

Universidad de Panamá
Centro Regional Universitario de Coclé
Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología
Escuela de Ciencias y Tecnología de Alimentos

Tesis

**“Obtención y caracterización de quitosano a partir del exoesqueleto de camarón
Litopenaeus vannamei cultivado en la provincia de Coclé y su aplicación como
recubrimiento comestible para la industria alimentaria”**

Por:

Betzaida Carolina Domínguez García C.I.P.: 8-906-751

Yaneth Amparo Martínez C.I.P.: 2-737-1812

Trabajo presentado a la Escuela de
Ciencias y Tecnología de
Alimentos como requisito para
optar por el título de Licenciatura en
Ciencias y Tecnología de
Alimentos.

2019

Profesor asesor

Mgr. Nelvin Alonso Ortíz Castillo

Profesor de Química en la Universidad de Panamá, Sede Regional de Coclé

Correo electrónico: nelvinortiz@hotmail.com

Agradecimientos

A Dios por darnos la vida y permitirnos cumplir esta meta. A nuestros padres y familiares por su apoyo incondicional, consejos y motivación.

Al profesor tutor Nelvin Ortíz por guiarnos y compartir sus conocimientos para lograr el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al profesor Manuel González por colaborar en el desarrollo experimental, préstamo de equipos, reactivos y materiales necesarios para los análisis; además, del CIDETA durante los meses de prueba.

A los profesores, Juan Ramos y Milton Moreno, por su ayuda en la realización del trabajo.

A los licenciados de la Escuela de Ciencias y Tecnología de Alimentos por facilitarnos los equipos, cristalería y áreas de laboratorios para la realización de los diversos análisis.

Betzaida y Yaneth

Índice General

I. Introducción	11
II. Planteamiento del problema	13
2.1. Situación problemática	13
2.2. Problema	13
III. Justificación	14
IV. Objetivos	15
4.1. Objetivo general	15
4.2. Objetivos específicos	15
V. Antecedentes	16
5.1. Antecedentes de estudios	16
5.2. Producción de camarón en Panamá	16
5.3. Características del Camarón blanco del Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	17
5.4. Quitina y quitosano	18
5.5. Obtención de quitina y quitosano	20
5.6. Propiedades del Quitosano	21
5.7. Aplicaciones y Usos del Quitosano	22
5.8. Determinación del grado de desacetilación del Quitosano	23
5.9. Análisis químico o proximal	24

5.10. Mercado mundial de quitina, quitosano y sus derivados	25
5.11. Producción de plásticos a nivel mundial	26
VI. Materiales y métodos	27
6.1. Tipo de Investigación.....	27
6.2. Materia prima	27
6.3. Instrumentos y reactivos a utilizados en los procesos	27
6.4. Flujograma para la obtención de harina del exoesqueleto de camarón	28
6.4.1. Descripción del proceso	28
6.5. Flujograma para la obtención de quitosano	29
6.5.1. Descripción del proceso para obtener quitosano	30
6.6. Análisis proximal a la harina del exoesqueleto de camarón blanco	31
6.6.1. Determinación de humedad	31
6.6.2. Análisis de cenizas totales	31
6.6.3. Determinación del extracto etéreo por el método de Soxhlet	31
6.6.4. Determinación de proteínas por el método de Kjeldahl	31
6.7. Determinación del grado de desacetilación del quitosano	32
6.8. Procedimiento de formación de películas	33
6.8.1. Descripción del proceso	33
6.9. Elaboración de recubrimiento y aplicación en vegetales	34
VII. Resultados y discusión	35

7.1. Análisis proximal de la harina	35
7.2. Determinación del grado de desacetilación de quitosano	36
7.3. Aplicación de quitosano como recubrimiento en ñame (<i>Dioscorea alata L</i>) y ají dulce (<i>Capsicum annum</i>)	37
7.4. Aplicación de quitosano como película comestible	42
7.5. Rendimientos	43
VIII. Conclusiones	44
IX. Recomendaciones.....	45
X. Referencias bibliográficas	46
XI. Anexos	50

Índice de Cuadros y tablas

Cuadro 1. Algunas de las aplicaciones de la quitina y el quitosano en la agricultura.....	23
Tabla 1. Análisis proximal de la harina de exoesqueleto de camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	35
Tabla 2. Resultados de la pérdida de peso en muestras de ñame (<i>Dioscorea alata L</i>) y ají dulce (<i>Capsicum annum</i>)	37
Tabla 3. Porcentaje de pérdida de humedad de las muestras de ñame	38
Tabla 4. Cambios de coloración y textura durante almacenamiento	39
Tabla 5. Porcentajes de la pérdida fisiológica de peso en las muestras de ají dulce (<i>Capsicum annum</i>)	40

Índice de figuras

<i>Figura 1.</i> Morfología del <i>Litopenaeus vannamei</i>	16
<i>Figura 2.</i> Estructura de la quitina y el quitosano	20
<i>Figura n°3.</i> Curva de titulación potenciométrica en muestra de quitosano obtenido de camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	36
<i>Figura 4.</i> Gráfico comparativo de la pérdida de humedad en las muestras de ñame (<i>Dioscorea alata L</i>)	38
<i>Figura 5.</i> Cambios observados en las muestras de ñame durante almacenamiento en refrigeración	40
<i>Figura 6.</i> Grafico comparativo del % de pérdida de humedad en muestras de ají dulce (<i>Capsicum annum</i>)	41
<i>Figura 7.</i> Muestras de ají al día 6 de estar bajo almacenamiento en refrigeración	42
<i>Figura 8.</i> Película obtenida a partir de solución de quitosano al 2% en ácido acético ...	42

Índice de Anexos

Anexo 1. Muestras de colas de camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	50
Anexo 2. Pasos para la obtención de harina de exoesqueleto de camarón	50
Anexo 3. Harina de exoesqueleto de camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	50
Anexo 4. Análisis proximal de la harina	51
Anexo 5. Proceso de obtención de quitina y quitosano	52

Resumen

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objetivo de obtener quitosano a partir del exoesqueleto de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en la provincia de Coclé y su aplicación como recubrimiento para la industria alimentaria. Las muestras para este estudio consistieron en colas de camarón blanco congeladas, procesadas mediante operaciones preliminares para la obtención de la harina de exoesqueleto, cuyo análisis proximal dio como resultado 23.9 % de cenizas, 20.2% de proteínas y, 1.07% de extracto etéreo.

Posteriormente, la harina fue sometida a procedimientos químicos de despigmentación, desmineralización y, desproteínización, obteniendo 45.06 % de quitina. Esta fue desacetilada con NaOH al 60% a 100°C, obteniéndose 35.2% de quitosano con un grado de desacetilación de 78.9 ± 1.02 .

