

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Optimización de la extracción de quitosano a partir del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus Vannamei*, utilizando radiación de microondas como alternativa sostenible

Trabajo de graduación presentado por Andrea Ximena Contreras Payés para optar al grado académico de Licenciada en Química

Guatemala,

2022



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Optimización de la extracción de quitosano a partir del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus Vannamei*, utilizando radiación de microondas como alternativa sostenible

Trabajo de graduación presentado por Andrea Ximena Contreras Payés para optar al grado académico de Licenciada en Química

Guatemala,

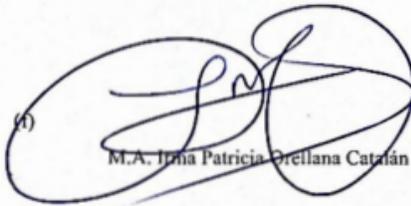
2022

# HOJA DE APROBACIÓN

Vo. Bo.

(f)   
M.A. Irina Patricia Orellana Catalán

Tribunal Examinador:

(f)   
M.A. Irina Patricia Orellana Catalán

(f)   
Lic. Angel Ramirez

(f)   
Lic. Saúl Loaiza

Fecha de aprobación: Guatemala, 06 de diciembre de 2022

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	xii
LISTA DE CUADROS	xiii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
GENERAL	3
ESPECÍFICOS	3
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>4</b>
<b>IV. HIPÓTESIS</b>	<b>6</b>
<b>V. MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
A. ANTECEDENTES	7
B. COMPOSICIÓN DE LOS DESECHOS DE CAMARÓN	11
C. OBTENCIÓN DE QUITOSANO A PARTIR DE QUITINA	13
D. ALTERNATIVA SOSTENIBLE DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN QUÍMICA DE QUITOSANO	17
E. QUITINA Y QUITOSANO DE CALIDAD	19
<b>V. METODOLOGÍA</b>	<b>21</b>
I. TRATAMIENTO PREVIO DE LAS CÁSCARAS DE CAMARÓN	21
II. DESPROTEINIZACIÓN	21
III. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DESPROTEINIZACIÓN	22
IV. DESMINERALIZACIÓN	23
V. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DESMINERALIZACIÓN	24
VI. DETERMINACIÓN DE LA SECUENCIA ÓPTIMA PARA LA DESPROTEINIZACIÓN Y DESMINERALIZACIÓN	25
VII. DECOLORACIÓN	26
VIII. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DECOLORACIÓN	27
IX. DESACETILACIÓN	27
X. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DESACETILACIÓN	28
XI. CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO OBTENIDO	29
<b>VI. RESULTADOS</b>	<b>30</b>
I. DESPROTEINIZACIÓN	30
II. DESMINERALIZACIÓN	31
III. SECUENCIA ÓPTIMA DESPROTEINIZACIÓN Y DESMINERALIZACIÓN	32
IV. DECOLORACIÓN	33

V. DESACETILACIÓN	35
VI. RENDIMIENTO DE LA REACCIÓN	36
VII. CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO OBTENIDO	36
<b>VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>38</b>
<b>IX. CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>X. RECOMENDACIONES</b>	<b>45</b>
<b>XI. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>46</b>
<b>XII. ANEXOS</b>	<b>53</b>
I. FIGURAS	53
II. CÁLCULOS DE MUESTRA	60

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi fuerza y motivación, por ser mi luz en el camino y darme todo lo necesario para alcanzar mis objetivos.

A la Universidad del Valle de Guatemala, por exigirme tanto, pero que al mismo tiempo me ha permitido obtener todas las herramientas y recursos sin los cuales no estarían las bases ni las condiciones para aprender conocimientos.

A Acumaya, especialmente a Gabriel Biguria, por todo el apoyo otorgado a través de los materiales y equipo, por siempre apostar por la ciencia y por la confianza que tuvo en mí durante todo este proceso.

A Irma Orellana, por su asesoría y apoyo durante este proceso, por ser portadora de tanta sabiduría y sobre todo por su capacidad para transmitirla con pasión, dedicación y paciencia, ya que sin sus palabras y correcciones precisas no hubiese podido lograr esta meta.

A Alejandra Zamora, por su colaboración, apoyo y ánimos en la realización de este trabajo de investigación.

A Kristhal Guerra, por ser mi compañera de tesis, por estos años de amistad, por las horas compartidas, los trabajos realizados juntas y por hacer más amena mi estancia en la universidad.

Por último, a mis padres, por siempre ser el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, por estar a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio y por siempre ser mis mejores guías de vida. Les dedico a ustedes este logro, como una meta más conquistada.

## LISTA DE CUADROS

1. Cuadro 1: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de desproteínización.....	19
2. Cuadro 2: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de desmineralización.....	21
3. Cuadro 3: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de decoloración.....	23
4. Cuadro 4: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de desacetilación.....	25
5. Cuadro 5: Resultados del porcentaje de proteína y de desproteínización.....	28
6. Cuadro 6: Resultados del porcentaje de ceniza y de desmineralización.....	29
7. Cuadro 7: Resultados del porcentaje de desproteínización y desmineralización para la secuencia desproteínización-desmineralización.....	30
8. Cuadro 8: Resultados del porcentaje de desmineralización y desproteínización para la secuencia desmineralización-desproteínización.....	30
9. Cuadro 9: Resultados cualitativos de la diferencia de color para las muestras decoloradas.....	31
10. Cuadro 10: Resultados del porcentaje de desacetilación.....	33
11. Cuadro 11: Resultados del rendimiento de cada proceso para la extracción de quitosano.....	34
12. Cuadro 12: Resultados del punto de fusión para el quitosano obtenido.....	34
13. Cuadro 13: Resultados del porcentaje de ceniza y de humedad para el quitosano obtenido.....	34

## LISTA DE FIGURAS

1. Figura 1: Producción de camarones por región.....	7
2. Figura 2: Evolución de la producción de camarón cultivado en Guatemala, 2000 a 2018.....	8
3. Figura 3: Estructura química del compuesto quitina y quitosano.....	15
4. Figura 4: Quitina obtenida antes y después de decolorar con peróxido de hidrógeno.....	51
5. Figura 5: Espectro FTIR de referencia quitina y quitosano extraídos de la cáscara de camarón y espectro de absorción de una muestra de quitosano de la empresa Sigma Aldrich.....	51
6. Figura 6: Espectro FTIR de referencia quitosano extraído de la cáscara de camarón.....	52
7. Figura 7: Espectro FTIR de referencia quitosano extraído de la cáscara de camarón.....	52
8. Figura 8: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA1.....	53
9. Figura 9: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA2.....	53
10. Figura 10: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA3.....	54
11. Figura 11: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA4.....	54
12. Figura 12: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA5.....	55
13. Figura 13: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA6.....	55
14. Figura 14: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA7.....	56
15. Figura 15: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA8.....	56
16. Figura 16: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra DA9.....	57
17. Figura 17: Gráfica de la titulación potenciométrica para la muestra de quitina.....	57

## RESUMEN

Actualmente la demanda de camarón sin cáscara ha crecido, especialmente en el mercado europeo, y por lo tanto también ha aumentado la cantidad de desechos de la cáscara, cabeza y cola de camarón. Estos residuos actualmente no son aprovechados, e incluso solo supone un gasto extra para su correcto desecho al ser residuos orgánicos. Debido a lo cual, brindar una solución sostenible para el aprovechamiento de estos residuos ha sido de gran interés en los últimos años, especialmente porque las cáscaras de camarón contienen un compuesto llamado quitina, la cual es de gran importancia ya que de esta se puede obtener el quitosano, el cual es un biopolímero que gracias a sus propiedades tales como biocompatibilidad, biodegradabilidad y formación de filmes, últimamente ha sido de mucho interés debido a su aplicación en el campo de la industria, alimentación y medicina. No obstante, su extracción requiere de altas temperaturas y largos tiempos de reacción, además del uso de ácidos y bases fuertes, lo que la hace poco amigable con el medioambiente gracias al alto consumo energético.

Por este motivo, el objetivo de este estudio fue determinar una ruta óptima para la extracción de quitosano a partir de las cáscaras del camarón mediante el uso de radiación de microondas como una alternativa sostenible al método de calentamiento tradicional. La extracción de quitosano a partir de las cáscaras de camarón se divide en cuatro etapas: desproteínización, desmineralización, decoloración y desacetilación. Por lo que para cada proceso de la extracción se estudiaron distintos tiempos de calentamiento en microondas y diferentes concentraciones de los reactivos para determinar la combinación óptima en cada etapa.

Así, los resultados de esta investigación permitieron determinar que la utilización de radiación de microondas como alternativa al método de calentamiento convencional es viable, ya que fue posible obtener una ruta con las condiciones óptimas, de tal manera que se redujo el tiempo de calentamiento de aproximadamente 6 horas y media a tan solo 24 minutos. Además, el quitosano obtenido mostró ser de calidad y contar con características bastante similares a las reportadas en otros estudios que emplean el método de calentamiento tradicional.

# I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo tiene como finalidad optimizar la extracción de quitosano a partir de la quitina que se encuentra en la cáscara de camarón empleando radiación de microondas como alternativa sostenible.

El quitosano es un biopolímero derivado de la quitina que se encuentra principalmente en las paredes celulares de los hongos y en el exoesqueleto de los artrópodos como los arácnidos, crustáceos e insectos. Este biopolímero tiene un gran importancia dentro de la industria ya que es empleado como agente procoagulante y hemostático dentro de la medicina, también como espesante, emulsionante y conservador de alimentos, en el desarrollo de plásticos biodegradables y dentro de la agricultura gracias a sus beneficios en el crecimiento de los cultivos. Por lo cual, se ha buscado optimizar su obtención para su aprovechamiento.

Actualmente, el quitosano es obtenido por la desproteización, la desmineralización y la desacetilación química de los exoesqueletos en polvo de algunos insectos como grillos, o crustáceos como camarones, langostas, cangrejos, etc. Todos estos procesos requieren de altas temperaturas y largos tiempos de reacción, además del uso de ácidos y bases fuertes, lo que hace la extracción poco amigable con el medioambiente gracias al alto consumo energético, y poco segura para quien la lleva a cabo.

Por esta razón, para este trabajo se utilizó radiación de microondas como alternativa de calentamiento ya que en estudios previos este método ha demostrado que se puede reducir el tiempo de reacción a tan solo minutos y sin la necesidad de utilizar temperaturas tan altas. Por lo que para cada proceso de la extracción de quitosano se estudiaron distintos tiempos de calentamiento en microondas y diferentes concentraciones de los reactivos para determinar la combinación óptima en cada etapa.

Para esto, primero se debe lavar, secar y triturar la materia prima obtenida hasta obtener un polvo fino, el cual luego se somete a una serie de procesos de cuatro pasos: desproteización, desmineralización, decoloración y desacetilación.

La desproteización se realizó utilizando hidróxido de potasio (KOH) en concentraciones 10, 12 y 25 % m/v con 6, 8 y 10 min de calentamiento. La desmineralización se llevó a cabo utilizando ácido clorhídrico (HCl) en concentraciones de 6, 9 y 12% v/v y tiempos de calentamiento de 4, 8 y 12 min. La decoloración se realizó utilizando peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 7, 15 y 30% con 2, 4 y 6 min de

calentamiento. Y la desacetilación se realizó utilizando hidróxido de sodio (NaOH) en concentraciones 40, 50 y 60% m/v con 6, 8 y 10 min de calentamiento respectivamente.

La materia prima escogida fueron cáscaras del camarón *Litopenaeus Vannamei*, gracias a que una de las industrias más importantes en Guatemala y que ha crecido de manera considerable en la última década son las empresas de acuicultura del camarón, las cuales se dedican a la producción, procesamiento y comercialización de camarones de alta calidad y productos de acuicultura relacionados (ACUAMAYA, 2021). Y es así como ha aumentado la demanda de todo tipo de camarones, especialmente la comercialización de los camarones sin cáscara, es decir ya pelados; esto debido a que son más cómodos y fáciles de manejar para la población en general. Por lo que a su vez estas empresas han buscado formas en las que se puede utilizar estos desechos de camarón para poder reducir la producción de desechos y poder aprovechar los mismos.

De esta manera fue posible determinar las condiciones óptimas para cada etapa de la extracción de quitosano, empleando radiación de microondas como alternativa al calentamiento convencional. Para la primera etapa se alcanzó un porcentaje de desproteínización del 70.70% utilizando hidróxido de potasio (KOH) al 25% m/v y calentando en microondas 5 minutos a una potencia de 145W y 3 min a una potencia de 435W. Para la segunda etapa se obtuvo un porcentaje de ceniza de 0.560% correspondiente a un porcentaje de desmineralización de 97.50% utilizando ácido clorhídrico (HCl) al 12% v/v y calentando en microondas 8 minutos a una potencia de 580W. Para la tercera etapa se determinó cualitativamente, observando la diferencia en el cambio de coloración de un rojizo suave a un blanco crema y tomando en cuenta las ventajas costo-energéticas que podrían ser más sostenibles, que la mejor decoloración se alcanzaba utilizando peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% v/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 4 minutos a una potencia de 435W. En la última etapa, se obtuvo un porcentaje de desacetilación de 79.70%, utilizando una concentración de hidróxido de sodio (NaOH) de 50% m/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 8 minutos a una potencia de 435W. Adicionalmente, se determinó que el quitosano obtenido se descompone a temperaturas mayores a 370°C, tiene un porcentaje de ceniza final de 0.572% y un porcentaje de humedad de 6.34%. Además, al realizar un análisis cualitativo mediante espectroscopía de infrarrojo (FTIR), se encontraron picos que corresponden a los grupos funcionales característicos, tanto de la molécula de la quitina, como del quitosano obtenido.

## II. OBJETIVOS

### A. GENERAL

Optimizar la extracción de quitosano con un porcentaje de ceniza y humedad menor al 1% y 10% respectivamente, a partir de la cáscara de camarón mediante la determinación de tiempos de calentamiento con radiación de microondas y concentraciones óptimas para cada etapa de la extracción.

### B. ESPECÍFICOS

1. Determinar la concentración de hidróxido de potasio y tiempo de calentamiento óptimo para la desproteinización de la cáscara de camarón para obtener al menos un 65% de desproteinización.
2. Determinar la concentración de ácido clorhídrico y tiempo de calentamiento óptimo para la desmineralización de la cáscara de camarón para obtener menos de un 1% de ceniza.
3. Determinar la secuencia óptima para la desproteinización y desmineralización para la extracción de quitina.
4. Determinar la concentración de peróxido de hidrógeno y tiempo de calentamiento óptimo para la decoloración de la quitina mediante un análisis cualitativo.
5. Determinar la concentración de hidróxido de sodio y tiempo de calentamiento óptimo para la desacetilación de la quitina para obtener al menos un 70% de desacetilación.
6. Caracterizar el quitosano obtenido mediante pruebas de punto de fusión, porcentaje de ceniza y humedad, junto con un análisis cualitativo de espectroscopía infrarroja (FTIR).

### III. JUSTIFICACIÓN

Guatemala comenzó con el cultivo de camarón en 1983 y a partir de ese momento se ha ido desarrollando la industria hasta lo que es hoy en día. Actualmente Guatemala cuenta con 1,700 hectáreas (ha) para el cultivo de camarón, de las cuales solo el 41% están en producción, esto se debe al sistema de cultivo superintensivo que este país ha implementado a partir de 2003, ya que este método ha demostrado ser eficiente en la optimización de recursos, además de brindar un alto rendimiento, por esta razón han logrado producir volúmenes de casi 20 mil toneladas métricas de camarón al año (Global Seafood Alliance, 2018).

