



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**RECUPERACIÓN DE PROTEÍNA DE LOS  
EFLUENTES DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE  
QUITINA A PARTIR DE CABEZAS DE CAMARÓN  
DE LA ESPECIE *Caridean macrobracium*.**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**INGENIERA EN ALIMENTOS**  
P R E S E N T A :  
**CLAUDIA ESPERÓN DOMÍNGUEZ**

ASESORA:

M.C.S. PATRICIA MIRANDA CASTRO

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2002.

**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).

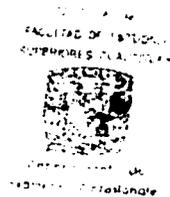
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

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

ASUNTO VOTOS APROBATORIOS



UNIVERSIDAD NACIONAL  
 AUTÓNOMA DE  
 MÉXICO



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

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

"Recuperación de proteína de los efluentes  
 del proceso de obtención de quitina a partir  
 de cabezas de camarón de la especie *Caridean  
 macrobracium*"  
 que presenta la pasante: Claudia Esperón Domínguez  
 con número de cuenta: 9651013-3 para obtener el título de:  
 Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 1º de Abril de 2007

PRESIDENTE	M.en C. S.Patricia Miranda Castro.	
VOCAL	M.en C. Ma. Elena Vargas Ugalde.	
SECRETARIO	I.R.O. Rogemino Maya Ramírez	
PRIMER SUPLENTE	M.en C. Carolina Moreno Páez	
SEGUNDO SUPLENTE	I.A. Marian Álvarez Velasco.	

## DEDICATORIAS:

### A DIOS:

Por darme la oportunidad de vivir, llenarme de bendiciones y hacerse siempre presente en mi vida palpablemente.

### A MIS PADRES:

Por darme la mejor herencia que alguien pueda recibir en vida: su amor, protección, y educación. Porque sin su apoyo y amor incondicionales no lo hubiera logrado. Les dedico la primera gran meta de mi vida y espero algún día y de alguna manera responder a la confianza y esfuerzo que han invertido en mí al darme la oportunidad de ser profesionalista.

## AGRADECIMIENTOS:

### MAMÁ:

Porque aunque no lo sepas eres una persona admirable y porque siempre estás ahí con tus cuidados, tú sabes que sin ti, y sin tu apoyo incondicional, esto no se hubiera llevado a cabo. Gracias por ser mi mamá, porque no existe en el mundo nadie mejor para esas difíciles tareas. ¡Te quiero mucho!

### PAPÁ:

Porque siempre has sido gran ejemplo y apoyo en mi vida, y porque desde que yo me acuerdo, has trabajado muchísimo para darnos siempre lo mejor. Por tu orientación y sabios consejos que siempre han sido de mucha ayuda, por ser un papá ejemplar. Gracias papá, te quiero mucho!

### EDGAR:

Porque de ser los clásicos compañeros de pelea, nos convertimos en amigos, y porque sin tu motivación diaria, no me acordaría de que tengo que trabajar y estudiar. No sigas mi ejemplo, tú puedes llegar mucho más lejos. Te quiero mucho hermano.

### LUIS M. ALONSO SALAZAR:

Por ser apoyo incondicional en los momentos más difíciles de estos últimos dos años, por los mil y un momentos felices a tu lado, por escucharme y por echarme porras, por tu ayuda durante la elaboración de esta tesis y sobre todo, por tu amor. ¡Mil gracias amore! Te amo.

### ABUELITA LUPITA:

Porque siempre has sido como mi conciencia y porque eres el mejor ejemplo de amor incondicional que conozco y de quien todos deberíamos aprender. Te quiero mucho y te dedico también a ti este esfuerzo porque pensé que no lo iba a lograr. A pesar de todo, lo logré.

### ABUELITA OLGA:

Porque sigues ocupando un lugar muy especial en mi corazón y porque estoy segura de que este logro mío te hace tan feliz como a mí. Te dedico mi esfuerzo. Te extraño mucho.

### PAPÓ:

Por ser el abuelito más genial del mundo. Te quiero mucho papo.

### ABUELITO LORENZO:

Porque aunque la última vez que te vi era muy chiquita, me acuerdo mucho de ti. Y yo sé que te alegras conmigo en mis logros.

### MÓNICA:

Por ser mi mejor amiga desde hace más de 12 años, mi hermana. Gracias por tus consejos, y psicoterapia, por escucharme y por aguantarme. Gracias por abrirme las puertas de tu corazón, de tu casa y de tu familia, a quienes quiero mucho. Gracias por tu amistad incondicional, y por compartir este logro conmigo. ¡Lo logré amiga, más de un año más tarde, pero sigo tu ejemplo! Te quiero mucho hermana.

**ANDREA:**

Por tu amistad, que se ha solidificado a través de los últimos años, creo que lo que nos une es un lazo más que fuerte. Eres ejemplo de fortaleza para mí. Las cosas cambian, pero los corazones no, y tu mamá q.e.p.d. siempre estará en los de ambas. Te quiero mucho y te deseo lo mejor del mundo siempre.

**MARIANA FARFÁN F. :**

Gracias por compartir conmigo tantas noches de desvelo (han sido de lo mejor de mi vida, sé que ni tú ni yo lo vamos a olvidar), por escucharme y por ser hermana de carrera y compañera de mil momentos increíbles a lo largo del camino. Gracias por compartir los logros de ambas, yo sé que vas a llegar lejos. ¿Lo puedes creer? Yo todavía no. ¡Gracias Marianich!

**RUTH:**

Ma soeur de laboratoire, et de Français et du café. La tasse du café est la meilleure avec toi. Je pense que ton amitié a été une des meilleures choses que j'ai trouvées dans cette monde fou. Nous devons voyager a l'Europe un jour, qu'est ce que tu penses? Je suis sure que ton mari sera français. Tu es très speciale pour moi. Bon chance mon amie et souvien toi que tu es autant forte comme tu veut !

**GABY Y EDUARDO:**

Por su amistad tan genial, que espero dure por siempre! Nunca dejen de ser como son, ni se separen, los quiero mucho. Espero que sigamos cultivando nuestra amistad toda la vida.

**RICHARD:**

Gracias por todo: tus asesorías, porras y, sobre todo por tu genial e incondicional amistad, que fue un apoyo muy importante a lo largo de un año difícil de mi vida. Espero conservar tu amistad toda la vida. Eres un ejemplo a seguir.

**OSCAR:**

Por tu amistad y apoyo incondicionales y sabios consejos. Por escucharme y adoptarme como tu hermana en la carrera. Gracias "peti" tienes un corazón enorme.

**ROSY:**

Por ser estos últimos años amiga además de guía espiritual en mi vida, por esas pláticas nocturnas, psicoterapia, y sobre todo porque eres única para escuchar, eres como Momo para mí; si Michael Ende te hubiera conocido, Momo se hubiera llamado Rosy. Estás oficialmente adoptada por la familia. Ojalá te quedes siempre. Te quiero mucho.

**ELVIRA CRUZ KATO DE FIGUEROA:**

Por ser un gran ejemplo para mí, por el tiempo dedicado a estudiar conmigo y con Moni, y por compartir conmigo a su preciosa familia y muchos momentos felices. Es usted una de las personas que más estimo y admiro. ¡Mil gracias!

**A TODOS MIS TÍOS Y PRIMOS ESPERÓN Y DOMÍNGUEZ:**

A todos ustedes por ser mi familia, porque de una manera u otra están presentes y en especial a Güerin por cuidarme cuando me operaron, a Maribel por darme una oportunidad de oro de conocer otros horizontes y a ambas por ser ejemplos para mí, a mis Tíos Enrique y Lula por ser parte de mi historia profesional, por recibirme con los brazos abiertos en su casa a principios de la carrera y por ser tan lindos conmigo. Los quiero mucho a todos.

**PROFRA. Y M. C. PATY MIRANDA:**

Gracias por aceptar ser mi asesora de tesis, creo que escogí a la mejor asesora del mundo, gracias por ayudarme tanto y por permitirme molestarla en su casa. La admiro mucho maestra, gracias por su apoyo, ayuda y sabios consejos. Mil gracias!

I.Q. Celia Osornio, profra. Del Francés Nueva Santa María, porque fue quien desde la secundaria me inspiró el amor por la Química y a estudiar mi carrera.

Profr. Saturnino Maya, porque sin saberlo, con su Ciencia Básica 3, evitó que colgara los guantes al principio de la carrera.

Especial agradecimiento a quienes me brindaron su ayuda durante la elaboración de mi tesis en la FES Campo Uno:

M. C. Enrique Salas Téllez: Gracias por las asesorías, paciencia, y las fotografías.

M. C. Carolina Moreno: por su ayuda y por permitirme trabajar en el Laboratorio de Tecnología de Calidad de Alimentos en el edificio de Posgrado de la FESC Campo 1.

Laboratorio de Biotecnología, Edif. Posgrado FESC Campo Uno

Lab. Javier Navarrete Villa: ¡Mi gracias por ayudarme con todos mis papeteos, asesoría técnica y mil detalles que sin tu ayuda habrían hecho esto mucho más prolongado.

Lab. Sergio García Hernández: del Lab. De Tec. De Calidad de Alimentos, por su asesoría técnica, apoyo y sabios consejos. ¡Mi gracias y mucha suerte Sergio!

Técnico Rodolfo Robles: gracias por su ayuda y las fotografías para la elaboración de la tesis.

Draucín Jiménez, responsable del Área de Soplado de Vidrio de la FESC.

Lab. Concepción Gómez Cervantes: Laboratorio de Química Orgánica, FESC Campo Uno. Gracias por tu ayuda en el laboratorio de Química Orgánica, fue importante para la elaboración de mi tesis.

Biblioteca de la FESC Campo Uno:

Sr. Guillermo: me parece increíble que exista alguien tan paciente y tan amable como usted, gracias por su ayuda, espero que nunca cambie.

Lic. Rommel: gracias por su amable ayuda a lo largo de la carrera y después durante la elaboración de mi tesis. Me llevo un excelente recuerdo de la biblioteca de la FESC. Pero más aún de la gente que allí labora.

Hemeroteca de la FESC Campo Uno.

A la H.H. generación 20ava de I.A. que son parte de mi historia: aunque la gente nos tache como la generación "X" por falta de quemar de batas, creo que somos gente inteligente y muy trabajadora.

Gracias a la histórica huelga de la UNAM, porque me permitió hacer mi servicio social, conocer a L. M. A. S. y a abrir un poco más los ojos. Aunque no estaba de acuerdo, admito la fuerza que demostraron y el sacrificio que hicieron quienes cuidaron a la FESC.

## INDICE

TEMA:	Pág.
* Resumen.....	1
* Introducción.....	2
* Justificación.....	4
* Antecedentes	
Panorama mundial: Industria de los crustáceos.....	5
Panorama Actual de la industria camaronera en México.....	5
Producción de camarón por acuicultura en México.....	6
Desechos de crustáceos.....	8
Alternativas.....	9
Crustáceos.....	10
Características generales.....	10
Distribución y clasificación del camarón.....	11
Generalidades de quitina y quitosán.....	17
Propiedades de la quitina y quitosán.....	21
Aplicaciones de quitina y quitosán.....	24
Composición química del camarón especie Cragnon cragnon.....	27
* Objetivos	
Objetivos de la tesis.....	30
* Metodología.	
Cuadro metodológico.....	31
Actividades de la tesis.....	32
Materiales y métodos.....	33
Actividades por objetivos.....	35
* Resultados y Discusión.....	46
* Conclusiones.....	63
* Recomendaciones.....	64
* Glosario.....	65
* Bibliografía.....	69

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Clasificación de los crustáceos según Pennant (1771).....	12
Cuadro 2: Composición Química del Camarón .....	15
Cuadro 3: Comparación de la composición química proximal del camarón fresco en base húmeda y seca.....	16
Cuadro 4: Comparación de la composición química proximal del camarón congelado.....	16
Cuadro 5: Fuentes de quitina.....	20
Cuadro 6: Resumen de aplicaciones de quitina y quitosán.....	24
Cuadro 7: Análisis Químico Proximal del Camarón.....	27
Cuadro 8: Cuadro Metodológico.....	31
Cuadro 9: Contenido de Nitrógeno total, quitina y proteína en muestras de cabezas de camarón húmeda y seca.....	46
Cuadro 10: Análisis Químico Proximal de las muestras húmeda y seca .....	47
Cuadro 11: Observaciones durante la separación carne-caparazón vía ácida y alcalina.....	48
Cuadro 12: Observaciones hechas a los efluentes de diferentes concentraciones de álcali.....	49
Cuadro 13: Observaciones de la precipitación de los efluentes de separación vía alcalina con HCl.....	49
Cuadro 14: Cantidad requerida (ml) y puntos isoeléctricos a diferentes concentraciones de álcali.....	53
Cuadro 15: Rendimientos de quitina/caparazones secos, y de quitosán/caparazones secos para las concentraciones de álcali de 5%, 2% y 1.5% .....	54
Cuadro 16: Cantidades y rendimientos de caparazones, quitina y quitosán obtenidos .....	56
Cuadro 17: Porcentaje de Nitrógeno total y proteína del precipitado de la separación alcalina al 1.5% de concentración inicial.....	58
Cuadro 18: Porcentaje de proteína del precipitado de la separación alcalina al 2% de concentración inicial.....	58
Cuadro 19: Porcentaje de grasa del precipitado de separación alcalina al 2% de concentración inicial.....	58
Cuadro 20: Composición de los desechos de cabezas de camarón .....	59

Cuadro 21: Análisis cuantitativo del porcentaje de proteína de los precipitados por el método colorimétrico de Taitguchi.....	60
Cuadro 22: Aminoácidos identificados en el precipitado de cabezas de camarón.....	61
Cuadro 23: Microorganismos inoculados y condiciones de los matraces con efluente de la separación vía alcalina.....	62

### ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Anatomía de la langosta .....	11
Figura 2: Morfología del camarón <i>Pnaeus</i> .....	14
Figura 3: Morfología del camarón <i>Caridean macrobracrum</i> .....	14
Figura 4: Estructura química de la quitina.....	18
Figura 5: Estructura química del quitosán.....	18
Figura 6: Unidad estructural de la quitina .....	19
Figura 7: Unidad estructural del quitosán .....	19
Figura 8: Diagrama de flujo de preparación de quitina y quitosán.....	25
Figura 9: Obtención de quitosán por acetilación a partir de quitina.....	26
Figura 10: Variación del pH del efluente del tratamiento con NaOH al 1.5%.....	51
Figura 11: Variación del pH del efluente del tratamiento con NaOH al 2%.....	52
Figura 12: Variación del pH del efluente del tratamiento con NaOH al 5%.....	52
Figura 13: Peso seco obtenido por vía alcalina .....	54
Figura 14: Comparación de pesos secos obtenidos a diferentes concentraciones iniciales de álcali.....	55
Figura 15: Rendimientos promedio de los experimentos de repetición.....	57
Figura 16: Porcentaje de proteína de los precipitados obtenidos al 1.5 y 2% de álcali....	59
Figura 17: Porcentaje de proteína promedio obtenido por técnica de Taitguchi.....	60

## RESUMEN

Durante el proceso químico de obtención de quitina y quitosán a partir de caparazones de crustáceos, se generan efluentes que contienen una cantidad importante de materia orgánica y en particular, proteína, ya sea que proviene del tejido cárnico o de la matriz del caparazón.

En México no se cuenta con una tecnología de recuperación de proteína de los efluentes de proceso como el de obtención de quitina por lo que el presente trabajo tiene como objetivo probar diversas vías de separación de los caparazones del tejido de cabezas de camarón que representan principalmente el desecho de esta industria marina, además de la recuperación y análisis de la proteína recuperada de los efluentes.

La metodología empleada consistió en tratar las cabezas de camarón con ácido y / o con álcali a 3 diferentes concentraciones registrando el tiempo de separación, así como el rendimiento de proteína recuperada.

Los resultados indican que la vía de tratamiento alcalino al 2% es la más adecuada teniendo como tiempo promedio de separación 24 horas; el rendimiento promedio de precipitado húmedo es de 24.11 %, y el porcentaje de proteína del mismo es de 35% base seca.

## INTRODUCCIÓN

Los crustáceos tales como el camarón, la langosta, el cangrejo, etc., son una fuente rica en aminoácidos, péptidos, proteína y otros productos bioquímicos útiles que pueden ser recuperados para su utilización como ingredientes en diversas aplicaciones alimentarias (Simpson et al; 1998).

La industria camaronesa es una de las fuentes tanto de alimentación (por su valor nutritivo) como de contaminación (por su alta perecibilidad) en México, debido a los grandes volúmenes de captura que la hicieron ocupar en el año 2000, después de la sardina y el atún, el tercer lugar dentro de las pesquerías de mayor volumen de producción del peso vivo (95,077 toneladas); de las cuales 79,974 toneladas corresponden al considerado como peso desembarcado (fileteado, descabezado, eviscerado), esto es, casi el 16% del peso vivo capturado (15,103 toneladas) corresponde a desperdicios, y partes no comestibles del camarón que no son debidamente aprovechadas, -sobre todo la cabeza del camarón- ya que los barcos camaroneseros realizan la captura, descabezan el camarón, lo empacan y congelan para su venta, aunque también se llegue a vender entero, el volumen de desperdicios es alto, comparado con aquél destinado para consumo. También existe la alternativa de reutilizar todos estos desperdicios como materia prima para preparar harinas, para extraer quitina (aunque su producción es reciente, y se realice en pocos lugares). Sin embargo, aún en el proceso de obtención de quitina, se producen efluentes de desecho cuyo contenido en materia orgánica constituye una fuente potencial de contaminación.

El presente trabajo se enfoca en recuperar proteína durante el proceso de obtención de quitina a partir de cabezas de camarón, que además de no ser consideradas como de consumo directo, constituyen una fuente de contaminación por su alta perecibilidad, ya que al igual que todos los productos del mar, tienen una corta vida útil, y por su naturaleza, requieren

de refrigeración y congelación preferentemente, métodos de conservación de alto costo que no se consideran rentables por tratarse de desechos.

La cabeza del camarón representa entre el 35 y 45% del peso del mismo (Fanimo et al, 2000), si tomamos como base la producción en peso vivo de camarón durante el año 2000 (95,077 toneladas), tendríamos entre 33,277 y 42,785 toneladas solamente de cabezas de camarón en México (SAGAR, 2000).

El caparazón constituye aproximadamente el 10% del peso total de la cabeza de camarón, fuente de obtención de quitina, que recubre una matriz de tejido orgánico que puede reutilizarse como posible fuente de proteínas, pigmentos y minerales; dicha matriz es además difícil de separar del caparazón por medios físicos.

## JUSTIFICACIÓN

La presente investigación trata de encontrar una solución a la búsqueda de fuentes alternativas de proteína, que en la actualidad constituye una importante necesidad; así como a la contaminación por desechos de la industria camaronesa y de los efluentes de la industria de la quitina.

Se parte de cabezas de camarón como materia prima, y durante el proceso de obtención de quitina, se recupera la proteína de los efluentes.

La importancia de la presente investigación radica en los altos volúmenes de camarón capturado en México y sobre todo, de sus desechos, que son de rápida descomposición; y en la obtención de quitina y quitosán, que son una industria potencial, mientras que el enriquecimiento o el consumo directo de cantidades cada vez mayores de proteína en los alimentos ya sean de consumo animal o humano, es un nicho en el mercado que no se llena fácilmente.

Por todo lo anterior, se decidió utilizar como materia prima las cabezas de camarón, como fuente de quitina y posible proteína, esto es, que en el proceso de obtención de la quitina, y, sobre todo, en la separación del caparazón, exista la posibilidad de aprovechar la matriz de tejido orgánico para obtener proteína.

De esta manera, se disminuye la carga orgánica de efluentes que contaminan el medio ambiente, se obtiene quitina y sus derivados (quitosán) y se aprovechan desechos con un fin productivo.

