 °C se obtuvo el valor de K (índice de consistencia) promedio más alto (12.655 Pa seg<sup>2</sup>) utilizando NaOH en el nivel alto (50% p/p), mientras que a la temperatura de ebullición (134-135 °C) se observó el efecto contrario, es decir el valor de K promedio más bajo (0.676 Pa seg<sup>2</sup>)



Sin embargo, existe heterogeneidad de varianzas, lo cual se puede observar en la tabla 19, esto invalida el análisis de varianza

**Tabla 19** Promedio y desviación estándar del índice de consistencia obtenido en las condiciones de desacetilación indicadas.

Condición Experimental		Resultados	
NaOH	Temperatura °C	Promedio	Desviación estándar
50% p/v	100	0.00	0.00
50% p/v	118-120	4.409	5.197
50% p/p	100	12.655	5.658
50% p/p	134-135	0.676	0.662

*Las cifras provienen del promedio de 4 mediciones*

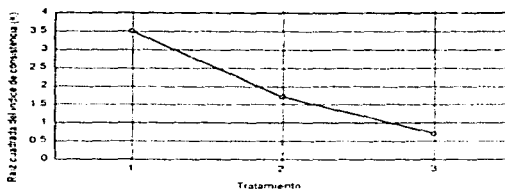
Con el fin de poder realizar un análisis de los datos, se utilizó la transformación raíz cuadrada del índice de consistencia (K), y se excluyeron los datos del tratamiento 1 (concentración de NaOH y temperatura en el nivel bajo). Los resultados se reorganizaron en una estructura de una sola vía con tres tratamientos con cuatro repeticiones cada uno como se muestra en la tabla 20.

Tabla 20. Reorganización de los resultados obtenidos

Tratamiento	Condiciones		Medias (raíz cuadrada K)
	Conc. NaOH	Temperatura	
1	-1	-1	1.488
2	-1	1	1.7
3	1	1	0.7

Con los datos de la tabla 20 se realizó un análisis de varianza (Anexo 5.4) y se compararon las medias de los tres tratamientos, obteniendo una diferencia significativa entre los tratamientos 1 y 3, pero no entre el 1 y 2 y el 2 y 3 (Gráfica 10).

Gráfica 10  
Efecto de la temperatura y la concentración de NaOH sobre K.  
F(2,9)=5.23, p=0.053



Aunque no se pudo probar estadísticamente fue evidente el efecto de la interacción entre la temperatura y la concentración de NaOH, esto sugiere la consecución de la experimentación en un rango menos amplio con un mayor número de niveles bajo las condiciones en donde se obtuvieron los índices de consistencia más altos para validar el modelo y determinar cuáles son las condiciones necesarias para la desacetilación de la quitina si lo que se quiere es obtener un quitosán que presente un valor alto de índice de consistencia.

No obstante, con los resultados anteriores, en este trabajo se encontró que las condiciones más convenientes para realizar la desacetilación de la quitina y obtener muestras de quitosán que presenten índices de consistencia altos fueron: la concentración de NaOH al 50% (p/p), la temperatura de 100 °C, por 30 minutos.

Bough y Salter 1978 <sup>(12)</sup>, encontraron que la viscosidad de los productos de quitosán es afectada por el tratamiento de desproteínamiento del material quitinoso crudo por el álcali (NaOH 3%) o por la extracción enzimática (Rhozyme-62), resultando una viscosidad baja en las muestras desproteínamizadas por la hidrólisis enzimática. Lo cual indica que cuando la extracción alcalina es usada para la desproteínamización se obtendrían productos con una viscosidad mayor que los obtenidos cuando se utiliza la extracción enzimática. Una posible explicación de esto puede ser la degradación de la estructura de la quitina por carbohidrasas presentes en Rhozyme-62.

Wu y Bough 1978 <sup>(49)</sup>, estudiaron los efectos del tiempo y concentración del NaOH sobre la desacetilación de la quitina y de acuerdo a sus resultados, la desacetilación procede rápidamente cerca del 68% durante la primera hora del tratamiento alcalino con una solución de NaOH al 50% a 100 °C. En las concentraciones estudiadas por estos autores 35, 40 y 50% de NaOH se observa un decremento en la viscosidad y peso molecular conforme decrece la concentración de álcali.

En este trabajo se confirmó que un decremento en la concentración de NaOH disminuye el índice de consistencia, ya que al utilizar una concentración de NaOH al 50% p/p se obtienen los valores de K más altos, que al utilizar una concentración de NaOH al 50% p/v. Sin embargo también se encontró que es importante la interacción entre la concentración de NaOH y la temperatura ya que a una concentración del 50% p/p a una temperatura de ebullición se obtienen valores de K más bajos que a una concentración del 50% p/v en ebullición.

La reducción del índice de consistencia cuando se utiliza NaOH al 50% p/p a una temperatura de ebullición se puede deber a que al someter al polímero a condiciones muy drásticas de concentración y temperatura en un tiempo prolongado es degradada la cadena molecular reduciéndose la viscosidad. Bough y Salter 1978 <sup>(12)</sup>, al investigar el efecto del tiempo de desacetilación en la viscosidad encontraron que el quitosán desacetilado por 5 min con NaOH al 50% p/p a 145-150 °C tuvo viscosidades más altas que el quitosán desacetilado por 15 min.

