
Estandarización del proceso obtención de quitosano del caparazón *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* y *litopenaeus stylirostris*.**Standardization of the *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* and *litopenaeus stylirostris* capital reach process.****Padronização do processo de alcance de capital *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* e *litopenaeus stylirostris*.****David Coral¹, David Madroño², Gina Ramírez³.**

Resumen

En la actualidad, existe una alta demanda de productos marinos, lo cual ha traído consigo el desarrollo de esta cadena a nivel artesanal e industrial. Un renglón de desarrollo, corresponde a la línea de camaronicultura porque Colombia ha presentado un incremento del 37% en producción de camarón. Estas acciones generadas por la economía de la camaronicultura, han ocasionado el desequilibrio ecológico debido a la inadecuada disposición de los residuos sólidos generados en las diferentes etapas del procesamiento, actualmente estos son vertidos al mar sin tratamientos previos. De acuerdo a la situación presentada con anterioridad, esta investigación pretende la estandarización del proceso de obtención de quitosano a partir de las mezclas de exoesqueletos de camarón de las variedades *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* y *litopenaeus stylirostris*, mediante un tratamiento químico que involucró procesos de desmineralización (HCl 1M), desproteínización (NaOH 3M) y desacetilación (NaOH 50%), obteniendo un rendimiento de quitosano del 21,64%. Posteriormente, se determinó un grado de desacetilación de 64,4% para el quitosano a partir de titulación potenciométrica. Finalmente, se determinó el costo de producción de 1 Kg de quitosano mediante el desarrollo de un estudio económico, siendo el costo \$12655.

Palabras clave: Desacetilación, *litopenaeus stylirostris*, *penaeus monodon*, *penaeus vannamei*, quitosano.

Abstract

Currently, there is a high demand for marine products, which has led to the development of these industries at an artisanal and industrial level. One of these developments corresponds to the shrimp farming line since, Colombia has presented a 37% increase in shrimp production. These actions generated by the shrimp farming economy, have caused the ecological imbalance due to the inadequate disposal of solid waste generated in the different stages of processing, which are discharged into the sea without previous treatments. According to the situation presented above, this research consisted in the experimental design of the standardization of the process of obtaining chitosan from the mixtures of shrimp exoskeletons of the varieties *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* and *litopenaeus stylirostris*, applying a chemical treatment which involved demineralization processes (1M HCl), deproteinization (3M NaOH) and deacetylation (50% NaOH), obtaining a chitosan yield of 21.64%. Subsequently, a degree of deacetylation of 64.4% for chitosan was determined from potentiometric titration. finally, the economic study of production from raw material was carried out, being \$ 12655 for 1 kg of chitosan.

Keywords: Chitosan, Deacetylation, *litopenaeus stylirostris*, *penaeus monodon*, *penaeus vannamei*,

¹ Programa de Ingeniería de Procesos. Estudiante. Universidad Mariana. Pasto. Colombia. davidcoral@umariana.edu.co, <https://orcid.org/0000-0003-3642-166X>

² Programa de Ingeniería de Procesos. Estudiante. Universidad Mariana. Pasto. Colombia. davmadronero@umariana.edu.co, <https://orcid.org/0000-0002-8630-7622>

³ Programa de Ingeniería de Procesos. Estudiante. Universidad Mariana. Pasto. Colombia. giramirez@umariana.edu.co, <https://orcid.org/0000-0002-0203-2618>

Recibido: 10/10/2019

Aceptado: 22/10/2019

Resumo

Atualmente, existe uma alta demanda por produtos marinhos, o que levou ao desenvolvimento dessas indústrias em nível artesanal e industrial. Um desses desenvolvimentos corresponde à linha de cultivo de camarão, pois a Colômbia apresentou um aumento de 37% na produção de camarão. Essas ações geradas pela economia da criação de camarões causaram um desequilíbrio ecológico devido ao descarte inadequado de resíduos sólidos gerados nas diferentes etapas do processamento, que são lançados no mar sem tratamentos prévios. De acordo com a situação apresentada acima, esta pesquisa consistiu no delineamento experimental da padronização do processo de obtenção de quitosana a partir das misturas de exoesqueletos de camarão das variedades *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* e *litopenaeus stylirostris*, aplicando um tratamento químico que envolveu processos de desmineralização (1M HCl), desproteíntização (3M NaOH) e desacetilação (50% NaOH), obtendo um rendimento de quitosana de 21,64%. Subsequentemente, um grau de desacetilação de 64,4% para a quitosana foi determinado a partir da titulação potenciométrica. Finalmente, foi realizado o estudo econômico da produção a partir de matéria-prima, sendo \$ 12655 por 1 kg de quitosana.

Palavras chave: Desacetilação, *litopenaeus stylirostris*, *penaeus monodon*, *penaeus vannamei*, quitosana.

Introducción

La quitina, es un polisacárido presente ampliamente en la naturaleza, es el segundo biopolímero más abundante después de la celulosa y ha recibido una mayor atención como una alternativa a la sustitución de los polímeros sintéticos (Lorduy, Bolívar & Miranda, 2011).

Por su parte, el quitosano principal derivado de la quitina, el cual es obtenido mediante procesos químicos de desacetilación, es un amino polisacárido compuesto principalmente de unidades repetitivas de 2-amino 2-desoxi- β -D-Glucopiranosas, como polímero natural tiene un gran potencial en diferentes aplicaciones industriales (Giraldo, 2015).