El quitosano obtenido se utilizó como recubrimiento, disuelto al 2% en ácido acético 4%. Fue aplicado en muestras de ñame y ají mínimamente procesados, en donde se evaluaron características físicas y pérdida de humedad durante siete días, en el caso del ñame y seis días en el ají. Se observó que este recubrimiento retardó el pardeamiento y la pérdida de humedad en el ñame, en caso contrario, no funcionó para el ají. También, se elaboró un bioplástico utilizando las mismas cantidades de quitosano (solución al 2%), por medio del método de evaporación lenta del solvente. La película presentó una coloración ligeramente amarilla, textura lisa y resistente al tacto.

Por medio de este estudio, se concluyó que el quitosano obtenido puede ser utilizado como alternativa para la industria alimentaria, por sus diversas aplicaciones.

Palabras Claves: Camarón blanco, película, quitina, quitosano, recubrimiento.

I. Introducción

En los últimos años ha tomado importancia la utilización de biopolímeros naturales como una nueva alternativa al uso de los polímeros sintéticos derivados del petróleo, para contribuir a la protección del ambiente, mediante el reciclado y aprovechamiento de residuos o desechos, provenientes de industrias procesadoras de alimentos, restaurantes, entre otros. La industria procesadora de mariscos es generadora de gran cantidad de desechos (conchas, cabezas, y patas), que constituyen la materia prima principal para la obtención de quitina, siendo uno de los componentes más abundantes en la naturaleza y es a partir de la quitina que se deriva otro componente importante como lo es el quitosano.

Actualmente, en Panamá no se aprovechan los desechos de la industria del camarón para producir quitosano, un compuesto que proviene de la desacetilación de quitina, y que posee determinadas propiedades, que lo hacen interesante para el desarrollo de diferentes productos de interés industrial. En nuestro país, el quitosano es importado, por lo que resulta costoso su adquisición. Por ello se hace necesario innovar y cubrir la necesidad de este producto con una producción que pueda suplir la demanda nacional y además destinarla a mercados de exportación, puesto que el quitosano está siendo muy empleado en todo el mundo para hacer diversos productos.

Tomando en cuenta esta problemática nuestro trabajo experimental, está basado en la especie de mayor cultivo en la región, el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). A partir de su exoesqueleto se obtiene la quitina, por medio de procedimientos químicos que consisten en separarla de pigmentos, proteínas y minerales, a través de las etapas que se denominan despigmentación, desproteínización y desmineralización respectivamente.

De la quitina se obtiene el quitosano, que a nivel comercial tiene aplicaciones en el área de agricultura, biomedicina, alimentos, tratamiento de agua residuales y potabilización entre otros. Actúa como barrera contra agentes contaminantes, microorganismos, reacciones de

pardeamiento, resaltando su biodegradabilidad, y actividad antimicrobiana, además de ser un componente no tóxico para el ser humano, lo que permite en la industria alimentaria utilizarlo para recubrir los alimentos y hacer una biopelícula que reduzca su deterioro y prolongue su vida útil.

Considerando que muchos alimentos mínimamente procesados presentan deterioro, se realizó la evaluación de los recubrimientos elaborados a partir de quitosano de camarón blanco y camarón titi (*Xiphopenaeus riveti*), aplicándolos en vegetales y observando su comportamiento físico durante la conservación en anaquel; cuyos resultados permiten dar una alternativa tecnológica para el aprovechamiento de los desechos y la producción tanto de quitina como quitosano, dándole un valor agregado a la industria camaronera en Panamá.

II. Planteamiento del problema

2.1. Situación problemática

En Panamá, al igual que en otros países los desperdicios que provienen de la industrialización, comercialización y consumo humano de camarón se les considera de bajo valor económico, por lo que tienen poca utilidad y se eliminan en la forma más barata y conveniente, tirándolos al mar, a cielo abierto o enterrándolos. Su aprovechamiento puede generar nuevos productos que pueden ser utilizados en distintos sectores de producción, así como fuente de empleo, más ingresos y beneficios ambientales. Entre estos productos destaca el quitosano, el cual tiene aplicaciones en medicina, agricultura, industria alimentaria, entre otras. Sin embargo, no contamos aún en nuestro medio con suficiente información y conocimiento que permita el aprovechamiento eficaz y uso de este producto.

2.2. Problema

¿Es posible producir quitosano a partir de los desechos del camarón y elaborar una película y una sustancia de recubrimiento que pueda ser aplicada en la industria alimentaria?

III. Justificación

Debido, a la creciente preocupación de sustituir empaques plásticos contaminantes no biodegradables, derivados del petróleo, por empaques biodegradables y a la búsqueda de tecnologías para prolongar la vida de anaquel de los alimentos, es necesario realizar en nuestro medio, investigaciones que permitan la búsqueda de nuevas sustancias de origen natural, que puedan actuar como alternativas que prolonguen la vida útil de los alimentos. El quitosano, constituye una alternativa interesante por sus potenciales aplicaciones. Se obtiene a partir de la quitina extraída de los desechos de los crustáceos y se trata de un compuesto que tiene múltiples aplicaciones. Se caracteriza por su inocuidad a la salud humana, se le puede utilizar en el campo de los alimentos y bebidas, como espesante y gelificante para lograr mayor viscosidad y consistencia, estabilizador de emulsiones, clarificante y floculante. Tiene propiedades antioxidantes que pueden ser empleadas para evitar el pardeamiento de frutas y vegetales y puede producirse películas y/o recubrimiento biodegradables para alimentos.

Los bioplásticos a base de quitosano están siendo estudiados por laboratorios de todo el mundo, ya que pueden contribuir notablemente a dar utilidad a los desechos del camarón y además de aportar solución a los problemas de contaminación por residuos plásticos derivados del petróleo, por lo que nuestro estudio se justifica al verificar bajo condiciones reproducibles en nuestros laboratorios, la factibilidad de obtener quitosano y demostrar su potencial antioxidante y su capacidad filmogénica, elaborando un material bioplástico y un recubrimiento con posibilidad de ser aplicado a la industria alimentaria.

IV. Objetivos

4.1 Objetivo general:

- Obtener quitosano a partir del exoesqueleto de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en la provincia de Coclé y su aplicación como recubrimiento para la industria alimentaria.

4.2 Objetivo específicos:

- Realizar un análisis proximal a la harina obtenida a partir del exoesqueleto de camarón blanco.
- Obtener quitina mediante la despigmentación, desmineralización y desproteínización de la harina del exoesqueleto de camarón.
- Producir quitosano mediante la desacetilación de la quitina.
- Caracterizar el quitosano en base a sus propiedades y proceso químico involucrado en su obtención.
- Elaborar una película y recubrimiento comestible a partir de quitosano, aplicada a la industria alimentaria.