Bough y cols. 1978 <sup>(12)</sup>, reportan viscosidades para muestras de quitosán disueltas en ácido acético al 1 y 2% de 530 y 5110 cps respectivamente, mientras que algunas de las muestras preparadas presentan índices de consistencia desde 6000 hasta 16000 cps disueltas en ácido acético al 2%. En el caso de este trabajo no se reportan viscosidades sino índices de consistencia ya que las soluciones de quitosán presentaron un comportamiento no newtoniano, sin embargo podemos referir del modelo obtenido que las soluciones presentan valores de viscosidad por encima de los reportados.

### 3.9. IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS DE QUITOSÁN.

Para la identificación de las muestras de quitosán obtenidas se procedió a realizarles un espectro de infrarrojo. Comparando los espectros de las muestras QN-2, QN-9, QN-10 y QN-12, con el de la quitina obtenida experimentalmente, se puede notar que las bandas de absorción para el carbonilo disminuyeron considerablemente en los espectros del quitosán (Figura 9 a 12), al igual que la banda del grupo C-H ( que corresponde en parte a la banda de absorción del grupo CH<sub>2</sub> ) y la de la amina secundaria, lo cual indica que se logró una desacetilación de la molécula aunque no en su totalidad.

Basándose en lo anterior se puede observar, cualitativamente, que estas muestras de quitosán presentan diferente grado de desacetilación, notándose que el orden de las muestras ordenadas de mayor a menor grado de desacetilación fue QN-12, QN-2, QN-10 y QN-9.

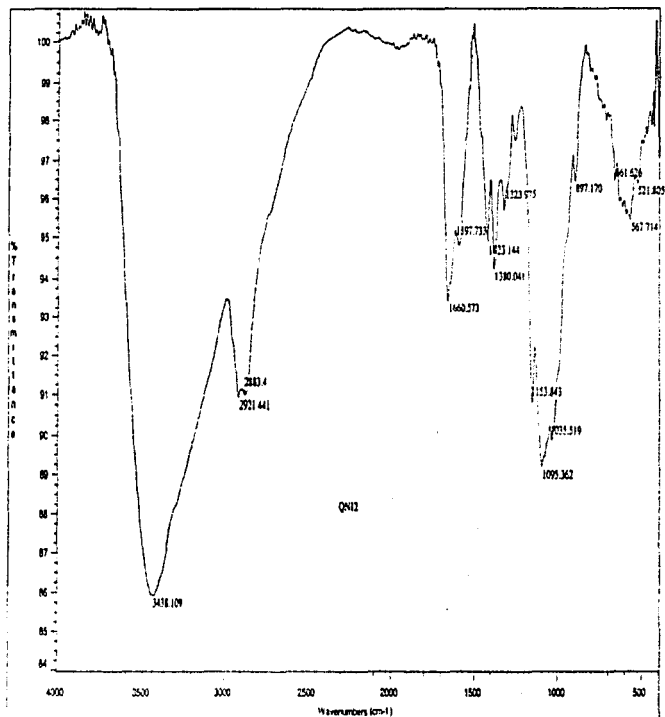


Fig. 9 Espectro de infrarrojo del quitosán 12 (QN-12)

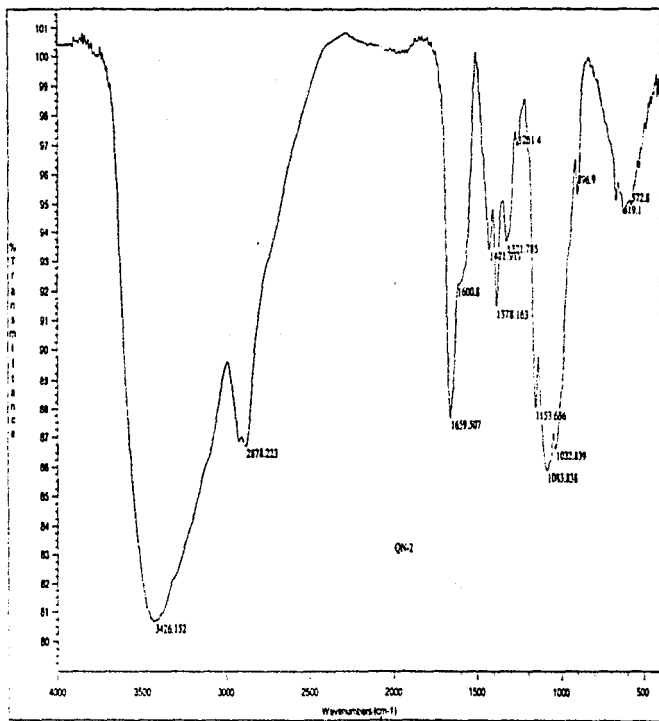


Fig. 10 Espectro de infrarrojo del quitosán 2 (QN-2).