Las principales fuentes de extracción de quitina son los residuos provenientes de los cultivos de camarón, los cuales han tenido un aumento significativo en su producción debido a la demanda actual. De acuerdo con Andrade (2014), el exoesqueleto de los camarones está constituido alrededor del 17 a 42% de proteínas, un 17 a 32% de quitina, de 1 a 14% de pigmentos y del 41 al 46% de cenizas. De igual forma, este incremento en la producción de camarón ha dado lugar a una mayor cantidad de residuos, lo que conlleva a nuevos problemas ambientales, debido a que se generan enormes cantidades de exoesqueletos de langostino y de camarón (Teli & Sheikh, 2012).

Teniendo en cuenta la problemática ambiental actual y las propiedades funcionales y fisicoquímicas del quitosano, se han identificado una enorme cantidad de aplicaciones que abarcan áreas tan variadas como: alimentación, medicina, agricultura, cosmética, farmacia, entre otras (Lárez, 2008); de igual forma, se han desarrollado investigaciones en busca de la disminución de los impactos ambientales que generan estos residuos marinos, entre estas, se encuentra la investigación desarrollada por López Calvache (2014), quien busca reducir el impacto ambiental que ocasionan los residuos orgánicos provenientes de la inadecuada disposición de los desperdicios del procesamiento pesquero, a partir de la extracción de quitina y quitosano.

A fin de esto, es importante identificar y determinar los protocolos de extracción de quitina y quitosano a partir de caparazón de crustáceos, el cual, consta de desproteíntización, desmineralización, y desacetilación. Se debe tener en cuenta que la efectividad de estos procesos, dependen de factores como la especie, la parte del organismo que se escogerá para trabajar, el estado de nutrición y el ciclo reproductivo. Al respecto, Colina (2013), realiza el estudio de los rendimientos de quitina y quitosano realizando variaciones en concentraciones de reactivos y tiempos de reacción para identificar el mejor tratamiento posible; estos factores son fundamentales para la calidad del producto.

Uno de los factores determinantes en cuanto a la aplicabilidad del quitosano, es el análisis de la composición de este. Para esto, Colina (s,f), determinó que varias de las propiedades de la quitina y

sus derivados (quitosano) están estrechamente relacionados con su grado de N- acetilación. Este es el parámetro fundamental que influye en las propiedades y comportamientos de los polímeros. La pureza del polisacárido puede ser cuantificada por su grado de N-acetilación, es decir, a mayor grado de acetilación mayor será la pureza del quitosano.

De acuerdo con la situación presentada con anterioridad, la presente investigación tiene como objetivo estandarizar el proceso de obtención de quitosano a partir de las mezclas de exoesqueleto de camarón *penaeus monodon*, *penaeus vannamei* y *litopenaeus stylirostris* por medio de la desmineralización, desproteínización, desacetilización y determinación del grado de N-acetilación a partir de titulación potenciométrica de las muestras de quitosano.

2. Materiales y método

2.1. Población y muestra

2.1.1. Población. La población para trabajar son las granjas productoras y comercializadoras de productos maridos especialmente camarón del municipio de San Andrés de Tumaco, situado a 300 kilómetros de san juan de pasto – Colombia.

2.1.2. Muestra. Se trabajó con los exoesqueletos de camarón de las variedades *Penaeus monodon*, *Penaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris* para la estandarización del proceso de obtención de Quitosano.

2.2. Recepción materia prima

De acuerdo con el estudio realizado por Andrade & Angula (2017), se identificó que las variedades de camarón de mayor producción en el municipio de San Andrés de Tumaco corresponden a la familia *Penaeus*. Por esto se procedió a trabajar con los exoesqueletos de camarón de las variedades *Penaeus monodon*, *Penaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*. A partir de pruebas organolépticas, se realizó la inspección de las materias primas teniendo en cuenta olor y color según Madhusudana, Viji, & Debbarma (2017), y el tamaño.

2.3. Pretratamiento de materia prima

A continuación, se describen los tratamientos iniciales que se realizaron a los exoesqueletos de camarón de las variedades de camarón descritas anteriormente.

2.3.1. Adecuación de materia prima. Se realizó el lavado con abundante agua y se removió los restos orgánicos, patas, colas, y cualquier otra impureza que pueden estar presentes.

2.3.2. Secado cáscaras de camarón. En un secador de bandeja marca FIQ a 80°C durante 6 horas, fueron puestos las cáscaras de camarón hasta obtener un peso constante, el cual se determinó con la Ecuación 1.

$$\%H = 100 - \left(\frac{P_i - P_f}{P_m} \right) * 100$$

Ecuación 1. *Porcentaje de humedad de secado*

Para la Ecuación 1 se adoptan las siguientes convenciones:

P_i = Peso inicial de bandeja con muestra

P_f = peso final bandeja con muestra

P_m = peso final demuestra sin bandeja

2.3.3. Triturado y tamizado. Con el fin de debilitar la estructura y favorecer el contacto de los exoesqueletos con los reactivos, se disminuyó el área superficial hasta obtener un tamaño de partícula alrededor de 600 μm , para lo cual se utilizó un molino eléctrico. De acuerdo a la investigación realizada por Barros, Guzmán y Tarón (2015), se trabajó con el sólido de menor tamaño obtenido en la trituración, para así lograr una homogeneización de la solución en la etapa de desproteínización, es por esto que se realizó una prueba de granulometría utilizando tamices #12, 16, 20, 30, y 40 de la serie Taylor y se calculó el tamaño de partícula utilizando la Ecuación 2.