V. Antecedentes

5.1. Antecedentes de estudios

Actualmente existe gran cantidad de investigaciones basadas en la obtención del quitosano y sus diversas aplicaciones, por ejemplo, Morey y Quinde (2012) realizaron un trabajo sobre “Obtención de quitosano y su aplicación en recubrimientos comestibles en mezclas con almidón”. En Guayaquil, con el objetivo de obtener quitosano, que consiguieron a partir del exoesqueleto de cangrejo, a través de un tratamiento químico que incluyó la desmineralización, desproteinización y desacetilación. Realizaron la caracterizaron en función de su grado de desacetilación y peso promedio molecular viscosimétrico. Para analizar el efecto de los recubrimientos sobre un alimento, las soluciones las aplicaron sobre fresas y se observaron los cambios de estas durante el almacenamiento, en la solución mostraron resultados para la preservación de la fruta.

Otro trabajo es la “Elaboración de membranas de quitosano para la eliminación de metales pesados de aguas industriales”, por Mora, Chávez, Araya y Starbird (2011), en Costa Rica, el objetivo de su investigación fue obtener membranas a base de quitosano para la remoción total o parcial de metales pesados en aguas tales como cromo, Cadmio y cobre, la metodología consistió en la preparación de la membrana en el laboratorio, proceso que les tardó entre tres a cuatro días, hicieron una disolución de quitosano en ácido acético y luego de obtener la membrana la incorporaron al equipo de filtración donde se bombeaba el agua contaminada, funcionando con un filtro o colador, obteniendo así agua libre de metales.

5.2. Producción de camarón en Panamá

La acuicultura en Panamá se promueve en dos direcciones: la acuicultura comercial, que realiza el sector privado y cuyo principal rubro de producción, consiste en la cría de

camarones peneidos, y la acuicultura de subsistencia o semi-comercial, donde se destaca el proyecto de piscicultura con su connotación eminentemente social, al ser dirigido fundamentalmente a las poblaciones de recursos limitados. El Gobierno, a través de la Dirección Nacional de Acuicultura del Ministerio de Desarrollo Agropecuario, apoya los dos enfoques.

La cría científica de camarones en Panamá se inició en el año de 1974, cuando la Compañía Agromarina de Panamá, S .A., una subsidiaria de la Ralston Purina, inició operaciones con seis estanques viveros y treinta estanques de ceba en un área de 34 hectáreas, cerca de la ciudad de Aguadulce en la región de El Salado, Provincia de Coclé. El Laboratorio de producción de post-larvas fue ubicado en Veracruz cerca de la ciudad capital. (FAO, 2005)

5.3. Características del Camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*)

- Distribución Geográfica: Nativo de la costa oriental del Océano Pacífico desde Sonora, México hasta Perú.
- Morfología: Cuerpo alargado, dividido en cefalotórax (rostro, antena, anténulas y periópodos), abdomen (6 segmentos abdominales y pleópodos) y cola (telson y urópodos), de color blanco translúcido con tonos amarillos. Tienen antenas, periópodos (patas delanteras) y urópodos (cola) pigmentados de color rojizo. Rostro moderadamente largo con 7 - 10 dientes dorsales y 2 - 4 dientes ventrales (Ver figura 1).
- Ciclo de vida: Desovan en aguas oceánicas costeras. Después de la fase larvaria (nauplio, zoea y mysis), las postlarvas migran a sistemas estuarinos para continuar su desarrollo hasta alcanzar una talla entre 4 y 10 cm. Posteriormente, regresan al océano para completar su madurez.

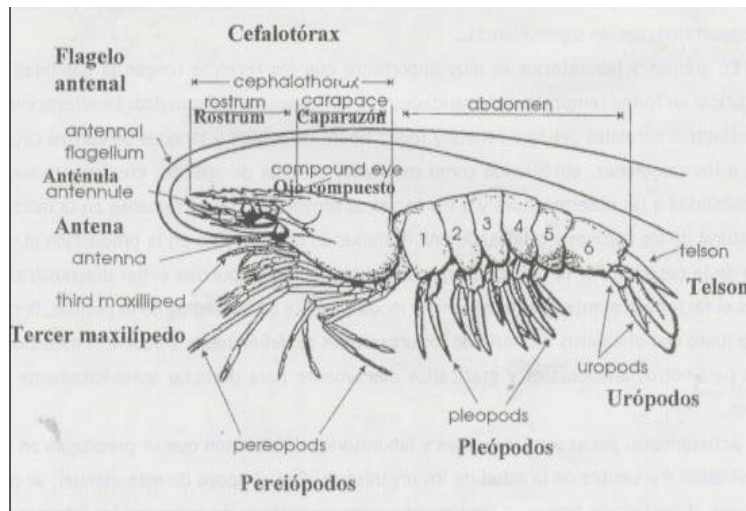


Figura 1. Morfología del Litopenaeus vannamei

Fuente: <http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/tamp/estudios/2007/28TM2007PD017.pdf>

- Hábitat: Sistemas marinos con temperatura media anual de 20 °C, toleran un intervalo de salinidad entre 2 - 40 unidades prácticas de salinidad (ups), con un óptimo de 35 ups. Los adultos viven en ambientes marinos tropicales y subtropicales con fondos arenosos, mientras que las postlarvas pasan la etapa juvenil y pre-adulta en estuarios y lagunas costeras.
- Alimentación en medio natural: Fitoplancton y zooplancton. (Instituto Nacional de Pesca de México, 2018).

5.4. Quitina y quitosano

La quitina es un polisacárido compuesto de unidades de N-acetil-Dglucos-2-amina. Estas están unidas entre sí con enlaces β -1,4, de la misma forma que las unidades de glucosa componen la celulosa. Esto permite un incremento de los enlaces de hidrogeno con los polímeros adyacentes, dándole al material una mayor resistencia. Es el segundo polímero natural más abundante después de la celulosa. Es altamente insoluble en agua y en solventes orgánicos debido a los enlaces de hidrogeno que presenta. La quitina se vuelve soluble en

ácidos inorgánicos diluidos cuando pierde el acetilo del grupo acetilamino, convirtiéndose en quitosano. (Pastor, 2004).

El quitosano, poli ((1-4)2-amino-2-desoxi- β -Dglucosa), es polisacárido lineal, compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de unidades desacetiladas y acetiladas, posee una ligera carga positiva es soluble en medio ácido o en soluciones neutras con dependencia de la carga del pH. (Rabea et al, 2003)

Hasta ahora no existe una nomenclatura oficial para diferenciar a la quitina del quitosano, algunos autores establecen la diferencia en función del porcentaje de grupos acetilos en la molécula (grado de acetilación).