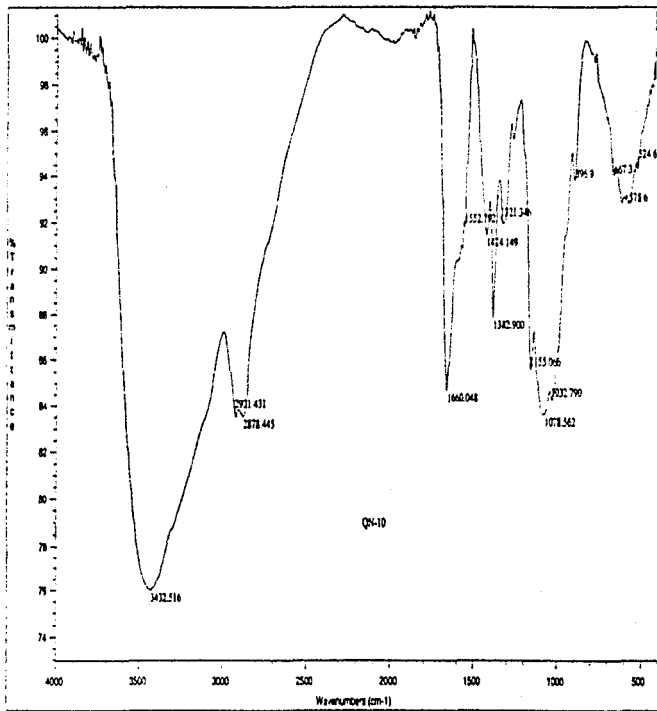


Fig. 11 Espectro de infrarrojo del quitosán 10 (QN-10).

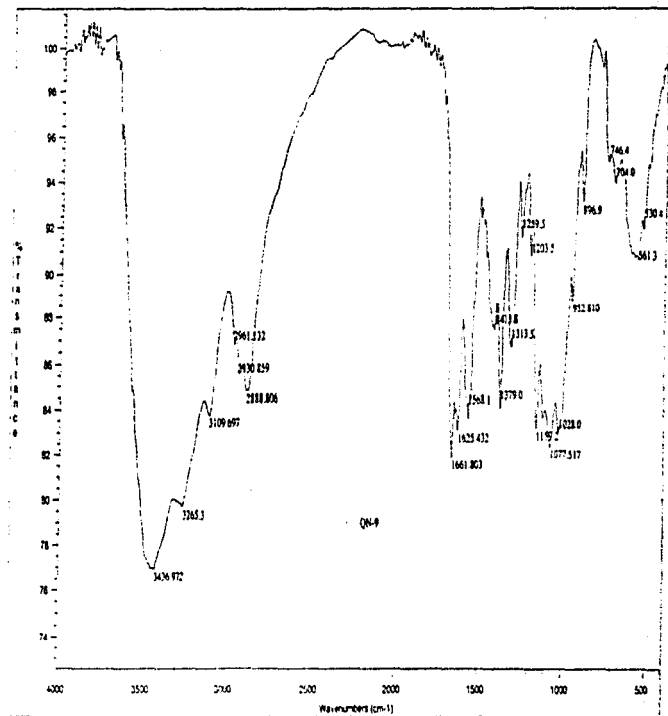


Fig 12 Espectro de infrarrojo del quitosán 9 (QN-9).



## CONCLUSIONES.

1. Es posible la extracción de quitina existente en el caparazón de camarón mediante el empleo de un tratamiento químico, el cual consta de una hidrólisis ácida para la remoción de los minerales, seguida de una alcalina para la eliminación de las proteínas.
2. Los factores que influyen significativamente en la desmineralización del caparazón de camarón son la concentración de HCl, el volumen de reacción y su interacción.
3. Los factores que influyen significativamente en la desproteínización del caparazón de camarón son la temperatura, la concentración de NaOH y el volumen de reacción.
4. El rendimiento de quitina obtenido bajo las condiciones de extracción estudiadas es del 26.1% en peso seco.
5. La quitina obtenida a partir del caparazón de camarón, bajo las condiciones estudiadas, contiene en promedio 0.578% de minerales y 0.158% de proteínas.
6. La identificación del polímero extrayendo experimentalmente por espectro de infrarrojo indica que se trata de la molécula de quitina.
7. Variando las condiciones de desacetilación de la quitina se pueden preparar quitosanes con diferentes propiedades.
8. Las variables de desacetilación de la quitina que influyen significativamente para la preparación de quitosanes con diferentes propiedades reológicas y de solubilidad son la concentración de NaOH, la temperatura y su interacción.
9. Las soluciones de quitosán en ácido acético al 2%, presentan un comportamiento de fluido pseudoplástico, con valores de índice de consistencia que varían de 0.020 a 16.001 Pa seg<sup>7</sup> dependiendo las condiciones de desacetilación de la quitina.
10. Los espectros de infrarrojo de los diferentes quitosanes muestran diferencia en las bandas que corresponden a los grupos carbonilo, lo que indica diferente grado de desacetilación.