$$D = 0,1046 * (2)^{MF}$$

Ecuación 2. *Cálculo del tamaño de partícula*

Para la ecuación 2 se adoptan las siguientes convenciones:

D= tamaño de partícula expresada en mm

MF= módulo de fineza

El módulo de fineza es calculado utilizando la Ecuación 3.

$$MF = \frac{\text{Total retenido acumulado}}{100}$$

Ecuación 3. *Cálculo módulo de fineza*

2.4. Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental unifactorial con una réplica, que permitió la estandarización del proceso de obtención de Quitina y Quitosano. Las variables de respuesta fueron los rendimientos de cada muestra, para los tratamientos de desproteínización, desmineralización y desacetilación. Como variable independiente se tomaron las mezclas promedio de las tres variedades, las cuales se determinaron por método de cuarteo, para lo cual las muestras fueron divididas en partes iguales, escogiendo 2/4 de la cantidad dividida, las 2 partes tomadas se volvieron a mezclar y se las dividió nuevamente en 4 partes iguales, escogiendo 2/4 de esa cantidad, esta operación se repitió hasta obtener una cantidad de 10 g.

Para estudiar si las variables independientes presentan una influencia específica en la variable de respuesta, se efectuó el análisis de varianza ANOVA utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS

2.4.1. Desproteínización. La remoción de las proteínas se logró tratando los 10g de cada muestra con una solución de hidróxido de sodio (NaOH), concentración 3M, relación 1:10, manteniendo la temperatura en una plancha de agitación magnética a 90°C, bajo agitación constante durante 3 horas. Posteriormente, se filtró y neutralizó el pH con agua desionizada.

2.4.2. Desmineralización. La remoción del carbonato de calcio se logró mediante la inmersión de la muestra desproteínizadas en una solución de HCl 1M en una relación 1:5, bajo agitación constante, por 2 horas a temperatura ambiente.

2.4.3. Desacetilación. De acuerdo a la investigación de Ortiz Rodríguez (2013), cuando la quitina se somete a la acción de un medio alcalino muy concentrado, y a temperaturas superiores a 60°C, se produce la reacción de desacetilación, esta reacción consiste en la eliminación del acetilo del grupo amino del carbono 2. Es por esto que la eliminación del grupo acetilo de la molécula de quitina se hizo a partir de la inmersión en una solución de NaOH 50% m/v, bajo una relación 1:7, bajo agitación constante por 1 hora y 100°C. Posteriormente, la muestra se sometió a filtrado, lavado y secado a 80°C durante 30 minutos.

2.5. Determinación Grado de Desacetilación- Titulación potenciométrica

El uso de la titulación potenciométrica en la determinación del grado de desacetilación del quitosano, de acuerdo a Giraldo (2015), se debe a que este es un polielectrolito, o sea, un polímero con grupos potencialmente ionizables. Por ello para la determinación del grado de desacetilación, se utilizó la metodología planteada por Taquez & Vargas (2018), la cual consistió en pesar 0,25 g de muestra de quitosano y disolverla en 10 mL de HCl 0,3M con la finalidad de ionizar sus grupos aminos con los H₃O⁺ disponibles en la solución, esta solución formada se tituló con NaOH a 0,1 M el mismo se encuentra disociado en iones Na⁺ y OH⁻, estos últimos reaccionan primero con el exceso de H₃O⁺ y luego se presenta la desprotonación de los grupos aminos. Se llevó la medición del cambio de pH que presentó la solución en cada adición de 1 mL de NaOH hasta completar un volumen de 50 mL. Con los resultados obtenidos se construyó la curva de titulación de pH vs volumen añadido de NaOH.

El grado de desacetilación del quitosano se determinó mediante la valoración potenciométrica utilizando la Ecuación 4.

$$\%NH_2 = \frac{16,1 (Y - X)}{W} * f$$

Ecuación 4. *Determinación de Grado de Desacetilación*

Para la Ecuación 4 se adoptan las siguientes convenciones:

Y: Mayor punto de inflexión

X: Menor punto de inflexión

F: Molaridad NaOH

W: peso en gramos muestra

16,1 es un valor relacionado con el peso equivalente del quitosano

3. Resultados

3.1. Recepción de materia prima

Se verificó el estado de las cáscaras de camarón evaluando el olor, color y tamaño, teniendo en cuenta las características mencionadas por Lorduy Cabarcas, Bolívar Marión & Marzola Miranda (2011) en donde se pueden constatar las particularidades de estas especies.