Esta investigación, también contempla los limitados recursos con los que se cuenta en nuestro país para el tratamiento de desechos y efluentes, por ello plantea procesos que pueden llevarse a cabo con pocos reactivos, a bajas concentraciones, en condiciones ambientales y con escasa o nula aplicación de aparatos mecánicos.

## ANTECEDENTES

### **Panorama mundial: Industria de los crustáceos**

Se estima que la industria del proceso de alimentos de origen marino genera más de 3 millones de toneladas de desechos sólidos por año (Zakaria et al, 1998) -cifra que crece proporcionalmente con el aumento de volumen anual de captura-, estos desperdicios comprenden cabezas, tórax, patas y caparazones de crustáceos que son desechados una vez que la porción comestible ha sido removida. Lo anterior puede constituir hasta un 45% en peso de los crustáceos (Fanimó et al.2000). Estos grandes tonelajes de desechos de crustáceos se han convertido en una gran preocupación ambiental para los principales países productores, tales como Japón y los Estados Unidos. Además, con un incremento en la acuicultura de crustáceos a nivel mundial, especialmente en el sureste de Asia, el problema de la disposición de los desechos alcanzará una creciente urgencia. Los desechos de crustáceos se caracterizan por su alta perecibilidad, ya que el desperdicio se coloniza rápidamente y puede transformarse en riesgo y perjuicio de la salud pública. Además, los desechos por sí mismos, son altamente contaminantes y el método normal de disposición es la descarga en la costa. Sin embargo, con una preocupación creciente acerca de la contaminación de las aguas costeras, esta práctica se está haciendo más costosa mientras que las descargas tienen que ser hechas a mayores distancias de la costa y pueden incluso ser prohibidas por completo (Zakaria et al, 1998).

### **Panorama Actual de la Industria Camaronera en México**

En México, entre los crustáceos de captura, destacan: la jaiba, la langosta y el camarón; éste último se extrae frente a las costas de Campeche y Sinaloa, y se exporta principalmente a Estados Unidos, aunque también a Japón; además, Ciudad del Carmen, situada en la Isla del mismo nombre, es uno de los puertos camaroneros más importantes del país. (Encarta, 2000).

En el año 2000, el camarón fue el tercero en peso desembarcado con un total de 79,974 toneladas de las cuales 59,892 fueron capturadas y/cultivadas en el litoral Pacífico y 20,082

correspondieron al litoral del Golfo y Caribe, esto representó un 7.39% del volumen total de la producción pesquera anual en peso vivo(SAGAR, 2000).

El camarón fue el primero en participación en miles de pesos del valor total de la producción pesquera del 2000 con 5,247,185 miles de pesos que representó el 42.94% de la participación del valor total. Esto hace de la industria camaronera una de las más importantes en cuanto a volumen y a ingresos para el país (SAGAR, 2000).

El volumen de captura en peso vivo de camarón fue de 60,310 toneladas en 1990 y llegó a 95,177 toneladas en el 2000. El peso desembarcado de camarón aumentó de 46,585 toneladas en 1990 hasta 79,974 en el año 2000. Estas cifras representan un aumento de más del 40% en sólo diez años.

Cabe señalar, que del volumen total de peso desembarcado en el año 2000, esto es 79,974 toneladas; 33,093 toneladas correspondieron a cultivo; 22,421 toneladas a esteros y bahías; y 24,460 toneladas a la captura en altamar (SAGAR, 2000).

### **Producción de camarón por acuicultura en México**

En las últimas décadas, la acuicultura del camarón se ha incrementado rápidamente en México. En 1985, por ejemplo, la producción de camarón mexicano total fue de 200 toneladas y el rendimiento estimado en 1997 fue del orden de 15 000 toneladas, principalmente cultivados a lo largo de la costa Noroeste. En el año 2000, la participación de la acuicultura fue del 35.21% del total de la producción pesquera anual. En otras palabras, de las 95.077 toneladas de la producción anual pesquera de camarón, 33,480 toneladas fueron cultivadas (SAGAR 2000)

La expansión del cultivo del camarón en México, como en otros países, ha traído preocupación acerca de los posibles efectos de los efluentes de la acuicultura en los ecosistemas de la

costa. Tal preocupación es particularmente evidente en los estados de Sinaloa, Sonora, Baja California Sur, y Nayarit (Noroeste de México), en donde ahora existen más 26 000 hectáreas de estanques camaroneros. Esta expansión, corrientemente sin ningún control aparente, ha puesto la acuicultura en conflicto con otras actividades tales como las pescaderías tradicionales, la agricultura y el turismo (Páez et al, 1999).

Una característica importante en la costa noroeste de México es la presencia de numerosas lagunas en la costa. Desde el Río Colorado en Sonora hasta San Blas en Nayarit, existen 35 lagunas. Estos ecosistemas tienen una gran variedad de hábitats que incluyen bosques, manglares, zonas pantanosas saladas pantanos, lagunas internas de agua dulce, salobre y sistemas de agua salada; todos ellos con gran diversidad biológica y una cadena alimenticia rica y compleja (Flores-Verdugo et al., 1995). Estos ecosistemas constituyen suelos importantes para la pesca con condiciones favorables para la acuicultura. De hecho, las lagunas proveen de grandes criaderos para camarón post-larvario en la costa Noroeste de México. La cantidad de las tierras bajas consideradas potencialmente disponibles en México para el desarrollo de la acuicultura del camarón han sido estimadas en 335 000 hectáreas y en la región Noroeste 236 000 hectáreas (70.4%) (De la Lanza-Espino, et al, 1993).

La producción de camarón en México consiste principalmente de camarón blanco *Penaeus vannamei* y de camarón azul, *Penaeus stylirostris* y toma lugar casi exclusivamente en estanques terrestres. El estado de Sinaloa fue el principal productor de camarón en 1993, con un área de 9367 hectáreas y, en 1997, el área se incrementó a 19 887 hectáreas (Anónimo, 1997). El estado de Sonora también ha mostrado la misma tendencia a incrementar el área de cultivo (Garmendia et al, 1996; Páez et al, 1999).

Actualmente los estados de México con la mayor participación en producción de camarón siguen siendo Sonora, Sinaloa y, en general los estados del Litoral Pacífico mexicano (SAGAR, 2000).

## **Desechos de crustáceos**

Los desechos de crustáceos constituyen una rica fuente de muchos productos valiosos, entre ellos: quitina, proteínas, pigmentos (astaxantina) y compuestos de sabor (Nicol, S., 1991).

De las diferentes especies de crustáceos, los desechos de caparzones del camarón y del cangrejo han sido los más ampliamente utilizados para la obtención de quitina. Por tanto, la disposición de los desechos de proceso de la industria de estas especies, ha sido, un reto para los países productores de crustáceos. Por lo tanto, la elaboración de productos con un valor agregado como la quitina, el quitosán y sus derivados y aplicación de productos en diferentes campos, es de mucho interés.

La acumulación de grandes cantidades de desechos de los crustáceos se ha convertido en una preocupación en la industria del procesamiento de alimentos provenientes del mar ya que la biodegradación de este material de desecho es muy lenta. De todo el desperdicio sólido de los Estados Unidos, 50-90% corresponde a desechos de proceso de crustáceos, el global anual se estima de alrededor de  $5.118 \cdot 10^6$  (Knorr, 1984)

El material quitinoso es un producto de desperdicio de la industria de proceso de alimentos de origen marino, con un estimado de  $1.2 \cdot 10^5$  toneladas anuales en Estados Unidos accesibles en una base mundial (Muzzarelli, 1998).

Aún cuando la tasa de desarrollo de la acuicultura del camarón ha sido moderada en México, como en otros lugares, se ha tenido consideración acerca de los efectos de los efluentes de los estanques en los ecosistemas costeros. El área dedicada al cultivo de camarón en la costa Noroeste de México en sólo 4 años, se ha incrementado hasta en un 200%; y el manejo de la acuicultura del camarón en esta zona, varía de sistemas de cultivo extensivos e intensivos, ambos produciendo en una menor o mayor escala, efluentes incluyendo heces, desperdicios de alimento y sedimentos, los cuales son distribuidos en el ambiente (Páez et al, 1999).

Las pesquerías, el turismo y el cultivo de camarón, dependen en gran medida de la calidad ambiental, la cual puede verse fácilmente afectada por los efluentes municipales, de la agricultura, acuacultura e industria, y debido a que estas actividades y la agricultura son actualmente las industrias más importantes que mantienen el desarrollo económico de la región costera Noroeste de México, es urgente el manejo integral costero (Páez et al, 1999).

### Alternativas

El proceso de obtención de quitina a partir de desechos de especies como el camarón, langosta, langostilla, y cangrejo, es ya una alternativa de aprovechamiento de materiales considerados como de desecho que además contaminan el ecosistema; pero este mismo proceso tiene sus desechos, como son los efluentes de desproteínización y de separación del caparazón de su respectiva matriz de tejido orgánico que representa impurezas para la obtención de quitina, que además es difícil de realizar por medios únicamente mecánicos.

También existe la alternativa de utilización de estos desechos para elaboración de harinas para alimento de ganado, pero en ella se utiliza integralmente el caparazón y su matriz de tejido orgánico.

Por otro lado, durante la obtención de quitina por vía química existen varios pesos, como se explica más adelante en el presente capítulo, pero uno de ellos es la desproteínización, que produce efluentes que contaminan el ambiente; por lo tanto el motivo del presente estudio es el de encontrar un uso a esos efluentes de desproteínización y separación, pero se pensó en realizar el proceso de separación de manera económica, es decir, utilizando los procesos con el menor uso de tecnología posible, y de esa manera ofrecer una alternativa que permita obtener quitina, aprovechando los efluentes del proceso.

## CRUSTÁCEOS:

### Características generales

Como un grupo predominantemente acuático, los crustáceos tienen el exoesqueleto quitinizado completamente de los artrópodos sin las restricciones de peso impuestas por tal sistema terrestre.

En las clases bajo consideración, la cabeza y uno de los tres segmentos torácicos se han fusionado para producir un caparazón o escudo protector, el cual generalmente se extiende hacia delante en forma de rostrum y posteriormente para proteger el cefalotórax. El abdomen generalmente posee flexibilidad gracias a las uniones cuticulares entre cada segmento.

Los segmentos típicamente tienen un par de apéndices anteriores. Los dos pares de antenas son casi siempre elongadas y móviles, y cargan "aestetascos" los cuales son pelos quimiosensores.

El resto de los apéndices torácicos son modificados dentro de los pereópodos especializados para caminar, nadar, respirar, alimentarse o defenderse.

Los segmentos abdominales (pleonitas) típicamente poseen pleópodos biramificados, apéndices en forma de remos, usados para nadar en malacostracanos (Macrae et al, 1993).

Los crustáceos, comparten características importantes con los moluscos acuáticos invertebrados, tales como la simetría bilateral, la segmentación de su cuerpo, y la posesión de un exoesqueleto bien desarrollado, con los otros grupos dentro del *Phylum* de los Artrópodos.

Las principales características se enlistan a continuación:

1. Los apéndices son uni o biramificados.
2. El cerebro es tripartita (con deutocerebro)
3. El cuerpo está dividido en céfalo y tronco, o subdividido en tórax y abdomen.
4. Existen 5 pares de apéndices cefálicos las primeras antenas preorales y 4 pares de antenas o apéndices postorales (los cuales migran a la posición preoral en adultos), mandíbulas, maxilulas y maxilas
5. Mandíbula gnathobásica (la mandíbula crece desde la base del limbo); endópodos y exópodos se reducen en adultos (Macrae et al, 1993).

Los grupos más comúnmente explotados comercialmente son los cangrejos, las langostas y los camarones.

Los camarones pueden presentar color gris, café, blanco, rosa, amarillo, rojo, hasta azul.

Todos los tipos de camarón se mueven rápidamente mediante su cauda.

Existen 3 especies de camarón del sur comercialmente importantes:

1) El camarón blanco, 2) Camarón café y, 3) Camarón rosa o camarón de manchas café.

A estos tipos de camarón tanto del sur, como del norte y del pacífico norte pertenecen principalmente las especies *Penaeus* y *Pandalus*.

El camarón del sur es usualmente el más grande y el camarón del Pacífico Norte es el más pequeño (Ensminger, A. et al, 1983).

## DISTRIBUCIÓN Y CLASIFICACIÓN DEL CAMARÓN

El camarón *Pnaeoid* (60 especies, ej. *Plesiopeneaeus*, *Pleoticus*), pertenece a hábitats benthicos, de substrato suave, ricos en nutrimentos, son de la costa o de estuario, se les encuentra en todo el mundo entre latitudes de 40° Norte y 40° Sur.

El camarón *Caridean* (ej. *Crangon*, *Pandalus*, *Palaeomon*, *Stomatopoda*, *Macrobracium*, etc..) se encuentra en hábitats benthicos, de substrato suave, y en la costa rocallosa. Se le encuentra desde Europa, Rusia, Argetia, Pacífico Norte, Atlántico, hasta en ambientes tropicales y en el Mediterráneo. Este suborden (*Caridean*) y la especie que le pertenece (*Macrobracium*), se encuentra en ambientes tropicales, estuarios, rios, hábitats benthicos, de substrato suave, lagos, y ha sido distribuido alrededor del mundo (Macrae et al, 1993).

Existen al menos 39000 especies de crustáceos, subdivididos en 6 clases y 38 órdenes, la mayoría son marinos, aunque hay grupos de ambientes de agua dulce y terrestres.

Tan solo el orden de los Decápodos, a la cual pertenece el camarón, comprende 10 000 especies.

En el Cuadro 1 tenemos la clasificación del Phylum, Subphylum o Superclase de los Crustáceos según Pennant (1771) utilizados directamente para la nutrición humana:

**Cuadro 1: Clasificación de los Crustáceos según Pennant (1771)**

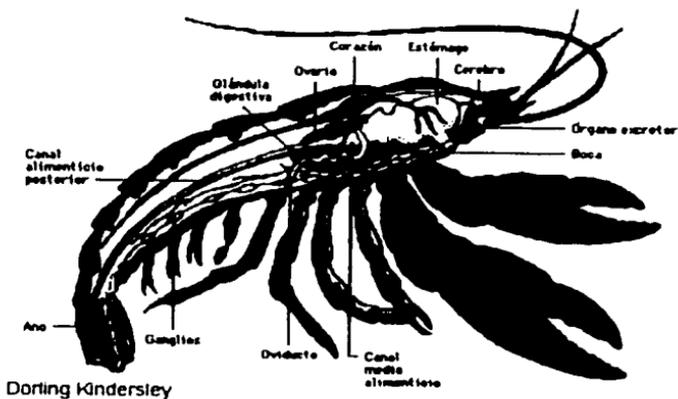
CLASE /SUBCLASE	EJEMPLOS:
Clase <i>Maxillopoda</i> Subclase <i>Cirripedia</i> Orden <i>Thoracica</i>	Stalked barnacles, ej. <i>Pollicipes</i>
Subclase <i>Copepoda</i> Orden <i>Calanoida</i>	Copépodos, ej. <i>Calanus plumchrus</i>
Clase <i>Melacostraca</i> Subclase <i>Hoplocarida</i> Orden <i>Stomatopoda</i>	Camarón <i>Mantis</i> ( <i>Squilla mantis</i> )
Subclase <i>Eumelacostraca</i> Superorden <i>Peracarida</i> Orden <i>Mysidacea</i>	Camarón <i>Possum</i> ( <i>Neomysis intermedia</i> )
Superorden <i>Eucarida</i> Orden <i>Euphausiacea</i>	Krill, ej. <i>Euphausia superba</i>
Orden <i>Decapoda</i> Superorden <i>Dendrobranchiata</i>	Camarón <i>Pnaeid</i> y <i>sergestid</i> , ej. <i>Pnaeus</i> , <i>Sergestes</i>
Suborden <i>Pleocyemata</i> Infraorden <i>Caridea</i>	Camarón <i>Caridean</i> y <i>Procaridean</i> , ej. <i>Macrobrachium</i> , <i>Palaemon</i>
Infraorden <i>Astacidea</i>	Cangrejos y langostas queladas, Ej., <i>Astacus</i> , <i>Homarus</i> , <i>Nephrops</i>
Infraorden <i>Palnura</i>	Palinuro, langostas <i>Spiny</i> y <i>Slipper</i> Ej., <i>Palinurus</i> , <i>Thorus</i> , <i>Scyllarides</i> .
Infraorden <i>Anomura</i>	Cangrejos <i>Galethoid</i> , cangrejo rey, ej. <i>Paralithodes</i> , <i>Pleuroncodes</i> .
Infraorden <i>Brachyura</i>	Cangrejos, ej. <i>Cancer</i> , <i>Scylla</i> , <i>Callinectes</i> , <i>Mais</i> .

Fuente: Macrae et al, 1993

La posesión de branquias ramificadas o dendroramificadas, la fertilización externa y la liberación de huevos en el océano, separa la camarón *Pnaeid* y el *Sergestid* del resto de los decápodos.

Los del género *Pleocyemata* tienen filamentos en las branquias no ramificados e incuban sus huevos, los cuales nacen una fase más tarde que los *Nauplius* producidos en la incubación por los *Dendrobranchiados*. Este grupo contiene a la mayoría de los camarones conocidos, cangrejos, langostas y langostilla. Los camarones del infraorden *Caridea* (*Palaemon*, y *Macrobrachium*), poseen branquias filobranquias o aplanadas, que los separan de los camarones mayores y más robustos del infraorden *Astacidea* (que poseen filamentos branquiales tubulares Incobranquiados o no ramificados)

A continuación se muestra en la figura no. 1 la anatomía de una langosta, que es muy similar a la de un camarón, pero sin las pinzas, y que se toma como representativa de los crustáceos.



**Fig. 1: Anatomía de una langosta.**  
(Fuente: Microsoft Encarta 2000)

Para la presente tesis se utilizaron camarones *Pnaeus* (Figura 2) y camarón *Caridean* de la especie *Macrobracium* (Figura 3), específicamente.

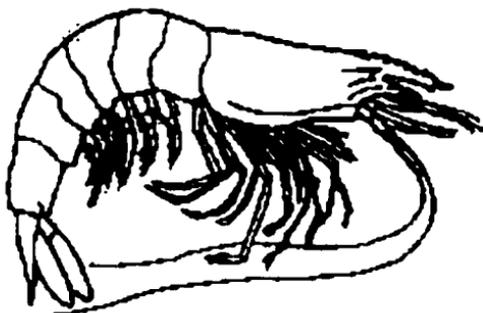


Figura 2: Camarón *Pnaeus*  
(Fuente: Macrae et al., 1993)

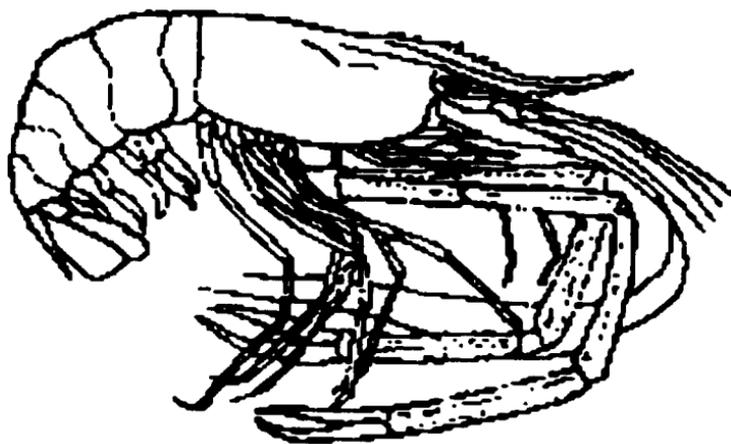


Figura 3: Camarón *Caridean macrobracium*  
(Fuente: Macrae et al., 1993)

Como se puede observar en las figuras anteriores, los camarones *Caridean* de la especie *Macrobrachium*, presentan extremidades anteriores biramificadas y son uno de los 5 pares de apéndices cefálicos, así que generalmente su peso promedio supera al de la especie *Pnaeus*.