## SUGERENCIAS.

1. Con los estudios realizados hasta el momento acerca de los factores que intervienen en la desacetilación de la quitina para obtener quitosán no se ha logrado generalizar cuales son las condiciones más adecuadas para su preparación, según las propiedades deseadas en el producto final. Se sugiere que si se desea determinar las condiciones a las cuales se obtiene un quitosán totalmente soluble en ácido acético pero significativamente no degradado, es decir, un quitosán de mayor calidad, se realice una investigación más completa variando la concentración de NaOH, la temperatura y el uso de una atmósfera de nitrógeno, además realizar determinaciones del porcentaje de desacetilación y del peso molecular (indica la medida de degradación de la molécula de quitosán) en los productos obtenidos de dichas variables. Así como una caracterización química más completa que abarque peso molecular, grado de desacetilación, solubilidad en ácidos orgánicos, pruebas reológicas estáticas y dinámicas, grado de pureza, etc., para tener un estudio más completo acerca de las propiedades del quitosán, de acuerdo a las condiciones a las que sea preparado.
2. Una vez determinadas las propiedades del quitosán, evaluar su posible aplicación en la industria de los alimentos como espesante y emulsificante para la elaboración de nuevos productos, o como fungicida y antimicrobiano en el recubrimiento de frutas y hortalizas para preservar sus propiedades.
3. Para un aprovechamiento más completo del caparazón de camarón, consideramos importante realizar la recuperación de las proteínas que se encuentran en los efluentes generados en el proceso de extracción de la quitina, así como la identificación y el estudio de las propiedades de dichas proteínas para su posible uso como aditivo en la industria de alimentos para consumo humano y/o animal.

## BIBLIOGRAFIA.

1. Alimuniar and Zainuddin 1992. An economical technique for producing chitosan. In advances in Chitin and Chitosan, C.J. Brine, P.A. Sandford, and J.P. Zikakis (Ed.), p. 627. Elsevier Applied Science, Essex, UK.
2. Anderson C.G., DePablo N. and Romo G.R. 1978. Antarctic Krill (*Euphausia superba*) as a source of chitin and chitosan. In Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan. R.A.A. Muzzarelli and E.R. Pariser (Ed.), p. 54. MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA.
3. Anuario estadístico de pesca. 1993. Secretaría de Pesca. México.
4. A.O.A.C. 1975. Washington D.C. 12th.
5. Arcidiacono S. and Klapan D.L. 1992. Molecular weight distribution of chitosan isolated from *Mucor rouxi* under different culture and processing conditions. In Biotechnology and Bioengineering. 39 (3) 281.
6. Atlas pesquero de México. 1994. Secretaría de Pesca. INP.
7. Austin P.R., Brine C.J., Castle J.E. and Zikakis J.P. 1981. Chitin. New Facets of Research In Science. 212 (15) 749.
8. Baster Alasdair, Dillon Michael, Taylor K.D. Anthony and Roberts George A.F. 1992. Improved method for the determination of the degree of N-acetylation of chitosan. In International Journal of Biological Macromolecules. structure, function and interactions. Chey Edward Atkins (Ed.). U.S. Associate. 14 (3) 166.
9. Berkely R.C.W. 1979. Chitin, chitosan and their degradative enzymes. In Microbial Polysaccharides and Polysaccharases. Society for General Microbiology pp. 205-236.
10. Biotecnología de enzimas. 1983. Departamento de Biotecnología. Instituto de Investigaciones Biomédicas. U.N.A.M.
11. Blumberg R., Southall C.L., Van Rensburg N.J. and Volckman O.B. 1981. South African fish products XXXII. The rock lobster. A study of chitin production from processing wastes. J. Sci. Food Agric. 2: 571.
12. Bough W.A., Salter W.L., Wu A.C.M. and Perkins B.E. 1978. Influence of Manufacturing Variables on the Characteristics and Effectiveness of Chitosan Products. I.

Chemical Composition, Viscosity and Molecular-Weight Distribution of Chitosan Products  
Biotechnology and Bioengineering, XX 1931

13. Braverman JBS. 1980. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Edit. El Manual Moderno. México.
14. Brine C.J. and Austin P.R. 1981. Chitin variability with species and method of preparation. Comp Biochem Physiol 69B:283.
15. Broussignac P. 1968. Chitosan, a natural polymer not well known by the industry. Chim Ind Genie. Chim 99:1241.
16. Brzeski M.M. 1982. Concept of chitin/chitosan isolation from Antarctic Krill (*Euphausia superba*) shells on a technical scale. In Proceedings of the Second International Conference on Chitin and Chitosan. S. Hirano and S. Tokura (Ed.) p. 15. The Japan Society of Chitin and Chitosan, Sapporo, Japan.
17. Carrood P.A. and Tom R.A. 1978. Bioconversion of Shellfish Chitin Wastes. Process Conception and Selection of Microorganisms. Journal of Food Science. 43:1158.
18. Costo I.G., Fisher R.A. and Carrod P.A. 1982. Bioconversion of Shellfish Waste. Waste pretreatment, enzyme production, process design and economic analysis. J. Food Science. 47:901.
19. Charalambous G. and Dixastakis G. 1989. Chemistry, Technology, Functional Properties and Applications. Food Emulsifiers. Ed. Elsevier.
20. El cultivo de camarón azul *Penaeus stylirostris*. 1984. Centro de investigaciones científicas y tecnológicas de la Universidad de Sonora. Secretaría de Pesca. México D.F.
21. Flores Celestino. 1967. Los recursos marinos. Tomo I. Manual para profesionistas del nivel medio. Cumana/Venezuela.
22. García Martínez Luz. 1993. Con los desechos del camarón es posible producir insecticida biológico. Investigación Hoy. p. 10.
23. Guía para la formulación de proyectos de camaronicultura. 1988. Secretaría de Pesca. Fideicomiso Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero. México D.F.
24. Hackman R.H. 1954. Studies on chitin. I. Enzymatic degradation of chitin and chitin esters. Aust J Biol Sci. 7:168.
25. Hackman R.H. and Goldberg M. 1974. Light-Scattering and Infrared-Spectrophotometric studies of chitin and chitin derivatives. Carbohydrate Research. 38:35.