En la naturaleza se han detectado tres formas polimorfas de quitina, alfa, beta y gama, la diferencia entre ellas se encuentra en la disposición de las cadenas. La alfa quitina se presenta en disposición antiparalela permitiendo la mayor cantidad de formación de puentes de hidrógeno intermoleculares, la alta cantidad de puentes de hidrógenos entre las cadenas de alfa quitina que se forman son los responsables de su insolubilidad en disolventes acuosos y en la mayoría de solvente orgánicos. (Blackwell et al., 1980). En la beta quitina las cadenas se encuentran en forma paralela proporcionando una fuerza intermolecular más débil. La gama quitina presenta dos cadenas paralelas en el mismo sentido y la siguiente en sentido opuesto.

Contrario a la quitina, el quitosano presenta diferentes alomorfos que dependen del modo de preparación de la muestra a analizar así como de su grado de acetilación y de despolimerización. Debido a la presencia de los grupos acetamidas en el C-2 se reduce la cantidad de puentes de hidrógeno y como consecuencia la estructura se vuelve más inestable. Las alomorfos hidratadas y anhidras del quitosano, han sido las más estudiadas. (Domard, 1998).

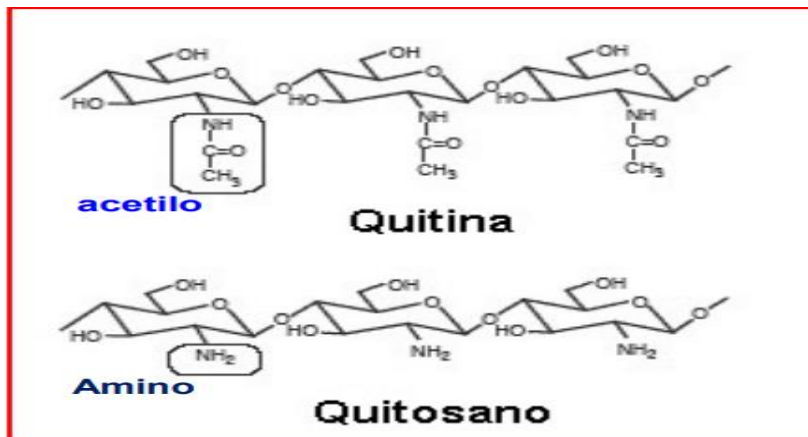


Figura 2. Estructura de la quitina y el quitosano

Fuente: <http://www.bioeconomia.mincyt.gob.ar>

5.5. Obtención de quitina y quitosano

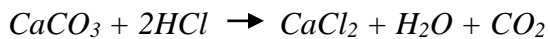
La obtención de quitina y quitosano puede realizarse por varios métodos: químicos y biológicos. De acuerdo a Giraldo (2015) el método químico consta de las siguientes etapas:

- Decoloración o despigmentación:

Es un proceso opcional que se le hace bien sea a la quitina o al quitosano, consiste en retirar los pigmentos de astaxantinas por un medio químico, normalmente se realiza utilizando peróxido de hidrogeno (H₂O₂) o xileno en solución con etanol, no se recomienda realizar este paso si no es totalmente necesario, el peróxido causa despolimerización y desnaturalización de la estructura química de estos dos polisacáridos (Adrian Chávez. et al 2012).

- Desmineralización:

La desmineralización con HCl se realiza para retirar el carbonato de calcio (CaCO₃) presente en los exoesqueletos de camarón, el CaCO₃ reacciona con los iones H₃O⁺ y Cl⁻ disociados en la solución presentándose la siguiente reacción:



La reacción es exotérmica, por lo que es recomendable llevarla a cabo a temperatura ambiente, el tiempo debe ser corto para evitar la despolimerización.

- Desproteínización:

La desproteínización con NaOH se realiza para retirar las proteínas presentes que interfieren con la pureza de la quitina.

Todas las proteínas tienen una estructura primaria constituida por una secuencia de aminoácidos, una secundaria constituida por la forma helicoidal y una terciaria representada por el enrollado sobre sí misma y la orientación espacial.

La estructura secundaria y terciaria son mantenidas por enlaces de hidrógeno, por lo que en contacto con los ácidos y álcalis se rompen los enlaces iónicos de hidrogeno, produciendo el desplegamiento de la proteína y su ruptura, lo que lleva a su destrucción irreversible y la pérdida de su actividad biológica. Tal destrucción irreversible adquiere la forma de la desnaturalización o la coagulación de las proteínas retirándolas de los exoesqueletos.

- Desacetilación

Básicamente consiste en convertir los grupos acetilo en grupos amino. Esto se logra al dispersar la quitina en una solución álcali caliente en periodos cortos.

5.6. Propiedades del Quitosano

Las dos propiedades fisicoquímicas más importantes del quitosano, son el grado de desacetilación y el peso molecular. El grado de desacetilación es un parámetro importante al momento de realizar la caracterización a este polímero, debido a que influye en la

biodegradabilidad, solubilidad en soluciones ácidas, hinchamiento en agua, actividad inmunológica, bioactividad y biocompatibilidad.

La composición química del quitosano le confiere la capacidad de formar películas que presentan un gran potencial para ser utilizada como empaques de alimentos debido a que es natural, no tóxico y está aprobado por la F.D.A para su empleo en los alimentos.

La capacidad filmogénica y actividad microbiana es una de las propiedades principales del quitosano, su estructura lineal le proporciona a algunas películas dureza, flexibilidad y transparencia, siendo resistentes a las grasas y aceites.

La presencia y abundancia de los grupos hidroxilos (primarios en C-6 y secundario en C-3) y el grupo N-acetil o amino (en C-2) en las moléculas de quitina y quitosano respectivamente, tienen tendencia a la formación de agregados lineales de alta cristalinidad. (Prashanth et al., 2007).

5.7. Aplicaciones y Usos del Quitosano

El quitosano y sus derivados se pueden utilizar como protector de alimentos en general, en nutraceuticos, formulaciones para cosméticos, aplicaciones médicas, en pienso, como agente floculante y emulsificante, en textiles, para elaborar pulpa y papel. Las fibras elaboradas a partir de quitosano y quitina han sido muy útiles como sutura absorbible y apósitos en las heridas. La capacidad antimicrobiana del quitosano, es útil en la medicina, la agricultura (ver cuadro 1) y en conservación de alimentos (Allan and Hadwiger, 1979).