Consecuentemente, en los últimos años se ha observado un crecimiento en su producción y demanda, sin embargo, se ha reportado que alrededor del 48-60% del peso total del camarón corresponde a la fracción no comestible, que comprende el exoesqueleto, la cabeza y la cola; de tal manera que al haber aumentado la demanda de camarón también ha crecido la cantidad de desechos que se producen, dando como resultado toneladas de residuos de la cáscara de camarón. Estos residuos, al ser catalogados como desechos, por lo general no son reutilizados y únicamente son descartados por lo que su descomposición, además de los malos olores, puede generar un problema ambiental grave si no son tratados adecuadamente. Por ello, se ha estudiado la composición de los desechos de camarón con el objetivo de conocer nuevas estrategias para su aprovechamiento (Cabanillas et al., 2020).

La composición de los desechos de camarón varía según la especie, sin embargo múltiples estudios reportan que los componentes principales son proteínas (35-50%), quitina (15-20%), minerales (10-15%), lípidos (2-7%) y algunos pigmentos como la astaxantina (1-5%) (Hamed et al., 2016). De tal manera que estos desechos han aumentado el interés de estudio dado a su relevancia y sus posibles aplicaciones en la industria, en especial la quitina y el quitosano. La quitina es el segundo polisacárido natural más abundante en la tierra después de la celulosa, y mediante un proceso químico llamado desacetilación se puede obtener el quitosano. Este último es un biopolímero de gran importancia dado a que muestra actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos y levaduras, por lo que puede ser utilizado en diversas áreas industriales como en cosmetología, agricultura, alimentos, tratamiento de aguas, industria textil, biotecnología y medicina (Wood, 2018).

Por ello, ha aumentado el atractivo en la extracción de quitosano a partir de los residuos de la cáscara de camarón y se han desarrollado distintos procedimientos para llevarlo a cabo. No obstante, se ha reportado que el método de extracción de quitosano tradicional requiere de altas temperaturas y largos tiempos de calentamiento, lo cual es poco económico y ecológico, además del uso de ácidos y bases fuertes

que pueden ser peligrosos si no se tiene las herramientas y la pertinencia adecuada. Por esta razón, es necesaria la implementación de un nuevo enfoque, en donde la síntesis química sea más amigable con la salud y con el medio ambiente. Por lo cual, la finalidad de este estudio fue evaluar una alternativa de la extracción de quitosano a partir de los residuos de la cáscara de camarón que posea una mayor compatibilidad ambiental, comparado con los procesos disponibles actuales, cuya peligrosidad es mayor tanto para el consumidor como en las aplicaciones industriales.

## IV. HIPÓTESIS

Hipótesis nula ( $H_0$ ):

No es posible optimizar la extracción de quitosano a partir de la quitina de los residuos de la cáscara de camarón empleando radiación de microondas.

Hipótesis alternativa ( $H_a$ ):

Es posible optimizar la extracción de quitosano a partir de la quitina de los residuos de la cáscara de camarón empleando radiación de microondas.

## V. MARCO TEÓRICO

### A. ANTECEDENTES

#### 1. Mercado Mundial

La acuicultura forma una parte fundamental en la industria alimentaria dado su importancia en la actividad económica mundial, puesto que es una base del sustento alimenticio de miles de personas gracias a su aporte de proteínas y vitaminas. Además que fomenta la producción, exportación y generación de empleos alrededor del mundo. Dentro de la acuicultura se encuentra el cultivo y producción de camarón, el cual representa un sector importante dado su alto valor.

Los camarones han sido cultivados a nivel mundial por décadas, y están disponibles en numerosas especies, como *L. vannamei*, *P. monodon* y *M. rosenbergii*; los cuales son populares en el mercado internacional, y gracias a eso muchos países están fomentando la producción de camarones. Por lo cual, actualmente la producción de camarón se divide en dos grandes regiones: Asia y América, de las cuales participan alrededor de 50 países de todo el mundo, siendo India, China, Vietnam, Indonesia, Tailandia y Ecuador algunos de los principales países productores de camarones. En 2019 la Alianza Mundial de Acuicultura realizó la encuesta GOAL (Global Outlook for Aquaculture Leadership) por sus siglas en inglés, en la cual encuestaron a los principales productores de camarones y reportaron una producción global de 4.267.500 toneladas métricas en 2017, de los cuales, los países asiáticos (China, Tailandia, Vietnam, Indonesia, Malasia, Filipinas, India y Bangladesh, principalmente) representaron aproximadamente 3.42 millones de toneladas métricas (MMT) o alrededor del 80.1% de la producción mundial en 2017. Por otro lado, América Latina (Ecuador, México, Brasil, Venezuela, Honduras, Nicaragua, Guatemala, Belice, Panamá, Perú y otros) produjeron alrededor de 756,430 TM o 17.7% ; y el resto del mundo representó alrededor de 85,000 TM o aproximadamente el 2% del total(GSA, 2018). La especie de camarón *Litopenaeus vannamei*, también conocido como camarón blanco del Pacífico, fue la principal especie acuática cultivada en el mundo en valor de \$18,460 millones en 2014 (FAO, 2018).

Figura 1: Producción de camarones por región..

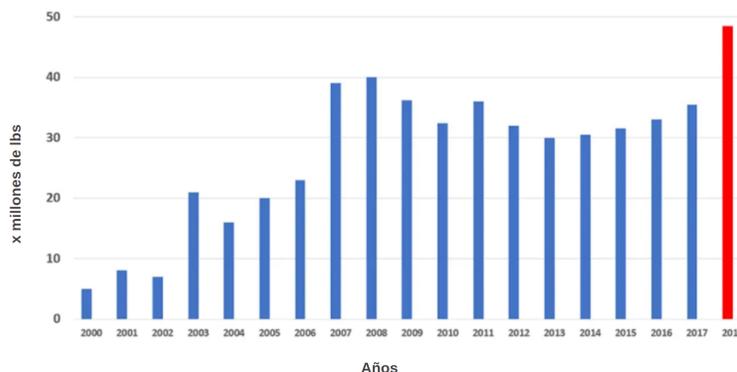


Fuentes: FAO (2018) y encuestas GOAL (2011 a 2018) para 2010 a 2017; Encuesta GOAL (2019) para 2018 a 2021

Dado que Norteamérica no es uno de los principales productores de camarón, en los últimos años ha aumentado la producción en países ubicados en América Central, ya que después de Ecuador estos son los principales sectores de América que emplean la exportación de camarón cultivado como parte importante de la economía nacional y para suplir principalmente los mercados norteamericanos. En 2018 la Organización del Sector Pesquero y Acuícola del Istmo Centroamericano (OSPESCA), reportó que el principal exportador de camarón es Honduras, con \$37 millones, seguido de Nicaragua, con \$32 millones, Guatemala, con \$11 millones, Panamá con \$9 millones, Costa Rica, con \$1,4 millones y El Salvador con \$0,1 millones. Asimismo, declaró que el 27% del valor exportado desde Centroamérica tuvo como destino EE.UU., 14% España, 13% Taiwán, 10% Reino Unido y 9% Francia (SICA, 2018).

Guatemala comenzó con el cultivo de camarón en 1983, sin embargo en los últimos años ha destacado entre los países productores de América Latina gracias a la implementación de un mecanismo de producción intensiva bastante parecido al que se ha desarrollado en los países asiáticos. Actualmente, este país cuenta con aproximadamente 120 productores de camarón, y con la implementación de este nuevo sistema, se ha logrado producir hasta 27,216 kg por hectárea (ha) por ciclo, lo que supone cerca de 25,000 toneladas métricas (TM) de camarón cultivado en todo el país<sup>(4)</sup>. En 2003 comenzó a funcionar el primer sistema intensivo en Guatemala, este se basa en realizar ciclos más cortos y más ciclos al año, lo que trae beneficios económicos además que disminuye la materia orgánica y lodos generados. Esto es posible gracias al uso de camarones genéticamente mejorados, que crecen con mayor rapidez y resistencia, por lo que tienen tasas de supervivencia más altas y comparado con la base anual de los ciclos más largos son más rentables (GSA, 2018).

Figura 2: Evolución de la producción de camarón cultivado en Guatemala, 2000 a 2018.



Fuente: GSA (2018).

## 2. Producción de los desechos de camarón

En la última década, se ha observado un crecimiento en la producción mundial de mariscos, principalmente de camarón, y junto con este aumento ha crecido también la producción de desechos de la cáscara de camarón, gracias a la reciente popularidad del comercio de camarones pelados, ya que este es un producto acuícola de alto valor y se procesa para obtener carne, dejando el caparazón y la cabeza como productos de desecho. No obstante, la principal fuente de proteína marina y aceites son las cabezas de camarón, sin embargo las mismas generalmente se quitan en los lugares de pelado cerca del desembarque o en las plantas empacadoras. Por lo que el camarón es exportado en forma congelada sin exoesqueleto (Kandra et al., 2011).

La cantidad de residuos generados del procesamiento de los camarones dependerá del rendimiento cárnico de los mismos, para el caso de los camarones es del 35-40%. Cada año, se producen entre 6 y 8 millones de toneladas de desechos de caparazones de cangrejo, camarón y langosta en todo el mundo, en donde 1,5 millones de toneladas solo son en el sudeste asiático. Lo que suele ocurrir en los países desarrollados es que su eliminación generalmente es costosa, por ejemplo, en Australia cobran hasta US \$150 por tonelada (Yan, 2015).

Por otro lado, las actividades acuícolas en los países de América Latina han ido creciendo en los últimos años. Datos reportados en 2018 por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), muestran que México produjo alrededor de 227,000 toneladas de camarón, estimando una generación de residuos de más de 100,000 toneladas (FAO, 2018). Una de las empresas camaronerías

más importantes de Guatemala es Acuamaya, la cuál reportó que en 2021 se generaron aproximadamente 1350 toneladas de residuos de camarón (ACUAMAYA, 2021).

En consecuencia, cuando se descomponen estos desechos no solo se generan olores poco agradables, si no que el mal manejo puede causar problemas ambientales graves, aunado a que cada vez hay reglas más exigentes para la protección del medio ambiente. Por lo cual, en la actualidad existe la necesidad de tratar y utilizar los residuos de la manera más eficiente (Cabanillas et al., 2020).

### 3. Tratamiento de los desechos de camarón

La cabeza, caparazón y cola de los camarones representan aproximadamente entre el 48-60% del peso total del camarón, por lo que al tomar en cuenta que estos desechos de cáscaras de camarón se generan en grandes cantidades en las industrias de procesamiento de camarones alrededor del mundo, su eliminación supone una cantidad importante de desechos. Se ha desarrollado un procedimiento a mediana y gran escala en donde generalmente estos residuos son secados y mezclados con otras materias primas agrícolas para producir alimentos para animales, en ocasiones son vendidos a cooperativas porcinas, no obstante solo el 5% del peso total de estos residuos son aprovechados para este propósito. La técnica más común para su aprovechamiento es la práctica artesanal de secado al sol, no obstante este procedimiento tiene bajo control higiénico y los productos están limitados únicamente para el consumo animal (Kandra et al., 2011). Otro uso que actualmente se le da a estos desechos es mediante su pulverización para funcionar como base de sopas, aderezos y salsas. Luego estos residuos son descartados en basureros municipales, en aguas residuales de las plantas de procesamiento de mariscos y en otros casos directamente sobre las costas marítimas, aportando a éstas grandes cantidades de materia orgánica, lo que causa una intensa contaminación ambiental (Islam et al., 2004).

Por lo cual, a pesar de que el exoesqueleto de camarón es considerado y manejado como desecho, en realidad la cabeza y caparazón del camarón contienen varios compuestos bioactivos como proteínas (35-50%), quitina (15-20%), minerales (10-15%), lípidos (2-7%) y algunos pigmentos como la astaxantina (1-5%) (Cabanillas et al., 2020). Estos compuestos tienen una amplia gama de aplicaciones, como en medicina, terapias, cosmética, papel, pulpa y industria textil, biotecnología y aplicaciones alimentarias (Kandra et al., 2011).

## B. COMPOSICIÓN DE LOS DESECHOS DE CAMARÓN

Con el objetivo de conocer nuevas estrategias para el aprovechamiento de los residuos de camarón, en los últimos años se ha investigado su composición para encontrar diferentes aplicaciones que sean útiles no solo para disminuir la contaminación generada por estos desechos, si no también para que puedan funcionar como productos útiles en la industria. La composición de los desechos de camarón varía según la especie y el tipo de procesamiento, sin embargo se componen principalmente de:

### 1. Proteínas:

Conformando entre el 35-50%, las proteínas son el compuesto más abundante de la cáscara y cabeza de camarón. Además, poseen aminoácidos esenciales como la metionina, arginina, fenilalanina, valina e histidina, que pueden ser beneficiosos para la salud si son procesados como suplementos alimenticios (Cabanillas et al., 2020). Un estudio resalta que el contenido de aminoácidos en la cáscara es mayor que en la cabeza de camarón, en donde se resalta el contenido de ácido glutámico, quien demostró ser el más abundante en ambas muestras (Ibrahim et al., 1999).

### 2. Lípidos

Los lípidos conforman entre el 2-7% de los desechos de camarón, los más abundantes son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), estos son ácidos grasos esenciales en los que se encuentran las grasas omega-3 y omega-6. Los más comunes en la cáscara y cabeza de camarón son los derivados del omega-3, como el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA), estos son ácidos grasos esenciales que el cuerpo necesita para el crecimiento de las células y el funcionamiento del cerebro, además se han realizado estudios que revelan que estos ácidos ayudan a disminuir el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares y cáncer. Asimismo, nuestro cuerpo no produce por sí mismo estos ácidos grasos esenciales, por lo que deben ser obtenidos a partir de la dieta (Cabanillas et al., 2020). Específicamente en la especie *Litopenaeus vannamei* se encontró que los ácidos palmítico y linoleico están presentes en un 47% y 31% del total de lípidos respectivamente (Cabrera et al., 2005).

### 3. Minerales

La cáscara y cabeza de camarón poseen una gran variedad de minerales, alrededor del 10-15% del peso total de estos desechos. Los más abundantes son sodio, calcio y potasio, ya que estos minerales son los que forman el exoesqueleto de los crustáceos, no obstante también contienen fósforo, zinc, magnesio, hierro y otros en menor concentración (Singh, 2018).

#### 4. Pigmentos

Los pigmentos se encuentran en menor concentración en los residuos de cáscara y cabeza de camarón, ya que únicamente componen el 1-5% de estos. Se compone de pigmentos de carotenoides, de los cuales predomina la astaxantina. Este compuesto es uno de los antioxidantes naturales más eficaces, incluso en comparación con otros carotenoides ya que tiene una actividad antioxidante entre 10 a 100 veces más que otros, como el  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -tocoferol (Cabanillas et al., 2020). Además de esto, también cuenta con propiedades antiinflamatorias, lo cual hace a este compuesto uno de alto interés para las industrias cosmética y farmacéutica.

#### 5. Quitina

La quitina es un polisacárido lineal compuesto de residuos N-acetil-D glucosamina en el enlace  $\alpha(1-4)$ , el cual es responsable de brindar rigidez al exoesqueleto de muchos invertebrados, entre ellos el camarón, ya que la quitina se encuentra generalmente en caparazones de crustáceos y hongos. La quitina varía en estructura cristalina y se encuentra en tres formas alomórficas:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . En el estudio de Rasweefali et al. (2022) señala que la  $\alpha$ -quitina está alineada de manera antiparalela con fuertes enlaces de hidrógeno intra e inter-láminas y generalmente se obtiene de los exoesqueletos de los crustáceos. La  $\beta$ -quitina tiene una disposición paralela con enlaces de hidrógeno débiles dentro de las hojas y generalmente se obtiene de las plumas de calamar. La  $\gamma$ -quitina es una mezcla de cadenas antiparalelas y paralelas y se obtiene de hongos y levaduras. Específicamente, este compuesto está presente en un 15-20% en los residuos de cáscara de camarón (Cabanillas et al., 2020). La quitina es blanca, insoluble, dura, elástica y es obtenida generalmente por un tratamiento químico y posee una gran masa molecular. Este biopolímero es sintetizado por un enorme número de organismos; y considerando la cantidad de quitina que se produce anualmente en el mundo, es el polímero más abundante después de la celulosa (Rinaudo, 2006).