Tabla 1

Característica de las variedades de cáscara de camarón

| Especie | | Olor | Color | Tamaño |
|-------------------------|--------------|----------------|--------------------|--------|
| Nombre científico | Nombre común | | | |
| <i>Penaeus monodon</i> | Titi | Camarón fresco | Rojizo | 4 cm |
| <i>Penaeus vannamei</i> | Tigrillo | Camarón fresco | Naranja | 5,5 cm |
| <i>Litopenaeus</i> | Tigre | Camarón fresco | Marrón con franjas | 7,8 cm |

De acuerdo con Madhusudana, Viji, & Debbarma (2017), en el estudio acerca de la comparación de color y composición de la carne de camarones *Vannamei*, el color es un factor importante, el cual es influenciado principalmente por los alimentos y factores ambientales a los que están expuestos durante su vida. Como se observa en la Tabla 1, los exoesqueletos de las tres variedades presentan un color entre rojizo, naranja y marrón, esto se debe al contenido de pigmentos (carotenoides).

3.2. Pretratamiento de materia prima

3.2.1. Adecuación materia prima. A partir de la adecuación de la materia prima, se identificó la

composición estructural de los exoesqueletos de camarón de las tres variedades y se realizó la determinación de la composición porcentual, tal como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2
Componentes promedio exoesqueletos de la familia penaeus

| Partes del camarón | Peso | |
|--------------------|--------------|--------------|
| | Promedio (g) | Promedio (%) |
| Patas | 0,114 | 5,06 |
| Carne | 0,1869 | 8,31 |
| Exoesqueleto | 1,8 | 79,98 |
| Cola | 0,104 | 4,64 |
| Otros | 0,045 | 2,01 |
| Total | 2,25 | 100 |

En la experimentación, se eliminó un 20% impurezas presentes en el exoesqueleto provenientes de la empresa, este porcentaje corresponde a patas, colas, carne y otros residuos que quedan adherida a las cáscaras de camarón.

López Calvache (2014), afirma que aproximadamente el 50% de la composición del camarón es carne la cual es consumida, cerca del otro 50% son las partes que se desechan y no son fáciles de digerir, dentro de este porcentaje cerca del 11% del desperdicio corresponde a una fuente interesante para la extracción de moléculas de gran interés como proteínas, sales de magnesio, carbonatos de calcio y quitina.

3.2.2. Secado de cáscaras de camarón

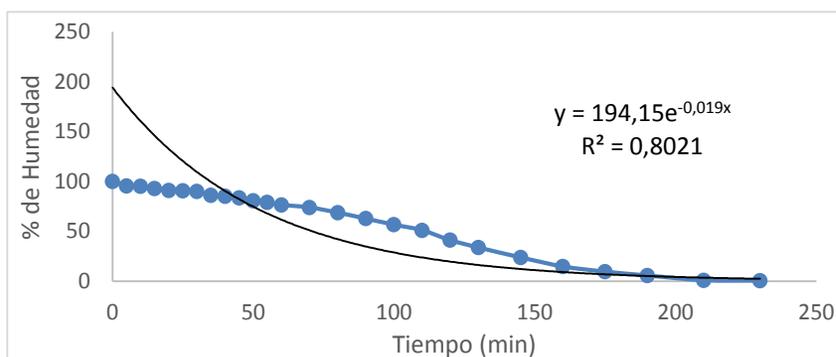


Gráfico 1. Pérdida de humedad con respecto el tiempo

A partir de la Ecuación 5 la experimentación arrojó un porcentaje de humedad final de los exoesqueletos de camarón del 17 %, resultados comparables con la investigación realizada por Andrade, Chávez, & Naar (2007), quienes evaluaron las etapas de cocción y secado en la obtención de harina de cabezas de camarón de cultivo (*penaeus Sp*), evaluando dos tiempos (5 horas y 7 horas) y dos temperaturas de secado (65°C y 75°C), y fueron analizados por medio de ANOVA, obteniendo que el mejor tratamiento consistió en un secado a 75°C por 5 horas con humedad final menor al 10%. De igual forma, estos autores afirman que en el proceso de secado de exoesqueletos de camarón es importante llevar un control de temperatura, debido a que al utilizar elevadas temperaturas se incurre en la debilitación de la estructura química de la materia prima y por ende la calidad del producto final.

3.2.3. Triturado y tamizado

Una vez que las muestras fueron trituradas, se procedió a tamizar para trabajar con un tamaño de partículas fino, para esto se escogió el material retenido en el tamiz No.30 (750 μ m) esto se realizó a cada una de las tres muestras, en este proceso se obtuvo un porcentaje de pérdida promedio del 4.43%.

3.3. Diseño experimental

3.3.1. Composición de la muestra

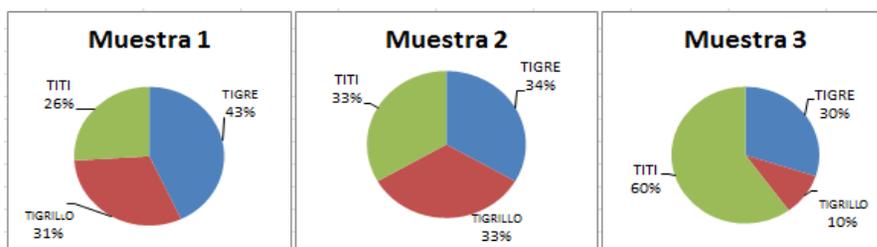


Figura 1. Porcentaje de muestras de cáscara de camarón por mezcla

En la Figura 1, se observa la composición de las muestras que se trabajaron. El porcentaje de cada una de las muestras se debe a que la composición de cada muestra varía de la época y de la demanda de las especies de camarón.