- 26 Hackman R.H. 1987. *Chitin and the fine structure of cuticles*. Chitin and Benzoylphenyl ureas. Wright J.E. and Retnakaran A. (Ed.) Dr. W. Junk Publishers.
- 27 Hirano Shigehiro, Yamaguchi Ryuji, Fukui Nobuaki and Iwata Mamoru. 1991. *Biotechnology and Polymers*. Charles O. Gebelein (Ed.) Plenum Press, N.Y. and London.
- 28 Horowitz S.T., Roseman S. and Blumenthal H.J. 1957. The preparation of glucosamine oligosaccharides. I. Separation. *J. Agric. Food Chem.* 7:1-8046.
- 29 Kamasashi P.V. and Prabhu P.V. 1961. Preparation of chitin & glucosamine from prawn shell waste. *J. Sci. Ind. Res.* 20D:466.
- 30 Knorr Dietrich. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. *Journal of Food Science* 47:593.
- 31 Knorr Dietrich. 1984. Use of chitinous polymers in food. *Food Technology* 38 (1):85.
- 32 Knorr Dietrich. 1991. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technology* 45 (1):114.
- 33 Kobelke D.N. 1989. By-products from crustacean wastes - chitin production. *Food Australia* 42 (1):18.
- 34 Kurita K., Tomita K., Tada T., Ishii S., Nishimura S. and Shimoda K. 1993. Squid chitin as a potential alternative chitin source. Deacetylation behavior and characteristic properties. *Journal of Polymer Science - Part A: Polymer Chemistry* 31:485.
- 35 Lusena C.V. and Rose R.C. 1953. Preparation and viscosity of chitosan. *J. Fish. Res. Board Can.* 10:521.
- 36 Madhavan P. and Ramachandran Nar K.G. 1974. Utilization of prawn waste: isolation of chitin and its conversion to chitosan. *Fish. Technol.* 11:50.
- 37 Manual de control de calidad para camarón. 1988. Secretaría de Pesca. México D.F.
- 38 Miya S., Miya M., Iwamoto R. and Yoshikawa S. 1983. Highly deacetylated chitosan and its properties. *J. Appl. Polym. Sci.* 28:1909.
- 39 Montgomery Douglas C. *Diseño y análisis de experimentos*. Grupo editorial Iberoamérica.
- 40 Moorjani M.N., Achulha V. and Khasim D.I. 1975. Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste. *J. Food Sci. Technol.* 12:187.
- 41 Muzzarelli R.C. 1977. *Chitin*. Pergamon Press, Oxford.

42. Muzzarelli R.C., Jeuniaux Charles and Gooday G.W. 1986. Chitin in nature and technology Plenum Press: N.Y. London 3rd
43. No Hong K. and Meyers Samuel P. 1989. Crawfish chitosan as a coagulant in recovery of organic compounds from seafood processing streams. *J. Agric. Food Chem.* 37 (3) 580
44. No Hong K., Meyers Samuel P. and Lee Keun S. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37 (3) 575
45. No Hong K. and Meyers Samuel P. 1995. Preparation and characterization of chitin and chitosan - A Review. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 4(2) 27
46. Okafor N. 1965. Isolation of chitin from the shell of the cuttlefish, *Sepia officinalis* L. *Biochim. Biophys. Acta* 101 193
47. Origane A. and Sato T. 1993. Process for producing yeast extract. United States Patent No. US 5,188,852 (US5188852)
48. Sannan T., Kurita K., Ogura K. and Iwakura Y. 1978. Studies on chitin 7. Ir spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer* 19 458
49. Segovia Bustamante Miguel. 1952. Analisis de la proteina de la parte comestible del camaron (*Penaeus setiferus*) por el método de Vanslyke. Facultad de Química, U.N.A.M. Tesis
50. Shahidi F. and Synowieski J. 1991. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Penaeus borealis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.* 39 (8) 1527
51. Shimahara K. and Takiguchi Y. 1988. Preparation of crustacean chitin. *Methods in Enzymology* 161 417
52. Skjakbraek G., Anthonsen T. and Sandford P. 1988. Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. Elsevier Applied Science (Ed.) London and N.Y. 4th
53. Soto-Peralta Nello V., Muller H. and Knorr D. 1989. Effects of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. *Journal of Food Science* 54 (2) 495
54. Suryanarayana Rao S.V., Yashodha K.P., Mahendrakar N.S. and Puttarajappa P. 1987. Deacetylation of chitin at low temperature by a novel alkali impregnation technique. *Indian J. Technol.* 25 194