Los derivados de quitina son biodegradables y a su vez son polímeros naturales que han sido utilizados en diferentes ámbitos de la industria, como en tratamiento de agua, dispositivos biomédicos y terapias, cosmética, biotecnología, agricultura, ciencia de los alimentos y tecnología de membranas. El derivado de quitina más importante es el quitosano, que se obtiene mediante la desacetilación de la quitina. Este compuesto es biodegradable y tiene un alto peso molecular, por lo que es de interés en diferentes industrias (Hossain & Iqbal, 2014).

## C. OBTENCIÓN DE QUITOSANO A PARTIR DE QUITINA

### 1. Importancia del quitosano

Los polímeros más utilizados comercialmente en la industria son productos derivados del petróleo, los cuales deben pasar por procesos químicos poco seguros y amigables para el medio ambiente. Por esta razón es que en la última década ha habido un gran interés en buscar alternativas naturales, como el uso de biopolímeros para disminuir la contaminación ambiental. Entre los biopolímeros se encuentran polisacáridos como la celulosa, almidón, alginatos, quitina y su derivado quitosano. Este último es de alto interés industrial dado a sus diferentes propiedades, entre los que se destaca la solubilidad en varios medios de disolución, su viscosidad, capacidad para formar películas (films), quelación de metales, entre otros (Priyadarshi & Rhim, 2020). Consecuentemente, el quitosano tiene una gran variedad de aplicaciones, algunas se describen a continuación:

#### a. Tratamiento de aguas

En donde funciona como coagulante primario para aguas residuales con alta turbidez y alcalinidad, además de eso también funciona como floculante, ya que es capaz de atrapar sustancias coloidales presentes en el agua y ayudar a la remoción de las mismas, el quitosano también es capaz de absorber metales pesados, por lo que también es utilizado para potabilizar los sistemas de agua (Campo Vera et al., 2018).

#### b. Agricultura

Inhibe la formación de fitopatógenos, aumenta las respuestas defensivas de las plantas y su protección contra microorganismos. También es utilizado en forma de film para cubrir algunos frutos y así aumentar el tiempo de vida de la cosecha, incluso se han hecho recubrimientos comestibles, a los cuales se les puede agregar antioxidantes, sabores, colores, agentes antimicrobianos, entre otros. Unido a lo anterior, el quitosano tiene propiedades antimicrobianas, por lo que este compuesto es considerado como un plaguicida útil para el control de enfermedades en las plantas (Valenzuela V. & Arias, 2012).

#### c. Industria textil

Especialmente en la elaboración de fibras, ya que estas son biocompatibles y se han hecho populares gracias a su capacidad para proporcionar protección contra alergias y algunas enfermedades infecciosas. Además, este compuesto tiene una alta capacidad de retención de humedad y curación de heridas, también se utiliza como aglutinante en el algodón, justamente para servir como barrera entre los microorganismos y la sangre (Valenzuela V. & Arias, 2012).

d. Industria alimentaria

El quitosano es empleado como aditivo en los alimentos ya sea como espesante, gelificante o también emulsificante dado a su versatilidad. En productos lácteos, la solución de quitosano en leche líquida mejora el proceso de esterilización ya que evita la coagulación de la proteínas; en quesos contribuye a la suavidad y no afecta la microflora. También son empleados los films anteriormente descritos que contribuye a disminuir el crecimiento fúngico de los alimentos durante su almacenamiento, sin afectar la calidad interna de los mismos. Por lo tanto, dado a sus vastas aplicaciones en la industria alimentaria se vislumbra una demanda creciente de quitosano en este ámbito (Valenzuela V. & Arias, 2012).

e. Industria cosmética

Su principal uso en la cosmetología es la de crear productos para formación de films para la fijación del cabello y diversas aplicaciones de higiene personal. El quitosano también es utilizado ampliamente en la odontología ya que disminuye el nivel de acidez en las caries y el pH de las placas. El efecto beneficioso del quitosano se le atribuye a su capacidad para unirse al esmalte al crear films protectores, además también es útil para el tratamiento del cabello, ya que potencia la adición de ciertos productos, por lo que este compuesto es incluido en shampoos, enjuagues, agentes de ondulación, entre otros. Tiene la capacidad de interactuar con la queratina para formar films elásticos transparentes sobre las fibras capilares, que aumenta la suavidad y fuerza del cabello.

Otra aplicación del quitosano dentro de la industria cosmética es en el cuidado de la piel, es agregado a protectores solares dado a que reduce el fotoenvejecimiento de la piel, además de regular el estado antioxidante y antiinflamatorio (Universidad Complutense de Madrid, 2017).

Gracias a las diversas aplicaciones que tiene el quitosano es que muchas empresas alrededor del mundo han invertido en la implementación de este compuesto en sus diferentes productos, un ejemplo de esto es en la empresa Primex que se encuentra en Islandia, ésta comercializa productos a base de quitosano para el cuidado de la piel y purificación de agua con sus marcas ChitoClear® y SeaKlear®, respectivamente (Primex EHF, 2020). KitoFlokk® es una marca noruega que realiza algo parecido para el tratamiento de aguas y aguas residuales (Norwegian Chitosan, 2020). Países como China también producen quitosano a partir de fuentes fúngicas como *Aspergillus* para uso en alimentos, bebidas, cosméticos, productos farmacéuticos y agricultura (Chibio Biotech, 2019).

## 2. La química detrás de la obtención de quitosano

### a. Extracción de quitina

La quitina se puede extraer del desechos de camarones mediante dos métodos: químico y biológico. El procedimiento básico consiste en lavar, secar y triturar la materia prima obtenida de diversas fuentes con el fin de obtener un polvo fino, el cual luego se somete a una serie de procesos de tres pasos: desmineralización, desproteínización y decoloración. Estos tres pasos son comunes tanto para los métodos químicos como para los biológicos.

#### 1) Método biológico

Este método se puede realizar mediante uno o varios procesos de fermentación utilizando microorganismos. En general, la extracción de quitina se divide en desproteínización y desmineralización, que se lleva a cabo a partir de los residuos de la cáscara de camarón. En la actualidad, este método es estudiado como una alternativa más económica y amigable con el medio ambiente en comparación con el método químico tradicional que utiliza ácidos y bases fuertes, además varios estudios han demostrado que el método biológico tiene un rendimiento mayor (Tanganini et al., 2020).

Para llevar a cabo este procedimiento se realiza una fermentación ácido láctica, el cual es un proceso celular anaeróbico donde se utiliza glucosa como fuente de energía y se obtiene como producto de desecho ácido láctico. Este proceso es realizado por muchas bacterias (conocidas como bacterias del ácido láctico), también por hongos, algunos protozoos y en los tejidos animales. Las bacterias del ácido láctico (*Lactobacilo* o *Lactobacillus*) son capaces de convertir la lactosa y azúcares en ácido láctico, este compuesto es utilizado para la desproteínización de los residuos de camarón dado que las proteasas rompen los enlaces peptídicos de las proteínas (Colina Rincón et al., 2017). Estudios previos reportaron sobre el uso de microorganismos para este propósito, de los que se encuentran *Lactobacillus plantarum* (Rao y Stevens, 2005), *Lactobacillus helveticus* (Arbia et al., 2013), *Pediococcus acidilactici* (Bhaskar et al., 2007), *Bacillus subtilis* (Sun y Mao, 2016), *Bacillus cereus* (Manni et al., 2010), *Bacillus licheniformis* (Hajji et al., 2015), *Pseudomonas aeruginosa* (Oh et al., 2007) y *Streptococcus thermophilus* (Mao et al., 2013). Estos mismos estudios resaltan que la bacteria *Lactobacillus sp.*, elimina hasta el 56% de la proteína y el 88% de los minerales de los desechos de cangrejo (Flores-Albino et al., 2012). Otro estudio reporta que la bacteria *Bacillus spp.*, podría eliminar más del 80% de la proteína y menos del 67% del mineral de los desechos de camarón (Ghorbel-Bellaaj et al., 2012). También la bacteria *Lactobacillus plantarum* demostró que es capaz de eliminar el 66% de la proteína y el 63% de los minerales (Rao y Stevens, 2005). Sin embargo, se ha visto que en algunos casos es necesario hacer más de una fermentación de una sola cepa, por lo que otros estudios han recomendado utilizar al menos dos bacterias diferentes para mejorar la

eficiencia de remoción de proteínas y minerales en la fermentación de la cáscara del camarón(Tanganini et al., 2020).

## 2) Método químico

El tratamiento químico para la extracción de quitina a partir de la cáscara de camarón se realiza en dos etapas consecutivas, que al igual que en el método biológico, son la desproteínización y la desmineralización. La desproteínización consiste en tratar las cáscaras con una solución acuosa diluida de una base fuerte (normalmente se utiliza hidróxido de sodio) a una temperatura alta con el fin de disolver la proteína (Tanganini et al., 2020), no obstante también hay estudios que realizan este procedimiento a temperatura ambiente pero se ha demostrado que el mismo se tarda hasta más de 20 horas, por lo que generalmente para agilizar el tiempo de reacción se utilizan temperaturas bastante altas (Hossain & Iqbal, 2014) La base fuerte es utilizada ya que a valores muy extremos de pH, la proteína puede perder su configuración tridimensional y se produce una desnaturalización de la misma.

El tratamiento para la desmineralización es parecido con la diferencia que se utilizan ácidos fuertes, como el ácido clorhídrico. El ácido reacciona con el carbonato de calcio que está presente en el exoesqueleto de los crustáceos para convertirlo en una sal de calcio y dióxido de carbono. El tiempo de reacción depende igualmente de la temperatura utilizada, no obstante a temperatura ambiente se ha observado que esta reacción tarda entre 15 y 20 horas, por lo que habitualmente se utilizan temperaturas altas.

Consecuentemente, este método tiene la desventaja de que puede ser costoso y poco amigable con el medio ambiente, sin embargo es el que comúnmente se utiliza gracias a su poco tiempo de reacción en comparación con el método biológico.

### b. Conversión de quitina a quitosano

La quitina es capaz de convertirse en quitosano tras una serie de reacciones enzimáticas o químicas. Al contrario que para la extracción de quitina, habitualmente se prefieren los métodos químicos dado su bajo costo y facilidad para la producción industrial.

## 1) Método enzimático

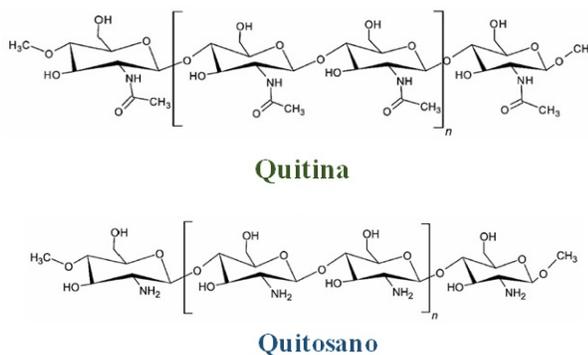
La conversión de quitina a quitosano por este método se lleva a cabo gracias a una enzima llamada quitina desacetilasa. En 1974 se encontró que el compuesto quitosano está presente en las paredes celulares de algunas especies fúngicas, como el hongo *Mucorrouxii* y se observó que el causante de esto es justamente la presencia de la enzima quitina desacetilasa, ya que esta convertía la quitina en el quitosano. No obstante, se observó que el rendimiento enzimático de la obtención de la enzima era muy bajo cuando

se producía a partir de cepas fúngicas, además de que requiere de un proceso de fermentación más complejo (Priyadarshi & Rhim, 2020b).

## 2) Método Alcalino

Para este método se utiliza la quitina extraída y se le agrega una base fuerte (generalmente NaOH), este proceso conduce a la hidrólisis de los grupos acetilo y la conversión de las unidades de N-acetilD-glucosamina en unidades de D-glucosamina que tienen grupos amino libres (como se muestra en la Figura 3). El grado de desacetilación del quitosano producido por este método va a depender del tiempo de reacción, la temperatura y la concentración de la solución alcalina utilizada (Priyadarshi & Rhim, 2020b).

Figura 3: Estructura química del compuesto quitina y quitosano.



Fuente: Romero (2020).

## D. ALTERNATIVA SOSTENIBLE DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN QUÍMICA DE QUITOSANO

Dado a la importancia del quitosano, en los últimos años ha crecido el interés en buscar alternativas de la extracción del mismo que sean más económicas y amigables con el planeta, ya que el método tradicional incluye la utilización de ácidos y bases fuertes, además de temperaturas altas o tiempo de calentado prolongados, lo que consume mucha energía. Por estas razones es que la tecnología de radiación de microondas ha sustituido a la calefacción convencional utilizando la calefacción tridimensional de la masa de reacción, ya que puede realizar transformaciones químicas en minutos, en lugar de horas o días. Cabe aclarar que la radiación de microondas es una radiación no ionizante, es decir su energía no es lo suficientemente alta como para eliminar un electrón de un átomo o molécula. Consecuentemente, esta tecnología ha sido ampliamente utilizada en la última década como una poderosa herramienta para síntesis más eficientes, por lo cual se está convirtiendo en una técnica imprescindible para la síntesis acelerada de

compuestos orgánicos e inorgánicos. El calentamiento por microondas, como alternativa a las técnicas de calentamiento convencionales, demostró ser más rápido y eficiente para varias reacciones químicas.

Hablando específicamente de las reacciones para la obtención de quitosano, varios estudios como los de Sagheer et al. (2009), Luo et al. (2010) y Mahdy et al. (2013), demostraron que es posible convertir quitina en quitosano durante la reacción de desacetilación utilizando radiación de microondas. Por lo cual, hasta ahora, la tecnología de microondas se utilizaba en el último paso de la extracción de quitosano, es decir, en la conversión de quitina a quitosano. No obstante, recientemente se realizó un estudio por Knidri et al. (2016), en donde utilizan esta técnica en los pasos de desmineralización y desproteización también, y obtuvieron que el quitosano producido a partir del calentamiento por microondas redujo el tiempo de 6 horas 30 minutos, a solo 24 min para llegar al mismo grado de desacetilación que el método tradicional (81.50 % para el tradicional y 82.73 % utilizando microondas). Además, la estructura, morfología y composición química fueron similares a los del quitosano producido por el método de calentamiento convencional, también el quitosano del calentamiento por microondas demostró tener un peso molecular más alto y casi la misma cristalinidad del quitosano comercial.

Por lo que en general, la técnica de microondas puede ser muy útil para sintetizar un quitosano de calidad con química rápida y verde.

Por otro lado, también se ha estado buscando alternativas para sustituir el uso de ácidos y bases fuertes, ya que en el procedimiento tradicional, para desmineralizar, se utiliza una solución de ácido clorhídrico (HCl) concentrado; para la desproteización y desacetilación se utiliza hidróxido de sodio (NaOH) igualmente concentrado, lo cual supone una mayor peligrosidad al realizar estos procedimientos, además la producción de una tonelada de quitina produce más de 400 m<sup>3</sup> de aguas residuales con alto grado de amoníaco, salinidad y una alta demanda química de oxígeno, lo cual es muy difícil para el tratamiento posterior del agua. Y las alternativas como la fermentación y la catálisis enzimática que evitan el uso de ácidos y bases fuertes mostraron ser igualmente costosas, también requieren mucho tiempo y resultan difíciles de operar continuamente a gran escala, e incluso requieren métodos químicos adicionales para obtener un rendimiento mayor (Hu et al., 2020).