Cuadro 1. Algunas de las aplicaciones de la quitina y el quitosano en la agricultura

Uso	Bipolímero	Propiedades aprovechadas	Referencias	Cultivo
Películas para recubrimiento de frutos, hojas, semillas y vegetales frescos	Quitosano	Antimicrobiana	Galed <i>et al.</i> , (2004), Srinivasa <i>et al.</i> , (2004), Ratanachinakorn <i>et al.</i> , (2005) Hewajulige <i>et al.</i> , (2007), Devlieghere <i>et al.</i> , (2004)	Cítricos, mango, toronja, lechosa (papaya), fresa, tomate
Clarificación de jugos de fruta	Quitosano	Coagulante-Floculante	Chatterjee <i>et al.</i> , (2004), Boguslawski <i>et al.</i> , (1990), Root y Johnson, (1978), Hongfei y Hesheng, (2003)	Pera, toronja, limón, manzana
Protección de plántulas	Quitosano	Fungicida	Barka <i>et al.</i> , (2004); Lafontaine y Benhamou, (1996)	Uva de vino, tomate
Liberación controlada de agroquímicos	Quitina y quitosano	Formación de hidrogeles, labilidad de derivados	Mc Cormick <i>et al.</i> , (1982), Teixeira <i>et al.</i> , (1990), Hirano, (1978), Palma <i>et al.</i> , (2005)	Arándano
Estimulación del crecimiento	Quitosano	Bioestimulante	Nge <i>et al.</i> , (2006)	Orquídea
Inhibidor del oscurecimiento de frutos y tubérculos	Quitosano	Biocida	Waliszewski <i>et al.</i> , (2002)	Banana, papa
Biocidas	Quitosano	Antimicrobiana	Liu <i>et al.</i> , (2007), Hadwiger y McBride, (2006), Bautista-Baños <i>et al.</i> , (2006)	Tomate, papa, hortalizas
Corrección de sustratos de crecimiento	Quitina y quitosano	Fungicida, nematocida	Sneh y Henis, (1972), Abd-El-Kareem, (2002), Abd-El-Kareem <i>et al.</i> , (2002), Abd-El-Kareem <i>et al.</i> , (2004), Abd-El-Kareem <i>et al.</i> , (2006)	Lupino blanco (altramuz), guisante, tomate, papa, apio
Inductor de mecanismos de defensa	Oligómeros de quitina y quitosano	Inductor de resistencia	Khan <i>et al.</i> , (2003)	Soya

Fuente: Láres (2008).

5.8. Determinación del grado de desacetilación del Quitosano

Diversos métodos para determinar el grado de acetilación han sido estudiados, tales como titulaciones ácido-base, titulaciones conductimétricas, espectroscopia de infrarrojo y resonancia magnética nuclear. (Roberst, 1992).

En el método descrito por Broussignac, se emplea una titulación ácido-base. Se disuelve el quitosano en una solución de ácido clorhídrico y luego se valora con una solución de

hidróxido de sodio. La valoración se lleva a cabo midiendo el pH para cada cantidad de base añadida. Se obtiene una curva de pH con dos puntos de inflexión. Para determinar el grado de desacetilación se utiliza la siguiente ecuación:

$$\%NH_2 = 16,1 (V_2 - V_1) f / w$$

5.9. Análisis químico o proximal

Las proteínas, minerales, lípidos, pigmentos carotenoides y la quitina son los componentes de mayor importancia contenidos en el exoesqueleto del camarón. Estas sustancias se pueden determinar mediante análisis químicos como:

- Cenizas totales:

En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza. (Nollet, 1996)

- Humedad:

Los métodos de secado son los más comunes para valorar el contenido de humedad en los alimentos; se calcula el porcentaje en agua por la pérdida en peso debida a su eliminación por calentamiento bajo condiciones normalizadas. Aunque estos métodos dan buenos resultados que pueden interpretarse sobre bases de comparación, es preciso tener presente que a) algunas veces es difícil eliminar por secado toda la humedad presente; b) a cierta temperatura el alimento es susceptible de descomponerse, con lo que se volatilizan otras sustancias además de agua, y c) también pueden perderse otras materias volátiles aparte de agua. (Pearson, 1993)

- Extracto Etéreo (Método de Soxhlet):

Es una extracción semicontinua con disolvente donde una cantidad de disolvente rodea la muestra y se calienta a ebullición, una vez que dentro del Soxhlet, el líquido condensado llega a cierto nivel es sifoneado de regreso al matraz de ebullición, la grasa se mide por pérdida de peso de la muestra o por cantidad de muestra removida. (Nielsen, 1998).

- Proteínas:

El método que generalmente se emplea en la cuantificación de la proteína es el método Kjeldahl, el cual se basa en la determinación de la cantidad de Nitrógeno orgánico contenido en productos alimentarios, compromete dos pasos consecutivos:

- a) La descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado.
- b) El registro de la cantidad de amoníaco obtenida de la muestra

Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación de carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico es transformado a amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio.

La velocidad del proceso puede ser incrementarse adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición (sulfato de potasio) o por la adición de oxidantes (peróxido de hidrógeno, tetracloruro, persulfatos o ácido crómico) y por la adición de un catalizador. (Nollet, 1996)

5.10. Mercado mundial de quitina, quitosano y sus derivados

Durante la última década, la producción mundial anual de quitina y quitosano purificados se estimó en alrededor de 1.600 toneladas. Estados Unidos y Japón son los principales productores. En menor escala, destacan India, Italia y Polonia. En la actualidad, aunque no existen datos confiables, la producción se aproxima a las 70 mil toneladas. Esta cantidad es

insuficiente para atender la creciente demanda mundial de quitosano como agente quelante y floculante para el tratamiento de aguas residuales, y el derivado de sus usos como ingrediente en formulaciones de cosméticos y como suplemento alimenticio. (Barra, Romero, Beltramino, 2012).

5.11. Producción de plásticos a nivel mundial

Según la ONG ambientalista Greenpeace, hasta la actualidad se han fabricado unos 8,3 mil millones de toneladas de plástico desde que su producción empezase sobre 1950, lo que equivale al peso de unos mil millones de elefantes. Tan solo los fabricantes de bebidas producen más de 500 mil millones de botellas de plástico de un solo uso cada año. China sigue siendo el principal productor de plásticos con un 29% del total en 2016, seguido de Europa (19%) y América del Norte (18%).

5.12. Problemática ambiental generada por los plásticos

El plástico tarda cientos de años en descomponerse en el medio ambiente, hasta 1.000 años según el tipo de plástico. En el medio ambiente se va fragmentando en trocitos cada vez más diminutos que atraen y acumulan sustancias tóxicas. Estos fragmentos contaminan ya todos los mares y costas del planeta y están presentes en prácticamente todos los ecosistemas. Son ingeridos por animales, incluso por seres microscópicos como el plancton, contaminando la cadena alimentaria de la que dependemos.