### Composición Química del Camarón

En el cuadro 2 se presenta la composición del camarón *Pnaeid* (por 100 g de materia prima)

**Cuadro 2: Composición del Camarón *Pnaeid***

COMPONENTE	
Energía	87-100 kcal
Carbohidratos	0-2.7 g
Proteína	17-22 g
Grasa Total	0.4-0.8 g
<b>Ácidos grasos</b>	
Saturados	0.11-0.2 g
Monosaturados	0.05-0.15 g
Polinsaturados	0.09-0.49 g
n-3	0.07-0.34 g
Colesterol	96 mg

Fuente: Macrae et al. 1993

### Composición aproximada del camarón fresco y congelado:

Como puede observarse en el siguiente cuadro, los cambios en el análisis químico proximal del camarón fresco y congelado son mínimos, y para efectos de la presente tesis se utilizó principalmente camarón congelado

**Cuadro 3: Comparación de la composición química proximal del camarón fresco en base húmeda y seca**

CAMARÓN FRESCO	Base húmeda	Base seca
Humedad	79.69±0.40 %	-
Proteína	17.428 ± 0.329%*	85.81±1.62 %
Grasa	1.249 ± 0.1848 %*	6.15±0.91 %
Ceniza	No determinada	No determinada

Fuente: Simpson et al. 1998

**Cuadro 4: Comparación de la composición química proximal del camarón congelado en base húmeda y seca.**

<b>CAMARÓN CONGELADO</b>	<b>Base húmeda</b>	<b>Base seca</b>
<b>Humedad</b>	75.13±0.75%	*
<b>Proteína</b>	21.49 ±- 0.41%*	86.41±-1.65 %
<b>Grasa</b>	1.076 ±- 0.194%*	4.33±0.78 %
<b>Ceniza</b>	2.0443 ±- 0.0149 %*	8.22±-0.06 %

Fuente: Simpson et al, 1998

Además de buenas fuentes de proteína, los camarones y en general los crustáceos, poseen un caparazón quitinoso del cual puede extraerse la quitina por medio de un proceso de purificación, y de la cual, puede obtenerse una forma desacetilada llamada quitosán que tiene numerosas y cada vez más campos de aplicación.

A continuación, se incluyen las generalidades sobre quitina y quitosán, sus respectivas estructuras químicas, fuentes, propiedades, aplicaciones y proceso de obtención.

## GENERALIDADES

• **QUITINA** .- La quitina es un problema de disposición de desechos creciente, está ampliamente distribuida en la naturaleza. La quitina representa del 14 al 27 % del peso seco de los desechos del proceso del camarón y del 13 al 15% del peso seco del cangrejo, respectivamente. Es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza, después de la celulosa. La estructura química de la quitina es similar a aquella de la celulos, es un aminopolisacárido con 2-acetamido-2-deoxi-beta-D-glucosa (NAG) monómeros ligados via enlaces beta (1-4). La quitina se encuentra como el componente estructural mayoritario del exoesqueleto de invertebrados (crustáceos e insectos) y las paredes celulares de hongos.

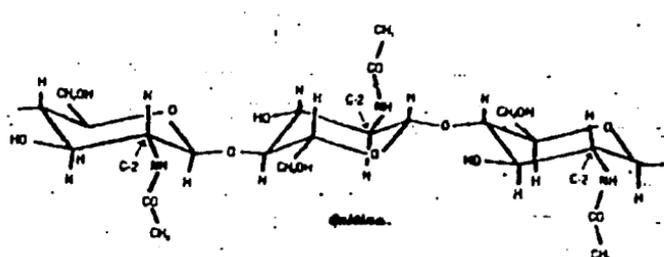
La palabra "quitina" se deriva de la palabra griega "chiton" que significa capa y es un glicano enlazado por beta (1-4), pero está compuesto de 2-acetamido-2-deoxi-beta-D-glucosa (N-acetilglucosamina), uno de los polisacáridos más abundantes, llamado poli-beta(1-4)-2acetamido-2-deoxi-D-glucosa. En las figuras 4 y 6 pueden apreciarse las estructuras de la quitina.

Se producen aproximadamente 1600 toneladas de quitina en el mundo cada año. De éstas, una gran proporción es convertida por acetilación en quitosán. (Kobeltje, 1989).

• **QUITOSÁN** es una forma desacetilada de la quitina, la cual, a diferencia de la quitina, es soluble en soluciones ácidas.

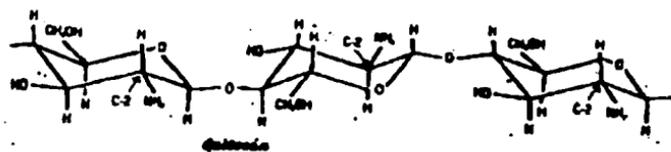
"Quitosán" es el nombre usado para formas sustituidas de quitina, bajas en acetil y está compuesto principalmente por glucosamina, 2-amino-2-deoxi-beta-D-glucosa, conocido como (1-4) -2-amino-2-deoxi-(D-glucosa). El quitosán tiene tres tipos de grupos funcionales reactivos, un amino grupo así como ambos grupos primario y secundario en las posiciones C-2, C-3 y C-6 respectivamente. En las figuras 5 y 7 pueden apreciarse las estructuras del quitosán.

En las figuras 4 y 5 se muestran las estructuras químicas de la quitina y el quitosán



**Figura 4:** Estructura Química de la Quitina

(Fuente: Muzzarelli, 1968)



**Figura 5:** Estructura Química del Quitosán

(Fuente: Muzzarelli, 1968)

En las figuras 6 y 7 pueden apreciarse las respectivas unidades estructurales de la quitina y del quitosán.

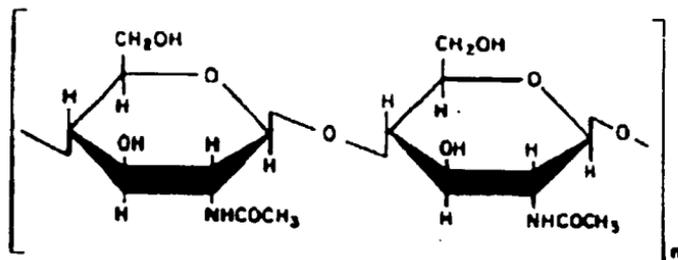


Figura 6: La unidad estructural repetitiva de la quitina (Quitobiosa).  
Fuente Brne

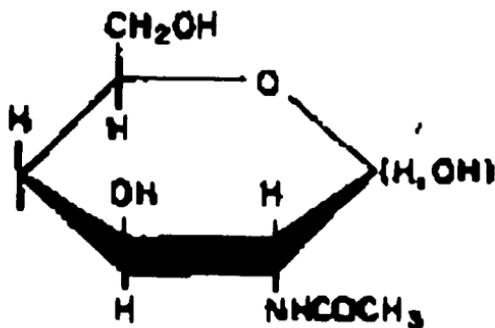


Figura 7: Unidad estructural del quitosán (N-Acetil-D-glucosamina) (GINAc).  
Fuente Brne

## FUENTES Y POTENCIALIDAD DE QUITINA Y QUITOSÁN.

Existen muchas fuentes de quitina, además de los crustáceos, está el zooplancton, el krill y algunos hongos. En el cuadro 5 se anotan las principales fuentes de quitina:

**Cuadro 5: FUENTES DE QUITINA**

Fuentes de quitina.	Cantidad cosechada (ton x 10 <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	Como fracción de la cosecha (%)	Peso Húmedo (ton x 10 <sup>3</sup> )	Contenido de sólidos (%)	Peso seco (ton x 10 <sup>3</sup> )	Potencial de quitina. <sup>a</sup> (ton x 10 <sup>3</sup> )
Crustáceos <sup>a</sup>	1,700	50-60	468	30-35	154	39
Krill <sup>f</sup>	18,200	40	3,640	22	801	56
Almejas, ostras <sup>g</sup>	1,390	65-85	521	90-95	482	22
Calamar <sup>g</sup>	660	20-40	99	21	21	1
Hongos <sup>h</sup>	790	100	790	20-26	182	32
Insectos	Despreciable	-	-	21-56	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>22,740</b>	<b>-</b>	<b>5,118</b>	<b>-</b>	<b>1,640</b>	<b>150</b>

(Fuente: Knorr, D., 1984)

<sup>a</sup>Los estimados se basan en valores medios y fueron dados en toneladas métricas 10<sup>3</sup>

<sup>b</sup>Se considera que sólo la mitad de los organismos cosechados se procesan excepto para hongos en donde la producción entera es ya procesada para el principal producto de fermentación.

<sup>c</sup>Calculado utilizando los valores de contenido de quitina medios.

<sup>d</sup>Los crustáceos incluyen al cangrejo, camarón, langosta y langostino.

<sup>e</sup>Desembarques promedio de 5 años (1970-1974)

<sup>f</sup>FOA (Roma) Proyección de desembarques potenciales

<sup>g</sup>Calculados suponiendo que el modelo es 50% agua.

<sup>h</sup>Subproductos de la manufactura del ácido cítrico y antibióticos; se supone que la cantidad de ácido cítrico y su micelio son equivalentes, el desperdicio de antibiótico es 50% no micótico y la producción mundial es dos veces la de los Estados Unidos

## PROPIEDADES DE LA QUITINA Y EL QUITOSÁN

Las principales propiedades de la quitina y el quitosán son:

### \* ASPECTOS NUTRICIONALES Y DE SEGURIDAD DE LA QUITINA Y EL QUITOSÁN:

Sólo una dosis de concentración por arriba de los 18 g de quitosán por kg de peso corporal por día fueron tóxicos para ratones. El quitosán es un coadyuvante como coagulante de proteínas para recuperar proteínas a partir de desechos de la industria procesadora de alimentos. Además, se ha demostrado que el quitosán tienen propiedades hipolipidémicas e hipocolesterolémicas (Nagyvary et al., 1979; Sugano et al., 1980)

### \* PROPIEDADES HIDROFÍLICAS:

El quitosán, a diferencia de la quitina que es insoluble en muchos disolventes ordinarios y que es un producto completamente soluble en ácidos orgánicos y en ácidos inorgánicos diluidos; es soluble en ácido nítrico, en ácido fosfórico al 0.5%, e insoluble en ácido sulfúrico a cualquier temperatura ambiente, el mejor solvente para el quitosán es el ácido fórmico. (Fillar y Wirik, 1978; Tracey, 1957; Kienzie-Sterzer et al., 1982).

### \* PROPIEDADES INTERFÁSICAS:

El quitosán se usa como aditivo alimenticio secuestrante de lípidos o preparación farmacéutica. La absorción de grasa de la quitina, quitina microcristalina, y el quitosán también han sido examinados (Knorr, 1982), en un intervalo de 170 hasta 215%.

### \* PROPIEDADES DE QUELACIÓN:

El quitosán y la quitina poseen propiedades de quelación de colorantes, utilizando el colorante Rojo 40 FDC&C, y se ha demostrado (Knorr, 1982; Watkins y Knorr, 1983) la capacidad del grupo acetamido para actuar como un intercambiador de iones y que éste es el factor determinante en las propiedades de absorción de la quitina

### \* PROPIEDADES INTERMOLECULARES:

Se ha demostrado que la quitina microcristalina produce dispersiones, y propusieron su utilización como estabilizante y espesante de alimentos (Dunn y Farr, 1971). Se han realizado también estudios concenmientos a las propiedades de formación de películas (Mc Neely, 1959; Muzzarelli, 1976).

• **PROPIEDADES SENSORIALES:**

La pirólisis de la quitina a 900°C reveló un gran número de compuestos de sabor ahumado (Muzzarelli, 1977).

• **PROPIEDADES DE LEUDANTE:**

Como leudante en panes de harina de trigo y en panes fortificados con proteínas a diferentes niveles de adición de agua resultaron en volúmenes de la hogaza específicos incrementados con el aumento en la adición de quitina microcristalina (Knorr y Betschart, 1978, 1981). También se ha demostrado que la quitina tiene propiedades surfactantes.

• **RECUPERACIÓN DE BIOMASA:**

Se ha encontrado que el quitosán es un polímero carbohidrato policatiónico que es particularmente efectivo en la coadyuvación para la coagulación de proteína a partir de los desechos del proceso de alimentos (Bough, 1976; Fugita, 1972). Reduce los sólidos suspendidos de variados desechos de alimentos entre un 70 a 98%. Bough y Landes (1978) afirmó que sin duda, el quitosán es un efectivo agente coagulante. Kargi y Shuler (1980) indicaron las capacidades potenciales floculantes de la quitina pero encontraron que son menos efectivas que las del quitosán para la remoción de los sólidos totales.

• **REMOCIÓN DE SUSTANCIAS NO DESEADAS:**

Se ha demostrado la utilidad potencial de la quitina y el quitosán para la remoción de metales no deseados tales como el mercurio, hierro, zinc, cobre, cromo, plutonio, y uranio (Elden et al., 1980; Galun et al., 1983; Marsi et al., 1974; Muzzarelli, 1977; Silver, 1978). También ha sido demostrada la separación de trazas de elementos de agua marina por cromatografía en el quitosán (Muzzarelli y Weckx, 1972) La absorción de colorantes, (McKay et al., 1982), la capacidad del quitosán para remover taninos (Penistan y Johnson 1970), y un proceso para deacidificar el extracto de café por medio de la reducción del contenido de ácido clorogénico tanto como otros ácidos como el oxálico, cítrico, fumárico, málico, pínico, quínico y/o caféico (Maguolato, 1978); además que se ha comprobado la remoción de pesticidas por medio de quitina y quitosán (Kemp and Wightman, 1981, Muzzarelli, 1977). Puede ser muy efectivo como ayuda filtro en la purificación de agua (Kawamura 1982)

**\* ACARREADOR BIODEGRADABLE:**

La quitina ha sido utilizada para inmovilizar enzimas incluyendo la ácido fosfatasa, la glucosa isomerasa, la D-glucosa oxidasa, la beta-galactosidasa, la alfa-quimotripsina glucoamilasa, tripsina, ureasa, tripsina, pronasa subtilisin, diastasa, beta.amilasa, invertasa, lisozima, y la amiloglucosidareasa.

**\* FUTURAS APLICACIONES Y LIMITACIONES:**

Uno puede concluir que existen tres claves para la aplicación de los compuestos y aplicaciones futuras de la quitina y sus polímeros derivados. 1) Como agente para tratamiento en sistemas acuosos, 2) Como ingrediente funcional, y 3) como un nuevo polímero para evolucionar la tecnología de los polímeros. El tratamiento de sistemas acuosos puede incluir la reducción de los sólidos totales y la recuperación de proteínas de los desechos de procesos, la purificación de procección de aguas de proceso y para beber, así como la remoción de sustancias no deseadas en bebidas (remoción de ácidos; clarificación de ácidos, clarificación de jugos, fruta, y vino, etc...) Los usos de la quitina y el quitosán como ingredientes funcionales para alimentos, son muchas: el quitosán se utiliza en el control de textura, (Kienzie-Sterzer al., 1982; Rodriguez-Sanchez y Rha, 1981). También por sus propiedades de producción de pirazinas bajo degradación térmica, existe un gran potencial para desarrollar extensores de sabores naturales, también se utiliza para mejorar el flujo de ingredientes secos, para proveer volumen, controlar viscosidad y para incrementar el contenido de fibra.

(Knorr, D., 1984).

## APLICACIONES DE QUITINA Y QUITOSÁN

Existe una gran diversidad de aplicaciones en los que la quitina y el quitosán participan, a continuación se anexa un cuadro resumen de las aplicaciones encontradas en la bibliografía.

**CUADRO 6: RESUMEN DE APLICACIONES DE QUITINA Y QUITOSÁN**

AREA DE APLICACIÓN	EJEMPLOS
<i>Agente antimicrobiano</i>	Bactericida, fungicida, medición de contaminación por hongos en mercancías agrícolas, inhibidor del crecimiento bacteriano. +
<i>Industria de las películas comestibles.</i>	Transferencia controlada de humedad entre el alimento y su medio circundante, liberación controlada de sustancias antimicrobianas; liberación controlada de antioxidantes; liberación controlada de nutrientes, sabores y medicamentos; reducción de la presión parcial del oxígeno; control de tasa de respiración; control de temperatura; control del oscurecimiento enzimático en frutos; membranas para ósmosis inversa. +
<i>Aditivos</i>	Clasificación y deacidificación de frutos y bebidas; extensor de sabores naturales; agente de control de textura; agente emulsificante; mimético de alimentos; agente espesante y estabilizante; estabilizante de color; regulador de formación de cristales de hielo en alimentos congelados. +
<i>Calidad nutricia</i>	Fibra dietética; agente hipocolesterolémico; aditivo para alimento de peces y ganado; reducción de la absorción de lípidos; producción de proteína celular; agente antiagrástrico; ingrediente en alimentos para bebés; estimulante del sistema inmune. +
<i>Recuperación de materiales sólidos en desechos de procesamiento de alimentos.</i>	Floculación por afinidad; fraccionamiento de agar; recuperación de proteínas, grasas y carbohidratos de buena calidad; reducción de sólidos totales; coagulante del suero de quesería. +
<i>Purificación de agua</i>	Recuperación de iones metálicos, pesticidas, fenoles; remoción de tintas, metales, sales. Floculación/coagulación, filtración y desalinización. + *
<i>Medicina</i>	Elaboración de vasos sanguíneos artificiales, medicamentos antiinflamatorios, control del colesterol, inhibición de tumores, antiviral, inhibición de placa dental, vendas, elaboración de piel artificial, lentes de contacto, liberación de fármacos, en la implantación de huesos. *
<i>Cosméticos</i>	Elaboración de maquillaje, esmalte de uñas, humectantes, fijador, shampoo, lociones, crema para manos, pasta dental. *
<i>Pulpa y papel</i>	Tratamiento de superficie, papel fotográfico, papel carbón para copias, aditivo procesador. *
<i>Textiles</i>	Tratamiento de acabado, fijador de colorantes, filamentos para tejidos *
<i>Agricultura</i>	Revestimiento de semillas y de hojas, fertilizantes hidropónicos, liberación controlada de agroquímicos. *
<i>Producción Química</i>	Producción de Glucosamina y Sulfato de glucosamina, oligosacáridos, Quitosán y derivados. *
<i>Productos de Separación</i>	Separación quiral de fármacos, bioseparación, pervaporación. *
<i>Alimentos</i>	Remoción de turbidez de líquidos (jugos y bebidas); como conservador, estabilizador del color, productos para perder peso, empaques biodegradables. *
<i>Otras aplicaciones</i>	Inmovilización de enzimas; encapsulación de nutrientes, cromatografía, agentes analíticos, recuperación de células y de diferentes cultivos de microalgas utilizadas en manicultura. + *

(Fuente: Cruz y Pérez, 1998. \* Suardi et al 1999)

## PROCESO DE OBTENCIÓN DE QUITINA Y QUITOSÁN.

Existen diversos métodos de obtención de quitina y quitosán. En la figura 8 se anexa un diagrama de flujo modificado que incluye el proceso de obtención simplificado junto con sus productos y subproductos.

Diagrama de flujo simplificado para preparación de quitina, quitosán, sus oligómeros y monómeros a partir de desechos de crustáceos\*

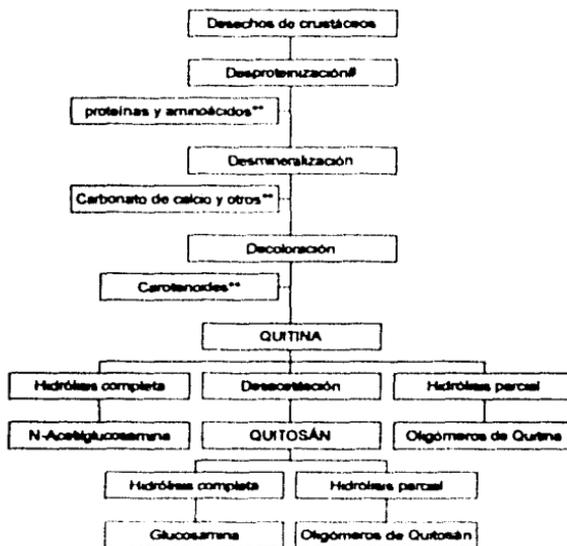


Figura 8: Diagrama de flujo de preparación de quitina y quitosán.