Por lo cual, una de las soluciones propuestas por Hu et al. (2020) es utilizar hidróxido de potasio (KOH) para eliminar la proteína de la cáscara de camarón en lugar de NaOH, ya que los iones de potasio son un elemento esencial para el crecimiento de las plantas y los desechos producidos podrían ser tratados para utilizarse como fertilizantes, mientras que el exceso de iones de sodio es dañino para las plantas. El ácido fórmico (HCOOH), es un ácido orgánico débil, y lo utilizaron para descomponer el carbonato de calcio del exoesqueleto de camarones en lugar de HCl, ya que este es fuertemente corrosivo y los iones de

cloruro son perjudiciales para las plantas. Además, los iones de formiato están presentes en las raíces y hojas de las plantas y tienen propiedades antibacterianas que son importantes para inhibir el deterioro de las proteínas.

## E. QUITINA Y QUITOSANO DE CALIDAD

En los diferentes pasos de la extracción de quitina y quitosano se deben tomar en cuenta ciertos aspectos y parámetros que contribuyen a determinar la calidad y en algunos casos, la pureza de estos compuestos. Aquí es necesario recordar que la extracción de quitosano consiste en 4 pasos fundamentales: la desmineralización, desproteínización, decoloración y por último la desacetilación.

En el caso de la desmineralización, varios estudios utilizan como parámetro el porcentaje de ceniza que se encuentra en la muestra desmineralizada con respecto a la original, ya que las mismas representan el contenido en minerales de la muestra; es decir que son un indicador de la presencia de impurezas de tipo mineral, como lo es el calcio, ya que se conoce que el exoesqueleto del camarón contiene sales de  $\text{CaCO}_3$ . Además, por lo general las cenizas componen menos del 5% de la materia seca, y según Hossain & Iqbal (2014), para obtener un quitosano de alta calidad, el porcentaje de ceniza en la muestra debe ser menor al 1%. La cuantificación de cenizas se realiza por termogravimetría, mediante la calcinación del material en una mufla, a aproximadamente  $800^\circ\text{C}$  por 4 hrs.

Por otro lado, para calcular el porcentaje de desproteínización normalmente se hace uso del método de Kjeldahl, ya que este permite determinar el nitrógeno en muestras, el cual es la suma de nitrógeno orgánico, amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Este método consiste en una digestión, destilación y una valoración. En el proceso de digestión el nitrógeno orgánico se convierte en  $\text{NH}_4^+$ , para esto a la muestra se le agrega un ácido fuerte, normalmente ácido sulfúrico, y un catalizador que ayuda a aumentar el punto de ebullición del ácido al igual que la velocidad del proceso. Luego, el  $\text{NH}_4^+$  resultante se convierte en  $\text{NH}_3$  al añadir una base fuerte, como hidróxido de sodio. Posteriormente es transferido a un recipiente receptor mediante una destilación al vapor, que contiene una solución absorbente para capturar el gas amoníaco disuelto, normalmente se utiliza ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ). Por último, se realiza una valoración ácido-base utilizando soluciones estándar de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico junto con un indicador, y es así como se determina el contenido de nitrógeno. No obstante, para calcular el porcentaje de proteína es necesario multiplicar este contenido de nitrógeno por un factor que depende del tipo de proteína presente en una muestra, para el caso de los camarones se utiliza un factor de 6.25 (H. Hernández et al., 2009). En cuanto a un porcentaje de desproteínización que garantice la calidad de la quitina o quitosano, no existe uno en específico que se utilice como referencia, no obstante, se busca que el contenido de proteína en la muestra sea bajo. Como el estudio realizado por H. Hernández et al. (2009), obtuvo un porcentaje de

proteína de 1.63% en su muestra de quitosano. También, en el estudio reportado por Hu et al. (2020), obtuvieron porcentajes de desproteínización arriba del 80%, por lo que para obtener un quitosano de alta calidad se debe buscar disminuir la mayor cantidad de proteína posible. Adicionalmente, se sabe que el proceso de la extracción de quitina/quitosano puede comenzar tanto con la desmineralización como con la desproteínización, ya que aún no hay estudios que especifiquen con seguridad si es más favorable comenzar con uno o con otro.

Una vez obtenida la quitina es necesario realizar un proceso de desacetilación para convertirla a quitosano. La quitina cuenta con un grado o porcentaje de acetilación del 90%, mientras que el quitosano es un derivado total o parcialmente N-desacetilado con un grado típico de desacetilación mayor al 65% (Elieh-Ali-Komi, D., & Hamblin, M. R., 2016). La determinación del grado de desacetilación se realiza fácilmente mediante una titulación ácido-base.

## V. METODOLOGÍA

### I. TRATAMIENTO PREVIO DE LAS CÁSCARAS DE CAMARÓN

Las cáscaras de camarón fueron tratadas inicialmente siguiendo el método descrito por H. Hernández et al. (2009).

- Se recolectó aproximadamente 5 kg de cáscaras de camarón y se lavó con abundante agua destilada para remover restos orgánicos.
- Las cáscaras fueron secadas a 70-80 °C por aproximadamente 9 horas en un horno convencional (debe poder romperse con facilidad al ejercer presión con las yemas de los dedos).
- Las cáscaras secas se molieron en un molino doméstico hasta observar un tamaño de partícula pequeño.
- El producto molido fue tamizado hasta obtener partículas menores a 250 µm utilizando un mesh 60.

### II. DESPROTEINIZACIÓN

El tratamiento inicial para la desproteínización se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Hu et al. (2020).

- Se prepararon 150 mL de soluciones de hidróxido de potasio (KOH) al 10, 12 y 25% m/v.
- Se pesaron 5 g de la cáscara de camarón tamizada y se colocó en un beaker de 250 mL.
- Al beaker con los 5 g de muestra se agregó 50 mL de la solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% .

Este procedimiento se realizó para los otros 8 beakers restantes pero utilizando las otras 2 concentraciones de hidróxido de potasio (KOH) anteriormente descritas.

- Se agitó levemente para homogeneizar las soluciones.

Para el proceso de calentado se siguió el método descrito por Knidri et al. (2016) que utiliza radiación de microondas.

- Se calentó 6, 8 y 10 min las soluciones de muestra con hidróxido de potasio (KOH) utilizando un microondas de cocina convencional, los primeros 5 min a una potencia de 145W y el resto de minutos restantes a 435W según las combinaciones que se muestran a continuación:

Cuadro 1: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de desproteínización utilizando concentraciones de KOH de 10, 12 y 25 % m/v y tiempos de calentado de 6, 8 y 10 min.

		% m/v KOH		
		10%	12%	25%
Calentamiento	6 min	DP1	DP4	DP7
	8 min	DP2	DP5	DP8
	10 min	DP3	DP6	DP9

- Se dejó enfriar las soluciones.
- Cada una de las soluciones se centrifugó por 5 min a 1200 rpm y posteriormente se filtró el precipitado utilizando filtración al vacío y se recuperó el sólido que quedó en el filtro.
- Se lavó el sólido recuperado con agua destilada hasta pH neutro.
- Se secó el sólido en un horno convencional a 80 °C por aproximadamente 2 horas.

### III. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DESPROTEINIZACIÓN

Para calcular el porcentaje de proteína presente en cada una de las muestras se siguió el procedimiento descrito por el manual de procedimiento de laboratorio del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios CEAA para la determinación del porcentaje de proteína cruda.

- Se pesó entre 0.25 y 0.26 g de cada muestra y se agregaron al tubo Kjeldahl.
- A cada tubo se agregó la mitad de la pastilla para análisis Kjeldahl (catalizador) y 6 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 98%.
- Se colocaron los tubos en la hornilla para iniciar la digestión de la muestra.
- El proceso de digestión se dejó hasta que las muestras presentaran una coloración verdosa transparente (aproximadamente 1 hora 45 min).
- Se dejó enfriar para solidificación.
- Se midieron 10 mL de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) al 4%, el cual contiene el indicador rojo de metilo al 0.1% y se agregaron a un Erlenmeyer de 200 mL.
- Se colocó el tubo Kjeldahl en el equipo de destilación.
- Se tituló la muestra destilada del Erlenmeyer con ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N y se anotó la lectura de HCl utilizado para la titulación.

El porcentaje de proteína se calculó utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 1: Determinación del porcentaje de proteína seca.

$$\% \text{ de proteína} = \frac{(\text{Volumen de HCL } 0.1N \text{ utilizado en la titulación} \times 0.1 \times 0.014 \times 6.25)}{\text{Peso de la muestra inicial (R)}} \times 100$$

El porcentaje de desproteínización (DP) se calculó utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 2: Determinación del porcentaje de desproteínización.

$$DP(\%) = \frac{(P_o \times O) - (P_R \times R)}{P_o \times O} \times 100$$

Donde  $P_o$  y  $P_R$  corresponden al contenido de proteína (g/g) antes y después reacción, y O y R son masas (g) de la muestra no desproteínizada y producto después de la desproteínización, respectivamente.

#### IV. DESMINERALIZACIÓN

- Se pesaron 5 g de la cáscara de camarón seca y tamizada, se colocó en un beaker de 250 mL.
- Se preparó 150 mL de soluciones de ácido clorhídrico (HCl) al 6, 9 y 12% v/v.
- Al beaker con los 5 g de muestra se agregó 50 mL de la solución de ácido clorhídrico (HCL) al 6%.

Este procedimiento se realizó para los otros 8 beakers restantes pero utilizando las otras 2 concentraciones de ácido clorhídrico (HCl) anteriormente descritas.

- Se agitó levemente para homogeneizar las soluciones.
- Para el proceso de calentado se siguió el método descrito por Knidri et al. (2016) que utiliza radiación de microondas.
- Se calentó 4, 8 y 12 min las soluciones de muestra con ácido clorhídrico (HCl) utilizando un microondas de cocina convencional a 580 W con las combinaciones que se muestran a continuación:

Cuadro 2: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de desmineralización utilizando concentraciones de HCl de 6, 9 y 12% v/v y tiempos de calentado de 4, 8 y 12 min.

		% v/v HCl		
		6%	9%	12%
Calentamiento	4 min	DM1	DM4	DM7
	8 min	DM2	DM5	DM8
	12 min	DM3	DM6	DM9

- Se dejó enfriar las soluciones.
- Se filtró cada una de las soluciones utilizando filtración al vacío y se recuperó el sólido que quedó en el filtro.
- Se lavó el sólido recuperado con agua destilada hasta pH neutro.
- Se secó el sólido en un horno convencional a 80 °C por aproximadamente 2 horas.

## V. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DESMINERALIZACIÓN

La determinación del grado de desmineralización (DM) se llevó a cabo utilizando la siguiente ecuación descrita por Hu et al. (2020):

Ecuación 3: Determinación del grado de desmineralización.

$$DM(\%) = \frac{(A_o \times O) - (A_R \times R)}{A_o \times O} \times 100$$

Donde  $A_o$  y  $A_R$  corresponden al contenido de ceniza (g/g) antes y después reacción, y O y R son masas (g) de la muestra no desmineralizada y el producto después de la desmineralización, respectivamente.

Para determinar la cantidad de ceniza presente en cada una de las muestras se siguió el procedimiento descrito por los métodos oficiales de análisis (AOAC, 1984).

- Se colocaron 9 crisoles limpios dentro de un horno convencional y calentó a 105°C por 20 min y posteriormente en una desecadora hasta que se enfríen a temperatura ambiente.
- Se pesó cada uno de los crisoles vacíos y sin tapadera.
- Se agregó 1 g de la cáscara de camarón desmineralizada al crisol y se pesó nuevamente.
- Todos los crisoles con las muestras se colocaron en una mufla a 600°C por 4 horas, según lo indicado por Hu et al. (2020).
- Se secaron los crisoles y se pasaron a una desecadora hasta que se enfriaron.
- Se pesó cada uno de los crisoles (sin tapadera) que contenían la ceniza.
- El contenido de ceniza se calculó utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 4: Determinación del porcentaje de ceniza.

$$\%A = \frac{W_2 - W_1}{R} \times 100$$

Donde  $W_1$ ,  $W_2$  y R corresponden a las masas del crisol vacío, la masa del contenido de ceniza en el crisol y la masa de la muestra inicial, respectivamente.

- El porcentaje de desmineralización se calculó utilizando la ecuación 3.

## VI. DETERMINACIÓN DE LA SECUENCIA ÓPTIMA PARA LA DESPROTEINIZACIÓN Y DESMINERALIZACIÓN

Se realizó el procedimiento de tratamiento de cáscaras descrito en el paso 1.

Usando únicamente las condiciones de tiempo de calentamiento y concentración de hidróxido de potasio (KOH) que obtuvieron el mejor porcentaje de desproteínización.

- Se realizó el proceso de desproteínización para una muestra de 5 g de la cáscara de camarón descrito en el paso 2.

Se determinó el porcentaje de desproteínización con el proceso descrito anteriormente.

- Al producto desproteínizado, se realizó el procedimiento de desmineralización descrito en el paso 4 para una muestra de 5 g de la cáscara de camarón usando únicamente las condiciones de tiempo de calentamiento y concentración de ácido clorhídrico (HCl) que obtuvieron el mejor porcentaje de desmineralización.
- Se determinó el porcentaje de desmineralización siguiendo el procedimiento descrito en el paso 5.
- Estos pasos se repitieron realizando el proceso inverso - iniciando con la desmineralización y posteriormente con la desproteínización.

## VII. DECOLORACIÓN

La decoloración de la quitina obtenida se realizó siguiendo la metodología de Said Al Hoqani et al. (2020) con algunas modificaciones.

- Se pesó 5 g de la cáscara de camarón desproteinizada y desmineralizada (quitina) y se colocó en un beaker de 250 mL.
- Se preparó 150 mL de soluciones de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 7, 15 y 30 % v/v.
- Al beaker con los 5 g de muestra se agregó 50 mL de la solución de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% .

Este procedimiento se realizó para los otros 8 beakers restantes pero utilizando las otras 2 concentraciones de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) anteriormente descritas.

- Se agitó levemente para homogeneizar las soluciones.
- Se dejó reposar las muestras de quitina con el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 24 horas a temperatura ambiente.

Para el proceso de calentado se siguió el método descrito por Knidri et al. (2016) que utiliza radiación de microondas.

- Se calentó 2, 4 y 6 min las soluciones de muestra con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) utilizando un microondas de cocina convencional a 435 W con las combinaciones que se muestran a continuación:

Cuadro 3: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de decoloración utilizando concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 7, 15, 30 % v/v y tiempos de calentamiento de 2, 4 y 6 min.

		% v/v H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		
		7%	15%	30%
Tiempo de	2 min	DC1	DC4	DC7
	4 min	DC2	DC5	DC8
	6 min	DC3	DC6	DC9

- Se dejó enfriar las soluciones.
- Cada una de las soluciones se centrifugó por 5 min a 1200 rpm y posteriormente se filtró el precipitado utilizando filtración al vacío y se recuperó el sólido que quedó en el filtro.

- Se lavó el sólido recuperado con agua destilada hasta pH neutro.
- Se secó el sólido en un horno convencional a 80 °C por aproximadamente 2 horas.

## VIII. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DECOLORACIÓN

La diferencia de color entre las muestras de quitina se determinó mediante un proceso cualitativo que consistió en observar cada una de las muestras y se decidió cuál de ellas obtuvo una coloración más parecida a la quitina comercial (color crema-beige).

## IX. DESACETILACIÓN

Para realizar la desacetilación de la quitina se siguió la metodología de Said Al Hoqani et al. (2020) con algunas modificaciones.

- Se pesó 5 g de la quitina decolorada obtenida y se colocó en un beaker de 250 mL.
- Se preparó 150 mL de soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) al 40, 50 y 60% m/v.
- Al beaker con los 5 g de muestra se agregó 50 mL de la solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% .

Este procedimiento se realizó para los otros 8 beakers restantes pero utilizando las otras 2 concentraciones de hidróxido de sodio (NaOH) anteriormente descritas.