3.3.2. Desproteización. El NaOH rompe los enlaces de hidrógeno que mantiene unidas a las moléculas de proteína, logrando que se separen y se dispersen en la solución; de acuerdo a Osuna, Escobedo, Méndez, Vásquez, & Martínez (s.f) las proteínas eliminadas en esta etapa corresponden a la artropodina, esclerotina y resilina. Según, Barros, Guzmán, & Tarón (2015) el porcentaje de proteínas presentes en las cáscaras de camarón es del 40% y con respecto a los rendimientos en desproteización van a variar de acuerdo al tipo de reactivo y tiempo de reacción que se utilice.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATGRAPHICS, a través del cual se probó si las muestras tienen influencias significativas en el porcentaje de rendimiento de desproteización. Para ello se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$ la media del rendimiento muestra 1 es diferente a la media del rendimiento muestra 2 y diferente a la media del rendimiento muestra 3.

$H_o = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ la media del rendimiento muestra 1 es igual a la media del rendimiento muestra 2 y es igual a la media del rendimiento muestra 3.

Tabla 2

Rendimiento de desproteización

| Muestras | %Rend | Media muestra | Desviación |
|----------|-------|---------------|------------|
| 1.2 | 62,5 | 62,15 | 0,495 |
| 2.2 | 63,2 | 61,715 | 2,100 |
| 3.1 | 64,3 | Media muestra | Desviación |
| 3.2 | 65,1 | 64,7 | 0,566 |

Nota. % Rend: porcentaje de rendimiento de desproteización

En la Tabla 2 se tiene el rendimiento para cada una de las mezclas junto a sus réplicas realizadas en medio alcalino (NaOH), aunque la muestra 3 presenta un porcentaje de rendimiento mayor con respecto a las otras, la tabla 3 indica que no existe un efecto estadísticamente significativo en el porcentaje de rendimiento de cáscaras desproteinizadas. $F(2, 3) = 3,14$, $p > 0,05$, $n_2 = 0,7$.

Tabla 3

ANOVA para rendimiento por desproteización

| Fuente | Suma de | GI | Cuadrado | Razón-F | Valor-P |
|---------------|---------|----|----------|---------|---------|
| Entre grupos | 10.4013 | 2 | 5.20065 | 3.14 | 0.1841 |
| Intra grupos | 4.97545 | 3 | 1.65848 | | |
| Total (Corr.) | 15.3767 | 5 | | | |

3.3.3. Desmineralización. Según Colina (s.f) al someter las mezclas de desproteización en una solución de hidrólisis ácida se retira el carbonato de calcio (CaCO_3) presente en los exoesqueletos de camarón, el CaCO_3 reacciona con los iones H_3O^+ y Cl disociados en la solución obteniendo quitina presentándose la siguiente reacción.



Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATGRAPHICS, a través del cual se probó si las muestras tienen influencias significativas en el porcentaje de rendimiento de desmineralización. Para ello se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$ la media del rendimiento muestra 1 es diferente a la media del rendimiento muestra 2 y diferente a la media del rendimiento muestra 3.

$H_o = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ la media del rendimiento muestra 1 es igual a la media del rendimiento muestra 2 y es igual a la media del rendimiento muestra 3.

Tabla 4

Rendimiento de desmineralización

| Muestras | %Rend | | |
|----------|--------|-----------------|----------------------|
| 1.1 | 46,440 | Media muestra 1 | Desviación muestra 1 |
| 1.2 | 46,88 | 46,66 | 0,311 |
| 2.1 | 56,45 | Media muestra 2 | Desviación muestra 2 |
| 2.2 | 52,056 | 54,253 | 3,1070 |
| 3.1 | 48,709 | Media muestra 3 | Desviación muestra 3 |
| 3.2 | 49,769 | 49,239 | 0,749 |

En la tabla 4 se presenta el rendimiento de las muestras obtenidas en la etapa de desmineralización, la muestra 2 presenta mejor porcentaje de rendimiento junto a la réplica. De acuerdo al análisis ANOVA tabla 5 no existe un efecto estadísticamente significativo en el porcentaje de rendimiento de cáscaras desmineralizadas. $F(2, 3) = 8,64$, $p > 0,05$, $n_2 = 0,85$.

Tabla 5
ANOVA para rendimiento por desmineralización

| Fuente | Suma de Cuadrados | GI | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 59.5757 | 2 | 29.7879 | 8.64 | 0.0569 |
| Intra grupos | 10.3386 | 3 | 3.44619 | | |
| Total (Corr.) | 69.9143 | 5 | | | |

3.3.4. Desacetilación. De acuerdo con la investigación de Colina (s,f), cuando la quitina se somete a la acción de un medio alcalino muy concentrado, y a temperaturas superiores a 60°C, se produce la reacción de desacetilación. Esta reacción consiste en la pérdida del resto acetilo del grupo amida del carbono 2, denominándose quitosano y presenta propiedades significativas diferentes a la quitina de partida. En cuanto se realiza la reacción de desacetilación, la cantidad de grupos amida disminuye y aumenta la cantidad de grupos amino.

