

20
21.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA**

**ESTUDIO DE FACTIBILIDAD TÉCNICA PARA LA
OBTENCIÓN DE PIGMENTOS A PARTIR DE
CEFALOTÓRAX DE CAMARÓN**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN :
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :**

PAULA CECILIA GUADARRAMA MENDOZA



MÉXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado Asignado

Presidente: Prof. Durán Domínguez Ma. del Carmen
Vocal: Prof. Nieto Villalobos Zoila
Secretario: Prof. Luna Pabello Víctor Manuel
1er. Suplente: Prof. Calderón Villagómez Hilda Elizabeth
2do. Suplente: Prof. Cañipa Morales Arnaldo Jimmy

Sitio donde se desarrolló el tema: Facultad de Química, UNAM
Edificio B. Lab. 201



ASESORA:

Dra.-Ing. Ma. del Carmen Durán Domínguez



SUSTENTANTE:

Paula Cecilia Guadarrama Mendoza

La perla de gran precio yace profundamente escondida.
Como un pescador de perlas, alma mía, bucea,
bucea profundamente,
bucea aún más profundamente, ¡y busca!
Tal vez no encontrarás nada la primera vez.

Como un pescador de perlas, alma mía.
Sin cansarte, insiste, insiste de nuevo,
bucea profundamente, cada vez más profundamente,
¡y busca!.

Los que no conocen el secreto,
se burlarán de tí,
y te sentirás triste por ello.
Pero no te desanimes,
pescador de perlas ¡alma mía!.

La perla de gran precio está ciertamente allí escondida,
escondida en lo más hondo.
La fe es la que te ayudará a encontrar el tesoro
y es ella la que te permitirá que lo que estaba escondido
sea por fin revelado.

Bucea, bucea aún más profundamente,
como un pescador de perlas, alma mía,
¡y busca, busca sin cansarte!.



Swami Paramananda

*A mi luz y camino,
Jesús*

*A mis amados padres,
Cristina y Rogelio*

*A mis queridos hermanos,
Ricardo y Rogelio*

A Adolfo

AGRADECIMIENTOS

Gracias Dra. Carmen Durán de Bazúa

Por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo monográfico de actualización, por su apoyo, tiempo, orientación y dedicación. Por ayudarme a superar de la mejor forma las dificultades que se me presentaron. Fue una fortuna haberla conocido, porque es una persona con una gran calidad tanto profesional como humana.

Gracias a todos mis profesores

Porque al conocerlos no sólo me informaron sino que también participaron en mi formación y desarrollo personal.

Gracias a mis amigos y compañeros

Por darme la oportunidad de compartir con ustedes tantos momentos a lo largo de toda la carrera.

Gracias al personal de la Facultad de Química

Por darme el privilegio de gozar las instalaciones y el ambiente de esta bella casa de estudios. Especialmente, quiero agradecer el apoyo y atenciones que me brindaron los laboratoristas Don Juanito, Don Arturo y Vicky.

Gracias al grupo que ha trabajado en este tema de investigación

Porque gracias a todos ustedes logré realizar el presente trabajo monográfico de actualización lo más pronto posible.

Gracias a todos ustedes

Porque me impulsaron para no dejarme vencer y salir adelante.

¡ MUCHAS GRACIAS !

RESUMEN

En el presente, todas las industrias, cualquiera que sea su rama o nivel de producción, deben ser conscientes de la importancia que tiene el cuidado del ambiente y el reciclaje del material de desecho que en ellas se genera. La industria camaronícola es una rama de vital importancia económica del país, pero con la desventaja que genera un alto volumen de residuos que no se han sabido aprovechar y que, por ende, están generando daños severos al ambiente. Últimamente, se han realizado diversas investigaciones en las cuales se han propuesto nuevas vías de canalización de estos desechos, especialmente, aprovechando el cefalotórax del camarón. Este subproducto se ha visto que es una materia prima rica en proteína, quitina, sales minerales y pigmentos. Todos estos componentes son útiles en diversas ramas industriales como es la alimentaria, cosmética y farmacéutica. La obtención de los pigmentos (astaxantinas) del cefalotórax del camarón tiene un impacto comercial importante. Por lo tanto, en el presente trabajo de investigación bibliográfica, se hizo un análisis técnico de los dos diferentes métodos que se han probado a nivel de laboratorio para la obtención de dicho producto. Al realizar una comparación entre la extracción química y la extracción enzimática de los pigmentos, se llegó a la conclusión de que el proceso más factible desde el punto de vista de calidad química, fue el proceso enzimático. La característica principal de este proceso, es que se obtiene el complejo denominado carotenoproteína, que es la asociación de los pigmentos a las proteínas solubles de la cabeza del camarón, dándole una mayor estabilidad y calidad nutritiva al producto obtenido. Además, tiene la ventaja de que con este sistema no se generan a su vez subproductos difíciles de canalizar y altamente contaminantes. Los riesgos de operación no son elevados ya que el tipo de sustancias manipuladas no son peligrosas. Finalmente, con el proceso enzimático el rendimiento de extracción de las astaxantinas es mayor al rendimiento del proceso fisicoquímico. Por lo que se recomienda, realizar un estudio de factibilidad económica del sistema de extracción enzimática, para transportar la propuesta a nivel industrial.

CONTENIDO

	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS	I
RESUMEN	II
CONTENIDO	III
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	
1.1 INTRODUCCIÓN	1
1.2 OBJETIVOS	10
CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES	
2.1 PROBLEMÁTICA DE LA INDUSTRIA CAMARONÍCOLA EN MÉXICO	
2.1.1 PANORAMA GENERAL DE LA INDUSTRIA PESQUERA NACIONAL	11
2.1.2 LOCALIZACIÓN DE LA INDUSTRIA CAMARONÍCOLA EN MÉXICO	13
2.1.3 PRODUCCIÓN NACIONAL DE CAMARÓN	15
2.1.3.1 PRODUCCIÓN NACIONAL ACUÍCOLA	17
2.1.4 EXPORTACIONES DE CAMARÓN	19
2.1.5 RESIDUOS GENERADOS EN LA INDUSTRIA CAMARONÍCOLA NACIONAL	22
2.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL CEFALOTÓRAX DEL CAMARÓN	
2.2.1 PIGMENTOS	25
2.2.2 SALES MINERALES	28
2.2.3 PROTEÍNAS	29
2.2.4 QUITINA Y QUITOSANA	
2.2.4.1 GENERALIDADES Y FUENTES	31
2.2.4.2 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES	33
2.2.4.3 USOS	38

2.3	OPCIONES DE SOLUCIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA CAMARONÍCOLA	
2.3.1	MÉTODOS FISICOQUÍMICOS	43
2.3.2	OBTENCIÓN DE QUITINA POR MÉTODOS ENZIMÁTICOS	45
2.3.3	OBTENCIÓN DE CAROTENOPROTEÍNAS POR MÉTODOS ENZIMÁTICOS	48

CAPÍTULO 3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

3.1	ANÁLISIS GENERAL DE LOS PROCESOS QUE PERMITEN LA EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS DEL CEFALOTORAX DE CAMARÓN	
3.1.1	ELABORACIÓN DE HARINAS DE CEFALOTORAX DE CAMARÓN PREVIA A LA EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS	50
3.1.2	EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS (ASTAXANTINAS)	
3.1.2.1	EXTRACCIÓN QUÍMICA DE ASTAXANTINAS	52
3.1.2.2	EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DE ASTAXANTINAS ACOMPLEJADAS CON SUS MATRICES PROTEICAS	55
3.1.3	COMPARACION ENTRE LOS METODOS	57
3.2	ELEMENTOS QUE PERMITEN LA SELECCION DEL PROCESO ÓPTIMO PARA LA EXTRACCIÓN DE LAS ASTAXANTINAS	
3.2.1	CALIDAD DEL PRODUCTO OBTENIDO	
3.2.1.1	ESTABILIDAD	59
3.2.1.2	CALIDAD NUTRITIVA	60
3.2.1.3	PUREZA DEL PRODUCTO OBTENIDO	61
3.2.1.4	POTENCIAL TOXICO DE LAS ASTAXANTINAS EXTRAÍDAS	62
3.2.2	ANÁLISIS DEL PROCESO	
3.2.2.1	TIEMPO DE PROCESO	62
3.2.2.2	SEGURIDAD DE REACTIVOS EMPLEADOS	63
3.2.2.3	IMPACTO AMBIENTAL DEL PROCESO	64
3.2.3	RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN	65

3.3 PROCESO SELECCIONADO	65
3.4 PROPUESTA DE TRABAJO A NIVEL PLANTA PILOTO	67
CAPÍTULO 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
4.1 CONCLUSIONES	70
4.2 RECOMENDACIONES	71
CAPÍTULO 5 BIBLIOGRAFÍA	
BIBLIOGRAFÍA	72

LISTA DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
Tabla 1. Volumen de producción nacional pesquera de 1984-1994	11
Tabla 2. Orden de producción nacional de las principales especies en 1994	12
Tabla 3. Volumen de producción de camarón en peso vivo por litoral para 1994	14
Tabla 4. Producción de camarón en peso vivo por principales entidades federativas	14
Tabla 5. Producción y exportación nacional de camarón (1984-1994)	15
Tabla 6. Superficie potencialmente disponible para la camaronicultura en México	18
Tabla 7. Valor de las exportaciones de producción pesquera para 1994	20
Tabla 8. Análisis proximal del cefalotórax de camarón	24
Tabla 9. Composición de aminoácidos de proteínas provenientes de desechos de camarón	29
Tabla 10. Fuentes actuales y futuras de quitina y quitosana	32
Tabla 11. Fuentes potenciales de quitina a nivel mundial	32
Tabla 12. Propiedades físicoquímicas de la quitina y quitosana	35
Tabla 13. Propiedades catiónicas de la quitosana	37
Tabla 14. Propiedades de importancia industrial de la quitina y la quitosana	37

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1. Producción nacional de las principales especies para 1994	13
Figura 2. Producción nacional de camarón durante el período de 1984-1994	16
Figura 3. Producción acuícola de camarón en el periodo de 1984-1994	19
Figura 4. Porcentaje de aportación al valor comercial que generan las diferentes especies en las exportaciones nacionales	20
Figura 5. Valor de las exportaciones de camarón en el periodo de 1984-1994	21
Figura 6. Principales pigmentos encontrados en el cefalotórax de camarón	28
Figura 7. Estructura química de la (a) quitina y (b) la quitosana	34
Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de extracción fisicoquímica de pigmentos del cefalotórax de camarón	54
Figura 9. Diagrama de flujo del proceso seleccionado para la extracción de los pigmentos	66



CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1 INTRODUCCIÓN

Los productos marinos constituyen uno de los rubros económicos de mayor importancia para países que, como México, poseen un amplio litoral. Entre estos, el camarón destaca por ser uno de los productos de mayor demanda en el mercado nacional e internacional, debido principalmente a su excelente valor nutritivo y a sus propiedades sensoriales. La industria camaronera ocupa en México el cuarto lugar dentro de las pesquerías de mayor volumen de producción. Le anteceden la sardina, los túnidos y la mojarra. El camarón es, además, el producto con mayor participación en el valor de la exportación pesquera, representando el 66.0% del total (Sepesca, 1994).

La producción pesquera nacional en 1994, en peso vivo, fue de 1.260.019 toneladas, de las cuales, 76.324 toneladas fueron de camarón lo que representa un 6.057% de la producción total nacional. Actualmente, se tiene que del total de la producción nacional anual de camarón un 62% se distribuye para consumo nacional y el restante 38% es exportado.

De todo el camarón que se produjo en el país en 1994, el 17% aproximadamente proviene de la camaronicultura por sistemas controlados, cantidad que le permite a México estar entre los 15 primeros productores de camarón de granja a nivel mundial con grandes expectativas de mejorar (Hernández, 1994).

Debe mencionarse que del peso vivo del camarón sólo el 50% del animal es comestible y que el 50% restante corresponde a partes no comestibles del camarón constituido principalmente por el cefalotórax, mejor conocido como la cabeza, que se considera como una parte aparentemente no aprovechable

En el barco en que se realiza la captura, los camarones son descabezados y sólo ocasionalmente se utilizan estos "desperdicios". En México, una mínima parte de los desechos de camarón que se generan son secados y molidos para obtener harina de camarón, que puede ser utilizada en el alimento para animales cuando se desean altas concentraciones de proteína (Desrosier, 1986). Sin embargo, esta idea es equivocada, ya que el camarón contiene una proporción bastante elevada de nitrógeno no proteínico, procedente de la sustancia llamada quitina, componente principal del caparazón de este crustáceo. El cefalotórax de camarón puede ser empleado también como fuente natural de sabores para preparar los concentrados de caldo de camarón, pero ésta no es una práctica generalizada y los volúmenes de desperdicio son muy elevados.

La mayor parte de los desechos de esta industria (cefalotórax y demás partes no comestibles del camarón), son desechados en altamar durante la captura y, por su volumen, causan un impacto ecológico que altera el ambiente; siendo una fuente de contaminación para los cuerpos receptores (ríos o mares en que son vertidos o suelos

donde son depositados), ya que contienen una considerable concentración de materia orgánica potencialmente reutilizable.