- Se agitó levemente para homogeneizar las soluciones.

Para el proceso de calentado se siguió el método descrito por Knidri et al. (2016) que utiliza radiación de microondas.

- Se calentó 6, 8 y 10 min las soluciones de muestra con hidróxido de sodio (NaOH) utilizando un microondas de cocina convencional a 435 W con las combinaciones que se muestran a continuación:

Cuadro 4: Matriz para la recolección de datos para el procedimiento de desproteización utilizando concentraciones de KOH de 40, 50 y 60% m/v y tiempos de calentado de 6, 8 y 10 min.

		% m/v		NaOH
		40%	50%	60%
	6 min	DA1	DA4	DA7
Tiempo de	8 min	DA2	DA5	DA8
	10 min	DA3	DA6	DA9

- Se dejó enfriar las soluciones.
- Cada una de las soluciones se centrifugó por 5 min a 1200 rpm y posteriormente se filtró el precipitado utilizando filtración al vacío y se recuperó el sólido que quedó en el filtro.
- Se lavó el sólido recuperado con agua destilada hasta pH neutro.
- Se secó el sólido en un horno convencional a 80 °C por aproximadamente 2 horas.

## X. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DESACETILACIÓN

El grado de desacetilación (DA) fue medido por el método de titulación potenciométrica propuesta por Hidalgo et al. (2008)

- Se diluyó 0.1 g del quitosano obtenido en 30 mL de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M con 5 - 6 gotas del indicador naranja de metilo.
- Se introdujo el potenciómetro en la solución roja de quitosano y se tituló con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M midiendo el pH cada 1 mL hasta que se tornó de color naranja.

El porcentaje de grupos amino libres (%NH<sub>2</sub>), que es equivalente al grado de desacetilación, se calculó utilizando la siguiente fórmula:

Ecuación 5: Determinación del porcentaje de grupos amino libres (%NH<sub>2</sub>).

$$\% \text{ NH}_2 = \frac{16.1 \times (\text{punto de inflexión mayor} - \text{punto de inflexión menor}) \times \text{Molaridad del NaOH}}{\text{Masa de quitosano}}$$

Donde los puntos de inflexión están expresados en mL de NaOH agregado y la masa de quitosano en gramos. El número 16.1 es el peso equivalente del grupo NH<sub>2</sub> en 1 mL de solución acuosa estándar de HCL 1M.

## XI. CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO OBTENIDO

La caracterización del quitosano se realizó haciendo pruebas de punto de fusión, porcentaje de ceniza, porcentaje de humedad y por último, un análisis cualitativo mediante espectroscopía de infrarrojo (FTIR).

- Se determinó el porcentaje de ceniza siguiendo el procedimiento descrito en el paso 5.

El porcentaje de humedad se obtuvo siguiendo la metodología descrita por los métodos oficiales de análisis (AOAC, 1984).

- Se colocó un vidrio de reloj limpio y seco dentro de un horno convencional a 105°C por 3 horas y se transfirió a una desecadora para enfriar.
- Se pesó el vidrio de reloj vacío y luego se agregó aproximadamente 1 g del quitosano obtenido.
- La muestra en el vidrio de reloj se secó en el horno a 105°C por 3 horas, se transfirió a una desecadora para enfriar y se volvió a pesar.
- El porcentaje de humedad se obtuvo utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 6: Determinación del porcentaje de humedad.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

Donde  $W_1$  y  $W_2$  corresponden a las masas de la muestra antes y después de secar, respectivamente.

## VI. RESULTADOS

### I. DESPROTEINIZACIÓN

Cuadro 5: Resultados del porcentaje de proteína y de desproteínización para cada muestra.

Muestra	% de desproteínización
DP1	56.73
DP2	53.55
DP3	54.92
DP4	60.78
DP5	64.84
DP6	58.53
DP7	63.72
DP8	70.70
DP9	65.35

## II. DESMINERALIZACIÓN

Cuadro 6: Resultados del porcentaje de ceniza y de desmineralización para cada muestra.

Muestra	% de ceniza	% de desmineralización
DM1	1.289	89.78
DM2	1.149	94.88
DM3	1.916	91.44
DM4	1.139	94.92
DM5	0.880	96.08
DM6	0.610	97.28
DM7	1.119	94.65
DM8	0.560	97.50
DM9	3.250	85.52

### III. SECUENCIA ÓPTIMA DESPROTEINIZACIÓN Y DESMINERALIZACIÓN

Cuadro 7: Resultados del porcentaje de desproteínización y desmineralización realizando primero el proceso de desproteínización y luego el de desmineralización.

Proceso	% de desproteínización
Desproteínización	70.70

Proceso	% de desmineralización
Desmineralización	97.50

Cuadro 8: Resultados del porcentaje de desmineralización y desproteínización realizando primero el proceso de desmineralización y luego el de desproteínización.

Proceso	% de desmineralización
Desmineralización	97.23

Proceso	% de desproteínización
Desproteínización	59.91

IV. DECOLORACIÓN

Cuadro 9: Resultados cualitativos de la diferencia de color para las muestras decoloradas.

Muestra	Fotografía
DC1	
DC2	
DC3	
DC4	

Muestra	Fotografía
DC5	
DC6	
DC7	
DC8	

Muestra	Fotografía
DC9	

## V. DESACETILACIÓN

Cuadro 10: Resultados del porcentaje de desacetilación para cada muestra.

Muestra	% de desacetilación
DA1	56.07
DA2	44.23
DA3	44.06
DA4	52.17
DA5	79.70
DA6	55.90
DA7	51.91
DA8	51.45
DA9	27.87

## VI. RENDIMIENTO DE LA REACCIÓN

Cuadro 11: Resultados del rendimiento de cada proceso para la extracción de quitosano.

Proceso	Rendimiento
Desproteínización	53.41%
Desmineralización	36.08%
Decoloración	68.20%
Desacetilación	48.73%

## VII. CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO OBTENIDO

Cuadro 12: Resultados del punto de fusión para el quitosano obtenido.

Temperatura	Descripción	Fotografía
188 - 370 °C	Se descompone	

Cuadro 13: Resultados del porcentaje de ceniza y de humedad para el quitosano obtenido.

Proceso	Porcentaje
% de ceniza	0.572%
% de humedad	6.34%



## VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se logró determinar una ruta óptima para la extracción de quitosano a partir de las cáscaras del camarón mediante el uso de radiación de microondas como una alternativa sostenible a la extracción tradicional. Es importante recordar que las etapas para extracción del mismo son: desproteínización, desmineralización, decoloración y desacetilación.

En cuanto a la primera etapa de la extracción, se logró alcanzar como mejor resultado un porcentaje de desproteínización del 70.70%, utilizando una concentración de hidróxido de potasio (KOH) de 25% m/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 8 minutos, de los cuales 5 minutos se realizaron a una potencia de 145W y los otros 3 minutos restantes a una potencia de 435W, que corresponde a la muestra DP8. Analizando los demás resultados (Cuadro 5), se puede observar que los porcentajes de desproteínización obtenidos para las demás combinaciones oscilan entre el 50 y 65%; cabe aclarar que, aunque no existe un porcentaje de desproteínización que garantice la calidad de la quitina o quitosano, se busca que el contenido de proteína en la muestra sea bajo, incluso algunos estudios como el reportado por Hu et al. (2020), obtuvieron porcentajes de desproteínización arriba del 80%, por lo que para obtener un quitosano de alta calidad se debe buscar disminuir la mayor cantidad de proteína posible.

Por lo cual, se puede observar que, en cuanto a los resultados obtenidos, no hubo ninguno que superara el 80% de desproteínización, sin embargo esto puede deberse a que la técnica empleada para el cálculo de la proteína en las muestras es una estimación de la misma. Este método es el análisis Kjeldahl, el cual mide la cantidad total de nitrógeno en una muestra y después, utilizando un factor de conversión convierte ese nitrógeno a contenido de proteína (AOAC, 1984). El factor de conversión empleado para el cálculo de proteína en las cáscaras de camarón fue de 6.25, que es el que se utiliza convencionalmente para determinar proteína, sin embargo, este no es un factor específico para la cáscara de camarón, sino más bien es un factor de uso general en esta técnica, el cual se obtuvo sobre la base de que el contenido promedio de nitrógeno de las proteínas era de alrededor del 16%, lo que conduce a que  $\frac{1}{0.16} = 6.25$ , es decir el factor para convertir el contenido de nitrógeno en contenido de proteína. De esta manera, una mejor aproximación para el cálculo del porcentaje de desproteínización sería encontrar el total de nitrógeno en la muestra, y el que hay en la quitina, así se puede saber qué porcentaje de nitrógeno corresponde solo a la proteína y cuál a los nitrógenos que forman parte de la molécula de la quitina.

Por otro lado, para este primer paso de la extracción se obtuvo un porcentaje de rendimiento del 53.41%, lo que indica que se pierde aproximadamente la mitad en peso, esto concuerda con lo esperado ya que el contenido de proteína en la cáscara de camarón es alto (35-50%) (Cabanillas et al., 2020).

El siguiente paso de la extracción es la desmineralización, para este se obtuvo un porcentaje de ceniza del 0.560% correspondiente a un porcentaje de desmineralización de 97.50%, como mejores resultados. Esto se alcanzó utilizando una concentración de ácido clorhídrico (HCl) al 12% v/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 8 minutos a una potencia de 580W, correspondiente a la muestra DM8. Analizando los demás resultados (Cuadro 6) se puede observar que los porcentajes de ceniza oscilan alrededor del 1%, y para que un quitosano sea considerado de buena calidad debe contener el mínimo posible en ceniza, preferiblemente se busca obtener porcentajes menores al 1% (Hossain & Iqbal, 2014). De tal manera que se puede observar que aparte de la muestra DM8, la DM5 y DM6 también obtuvieron porcentajes menores al 1% (0.880 y 0.610% respectivamente) y altos porcentajes de desmineralización. Las muestras DM5 y DM6 corresponden al uso de ácido clorhídrico (HCl) al 9% v/v y un tiempo de calentamiento de 8 y 12 minutos respectivamente, por lo que también se podrían utilizar estas combinaciones como otra ruta para el proceso de desmineralización, aunque habría que evaluar los parámetros costo-energéticos para determinar si existe una mayor ventaja al calentar más tiempo o utilizando una concentración mayor del reactivo.

Consecuentemente, se determinó que el porcentaje de rendimiento para la desmineralización fue del 36.08%, lo que indica que se pierde aproximadamente  $\frac{1}{3}$  del peso en este paso de la extracción. Comparando este rendimiento con el obtenido en la desproteínización se puede observar que fue mayor el de la desproteínización. Para explicar esto es necesario mencionar que la cáscara de camarón se compone de un 10-15% de  $\text{CaCO}_3$  (Cabanillas et al., 2020), de tal manera que la composición de proteína es significativamente mayor que la de minerales, no obstante hay que recordar que, en el proceso de desproteínización se logró quitar aproximadamente un 70% de la proteína (es decir, no se logró quitar todo el contenido de proteína), mientras que en la desmineralización se logró quitar casi todos los minerales, lo que explica por qué se reduce más el peso en el proceso de desmineralización a pesar de que la cáscara de camarón se compone de más proteína que de minerales.

Otro punto importante es que en la mayoría de investigaciones y procedimientos para la obtención de quitina/quitosano, no hay un orden específico en cuanto si hacer la desproteínización o desmineralización primero. De esta manera, se realizaron ambas secuencias para determinar cuál de ellas favorecía la extracción. Se obtuvo un porcentaje de desproteínización de 70.70% y un porcentaje de desmineralización del 97.50% cuando la secuencia es desproteínización-desmineralización. Mientras que,

en la secuencia desmineralización-desproteínización se obtuvieron porcentajes de 97.23% para la desmineralización y 59.91% para la desproteínización (Cuadro 7), por lo cual podemos observar que, en cuanto a la desmineralización no hay una diferencia significativa, pero sí la hay para el proceso de desproteínización. Esto puede deberse a que la desproteínización se realiza en medio básico y la desmineralización en medio ácido, por lo que al realizar la desmineralización como primer paso es posible que las condiciones ácidas afecten a las proteínas contenidas en la cáscara de camarón ya que a valores muy extremos de pH, ya sea medios ácidos o básicos, la proteína puede perder su configuración tridimensional, y por lo tanto causar que el proceso posterior de desproteínización no sea tan efectivo. Esto no ocurre cuando la secuencia es desproteínización-desmineralización, ya que los minerales no sufren ningún cambio importante bajo condiciones básicas.

En cuanto al análisis del espectro FTIR de la quitina obtenida (Gráfica 1) primero se muestra la presencia de grupos OH y NH en el rango de 3490-3370 y 3260-3100  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. La banda en aproximadamente 2900  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones del estiramiento C-H (de  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$ ). Ahora bien, las señales más importantes se encuentran en 1650, 1554 y 1308  $\text{cm}^{-1}$  con vibraciones de estiramiento características de las bandas de amidas I, II y III. En cuanto a la amida I hay dos bandas de absorción estrechas en 1650 y en 1619  $\text{cm}^{-1}$ , que representan la banda de estiramiento de C=O en la  $\alpha$ -quitina y se puede atribuir a los dos tipos de enlaces H formados por grupos amida en la alineación antiparalela presente en regiones cristalinas de la  $\alpha$ -quitina (Hu et al., 2020). El espectro también presenta picos en 1554, 1069 y 1009  $\text{cm}^{-1}$  relacionados a la presencia de enlaces C-O-C en la estructura. Además, se asignó la banda en 1377  $\text{cm}^{-1}$  a la vibración de estiramiento de C-O, y la que aparece en aproximadamente 705  $\text{cm}^{-1}$  a las flexiones fuera del plano del OH, que es típico de la  $\alpha$ -quitina.

Por otro lado, para el proceso de decoloración se buscaba pasar de un color rojizo suave a un blanco crema (color de la quitina comercial), como la diferencia entre ambos colores es evidente a simple vista se realizó un análisis cualitativo del mismo (Figura 4). En el Cuadro 9 se puede observar que los resultados de la decoloración fueron bastante similares entre sí, por esta razón, para escoger la mejor combinación de concentración/tiempo de calentamiento se tuvo en mente las ventajas costo-energéticas que podrían ser más sostenibles, de tal manera que se propone como mejor resultado la utilización de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 15% v/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 4 minutos a una potencia de 435W, correspondiente a la muestra DC5. No obstante, la diferencia de coloración entre las muestras es mínima, por lo que se deja a discreción del investigador qué combinación utilizar.

Adicionalmente, para este paso se obtuvo un rendimiento del 68.20%, el cual, comparado con los demás pasos de la extracción, es más alto, sin embargo, hay que recordar que el peróxido de hidrógeno es un fuerte agente oxidante tanto en medios ácidos como básicos, esto quiere decir que rompe los enlaces químicos de los cromóforos (agentes productores de color), lo que conduce a una acción blanqueadora mediante la oxidación de la materia colorante por el oxígeno nascente (oxígeno monoatómico). Por lo tanto, al ser solo una oxidación no se espera que se pierda un peso considerable durante la reacción, no obstante, en el proceso de centrifugado y filtrado es posible que se pierda una pequeña cantidad de la muestra y por lo tanto no se recupere el total del peso inicial de la muestra.