55. Synowiecki J., Sikorski Z.E. and Naczek M. 1981 Immobilization of invertase on krill chitin. *Biotechnol Bioeng.* 23:231
56. The new encyclopedia britannica. Vol. 16. Macropaedia. 15 edition. p. 896-897.
57. Villee Claude A. 1968. *Biología*. Editorial Interamericana. Mexico. 5ta. edición
58. Whistler R.S. and BeMiller J.N. 1962. *Chitin*. *J. Org. Chem.* 27:1161
59. Wu A.C.M. and Bough W.A. 1978. A study of variables in the chitosan manufacturing process in relation to molecular-weight distribution, chemical characteristics and waste-treatment effectiveness. In *Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan*, R.A.A. Mazzarelli and E.R. Pomeroy (Ed.), p. 88. MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA.
60. Zikakis John P. 1984. *Chitin, chitosan and related enzymes*. Academic Press (Ed.) Inc. Orlando Florida, USA.

# ANEXO I. TECNICAS DE CONTROL.

## I.1. DETERMINACION DE HUMEDAD.

### METODO POR ESTUFA.

**FUNDAMENTO** Esta determinación se basa en la evaporación del agua libre que se encuentra en el alimento

#### MATERIAL Y EQUIPO

- Estufa.
- Capsulas de porcelana o aluminio
- Desecador
- Pinzas para crisol
- Balanza analítica

#### PROCEDIMIENTO

Llevar una cápsula a peso constante, en una mufla a 500-600 °C. Pesar en la capsula a peso constante de 3 a 5 gramos de muestra homogeneizada, colocarla en la estufa a 80-90 °C hasta que el peso de la capsula no varíe

Sacar la capsula de la estufa y enfiarla en un desecador. Pesar tan pronto como se haya alcanzado la temperatura ambiente

#### CALCULOS

$$\% \text{ Humedad} = ((A - B) \times 100) / M$$

Donde

A = Peso de la cápsula + muestra húmeda, en gramos

B = Peso de la cápsula + muestra seca, en gramos

M = Peso de la muestra húmeda en gramos

*Ref. A.O.A.C., 1975. Washington D.C. 12th.*



## 1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS.

**FUNDAMENTO.** Se basa en la incineración para destruir toda la materia orgánica, cambiando su naturaleza, las sales metálicas de los ácidos orgánicos se convierten en óxidos o carbonatos, o bien reaccionan durante la incineración para formar fosfatos, sulfatos o haluros

### MATERIAL Y EQUIPO

- Mufla
- Crisoles de porcelana
- Desecador
- Pinzas para crisol
- Mechero
- Tripie
- Triángulo de porcelana

### PROCEDIMIENTO

Pesar entre uno y dos gramos de muestra en un crisol puesto previamente a peso constante Carbonizar la muestra lentamente en el mechero, para evitar pérdidas por arrastre de humo y proyecciones de la muestra fuera del crisol

Cuando el desprendimiento de humo haya cesado, llevar el crisol a la mufla a una temperatura entre 500 - 600 °C, hasta que las cenizas estén libres de carbon (cenizas grises o blancas) Si esto no se logra, dejar enfriar el crisol, agregar unas gotas de agua destilada, secar nuevamente en el mechero y continuar calentando en la mufla hasta peso constante Algunas cenizas pueden presentar coloración diferente si la muestra contiene metales coloridos

Transferir el crisol a la estufa, enfriar paulatinamente y llevar al desecador. Una vez que ha alcanzado la temperatura ambiente, pesar

### CALCULOS

$$\% \text{ Cenizas} = ((a - b) \times 100) / m$$

Donde

a = Peso del crisol más cenizas

b = Peso del crisol vacío

m = Peso de la muestra en gramos.

*Ref. A.O.A.C., 1975. Washington D.C. 12th.*

### 1.3. DETERMINACION DE NITROGENO TOTAL.

#### METODO DE MICRO-KJELDAHL.

**FUNDAMENTO** La digestión de la muestra se efectúa con un oxidante fuerte como el ácido sulfúrico concentrado. Como productos de la oxidación de compuestos orgánicos se tienen  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , el  $\text{H}_2\text{SO}_4$  se reduce a  $\text{SO}_2$  y este reduce el nitrógeno de compuestos orgánicos e inorgánicos formándose así  $\text{NH}_3$ . En presencia de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  el  $\text{NH}_3$  se transforma en  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Para catalizar la reacción se utiliza una mezcla de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (que incrementa el punto de ebullición de ácido sulfúrico) y  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (que acelera la reacción).

Muestra contenida  $\rightarrow 2\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{SO}_2 + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$   
sustancias nitrogenadas

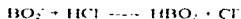
El  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  se hace reaccionar con  $\text{NaOH}$  para formar  $\text{NH}_3$ .



El  $\text{NH}_3$  se destila por arrastre de vapor y se fija recibiendo en una solución de  $\text{HBO}_2$ .