Fuente: Muzzarelli, R., 1977 \*\*Subproductos

La presente investigación busca recuperar la proteína que se desecha en la fase del proceso de obtención de quitina durante la desproteínización (#)

Como puede observarse en el diagrama de flujo del proceso anterior, es necesaria la desacetilación para obtener quitosán a partir de la quitina

En la figura 9, se muestra la obtención de quitosán a partir de la quitina durante la desacetilación:

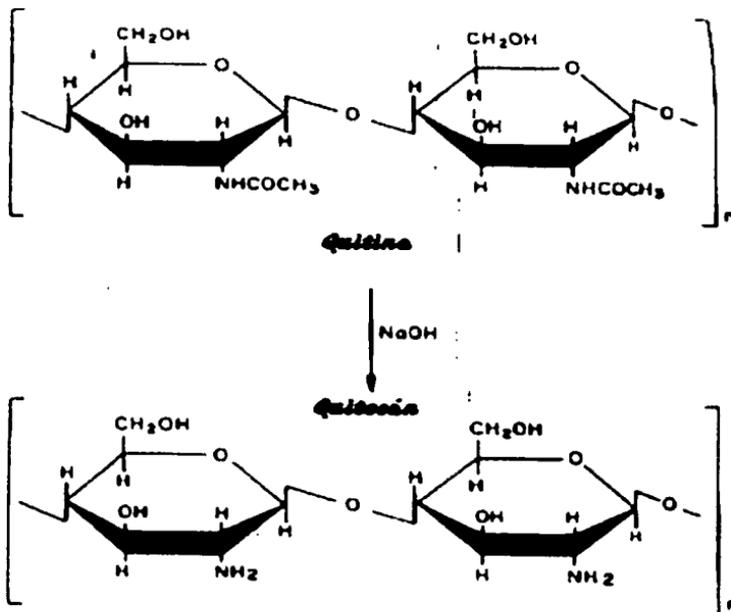


Figura 9: Obtención de quitosán por desacetilación a partir de quitina  
(Fuente Brine)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En el cuadro 7 se muestra el análisis químico proximal del camarón de la especie *Crangnon crangnon*, que si bien no es la especie utilizada para la presente tesis, puede tomarse como base y para observar cuáles aminoácidos y posee la proporción aproximada en la que deberán encontrarse en el análisis cromatográfico de la especie utilizada para esta tesis.

<b>Cuadro 7: ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DEL CAMARÓN.</b>					
<i>Especie : Crangnon crangnon (L.)</i>					
	<b>UNIDADES</b>	<b>PROTEÍNA</b>	<b>GRASA</b>	<b>CARBOHIDRATOS</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Energía(Promedio) / 100 g</b>	<b>KJOULE</b>	<b>342.0</b>	<b>57.0</b>	<b>0.0</b>	<b>400.0</b>
<b>De porción comestible</b>	<b>(KCAL)</b>	<b>82.0</b>	<b>14.0</b>	<b>0.0</b>	<b>96.0</b>
<b>Cantidad de constituyentes</b>	<b>GRAMOS</b>	<b>18.0</b>	<b>1.4</b>	<b>0.0</b>	
<b>Digeribles por 100 g</b>					
<b>Valor energético(promedio)</b>	<b>KJOULE</b>	<b>332.0</b>	<b>54.0</b>	<b>0.0</b>	<b>387.0</b>
<b>de la fracción digerible por</b>	<b>(KCAL)</b>	<b>79.0</b>	<b>13.0</b>	<b>0.0</b>	<b>92.0</b>
<b>100 g de porción</b>					
<b>comestible.</b>					
<b>Porcentaje promedio de desperdicio = 57</b>		<b>Mínimo = 49</b>		<b>Máximo= 66</b>	

Fuente: Food Composition Nutrition Tables 1989/1990

## Continuación Cuadro 7: ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DEL CAMARÓN

(Especie: *Crangnon crangnon* (L.))

CONSTITUYENTES	DIMENSIÓN <sup>1</sup>	PROMEDIO <sup>2</sup>	VARIACIÓN	PROMEDIO <sup>3</sup>	DENSIDAD DEL NUTRIENTE <sup>4</sup>	MOL POR C. <sup>5</sup>
Agua	Gramos	78.4	76.7 a 79.70	33.71	GRAMO / MJ	202.83
Proteína	Gramos	18.6	16.4 a 21.30	8	GRAMO / MJ	48.12
Grasa	Gramos	1.44	0.8 a 2.30	2	GRAMO / MJ	3.73
Minerales	Gramos	1.38	1.2 a 1.7	0.59	GRAMO / MJ	3.70
Sodio	Mili	146	140 a 150.00	62.78	MIL/MJ	377.73
Potasio	Mili	266	220 a 312.00	114.38	MIL/MJ	688.19
Magnesio	Mili	67	42 a 92.00	28.81	MIL/MJ	173.34
Calcio	Mili	92	63 a 115.00	39.56	MIL/MJ	238.02
Manganeso	Micro	30	0 a 50.00	12.9	MICRO/MJ	77.62
Hierro	Mili	1.76	1.3 a 2.15	0.76	MIL/MJ	4.55
Cobalto	Micro	12	0 a 0	5.16	MICRO/MJ	31.05
Cobre	Mili	0.24	0.08 a 0.43	0.1	MIL/MJ	0.62
Zinc	Mili	2.31	1.75 a 3.10	0.99	MIL/MJ	5.98
Níquel	Micro	3	0 a 0	1.29	MICRO/MJ	7.76
Molibdeno	Micro	3	0 a 0	1.29	MICRO/MJ	7.76
Fósforo	Mili	224	166 a 300.00	96.32	MIL/MJ	579.53
Flúor	Mili	0.16	0.1 a 0.25	0.07	MIL/MJ	0.41
Yodo	Mili	0.13	0 a 0.0	0.06	MIL/MJ	0.34
Boro	Micro	10	0 a 0.0	4.3	MICRO/MJ	25.87
Selenio	Micro	41	28 a 51.00	17.63	MICRO/MJ	106.07
Vitamina A	-	trazas	0 a 0	0	MICRO/MJ	0.00
Vitamina B1	Micro	51	20 a 70.00	21.93	MICRO/MJ	131.95
Vitamina B2	Micro	34	27 a 45.00	14.62	MIL/MJ	87.96
Nicotinamida	Mili	2.43	1.5 a 3.20	1.04	MIL/MJ	6.29
Ácido Pantoténico	Mili	0.37	0 a 0	0.16	MIL/MJ	0.96
Vitamina B6	Mili	0.13	0.1 a 1.15	0.06	MIL/MJ	0.34
Biotina	Micro	1	0 a 0	0.43	MICRO / MJ	2.59
Ácido Fólico	Micro	7.4	0 a 0	3.18	MICRO / MJ	19.15
Vitamina B12	Micro	0.83	0.73 a 0.93	0.36	MICRO / MJ	2.15
Vitamina C	Mili	1.9	0 a 0	0.82	MIL/MJ	4.92

Fuente: Food Composition Nutrition Tables 1989/1990<sup>5</sup>

1 Dimensión = g, mg, µg

2 Promedio = valor promedio /100 g de porción comestible

3 Promedio = Valor promedio en porción comestible / 100 g de producto en crudo

4 Densidad del Nutriente = cantidad de constituyente (g, mg, µg) Anergia total de nutrientes digeribles (MegaJoule)

5 Mol por C = MxI por constituyente

## Continuación Cuadro 7: ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DEL CAMARÓN

(Especie : *Crangon crangon* (L.)

CONSTITUYENTES	DIMENSIÓN <sup>1</sup>	PROMEDIO <sup>2</sup>	VARIACIÓN		PROMEDIO <sup>3</sup>	DENSIDAD DEL NUTRIENTE <sup>4</sup>	MOL POR C. <sup>5</sup>	
Alanina	Gramos	1.4	1.17	a 1.55	0.6	Gramo/MJ	3.62	9.3
Arginina	Gramos	1.74	1.22	a 2.68	0.75	Gramo/MJ	4.5	5.9
Ácido aspártico	Gramos	2.05	1.56	a 2.39	0.88	Gramo/MJ	5.3	9.1
Cistina	Gramos	0.31	0.22	a 0.43	0.13	Gramo/MJ	0.8	0.6
Ácido glutámico	Gramos	3.25	3.03	a 3.50	1.4	Gramo/MJ	8.41	13.1
Glicina	Gramos	1.54	0.89	a 2.21	0.66	Gramo/MJ	3.98	12.1
Histidina	Gramos	0.41	0.34	a 0.79	0.18	Gramo/MJ	1.08	1.6
Isoleucina	Gramos	1.0	0.76	a 1.23	0.43	Gramo/MJ	2.59	4.5
Leucina	Gramos	1.97	1.48	a 3.15	0.85	Gramo/MJ	5.1	8.9
Lisina	Gramos	2.02	1.4	a 4.17	0.87	Gramo/MJ	5.23	8.2
Metionina	Gramos	0.67	0.5	a 1.00	0.29	Gramo/MJ	1.73	2.7
Fenilalanina	Gramos	0.88	0.72	a 1.09	0.38	Gramo/MJ	2.28	3.2
Prolina	Gramos	0.67	0.6	a 1.00	0.37	Gramo/MJ	2.25	4.5
Serina	Gramos	0.75	0.62	a 0.90	0.32	Gramo/MJ	1.94	4.2
Treonina	Gramos	0.65	0.72	a 1.05	0.37	Gramo/MJ	2.2	4.2
Triptofano	Gramos	0.21	0.08	a 0.32	0.09	Gramo/MJ	0.54	0.6
Tirosina	Gramos	0.65	0.21	a 1.03	0.26	Gramo/MJ	1.68	2.1
Valina	Gramos	0.99	0.76	a 1.38	0.43	Gramo/MJ	2.56	5.0
Cadaverina	Mili	0.3	0	a 0	0.13	Mili/MJ	0.78	*
Putrescina	Mili	0	0.5	a 1.00	*	*	*	*

Coolesterol	Mili	138	125	a 150.00	59.34	Mili/MJ	357.03	*
-------------	------	-----	-----	----------	-------	---------	--------	---

Puntas Totales	Mili	147.00	60	a 234.00	36.21	Mili/MJ	380.32	*
----------------	------	--------	----	----------	-------	---------	--------	---

Fuente: Food Composition Nutrition Tables 1989/1990<sup>5</sup>

1 Dimensión = g, mg, µg

2 Promedio = valor promedio /100 g de porción comestible

3 Promedio = Valor promedio en porción comestible / 100 g de producto en crudo

4 Densidad del Nutriente = cantidad de constituyente (g mg µg) / Energía total de nutrientes digeribles (Mega joule)

5 Mol por C = Mol por constituyente

# **OBJETIVOS**

**OBJETIVOS :****OBJETIVO GENERAL:**

Recuperación de proteína de los efluentes del proceso de obtención de quitina a partir de cabezas de camarón de la especie *Candean macrobracium* llevando a cabo una precipitación de los efluentes.

**OBJETIVOS PARTICULARES:****OBJETIVO PARTICULAR 1:**

Conocer el análisis químico de las cabezas de camarón de la especie (*Candean macrobracium*) por medio de técnicas oficiales para conocer su composición química.

**OBJETIVO PARTICULAR 2:**

Realizar la separación de la carne de las cabezas de camarón a diferentes concentraciones de reactivo para establecer la vía de separación más conveniente.

**OBJETIVO PARTICULAR 3:**

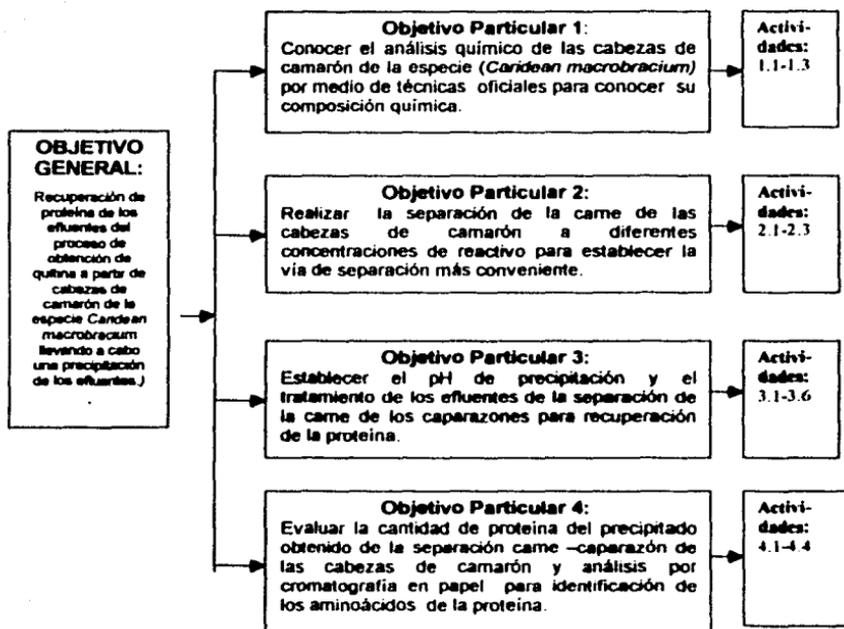
Establecer el pH de precipitación y el tratamiento de los efluentes de la separación de la carne-exoesqueleto para recuperación de la proteína

**OBJETIVO PARTICULAR 4:**

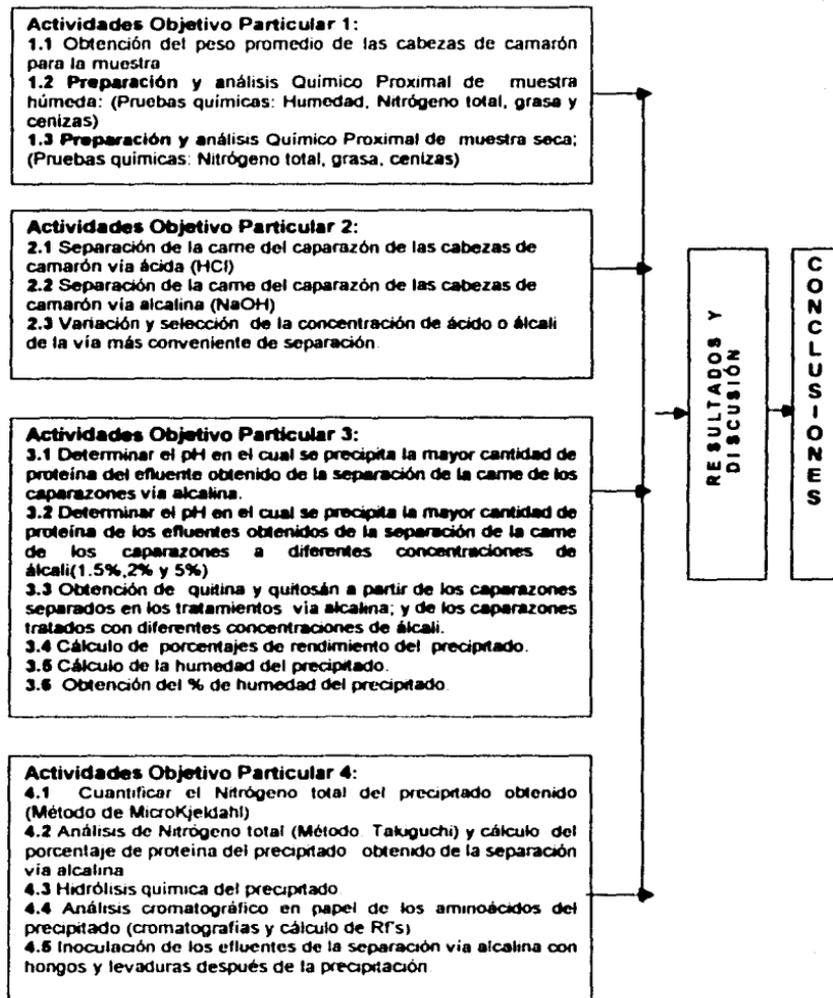
Evaluar la cantidad de proteína del precipitado obtenido de la separación carne -caparazón de las cabezas de camarón e identificar por cromatografía en papel los aminoácidos de la proteína

# **METODOLOGÍA**

CUADRO 8: CUADRO METODOLÓGICO



## CONTINUACIÓN CUADRO 8: CUADRO METODOLÓGICO



## MATERIALES Y MÉTODOS

### TÉCNICAS UTILIZADAS:

Para el análisis de las cabezas de camarón frescas y para el precipitado se utilizaron diversas técnicas; a continuación se menciona el nombre de la técnica y la finalidad de su aplicación en la presente investigación:

**Micro Kjeldahl**, para determinación de nitrógeno total en la muestra ya sea del precipitado seco o de cabezas de camarón frescas (AOAC).

**Tagiguchi** para determinación de proteína en el precipitado (Shimara et al, 1988).

**Souhlet**, para determinación de grasa de las cabezas de camarón y del precipitado seco (AOAC).

**Cenizas totales**, para determinación de minerales en la muestra (AOAC).

**Humedad total por estufa**, para determinar la humedad en la muestra fresca (AOAC).

### EQUIPOS UTILIZADOS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN:

1. Molino de mano Azteca #2
2. Balanza Granataria Harvard Tnp. Cap. 2 kg- 5 lb
3. Balanza Analítica OHAUS AS200 Analytical Std.
4. Espectrofotómetro Spectronic 20 Bausch & Lomb
5. Potenciómetro electrónico Hanna Instruments HI9017 con Microprocesador
6. Autoclave 21 litros Presto Industrias Steele Méx.
7. Horno de laboratorio 300°C Aparatos de Laboratorio, México
8. Estufa 400°C Modelo 30GC Lab Oven
9. Vortex Super Mixer Cat. # 1290 11 5 Volts 50/60 CY USA
10. Parrilla Agitador eléctrico Rühromag Tipo RH22 Modelo Retsch 425 Watt/110 Volts/Nr 425 54
11. Micropipeta Transferpette 20 microlitros Merck Typfix # 704117 Alemania
12. Agitador rotatorio New Brunswick Scientific Co. Inc Edison, NJ USA. Controlled Environment Incubator Shaker

13. Cámara para cromatografía de vidrio.
14. Muffa Mod. MISA-1A # Serie MI-316 Blue M Electric Co. USA 120 V/PH/50-80 HZ/1000°-1832°F
15. Destilador MicroKjeldahl Labconco
16. Centrífuga Beckman GPR USA
17. Estufa Mod HSCE-48 Rios Rocha 127 Volts / 15 A/300°C
18. Digestor para 6 matraces MicroKjeldahl Labconco
19. Agitador Magnético PC-353 Corning
20. Rotavapor Heidolph Laborota 4000 WB 270 rpm /100°C
21. Mantilla
22. Reostato Staco tipo 2PF1010

#### **MATERIAL ADICIONAL UTILIZADO DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN:**

1. Tubos para centrifuga Centrifugation tubes 50 ml VWRbrand
2. Matraces Microkjeldahl Kimax
3. Cristalería para extracción de Grasa Soxhlet: refrigerante de rosario, trampa Soxhlet, matraz bola.

#### **REACTIVOS UTILIZADOS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN:**

1. Colección de Aminoácidos
2. NaOH q.p. en escamas PM 40.0/ Pureza 98.6%/ comp. Con N2 0.001%
3. HCl PM 36.465 /gr. Esp. @ 60°/60°F 1.192/ Pureza 3737%
4. 2- Mercaptoetanol  $C_2H_6OS$  Pureza  $\geq 98\%$  (60-24-2) EEC FW 78.13
5. Ninhidrina  $C_7H_6O_4$  Merck 2,2-Dihidroxiindan-1,3-dion
6. Hidrindantin  $C_{18}H_{10}O_6$  SIGMA Contenido de Agua 2.0 mol/mol

## ACTIVIDADES POR OBJETIVOS:

**1. Realizar el análisis químico proximal de las cabezas de camarón de la especie (*Caridean macrobracium*) por medio de técnicas oficiales para conocer su composición química.**

**1.1 Obtención del peso promedio de las cabezas de camarón para la muestra.**

Se pesaron aproximadamente 800 g de cabezas de camarón, divididos en 27 lotes de 5 cabezas de camarón de la especie *Pnaeus macrobracium* sobre una charola de aluminio en una balanza granataria Harvard Trip.