Una vez obtenida la quitina, se realiza un proceso de desacetilación para transformarla en quitosano, en este último paso se logró alcanzar como mejor resultado un porcentaje de desacetilación del 79.70%, utilizando una concentración de hidróxido de sodio (NaOH) de 50% m/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 8 minutos a una potencia de 435W, que corresponde a la muestra DA5 (Cuadro 10). Es necesario recordar que la quitina cuenta con un grado o porcentaje de acetilación del 90%, mientras que el quitosano es un derivado total o parcialmente N-desacetilado con un grado típico de desacetilación mayor al 65% (Elieh-Ali-Komi, D., & Hamblin, M. R., 2016), no obstante para este estudio se buscaba alcanzar un grado de desacetilación mínimo del 70% ya que el quitosano comercial suele tener un grado de desacetilación que va del 70 al 95%, específicamente está el quitosano grado industrial (desacetilación  $\geq 70\%$ ), grado alimenticio (desacetilación  $\geq 85\%$ ) y grado farmacéutico (desacetilación  $\geq 90\%$ ). Por lo que de acuerdo con los resultados, el quitosano obtenido podría clasificarse como quitosano de grado industrial.

Por lo cual, al implementar la radiación de microondas como alternativa al calentamiento convencional se logró reducir el tiempo de calentamiento de 6 horas y 30 min Knidri et al. (2016) a tan solo 24 minutos, entre las cuatro etapas que conlleva la extracción.

A continuación se realizó una caracterización del quitosano obtenido, comenzando con un análisis del espectro FTIR del mismo (Gráfica 2), en la que se identificaron picos importantes en torno a 3263 - 3400  $\text{cm}^{-1}$  que corresponden al estiramiento N-H y O-H respectivamente, aunque la banda en  $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$  no es tan visible, probablemente fue superpuesta por la banda N-H. No obstante, comparado con el espectro de la quitina se puede observar una mejor definición de estos picos, esto debido al proceso de desacetilación al que fue sometida. En esta región también se encuentran los enlaces de hidrógeno intramoleculares. Las bandas de absorción alrededor de 2923 y 2800  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen al estiramiento simétrico y asimétrico C-H respectivamente, estas absorciones son características típicas de los polisacáridos. Luego, en 1654  $\text{cm}^{-1}$  se representa la banda de deformación angular correspondiente a la

amida I (estiramiento C=O), que confirma la presencia de grupos N-acetilo residuales. Así mismo, en  $1567\text{ cm}^{-1}$  se observa la flexión N-H correspondiente a la amida II, la cual es la tercera banda característica de los grupos típicos de N-acetilo, y alrededor de  $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$  se puede observar un pequeño pico que corresponde al estiramiento C-N de amida III. En  $1412\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la flexión  $\text{CH}_2$  y la banda de absorción a  $1154\text{ cm}^{-1}$  se puede atribuir al estiramiento asimétrico del puente C-O-C. Consecuentemente, las bandas de  $\sim 1070$  y  $1047\text{ cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento C-O del grupo piranósico propio de la estructura del sacárido. Por último, en  $\sim 650\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la flexión fuera del plano de las vibraciones O-H. Todas las bandas descritas se encuentran en los espectros de muestras de quitosano reportados por otras investigaciones (Figuras 5-7).

Adicionalmente se determinó que el quitosano obtenido se descompone a temperaturas mayores a  $370^\circ\text{C}$  (Cuadro 12). Comenzando a una temperatura de  $30$  a  $110^\circ\text{C}$ , se observó la evaporación del agua residual presente en la muestra del polímero y luego se observó la descomposición del mismo, en un amplio rango de temperatura, de  $188$  a  $370^\circ\text{C}$ . No obstante la temperatura de fusión o de degradación del quitosano se va a ver afectada por el largo de la cadena, ya que este al ser un polímero no se tiene un punto de fusión exacto, si no más bien este dependerá del largo de la cadena del quitosano obtenido. Cuando las cadenas del polímero son más largas, se enredan más, lo que significa que se pegan mejor. Provocando que se vuelva más difícil romper los enlaces entre las cadenas, lo que aumenta el punto de fusión. De esta manera, el resultado obtenido era el esperado, ya que otros estudios han reportado rangos de descomposición del quitosano entre  $180 - 340^\circ\text{C}$  (Szymańska & Winnicka, 2015).

Como parte de la caracterización final, se volvió a medir el porcentaje de ceniza, el cual fue de  $0.572\%$ , que en comparación con el obtenido en el paso de la desmineralización (quitina) de  $0.560\%$ , se puede observar un ligero aumento, sin embargo este no es tan significativo y se le puede atribuir más bien a una variación externa en la técnica empleada para medir el contenido de ceniza. Incluso es un buen indicador de la efectividad del paso de desacetilación ya que el porcentaje de ceniza se mantuvo relativamente constante entre la quitina y quitosano obtenidos. También se obtuvo un porcentaje de humedad del  $6.34\%$ , que está dentro de los parámetros esperados ya que el quitosano comercial contiene menos del  $10\%$  de contenido de humedad. Este porcentaje se le puede atribuir a la fuerte naturaleza higroscópica del quitosano.

Consecuentemente, es necesario mencionar que estos parámetros (porcentaje de ceniza y humedad) están relacionados con la fuente u origen utilizado para extraer el quitosano. En el caso del quitosano extraído de las cáscaras de camarón mediante el método de calentamiento tradicional, otros estudios han arrojado resultados de porcentaje de ceniza que oscilan entre  $0.61 - 1.40\%$  y porcentajes de

humedad entre 10.48 - 13.67% ( H. Hernández et al., 2009). También, en el estudio de Hossain & Iqbal (2014), obtuvieron un amplio rango de porcentajes de ceniza, entre 0.36% y 4.25% dependiendo de la condiciones empleadas para la desmineralización. Así mismo, obtuvieron un contenido de humedad que oscilaba entre 7.69 % y 8.25 %. De esta manera se puede observar que el quitosano obtenido mediante la utilización de radiación de microondas tiene características similares a los del quitosano producido por un método de calentamiento convencional, por lo cual el quitosano del calentamiento por microondas demostró ser una alternativa viable y sostenible, que apuesta por la eficiencia energética.

## IX. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se identificaron las condiciones óptimas para cada etapa de la extracción de quitosano proveniente de la cáscara de camarón *Litopenaeus vannamei* utilizando radiación de microondas como método de calentamiento. Estas etapas son: desproteínización, desmineralización, decoloración y desacetilación. Para la primera etapa se alcanzó un porcentaje de desproteínización del 70.70% utilizando hidróxido de potasio (KOH) al 25% m/v y calentando en microondas 5 minutos a una potencia de 145W y 3 min a una potencia de 435W. Para la segunda etapa se obtuvo un porcentaje de ceniza de 0.560% correspondiente a un porcentaje de desmineralización de 97.50% utilizando ácido clorhídrico (HCl) al 12% v/v y calentando en microondas 8 minutos a una potencia de 580W. Así mismo, se determinó que la secuencia óptima para la obtención de quitina es desproteínizar primero y luego desmineralizar ya que la proteína se ve afectada por el medio ácido si se realiza como primer paso la desmineralización.

Para la tercera etapa se determinó cualitativamente, observando la diferencia en el cambio de coloración de un rojizo suave a un blanco crema y tomando en cuenta las ventajas costo-energéticas que podrían ser más sostenibles, que la mejor decoloración se alcanzaba utilizando peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% v/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 4 minutos a una potencia de 435W. En la última etapa, se obtuvo un porcentaje de desacetilación de 79.70%, utilizando una concentración de hidróxido de sodio (NaOH) de 50% m/v y un tiempo de calentamiento en microondas de 8 minutos a una potencia de 435W. De tal manera que fue posible reducir el tiempo de calentamiento a 24 minutos entre las cuatro etapas de la extracción utilizando radiación de microondas; en comparación con el método de calentamiento tradicional que emplea tiempos de calentamiento de aproximadamente 6 horas y 30 minutos.

Adicionalmente, se determinó que el quitosano obtenido se descompone a temperaturas mayores a 370°C, tiene un porcentaje de ceniza final de 0.572% y un porcentaje de humedad de 6.34%. Además, al realizar un análisis cualitativo mediante espectroscopía de infrarrojo (FTIR), se encontraron picos que corresponden a los grupos funcionales característicos, tanto de la molécula de la quitina, como del quitosano obtenido. Dichas características mostraron ser bastante similares a las reportadas por otros estudios que utilizan el método de calentamiento convencional, lo que indica que la utilización de radiación de microondas como alternativa sostenible es viable y su implementación apuesta por un mejor diseño en la eficiencia energética.

## X. RECOMENDACIONES

Considerando la importancia que tiene esta investigación y en función de los resultados obtenidos, se formulan algunas sugerencias con el fin de continuar mejorando este análisis. En primer lugar, cabe recordar que esta investigación se realizó tomando como materia prima las cáscaras de camarón, por lo que una recomendación sería realizar este mismo procedimiento pero utilizando los otros residuos del camarón, como lo son la cabeza y la cola, que, aunque no tienen la misma composición que la cáscara, sería interesante saber si se pueden utilizar también para la extracción de quitosano. Así mismo, considero que implementar la utilización de radiación de microondas para la extracción de quitosano de otras materias primas, como otros crustáceos o incluso insectos, sería de gran utilidad para comparar la calidad de los productos obtenidos y así determinar qué materia prima se ve más favorecida para la extracción.

También recomiendo probar con diferentes potencias de radiación de microondas, ya que en este trabajo únicamente se evaluó las concentraciones de los reactivos utilizados en cada etapa y el tiempo de calentamiento, sin embargo, ya que se determinó que la radiación de microondas es una alternativa viable como reemplazo al método de calentamiento tradicional, considero que valdría la pena realizar estas pruebas para determinar si la potencia tiene algún efecto en la extracción de quitosano.

## XI. BIBLIOGRAFÍA

- ACUAMAYA. (2021). The shrimp of Guatemala. Obtenido de Acuamaya inicio: <https://es.acuamaya.com/>
- AOAC. 1984. “*Official Methods of Analysis*” 13<sup>a</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. 376-384.
- Arbia, W., Adour, L., Amrane, A., and Lounici, H. (2013). Optimization of medium composition for enhanced chitin extraction from *Parapenaeus longirostris* by *Lactobacillus helveticus* using response surface methodology. *Food Hydrocoll.* 31, 392–403. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.025>
- Bhaskar, N., Suresh, P. V., Sakhare, P. Z., and Sachindra, N. M. (2007). Shrimp biowaste fermentation with *Pediococcus acidolactici* cfr2182: optimization of fermentation conditions by response surface methodology and effect of optimized conditions on deproteinization/demineralization and carotenoid recovery. *Enzyme Microb. Tech.* 40, 1427–1434. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.10.019>
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrieres, J., & Rinaudo, M. (2001). *An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization*. *Polymer*, 42(8): 3569-3580.
- Cabanillas, L., Gutiérrez, E., & Heredia, J. (2020, diciembre). *Desechos de camarón: Un cóctel de oportunidades para la industria*. *Ciencia*. 71(4). Recuperado de: [https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/X1\\_71\\_4\\_1274\\_DesechosCamaron.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/X1_71_4_1274_DesechosCamaron.pdf)
- Cabrera, T., Cabrera, G., & Rosas, J., (2005). *Variación de lípidos y ácidos grasos en camarones marinos consumidos en Venezuela*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(2), 194-200. Recuperado en 03 de abril de 2022, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222005000200013&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200013&lng=es&tlng=es).

- Campo Vera, Y., Delgado, M. A., Roa, Y., Mora, G., & Carreño Ortiz, J. (2018). Evaluación preliminar del efecto del quitosano y cáscara de naranja en la coagulación-floculación de aguas residuales. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, *21*(2) Recuperado en 03 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.990>
- Carranza, J. (2018). MANEJO DE LAS FÓRMULAS DE DIFERENCIAS DE COLOR VS LÍMITES DE ACEPTABILIDAD. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://www.cenam.mx/memorias/descarga/simposio%202002/doctos/te017.pdf>
- Chibio Biotech. (2019). Recuperado en 06 de abril de 2022, de <http://www.chibiotech.com/plus/view.php?aid=92>
- Colina Rincón, M., *et al.* (2017). Extracción de quitina utilizando ácido láctico. *Revista Bases de la Ciencia*. e-ISSN 2588-0764, *2*(2): 1 Recuperado en 24 de mayo de 2022, de. [https://doi.org/10.33936/rev\\_bas\\_de\\_la\\_ciencia.v2i2.891](https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v2i2.891)
- Elieh-Ali-Komi, D., & Hamblin, M. R. (2016). *Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials*. *International journal of advanced research*, *4*(3): 411-427.
- El Knidri, H., *et al.* (2016, noviembre 1). Eco-friendly extraction and characterization of chitin and chitosan from the shrimp shell waste via microwave irradiation. ScienceDirect. Recuperado en 03 de abril de 2022, de <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0957582016302191>
- FAO. 2018. *EL ESTADO MUNDIAL DE LA PESCA Y LA ACUICULTURA*. FAO. ISBN 978-92-5-309185-0
- FAO. 2002. *FAO fisheries statistical yearbook 2002*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.
- FAO (2018), *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018*, Roma, FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/I9540EN>
- Flores-Albino, B., *et al.* (2012). Chitin and L(+)-lactic acid production from crab (*Callinectes bellicosus*) wastes by fermentation of *Lactobacillus* sp. B2 using sugar cane molasses as carbon source.

- Bioproc. Biosyst. Eng. 35, 1193–1200. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1007/s00449-012-0706-4>
- Ghorbel-Bellaaj, O., *et al.* (2012). Chitin extraction from shrimp shell waste using Bacillus bacteria. Int. J. Biol. Macromol. 51, 1196–1201. Recuperado en 22 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.034>
- Global Seafood Alliance (GSA). (2018, 16 julio). La producción actual, desafíos y el futuro del cultivo de camarón. Responsible Seafood Advocate. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://www.globalseafood.org/advocate/la-produccion-actual-desafios-y-el-futuro-del-cultivo-del-camaron/>
- Global Seafood Alliance (GSA). (2018, 29 octubre). El cultivo de camarón en Guatemala se hace intensivo - Responsible Seafood Advocate. Responsible Seafood Advocate. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://www.globalseafood.org/advocate/el-cultivo-de-camaron-en-guatemala-se-hace-intensivo/>
- Hajji, S., *et al.* (2015). Chitin extraction from crab shells by Bacillus bacteria. Biological activities of fermented crab supernatants. Int. J. Biol. Macromol. 79, 167–173. Recuperado en 03 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.027>
- Hernández, H., *et al.* (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. ©Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales, 22(3): 57–60. Recuperado en 10 de abril de 2022, de <http://www.scielo.org.mx/pdf/sv/v22n3/v22n3a12.pdf>
- Hidalgo, C., Suárez, Y. & Fernández, M. (2008). Validación de una técnica potenciométrica para determinar el grado de desacetilación de la quitosana. Ars Pharm; 49(3): 245-257. Recuperado en 12 de mayo de 2022, de <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/4960/4768>

- Hossain, M., & Iqbal, A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, *12*(1): 153–160. Recuperado en 06 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.3329/jbau.v12i1.21405>
- Hu, X., *et al.* (2020). Green, Simple, and Effective Process for the Comprehensive Utilization of Shrimp Shell Waste. *ACS Omega*, *5*(30): 19227–19235. Recuperado en 06 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02705>
- Ibrahim, H. M., Salama, M. F., & El-Banna, H. A. (1999). Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Nahrung/Food*, *43*(6): 418–423. Recuperado en 03 de abril de 2022, de [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3803\(19991201\)43:6<418::AID-FOOD418>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3803(19991201)43:6<418::AID-FOOD418>3.0.CO;2-6)
- Islam, M., Khan, S., & Tanaka, M. (2004). Waste loading in shrimp and fish processing effluents: potential source of hazards to the coastal and nearshore environments. *Marine Pollution Bulletin*, *49*(1–2): 103–110. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.01.018>
- J. Luo., *et al.* 2018. “*Preparation and Characterization of Quaternized Chitosan Under Microwave Irradiation*,” *J. Macromol. Sci. Part A*, vol. *47*(9): 952–956.
- Kandra, P., Challa, M. M., & Kalangi Padma Jyothi, H. (2011). Efficient use of shrimp waste: present and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *93*(1): 17–29. Recuperado en 05 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3651-2>
- M. Mahdy Samar., *et al.* 2013. “*Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique*,” *Ann. Agric. Sci.*, *58*(1): 33–41.
- Manni, L., *et al.* (2010). Extraction and characterization of chitin, chitosan, and protein hydrolysates prepared from shrimp waste by treatment with crude protease from bacillus cereusv1. *Appl. Biochem. Biotech.* *162*, 345–357. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8846-y>