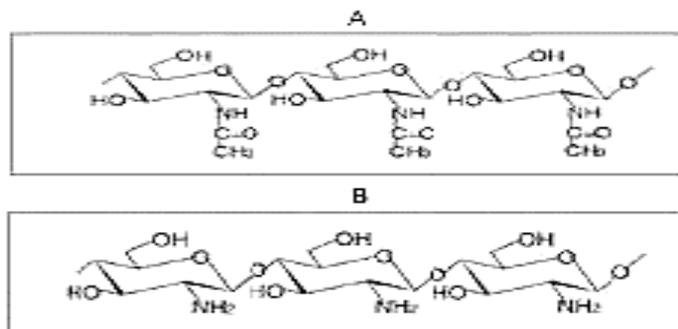


Figura 2. Desacetilación de quitina

Nota: (A) estructura química de la quitina (B) estructura química del quitosano

Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATGRAPHICS, a través del cual se probó si las muestras tienen influencias en el porcentaje de rendimiento de desacetilación. Por lo tanto, las hipótesis utilizadas fueron:

$H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$ la media del rendimiento muestra 1 es diferente a la media del rendimiento muestra 2 y diferente a la media del rendimiento muestra 3.

$H_o = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ la media del rendimiento muestra 1 es igual a la media del rendimiento muestra 2 y es igual a la media del rendimiento muestra 3.

En la Tabla 6 se aprecian las diferencias de rendimientos de quitosano obtenidos para cada una de las muestras junto a sus réplicas, la muestra 2 presenta un mejor porcentaje de rendimiento, esto debido a que en la etapa anterior de desmineralización se logró eliminar en gran proporción los minerales presentes.

Tabla 6
Rendimiento de desacetilación

| Muestras | %Rend | | |
|------------|--------------|-----------------|----------------------|
| 1.1 | 75,059 | Media muestra 1 | Desviación muestra 1 |
| 1.2 | 75,095 | 75,077 | 0,025 |
| 2.1 | 75,088 | Media muestra 2 | Desviación muestra 2 |
| 2.2 | 75,957 | 75,523 | 0,6144 |
| 3.1 | 74,166 | Media muestra 3 | Desviación muestra 3 |
| 3.2 | 74,15 | 74,158 | 0,0113 |

Para identificar si el factor composición de mezclas en cada muestra presenta una influencia significativa en el rendimiento de desacetilación; se realizó el análisis de varianza ANOVA como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7
ANOVA para rendimiento desacetilación

| Fuente | Suma de Cuadrados | de GI | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|-------|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 1.9595 | 2 | 0.979752 | 7.76 | 0.0652 |
| Intra grupos | 0.378709 | 3 | 0.126236 | | |
| Total (Corr.) | 2.33821 | 5 | | | |

No existe una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de rendimiento de cáscaras desacetiladas. $F(2, 3) = 7,76$, $p > 0.05$, $n_2 = 0,84$.

3.4. Grado de desacetilación

Al valorar la solución de la muestra disuelta en HCl con la solución de NaOH, se obtuvo la curva de pH vs mL de base añadida. En el Gráfico 2, se aprecia el primer punto de inflexión que corresponde al punto de equivalencia de la neutralización del exceso de HCl que no protonó los grupos aminos, y el segundo punto de inflexión, corresponde a la neutralización del biopolímero protonado. El grado de desacetilación que se obtuvo con la Ecuación 1 utilizando 0,25 g de muestra fue de 64,4%.

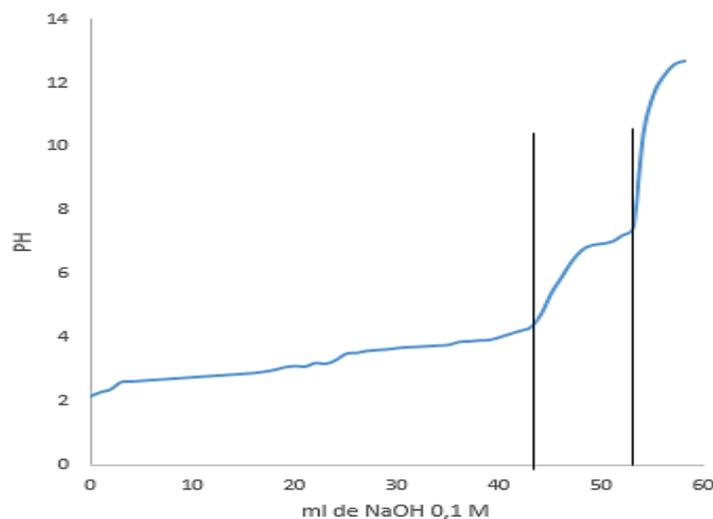


Gráfico 2. Titulación potenciométrica de quitosano

En la investigación de Taques & Vargas (2018), infieren que el quitosano comercial que se ofrece en

el mercado debe presentar un porcentaje de desacetilación mayor al 60%, en su investigación, ellos obtuvieron un grado de desacetilación del 64% utilizando 0,5 g de muestra y presentando el primer punto de inflexión a los 39 mL de NaOH añadido y el segundo punto de inflexión a los 49 mL de NaOH añadido. De acuerdo con estos resultados obtenidos se concluye que hay similitud con respecto a los grados de desacetilación obtenidos en la experimentación con los referenciados.

Tabla 8
Datos titulación potenciométrica de quitosano

| Titulación potenciométrica | |
|----------------------------|------|
| Concentración NaOH | 0,1 |
| Peso muestra | 0,25 |
| Punto de inflexión 1 | 43 |
| Punto de inflexión 2 | 53 |
| NH ₂ | 64,4 |

3.5. Costo producción de quitosano

Considerando los datos obtenidos con los balances y el costo de los reactivos en el mercado local, se calculó el costo total en torno a materias primas utilizadas para producir 1kg de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón.