**1.2 Preparación y análisis Químico Proximal de muestra húmeda: (Determinación de: Humedad, Nitrógeno total, grasa, y cenizas totales).**

**Muestra húmeda:** Se descongelaron aproximadamente 500 g de cabezas y después de escurrir el exceso de agua, se realizó la molienda en un molino de granos Azteca #2.

Tras la molienda se recogió la muestra en frascos de vidrio limpios, se taparon y refrigeraron hasta su utilización.

**Cenizas totales.**

Se realizó la incineración de la muestra por triplicado según el método de análisis para cuantificar Cenizas totales (AOAC). Se evaporó el exceso de agua en un mechero de Bunsen, y se llevó a cabo la incineración a 550°C durante 1 hora mínimo en una mufla Blue M. Electric Co. USA Mod MISA-1A Núm. De Serie M1-316.

**Humedad.**

Se mezclaron 3 g de muestra húmeda con la arena seca previamente lavada a los ácidos y se colocó en 3 cápsulas de acero inoxidable —esta prueba se realizó por triplicado con 3 muestras

cuatro horas, según el método de humedad por estufa y se realizaron los cálculos también según el mismo método (AOAC).

#### *Nitrógeno total.*

Se realizó la digestión por triplicado de la muestra húmeda en los matraces de Kjeldahl con ácido sulfúrico y sulfato de cobre en un digestor eléctrico Labconco, según el método de determinación de Nitrógeno total Microkjeldahl (AOAC) y posteriormente se colocó la muestra ya digerida en un destilador Microkjeldahl Labconco.

Tras la destilación, se recuperó el nitrógeno liberado en una solución de ácido bórico con indicador y se tituló dicha solución en agitación constante sobre un agitador magnético Corning Mod. PC-353, con una solución de ácido clorhídrico 0.01 N con indicador hasta que el color de la solución viró a color canela.

#### *Grasa.*

Se realizó la extracción de la grasa por triplicado de la muestra colocada en cápsulas de papel filtro para extracción, según el método de Soxhlet (AOAC) con éter de petróleo en el sistema armado con trampa Soxhlet, refrigerante de rosario, matraz bola de fondo plano colocado sobre una mantilla con reostato Staco Tipo 2PF1010, hasta que se produjeron las sifonadas indicadas por el método.

Posteriormente, se recuperó el disolvente en un Rotavapor Heidolph Laborota 4000 a 150 rpm a 42 °C y se guardó en refrigeración, evitando que la temperatura fuera muy alta y que evaporara la grasa extraída.

El matraz con la grasa extraída, se pesó en una balanza analítica OHAUS AS200 (Analytical Std.) y se realizaron los cálculos pertinentes de acuerdo al método de determinación de grasa de Soxhlet.

### **1.3 Preparación y análisis Químico Proximal de la muestra seca: (Pruebas químicas : Nitrógeno total, grasa, cenizas totales).**

**Muestra seca:** antes de la refrigeración, se colocó una pequeña cantidad de muestra ya molida en una cápsula de porcelana y se calentó sobre una parrilla calefactora Rürhomag tipo RH 22 Mod. Retsch a temperatura de 60 °C durante aproximadamente 2 horas hasta que se evaporó la humedad por completo.

Después se realizó una reducción de las partículas aglomeradas en un mortero de porcelana con pistilo del mismo material hasta tener un polvo fino y seco.

Se realizaron los mismos procedimientos por triplicado y se utilizó el mismo equipo para cada una de las pruebas realizadas a la muestra húmeda, excepto la prueba de humedad, ya que se utilizó la muestra seca para dichas pruebas.

## **2. Realizar la separación de la carne de las cabezas de camarón a diferentes concentraciones de reactivo para establecer la vía de separación más conveniente.**

### **2.1 Separación de la carne del caparazón de las cabezas de camarón vía ácida (HCl)**

Se colocaron en una cubeta 500 g de cabezas de camarón congeladas de la muestra en una solución al 5% v/v de HCl en una proporción de 1:20, a temperatura ambiente (30+/-2°C).

Se agitó el contenido de la cubeta esporádicamente con una varilla de vidrio y se dejó la muestra en la cubeta durante 6 días, al término de los cuales, se hicieron observaciones y se dejó de nuevo la misma muestra en la misma solución durante otros 6 días, al término de los cuales se tomó una muestra del efluente y se hicieron más observaciones.

### **2.2 Separación de la carne del caparazón de las cabezas de camarón vía alcalina (NaOH)**

Se colocaron en una cubeta 500 g de cabezas de camarón congeladas de la muestra en una solución al 1.5% de NaOH en una proporción de 1:20, a temperatura ambiente (30+/-2°C)

Se agitó el contenido de la cubeta esporádicamente con una varilla de vidrio y se dejó la muestra en la cubeta durante 6 días, al término de los cuales se hicieron observaciones del comportamiento de la muestra

Se separaron los efluentes de los caparazones, una vez separados éstos últimos de la carne

### **2.3 Variación y selección de la concentración de la vía más conveniente de separación.**

#### **2.3.1 Concentración de la solución: NaOH al 1.5% .**

Se colocaron 500 g de cabezas de camarón congeladas en 10 lt de una solución de NaOH al 1.5% de concentración y a temperatura ambiente; y una vez que se observó la separación de los caparazones de su respectivo tejido cármico (ver sección de resultados), se extrajeron de la cubeta los caparazones, se enjuagaron hasta neutralizar su pH, y se secaron en el horno, durante 18 hr, y se procesaron por separado hasta obtener quitina y quitosán.

#### **2.3.2 Concentración de la solución: NaOH al 2% .**

Se tomaron 500 gr de cabezas de camarón congeladas y se colocaron dentro de una solución de NaOH al 2%.

Se hicieron observaciones después de 3 horas, y después de 14.5 horas, al cabo de las cuales, se separaron los caparazones de los efluentes para tratarlos por separado, a los caparazones se les trató para obtener quitina y quitosán (ver sección resultados).

#### **2.3.3 Concentración de la solución: NaOH al 5%.**

Se colocaron 1 kg de cabezas de camarón en una cubeta con una solución de NaOH al 5% de concentración en razón de 1:20 a temperatura ambiente (30+/-2°C) y con agitación esporádica.

Se dejó la muestra en la solución durante 48 hrs, al cabo de los cuales se hicieron observaciones y se separaron los efluentes de los caparazones.

### **3. Establecer el pH de precipitación y el tratamiento de los efluentes de la separación de la carne de los caparazones para recuperación de la proteína.**

#### **3.1 Efluentes de la Vía de separación Alcalina:**

Se realizaron pruebas preliminares a los efluentes tras de la separación vía alcalina, con NaOH al 1.5% (en proporción de 1 20).

De los efluentes de separación alcalina al 1.5%, se tomaron aproximadamente 100 ml y se colocaron en frascos con 20 ml cada uno, posteriormente a cada frasco se le modificó el pH

con gotas de una solución concentrada de ácido clorhídrico (HCl) hasta alcanzar los pH's en los cuales hubo precipitación.

Se dejaron los frascos destapados a temperatura ambiente ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ) para que se evaporara el exceso de humedad para observar el precipitado obtenido.

Tras las pruebas preliminares, se precipitó el resto de los efluentes de la separación vía alcalina con HCl puro, hasta alcanzar el pH óptimo previamente encontrado en las pruebas preliminares y al cual se precipitó la mayor cantidad de proteína.

Se dejaron los matraces en reposo durante 24 horas aproximadamente para separar el precipitado del efluente por decantación.

Posteriormente, se realizó manualmente una separación entre el precipitado y el efluente; el precipitado se vació en tubos para centrifuga de 50 ml y se realizó una centrifugación en una centrifuga Beckman GPR USA durante 10 minutos a  $25^\circ\text{C}$ , y a 2500 rpm para separar la mayor cantidad de efluentes remanentes dentro del precipitado.

Una vez realizada la centrifugación, se vaciaron los efluentes con el resto de los mismos, y el precipitado compactado en el fondo de los tubos se guardó y refrigeró en frascos de vidrio limpios.

### **3.2 Encontrar el pH en el que precipitan la mayor cantidad de proteínas de los efluentes de separación carne-caparazón a diferentes concentraciones de álcali (1.5%, 2 % y 5%).**

#### **3.2.1 Determinación del pH de precipitación de los efluentes de tratamiento con álcali al 1.5%.**

A los efluentes de tratamiento de separación carne-caparazones a la concentración de 1.5% de álcali, se les separó en matraces Erlenmeyer de 2 litros, y se les disminuyó el pH a cada uno, hasta alcanzar el punto isoeléctrico al cual precipitó la mayor cantidad de proteína; tras la precipitación, se sedimentó el precipitado durante 72 horas en los matraces durante 24 horas, al cabo de las cuales, se separó el efluente del precipitado por medio de una centrifugación (Centrifuga Beckman, a 2500 rpm, 10 min;  $20^\circ\text{C}$ ) y se guardó el precipitado en frascos cerrados y en refrigeración. Se esterilizaron estos efluentes en autoclave y se llevó a cabo una

color y textura (ver sección Resultados). Una vez extraído el precipitado, se tomó una muestra del mismo y se colocó en una cápsula de porcelana, y se secó sobre la parrilla eléctrica a temperatura menor de 75°C. Una vez seco, se colocó en un mortero donde se le disminuyó el tamaño de partícula hasta hacerlo lo más homogéneo posible y para tener una cantidad del precipitado pulverizado y seco para su análisis químico.

### **3.2.2 Determinación del pH de precipitación de los efluentes de tratamiento con álcali al 2%.**

Del efluente de tratamiento de separación carne-caparazones a la concentración de 2% de NaOH, se tomó una muestra de 1 litro y se le disminuyó el pH con gotas de HCl puro hasta precipitar la proteína. Una vez precipitado, se separó manual y parcialmente el precipitado de los efluentes a las mismas condiciones en que se centrifugaron los efluentes de concentración 1.5% de NaOH (Centrifuga Beckman; a 2500 rpm; 10 min; 20°C). Se realizaron observaciones (ver sección Resultados).

### **3.2.3 Determinación del pH de precipitación de los efluentes de tratamiento con álcali al 5%**

De los efluentes de tratamiento de separación carne-caparazones a la concentración de 5% de NaOH, se tomó una muestra de 1 lt del efluente para realizar una precipitación preliminar con HCl (ver sección Resultados).

### **3.3 Obtener quitina y quitosán a partir de los caparazones separados en los tratamientos via alcalina y con diferentes concentraciones de álcali (1.5%, 2% y 5%).**

Tras la separación de los caparazones de los efluentes, se secaron los caparazones en el horno y se disminuyó su tamaño de partícula en el molino de mano, se pesaron los caparazones secos y molidos y se trataron con una solución de HCl al 5% v/v; para desmineralizarlos.

Una vez realizado éste tratamiento, se enjuagaron y se secaron en el horno; posteriormente fueron sometidos a una solución de álcali al 1.5% a 90°C durante una hora.

Se realizó el mismo proceso de enjuague y secado en el horno, y se volvieron a someter a otro tratamiento alcalino al 50% durante 1 hr a ebullición para obtención de quitosán.

### ***3.4 Cálculo de porcentajes de rendimiento del precipitado***

Una vez elegida la concentración ideal para la separación de los caparazones de su matriz de tejido orgánico, se realizó el proceso por triplicado para calcular el porcentaje de rendimiento.

### ***3.5 Obtención del porcentaje de humedad del precipitado después de la centrifugación***

Se pesaron 10 g de muestra del precipitado centrifugado húmedo, se colocaron en un crisol; posteriormente se colocó todo el sistema en el horno a 50°C durante 36 horas, y se llevaron a peso constante en desecador, una vez constante, se registró el peso del crisol con el precipitado seco, luego se retiró el precipitado con una espátula pequeña, se lavó el crisol y se llevó a peso constante en el horno y el desecador. Se registró el peso del crisol seco y se le restó al peso del crisol seco con el precipitado seco.

Se registraron los resultados y se hizo el cálculo del porcentaje de humedad contenida en el precipitado

***4. Evaluar la cantidad de proteína del precipitado obtenido de la separación carne – caparazón de las cabezas de camarón y analizarlo por cromatografía en papel para identificar los aminoácidos de la proteína.***

#### ***4.1 Cuantificar el porcentaje de Nitrógeno total del precipitado obtenido (método de MicroKjeldahl)***

Tomando en cuenta todos los factores de las diferentes concentraciones de separación inicial, se determinó que de las 3 concentraciones elegidas como de prueba, se tomarían sólo dos, que serían aquéllas que significaran el menor gasto de reactivos, y por medio de las cuales se obtuviera el mayor porcentaje de nitrógeno total

Se realizaron pruebas de Microkjeldahl por triplicado a las dos concentraciones elegidas. Y se tomó el criterio del mayor porcentaje de proteína para determinar la concentración óptima para el proceso de separación

**4.2 Análisis del contenido de Nitrógeno total (Método: Takiguchi) y cálculo del porcentaje de proteína del precipitado obtenido de la separación vía alcalina.**

Se tomaron las muestras de precipitado seco obtenidas; se secaron los precipitados obtenidos a la concentración de NaOH (2%), al precipitado húmedo, al precipitado seco y al precipitado seco desgrasado; con el objeto de cuantificar y comprobar la concentración a la que el proceso de separación representó mayor rendimiento o mayor porcentaje de proteína.

Se realizó el cálculo del porcentaje de proteína según el método de Takiguchi (Shimahara, K. y Takiguchi, Y., 1988) que se explica a continuación y se analizaron los resultados para las muestras de precipitado seco obtenidos de la separación con NaOH y a la concentración de 2%, tanto el precipitado seco como el seco desgrasado.

Se pesaron 0.3 g de muestra en un matraz de 100 ml (de polipropileno adicionando 50 ml de la solución de NaOH 10 N. Se envolvió con papel aluminio y se colocó en el autoclave a 121°C , durante 1 hr.

Posteriormente se enfrió y neutralizó con el HCl 12 N.

Se filtró en un filtro con gasa de poro 20-30 micro

Se lavó el filtrado con H<sub>2</sub>O destilada hasta obtener un volumen de 150 ml e solución.

De dicha solución se tomó una alícuota de 0.5 ml y se colocó en un tubo, se agregaron 5 ml de la solución buffer y 5 ml de la solución de ninhidrina-hidrodantina.

Se cubrió el tubo con papel aluminio y se colocó en agua a ebullición durante 10 min. Se enfriaron y se leyó la absorbancia a 564 nm. Se realizó un blanco igual pero en lugar de muestra sólo con agua

Después se realizó cada lectura de absorbancia por triplicado, es decir, se tomaron 3 tubos por muestra preparada (3 tubos de precipitado húmedo, 3 tubos de precipitado seco, y 3 tubos de precipitado seco y graso) Se anotaron las absorbancias y se realizaron los cálculos según la técnica para obtener el porcentaje de proteína

Se realizaron los cálculos con la fórmula siguiente:

$$P\% = 2.37 ( A 564/ W )$$

Donde :

P%= porcentaje de proteína

A= absorbancia

W = peso de la muestra

#### **4.3 Hidrólisis química del precipitado.**

Se realizó la hidrólisis de 1g de precipitado seco. La hidrólisis química consta de los siguientes pasos:

a) *Eliminación de Lípidos:* Se realizaron cinco lavados en sucesión (de 5 ml aproximadamente) con acetona, benceno/etanol absoluto (95 : 5 v/v) caliente; con etanol caliente (40-50°C) y con éter.

b) *Eliminación de Ácidos Nucleicos:* Se realizó la digestión de la muestra con NaCl al 10% a 85°C durante 6 horas (10 ml/gr muestra). Se recuperó la muestra en papel filtro fino (Whatman #3) y se lavó con agua desionizada (5 volúmenes). Se secó el papel filtro con la muestra al vacío o con acetona caliente.

c) *Eliminación de Carbohidratos:* Se precipitó con TCA al 5% (25 ml / 1 g muestra). Se recuperó el precipitado y se lavó con éter (3-5 ml volúmenes / 2 veces) para extraer el TCA, se secó el precipitado, a 50°C.

d) *Hidrólisis de las proteínas:* Se preparó una solución de HCl 6N 2 Mercaptoetanol ( 10 ml HCl 6N / 50 ml de Mercaptoetanol, y se pesaron de 2 a 5 mg de muestra y 3 ml solución HCl 6N Se colocó lo anterior en ampollitas de vidrio, que se sellaron al vacío a la flama del mechero de Buncen, se hidrolizaron en la estufa a 105°C durante 20 a 22 horas. Se centrifugaron los efluentes y se tomó el sobrenadante (2 ml) Se evaporó el ácido al vacío.

Tras la hidrólisis, se realizó una cromatografía preliminar, para comprobar la presencia de aminoácidos; una vez comprobada ésta por las manchas en el papel, se tomaron dos muestras del precipitado desgrasado por Soxhlet y se colocaron en 2 ampolletas con solución de HCl 6N que se sellaron al vacío; también se tomaron 2 muestras del precipitado obtenido del tratamiento previo a la hidrólisis, y se colocaron en otras 2 ampolletas que de igual forma se sellaron al vacío pero sólo a 2 de las ampolletas se les aplicó la hidrólisis a altas temperaturas (105°C; 20-22 hrs).

#### ***4.4 Análisis cromatográfico en papel de los aminoácidos del precipitado. Identificación de los amino ácidos presentes en la muestra de precipitado hidrolizado y cálculo de los Rf's para comparación con bibliografía.***

Después de hidrolizar la muestra del método de separación y vía seleccionados, siguiendo los pasos anteriores y después de preparar el sistema de disolventes, se cortaron tiras de papel filtro Whatman #1, de 6cm de ancho por 13 cm de largo, y se marcaron con líneas horizontales paralelas y cercanas a cada uno de los extremos del papel y separadas por: 0.5 cm del extremo superior; y 1 cm del extremo inferior. Con capilares y sobre una parrilla eléctrica para agilizar el secado, se concentraron gotas de aminoácidos patrón y de la muestra (para su comparación) a lo ancho de la línea inferior del papel separadas una de otra por 1cm aproximadamente, para evitar que en su avance, se mezclaran unas con otras.

Se colocó la cantidad suficiente de sistema de disolventes (butanol-ácido acético-agua) antes mencionado en el fondo de la cámara de vidrio para cromatografía como para mojar el extremo inferior de las tiras de papel pero por debajo de la marca inferior del papel (1 cm), y se dejó el papel en la cámara cromatográfica -previamente saturada de los vapores del sistema de solventes- por espacio de 8 o más horas, según fue necesario de acuerdo al avance del sistema de disolventes sobre el papel. Cuando el papel se notaba mojado casi hasta el extremo superior del mismo, se sacaron los papeles de la cámara cromatográfica, se marcó con lápiz una línea para delimitar la altura a la que llegó el sistema de solventes y para efectos del cálculo de Rf's, se secó el papel, se asperjó la solución de ninhidrina al 0.1% en alcohol,

se metieron a secar y revelar al horno a 50°C de temperatura, y una vez secos, se tomaron medidas y se obtuvieron los Rf's de cada amino ácido y de la muestra.

#### **4.5 Inoculación de los efluentes de la separación vía alcalina con hongos y levaduras después de la precipitación**

Como una alternativa, se buscó reutilizar los efluentes como medio de cultivo después de precipitar las proteínas y ajustando el pH del efluente del tratamiento seleccionado a los pH's óptimos para el crecimiento de los hongos y levaduras a inocular.

A continuación se explica la metodología seguida :

**Matraz 1:** Se tomó una muestra de medio litro del efluente de la separación con NaOH al 2% y se le modificó el pH hasta alcanzar uno de 5.13.