- Mao, X., *et al.* (2013). Antioxidant production and chitin recovery from shrimp head fermentation with *Streptococcus thermophilus*. *Food Sci. Biotechnol.* 22, 1023–1032. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0179-5>
- Norwegian Chitosan (2020). Recuperado en 08 de abril de 2022, de <https://www.chitosan.no/product/kitoflokk/>
- Oh, K., *et al.* (2007). Demineralization of crab shell waste by *Pseudomonas aeruginosa* F722. *Process Biochem.* 42, 1069–1074. Recuperado en 03 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.04.007>
- Palpandi, C., Shanmugam, V., & Shanmugam, A. (2009). *Extraction of chitin and chitosan from shell and operculum of mangrove gastropod Nerita (Dostia) crepidularia Lamarck*. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(5): 198-205.
- Primex EHF (2020). Recuperado en 22 de mayo de 2022, de <http://www.primex.is/products-services/>
- Priyadarshi, R., & Rhim, J. W. (2020). Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 62, 102–346. Recuperado en 15 de junio de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102346>
- Rao, M. S., and Stevens, W. F. (2005). Chitin production by *Lactobacillus* fermentation of shrimp biowaste in a drum reactor and its chemical conversion to chitosan. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80, 1080–1087. Recuperado en 04 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.1002/jctb.1286>
- Rasweefali, M., *et al.* (2022). Influence of deproteinization and demineralization process sequences on the physicochemical and structural characteristics of chitin isolated from Deep-sea mud shrimp (*Solenocera hextii*). *Advances in Biomarker Sciences and Technology*, 4, 12–27. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.abst.2022.03.001>
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7): 603–632. Recuperado en 28 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

- Romero, A. (2020). Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. Recuperado en 04 de abril de 2022, de <https://www.redalyc.org/journal/707/70764230002/html/>
- Sagheer, F., *et al.* (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate Polymers*, *77*(2): 410–419. Recuperado en 22 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.01.032>
- Said Al Hoqani, H. A., AL-Shaqsi, N., Hossain, M. A., & al Sibani, M. A. (2020). Isolation and optimization of the method for industrial production of chitin and chitosan from Omani shrimp shell. *Carbohydrate Research*, *492*, 108001. Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108001>
- Singh, S. M. (2018). Shrimp Waste Powder – Potential as Protein Supplement. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, *6*(6): 401–406. Recuperado en 08 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.18782/2320-7051.7141>
- Sistema de la Integración Centroamericana (SICA). (2018). Camarón congelado: Cifras a Marzo 2018. SICA. Recuperado en 15 de abril de 2022, de <https://www.sica.int/busqueda/Noticias.aspx?IDItem=114163&IDCat=2&IdEnt=47#:~:text=E n%20los%20primeros%20tres%20meses,Salvador%20con%20%240%2C1%20millones.>
- Sun, J., and Mao, X. (2016). An environmental friendly process for antarctic krill (*Euphausia superba*) utilization using fermentation technology. *J. Clean. Prod.* *127*, 618–623. Recuperado en 03 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.020>
- Szymańska, E., & Winnicka, K. (2015). Stability of chitosan-a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. *Marine drugs*, *13*(4): 1819–1846. Recuperado en 22 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.3390/md13041819>
- Tanganini, I. C., *et al.* (2020). Bioprocessing of shrimp wastes to obtain chitosan and its antimicrobial potential in the context of ethanolic fermentation against bacterial contamination. *3 Biotech*, *10*(3). Recuperado en 11 de mayo de 2022, de <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2128-3>

- Universidad cálculo de Madrid. (2017). QUITOSANOS: BIOPOLÍMEROS CREADORES DE SINERGIAS. FUNCIONALIDAD Y VALOR AÑADIDO | Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación. UCM. Recuperado en 03 de abril de 2022, de <https://www.ucm.es/otri/complutransfer-quitosanos-biopolimeros-creadores-de-sinergias-funcionalidad-y-valor-anadido>
- Valenzuela V., C., & Arias, J. I. (2012). Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: una revisión. *Avances en Ciencias Veterinarias*, *27*(1). Recuperado en 05 de abril de 2022, de <https://doi.org/10.5354/0716-260x.2012.21997>
- Yan, N. (2015, 10 agosto). Sustainability: Don't waste seafood waste. *Nature*. Recuperado en 25 de mayo de 2022, de [https://www.nature.com/articles/524155a?error=cookies\\_not\\_supported&code=57ad3db1-7ea2-44f2-aa24-8198733a861f](https://www.nature.com/articles/524155a?error=cookies_not_supported&code=57ad3db1-7ea2-44f2-aa24-8198733a861f)

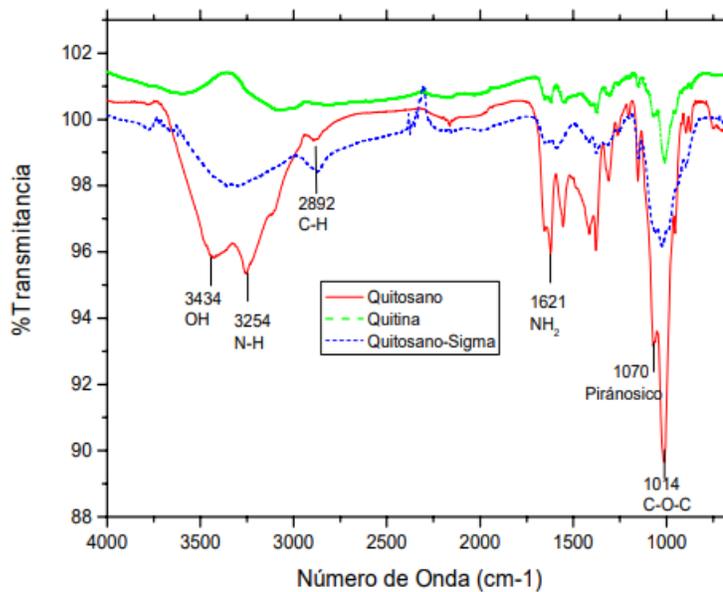
## XII. ANEXOS

### I. FIGURAS

Figura 4: Quitina obtenida antes (muestra izquierda) y después (muestra derecha) de decolorar con peróxido de hidrógeno.

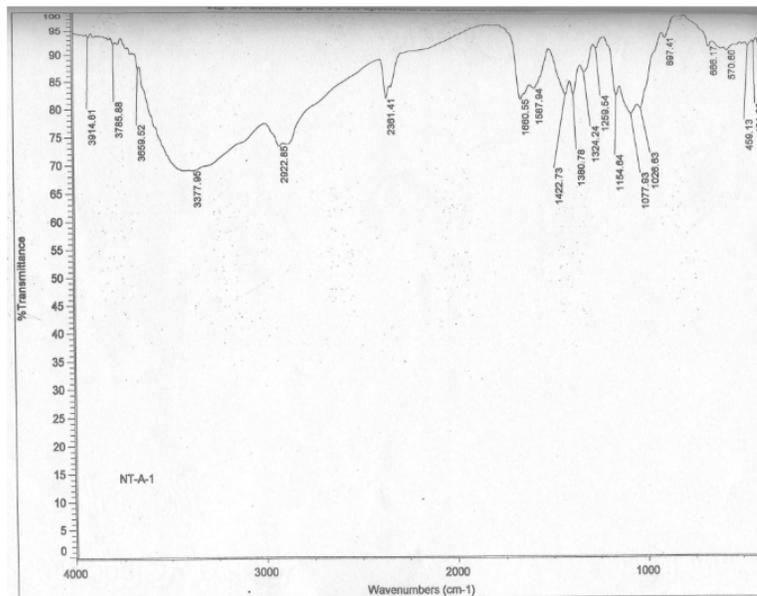


Figura 5: Espectro FTIR de la muestra desproteïnizada (Quitina) espectro de absorción de la muestra desacetilada (Quitosano) y espectro de absorción de una muestra de la empresa Sigma Aldrich, utilizados como referencia.



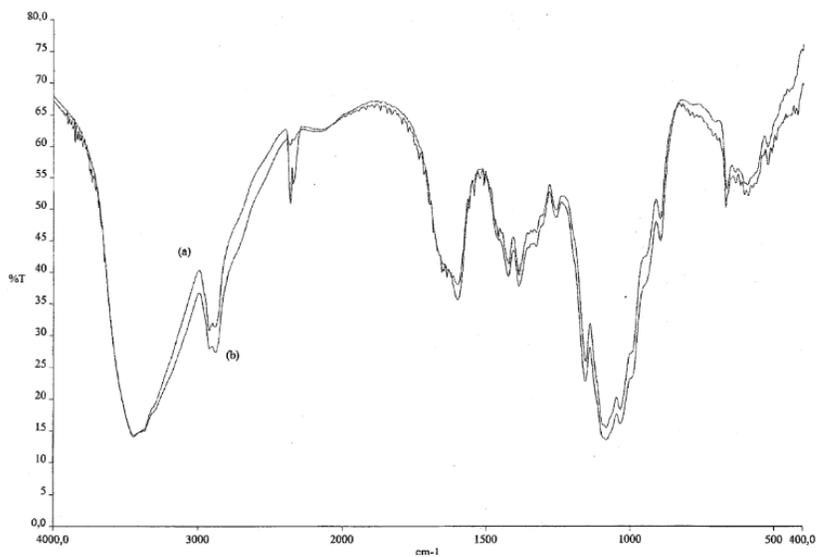
Fuentes: Hernández et al., (2009).

Figura 6: Espectro FTIR de quitosano extraído de la cáscara de camarón, utilizado como referencia.



Fuentes: Palpandi et al., (2009).

Figura 7: Espectro FTIR de quitosano extraído de la cáscara de camarón, utilizado como referencia.



Fuentes: Brugnerotto et al., (2001).

Figura 8: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA1.

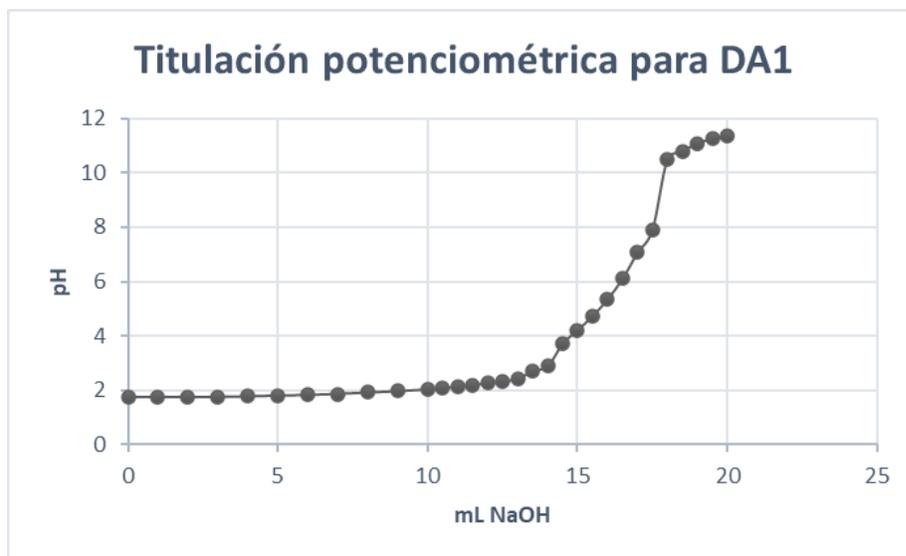


Figura 9: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA2.

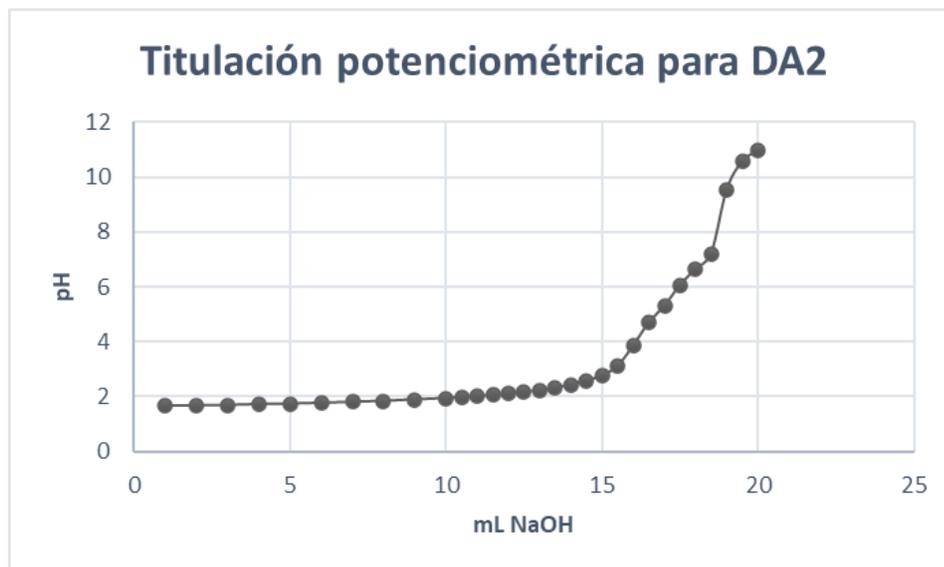


Figura 10: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA3.

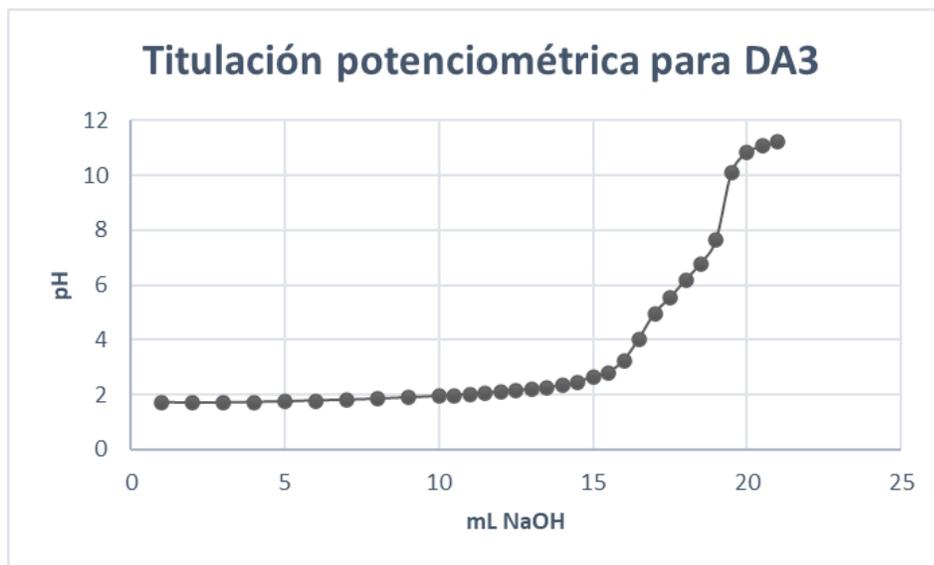


Figura 11: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA4.