Los cuerpos receptores, especialmente los acuícolas, en los que se descargan tales desechos se caracterizan por presentar una gran cantidad de sólidos en suspensión y, sobre todo, un contenido de material disuelto, medido como demanda bioquímica de oxígeno (DBO) muy elevado (No y Meyers, 1989). Esto significa que, para poder degradar esta materia orgánica, los microorganismos presentes en ese cuerpo receptor requieren una gran cantidad de oxígeno disuelto en el agua y, por lo tanto, la fauna existente en ese ecosistema puede morir por asfixia. En el caso de los cultivos camarícolas, tampoco se aprovecha el cefalotórax y, en vez de contaminar el mar, se contaminan los suelos de las zonas aledañas a las áreas de cultivo con el consiguiente deterioro ambiental y proliferación de fauna nociva.

El aprovechamiento de estos residuos significaría darle un importante valor agregado a este subproducto que favorecería en todos los aspectos a la población ligada a la captura, cultivo y comercialización del camarón.

Actualmente, se ha visto que estas descargas y vías de contaminación pueden evitarse, ya que los cefalotórax de camarón contienen proteínas, lípidos, sales minerales, pigmentos y un biopolisacárido llamado quitina (14 a 27%), que mediante un tratamiento

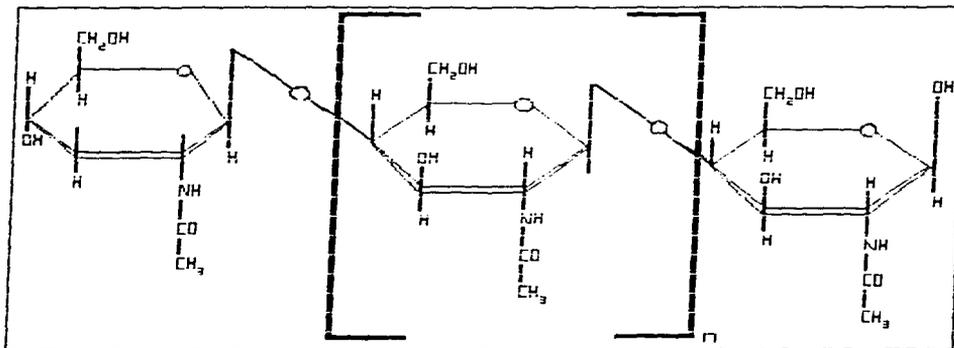
especial se pueden separar para ser utilizados en diversas industrias, especialmente en las ramas alimentaria y farmacéutica (Mathur y Narang, 1990). Además, la facilidad con que se dispone de este material no aprovechado por ciertas industrias pesqueras, puede justificar el uso de los caparazones de los crustáceos como la principal fuente de extracción de quitina y pigmento (Jeuniaux y col., 1988). Por ejemplo, países como Japón y Estados Unidos, producen grandes cantidades de quitina y sus derivados, exportándolos a los demás países.

La quitina es un polímero estructural del grupo de los aminopolisacáridos (Pine y col, 1984). Su nombre químico es poli- β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina, ó β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa. Podría considerarse como derivado de la celulosa en donde los grupos hidroxilo del C2 han sido reemplazados por residuos acetamido.

La quitina está asociada a las proteínas de manera covalente, lo cual le da considerable estabilidad y le confiere a la estructura dureza, rigidez y resistencia a la hidrólisis enzimática. Por ejemplo, la quitina se encuentra en algunas plantas como material de la pared celular además de celulosa o, en algunos casos, en lugar de celulosa. En estructuras animales, la quitina es el principal componente del exoesqueleto de crustáceos, representando del 13 al 27% de su peso seco y, en algunas ocasiones, se encuentra conjugada con proteínas (Knorr, 1984), y/o pigmentos carotenoides.

generalmente beta-carotenos, astaxantinas y derivados, que le confiere color a los tejidos (Muzzarelli, 1977). Además, se le encuentra también en insectos, hongos y levaduras.

En la naturaleza se presenta en distintas configuraciones, (α , β y γ quitina), siendo la más abundante la α -quitina, que forma una estructura cristalina muy compacta que no se hidrata (Huitrón, 1983). Las cadenas que la conforman presentan un arreglo antiparalelo, a diferencia de las cadenas de β -quitina que están ordenadas de manera paralela y de las de γ -quitina, donde existe una cadena "hacia abajo" por cada dos cadenas "hacia arriba" (Muzzarelli, 1977). En los tres casos, las cadenas son no ramificadas. Su representación química, en general, es la siguiente:



El hexafluoroisopropanol y la hexafluoroacetona son disolventes para la quitina obteniéndose soluciones al 2% y al 1.4%, respectivamente (Muzzarelli, 1977), sin embargo, tienden a degradar la quitina y su uso no es altamente recomendado. También los cloroalcoholes como el 2-cloroetanol o el 1-cloro-2-propanol, junto con soluciones acuosas de ácidos minerales o con ciertos ácidos orgánicos son un sistema efectivo para disolver la quitina, lográndose soluciones de baja viscosidad, en las cuales la degradación hidrolítica del polisacárido se presenta con lentitud. En la búsqueda continua de disolventes adecuados para la quitina, se encontró que el N-N dimetil acetamido conteniendo 5% de cloruro de litio disuelto (MEAc-LiCl) es una opción conveniente para tal efecto.

El derivado más importante de la quitina es la quitosana, un biopolímero de carácter poliamínico, soluble en soluciones ácidas diluidas y cargado positivamente. Su obtención comercial se realiza mediante una desacetilación alcalina de la quitina utilizando álcalis a temperatura de ebullición. Dependiendo de los requerimientos, puede ser utilizado directamente o bien, transformado a uno de sus muchos derivados.

La quitina, la quitosana y sus derivados más importantes, poseen propiedades singulares que las hacen muy atractivas desde el punto de vista comercial. La cantidad de derivados que se pueden obtener de ellas, lo mismo que sus aplicaciones, es amplia y se debe fundamentalmente a que se trata de polímeros naturales biodegradables, bioactivos.

flexibles y fácilmente modificables. Por ejemplo, la quitina al ser un recurso natural, biológicamente reproducible y no tóxico (tiene un índice de dosis letal media, DL50, de 16g/kg de peso en ratones), puede emplearse en la fabricación de geles y películas (Hirano, 1988). Por ser un polisacárido, puede ser agregado a los alimentos para controlar propiedades funcionales, pues cuenta ya con la aprobación de la FDA para ser usado como aditivo alimentario. Por otra parte la quitosana es ampliamente utilizada en la industria, especialmente en plantas procesadoras de alimentos y tratadoras de aguas residuales (Bough y col., 1978a; Bough y col., 1978b; Muzzarelli, 1977). La quitina y la quitosana cuentan con la aprobación de la Agencia de los EEUU de Protección Ambiental (conocida ampliamente por sus siglas en inglés, EPA, Environmental Protection Agency), para ser empleadas en la purificación del agua potable en una concentración no mayor a 10 mg/L.

Se ha pensado también en la industrialización de los desechos del camarón para fabricar un insecticida biológico que ataque únicamente a las plagas sin afectar al manipulador, pues por medio de una fermentación de este material pueden obtenerse enzimas quitinolíticas que ataquen a las plagas de insectos ya que éstos están constituidos principalmente de quitina (Sánchez-Silva y Navarrete, 1993). La biodegradación de la quitina depende de la destrucción de la estructura cristalina de la molécula mediante modificaciones químicas, además de la introducción de sitios aniónicos (Tokuva, 1988). Tales derivados quitínicos poseen propiedades biológicamente importantes. En los organismos animales existen varias glucosidasas que permiten la biodegradación de estas

moléculas. por lo que se ha pensado en la aplicación de la quitina en materiales biomédicos. una vez que se le hayan aplicado modificaciones tan simples como la desacetilación o la carboximetilación.

Los pigmentos presentes en el cefalotórax de camarón se encuentran asociados a proteína, quitina y sales minerales formando un complejo estable llamado carotenoproteínas. La asociación de proteína-quitina es covalente. en tanto que la asociación de los pigmentos es no covalente. Se piensa que los carotenoides presentes en el camarón están combinados con los grupos amino de la quitina mediante enlaces de tipo base de Schiff. Durante las operaciones para obtener quitosana este enlace no es atacado y. por lo tanto, la quitosana aún conserva su color (**Muzzarelli, 1977**). Los pigmentos que se encuentran conformando a las carotenoproteínas forman parte del grupo de las xantófilas (forma oxidada de los carotenos) de los cuales la astaxantina y cantaxantina son los pigmentos responsables de teñir los plumajes de algunas aves como el flamenco y los tejidos de especies acuícolas como el salmón, trucha arcoiris, truchas salmonadas, entre otras. Estas especies no pueden sintetizar "de novo" estos pigmentos, por lo que deben de ser adicionados en su alimentación cuando no se encuentran en su hábitat natural. Por lo tanto, estos pigmentos se han utilizado principalmente para conferir color a la parte "carnosa" de muchas especies acuícolas, como las truchas arco iris y los salmones, aumentando así su valor comercial (**Meyers, 1977; Simpson y Haard, 1985**). El origen

natural de este pigmento ha llamado poderosamente la atención, siendo actualmente sujeto de numerosas investigaciones con el fin de elevar su aprovechamiento.

En cuanto a las proteínas, estudios preliminares indican que constituyen aproximadamente el 50% del peso seco del cefalotórax del camarón. La secuencia de aminoácidos que conforma las proteínas del cefalotórax incluye a todos los aminoácidos esenciales, siendo especialmente rica en los ácidos glutámico (91.2 mg/g) y aspártico (63.4 mg/g). La proporción en relación al contenido de proteína de los aminoácidos indispensables que están presentes es la siguiente: treonina 5.38, metionina 2.62, valina 5.42, fenilalanina 4.83, isoleucina 4.68, leucina 7.05, lisina 6.71 y triptofano 1.17 (**Simpson y Haard, 1985**). Estas proteínas han sido utilizadas como fuente alimenticia en platillos típicos y para preparar medios de cultivo para microorganismos.

Los componentes restantes del cefalotórax de camarón son las sales minerales (carbonatos y fosfatos) y las sustancias volátiles y no volátiles responsables del peculiar aroma y sabor del camarón. Al parecer la separación de estos componentes no resulta atractiva desde el punto de vista comercial y por ello no se les ha dado importancia.

El presente trabajo monográfico forma parte de un proyecto global que permite el aprovechamiento de los subproductos de la industria camaronícola, evitando así la generación de sustancias contaminantes. Después de realizar un análisis de factibilidad

técnica de las diferentes propuestas que permiten la extracción de pigmentos del cefalotórax de camarón, se seleccionó al proceso óptimo desde el punto de vista de calidad química.

1.2 OBJETIVOS

A lo largo de los últimos años, se han desarrollado diversos procesos alternativos que permiten obtener los diferentes componentes del cefalotórax de camarón. Sin embargo, se requiere hacer un análisis de factibilidad técnica para conocer al mejor proceso. En esta ocasión, sólo se estudiaron los procesos que permiten extraer los pigmentos de esta nueva materia prima. Los objetivos a seguir fueron:

- Determinar cuál de los dos procesos que se han trabajado en el laboratorio para la extracción de pigmentos del cefalotórax del camarón es el mejor método desde el punto de vista de calidad química.
- Hacer una propuesta de factibilidad técnica de acuerdo al proceso óptimo para la extracción de pigmentos de cefalotórax de camarón.



2.1 PROBLEMÁTICA DE LA INDUSTRIA CAMARONÍCOLA EN MÉXICO

2.1.1 Panorama general de la industria pesquera nacional

México es un país que cuenta con una extensa zona litoral rica en diversas especies marinas, que le permite ser un rubro económico importante para su desarrollo.

La industria acuícola en México ha tenido un notable crecimiento en los últimos años, alcanzándose para 1994 una producción total de 1,260,019 toneladas (peso vivo) (Sepesca, 1994).

Tabla 1. Volumen de producción nacional pesquera de 1984-1994

AÑO	PESO VIVO (Ton)	PESO DESEMBARCADO (Ton)
1984	1,134,592	992,694
1985	1,255,588	1,099,046
1986	1,357,000	1,176,859
1987	1,464,841	1,280,882
1988	1,394,175	1,236,886
1989	1,519,882	1,336,416
1990	1,447,143	1,288,510
1991	1,453,276	1,281,623
1992	1,246,425	1,133,657
1993	1,191,600	1,006,768
1994	1,260,019	1,143,467

Fuente: Sepesca, 1994

La captura del camarón está entre las actividades pesqueras más antiguas del país. Si bien los primeros datos nacionales de las pesquerías se consignan a partir de 1947, la continuidad de la información se mantiene parcialmente por medio de estimaciones y es hasta los años setenta cuando se empieza a tener información más real de esta actividad (de la Lanza y col., 1993)

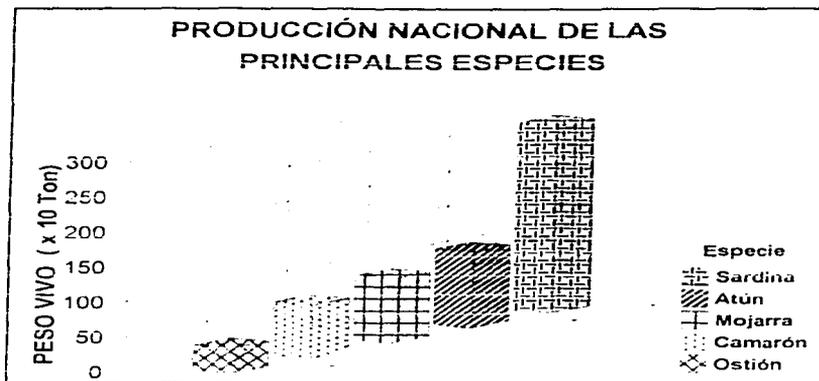
Actualmente la industria camaronera ocupa en nuestro país el cuarto lugar dentro de las pesquerías de mayor volumen de producción, representando el 6% de la producción total. Le anteceden la sardina, los túnidos y la mojarra (Tabla 2 y Figura 1).