Tabla 9
Consumo de materias primas para producción de 1Kg de quitosano

| Materiales | Cantidad (Kg) | Valor unitario | Valor total |
|-------------|---------------|----------------|-------------|
| Exoesquelet | 4,575 | \$500/kg | \$2287,5 |
| HCl 1M | 10,94 | \$100/Kg | \$1094 |
| NaOH 50% | 8,64 | \$319/kg | \$2756 |
| NaOH 3M | 35,8 | \$180/kg | \$6444 |
| Agua | 10,54 | \$7/kg | \$73,78 |
| Total | 70,495 | \$1106 | \$12655 |

De acuerdo con el proceso realizado, el costo de producir 1kg de quitosano a partir de caparazón de camarón es de \$12655, si comparamos el precio con el del mercado internacional de acuerdo con Barra, Romero, & Beltramino (2012), los costos son de 10 a 15 dólares por kilo, puesto que en España, Ecuador o China se paga flete y gastos de aduana de \$ 92649 aproximadamente.

4. Discusión

En la actualidad, una temática que ha cobrado gran importancia es el desarrollo de alternativas capaces de mitigar impactos ambientales generados por las diferentes actividades industriales. Algunas de estas alternativas pueden surgir en el aprovechamiento de subproductos, desechos de las industrias alimenticias, específicamente de la camaronicultura, como es el caso en la obtención del quitosano. En este estudio, se estandarizó el proceso de obtención de quitosano a partir del diseño experimental de las mezclas de distintas variedades de exoesqueletos de camarón.

Previamente se estableció la concentración óptima de los reactivos con el fin de obtener las mejores características del producto y establecer la influencia de la variedad de camarón, los resultados experimentales para la evaluación de las mezclas de exoesqueletos de camarón en la obtención de quitina y quitosano descrita anteriormente, indicaron que no hay efectos estadísticamente significativos en los procesos de desproteinización, desmineralización y desacetilación. Sin embargo,

se evidencian porcentajes de rendimientos distintos entre composición de mezclas por procesos, lo cual se debe en gran medida a las características físicas y químicas de cada especie por eso es importante tener en cuenta que los parámetros del tratamiento para la obtención de la quitina y el quitosano pueden variar. De acuerdo con la investigación de López (2014) existen condiciones que no se pueden controlar como son el hábitat de la especie, el tipo de camarón, la composición fisiológica, la temporada de recolección.

La titulación potenciométrica es importante, porque influye en la solubilidad que tendrá al final el quitosano, según (Colina M.) si el grado de acetilación está por encima del 50 %, el intervalo del pH en el que puede ser soluble aumentará, es por esto que de acuerdo a la investigación realizada por Giraldo (2015), acerca de las propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano, se establece que la quitina al presentar un grado de desacetilación mayor al 50% es considerada quitosano. Por lo anterior se establece que el producto obtenido es quitosano y al compararlo con diferentes investigaciones y referencias bibliográficas hay similitudes en los resultados obtenidos y por ende puede ser comercializado en el mercado.

5. Conclusiones

Durante la extracción de los biopolímeros quitina y quitosano, es importante tener control de los factores que afectan directamente el proceso, como lo son la temperatura, la concentración de las soluciones y el tiempo; porque de ello depende la calidad final y algunas propiedades para poder designar un uso específico. En la experimentación se obtuvo un rendimiento para la obtención de quitina en desproteínización de 65.1%, para desmineralización de 56.45%; y para la obtención del quitosano se obtuvo un rendimiento del 65.96%.

Bajo las condiciones experimentales usadas, se logró obtener quitosano a partir de la desacetilación termoalcalina de la quitina extraída del exoesqueleto de camarón variedades *penaeus monodon* (titi), *penaeus vannamei* (tigre) y *litopenaeus stylirostris* (tigrillo). El porcentaje del grado de desacetilación del quitosano obtenido fue 64,4%. Los resultados demuestran que nuestro quitosano es aceptable, debido a que, a partir de los diferentes estudios se ha determinado que un porcentaje de desacetilación entre 50% y 90% es considerado como quitosano.

Los análisis ANOVA demuestran que no hay diferencias significativas de rendimiento en ninguno de los procesos realizados, concluyendo que la composición de las muestras no afecta el rendimiento del producto final. Las condiciones de operación como temperatura, tiempo y concentraciones de los reactivos utilizadas son óptimas para replicar el rendimiento.

El rendimiento en el proceso de producción de quitosano de acuerdo a los resultados obtenidos es del 21,63%, la producción de un kilo de quitosano cuesta \$12655 pesos, que comparados al precio del mercado internacional entre 10 y 15 dólares es competitivo.