(<https://www.ecointeligencia.com/2013/09/contaminacion-plastico-fronteras/>).

VI. Materiales y métodos

6.1. Tipo de Investigación

El tipo de investigación es experimental, orientado por el paradigma cuantitativo.

6.2. Materia prima

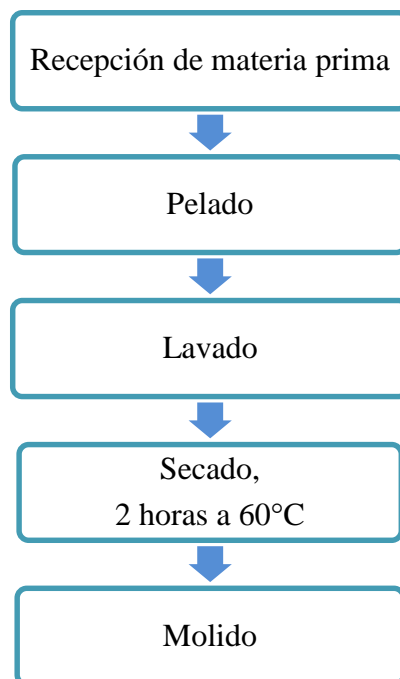
La muestra estaba compuesta por colas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), obtenidas del supermercado en bolsas de 1,5 lb, congeladas. Lo que representó 581 g de exoesqueleto.

6.3. Instrumentos y reactivos a utilizados en los procesos

- Vaso químico de 250 ml
- Vaso químico de 500 ml
- Probeta de 10 ml
- Probeta de 50 ml
- Embudo de vidrio con llave
- Embudo Büchner
- Propipeta de 10 ml
- Bureta de 50 ml
- Bureta de 100 ml
- Matraz de Erlenmeyer de 250 ml
- matraz de Erlenmeyer de 500 ml
- Varilla de agitación
- Espátula
- Tenazas
- Kitasato

- Plato Petri
- Agitador magnético
- Etanol al 85%
- Ácido acético
- Ácido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Horno
- Mufla
- Hornilla eléctrica
- Equipo soxhlet

6.4. Flujograma para la obtención de harina del exoesqueleto de camarón

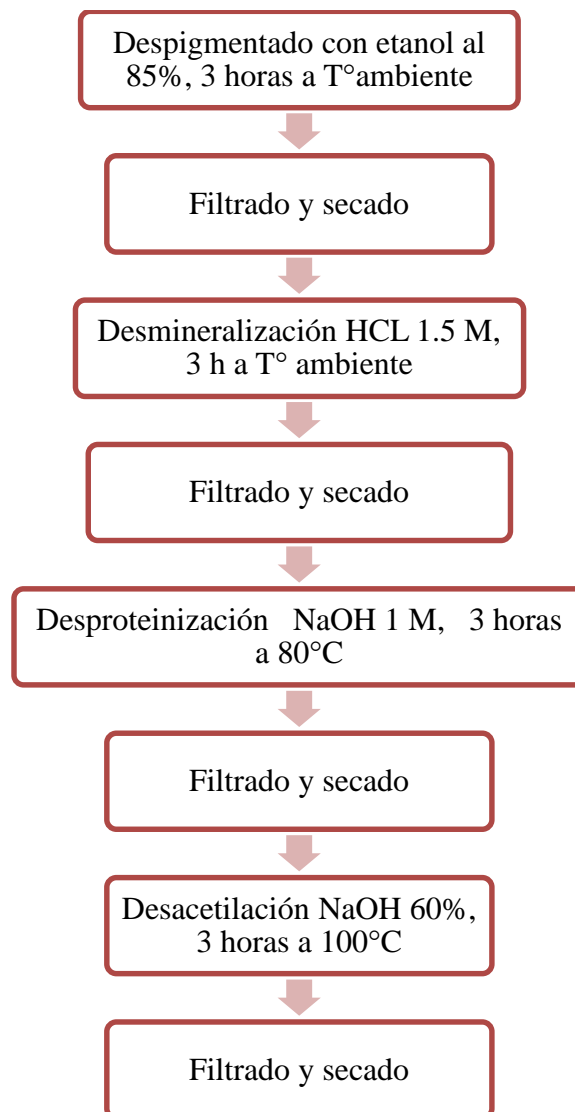


6.4.1. Descripción del proceso

- Recepción de la materia prima: se utilizaron colas de camarón blanco congeladas.
- Pelado: la separación de la cáscara se realizó manualmente.

- Lavado: se sumergieron las cáscaras en agua potable a temperatura ambiente y luego se escurrieron.
- Secado: se realizó en un secador por convección a 60 °C durante 2 horas.
- Molido: se utilizó una licuadora para la reducción del tamaño de la cáscara. Se obtuvo una harina fina.

6.5. Flujograma para la obtención de quitosano



6.5.1. Descripción del proceso para obtener quitosano

- **Despigmentación:** Se realizó para separar el pigmento conocido como astaxantina. Se preparó una solución de etanol al 85%. Se midió la masa de la harina de camarón, utilizando una relación 1:10 y se colocó en agitación por tres horas a temperatura ambiente. Luego se filtró al vacío y posteriormente se lavó la harina con agua destilada. Se volvió a filtrar al vacío y se procedió a secar la harina en un horno a 60 °C por 90 minutos.
- **Desmineralización:** Se preparó una solución de HCl 1.5 M. Se añadió a la harina despigmentada en la relación 1:10. Se colocó en agitación por tres horas a temperatura ambiente. Luego se separó por filtración al vacío. Posteriormente se lavó la harina con agua destilada hasta obtener un pH de 7. Se volvió a filtrar y se colocó en un horno a 60 °C por una hora.
- **Desproteización:** Se preparó una solución de NaOH al 1M. Se añadió a la harina en una relación de 1:10. Luego se agitó por tres horas a 80 °C. Se procedió a lavar con agua destilada hasta pH neutro y se filtró al vacío. Posteriormente se colocó en el horno a 60°C por una hora. El producto obtenido luego de este proceso, se le conoce como quitina.
- **Desacetilación:** Se preparó una solución de NaOH al 60%, se añadió a la quitina en una relación 1:10 y se agitó por tres horas a 100°C. Luego se filtró al vacío y se separó el quitosano. Se lavó con agua destilada hasta pH neutro. Se secó en horno a 50°C por 30 minutos y se pasó por un molino para disminuir el tamaño de las partículas.

6.6. Análisis proximal a la harina del exoesqueleto de camarón blanco

6.6.1. Determinación de humedad (método A.O.A.C. 925.10)

Se pesaron 2.1880 g de muestra en una cápsula de porcelana, se hizo por duplicado. Luego se colocó la muestra en la estufa 2 horas a 100°C. Posteriormente se retiró de la estufa y lo dejamos enfriar en el desecador. Luego pesamos la muestra.