Tabla 2. Orden de producción nacional de las principales especies en 1994

ESPECIE	PESO VIVO (Ton)	PESO DESEMBARCADO (Ton)
TOTAL	1,260,019	1,143,407
Sardina	269,252	215,401
Atún	109,496	109,405
Mojarra	92,891	88,551
Camarón	76,324	59,482
Ostión	36,699	35,870
Sargazos	32,456	29,506
Tiburón	23,824	21,225
Carpa	23,720	20,348
Pulpo	17,801	17,783
Jaiba	15,980	15,682

Fuente: Sepesca 1994

Figura 1. Producción nacional de las principales especies para 1994



Fuente: Sepesca, 1994

2.1.2 Localización de la industria camaronícola en México

En México, las principales regiones dedicadas a esta actividad se localizan en el litoral del Pacífico que incluye a los estados de Baja California, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Guerrero, Oaxaca y Chiapas; y el litoral del Golfo y Caribe que incluye a los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo. Los principales puertos camaronícolas se localizan en Mazatlán, y Topolobampo, Sin., Tampico, Tamps., Guaymas y Puerto Peñasco, Son., Campeche, Camp., Salina Cruz, Oax., Chiapas, Chiap. y Veracruz.

De acuerdo a los datos reportados en 1994, de las 76,324 toneladas de camarón, el 70% se produjo en los litorales del Pacífico y el restante 30% pertenece a la producción en el litoral del Golfo y Caribe (Tabla 3).

Tabla 3. Volumen de producción de camarón en peso vivo por litoral para 1994

LITORAL	PRODUCCIÓN (Ton)
TOTAL	76,324
Pacífico	54,021
Golfo v Caribe	22,303

Fuente: Sepesca, 1994

Tabla 4. Producción de camarón en peso vivo por principales entidades federativas en 1994

ENTIDAD	PRODUCCION (Ton)
Sinaloa	27,128
Sonora	14,215
Tamaulipas	12,648
Campeche	7,199
Oaxaca	4,586
Chiapas	4,536
Veracruz	914
Otras	5,086
TOTAL	76,324

Fuente: Sepesca, 1994

2.1.3 Producción nacional de camarón

La producción de camarón en los últimos 10 años, se ha mantenido prácticamente sin grandes variaciones. En la tabla 5 se presentan los datos de la actividad pesquera de camarón, traducidos en términos de producción nacional, producción acuícola y volumen e ingresos obtenidos por las exportaciones del producto.

Tabla 5. Producción y exportación nacional de camarón (1984-1994)

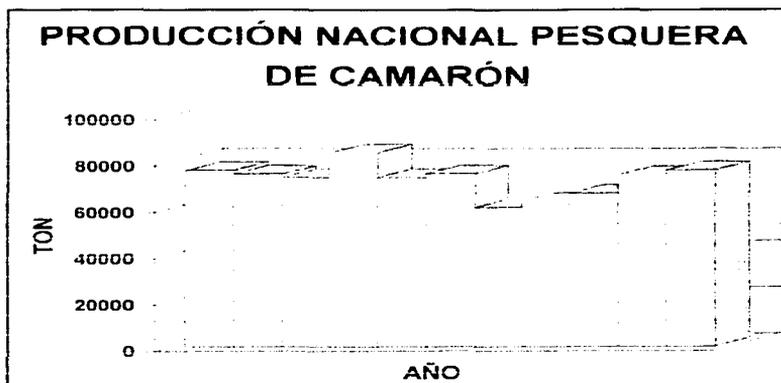
AÑO	PRODUCCIÓN NACIONAL DE CAMARÓN	PRODUCCIÓN ACUÍCOLA DE CAMARÓN	VOLUMENES DE EXPORTACIÓN DE CAMARÓN	VALOR DE LAS EXPORTACIONES DE CAMARÓN	
	(Ton)	(peso vivo, ton)	(Ton)	PROD. PESQUEROS	ESPECIES
				(Miles de dólares)	
1984	76,114	-	33,697	402,061	453,316
1985	74,599	35	30,500	328,768	392,396
1986	73,215	43	31,178	354,083	477,326
1987	83,882	280	35,457	435,128	580,582
1988	73,200	551	28,517	370,838	545,124
1989	74,804	2846	25,922	338,873	523,677
1990	60,310	4960	21,267	276,471	447,394
1991	62,833	4969	21,070	263,450	454,230
1992	66,215	8326	17,349	205,608	383,577
1993	74,361	10125	21,458	267,118	422,788
1994	76,324	13138	28,836	309,261	468,664

Fuente: Secretaría de Pesca, 1994

En la **figura 2** se muestra una gráfica de la producción nacional de camarón con base en los datos anteriores. Se puede observar que el año de mayor producción fue 1987 (83,882 ton) y que ésta disminuyó en 1990 y 1991, alcanzando una paulatina recuperación en 1992 y 1993. Entre 1993 y 1994, se tuvo únicamente un incremento del 3% de la producción, que en el último año le permitió a México obtener ingresos por cerca de 309 millones de dólares por exportaciones.

A pesar de que se esperaba que en cada año se incrementara la producción, la industria camaronícola atraviesa por una etapa difícil, que ha limitado su desarrollo y que cada vez tiene una mayor competencia internacional.

Figura 2. Producción nacional de camarón durante el periodo de 1984-1994



Fuente: Sepesca. 1994

2.1.3.1 Producción nacional acuícola de camarón

De toda la producción de camarón en los últimos años, un porcentaje importante corresponde al cultivo en granjas. En la década de los ochenta, países como Ecuador se convirtieron en importantes productores de camarón a nivel mundial gracias a esta actividad (**Servicio de Actualización Pesquera, 1990**).

La superficie potencial disponible para la camaronicultura en México es de aproximadamente 335.000 hectáreas, distribuidas en ambos litorales. En la **tabla 6** se presenta la superficie potencialmente disponible para esta actividad, distribuida por estados. Las mejores condiciones para el cultivo de camarón en México, están representadas por terrenos salinos, adenaños a los esteros y lagunas costeras, las cuales presentan condiciones de inundación estacional. Esta superficie disponible, que aún no se aprovecha ni en el 1% se ha seleccionado en la áreas que reúnen las mejores condiciones de cultivo con un mínimo de inversión (**Peña, 1987**).

Tabla 6. Superficie potencialmente disponible para la camaronicultura en México

ESTADO	SUPERFICIE (Hectáreas)
Sinaloa	100.000
Nayarit	92.000
Oaxaca	50.000
Sonora	40.000
Chiapas	15.000
Veracruz	15.000
Campeche	10.000
Tamaulipas	5.000
Baja California Sur	3.000
Colima	3.000
Tabasco	1.500
Baja California	1.000
TOTAL	335.000

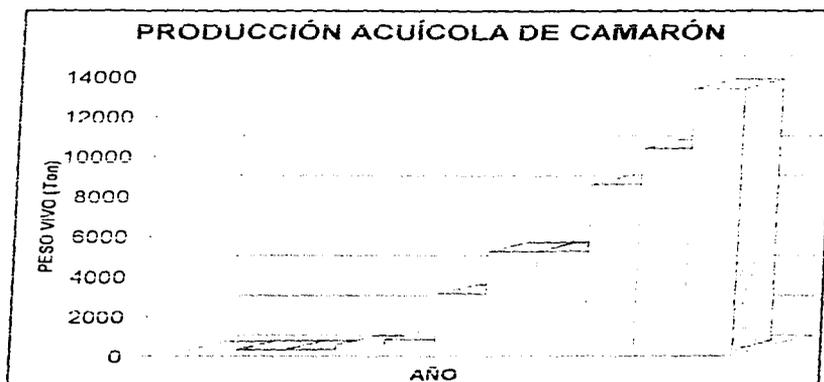
Fuente: Barrera, 1987

En México el cultivo de camarón en granjas empezó su verdadero ascenso hace 5 años. Entre 1993 y 1994, el cultivo pasó de 10.125 a 13.138 toneladas (cerca de 30%), siendo éste, el único rubro acuícola que tuvo un aumento de producción. A fines de 1994, se contaban con 286 granjas camaronicolas en el país, lo que lo ubica entre los 15 primeros productores de camarón de granja a nivel mundial y el tercero en América Latina y con grandes expectativas de mejorar (Hernández, 1994).

En la figura 3 se muestra la producción acuícola de camarón con base en los datos de la tabla 5. Se puede apreciar el rápido desarrollo de esta actividad en los últimos años; en donde actualmente representa cerca del 17,2% de la producción total de camarón. Es

importante mencionar que el sistema de acuicultura corresponde al método denominado por sistemas controlados.

Figura 3. Producción acuícola de camarón en el periodo de 1984-1994



Fuente: Sepesca, 1994

2.1.4. Exportaciones de camarón

Las exportaciones de camarón representan una importante fuente de divisas para el país. Por ejemplo, para el año de 1994 se obtuvieron 468,664 miles de dólares por las exportaciones de los productos pesqueros; de los cuales el camarón aportó un valor de 309,261 miles de dólares, representando más del 60% (Tabla 7 y figura 4).

Tabla 7. Valor de las exportaciones de productos pesqueros para 1994

ESPECIE	VOLUMEN (Ton)	VALOR (Miles de dolares)
TOTAL	87.435	468.664
Camarón	28.836	309,261
Túñidos	9.302	28.131
Langosta	1.263	21.751
Algas y Sargazos	29.653	16.309
Abulón	796	12.870
Pieles	2	106
Otras comestibles	14.300	75.065
Otras no comestibles	3.283	5.162

Fuente: Banco de México, 1994

Figura 4. Porcentaje de aportación al valor comercial que generan las diferentes especies en las exportaciones nacionales



Fuente: Sepesca, 1994

Si se observan los datos que se manejan del valor comercial de los últimos años (Tabla 5), se tiene que el valor de las exportaciones de camarón ha venido disminuyendo desde 1988, lográndose una ligera recuperación en 1994 (figura 5). Esto se debe principalmente, a que a diferencia de nuestro país, otras naciones han aumentado su producción de camarón aumentando la oferta del producto y generando que se baje el costo de venta del camarón nacional. Por lo tanto, es importante crear nuevos proyectos en acuicultura que permitan generar ingresos en el futuro, superiores a los 300 millones de dólares, gracias a las exportaciones de camarón cultivado (Hernández, 1994).

Figura 5. Valor de las exportaciones de camarón en el periodo 1984-1994



Fuente: Sepesca, 1994

2.1.5 Residuos generados en la industria camaronícola nacional

Observando las tablas y gráficas anteriores se muestra el gran significado que tiene el camarón para México. Además, la industria camaronícola es un sector en el cual se está trabajando arduamente para mejorar los niveles de captura y de producción en las granjas camaronícolas.

La mayoría del camarón que se produce se utiliza para exportarlo a países como Estados Unidos, Japón o Canadá. Para comercializarlo en el extranjero, por lo general al camarón se le quita la cabeza y se congela inmediatamente para mantener su frescura. Por otra parte, el camarón de consumo nacional también en su mayoría se vende congelado con o sin cabeza. Sólo una pequeña proporción del camarón se utiliza para procesarlo ya sea enlatado, salado o para la industria productora de harina de pescado.

Por lo que, independientemente de su vía de consumo, sólo se aprovecha cerca del 50% del peso del camarón que corresponde al abdomen; siendo el 50% restante el cefalotórax, mejor conocido como la cabeza, un desperdicio.

En nuestro país, solo una mínima parte del cefalotórax se deja secar y moler para poder ser utilizado con fines culinarios. La gran mayoría se desecha en altamar y, por su volumen, causa daño al ecosistema, porque se requiere de una gran demanda bioquímica de oxígeno (DBO), para que los microorganismos utilicen la materia orgánica presente.

limitándose la cantidad de oxígeno disuelto en el medio que provoca la muerte de la fauna marina por asfixia. En el caso de los cultivos camarónicas, tampoco se aprovecha el cefalotórax y, en vez de contaminar el mar, se contaminan los suelos de las zonas aledañas a las áreas de cultivo, con el consiguiente deterioro ambiental y proliferación de fauna nociva.

Por lo tanto, si se considera la producción anual promedio de 70,000 toneladas se tendría una generación cercana de 35,000 a 60,000 toneladas anuales de desechos, que generan un gran daño al medio ambiente.

El aprovechamiento de estos residuos significaría darle un importante valor agregado a este subproducto que favorecería en todos aspectos a la población ligada a la captura, cultivo y comercialización del camarón. Por lo tanto, se requiere desarrollar y proponer nuevas tecnologías que permitan aprovechar los diferentes componentes del cefalotórax del camarón .

2.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL CEFALOTÓRAX DEL CAMARÓN

Como se puede apreciar en la **tabla 8**, el cefalotórax de camarón tiene una cantidad significativa de proteínas (47.70%) y un alto contenido de fibra cruda y cenizas que corresponden a la quitina y a las sales minerales, respectivamente (**Mathur y Narang, 1990**).