**Matraz 2:** Se tomó una muestra de medio litro de los efluentes de tratamiento de separación con NaOH al 1.5% y se le modificó el pH hasta alcanzar uno de 4.51.

**Matraz 3:** Se tomó una muestra de medio litro de los efluentes de separación con NaOH al 1.5% y se le modificó el pH hasta alcanzar uno de 4.51.

**Matraz 4:** Se tomó una muestra de medio litro de los efluentes de separación vía alcalina al 2% hasta alcanzar un pH de 7.06

Posteriormente se taparon con torundas para evitar la propagación de la cepa o la contaminación con otros microorganismos. Los matraces ya inoculados con el respectivo microorganismo y se incubaron a las condiciones indicadas

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de la investigación se encuentran expresados en cuadros y gráficos y representan los datos obtenidos de cada una de las actividades planteadas en la metodología para cubrir los objetivos particulares de la investigación.

1.1 De la actividad 1.1, se obtuvo el peso promedio de 27 lotes de 5 cabezas de camarón de la especie *Caridean macrobracium*, y los resultados obtenidos se anotan a continuación:

Peso promedio por lote de 5 cabezas de camarón = 29.3577 g

Peso promedio por cabeza de camarón = 5.8715 g

1.2 Del Análisis Químico Proximal de la muestra húmeda (Humedad, Nitrógeno total, grasa y cenizas totales) (Ver siguiente resultado de actividad)

1.3 Análisis Químico Proximal de la muestra seca (Nitrógeno total, grasa).

En el cuadro 9 se indica que la muestra húmeda contiene un 0.02986% de Nitrógeno total (de los 3 g de muestra, 0.00165 g son proteínas y 0.00379 g son quitina), mientras que la muestra seca tiene un 6.815% de Nitrógeno total (de los 3 g de muestra, 0.1093 g son proteínas y 0.09745 g son quitina.).

Cuadro 9: Contenido de proteína y quitina

MUESTRA	NITRÓGENO TOTAL (%)	PROTEÍNA* (g)	QUITINA* (g)
Húmeda	0.0298	0.0016	0.0038
Seca	6.815	0.1093	0.0974

\* Gramos de proteína o quitina en 3 g de muestra.

Los análisis químicos de las actividades 1.2 y 1.3 están resumidos en el cuadro 10.

Cuadro 10AQP de muestra

MUESTRA	PRUEBA	TIPO DE PRUEBA	MÉTODO	PROMEDIO BASE HÚMEDA (%)	PROMEDIO BASE SECA (%)	OBSERVACIONES
Cabezas de camarón frescas	Peso promedio	Física	Balanza granataria	29 3577g	-	27 lotes de 5 cabezas de camarón
Cabezas de camarón frescas y molidas	Cenizas	Química	Cenizas totales	8 5918	32 606	Muestra húmeda
	Humedad	Química	Humedad por estufa	73 6497	-	Muestra húmeda
	Grasa	Química	Soxhlet	1.1566	4 3893	Muestra húmeda
	Contenido de Nitrógeno	Química	Micro-kjeldahl	0 02986	0 1332	Muestra húmeda
	Carbohidratos	*	Por diferencia	16 572	62 8918	Muestra húmeda
Cabezas de camarón molidas y secas	Contenido de Nitrógeno	Química	Micro-kjeldahl	6 8149	7 5721	Muestra seca
	Grasa	Química	Soxhlet	7 3652	8 1835	Muestra seca
	Carbohidratos, cenizas y otros	*	Por diferencia	75 8199	84 244	Muestra seca

Una de las actividades importantes es la de determinar el tiempo requerido para separar la carne de los caparazones, ya que de esto depende la ruta a seguir en las subsecuentes actividades.

En la actividad 2.1 se observó que la separación de la carne de los caparazones por vía ácida (solución de HCl 5% v/v requirió de largos periodos de tiempo- hasta de 12 días-, lo cual no la hace conveniente para un futuro escalamiento a nivel piloto o industrial (ver cuadro #10).

En comparación con la separación vía alcalina, en la actividad 2.2, durante la cual, se observó una mayor facilidad de separación, además, el tiempo de residencia en la solución alcalina fue considerablemente menor (menos de 24 hrs) que en el caso de la vía ácida. Por

otro lado, se observó que cuando la separación de la carne del caparazón se efectuaba, los caparazones flotaban en la superficie de la solución.

En el cuadro 11 se resumen las observaciones realizadas durante la separaciones vía ácida y alcalina.

**Cuadro 11: Observaciones durante la separación carne-caparazón vías ácida y alcalina.**

DÍAS	OBSERVACIONES DURANTE LA SEPARACIÓN VÍA ÁCIDA	OBSERVACIONES DURANTE LA SEPARACIÓN VÍA ALCALINA
1	No se observó separación.	Antes de las 24 horas, los caparazones ya no poseían tejido cármico, pero se les dejó inmersos en la solución alcalina al 1.5% para registrar los mismos tiempos que con el tratamiento ácido.
6	No se observó separación de los caparazones del tejido cármico. Solamente una decoloración y ablandamiento de los caparazones.	Se extrajeron los caparazones, sin tejido cármico adhenso, con textura blanda y color blanquecino y opaco.
12	Se observó mayor ablandamiento y decoloración de los caparazones y mayor grado de separación del caparazón del tejido cármico sin llegar a completarse.	-

Como se observó, la vía alcalina de separación de la carne del caparazón de las cabezas de camarón, es más rápida que la vía ácida y realiza la separación de manera más completa que en el caso de la vía ácida

En la actividad 2.3 durante la **variación de la concentración de la vía alcalina** que resultó más conveniente para la separación se utilizaron 3 concentraciones diferentes, se observó que a mayor concentración de álcali, más rápida fue la separación de la carne de los caparazones, excepto en el caso de la concentración a 5% de álcali, que no realizó la separación completa carne-caparazón

En el cuadro 12 se observa el tiempo que se requirió para realizar la separación de la carne de las cabezas según la concentración de álcali con algunas observaciones específicas; dichas cabezas fueron tratadas por inmersión en la solución con agitación esporádica.

**Cuadro 12:** Observaciones hechas a los efluentes de diferentes concentraciones de álcali .

Concentración de NaOH	Tiempo (h) de separación carne-caparazones.	Observaciones.
1.5%	36	Separación de la carne; reblandecimiento y decoloración de los caparazones
2%	24	Separación más rápida y completa de la carne; mayor reblandecimiento y decoloración de caparazones.
5%	20	Separación incompleta de la carne de los caparazones; mayor reblandecimiento y decoloración de caparazones.

De la actividad 3.1, se hicieron las siguientes observaciones al efluente de separación vía alcalina preliminar a diferentes pH's y de su posterior evaporación.

En el cuadro 13, se anotan las observaciones hechas al precipitar los efluentes y las muestras de 20 mililitros evaporadas y que depositaron cristales al fondo de los vasos.

En general, se observó que a pH 4.4 hubo precipitación de proteínas en forma de partículas color rosa pálido, y posterior decantación a temperatura ambiente, se logró la separación del efluente y precipitado

**Cuadro 13:** Cuadro de observaciones de la precipitación de los efluentes de separación vía alcalina con HCl

Operación realizada al efluente de separación vía alcalina.	Observación
Precipitación HCl PH 4.4 aprox	Separación de un efluente semi-transparente de color amarillento y poca turbidez, y precipitación de la proteína al fondo del matraz en forma de partículas finas de color rosa pálido
Sedimentación durante 24 horas	Separación del precipitado y efluente bien diferenciados; a pH's ligeramente más bajos, hubo flotación de las partículas, y tras agitación, se depositaron al fondo del matraz
Evaporación de las muestras a temperatura ambiente	Formación de cristales de forma de estrella de cuatro picos de color rosa pálido adheridos al fondo de los frascos (Cristales no analizados para efectos de la presente tesis)

Podemos decir lo siguiente de la precipitación de los efluentes vía alcalina:

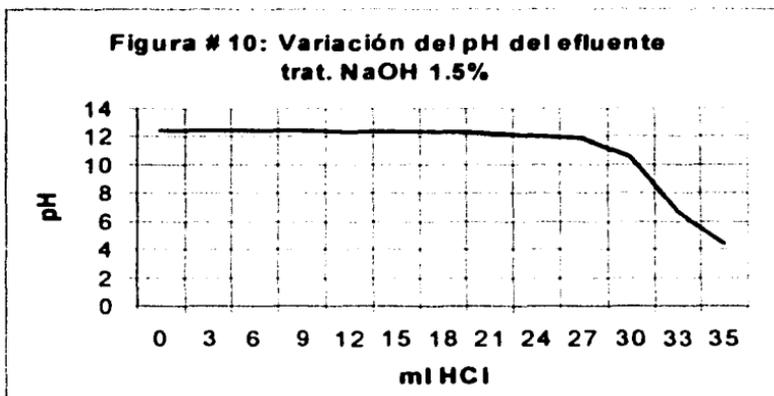
- el pH o punto isoeléctrico es aproximadamente 4.4
- el precipitado obtenido deposita en forma de partículas color rosa pálido
- la diferenciación efluente-precipitado es fácilmente apreciable y por lo tanto es más fácil la separación.
- se requiere de decantación para hacer la separación manual efluentes-precipitado.

De las pruebas preliminares se observó que el pH al que hubo mayor precipitación de proteína, fue a pH de 4.4, por lo tanto se dividió el resto del efluente en 5 matraces de 2 litros, para modificar su pH hasta 4.4.

Al realizarse la precipitación de los efluentes por completo, se observó que el pH del punto isoeléctrico, oscilaba entre el 4.6 y 4.4. punto en el cual, como ya se había mencionado previamente, las proteínas precipitaron en forma de pequeñas partículas color rosa pálido que se depositaron al fondo de los matraces, y en ocasiones, cuando el pH caía hasta 3.5, flotaron en conjunto hacia la superficie del efluente; cuando esto sucedió durante la decantación se agitaron los efluentes dentro de los matraces hasta que las partículas se depositaron al fondo de los matraces.

Según Nönte, el valor de pH en el que se obtuvo el punto isoeléctrico en donde se observó una mayor precipitación fue de 4.9, representando un 24.2 g de precipitado por litro del efluente.

Para encontrar el pH en el que precipitan la mayor cantidad de proteínas de los efluentes de separación carne-caparazón a diferentes concentraciones de álcali, de la actividad 3.2.1, se observa en la **figura # 10** la curva de pH de la separación vía alcalina al 1.5% de concentración; se requirieron 35 ml de HCl por litro para precipitar los efluentes de separación vía alcalina (solución NaOH al 1.5%) Es decir, para disminuir el pH de la solución de NaOH al 1.5% desde 12.44 hasta 4.42 (punto isoeléctrico de las proteínas).



\*NOTA: En todos los gráficos de cambio de pH, la curva se debene en el punto isoeléctrico ya que al llevarse a cabo la precipitación, deja de agregarse ácido clorhídrico

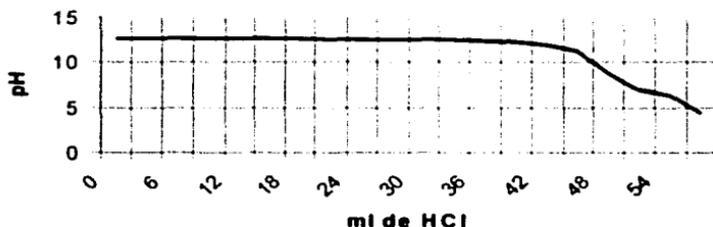
También se observó que a pH menor de 4.4 se formó una espuma en la superficie del efluente que provocaba su desbordamiento del matraz.

Los efluentes se separan más definitivamente y la fase líquida fue ligeramente turbia (con respecto a la separación alcalina al 2%). Esto puede deberse a una menor presencia de sólidos suspendidos o solubles en agua o a una menor cantidad de proteínas sin precipitar.

De la actividad 3.2.1 con respecto a la concentración de la solución de álcali al 2%, se observó que se requirieron 50.2 ml de HCl por litro de efluente de separación vía alcalina al 2% para precipitar proteína. Esto constituye un mayor volumen de HCl agregado que en el caso de los efluentes vía alcalina al 1.5%, ya que se trata de una solución de mayor concentración de reactivo

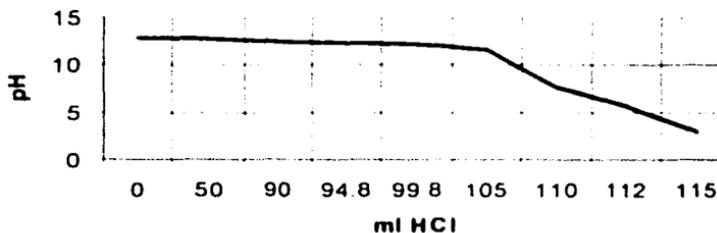
En el Figura # 11 se observa que el pH de precipitación o punto isoeléctrico de precipitación de las proteínas (pH 4.42) se alcanzó después de agregar 50.2 mililitros de HCl por litro de efluente

**Figura # 11: Variación del pH del efluente  
trat. NaOH 2%**



De la actividad 3.2.1 y relativo a la concentración de la solución alcalina al 5% se puede observar en la Figura # 12 , que se requirieron 115 ml de HCl por litro de efluente para precipitar proteína a pH de 4.44 . Esto es debido a que la solución de NaOH al 5% tiene una concentración muy alta y para disminuir su pH y llegar al punto isoelectrico se requiere también de una cantidad mayor de HCl.

**Figura # 12: Variación del pH del efluente  
trat. NaOH 5%**



En el cuadro 14 se resumen las cantidades de HCl requeridas (ml) para precipitar las proteínas de los efluentes de las 3 diferentes concentraciones de álcali y los pH's de precipitación de cada una:

**Cuadro 14:** Cantidad requerida (ml) y puntos isoeléctricos a diferentes concentraciones de álcali.

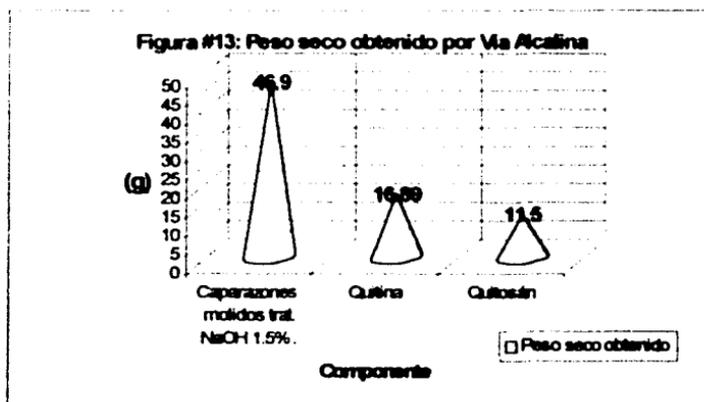
	CONCENTRACIONES DE ÁLCALI		
	1.5% NaOH	2% NaOH	5% NaOH
<b><i>PH de precipitación</i></b>	4.42	4.42	4.44
<b><i>Millilitros HCl/L Requeridos</i></b>	35	50.2	115

Para obtener quitina y quitosán de la actividad 3.3.1 a partir de los caparazones separados en el tratamiento inicial vía alcalina se obtuvieron las cantidades mostradas en el cuadro 15.

**Cuadro 15 :** Peso (g) de caparazones secos, quitina y quitosán obtenidos a partir de las cabezas de camarón tratadas inicialmente por vía alcalina (1.5% NaOH):

Componente	Peso seco obtenido (g)
	VIA ALCALINA
Caparazones molidos tras el tratamiento ácido (HCl al 1.5% v/v)	46.9
Quitina	16.89
Quitosán	11.5

En la figura # 13 se muestran gráficamente los pesos (g) obtenidos de caparazones secos, quitina y quitosán a partir de las cabezas de camarón tratadas inicialmente por vía alcalina (1.5% NaOH); sobre la figura se puede decir que las cantidades en peso seco de quitina y quitosán son de bajo rendimiento en comparación con la cantidad en peso seco de caparazones.



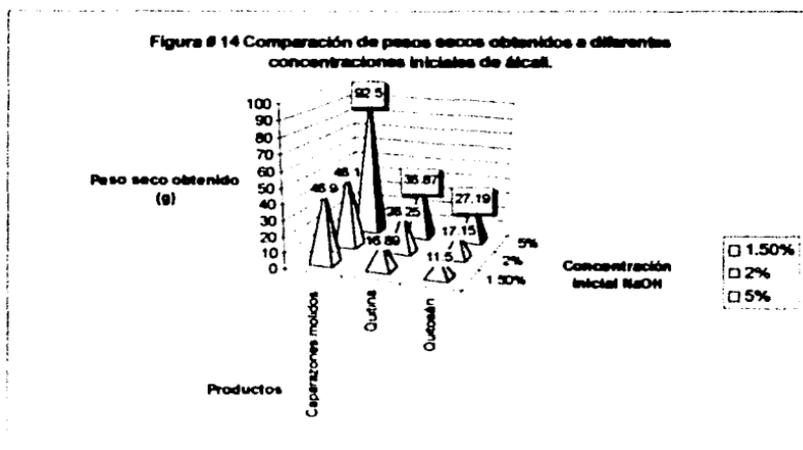
Para obtener quitina y quitosán, de la actividad 3.3.2, en la figura #14, pueden compararse los porcentajes de caparazones secos y molidos, quitina y quitosán obtenidos a las diferentes concentraciones de álcali de separación carne-caparazón iniciales.

Y en el cuadro 15, se observan los rendimientos de caparazones secos y molidos, quitina, y quitosán, todos obtenidos a partir de la muestra inicial y de las diferentes concentraciones utilizadas de álcali (5%, 2% y 1.5%)

**Cuadro 15:** Rendimientos de quitina / caparazones secos y de quitosán / caparazones secos para las concentraciones de álcali de 5%, 2% y 1.5% NaOH.

Concentración de álcali	Rendimiento de quitina / caparazones secos	Rendimiento de quitosán / caparazones secos
5% NaOH	0.3985	0.2939
2% NaOH	0.5457	0.3585
1.5% NaOH	0.3601	0.2452

Se descartó la concentración de 5% de álcali por representar un gasto de HCl excesivo para lograr la precipitación de las proteínas del efluente, esto lo hace poco conveniente para efectos de escalamiento a nivel piloto e industrial; además de que no resulta conveniente para efectos de rendimiento de quitina y quitosán, debe recordarse que a esta concentración no se logró separar completamente la carne del caparazón, y toda esa carga de materia va incluida en el peso de los caparazones secos y molidos, misma que aumenta el peso de la quitina y el quitosán que no se puede considerar que se obtienen puros por tener materia adicional adherida a los caparazones, es decir, ambos podrían no estar totalmente desmineralizados ni desproteinizados por lo que el peso neto es mayor en comparación con las otras dos concentraciones de separación. La quitina obtenida del tratamiento con esta solución, presentó un color rosado-amarillento más pálido con respecto a la obtenida del tratamiento con solución alcalina al 1.5%; esto indica que esta quitina fue mejor desproteinizada, y desmineralizada.



NOTA Las cantidades de peso seco correspondientes a la concentración de 5% NaOH, no pueden tomarse como de productos puros, ya que la separación carne-caparazones inicial no fue completa y por lo tanto, la quitina y el quitosán pueden contener impurezas como proteína adventicia que quedó adherida al caparazón.

De la actividad 3.4 se calcularon los porcentajes de rendimiento del precipitado

En el cuadro 16, se observan las cantidades de HCl requeridas para alcanzar el punto isoeléctrico en cada experimento de repetición de la separación carne-caparazón vía alcalina en solución de NaOH al 2%.