6.6.2. Análisis de cenizas totales (método A.O.A.C. 923.03)

Se pesaron 2.0618 g de muestra en el crisol. Luego se calcinó la muestra, primeramente con un mechero y posteriormente la colocamos en la mufla por 2 horas, cuidando que la temperatura no pasara de 550° C. Retiramos de la mufla y dejamos enfriar en el desecador cuidando de no tapar por completo el desecador y cuando se alcanzó el equilibrio con la temperatura ambiente se procedió a pesar la muestra.

6.6.3. Determinación del extracto etéreo por Soxhlet (método A.O.A.C. 920.39)

Se pesaron 1.971 g de muestra sobre un papel filtro. Luego enrollamos la muestra en el papel filtro y colocamos en el extractor Soxhlet. Se adaptó el matraz bola al extractor conteniendo el papel filtro con la muestra, y posteriormente ajustamos el refrigerante sobre el extractor. Agregamos unos 200ml de éter de petróleo por el extractor. Montamos el sistema de destilación y calentamos el matraz con manta calefactora a ebullición suave hasta la extracción total del material lipídico. Una vez extraída toda la grasa, esperamos a que se enfriara el equipo de destilación. Desmontamos el matraz, para luego volatilizar el disolvente remanente sobre la manta calefactora. Dejamos enfriar en desecador y luego pesamos.

6.6.4. Determinación de proteínas por el método de Kjeldahl (método A.O.A.C.2001.11)

Se midió 1 g de muestra en un papel filtro, luego se envolvió y se agregó al balón de Kjeldahl

Se añadió 1 g de CuSO_4 y 10 g de K_2SO_4 (mezcla catalizador-elevador de la temperatura), luego se adicionó 25ml de ácido sulfúrico concentrado por los bordes del balón con mucho cuidado.

Se colocó el balón de Kjeldahl en la hornilla eléctrica por una hora aproximadamente. La finalización del ataque se observó por la aparición de una solución de color verde esmeralda límpido. Durante la hora de digestión, el balón de Kjeldahl se fue rotando periódicamente con la finalidad de que la combustión en la muestra fuera homogénea. Se dejó enfriar el producto así obtenido y se adicionó 200ml de agua.

Antes de iniciar el proceso de destilación, en un vaso Erlenmeyer se añadió 50ml de ácido bórico y 5 gotas de indicador Shiro-Tashiro. Se colocó el vaso Erlenmeyer en el terminal del equipo de destilación de modo que el terminal quede inmerso en la solución bórica (4%).

En el balón se agregaron 80 ml de solución de NaOH al 40% y seguido se ajustó bien las partes al equipo de destilación. Se inició el proceso de destilación hasta obtener el volumen 150 ml de destilado en el vaso Erlenmeyer.

Luego se tituló el contenido del vaso Erlenmeyer con HCL 0,1 N hasta la variación de color, en este caso de verde azulado hasta un púrpura.

6.7. Determinación del grado de desacetilación del quitosano (método de Broussignac)

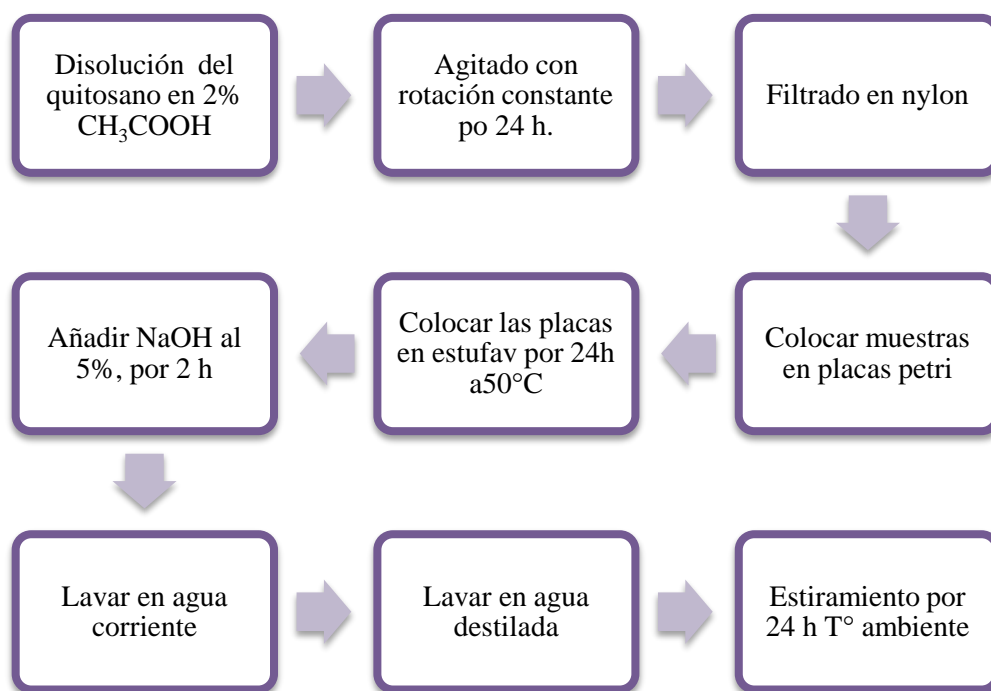
Se pesaron 0,5 g de muestra y se disolvieron en 25mL de una disolución de HCl 0.3 M. Se colocó en agitación a temperatura de 55°C por una hora y luego se realizó la valoración potenciométrica con disolución de NaOH 0.1M, empleando un pHmetro.

La valoración se llevó a cabo midiendo el cambio de pH cada 2 mL de base añadida, la adición se realizó de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y

evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. Se realizaron tres réplicas y se calculó el % de grupos aminos libres empleando la siguiente expresión:

$$\% \text{ NH}_2 = \frac{16,1 \times (\text{Pto inflexión mayor} - \text{Pto inflexión menor}) \times \text{Molaridad solución NaOH}}{\text{Masa de quitosano}}$$

6.8. Procedimiento de formación de películas



6.8.1. Descripción del proceso

La preparación de la película polimérica se realizó por medio del método de evaporación lenta del solvente.