Tabla 8. Análisis proximal del cefalotórax de camarón (% base seca)

COMPONENTE	PORCENTAJE (% BASE SECA)
Proteína cruda	47.70
Cenizas	28.86
Fibra cruda	19.35
Grasa	4.63
Carbohidratos asimilables	2.47

Fuente: Agricultural Handbook 1975

Entre la fracción de lípidos se encuentran, además de las sustancias liposolubles responsables de aroma y sabor típicos del camarón, unos pigmentos de tipo carotenoide, responsables en parte del color que presenta el camarón o que presentará luego de su cocción. Todos estos componentes elevan el potencial de aprovechamiento del camarón y merecen ser estudiados.

A continuación se describen las características relevantes de los pigmentos, proteínas, sales minerales, quitina y quitosana, que se pueden obtener a partir del cefalotórax de camarón.

2.2.1 Pigmentos

Los pigmentos carotenoides que se encuentran en el cefalotórax de camarón presentan estructuras muy parecidas entre sí, que globalmente se conocen como astaxantinas. En la fig.6 se muestran algunos de ellos. Las primeras tres estructuras corresponden a los estereoisómeros de la astaxantina, y la restante, a la cantaxantina (Foss y col., 1984). Otro carotenoide presente es el astaceno, considerado como el producto oxidativo de la astaxantina (Meyers y Bligh, 1981; Chen y Meyers, 1982a).

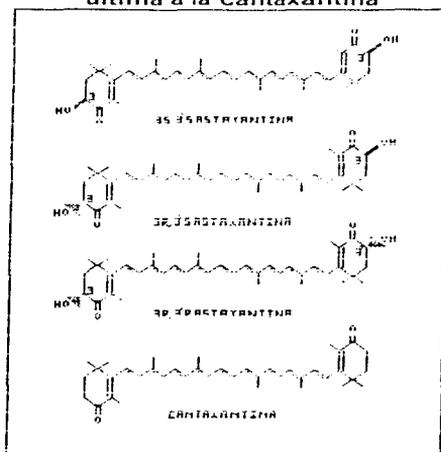
En un estudio acerca del contenido de pigmentos en desechos de cangrejos, se lograron extraer 150 µg/g de muestra que, por estudio cromatográfico, se separaron en 49.4% de astaxantinas esterificadas, 40.3% de astaxantinas sin esterificar y 10.3% de astaceno (Meyers y Bligh, 1981). Además de estar esterificadas, las astaxantinas se presentan combinadas con proteínas en varios crustáceos, entre ellos el camarón. Diversos trabajos han demostrado que los cambios de color en estos productos son inducidos por el calor, oxidación, deshidrogenación, disolventes orgánicos y otros agentes desnaturizantes (Chen y Meyers, 1982b). Los mismos autores concluyen que la cantidad de astaxantina extraída depende del sistema de extracción empleado y que la calidad depende del calor, exposición al oxígeno atmosférico y exposición a la luz, es decir, de las condiciones de procesamiento y almacenaje.

Para extraer el pigmento, el principal obstáculo lo constituye la unión con las proteínas. En estado natural, hay una mutua interacción entre proteínas y carotenos que aumenta la estabilidad de los últimos. Si esta unión se debilita o se rompe, por ejemplo en el secado, entonces la estabilidad de los carotenos decrece. Por esta razón, el precalentamiento de las muestras favorece la extracción de pigmentos (**Chen y Meyers, 1982a; 1982b**). Estos mismos autores probaron la aplicación de enzimas proteolíticas para remover la unión de proteínas y pigmentos, mejorando el rendimiento en un 58%. En otro estudio se utilizaron proteasas bacterianas para separar el complejo caroteno-proteína de la quitina, logrando con ello obtener pigmentos enriquecidos con proteínas (**Simpson y Haard, 1985**)

Se han probado otros sistemas de extracción, tales como acetona, éter de petróleo, aceite de soya, mezclas de éter de petróleo-acetona-agua y acetona-ciclohexano (**Kelley y Harmon, 1972; Meyers y Bligh 1981; Chen y Meyers, 1982b**). Para el caso de la extracción con aceite de soya, la cantidad de astaxantinas extraídas a partir de desechos de cangrejos de mar resultaron ser mayores a las extraídas por otros métodos. Se probaron adicionalmente el efecto de antioxidantes, Endox y Ethoxyquin, sobre muestras secas, sólo el Endox resultó ser efectivo debido a que contiene EDTA como agente quelante que bloquea la acción catalizadora del hierro durante la autooxidación de la astaxantina (**Chen y Meyers, 1982b**).

Entre las aplicaciones de las astaxantinas, se puede mencionar su empleo como indicadores de las condiciones de procesamiento, almacenaje y calidad de los camarones (Kelley y Harmon, 1972). Por otro lado, considerando que las astaxantinas son los principales carotenoides en muchas especies acuáticas y que no pueden ser sintetizadas por truchas, salmones y otros animales, es necesario incluirles en su dieta este tipo de pigmentos (Chen y Meyers, 1982a; Foss y col., 1984; Fang y Cheng, 1993). Se encontró que la astaxantina está libre en el tejido muscular de los peces, mientras que en la piel está fija y en forma de diéster (Choubert y Luquet, 1983). El problema con las astaxantinas no es precisamente la concentración de pigmentos presentes en el alimento, sino la absorción en el aparato digestivo del animal que las ingiere. Esta situación determina la preferencia de los acuicultores por el pigmento natural sobre el sintético (Choubert y Luquet, 1983; Fang y Chen, 1993).

Figura 6. Principales pigmentos encontrados en el cefalotórax de camarón. Las tres primeras estructuras corresponden a los isómeros ópticos de la astaxantina y la última a la cantaxantina



Fuente: Foss y col., 1984.

2.2.2 Sales minerales

Después de las proteínas, el segundo componente más abundante lo constituyen las sales minerales, principalmente fosfatos y carbonatos de calcio. Estas sustancias se encuentran asociadas a la quitina y las proteínas, dándole al animal la rigidez que lo caracteriza (Broussignac, 1968). Para removerlas, se han utilizado diversos disolventes entre los que se pueden mencionar al ácido clorhídrico y al ácido acético al 50% (Meyers y Bligh, 1981). Al incrementar la concentración de ácido, la desmineralización también

aumenta, pero se afecta negativamente a la viscosidad del biopolímero residual (Madhavan y Ramachandran, 1974) Apparently, the mineral salts do not represent a subproduct of economic interest

2.2.3 Proteínas

In table 8 it was observed that proteins represent almost 50% of the dry weight of the shrimp cephalothorax. In table 9 the composition of amino acids of the protein present in shrimp waste is presented.

Tabla 9. Composición de aminoácidos de proteínas provenientes de desechos de camarón

AMINOÁCIDO	CONTENIDO (mg/g)
Ácido glutámico	91.2
Ácido aspártico	63.4
Leucina	44.6
Arginina	37.2
Lisina	36.4
Alanina	31.2
Fenilalanina	26.9
Serina	26.7
Valina	26.1
Treonina	25.3
Glicina	25.3
Tirosina	21.4
Prolina	20.3
Isoleucina	19.2
Metionina	16.8
Histidina	11.2
TOTAL	523.2

Nota: El triptofano se destruye durante la hidrólisis
Fuente: Toma y Meyers, 1975

La extracción química de proteínas del cefalotórax de camarón implica un tratamiento con NaOH y calor. Las proteínas se pueden recuperar del filtrado proveniente de dicho proceso, si son centrifugadas, ajustadas a un pH de 4.5 con HCl, centrifugadas por segunda vez y secadas en un horno con vacío a 50°C durante 8 horas (No y col., 1989). La recuperación de proteínas de los desechos de camarón requieren sólo que se neutralice el medio, lo cual a la vez facilita la formación de sales en la proteína recuperada (Muzzarelli, 1977).

Queda también la alternativa de utilizar enzimas proteolíticas que permitan extraer las proteínas sin dañar a los aminoácidos ni a la quitina, pues en dicho polímero existen algunos grupos amino libres, las cuales forman grupos conjugados de tipo complejo iónico o enlaces covalentes con las proteínas (Mathur y Narang, 1990).

Teóricamente, al tratar de separar este complejo quitina-proteína del cefalotórax de camarón mediante la hidrólisis enzimática, se tendrá un rompimiento gradual de los enlaces peptídicos que permita que la proteína se desprenda del complejo quitínico y se solubilice en el medio de reacción, quedando un polisacárido menos dañado, ya que las enzimas no lo atacan.

Las proteínas y péptidos pueden ser utilizados en la alimentación de humanos o animales y para la formulación de medios de cultivo (Bough y col., 1978a).

2.2.4 Quitina y quitosana

2.2.4.1 Generalidades y fuentes

La quitina es, por mucho, el componente de mayor importancia en el cefalotórax de camarón. Fue descrita por primera vez en 1811 por H. Braconnot, al estudiar la composición de hongos como *Agaricus volvaceus* con álcali, aislando una sustancia nitrogenada a la cual llamó "fungina". En 1823, A. Odier descubrió la misma sustancia en la estructura de algunos insectos, dándole el nombre de quitina (palabra derivada del griego que significa túnica o envoltura). Posteriormente, se encontró que ambas sustancias eran la misma y que se encontraban presentes en otros organismos como levaduras, hongos, bacilos, insectos y algunos crustáceos, siendo estos últimos, su fuente principal. Sin embargo, fue hasta 1878 cuando se indicó que estaba compuesta por glucosamina y ácido acético, estableciéndose finalmente en 1943 que la quitina es un polisacárido acetilado de la glucosamina (Muzzarelli, 1977)

La quitina es un carbohidrato presente en muchos organismos: hongos, levaduras, diatomeas, pared celular de plantas (junto o sustituyendo a la celulosa), insectos, artrópodos, crustáceos, entre otros (Muzzarelli, 1977; Berkley, 1979; Knorr, 1984; Mathur y Narang, 1990). Sin embargo, actualmente la fuente principal de quitina la constituyen los crustáceos como el camarón y el cangrejo (Mathur y Narang, 1990). Pero

como puede apreciarse en las tablas, hay varias fuentes naturales de quitina que podrían llegar a utilizarse en caso de aumentar la demanda (Tablas 10 y 11)

Tabla 10. Fuentes actuales y futuras de quitina y quitosana

MARISCOS	INSECTOS	MICROORGANISMOS
Langosta *	Escorpiones	Hongos
Cangrejo *	Arañas	Levaduras
Camarón *	Hormigas	Algas verdes y pardas
Krill	Cucarachas	Esporas
Otros crustáceos	Escarabajos	Diatomeas

Nota * Fuentes comerciales actuales
Fuente: Mathur y Narang, 1990

Tabla 11. Fuentes potenciales de quitina a nivel mundial

PRODUCTO	DESECHOS (B.S)		QUITINA	
	10 Ton métricas		10 Ton métricas	
Crustáceos		154		39
Krill		801		56
Almeja y ostra		482		22
Calamari		21		1
TOTAL		1458		118

Fuente: Knorr, 1991

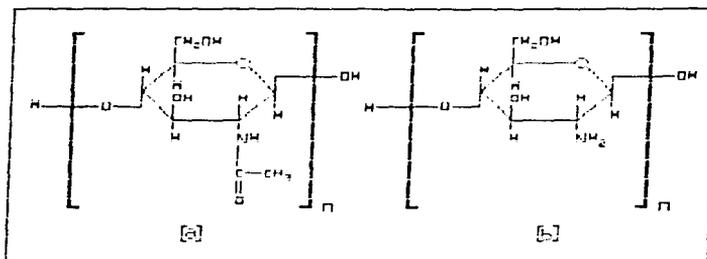
La obtención de quitina a partir de desechos de algunos crustáceos, como el camarón y el cangrejo, consiste básicamente en dos etapas: desproteinización y desmineralización (Bough y col., 1978a).

La quitosana fue descubierta en 1859 por Rouget al hervir quitina con KOH, convirtiéndose en una sustancia soluble en ácidos orgánicos. Le llamó "quitina modificada". La quitosana es obtenida comercialmente mediante una desacetilación alcalina de la quitina (Muzzarelli, 1977). Se han propuesto muchos tratamientos; pero el más estudiado indica que se obtienen buenos resultados si la quitina es sometida a la acción del NaOH al 50% a temperatura de ebullición y por un periodo de 3 horas (Bough y col., 1978a; Pelletier y col., 1990). La calidad de la quitosana es determinada por las condiciones de desacetilación empleadas (Broussignac, 1968; Bough y col., 1978b; Muzzarelli, 1977; Wu y col., 1978).

2.2.4.2 Estructura y propiedades

El nombre químico de la quitina es poli--(1,4)-N-acetil-D-glucosamina, un biopolímero similar a la celulosa, distribuido ampliamente en la naturaleza, donde ocupa el segundo lugar en abundancia. En la **figura 7** se presentan las estructuras de este polisacárido y de la quitosana, su derivado (Austin y col., 1981).

Fig. 7 Estructura química de la quitina (a) y la quitosana (b)



Fuente: Campa, 1994

La quitina se presenta en tres formas polimórficas: α , β y γ , que difieren en el arreglo de las cadenas moleculares. La α quitina presenta cadenas antiparalelas y es la más compacta y cristalina. La β presenta cadenas paralelas y es la más vulnerable. La γ quitina presenta dos cadenas arriba y una abajo siendo la menos abundante. La explicación en cuanto a la cristalinidad y resistencia al tratamiento térmico, se debe a los puentes de hidrógeno que se forman entre cadenas (Muzzarelli, 1977; Mathur y Narang, 1990).