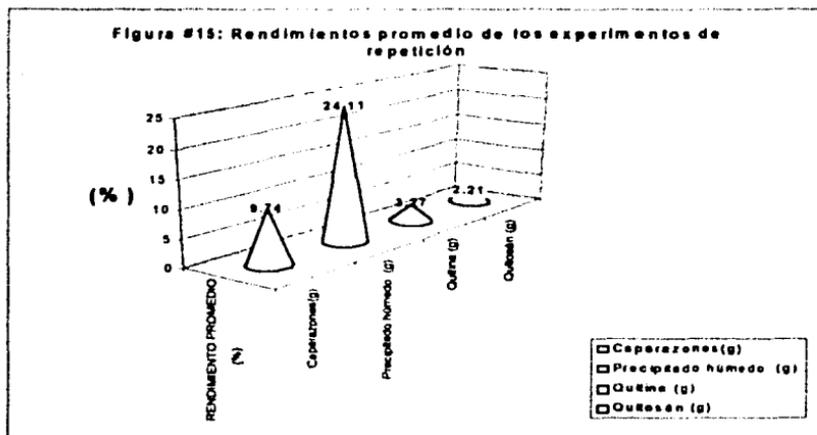
En este cuadro, se resumen los 3 experimentos de repetición, y se observa que se obtuvo un rendimiento promedio del precipitado húmedo de 24.11% (11.896 g/litro de efluente) en peso (después de la centrifugación, coagulación en autoclave y escurrimiento del agua de exudación), con respecto a la cantidad de muestra inicial. En contraste con el obtenido por Nönte, Miranda et al que obtuvieron 24.2 g de precipitado por litro del efluente, pero utilizaron desechos de camarón en general, no sólo cabezas de camarón.

Cuadro 16: Cuadro de cantidades y rendimientos, de caparazones, quitina y quitosán obtenidos.

Experimento	EPR1	EPR2	EPR3	PRO-MEDIO	Promedio por litro de efluente (g/l)	RENDIMIENTO PROMEDIO (%)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE RENDIMIENTO
Muestra (g)	480	500	500	493.33	-	-	-
Caparazones(g)	43.28	50.0	50.8	48.026	-	9.74	0.6229
MI HCVL (ml/L)	42.9	47.5	48.1	46.5	45.5	-	-
Precipitado húmedo (g) <sup>a</sup>	89.3	131.5	136.0	118.96	11.896	24.11	4.7302
Punto isoeléctrico	4	4	4.12	-	-	-	-
Quitina (g)	14.3	18.6	15.43	16.11	-	3.27	0.4785
Quitosán (g)	8.1	13.13	11.5	10.91	-	2.21	0.4767

<sup>a</sup> Precipitado centrifugado, y coagulado después de esterilización en autoclave, sin agua de exudación, refrigerado y atemperado.

Además se obtuvieron los siguientes porcentajes de rendimiento promedio en peso: 9.74% de caparazones secos, 3.27% de quitina y 2.21% de quitosán. Esto está representado en la figura 15 que se muestra en la siguiente página



En la actividad 3.5 se obtuvo el porcentaje de humedad del precipitado, éste fue de 89.36% después de la centrifugación. Esto significa que sólo el 10.64% del precipitado centrifugado son sólidos (proteínas, carbohidratos, cenizas y otros).

**Humedad del precipitado centrifugado (%) = 89.36**

**Materia seca del centrifugado (%) = 10.6446**

Los resultados son similares a los obtenidos por otros autores (DePaola et al 1989) para determinar la cantidad y calidad de los sólidos proteínicos recuperables del efluente de un pelador de camarón mecánico. Se recuperaron los sólidos por precipitación con HCl y centrifugación. La recuperación de sólidos del efluente no tratado fue de 1% -2% en peso (ca. 10% proteína) y fue predecible por turbidez. El proceso precipitación/centrifugación redujo

el nitrógeno orgánico total sobrenadante y la demanda química de oxígeno aproximadamente 50% y la turbidez aproximadamente en un 90% comparada con el efluente no tratado.

De la actividad 4.1 y como puede apreciarse en los cuadros 17,18 y 19 se cuantificó la proteína (Método Microkjeldahl) del precipitado obtenida a las concentraciones más convenientes de separación iniciales.

**Cuadro 17: Porcentaje de nitrógeno total y proteína del precipitado de la separación alcalina al 1.5 % de concentración inicial.**

MUESTRA	PRUEBA	TIPO DE PRUEBA	MÉTODO	%NITRÓGENO	(N <sub>t</sub> )(6.28)=% PROTEÍNA	OBSERVACIONES
Precipitado 1.5% de NaOH inicial.	Nitrógeno total	Química	Micro-Kjeldahl	MEDIA = 5.5318	MEDIA = 33.8715	Muestra seca

NOTA: El % de nitrógeno total obtenido del método de MicroKjeldahl, se multiplica por un factor de conversión que para cárnicos es 6.25 Fuente (Kirk et al, 1996)

**Cuadro 18: Porcentaje de proteína del precipitado de la separación alcalina al 2% de concentración inicial.**

MUESTRA	PRUEBA	TIPO DE PRUEBA	MÉTODO	%NITRÓGENO	(N <sub>t</sub> )(6.28)=% PROTEÍNA	OBSERVACIONES
Precipitado 2% de NaOH inicial	Nitrógeno total	Química	Micro-Kjeldahl	MEDIA = 5.7122	MEDIA = 35.70095	Muestra seca

NOTA: El % de nitrógeno total obtenido del método de MicroKjeldahl, se multiplica por un factor de conversión que para cárnicos es 6.25 (Kirk et al, 1996)

**Cuadro 19: Porcentaje de grasa del precipitado de separación alcalina al 2% de concentración inicial.**

MUESTRA	PRUEBA	TIPO DE PRUEBA	MÉTODO	%GRASA	OBSERVACIONES
Precipitado 2% de NaOH inicial	Grasa	Química	Soxhlet	MEDIA= 11.5168	Muestra seca

Nota: sólo se cuantificó la grasa por Soxhlet en el precipitado obtenido al 2% de NaOH inicial

El dato de porcentaje de grasa fue muy similar al obtenido por (Nonte et al)

En el cuadro anterior, se observa que el porcentaje de proteína obtenido al 2% es mayor que el de 1.5%, criterio tomado como base para la selección de la concentración de álcali más conveniente.

Los resultados experimentales pueden ser comparados con los obtenidos por Kobelke (1989) y se anotan en el cuadro 20:

**Cuadro 20: Composición de desechos de cabezas de camarón**

Componente	(%)
<i>Quitina</i>	13.5 - 17.5
<i>Proteína total</i>	29.0 - 37.5
<i>Proteína Adverticia</i>	20.0 - 26.0
<i>Proteína Firmemente unida</i>	9.0 - 10.0
<i>Ceniza (CaCO<sub>3</sub>)</i>	25.0 - 27.0
<i>Materia Soluble y otros</i>	32.5

Fuente: Kobelke, D.N., 1989.

En la actividad 4.2, por el método colométrico de Takiguchi se cuantificó el porcentaje promedio de proteína del precipitado obtenido, este porcentaje fue de 0.8689% para el precipitado húmedo, 13.1623% para el precipitado seco graso y de 8.3683 % para el precipitado seco no graso, como puede observarse en el cuadro 21.

**Cuadro 21:** Análisis cuantitativo del porcentaje de proteína de los precipitados por el Método colorimétrico de Takiguchi.

Muestra	Absorbancia (664nm)	% Proteína	% Promedio de proteína
Precipitado Húmedo	1.19	0.94	0.8689
	1.11	0.8768	
	1	0.7899	
Precipitado seco-graso	1.52	18.2521	13.16236
	1.4	11.06	
	1.25	9.875	
Precipitado seco-no graso	1.2	9.4736	8.3683
	0.85	6.7105	
	1.13	8.92105	

En este cuadro se observan los porcentajes obtenidos de proteína de los precipitados por la técnica de Takiguchi.

Esta mayor presencia de proteínas en el precipitado seco graso, puede deberse a que algunas de las proteínas contenidas en él, sean lipoproteínas que en el precipitado seco-no graso, se hayan eliminado durante el proceso de extracción de grasas de Soxhlet.

En la actividad 4.3 se realizó la hidrólisis del precipitado; las muestras de las ampollitas que no se hidrolizaron a altas temperaturas (105°C; 20-22hrs), no presentaron lectura, es decir, no hubo hidrólisis sólo por el medio ácido, así que no se tomaron en cuenta para los demás análisis cromatográficos

En la actividad 4.4 se realizó el análisis cromatográfico en papel de los aminoácidos del precipitado.

De todas las cromatografías en papel realizadas durante la experimentación se tomaron las 3 que se acercaron más en valores de Rf's.

En la actividad 4.4.2 se identificaron los amino ácidos presentes en el precipitado hidrolizado

Se lograron identificar 6 de los 10 aminoácidos esenciales y algunos no esenciales como puede observarse en el cuadro 22.

**Cuadro 22:** Aminoácidos identificados en el precipitado de cabezas de camarón.

Esenciales	No esenciales
Arginina	Asparagina
Treonina	Ácido glutámico
Triptofano	Cistina
Isoleucina	Cisteína
Metionina	Glicina
Fenilalanina	Prolina
*	Tirosina

**Nota:** Los aminoácidos mencionados en la tabla fueron identificados para el sistema de solventes de n-butanol- Ac. Acético glacial- agua; y con los RF's patrón obtenidos durante la experimentación.

Los aminoácidos encontrados experimentalmente en la muestra coinciden con los encontrados por Simpson (1998) cuyos estudios fueron realizados para indagar qué aminoácidos se encuentran en la carne de camarón hidrolizada con enzimas como la tripsina y la quimotripsina. Se encontraron altos niveles de : glicina, alanina, arginina, prolina y valina. De ellos, la mayoría pertenecen a los aminoácidos que influyen el sabor, como son: alanina, arginina, glicina, ácido glutámico y prolina. Komata (1964) también encontró glicina, valina, alanina, ácido glutámico y particularmente metionina.

Como una alternativa, se buscó reutilizar los efluentes como medio de cultivo después de precipitar las proteínas y ajustando el pH del efluente del tratamiento seleccionado a los pH's óptimos para el crecimiento de los hongos y levaduras a inocular; lo cual se presenta en el cuadro 23.

**Cuadro 23:** Microorganismos inoculados y condiciones de los matraces con efluentes de la separación via alcalina.

Matraz	PH	Microorganismo Inoculado	Temperatura y condiciones de incubación	Crecimiento
1	5.13	Hongo	Temperatura ambiente: 26°C	Positivo
2	4.51	Hongo	Temperatura ambiente: 26°C	Positivo
3	4.15	Hongo	Temperatura ambiente: 26°C	Positivo
4	7.06	Levadura <i>Saccaromyces cerevisiae</i>	Temperatura: 37°C; agitación continua*	Positivo

\*Agitador Rotatorio Incubador de Ambientación Controlada New Brunswick Scientific Co Inc. Edison, N.J., USA.

De esta manera pudo comprobarse que los efluentes del tratamiento propuesto por la presente tesis pueden ser reutilizados.

Puede afirmarse que con la experimentación realizada, se consideran cubiertos los objetivos de la presente investigación con resultados positivos: puede recuperarse proteína a partir de cabezas de camarón de la especie *Caridean macrobracium* por medio de un tratamiento alcalino a baja concentración (2%) por medio de una precipitación con ácido clorhídrico.

# **CONCLUSIONES**

Basada en una experimentación a nivel laboratorio de 8 meses de duración, la presente investigación cumplió sus objetivos y se pueden hacer las siguientes conclusiones:

- La vía más conveniente de separación exoesqueleto-matriz de tejido orgánico de las cabezas de camarón es la vía alcalina.
- Entre las concentraciones de álcali utilizadas en la presente investigación, la concentración más conveniente es de 2%; si se desea solubilizar la mayor cantidad de matriz de tejido orgánico del caparazón de la cabeza de camarón en el menor tiempo posible, mientras que las concentraciones de 1.5% y 5% resultan insuficiente y excesiva respectivamente.
- El porcentaje promedio obtenido de quitina es de 26.25 y de quitosán es de 17.15 a la concentración de 2% de álcali.
- El tiempo promedio de la separación alcalina a una concentración de 2% y con agitación esporádica es de 12-14 horas.
- El porcentaje precipitado por punto isoeléctrico de la separación alcalina al 2% de álcali es de: 24.11%.
- La separación alcalina y la precipitación de proteínas son una buena alternativa de tratamiento de los desechos de la industria camaronera en México ya que por sus características, no requieren de la utilización de equipo sofisticado.
- Los efluentes de la precipitación pueden reutilizarse como medios de cultivo para hongos y levaduras en lugar de ser desechados al medio ambiente.
- El precipitado obtenido contiene 6 de los 10 aminoácidos esenciales, y 7 de los aminoácidos no esenciales.

# **RECOMENDACIONES**

Se recomienda continuar con la investigación de la presente tesis de la siguiente manera:

- Experimentar sobre los efluentes de la precipitación con el objeto de averiguar si éstos son reutilizables para posteriores separaciones y cuál sería su vida útil.
- Realizar el escalamiento a nivel piloto de la separación alcalina al 2% de concentración.
- Realizar un estudio socioeconómico que determine si es rentable realizar una inversión en México en dicho proceso a nivel industrial, determinar la ubicación ideal de la planta y su tasa interna de retorno.
- Realizar un estudio más profundo de los subproductos (por ejemplo de los cristales de la separación vía ácida; de los precipitados de los efluentes del tratamiento de obtención de quitina) y cromatografía de gases; que no fueron realizados por no contar con el equipo necesario en el laboratorio.
- Utilizar el precipitado seco como enriquecedor para alimento para animales y evaluar el beneficio en el desarrollo de los mismo.
- Utilizar el quitosán como coadyuvante en la separación de la proteína de los efluentes y comparar con los resultados de la vía de separación químico-alcalina de la presente tesis.
- Hacer la separación vía alcalina con agitación mecanizada y continua para observar la reducción de tiempos de separación carne-caparazón de las cabezas de camarón.

## GLOSARIO

**Aminoácidos:** son las unidades constitutivas de las proteínas, unidos entre sí por medio de enlaces covalentes también llamados enlaces peptídicos. Todas las especies de vida son capaces de sintetizar al menos alguno de los 20 aminoácidos en las proteínas: Alanina, Arginina, Asparagina, Aspartato, Cisteína, Fenilalanina, Glutamato, Glutamina, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Prolina, Serina, Tirosina, Treonina, Triptofano, y Valina.

**Aminoácidos esenciales:** son aquellos que no pueden ser sintetizados por los seres humanos por no contar con al menos una de las enzimas de cada ruta metabólica y que por lo tanto deben ser ingeridos en la dieta. Los aminoácidos esenciales son: Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano y Valina.

**Coagulación:** Formación de agregados a partir de un sol coloidalmente inestable que conduce a su separación macroscópica (coágulo), por acción del calor o de agentes químicos o enzimáticos. En el caso de las proteínas, se refiere a su asociación aleatoria o agregación en estado desnaturado en la que predomina la interacción proteína-proteína sobre la interacción proteína-disolvente, lo que provoca la formación de un coágulo poco ordenado.

**Colorimetría:** método analítico cuantitativo para determinar la concentración de una sustancia disuelta o suspendida a partir de la intensidad del color de su disolución o de la de los productos de su reacción con otra sustancia, siempre y cuando la coloración obedezca la ley de Lambert-Beer.

**Cristal:** Sólido con formas características, producido por una disposición de sus elementos (átomos, iones o moléculas), según un orden determinado que es el que forma la red cristalina. Cuerpo sólido con estructura triplemente periódica que ha adoptado una forma poliédrica dependiente de su estructura.

**Cristalización:** formación de porciones de materia con estructura cristalina, y en ciertos casos, con formas poliédricas, a partir de una solución o de un líquido, gas o sólido amorfo. La cristalización se puede inducir por adición de iniciadores o "semillas" a soluciones saturadas, o por la reducción de la temperatura.

**Cuajar:** coagular un coloide, principalmente orgánico, como sucede con la leche para obtener el queso.

**Cualitativo:** que sólo se refiere a la clase o calidad de los componentes de una mezcla, pero no indica la cantidad.

**Cuantitativo:** referente a la cantidad o proporción de los componentes de una mezcla.

**Decantación:** Separación de la fase líquida sobrenadante del sólido precipitado.

**Desnaturalización de proteínas:** La estructura de las proteínas, puede verse alterada por diversos agentes químicos, físicos o fisicoquímicos, sin que ocurran cambios en la secuencia de los aminoácidos. Esta pérdida de la conformación original se llama *desnaturalización*, la cual, según Mertz, se define como cualquier cambio en una proteína globular, que disminuye su solubilidad en el punto isoeléctrico.

**Floculación:** En un sol coloidalmente inestable, de agregados de estructura poco compacta que pueden separarse macroscópicamente. En el caso de las proteínas se refiere a la asociación de estos polímeros sin desnaturar, que ocurre generalmente por la supresión de las fuerzas electrostáticas de repulsión que estabilizan las cadenas.

\*Floculación= coagulación de las partículas coloidales en forma de copos. La floculación se verifica por adición de un electrólito

**Hidrólisis del enlace peptídico:** la hidrólisis de un péptido puede ser *total* que es cuando se logra la ruptura de todos los enlaces peptídicos que lo conforman, obteniéndose así libres todos sus aminoácidos, o bien la hidrólisis parcial que es la ruptura de uno o varios enlaces peptídicos, pudiendo lograr rupturas en donde se involucran aminoácidos específicos.

**Nutriente:** nutrimento

**Nutrimento:** Sustancia con propiedades nutritivas presentes en la dieta

**Nutritivo:** que sirve para la nutrición.

**Péptido:** cuerpos protéicos sencillos que se forman por encadenamiento de aminoácidos; los enlaces peptídicos tienen lugar por la unión del grupo carboxilo (COOH-) de un aminoácido con el grupo amino (NH<sub>2</sub>-) de otro aminoácido con desprendimiento de agua, formándose el grupo CO-NH característico de la síntesis de proteínas naturales y de la del nilón o del perlon. El número de aminoácidos en los péptidos varía por miles (oligopéptidos entre 2 y 9; polipéptidos entre 10 y 100 y macropéptidos, más de 100). En la digestión se desdoblan las proteínas en aminoácidos sencillos por disociación de las uniones pépticas; la síntesis biológica ocurre a la inversa.

**Potenciometría:** método de análisis electroquímico para la determinación de la concentración de iones de hidrógeno o del valor del pH. Las mediciones se realizan por medio de un potenciómetro.

**Proteína:** es una molécula que está constituida por un número variable de L-(-) aminoácidos unidos covalentemente por enlaces peptídicos; y son por consiguiente polímeros de aminoácidos. En general el término "proteína" se usa para moléculas compuestas por más de 50 aminoácidos, mientras que el término "péptido" se utiliza para moléculas de menos de 50 aminoácidos.

**Precipitado:** sustancias, más o menos finamente divididas, coloreadas o incoloras, que se depositan al añadir a una disolución un precipitante.

**Precipitar:** Separación de sustancias disueltas por agregado de otras soluciones que reaccionan dando compuestos insolubles. La precipitación es un método de separación usado en química analítica

**Punto Isoeléctrico:** pH en el cual una molécula ionizable adquiere una carga eléctrica neta de cero; en el caso de muchas proteínas, varía de 4.5 a 5.5 y en estas condiciones generalmente precipitan

**Reacción de los grupos  $\alpha$ -amino de los aminoácidos con la ninhidrina:** esta reacción es la primera reacción de estos grupos y se emplea para detectar y valorar cuantitativamente los aminoácidos en cantidades pequeñas. La coloración con exceso de ninhidrina origina un producto purpúreo con todos los aminoácidos que poseen un grupo  $\alpha$ -amino libre, mientras que se forma un producto amarillo cuando se trata de *prolina*, aminoácido en el que el grupo amino se halla sustituido

En condiciones apropiadas la intensidad del color producido puede emplearse para medir coloriméticamente la concentración del aminoácido, constituyendo un método muy sensible.

Nota: esta reacción es empleada para detección de aminoácidos en la cromatografía en papel que se realizó en la experimentación de la tesis

Entre las técnicas de apoyo que ayudan al bioquímico a lograr sus metas ya sea: de separación y aislamiento, determinación de pureza, caracterización, determinación de la estructura y correlación con la función, o el mantenimiento de la integridad estructural y funcional; tenemos a las más utilizadas como son: cromatografía electroforesis, ultracentrifugación, espectroscopia, microscopia electrónica, el etiquetado con radioisótopos, y la difracción con rayos X.