Ya que por cada átomo de nitrógeno presente se forma un ion borato ( $\text{BO}_2^-$ ), éste se neutraliza con una solución valorada de  $\text{HCl}$  y así, de manera indirecta, se conoce el contenido de nitrógeno.



#### MATERIAL Y EQUIPO

- Aparato de kjeldahl
- Matraz de kjeldahl
- Bureta
- Matraz erlenmeyer
- Agitador magnético
- Aparato de destilación

#### REACTIVOS

- Acido sulfúrico concentrado
- Hidroxido de sodio al 40%
- Sulfato de sodio o de potasio
- Sulfato de cobre pentahidratado

- Acido bórico al 4%
- Acido clorhídrico 0.1 N, normalizado
- Indicador de Kjeldahl

#### PROCEDIMIENTO

De acuerdo al contenido de nitrógeno pesar exactamente 0.1 g de muestra (seca o húmeda), utilizando papel libre de nitrógeno (por ejemplo papel arroz) tarado previamente. Envolver la muestra en el papel y colocarla en el fondo del matraz Kjeldahl. Adicionar 0.2 g de sulfato de cobre pentahidratado, 1 o 1.5 g de sulfato de sodio y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Colocar el matraz en el digestor, calentar suavemente al principio y después en forma energética hasta completar la oxidación. El punto final de la digestión se reconoce cuando la solución es de color verde clara transparente. Si se agota en ácido y no se ha digerido totalmente la muestra (cuando no se ha alcanzado el punto final) dejar enfriar, añadir otra cantidad conocida de ácido y continuar calentando. Algunas veces se presenta un precipitado gris correspondiente a los catalizadores, el cual no afecta al punto final.

Terminada la digestión enfriar el matraz en una campana para la extracción de gases o en su defecto al aire libre hasta que no haya emisión de vapores. Añadir unos ml de agua para disolver completamente la muestra.

Preparar el aparato de destilación, esto es en la salida del refrigerante adaptar un tubo de vidrio el cual deberá permanecer sumergido dentro del matraz e llenar de 100 ml receptor del destilado. El matraz receptor contendrá 50 ml de ácido bórico al 4% y unas gotas del indicador de Kjeldahl.

Abir la válvula de agua del sistema de enfriamiento, encender la parilla y mezclar lentamente con movimientos rotatorios el matraz de Kjeldahl.

Poner en el matraz de Kjeldahl NaOH al 40%. Conectando inmediatamente el matraz al sistema de destilación del aparato e ir añadiendo lentamente la sosa.

Después de recuperar un poco de destilado el indicador deberá virar de rosa mexicano o violeta a amarillo verdoso. Destilar aproximadamente 100 ml para garantizar la recuperación de todo el amoníaco.

Para evitar que el matraz Kjeldahl haga succión y el destilado se regrese, retirar primero el matraz receptor y después apagar la fuente de calor. A continuación lavar con agua destilada el tubo del refrigerante que está sumergido en el matraz con ácido bórico.

Titular lenta y cuidadosamente el destilado con una solución de HCl 0.1 N, hasta alcanzar el viraje de amarillo verdoso a rojo canela.

## CALCULOS

$$\% \text{ de nitrógeno} = ( V \times N \times \text{meq} \times 100 ) / m$$

Donde.

V = ml de HCl usados en la titulación

N = normalidad de la solución valorada de HCl

meq = miliequivalentes de nitrógeno, 0.014 g

m = peso de la muestra en gramos

*Ref. A.O.A.C., 1975. Washington D.C. 12th.*

## 1.4. DETERMINACION DE PROTEINAS.

### METODO DE TAKIGUCHI

La proteína asociada con quitina es hidrolizada con una solución acuosa de hidróxido de sodio caliente y la concentración de sustancias ninhydrin-positiva en el hidrolizado es determinada colorimétricamente

#### REACTIVOS

-Hidróxido de sodio, 10 N

-Acido clorhídrico, 12 N

-Buffer de acetato 0.5 M, pH 5.1

-Solución de ninhydrin-hidrandantin: disolver 0.5g de ninhydrin y 0.15g de hidrandantin en 100 ml de methyl Cellosolve. Esta solución debe prepararse justo en el momento en el que se va a ocupar

#### PROCEDIMIENTO

Poner 0.3g de muestra (polvo de quitina) en un matraz Erlenmeyer de 100ml, el cual debe ser de polipropileno, y adicionar 50ml de la solución de hidróxido de sodio 10 N. Envolver o cubrir el matraz con papel aluminio y meterlo en el autoclave a 121 °C por 1 hora. Posteriormente enfriar rápidamente y neutralizar con el ácido clorhídrico 12 N. Luego filtrar en un filtro glass que tenga un tamaño de poro de 20-30 micrómetros, y lavar el filtrado con agua destilada hasta obtener un volumen de 150 ml de solución.

De esta solución, tomar una alícuota de 0.5 ml y ponerla en un tubo, agregándole 5 ml de la solución buffer y 5 ml de la solución de ninhydrin-hidrandantin. Cubrir el tubo con papel aluminio e incubar en agua a ebullición por 10 minutos. Después enfriar rápidamente y leer la absorbancia a 564 nm. Utilizando como blanco una solución preparada como se indicó, a excepción de que en lugar de utilizar la solución de la muestra, utilizar 0.5 ml de agua desionizada.