Las quitosanas son una familia de polímeros derivados de la quitina que han sido lo suficientemente desacetilados para ser solubles en soluciones ácidas diluidas, es decir, las quitosanas, a diferencia de las quitinas, están parcialmente desacetiladas (Broussignac, 1968; Muzzarelli, 1977).

En la tabla 12 se presentan algunas propiedades fisico-químicas de la quitina y la quitosana.

Tabla 12. Propiedades fisico-químicas de la quitina y quitosana

CARACTERÍSTICA	QUITINA	QUITOSANA
Composición ideal	CHON	CHON
Contenido de nitrógeno (%)	6-7	7 - 9.5
Humedad (%)	2- 10	2 - 10
Desacetilación (%)	10	60 - 80
Peso molecular (daltons)	1-5 x 10	1.5x 10
Viscosidad (cP)	insoluble	250-2500

Fuente: Mathur y Narang 1990

La quitina es un sólido de color blanco translúcido, prácticamente insoluble en agua, ácidos diluidos, álcalis concentrados o diluidos y solventes orgánicos; los ácidos inorgánicos concentrados la degradan (Broussignac, 1968). La quitina y la quitosana sufren degradación a altas temperaturas: no pueden resistir temperaturas mayores a 100-120°C. La descomposición térmica de la N-acetil-D-glucosamina, alcanza su valor máximo alrededor de los 200°C. En la cocción, la β -quitina se degrada más rápido que la α -quitina debido a que permite una mejor penetración de agua entre sus cadenas (Muzzarelli, 1977). En general, las propiedades de la quitina varían con la fuente y el método de preparación (Austin y col., 1981).

La quitosana es soluble en soluciones acuosas de ácidos orgánicos e inorgánicos, al igual que en soluciones alcohólicas ácidas. Es insoluble en agua, soluciones alcalinas y solventes orgánicos puros. Es muy estable y poco sensible a la humedad; se descompone a temperaturas mayores a 185°C. La viscosidad que presenta en soluciones de ácido acético es dependiente del tiempo de tratamiento para su desacetilación (**Muzzarelli, 1977; Pelletier y col., 1990**) Las características de la quitosana dependen de los grupos acetilo residuales, con la aclaración de que la desacetilación tiene un límite superior del 85%. Sus características finales dependen de los reactivos, concentraciones, tiempo y temperatura empleados durante su proceso de manufactura (**Bough y col., 1978a**)

La quitosana empieza a precipitar a valores de pH mayores a 5.8 (**Broussignac, 1968**). Además, forma numerosas sales, por ejemplo: acetato, acrilato, benzoato, citrato, glicolato, lactato, malato, piruvato y tartrato, por citar las más comunes. Todas las sales son solubles en agua, excepto el cromato, tungstato, sulfato, picrato y molibdato. Para preparar una de estas sales es necesario agregar al medio el ácido correspondiente. La formación de sales es un método útil para purificar la quitosana de material extraño como residuos, proteínas y gomas (**Nud'ga y col., 1970**).

En la **tabla 13** se presentan las propiedades catiónicas que posee la quitosana cuando se encuentra solubilizada en un medio ácido diluido.

Tabla 13. Propiedades catiónicas de la quitosana

<p>Poliectrolito lineal Alta densidad de carga Excelente floculante Adherencia a superficies cargadas negativamente Afinidad con proteínas estructurales como el cabello y piel Quelante iónico de metales (Fe, Cu) Quelante de metales tóxicos (Cd, Hg, Pb, Cr, Ni) Quelante de radionúclidos (Pu, U)</p>
--

Fuente: Sandford, 1989

En la **tabla 14** están las propiedades de importancia industrial de la quitina y la quitosana.

Tabla 14. Propiedades de importancia industrial de la quitina y la quitosana

<p>Componentes principales de biomásas tales como caparazón de cangrejo y camarón Proviene de recursos naturales biológicamente reproducibles Biodegradables y no contaminantes del ambiente natural Biocompatibles no sólo con tejido animal, sino también con vegetal Biopolímeros (aminopolisacáridos) Baja toxicidad (DL50 16 g/kg de peso en ratones) Biológicamente funcionales Intercambiables en la conformación molecular Aptos para la manufactura de geles, fibras, coloides, películas, etc Contienen grupos amino e hidroxilo, químicamente modificables</p>

Fuente: Hirano, 1988

2.2.4.3 Usos

A) Alimentos

Son agentes para tratar sistemas acuosos; esto incluye la reducción de sólidos totales, recuperación de proteínas, purificación de bebidas (agua, jugos, cerveza, vinos, etc.) y remoción de sustancias indeseables como metales pesados, plaguicidas, etc (Bough y Landes, 1978; Knorr, 1984 y 1991). Además de reducir la turbidez a cero, la quitosana redujo también la cuenta microbiana al ser utilizada para tratar jugo de manzana inoculado con bacterias gram positivas y gram negativas (Soto-Peralta y col., 1989; Popper y Knorr, 1990). Como ya se mencionó la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), aprobó el uso de la quitosana para la purificación de agua potable hasta una concentración máxima recomendada de 10 mg/L (Knorr, 1984)

Gracias a sus propiedades funcionales, controlan la textura, la estabilidad, el flujo de otros ingredientes, dan volumen, controlan la viscosidad e incrementan el contenido de fibra dietética (Knorr, 1984). Dado que la quitina y quitosana no se absorben, han sido empleadas como acarreadores de enzimas, células, pigmentos, sabores y nutrimentos. También como medios de atrapamiento que permiten la liberación controlada de ingredientes concentrados, sabores, nutrimentos, agentes antimicrobianos y sustancias agroquímicas (Knorr, 1983 y 1984).

La actividad antiolesterolémica detectada en la quitosana, ha permitido su incorporación como ingrediente en algunos alimentos como galletas y pastas dietéticas (Hirano, 1988)

B) Medicina

Propiedades importantes de la quitosana como su biocompatibilidad, ausencia de toxicidad, capacidad para absorber líquidos, formación de películas y unión selectiva a ciertos lípidos como el colesterol, le han permitido tener grandes aplicaciones en el área médica. Se puede mencionar su capacidad como cicatrizante, hemostático, antiolesterolémico y formador de sistemas para la liberación controlada de fármacos. También se ha usado en la elaboración de hilos de sutura y la fabricación de lentes de contacto (Sandford, 1989) En Japón, se ha probado con éxito la implantación de piel artificial hecha a base de quitosana y colágeno (Hirano, 1988).

C) Cosmetología

En esta industria, la quitina, quitosana y sus derivados, se utilizan para la elaboración de cosméticos dérmicos, capilares y pastas dentales. La quitosana despolimerizada es utilizada como ingrediente en "shampúes", enjuagues y tónicos capilares debido a que su solución acuosa es viscosa, forma una película, retiene la humedad y da suavidad al cabello (Hirano, 1988; Sandford, 1989).

D) Agricultura

La quitosana tiene la aprobación de la EPA para ser usada como recubrimiento de semillas. Esta técnica permite mejorar la producción en el campo ya que incrementa su viabilidad. También ha sido aprobada como un agente floculante para recuperar residuos proteínicos de desechos en plantas elaboradoras de alimentos. Actualmente se trata de aplicar a la quitosana en la elaboración de productos que permitan la liberación controlada de plaguicidas y herbicidas. La quitosana puede ser adicionada a los cultivos para estimular el desarrollo de cierto tipo de microorganismos benéficos para la agricultura (**Sandford, 1989**). La quitosana tiene efectos antimicrobianos que pueden ser aprovechados en el empaque de vegetales y frutas altamente perecederos (**Hirano, 1988**).

E) Biotecnología

Debido a su naturaleza no tóxica, biocompatibilidad, versatilidad y propiedades únicas, la quitosana se utiliza comercialmente para inmovilizar enzimas (por ejemplo glucosa isomerasa) y células (**Sandford, 1989**). Otros usos en este campo se dan en la aplicación de estos polímeros en la remoción de sustancias indeseables (células, enzimas, iones) presentes en los desechos industriales. La quitosana se usa ampliamente para recuperar biomasa y nutrimentos en la industria alimentaria que incluyen vegetales, cárnicos, camarón y leche (**Knorr, 1984**).

F) Tratamiento de aguas residuales

Esta es una de sus principales aplicaciones. La quitosana es un floculante natural que reacciona con polímeros aniónicos para formar complejos polielectrolitos que precipitan y pueden ser prensados, deshidratados y destruidos o aprovechados dependiendo del producto (**Sandford, 1989**). La quitosana también ayuda a remover algunos metales como mercurio, cobre, etc. que causan daños a la agricultura. (**No y Meyers, 1989**). El uso de la quitosana para recuperar compuestos orgánicos provenientes de los residuos de la industria pesquera significa una total integración del proceso, pudiendo generar sólidos coagulados con un uso adicional como aditivos (sabores y colores) o como alimento para animales (**No y Meyers, 1989**).

G) Otros usos

La quitosana ha sido probada en otras áreas como en la industria del papel (**Muzzarelli, 1978**), en cromatografía (**Iwata y Nakabayashi, 1974**), en alimentación animal y como favorecedor del crecimiento de bifidobacterias que permitan la tolerancia a la lactosa (**Austin y col., 1981**).

2.3 OPCIONES DE SOLUCIÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA CAMARONÍCOLA

En el presente, todas las industrias, cualquiera que sea su rama o nivel de producción, deben ser conscientes de la importancia que tiene el cuidado del ambiente y el reciclaje del material de desecho que en ellas se genera

Como se mencionó anteriormente, la industria camaronícola es una rama de vital importancia económica del país, pero con la desventaja que genera un alto volumen de residuos que no se han sabido aprovechar y que por ende están generando daños severos al medio ambiente

Sin embargo, se han realizado diversas investigaciones en las cuales se ha estudiado la composición química que tienen estos desechos, con el fin de proponer vías de canalización que contaminen menos y den un valor agregado a los mismos.

Actualmente, se tienen tres diferentes procesos que se han desarrollado a nivel de laboratorio en los cuales se ha utilizado el cefalotorax del camarón. Cada uno de ellos permite la extracción de alguno de los componentes de la cabeza del camarón, pero no se ha visto un método que permita el aprovechamiento integral de la cabeza de camarón. Dependiendo del tipo de proceso aplicado se han obtenido diversas características de los productos, con rendimientos variados.

Los tres diversos métodos que se han probado son:

- 1) Aprovechamiento del cefalotórax utilizando procesos físico-químicos para la obtención de pigmento y quitina (Cañipa, 1994).
- 2) Aprovechamiento del cefalotórax del camarón para la obtención de quitina por métodos enzimáticos (Escobedo, 1994).
- 3) Aprovechamiento del cefalotórax del camarón para la obtención de carotenoproteínas mediante métodos enzimáticos (García y Sánchez, 1995).

A continuación, se van a mostrar los diferentes procesos que se han probado a nivel de laboratorio en el cual se hace el aprovechamiento del cefalotórax del camarón. Con el fin de dar un panorama general de cada uno de ellos en los cuales se ha tratado de extraer la quitina y los pigmentos de esta nueva materia prima.

2.3.1 Aprovechamiento del cefalotórax utilizando métodos físicoquímicos

En esta primera propuesta se logra la separación de los tres componentes principales del cefalotórax de camarón que son: pigmentos, proteína y quitina a través de la aplicación de métodos físico-químicos (Cañipa, 1994). Es un proceso con etapas consecutivas: obtención de harinas, despigmentación, desmineralización y desproteínización química. En donde, la quitina obtenida es desacetilada para ser convertida en quitosana, su derivado comercial más importante.

El proceso general consiste de las siguientes etapas:

- 1) Obtención de las cabezas de camarón
- 2) Lavado con agua
- 3) Secado

Para el secado de las cabezas se requiere una temperatura aproximada de 80 ± 5 °C durante 8 horas, utilizando un secador eléctrico.

- 4) Molienda

Las cabezas de camarón secadas (11% H), se deben moler para obtener una harina fina, a partir de la cual se le extrae el pigmento y la quitina.

- 5) Tamizado

Se debe obtener una harina con un tamaño de partícula entre 0.42-0.84 mm.

- 6) Extracción del pigmento utilizando disolventes orgánicos

Se ha visto que el mayor rendimiento en la despigmentación se logra al utilizar mezcla de disolventes conformada por éter de petróleo:acetona:agua (15:75:10) con una relación masa:volumen de 1:10 y 3h de contacto a temperatura ambiente, agitación constante a 300rpm y al abrigo de la luz. Con esta extracción se alcanza un valor de 20.5 g de pigmento/100 g de harina. Para mantener estable al pigmento es necesario adicionarle una mezcla al 1% de los antioxidantes BHA y BHT (50%/50%); generándose un efecto protector de los pigmentos de hasta 80% al cabo de 4 semanas.

- 7) Desmineralización química

La desmineralización se realiza con HCl 1N, siendo suficiente un tiempo de 3h, a temperatura ambiente, con una relación m:v de 1:10 y agitación constante a 300 rpm, condiciones que permiten remover el 95% de las sales minerales.