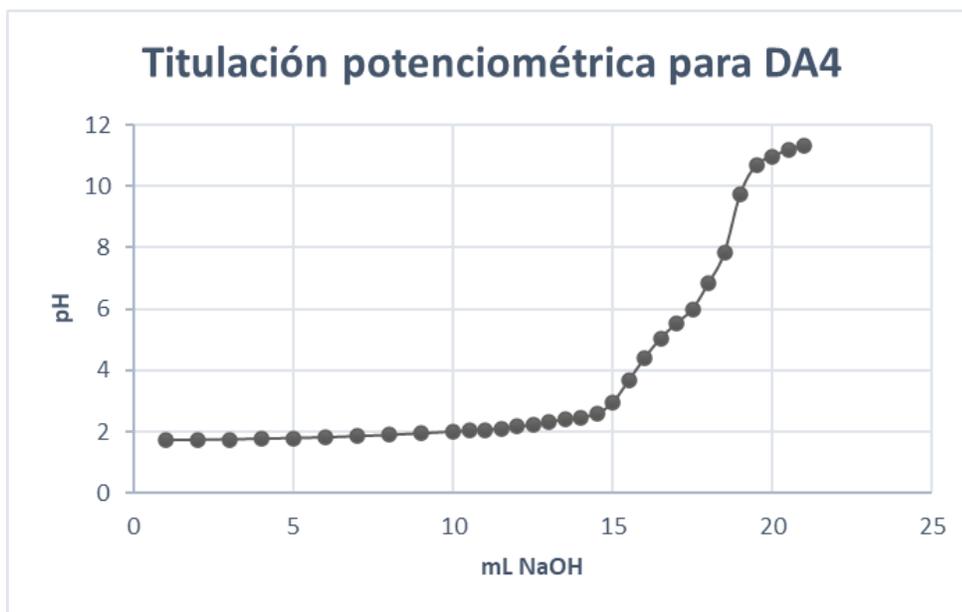


Figura 12: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA5.

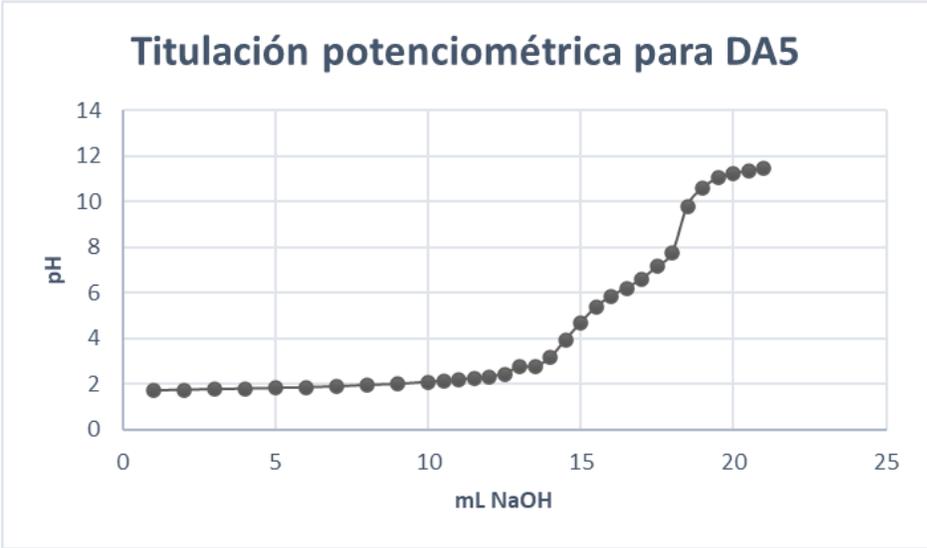


Figura 13: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA6.

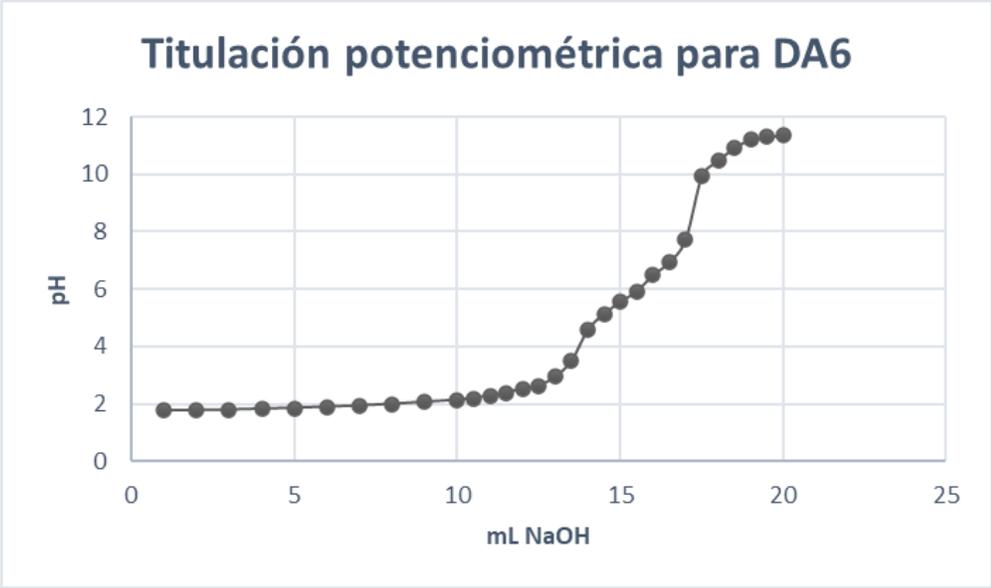


Figura 14: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA7.

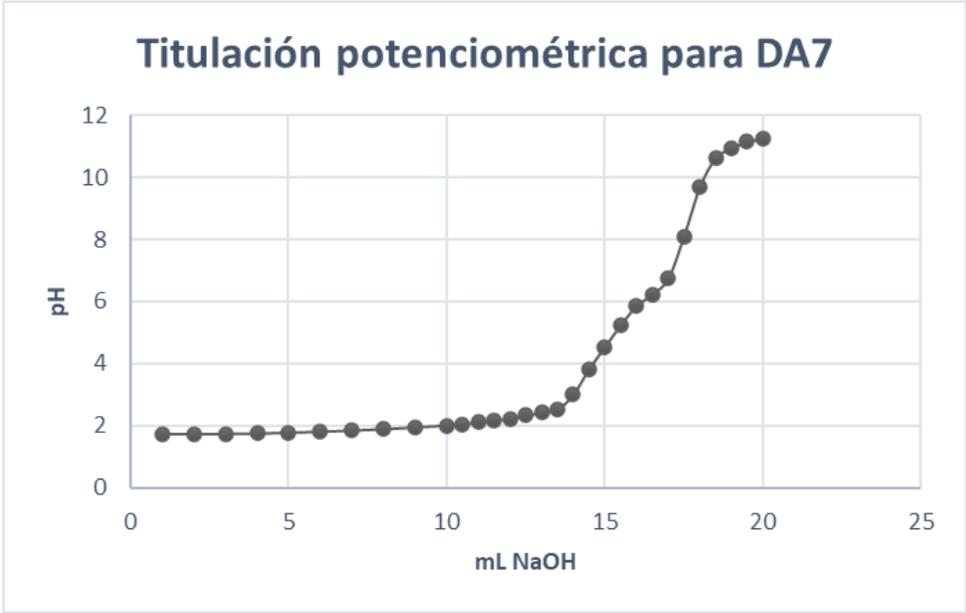


Figura 15: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA8.

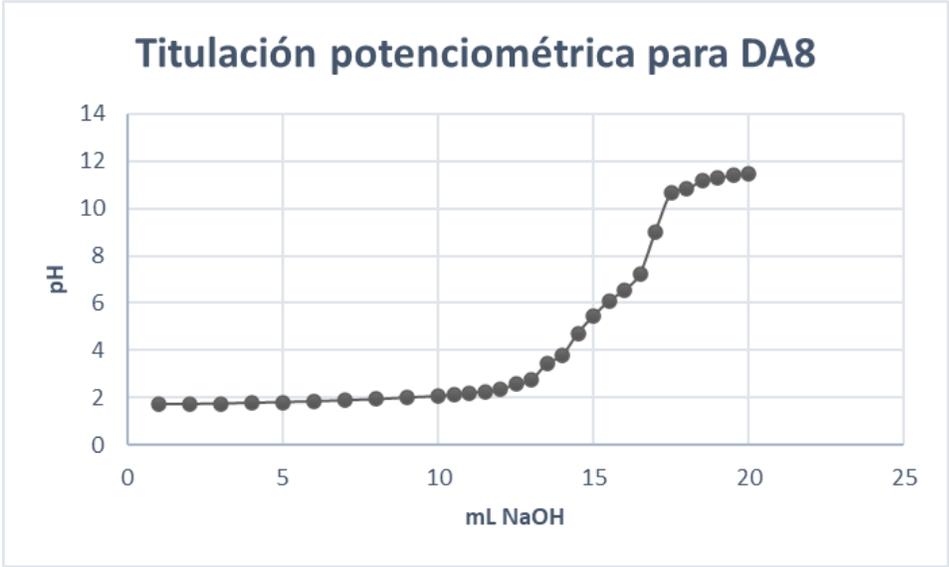


Figura 16: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica en el proceso de desacetilación para la muestra DA9.

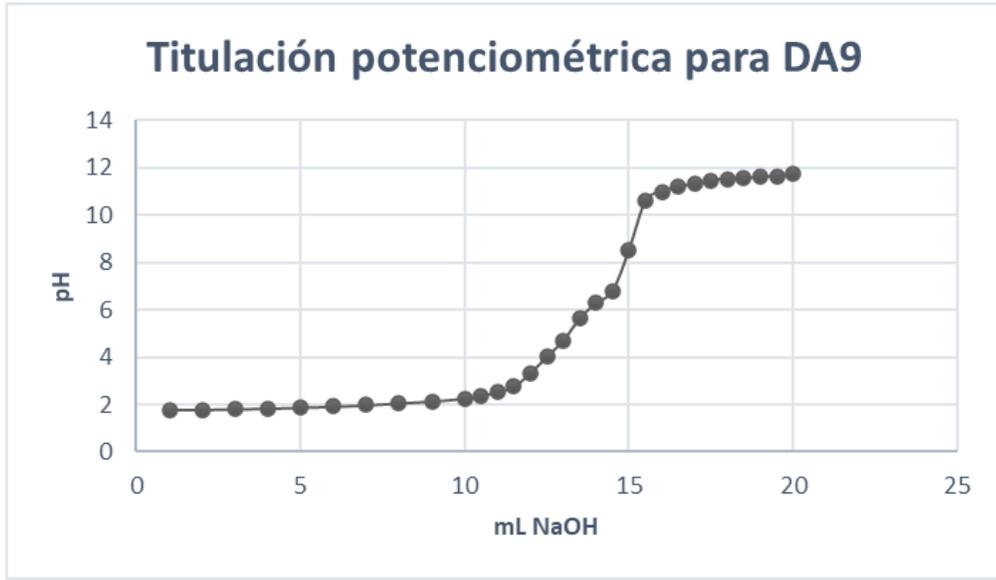
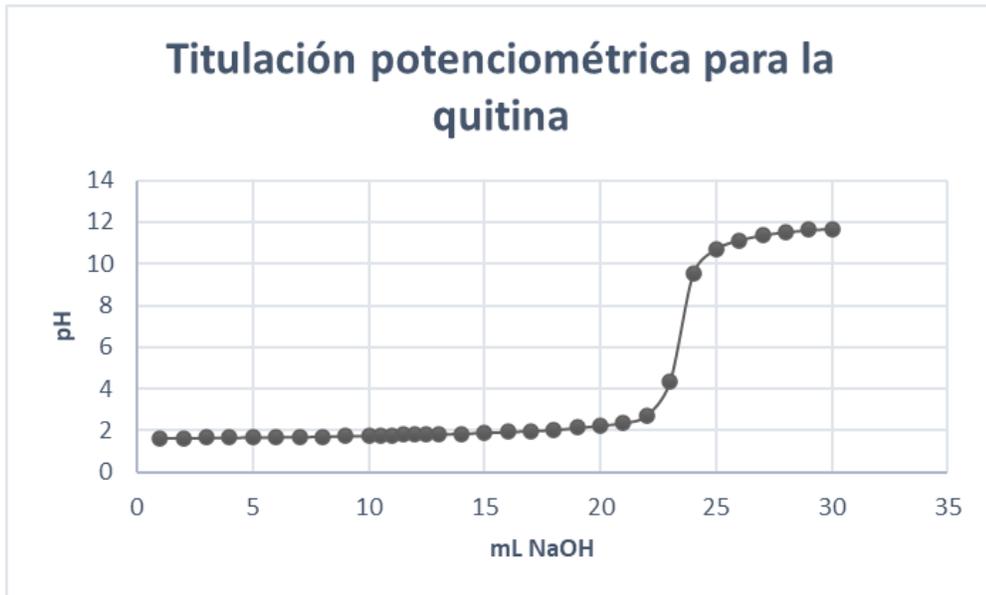


Figura 17: Gráfica obtenida de la titulación potenciométrica para la muestra de quitina.



## II. CÁLCULOS DE MUESTRA

Cálculo 1: Se utilizó la Ecuación 1 para la determinación del porcentaje de proteína en la cáscara de camarón y en las muestras desproteinizadas (DP1 - DP9).

$$\% \text{ de proteína en la cáscara de camarón} = \frac{(15.30\text{mL} \times 0.1\text{N} \times 0.014 \times 6.25)}{0.2512\text{g}} \times 100 = 53.29\%$$

$$\% \text{ de proteína DP1} = \frac{(6.62\text{mL} \times 0.1\text{N} \times 0.014 \times 6.25)}{0.2530\text{g}} \times 100 = 22.90\%$$

Se realizó el mismo cálculo para obtener el porcentaje de proteína en cada una de las muestras descritas en el Cuadro 1.

Cálculo 2: Se utilizó la Ecuación 2 para la determinación del porcentaje de desproteización para la muestra DP1.

$$\text{DP} (\%) = \frac{(53.29\% \times 0.2512\text{g}) - (22.90\% \times 0.2530\text{g})}{53.29\% \times 0.2512\text{g}} \times 100 = 56.73\%$$

Se realizó el mismo cálculo para obtener el porcentaje de desproteización en cada una de las muestras descritas en el Cuadro 1.

Cálculo 3: Se utilizó la ecuación 4 para la determinación del porcentaje de ceniza en la cáscara de camarón y en las muestras desmineralizadas (DM1 - DM9).

$$\%A \text{ en la cáscara de camarón} = \frac{20.086\text{g} - 19.861\text{g}}{1.0004\text{g}} \times 100 = 22.49\%$$

$$\%A \text{ DM1} = \frac{17.007\text{g} - 16.9941\text{g}}{1.0001\text{g}} \times 100 = 1.289\%$$

Se realizó el mismo cálculo para obtener el porcentaje de ceniza en cada una de las muestras descritas en el Cuadro 2.

Cálculo 4: Se utilizó la ecuación 3 para la determinación del porcentaje de desmineralización para la muestra DM1.

$$\text{DM}(\%) = \frac{(22.49\% \times 1.0004\text{g}) - (1.289\% \times 1.0001\text{g})}{22.49\% \times 1.0004\text{g}} \times 100 = 89.78\%$$

Se realizó el mismo cálculo para obtener el porcentaje de desmineralización en cada una de las muestras descritas en el Cuadro 2.

Cálculo 5: Se utilizó la ecuación 5 para la determinación del grado de desacetilación para la muestra DA1.

$$\% \text{NH}_2 = \frac{16.1 \times (17.75\text{mL} - 14.25\text{mL}) \times 0.1\text{M}}{0.1005\text{g}} = 56.07\%$$

Se realizó el mismo cálculo para obtener el grado de desacetilación en cada una de las muestras descritas en el Cuadro 4.

Cálculo 6: Se utilizó la ecuación 6 para la determinación del porcentaje de humedad del quitosano obtenido.

$$\% \text{Humedad} = \frac{1.0019\text{g} - 0.9384\text{g}}{1.0019\text{g}} \times 100 = 6.34\%$$