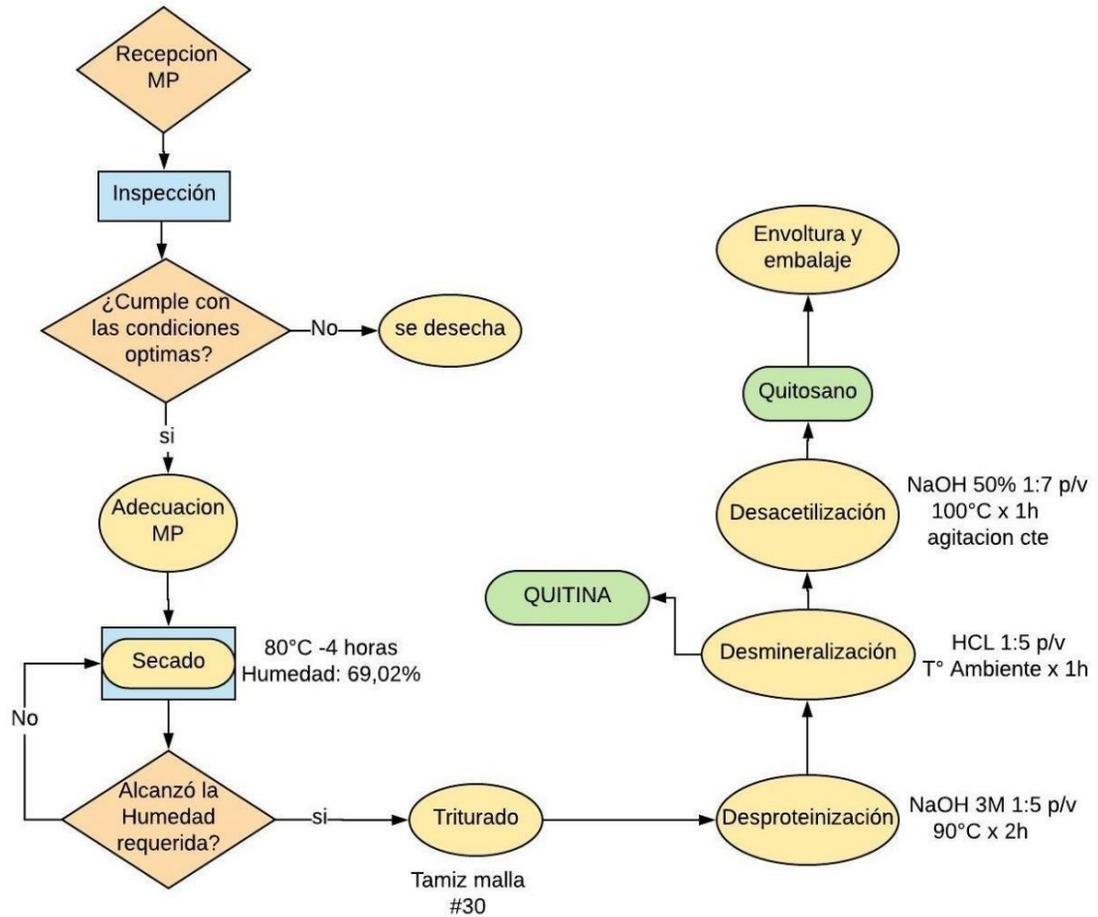
Referencias

- Álava, J. (2015). *Aplicación de quitosano como biocoagulante en aguas residuales contaminadas con hidrocarburos*.
- Andrade, C., & Angulo, M. (2017). *Análisis económico del proceso de comercialización de camarón del sector pesquero en San Andrés de Tumaco año 2016*. San Andrés de Tumaco.
- Barros, I., Guzmán, L., & Tarón, A. (junio de 2015). Extracción y comparación de la quitina obtenida a partir del caparazón de *callinectes sapidus* Y *penaeus vannameis*. *Rev. U.D.C.A Act & Div. Cient*, 18(1).

- Colina, M., Ayala, A., Rincón, D., Molina, J., Medina, J., Ynciarte, R., y otros. (s.f.). *Evaluación de los procesos para la obtención química de quitina y quitosano a partir de desechos de cangrejos. Escala piloto e industrial.*
- Giraldo, J. (2015). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del Quitosano. ResearchGate, p.1-23.
- López Calvache, P. F. (2014). *Obtención de quitosano a partir de desechos del exoesqueleto de camarón títí (xiphopenaeus riveti) para el desarrollo de películas poliméricas plastificadas con glicerina.* Santiago de Cali. Treybal, R. (1977). *Operaciones de transferencia de masa.*
- Lorduy Cabarcas, M., Bolívar Marión, W., & Marzola Miranda, M. (2011). *Diseño de un proceso económico y competitivo.* Cartagena.
- Madhusudana, B., Viji, P., & Debbarma, J. (Junio de 2017). Shell variation in farmed *Litopenaeus vannamei*: Comparison of white shell (regular) and brown shell (unusual) *L. vannamei*. *Aquaculture*, 21(1), p. 24.
- Ortiz Rodríguez, A. (2013). *Tratamiento químico y biotecnológico de residuos de camarón para la obtención de productos de valor agregado.* Veracruz.
- Ruiz, A., Cardelle-Cobas, A., García, a., Montilla, A., Olano, A., & Corzo, N. (2013). *Synthesis, characterization and functional properties.* *Food Hydrocoll.* 33:245-255
- Teli, M., & Sheikh, J. (2012). *Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon.*
- Vanegas, M. (2014). *Obtención de películas biodegradables a partir de mezclas de quitosano de cáscaras de camarón y agentes plastificantes.* Quito.

ANEXOS

Diagrama ASME de proceso de obtención de quitosano



Balance escala laboratorio de la producción de quitosano.