En la presente tesis, se hará mayor hincapié en aquellas que se utilizaron para analizar las muestras como son: cromatografía en papel, electroforesis, y cromatografía de gases.

**Cromatografía:** es un proceso caracterizado por el flujo uniforme e ininterrumpido de una mezcla (gaseosa o líquida) a través de una región de otra sustancia relativamente inmovilizada (líquida o sólida) la cual, a través de varios medios, permite la migración diferencial de los componentes de la mezcla.

Existen varios tipos de cromatografía, pero existen dos características comunes a todas las técnicas cromatográficas:

Son procesos dinámicos que involucran el movimiento continuo de una fase (fase móvil), la cual originalmente contenía la mezcla, relativa a una segunda fase que es inmóvil (fase estacionaria).

La separación se alcanza debido a las diferencias en gran parte a las cuales los componentes individuales en la fase móvil interactúan con la fase estacionaria.

**Cromatografía en papel:** esta técnica se basa en el principio de que un compuesto se reparte o distribuye entre dos fases líquidas debido a las diferencias en la solubilidad de los componentes en cada fase.

Este es el mismo principio que gobierna la remoción de sustancias disueltas en una fase líquida por extracción en un embudo separador con otro líquido que es relativamente inmiscible con el primero. En un ambiente que contiene vapor de agua, el papel de cromatografía absorbe una cantidad de agua que mantiene entre las fibras de celulosa del papel. Esta agua se considera como uno de los disolventes y constituye la fase estacionaria. Si se permite que un disolvente no acuoso (la fase móvil) se traslade por el papel impulsado por la acción capilar, tan pronto como el disolvente alcance a cualesquiera moléculas de soluto en el papel, éstas se distribuirán entre las dos fases en una proporción característica de sus coeficientes de reparto. Cuanto más soluble sea un soluto en la fase móvil, tanto más se trasladará el compuesto por el papel en la dirección del flujo del disolvente y viceversa.

El papel por sí mismo no está químicamente modificado durante su proceso de manufactura, consiste principalmente de fibras de celulosa y como tal, es relativamente inerte. El papel es especialmente preparado para cromatografía, con muchos grados disponibles, que varían en porosidad, lo cual controla la velocidad de migración del solvente.

El propósito primario del papel es servir como soporte inmóvil para el agua, saturada con un solvente orgánico, el cual sirve como la fase estacionaria.

La fase móvil es una mezcla líquida homogénea, llamada una solución reveladora cromatográfica que consiste de un solvente orgánico saturado con agua.

#### RF

La migración de cualquier componente relativa a la migración total de la solución reveladora es una propiedad cromatográfica reproducible del componente en el solvente especificado tanto tiempo como las condiciones no sean vanadas.

La distancia recorrida por un soluto en la dirección del flujo del disolvente durante una separación cromatográfica se caracteriza mediante el término valor de  $R_f$ , que se define como sigue:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el soluto}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

Este valor es constante para un compuesto determinado bajo condiciones estándar, y refleja estrechamente el coeficiente de distribución del compuesto

### **Cromatografía de columna Gas-líquido**

Este método fue primero desarrollado por A. James y A. Martin en 1952 como medio de separación de compuestos volátiles. La resolución de las mezclas de soluto y la sensibilidad del instrumento son muy altas.

El rasgo distintivo de la cromatografía gas-líquido es el uso de un gas inerte, como el helio o el argón, como la fase móvil en una columna empacada helicoidal o lineal con un material sólido inerte que está cubierto con un líquido hirviendo. Durante la operación, la columna completa es normalmente mantenida a una temperatura elevada constante. Después de inyectar la muestra, los solutos en la mezcla son vaporizados y transportados a través de la columna en estado de vapor vía el gas inerte acarreador. Mientras el vapor viene en contacto con la fase líquida estacionaria, la selección de la cual es gobernada por la naturaleza de los solutos a ser separados, los solutos son partidos en la base de diferentes solubilidades en la fase móvil gaseosa y en la fase líquida estacionaria.

Para la detección del análisis cuantitativo de los compuestos mientras la fase móvil emerge de la columna son extremadamente sensibles y son capaces de detectar cantidades de material tan pequeñas como  $10^{-12}$  de mol.

### Bibliografía

1. Álvarez, M.; Montiel, J.F.; Miranda, P.; 1997. "Manual Esquemático de Bioquímica General para la Carrera de Ingeniería de Alimentos"; UNAM, Primera Impresión.
2. An, H., Marshall, M., Otwell, W., Wei, C. 1988 "Electrophoretic Identification of Raw and Cooked Shrimp using Various Protein Extraction Systems; J. Food Sci., 53(2): 313-318.
3. Anónimo. 1989. "Chitin and chitosan: Specialty biopolymers for foods, medicine and industry"; Technical Insights Inc, Fort Lee, New Jersey.
4. Anónimo. 1992. Anuario Estadístico SEPESCA.
5. Anónimo. 2000. Anuario Estadístico. SAGAR. Del sitio Internet: <http://www.siea.sagarpa.gob.mx/integra/Anuarios/index/Inuest.html>
6. Anónimo. "Diccionario de Química", 1980. Ed. Rioduero, 2a edición Revisada, México.
7. Arai, K., Kinumaky, T., Fujita, T. 1968. "On the toxicity of chitosan". Bull. Tokai Regional Fisheries Res. Lab Japan 56-69
8. Averbach, B. 1978. "Film-forming capability of chitosan"; In Muzzarelli and Panser.
9. Bade, M., Wick, R. 1988. "Protecting crops and wildlife with chitin and chitosan". In Biologically Active Natural Products. Potential Use in Agriculture. Ed. H.G. Cater, ACS Symp, Series 380. Am. Chem. Soc., Washington, D C.
10. Badui Dergal, S. 1988. "Diccionario de Tecnología de los Alimentos". Facultad de Química de la UNAM; Ed. Alambra Mexicana; 1a edición. México
11. Bamentos, S. 1999. Tesis Químico: "Quitosán, aplicaciones y aspectos económicos". FES Cuautitlán. Estado de México pp 34, 36
12. Bohinski, R.C. 1976. "Modern Concepts in Biochemistry"; Allyn and Bacon Inc.; 2a Edición; Boston
13. Bough, W. A. 1976. Chitosan: a polymer from seafood waste, for use in treatment of food processing wastes and activated sludge. Process Biochemistry 11(1):13.
14. Bough, W.A. and Landes, D. R. 1976. Treatment of food processing wastes with chitosan and nutritional evaluation of coagulated products. In "Proceedings of the 1<sup>st</sup> international Conference on Chitin/Chitosan". Ed. R.A.A. Muzzarelli and E.R. Panser MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass
15. Boyer. 1999. Concepts in Biochemistry. Cole Publishing Co. USA pp 602, 606
16. Bradshaw, L. 1966. Introducción a las técnicas biológicas moleculares, Ed Prentice Hall, Nueva Jersey
17. Bnne, C. 1984. "Introduction chitin Accomplishments and Perspectives" In Chitin, Chitosan and Related Enzymes. Ed. J.P. Zikakis. Academic Press, Inc., Orlando Fla.
18. Cosio, G., Fisher, R., Caroad, P., 1982. "Bioconversion of shellfish chitin waste pretreatment, enzyme production, process design and economic analysis". J. Food Sci., 47 901-905.

19. Cruz, C., Pérez, A. 1998. Tesis IA: "Evaluación del efecto conservador y antimicótico de la Película de quitosán en la vida útil de mango (*Mangifera L. Indira*) Variedad Haden" FES Cuautitlán Edo. De México. pp. 45-67
20. De la Lanza-Espino, G., García Calderón, J.L., Tovilla-Hernández, C. y Arredondo-Figueroa, J.L. 1993. Ambientes y Pesquerías en el litoral Pacífico Mexicano. Inst. Nal. De Estadística, Geografía e Informática (INEGI). Aguascalientes, México.
21. DePaola, A., Perkins, B., Harper, K. Mc Phearson, R. 1989. "Recovery of Protein and Microorganisms from Shrimp peeler Effluent", *J. Food Sci.* Vol. 54, No. 6, pp1660.
22. Dunn, H.J., and Farr, M.P. 1971. Microcrystalline chitin. U.S. Patent 3847897.
23. Eiden, C.A., Jewell, C.A., Wightman, J.P. 1980. Interaction of lead and chromium with chitin and chitosan. *J. Appl. Polymer Sci.* 25: 1587.
24. Enciclopedia Microsoft Encarta 2000. Discos 1 y 2
25. Ensminger, A., Ensminger, M., Konlande, J., Robson, J. *Food and Nutrition Encyclopedia*. 1983. 1<sup>st</sup> edition. Pengus Press; USA Vol 1: pp.739
26. Fanimó, A., Oduguwa, O., Onifade, A., Olutunde, T. 2000. Short communication: "Protein Quality of shrimp-waste meal". *Bioresource Tech.*, 72: 185-188.
27. Fenton, D., Davis, B.; Rotgers, C., Eveleigh, D. 1978. "Enzymatic hydrolysis of chitosan. In Muzzarelli and Pariser.
28. Filar, L.J., and Wirick, M.G. 1978. Bulk solution properties of chitosan. Ed. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E. R. MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass.
29. Flores-Verdugo, F., Briseño-Dueñas, R., González-Farías, F., y Calvario -Martínez, O. 1995. Balance de Carbono en un ecosistema lagunar estuarino de boca efimera de la costa noroccidental de México (Estero El Verde, Sinaloa). *Temas Selectos de Oceanografía Biológica en México*. Vol. 2: 137-155. Universidad Autónoma de B. Calif. Méx.
30. Fugita, T. 1972. Recovery of proteins. Japan Patent. No. 01.633.
31. Galun, M., Keller, P., Malki, D., Feldstein, H., Galun, E., Siegel, S. M., and Siegel, B.Z. 1983. removal of uranium (VI) from solution by fungal biomass and fungal wall, related biopolymers, *Science* 219. 285
32. García, E. 1998. Tesis QFB: "Caracterización del Quitosán como excipiente de compresión directa". FES Cuautitlán Edo de México pp 43-51
33. García, H. 1999. Tesis QFB "Pruebas de Actividad Antibacteriana del Quitosán" FES Cuautitlán, Edo De México pp 49-95
34. Gamica-Martínez, O. E. 2001. Tesis IA. Permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas de películas modificadas de quitosán. UNAM. Cuautitlán Izcalli, Edo. Méx.
35. Garmendia -Núñez, E. 1996. Las granjas acuícolas y su participación en el desarrollo regional. *Camaronicultura 96*. Foro Internacional, Mazatlán, Sinaloa, México, 1-3 Agosto

1996.

36. Guerrero, L., Omil, F., Méndez, R., Lema, J., 1998. "Protein recovery during the overall treatment of wastewaters from fish-meal factories". *Bioresource Tech.* No. 63:221-229. Elsevier Science Ltd. Great Britain.
37. Horwitz, W. A.O.A. C. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist.* 1975. Doceava Edición; Washington, D.C.
38. Imeri, A., Knorr, D. 1988 "Effects of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice; *J. Food Sci.* 53: 1707;
39. Kargi, F. And Shuler, M. L. 1980. An evaluation of various flocculants for the recovery of biomass grown on poultry waste. N "Agricultural wastes" Ed. T.R. Miles. Applied Science Publishers Ltd. London
40. Kawamura, S. 1982. Private communication. J.M. Montgomery Consulting Eng. Inc., Pasadena, Calif.
41. Kay, R. 1982. Private Communication. Bioshell Inc., Albany, Oregon.
42. Kemp, M. V. And Wightman, J.P. 1981. Interaction of 2-4D and Dicamba with Chitin and chitosan. *Virginia J. of Science* 32(2): 34.
43. Kienze-Sterzer, C., Rodriguez-Sánchez, D., and Rha, C. 1982. Dilute solution behavior of a cationic polyelectrolyte. *J. Applied Polymer Sci.* 27: 4467.
44. Kienze-Sterzer, C.A., Rodriguez - Sánchez, D., and Rha, C. 1982a. Mechanical properties of chitosan films: effect of solvent acid. *Macromol. Chem* 183: 1353.
45. Kirk, R., Sawyer, R., Egan, H., 1996. *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson Cia.* Ed. Continental S.A. de C.V. 2a Edición México, pp.23 ss.
46. Knorr, D. and Betschart, A.A. 1978. The relative effect of and inert substance and protein concentrates upon loaf volume of breads. *Food Sci. and Tech.* 11:198.
47. Knorr, D. 1984. "Use of Chitinous Polymers in food"; *Food Tech.* January:85-96.
48. Knorr, D and Betschart, A.A. 1981. Water absorption and loaf volume of protein fortified breads. *Food Sci. and Tech.* 14: 306.
49. Knorr, D., Enero, 1991. "Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing Waste Management", *Food Technology*
50. Kobelke, D 1989 "By-products from crustacean wastes chitin production". *Food Australia*
51. Lubian, L 1989 "Concentrating cultured manne microalgae with chitosan"; *Agnc. Eng.* 5: 257;
52. Macrae, R., Robinson, R.K., Sadler, M.J 1993. "Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition" Academic Press; Gran Bretaña, Vol VI: pp. 4064-4107
53. Maguolato, D 1978 A process for deacidifying a coffee extract and the deacidified extract obtained UK Patent Application

54. Marsi, M.S. Reuter, F.W., and Friedman, M. 1974. Binding of metal cations by natural substances. *J. Appl. Polymer Sci.* 18: 675.
55. Maukdin, A., Szabo, A. "Shnmp canning waste treatment study"; EPA-660/2-74-061. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
56. Mc Kay, G., Blair, H.S., and Gardner, J. R. 1982. Absorption of dyes on chitin in equilibrium studies *J. Appl. Polymer Sci.* 27: 3043.
57. Mc Neely, W.H. 1959. Chitin and its derivatives. In "Industrial Gums". Ed. R.L. Whistler and J. N. BeMiller. Academic Press, New York.
58. McKay, G., Blair, H., Gardner, J. 1982. "Absorption of dyes of chitin. I. Equilibrium studies"; *J. Appl. Polymer Sci.*, 27;
59. Miranda, P., Lara, V., Soto, B., Sixto, B. 1996. Servicio Social: "Estudio de las variables que intervienen en la extracción de quitina a partir del exoesqueleto del camarón". UNAM. FES Cuautitlán. Campo 1.
60. Muzzarelli, 1977. "Chitin". Pergamon Press Oxford.
61. Muzzarelli, M.G., and Weckx, N. 1972. Chitin and chitosan as chromatographic support and adsorbents for collection of metal ions from organic and aqueous solutions and sea water. U.S. Patent No 3, 635, 818.
62. Muzzarelli, R. May 1998 "Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference on Chitin, Chitosan"; pp. 64-78
63. Muzzarelli, R., Jeuniaux, C., Gooday, G. 1986. "Chitin in Nature and Technology"; Plenum Press- N.Y and London; pp. 7-12
64. Muzzarelli, R. 1977. "Chitin"; Pergamon Press LTD; Great Britain; pp 94-103
65. Muzzarelli, R.A.A. 1976. Biochemical modification of chitin. In " The insect Integument". Ed. H.R. Hepburn. Elsevier Scientific Pub Co., Amsterdam.
66. Nagyvyay, J.J., Falk, J.D., Hill, M.L., Schmidt, M.L., Wilkins, A.K. and Bradbury, E.L. 1979. Rthw hypolipidemic activity of chitosan and other polysaccharides in rats. *Nutrition Reports Int.* 20:677.
67. Nicol, S. 1991. Life after death for empty shells. *New Scientist* Feb. 46-48.
68. Nonthe, S., Miranda, S., Rosales, M., Lara, V. Servicio Social. "Recuperación de proteína a partir de los efluentes del proceso de obtención de Quitina a partir de desechos de camarón". Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM
69. Páez, F., Guerrero, S., Ruiz, A. 1999 " Descarga de Nutrientes del cultivo de camarón en las Aguas de la Costa del Golfo de California", Estación Mazatlán, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, Mazatlán, Sinaloa, México
70. Papineau, A., Hoover, D., Knorr, D. 1990 "Antimicrobial activity of chitosan", *Food Biotech* (in press)
71. Perkins, B.E. "Recovery of proteinaceous byproducts from shnmp cannery effluents. M.S

thesis, Louisiana State Univ., Baton Rouge.

72. Peterson, M., Johnson, A. Encyclopedia of Food Science. Avi Pub. Co, Inc. Westport, Connecticut.
73. Rawis, R.L. 1984. "Prospects brighten for converting chitin wastes to valuable products"; Chemical Engineering News. 62: 42-45
74. Romo, C., Anderson, C. 1979. "Determination of Optimum Parameters for protein Isolation from Krill (*Euphasia Superba*) waste products"; J. Food Sci., 44: 1426-1479.
75. Salvador, L. 2000. Tesis IA: "Recubrimiento de quitosán en Aguacate" FES Cuautitlán, Campo 1. Edo de México
76. Sandford, P., Skjak-Braek, G., Anthonson, T. 1989. "Chitin and Chitosan, Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications"; Ed. Elsevier Applied Science; London and New York; pp. 3-11; 37-43; 45, 69; 161-169.
77. Sandford, P., Hutchings, G. 1987. "Chitosan: a natural, cationic biopolymer: Commercial applications". In "Industrial Polysaccharides: Genetic Engineering, Structure/Property relations and Applications", Ed. M. Yalpani. Elsevier Science Publishers, B.V., Amsterdam;
78. Sandford, P., PhD; Director, Product Development Bjo Applications Group, Protan, Inc. P.O.Box 1632, Woodinville, Washington 98072
79. Shahidi, F., Vidana, J., Jeon, Y. 1999. "Food applications of chitin and chitosans". Trends in Food Sci. and Tech., 10: 35-51.
80. Shimahara, K., Takiguchi, Y., 1988. "Preparation of crustacean chitin, methods in Enzymology"; 161: 417
81. Sikorski, Z., Kolakowska, A. 1994. "Changes in proteins in frozen stored fish". In Seafood Proteins, eds Z.E. Sikorski, B. Sun Pan and F. Shahidi, pp. 99-112. Chapman and Hall Inc. New York.
82. Simpson, B., Nayeri, G., Yaylayan, V.; Ashie, I. 1996. "Enzymatic hydrolysis of shrimp meat"; "Food Chemistry", Vol. 61. No. 1/2, pp 131-138., Elsevier Science Ltd. Great Britain.
83. Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H. 1989. "Food composition Nutrition Tables" (1989-1990); Ed. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 4ª edición, Stuttgart, Alemania.
84. Subangsinghe, S. 1994. The development of crustacean and molluscs industry for chitin chitosa resource. Chitin and Chitosan- The versatile environmentally friendly modern materials, ed. M. B. Zakana, W. Wan Muda and M.P. Abdullah. Pp 27-34. National University of Malaysia Kuala Lumpur, 1994
85. Synownecki, J., Abdul, N. 2000. "The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp *Crangon crangon* processing discards". Food Chem. 66: 147-152
86. Trejo, V. 2001. Tesis IA. "Estimación de la permeabilidad al vapor de agua a películas a base de quitosán" FES Cuautitlán, Edo de México
87. Tsai, M., Pan, B. 1988. "Biochemical Changes of grass shrimp (*Penaeus monodon*) during chilled storage". J. of the Fisheries Soc. of Tawan 15(1), 49-58.

88. Williams, B.L. Wilson, K. 1981. "Principios y Técnicas de Bioquímica Experimental" Ed. Omega S.A.; Barcelona, España.
89. Zakaria, Z., Hall, G., Shama, G., 1998. "Lactic acid fermentation of scampi waste in a rotating horizontal bioreactor for chitin recovery". Process Biochemistry Vol. 33, No. 1: 1-6. Elsevier Science Ltd. Great Britain.
90. Zikakis, J. 1984. "Chitin, Chitosan and Related Enzymes"; Academic press, NY; Orlando, Florida.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**