- 8) Desproteínización química para la obtención de quitina

El tratamiento para la desproteínización química consiste en el empleo de NaOH al 4.5%, con una relación m:v de 1:15, durante 3h, a 65°C y agitación constante a 300 rpm, alcanzándose así un 97% de desproteínización. El producto residual

que queda es la quitina, que presenta las siguientes características: sólido en forma de escamas de color rosa con un contenido de 0.51 a 0.65% de cenizas, sin lípidos detectables y con un contenido de nitrógeno de 7.14 a 7.16%.

9) Desacetilación para la obtención de quitosana

Para lograr la conversión de la quitina a la quitosana se requiere la desacetilación que consiste en un tratamiento alcalino empleando NaOH al 50%, a una relación m:v de 1:15, durante 60 min. en atmósfera de nitrógeno, con calentamiento con reflujo a $105 \pm 5^\circ\text{C}$ y con agitación constante a 300 rpm. La quitosana resultante son escamas de color blanco con una ligera tonalidad rosa. Además, presenta las siguientes propiedades: valores de 7.89 a 8.07% de nitrógeno, 0.5% de cenizas, alta solubilidad en ácido acético al 2%, un grado de desacetilación mayor al 64% y una viscosidad superior a 450 cp. Todos estos valores sobrepasan los requerimientos comerciales mínimos.

Al aplicar este proceso, se obtiene un rendimiento del 12% para la quitina y del 11% para la quitosana, a partir de harina entera

2.3.2 Aprovechamiento del cefalotórax del camarón para la obtención de quitina por métodos enzimáticos

En este segundo método, la extracción principal está enfocada a la obtención del biopolímero llamado quitina, en donde, a diferencia de la primer propuesta la desproteínización no es por medio de un tratamiento químico, sino que se aprovecha la acción de una enzima comercial (proteasa) (Escobedo, 1994). La extracción de quitina supone varias etapas de separación, durante las cuales se van eliminando los diferentes componentes del cefalotórax (pigmento, sales y proteína) y de la eficiencia con que se

realice cada una dependerá la pureza con la que al final se obtenga la quitina. Los tratamientos que se llevan a cabo son lo suficientemente eficientes como para liberar la quitina, pero sin ser tan drásticos que lleven a obtener un polisacárido fragmentado, de baja calidad. La ventaja de utilizar una enzima para la desproteínización, es que se controla de mejor manera la separación de la unión proteína-quitina, debido a su especificidad de ataque permitiendo la obtención de moléculas de quitina más largas y enteras.

El proceso general consiste de las siguientes etapas:

1) Obtención de las cabezas de camarón

2) Lavado con agua

Se debe de utilizar la mínima cantidad de agua, con el fin de eliminar las impurezas que tiene adheridas superficialmente

3) Secado

Para el secado de las cabezas se requiere una temperatura aproximada de 80 ± 2 °C durante 12 horas.

4) Molienda

Las cabezas de camarón secadas (8% H), se deben moler para obtener una harina fina, a partir de la cual se le extrae el pigmento y la quitina

5) Tamizado

Se debe obtener una harina con un tamaño de partícula entre 0.48-2.00 mm.

6) Extracción del pigmento utilizando disolventes orgánicos

Para la despigmentación, también se utiliza una mezcla de disolventes formada por éter de petróleo:acetona:agua (15:75:10), con una relación masa:volumen de 1:10 y 3 h de contacto a temperatura ambiente, agitación constante a 150 rpm y al abrigo de la luz.

7) Desmineralización química

La desmineralización se realiza con HCl 1N, siendo suficiente un tiempo de 3h, a temperatura ambiente, con una relación m:v de 1:10 y agitación constante a 150. Finalmente, se adiciona agua a la harina para disminuir la acidez

8) Secado al vacío

La muestra de harina desmineralizada y despigmentada, se seca al vacío a temperatura ambiente. Esta harina queda con el complejo proteína-quitina, que posteriormente es tratada enzimáticamente con una proteasa comercial que solubiliza a la proteína y deja libre a la quitina.

9) Desproteínización enzimática para la obtención de la quitina

Para llevar a cabo la desproteínización se hace una proteólisis enzimática usando la enzima comercial llamada Proteasa Alcalina PA 3000. Las condiciones óptimas de reacción son: temperatura de 50°C, pH 9.5, concentración de la harina 2.8% y la relación enzima/sustrato 1%. Con esto se logra la solubilización de las proteínas que quedan en el sobrenadante y la fracción sólida corresponde a la quitina. Mediante la utilización de esta enzima se tiene una eficiencia de separación de la proteína del 92.7%.

Aplicando este segundo proceso se tiene un rendimiento cercano al 16% de quitina y 6% de pigmento.

2.3.3 Aprovechamiento del cefalotórax del camarón para la obtención de carotenoproteínas utilizando métodos enzimáticos

En este tercer proceso, lo que se busca principalmente es la obtención del pigmento; el cual se encuentra asociado a la proteína, formando el complejo denominado carotenoproteína (García y Sánchez, 1995). En esta propuesta, también se utiliza una enzima proteolítica, que se encarga de romper gradualmente la unión proteína-quitina. Además, a diferencia de los otros dos métodos, en este caso la desmineralización se realiza utilizando agentes quelantes (EDTA), que permiten desestabilizar el complejo quitina-proteína-sales y que facilitan la acción de la proteasa comercial.

El proceso general consiste en lo siguiente:

- 1) Obtención del cefalotórax del camarón
- 2) Lavado con agua
Se eliminan todas las impurezas superficiales con abundante agua.
- 3) Secado
El secado se realiza a $65^{\circ} + 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas, utilizando estufas.
- 4) Molienda
Se muelen las cabezas para obtener una harina fina.
- 5) Tamizado
Se tamiza la harina para obtener una harina homogénea de un tamaño de partícula entre 0.48-0.84 mm.
- 6) Desmineralización con EDTA
Para eliminar las sales de calcio y magnesio se utiliza el agente quelante EDTA a una concentración de 0.5M, con una relación masa:volumen 1:3 y agitación constante a 200 rpm durante una hora.

7) Filtrado y secado al vacío

8) Proteólisis enzimática para la separación de la carotenoproteína de la quitina

En este caso también la enzima comercial que se utiliza es la Proteasa Alcalina PA 3000 (ENMEX). Las condiciones de reacción son: temperatura 50° C, pH 9.5, tiempo una hora, concentración de la harina 5% y la relación enzima/sustrato 1%. Con esto se obtiene en la fase acuosa al pigmento asociado a las proteínas solubles y en la fase sólida a la quitina. Mediante centrifugación se separan ambas fases.

9) Precipitación del complejo de carotenoproteínas

Para lograr la obtención del producto en forma sólida, se debe de precipitar el complejo utilizando sulfato de amonio (80%). Posteriormente, se realiza una diálisis, para eliminar el exceso de las sales de sulfato de amonio y se liofiliza.

Con este proceso se llegan a obtener 0.2 g de carotenoproteína/2.5 g de harina desmineralizada de cefalotórax de camarón.



3.1 ANÁLISIS GENERAL DE LOS PROCESOS QUE PERMITEN LA EXTRACCIÓN DE LOS PIGMENTOS DEL CEFALOTÓRAX DEL CAMARÓN

Como se mencionó anteriormente, de las tres diferentes propuestas que se han manejado a nivel de laboratorio para el aprovechamiento del cefalotórax del camarón, únicamente se han obtenido los pigmentos a través de dos vías diferentes. Por una parte, se tiene la extracción de los pigmentos mediante procesos químicos que involucran el empleo de disolventes orgánicos (Cañipa, 1994). En el otro proceso, los pigmentos se obtienen mediante la utilización de una enzima comercial (García y Sánchez, 1995). A continuación, se muestran las similitudes y diferencias existentes entre ambas técnicas.

3.1.1 Elaboración de harinas de cefalotórax de camarón previa a la extracción de pigmentos

Antes de someter a la materia prima al proceso de extracción de los pigmentos, se realiza una secuencia de etapas que permiten obtener una harina homogénea, lista para su utilización. En ambas técnicas (extracción fisicoquímica y enzimática), el tratamiento previo que se sigue es el mismo, consistiendo en: lavado, secado, molienda y tamizado (Cañipa, 1994; García y Sánchez, 1995).

a) Lavado

Las cabezas que se recolectan tienen adheridas impurezas superficiales así como vísceras que se deben eliminar mediante un ligero lavado con agua.

b) Secado

Después de que se lavan las cabezas, se dejan secar para disminuir la cantidad de agua disponible, que permite el desarrollo de los microorganismos y que dañan notablemente a la materia prima. El secado se realiza a una temperatura de $80^{\circ} + 5^{\circ}\text{C}$, hasta llegar a una humedad cercana al 11%.

c) Molienda

El cefalotórax seco se muele para obtener una harina con un tamaño de partícula entre 0.4 - 2.00 mm.

d) Tamizado

La harina que se molió se tamiza para obtener la harina del tamaño deseado y homogénea.

e) Conservación

Una vez que se obtiene la harina del cefalotórax del camarón, ésta debe de conservarse en recipientes que no permitan la entrada de la luz y de preferencia a temperatura de congelación ($- 10^{\circ}\text{C}$).

3.1.2 Extracción de pigmentos (astaxantinas)

Después de la obtención de la harina de cabeza de camarón, ésta queda lista para utilizarla en cualquiera de los dos procesos de extracción de pigmentos.

La diferencia principal de éstos es el sistema que se utiliza para la extracción de las astaxantinas. El primer método consiste en la extracción química y el segundo en la extracción enzimática.

3.1.2.1 Extracción química de astaxantinas (Cañipa, 1994)

La extracción química se basa en la separación de los pigmentos mediante la utilización de disolventes orgánicos. Se han probado diversas mezclas de disolventes con el fin de tener la mayor eficiencia en la despigmentación. La mejor propuesta de solvente extractor lo constituye una mezcla de éter de petróleo: acetona:agua en una proporción de 15:75:10. Se obtienen mayores rendimientos si se utiliza un harina con un tamaño de partícula menor a 0.42 mm. La relación masa:volumen de la harina y el solvente debe ser 1:10. El tiempo de reacción es aproximadamente de 3 horas. Además, se debe de mantener una agitación constante (150 rpm) y tener protegida la muestra de los rayos de luz, para evitar la degradación del pigmento.

El pigmento extraído queda disuelto en la mezcla de solventes y el residuo de la harina despigmentada puede ser utilizada para la obtención de quitina.

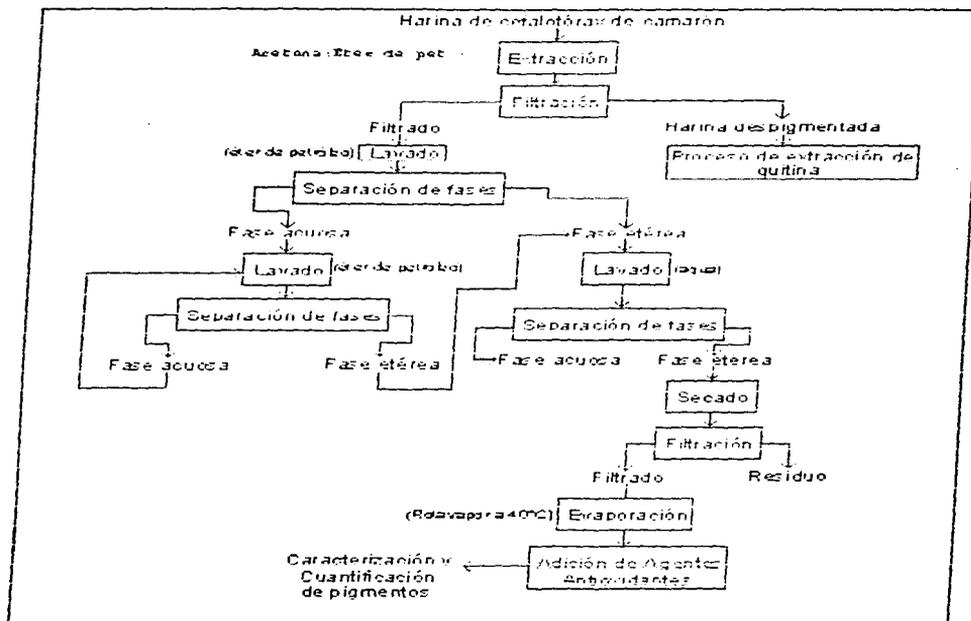
Para la separación del pigmento, se hace una concentración del solvente y se deja evaporar hasta que se seca el producto

Finalmente, para mantener estable al pigmento es necesario adicionarle una mezcla al 1% de los antioxidantes BHA y BHT (50%/50%); generándose un efecto protector de los pigmentos de hasta 80% al cabo de 4 semanas

Con este procedimiento se alcanza un valor de 25 μ g de pigmento/g de harina de cefalotórax de camarón.

En la **figura 8** se muestra el diagrama de flujo de este proceso de extracción de los pigmentos por vía fisicoquímica.

Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de extracción fisicoquímica de los pigmentos de harina de cefalotórax de camarón



Fuente: Canipa, 1994

3.1.2.2 Extracción enzimática de astaxantinas acomplejadas con sus matrices proteicas (García y Sánchez, 1995)

En este segundo método, se tiene una diferencia importante en la forma como se obtiene el pigmento. Esto se debe, a que las astaxantinas se extraen junto con la parte proteica de la materia prima formando un complejo denominado carotenoproteína. Mediante la utilización de una enzima comercial se hace la separación de la quitina-proteína, solubilizando a la parte proteica que al tener asociado los pigmentos, los arrastra y se obtiene el producto deseado

Este proceso requiere de una metodología más sofisticada que la anterior propuesta, con el fin de poner las condiciones óptimas para que la hidrólisis enzimática se lleve a cabo de la mejor forma y eficiencia.