#### CALCULOS

$$P (\%) = 2.37 (A_{564} / W)$$

Donde:

$A_{564}$  = a la absorbancia a 564 nm

W = peso en gramos de la muestra

*Ref. Shimahara K. and Takiguchi Y., 1988. Preparation of crustacean chitin. Methods in Enzymology, 161:417*

## ANEXO 2. ANALISIS ESTADISTICOS.

En este apartado se presentan los modelos y análisis estadísticos con los que se avalan los resultados de la investigación

En los procesos de desmimerización, desprotección y desacetilación se utilizó un experimento factorial fraccionado  $2^{5-1}$  con un diseño completamente aleatorio. En la tabla 21 se muestran los efectos que se probaron

**Tabla 21. Alias de los efectos principales e interacciones del diseño  $2^{5-1}$  de resolución R=V.**

Factor	
A	BCDE
B	ACDE
C	ABDE
D	ABCE
E	ABCD
AB	CDE
AC	BDE
BC	ADE
AD	BCE
BD	ACE
CD	ABE
AE	BCD
BE	ACD
CE	ABD
DE	ABC

*Donde: A Concentración de NaOH, para desprotección y desacetilación.*

*A Concentración de HCl, para desmimerización*

*B Temperatura.*

*C Tiempo.*

*D Volumen de reacción.*

*E Agitación*

2.1. Tabla de análisis de varianza que demuestra el efecto significativo de la concentración de HCl, el volumen de reacción y su interacción, en la desmineralización del polvo de camarón

EFEECTO	gl	C.M.	F	P
HCl	1	1154.361	460.1932	0.000000
Vol Reacción	1	481.807	192.0836	0.000006
HCl Vol Reacción	1	245.549	97.8747	0.000000
Error	12	2.508		

Dictamen: Se encontró un efecto significativo de la concentración de ácido clorhídrico y del volumen de reacción, así como su interacción ( $p < 10^{-5}$ ) en el proceso de desmineralización.

2.2. Tabla de análisis de varianza que demuestra el efecto de aumentar los niveles de las variables que tuvieron significancia en la desmineralización del polvo de camarón.

EFEECTO	gl	C.M.	F	P
HCl	1	0.063014	4.663775	0.036548
Vol Reacción	1	0.007113	0.156377	0.714731
HCl Vol Reacción	1	0.010513	0.777851	0.422575
Error	4	0.013513		

Dictamen: No se encontró un efecto significativo al aumentar los niveles de variación de la concentración de ácido clorhídrico y del volumen de reacción, ( $p > 0.0500$ ) en el proceso de desmineralización.

Conclusión final: Como resultado de las verificaciones realizadas a las variables que intervienen en el proceso de desmineralización, se señaló que las mejores condiciones para lograr la remoción de los minerales presentes en el caparazón de camarón fueron utilizar ácido clorhídrico al 5%, con un volumen de reacción 1:20, a una temperatura de 30 °C, por 1 hora con agitación.

2.3. Tabla de análisis de varianza que demuestra el efecto significativo de la concentración de NaOH, el volumen de reacción y la temperatura en la desproteización del polvo de camarón

EFEECTO	gl	C.M.	F	P
NaOH	1	46.6626	17.6484	0.002917
Temperatura	1	587.2867	221.9940	0.006090
Vol Reacción	1	24.9201	9.4198	0.015367
NaOH-Temp.	1	12.8128	4.8432	0.058926
NaOH-Vol Reac	1	12.2185	4.6186	0.063866
Temp-Vol Reac	1	5.2418	1.9814	0.196891
NaOH-Temp-Vol	1	1.5055	0.5691	0.472241
Reaccion				
Error	8	2.6455		

Dictamen: Se encontró que las variables que tuvieron un efecto significativo sobre la desproteización fueron la concentración de hidróxido de sodio, la temperatura y el volumen de reacción ( $p < 0.01$ )

Conclusión final: Como resultado de las verificaciones realizadas a las variables que intervienen el proceso de desproteización, se encontró que las condiciones más convenientes para reducir el contenido de proteínas presentes en el caparazón de camarón fueron utilizar hidróxido de sodio al 1.5%, a una temperatura de ebullición (88-89 °C), con un volumen de reacción 1:20, por 1 hora con agitación.

2.4. Tabla de análisis de varianza que demuestra el efecto significativo de la concentración de NaOH y la temperatura sobre el índice de consistencia del quitosán, una vez que se reorganizaron los resultados.

EFEECTO	gl	C.M.	F	P
Tratamientos	2	7.9618	8.233034	0.009274
Error	9	0.9670		

Dictamen: Si hay diferencias entre las medias

Se realizó la prueba de Tukey para saber entre cuales medias existía diferencia, obteniendo como resultado de la prueba, al 0.05 de significancia, lo siguiente: las líneas unen a las medias entre las cuales no hay diferencia significativa

1. 3.488 |  
2. 1.7 |  
3. 0.7 |