Las etapas principales para la extracción enzimática de las carotenoproteínas son:

1) Desmineralización de la harina de cefalotórax de camarón

La desmineralización de la harina consiste en el tratamiento con agentes quelantes que ayudan a eliminar las sales de calcio y magnesio. La concentración del reactivo (EDTA) es 0.5M. La relación masa:volumen de la harina y reactivo es de 1:3. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, con agitación constante (200 rpm) durante una hora.

2) Filtrado y secado al vacío

Posteriormente, se realiza el filtrado de la harina desmineralizada y se deja secar al vacío con temperatura controlada para evitar el daño a los pigmentos.

3) Proteólisis enzimática para la separación de la carotenoproteína de la quitina

Esta etapa es el punto crítico del proceso, en el cual se logra la separación del complejo carotenoproteico (fase acuosa) de la quitina (residuo)

Se han estudiado diversas enzimas proteolíticas, pero se ha seleccionado a la proteasa alcalina como la más indicada. Este catalizador se conoce comercialmente con el nombre de PA 3000 (ENMEX). Las condiciones óptimas de acción de la enzima son: temperatura 50° C, pH 9.5, tiempo una hora, concentración de la harina 5% y la relación enzima/sustrato 1%.

Al final, se obtiene disuelto al pigmento asociado a las proteínas solubles y en la fase sólida a la quitina. Mediante centrifugación se separan ambas fases.

4) Precipitación del complejo de carotenoproteínas

Al quedar disuelto los pigmentos asociados a las proteínas solubles, se deben de precipitar las proteínas para separarlos de la fase acuosa. La precipitación se lleva a cabo mediante la utilización de soluciones concentradas de sulfato de amonio (80%).

5) Diálisis

La diálisis sirve para eliminar el exceso de sales de sulfato de amonio de las carotenoproteínas.

6) Liofilización

La liofilización permite obtener un producto estable sólido.

Al aplicar esta segunda propuesta se obtienen 0.2g de carotenoproteína/ 2.5 g de harina desmineralizada. la proporción de pigmento es de 49% y el resto corresponde a las proteínas solubles.

3.1.3 Comparación entre los métodos

Una vez que se hizo el planteamiento de los dos procesos diferentes que existen para obtener los pigmentos se pueden mencionar las siguientes diferencias básicas.

a) Dependiendo del proceso aplicado se obtienen diferentes productos de extracción. Si se aplica el primer proceso, se obtiene únicamente a las astaxantinas. Si se aplica el proceso enzimático, el producto es el complejo carotenoproteína, en el cual las astaxantinas se encuentran asociadas a las proteínas.

b) Los tiempos utilizados para la despigmentación son notoriamente diferentes. Se requiere de un proceso más largo y por ende más costoso si se utiliza la extracción enzimática.

c) En cuanto a la estabilidad, las astaxantinas aisladas en el proceso químico requieren de la adición de antioxidantes para mantenerla durante un período de 4 semanas. En cambio, las carotenoproteínas no necesitan ningún conservador.

d) Analizando la pureza que se obtiene en los diferentes productos en ambos casos se obtiene un producto con propiedades similares al pigmento que se vende comercialmente. Sin embargo, con el proceso químico se queda un arrastre de grasa (extracto etéreo) que demerita la calidad del pigmento.

e) Otro punto que se debe considerar, es el tipo de desechos que se generan en cada proceso. En el proceso químico se utilizan disolventes que son altamente contaminantes y que deben tratarse con mucho cuidado ya que son peligrosos. En cambio, en el proceso enzimático los reactivos utilizados no generan esos problemas.

f) Con el proceso enzimático se obtiene un producto de mayor calidad nutricia, si se compara con el pigmento extraído de una manera aislada en el proceso químico. Estudios previos han mostrado que las proteínas de cefalotórax del camarón contienen a todos los aminoácidos esenciales. Además, al estar asociado el pigmento a las proteínas le da una mayor estabilidad al producto.

g) En el primer método se tiene el riesgo de que el pigmento quede con pequeños residuos del disolvente empleado, incrementando un poco la toxicidad del producto obtenido. En cambio, en la extracción enzimática no existe la presencia de sustancias tan dañinas.

3.2 ELEMENTOS QUE PERMITEN LA SELECCIÓN DEL PROCESO ÓPTIMO PARA LA EXTRACCIÓN DE LAS ASTAXANTINAS

Para poder definir cuál de los dos procesos planteados es el más conveniente desde el punto de vista de calidad, se debe de hacer un análisis de las ventajas y desventajas de cada uno de ellos. Por lo tanto, se muestra a continuación los diferentes aspectos que se deben de considerar para la evaluación de factibilidad técnica del proceso.

3.2.1 Calidad del producto obtenido

3.2.1.1 Estabilidad

Como se mencionó anteriormente, la diferencia básica de los dos procesos es el tipo de producto que se obtiene. En el caso del proceso por extracción química, el pigmento se extrae de manera aislada. En el proceso de extracción enzimática el pigmento se extrae junto con las proteínas solubles, formando el complejo denominado carotenoproteína.

La gran ventaja de extraer al pigmento asociado a las proteínas es que se obtiene un producto de mayor estabilidad, siendo menos vulnerable a las reacciones de deterioro (oxidaciones), que generan un detrimento de la calidad del pigmento. Esto se explica, porque al estar el pigmento asociado a la parte proteica se genera un efecto de impedimento estérico que dificulta el ataque directo a las astaxantinas. Además, no es necesario que se aplique ningún aditivo adicional al pigmento para mantener su estabilidad. Como sucede en el caso del pigmento por extracción química, que requiere de la adición de los antioxidantes como es la mezcla de BHA y BHT. Estos aditivos aunque actualmente están aprobados para ser utilizados en alimentos, últimamente se están teniendo más restricciones en su uso.

Siendo la estabilidad del producto, uno de los factores más importantes para la calidad de un producto obtenido, se considera que el proceso por extracción enzimática es mejor que el proceso por extracción química.

3.2.1.2 Calidad nutritiva

Otro aspecto que se considera dentro de la calidad es el valor nutricional que aporta el producto. En ambos casos, se logra hacer la extracción del pigmento que al ser del grupo de los carotenoides, es precursor de la vitamina A, micronutriente esencial para el buen funcionamiento del organismo. Además, son pigmentos que generan un efecto de

fotoprotección, propiedades anticancerígenas, incremento en la respuesta inmune y aumento en la longevidad en mamíferos.

Sin embargo, en el caso del método por extracción enzimática, además de obtener el pigmento, se extraen las proteínas solubles del cefalotórax. Se ha visto que la secuencia de aminoácidos que conforma las proteínas incluye a todos los aminoácidos esenciales (especialmente ácido glutámico y aspártico), y a todos los aminoácidos indispensables que dan como resultado una proteína de buena calidad

Por lo tanto, al extraer las carotenoproteínas se está dando un valor agregado en la calidad nutritiva del producto final

3.2.1.3 Pureza del producto obtenido

Analizando la pureza que se obtiene en los diferentes productos, en ambos casos los pigmentos presentan propiedades similares a las muestras comerciales. Sin embargo, con el proceso químico se queda un arrastre de grasa (extracto etéreo) que demerita la calidad del pigmento.

3.2.1.4 Potencial tóxico de las astaxantinas extraídas

En cuanto a la toxicidad, las astaxantinas son pigmentos que son aceptados como aditivos no tóxicos, que se pueden emplear tanto para alimentación animal como humana. Sin embargo, se debe considerar el tipo de proceso que se utilizó para garantizar la inocuidad del producto. En el proceso por extracción química se tiene la separación del pigmento mediante la utilización de disolventes orgánicos. Esta mezcla de disolventes se deja evaporar y se va separando el pigmento. Sin embargo, pueden quedar residuos de los disolventes que son tóxicos. En cambio, en el proceso enzimático no se utilizan reactivos tóxicos que se puedan quedar como impurezas, obteniéndose un producto con mayor seguridad inocua.

3.2.2 Análisis del proceso

3.2.2.1 Tiempo necesario para obtener el producto deseado

Comparando el tiempo que se requiere para obtener las astaxantinas, se tiene que en el proceso por vía química, es el más sencillo y el que implica un menor tiempo de extracción. Únicamente, se requiere de unas cuantas horas para realizar la despigmentación (tratamiento químico) y donde se lleva mayor tiempo es en la concentración y secado del pigmento. En el caso del proceso enzimático, el tiempo que se requiere es mayor, ya que el proceso consiste de un mayor número de etapas para la extracción.

Aunque no se ha realizado un estudio económico profundo del costo de operación para cada proceso, por el simple hecho de que en el proceso químico se requieren menos etapas y reactivos, posiblemente es de menor costo

3.2.2.2 Seguridad de los reactivos utilizados

Un aspecto que se debe considerar cuando se selecciona un proceso es la facilidad y medidas de seguridad que se deben de tener para instalar la técnica a nivel planta de producción.

En cuanto a este punto de análisis, la gran desventaja del proceso por extracción química es que se utilizan reactivos que son altamente inflamables y que a nivel de laboratorio se pueden manipular fácilmente, pero a nivel industrial las medidas de seguridad para manipular las sustancias deben de ser muy cuidadosas y son también costosas, para evitar accidentes en la planta.

En el proceso enzimático las sustancias utilizadas no son reactivos tan peligrosos y se pueden manipular con mayor facilidad.

3.2.2.3 Impacto ambiental del proceso

Por otra parte, si el objetivo de la utilización de los desechos de la industria camarónica es evitar el daño al medio ambiente, la selección del proceso que permita aprovechar dichos residuos debe de ser un sistema que no genere a su vez otros subproductos difíciles de canalizar y altamente contaminantes

En el proceso de extracción química la desventaja es que se utilizan disolventes que generan daños al aire durante su evaporación. Aunque se utilizara un sistema de recuperación de disolventes, una parte se estaría evaporando generando contaminación al ambiente. El subproducto que queda es la harina despigmentada que, posteriormente, se podría utilizar para procesarla y extraerle la quitina.

En el proceso enzimático, la principal contaminación se debe a la producción de aguas ricas en sales minerales, provenientes de la etapa de desmineralización. Sería necesario, tener una planta de tratamiento de aguas residuales para canalizar estas aguas. También, se obtiene al final un residuo que corresponde a la quitina, la cual sólo requeriría una etapa de purificación. Por lo que, en este proceso se obtienen al mismo tiempo las carotenoproteínas y el biopolímero quitina.

3.2.3 Rendimiento de extracción

Con el proceso químico se obtienen cerca de 25 µg de pigmento/g de harina, mientras que en el proceso enzimático se extraen 5378.4 µg de pigmento/ g de harina. Como se puede apreciar existe una gran diferencia, teniéndose una mayor eficiencia en la extracción del pigmento asociado a la proteína (carotenoproteína).

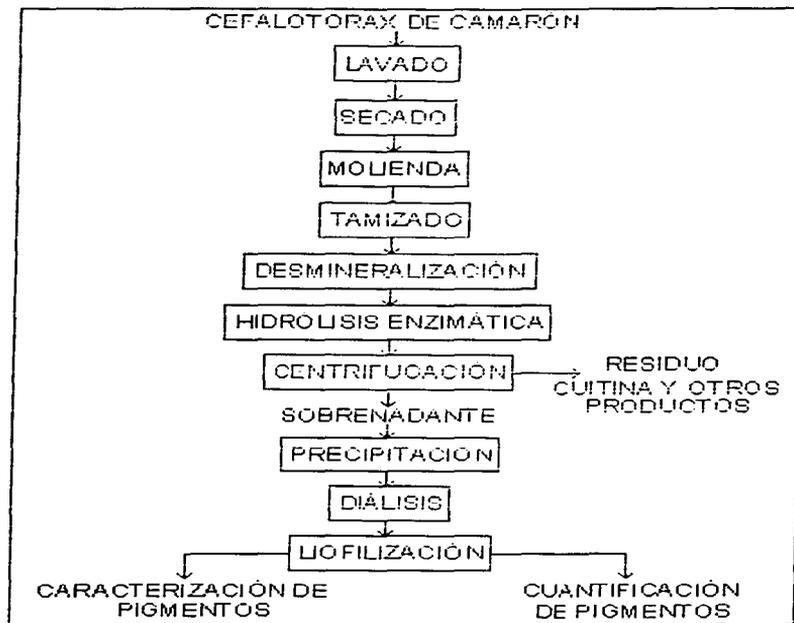
Por lo tanto, considerando las ventajas de cada proceso el más indicado para obtener un producto de calidad con una pureza aceptable, estabilidad y más nutritivo, es la obtención del pigmento junto con las proteínas (carotenoproteína), mediante la utilización de la enzima comercial PA 3000.

3.3 PROCESO SELECCIONADO

De acuerdo al análisis anterior, el proceso que se propone para la extracción de los pigmentos es: el método enzimático para la obtención de carotenoproteínas y que consiste de las siguientes etapas:

- 1) Obtención del cefalotórax del camarón
- 2) Lavado con agua para eliminación de impurezas
- 3) Secado a 80° + 5° C, hasta obtener un 11% de humedad
- 4) Molienda y tamizado para la obtención de la harina
- 5) Desmineralización química con EDTA
- 6) Extracción enzimática de las carotenoproteínas
- 7) Separación de las carotenoproteínas mediante la precipitación con sulfato de amonio.
- 8) Secado de las carotenoproteínas mediante liofilización.

Figura 9. Diagrama de flujo del proceso seleccionado para la extracción de los pigmentos



Fuente: García y Sánchez, 1995

3.4 PROPUESTA DE TRABAJO A NIVEL PLANTA PILOTO

Suponiendo que se tiene una granja camarónica en la cual se producen anualmente 10.000 toneladas de camarón. Si se considera que se obtienen cerca del 50% de residuos, se tendrían cerca de 5.000 toneladas de residuos que representan principalmente la cabeza del camarón.

Para evitar la contaminación de los suelos camarónicos, se pensó en la reutilización de los residuos. Principalmente, se desea obtener astaxantinas de camarón, porque el costo comercial de este pigmento es muy elevado. El residuo de la despigmentación, se vende para que en otra empresa se purifique y separe la quitina.

Para la instalación de la planta, se requeriría la construcción de un sistema de lavado y secado. Un área de hidrólisis enzimática y purificación del producto. Finalmente, la zona de empaquetado.

El equipo que se requeriría para cubrir las diferentes operaciones unitarias serían los siguientes.

- Secado

Se necesita un sistema de calentamiento controlado por alto vacío, con una capacidad de 100 toneladas/8 horas.

- Molienda

Se requiere un molino que permita obtener una harina con un tamaño de partícula entre 0.4-2.00 mm

- Desmineralización

Se requiere un tanque con una capacidad de 1000 litros, que tenga un sistema de agitación constante.

- Cámara de hidrólisis enzimática

Se requiere de un tanque con capacidad de 1000 litros, con agitación constante, con sistema controlador de temperatura y pH

- Centrifugación

Centrifugadora de 300 rpm

- Tanque de precipitación

Tanque con dos sistemas de salida para hacer la separación del líquido sobrenadante y el precipitado.

- Liofilizadora de líquidos (RP20 LABCONCO)

Los puntos críticos de control serían:

- 1) Secado de la materia prima

Es muy importante que inmediatamente se disminuya la actividad acuosa del cefalotórax de camarón, para evitar el desarrollo de los microorganismos que dañarían notablemente al producto.

2) Las condiciones de hidrólisis enzimática

Si no se controlan los parámetros de temperatura, aireación, pH y tiempo, la enzima no actúa de forma óptima y se pueden tener pérdidas de actividad enzimática que disminuyen el rendimiento de extracción de las carotenoproteínas.

3) Cantidad de luz presente en el proceso

Es importante mantener lo más aislado posible al pigmento del contacto con la luz, ya que se pueden favorecer las reacciones de degradación del mismo.

Por último, es importante mencionar que quizás al realizar las pruebas en una planta piloto se requieran modificar un poco las condiciones de hidrólisis enzimática y de tiempos de proceso, para llegar a los mejores niveles de producción y calidad.

También, se recomienda modificar el sistema de secado del producto final, ya que la liofilización es un sistema muy costoso y poco rentable a nivel industrial. Como alternativas se pueden utilizar sistemas de secadores por aspersion al alto vacío.



CAPÍTULO 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- El cefalotórax del camarón es una materia prima útil para la extracción de astaxantinas.
- El proceso que permite obtener a las astaxantinas de una mejor calidad, estabilidad, pureza y riqueza nutricia es mediante la extracción enzimática, dando como producto al complejo llamado carotenoproteína.
- El proceso enzimático es un sistema que tiene la ventaja de que los subproductos que se generan no son difíciles de canalizar y no son sustancias altamente contaminantes.
- Con el proceso enzimático se tiene un rendimiento de extracción de astaxantinas mayor al proceso de extracción fisicoquímica.

4.2 RECOMENDACIONES

Actualmente, aún no se ha definido de forma precisa las condiciones del proceso de extracción enzimática a nivel laboratorio. Por lo que, difícilmente se puede realizar una aproximación gruesa sobre los costos de operación a nivel planta piloto.

Como ya se hizo un análisis del mejor proceso desde el punto de vista de calidad, se recomienda que en estudios posteriores y de acuerdo al tipo de tecnología propuesta se haga un estudio económico. Así, se podría hacer una comparación de esta nueva técnica, con los procesos tradicionales de extracción de astaxantina, para saber si es más viable y económica, dando un soporte más a la utilización del cefalotórax del camarón.

Con esto, se lograría disminuir el daño tan drástico que se está generando al medio ambiente y se daría un valor agregado a estos subproductos que se consideran sustancias contaminantes, beneficiando notoriamente a los productores y personas relacionadas a la industria camaronícola nacional.



CAPÍTULO 5 BIBLIOGRAFÍA

- Agricultural Handbook. 1975. *Composition of foods*. U.S. Dept. of Agriculture. 8.
- Austin, P.R.; Brine, C.J.; Castle, J.E. y Zikakis, J.P. 1981. Chitin: New Facets of Research. *Science*. 212:749-753.
- Banco de México 1984.
- Barrera, V.B. 1987. La camaronicultura: práctica reciente en México. *Acuavisión*. 2(8):4-7.
- Berkley, R. 1979. Chitin, chitosan and their degradative enzymes. En: "Microbial polysaccharides and polysaccharases". Ed. R.C.W. Berkley, G.W. Gooday y D.C. Ellwood. Academic Press. Londres: 205-236
- Bough, W.A.; Salter, W.L.; Wu, C.M. y Perkins, B.E. 1978a. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. I. Chemical composition, viscosity and molecular weight distribution of chitosan products. *Biotechnol Bioeng* 20:1931-43
- Bough, W.A.; Wu, A.C.M.; Campbell, M.R.; Holmes, R.M. y Perkins, B.E. 1978b. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. II. Coagulation of activated sludge suspensions. *Biotechnol Bioeng* 20:1945-55
- Bough, W.A. y Landes, 1978. Citado en: "Use of chitonius polymers in food" Knorr D. 1984. *Food Technol.* 38(1): 85
- Broussignac, P. 1968. Le chitosane. Un haut polymere naturel dans l'industrie. *Chimie et industrie-genie chimique*. 99(9): 1241-1247
- Cañipa, A.J. 1994. Estudio químico sobre el aprovechamiento integral del cefalotórax de camarón. Tesis de Maestría en Ciencia de Alimentos (Química). Facultad de Química, UNAM, México. D.F. México.
- Chen, H.M. y Meyers, S.P. 1982a. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. *J. Food. Sci.* 47: 892-96.
- Chen, H.M. y Meyers, S.P. 1982b. Effect of antioxidants on stability of astaxanthin pigment in crawfish waste and oil extract. *J. Agric. Food Chem.* 30: 469-73
-

Choubert G y Luquet, P. 1983. Utilization of shrimp meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) pigmentation. Influence of fat content of the diet. *Aquaculture*. 32: 19-26.

De la Lanza, E.G.; García, C.; Tovilla, H.C. y Arredondo, J.L. 1993. Ambientes y pesquerías en el litoral Pacífico mexicano. INEGI México. D.F. México

Desrosier, N. 1986. *Elementos de tecnología de alimentos*. CECSA. México: 412-14.

Escobedo, G. 1994. Aprovechamiento del cefalotórax del camarón para la extracción de quitina por vía enzimática. Tesis de Licenciatura en Química de Alimentos. Facultad de Química. UNAM México. D.F. México

Fang, T. y Cheng, Y-S. 1993. Improvement of astaxanthin production of *Phaffia rhodozyma* through mutation and optimize of culture conditions. *J. Ferm. Bioeng.* 75(6): 466-69

Foss, P.; Storebakken, T.; Sriedt, K.; Liaaen-Jensen, S.; Austreng, E. y Streiff, K. 1984. Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with cantaxanthin. *Aquaculture*. 41: 213-226

García, R.S. y Sánchez, L.G. 1995. Extracción enzimática de carotenoproteínas de cefalotórax de camarón por medio de una proteasa comercial. Protocolo de tesis de licenciatura en Química de Alimentos. Facultad de Química. UNAM. México. D.F. México.

Hernández, U. 1994. Sin resultados claros, el acuerdo de modernización de la acuicultura. *El financiero*. Secc. Economía. México. D.F. (22 de marzo de 1994): 28

Hirano, S. 1988. Production and applications of chitin and chitosan in Japan. En: Skjak-Braek, G.; Anthonsen, T. y Sandford, P. 1989. Proceedings from the 4th Conference on chitin and chitosan, held in Trondheim, Norway. Agosto 22-24, 1988. Pp 51-59

Huitrón, C. 1983. Biotecnología de enzimas. Departamento de Biotecnología. Pub. Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM. México.

Iwata, S y Nakabayashi, T. 1974. Method for the elimination of coloring substances. Citado en: Muzzarelli R. 1978. Chitin. Pergamon Press. U.K.: 183

Jeuniaux, Ch.; Voss-Foucart, M.F.; Poulicek, M. y Busseres, J.C. 1988. Sources of chitin, estimates from new data on chitin biomass and production. En: Chitin and Chitosan: Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications. Skjak-Braek, G.; Anthonsen, T. y Sandford, P. 1989. Proceedings from the 4th Conference on chitin and chitosan, held in Trondheim, Norway. Agosto 22-24, 1988. P. 3

-
- Kelley, C.E. y Harmon, A.W. 1972. Method of determining carotenoid contents of Alaska pink shrimp and representative values for several shrimp products *Fish. Bull.* 70(1): 111-3.
- Knorr, D. 1983. Dye binding properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.* 48:36
- Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food *Food Technol.* 85-97.
- Knorr, D. 1991. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.* 45(1): 114.
- Madhavan, P. y Ramachandran, N.K.G. 1974. Utilization of prawn waste. Isolation of chitin and its conversion to chitosan. *Fish Technol.* 11: 50-53
- Mathur, N.K y Narang, Ch.K. 1990. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. *J. Chem. Educ.* 67(11): 938-942.
- Meyers, S.P. 1977. Using crustacean meals and carotenoids fortified diets. *Feedstuffs*, 49:19.
- Meyers, S.P y Bligh, D. 1981. Characterization of astaxanthin pigments from heat-processed crawfish waste. *J. Agric. Food Chem.* 29: 505-8.
- Muzzarelli, R.A.A. 1977. *Chitin*. Pergamon Press. U.K.; 24,29,45,47,62-64,87, 93,95, 103-105.
- No, H.K y Meyers, S.P. 1989. Crawfish chitosan as a coagulant in recovery of organic compounds from seafood procesing streams. *J. Agric. Food Chem.* 37: 580-83.
- No, H.K.; Meyers, S.P. y Lee, K.S. 1989. Insolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.* 37(3): 575-79.
- Nud'ga, L.A.; Plisko, E.A. y Danilov, S.N. 1970. Production of chitosan and study of its fractionation. Citado en: Muzzarelli, R. 1978. Chitin and chitosan. Pergamon Press. U.K.: 95
- Pelletier, A.; Lemire, Y.; Sygush, J.; Chornet, E y Overend, R.P. 1990. Chitin/chitosan transformation by thermo-mechano-chemical treatment including characterization by enzymatic depolymerization. *Biotechnol. Bioeng.* 36: 310-15
- Peña, E.A. 1987. Distritos de acuacultura: Instrumentos de desarrollo regional. *Acuavisión*, 2(8): 8-9.
-

Pine, S.H.; Hendrickson, J.B.; Cram, D.J. y Hammond, G.S. 1984. Química Orgánica. Mc Graw Hill, México, Pp. 803-4.

Popper, L. y Knorr, D. 1990. Application of high-pressure homogenization for food preservation. *Food Technol.*, 44(7): 84.

Sánchez-Silva, M. y Navarrete, R.E. 1993. Con los desechos del camarón es posible producir un insecticida biológico. *Investigación hoy*, entrevista realizada por Luz García Martínez. Mayo, Pp.10-3.

Sandford, P. 1989. Chitosan commercial uses and potential applications. En: Skjak-Braeks, G.; Anthonsen, T. y Sandford, P. 1989. Proceedings from the 4th Conference on chitin and chitosan, held in Trondheim, Norway, Agosto 22-24, 1988. Pp. 51-69.

SEPESCA. 1994. Secretaría de Pesca, Anuario estadístico de pesca 1994, México, D.F. México.

Servicio de Actualización Pesquera. 1990. La industria ecuatoriana del cultivo del camarón. Secretaría de Pesca, México, 15: 7.

Simpson, B.K. y Haard, N.F. 1985. The use of proteolytic enzymes to extract carotenoproteins from shrimp wastes. *J. Appl. Biochem.*, 7: 212-222.

Soto- Peralta, N.V.; Miller, H. y Knorr, D. 1989. Effects os chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. *J. Food Sci.*, 54: 495.

Toma, R.B. y Meyers, S.P. 1975. Isolation and chemical evaluation of protein from shrimp cannery effluent. *J. Agric. Food. Chem.*, 23,632.

Tokuva, S. 1988. Structure and Chemical Modification of Chitin and Chitosan. En: Chitin and Chitosan: Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications. Skjab-Braek, G.; Anthonsen, T. y Sandford, P. 1989 Proceedings from the 4th Conference on chitin and chitosan, held in Trondheim, Norway, Agosto 22-24, 1988. P. 45.

Wu, A.C.M.; Bough, W.A.; Holmes, M.R. y Perkins, B.E. 1978. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. III. Coagulation of cheese whey solids. *Biotechnol. Bioeng.*, 20: 1957-1966.