Se disolvió 2% de quitosano en ácido acético al 4% en un Erlenmeyer. Luego se agitó con rotación constante por 24 horas. Se filtró con un filtro de nylon. Se filtró nuevamente con filtro de “milopore”. Después de filtrada la solución de quitosano se colocó en placas Petri las cuales se colocaron en la estufa por 24 h. a 50° C. Transcurrido este tiempo se retiraron de la

estufa y se añadió NaOH al 5 % a cada placa Petri. Después de dos horas en NaOH al 5% se lavó en agua corriente. Posteriormente se lavó con agua destilada. Se sacaron la membrana de la placa Petri. Se lavaron con agua destilada nuevamente, después del lavado se le dio un estiramiento a la membrana durante 24 horas a T ° ambiente, con auxilio de una venda la membrana se prensó. Después de 24 horas se retira la membrana del estiramiento.

6.9. Elaboración de recubrimiento y aplicación en vegetales

Se disolvió 2% de quitosano obtenido del exoesqueleto de camarón blanco y tití en ácido acético al 4% y 2% respectivamente en dos Erlenmeyer. Luego se agitaron con rotación constante por 24 horas. Se filtró con un filtro de nylon. Se filtró nuevamente con filtro de “milopore”. Posteriormente se utilizaron para recubrir ñame y ají dulce. Las muestras se colocaron en platos Petri cubiertos con plástico transparente y se almacenaron a temperatura de refrigeración, simulando las condiciones de almacenamiento en estanterías de supermercados. A las muestras se les midió la masa a diario por un periodo de siete días para el ñame y de 6 días para el ají, con los resultados obtenidos se realizaron cálculos para conocer los porcentajes de pérdida de humedad en estos alimentos. También se observaron los cambios de coloración, textura y desarrollo de microorganismos a nivel macroscópico en el ñame durante ese tiempo

VII. Resultados y Discusión

7.1. Análisis proximal de la harina

En la siguiente tabla se muestran los resultados del análisis proximal realizado a la harina obtenida del exoesqueleto de camarón blanco.

Tabla 1

*Análisis proximal de la harina de exoesqueleto de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)*

<i>Tipo de análisis</i>	<i>Valor obtenido(%)</i>
Humedad	9.9
Cenizas	23.9
Extracto etéreo	1.07
Proteínas totales	20.2

El porcentaje de humedad en la harina es adecuada para su conservación. De acuerdo, con trabajos realizados por Goycoolea (2004) la composición de proteínas en los exoesqueletos de crustáceos varía entre 13 - 58%, el carbonato de calcio entre 30 - 50% y los lípidos de 0.8-12%, lo que indica que los valores de proteínas y extracto etéreo obtenidos están dentro de estos rangos, pero el porcentaje de cenizas es menor.

La razón por la cual se obtuvo un porcentaje de humedad bajo, es debido a que se aplicó un proceso de secado, controlando tiempo y temperatura. Los valores de cenizas, extracto etéreo y proteínas totales varían por diversas causas, entre las cuales están: la especie, estado nutricional, madurez, hábitat, entre otras.

7.2. Determinación del grado de desacetilación de quitosano

Para determinar el grado de desacetilación del quitosano se utilizó la técnica de titulación potenciométrica ácido-base propuesta por Broussignac, P., mediante la medición de pH por cada ml de base añadida.

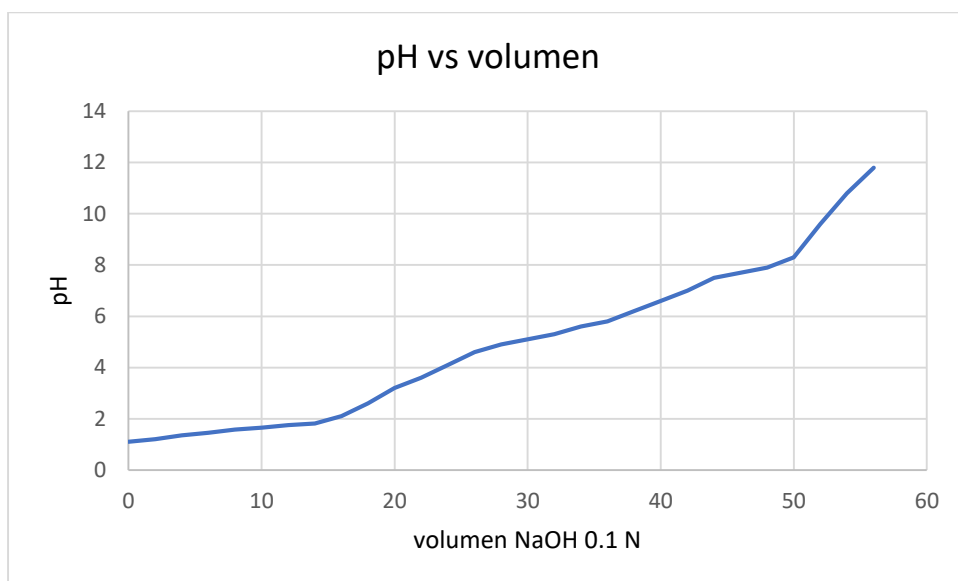


Figura n°3. Curva de titulación potenciométrica en muestra de quitosano obtenido de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

Los resultados del análisis potenciométrico indican que la muestra de quitosano obtenida de exoesqueleto de camarón blanco presenta un grado de desacetilación de 78.9 ± 1.02 .

De acuerdo a lo investigado, algunos autores indican que la quitina con un grado de desacetilación mayor de 50% es considerada quitosano y otros la definen con un grado de desacetilación mayor a 60%. Por lo tanto, la muestra analizada está dentro de este parámetro.

Además, se realizó la caracterización del quitosano obtenido del exoesqueleto de camarón tití, en cuanto a su grado de desacetilación, se obtuvo un resultado de 80%. Esto nos sirve para evidenciar que el quitosano varía en función de la especie, procesamiento de la muestra y de la técnica aplicada.

7.3. Aplicación de quitosano como recubrimiento en ñame (*Dioscorea alata L*) y ají dulce (*Capsicum annum*).

Se presentan los resultados obtenidos del comportamiento de las muestras de ñame y ají, con respecto a la pérdida de humedad a través del tiempo de almacenamiento a temperaturas de refrigeración. También se evalúa las características de color y textura en el ñame durante el periodo de almacenamiento. A continuación, se presenta en la tabla 2 los datos obtenidos de los diferentes pesos de las muestras a lo largo de una semana.

Tabla 2.

*Resultados de la pérdida de peso en muestras de ñame (*Dioscorea alata L*) y ají dulce (*Capsicum annum*).*

Muestra	Días	Masa (gramos)		
		M1	M2	B
ñaime	0	11.6769	10.8092	7.6460
	1	11.5778	10.7166	7.5963
	2	11.4883	10.6986	7.4692
	3	11.3901	10.6086	7.3788
	4	11.2493	10.4944	6.9940
	5	11.1704	10.4229	6.6739
	6	11.0941	10.3182	6.5978
	7	10.9588	10.1995	6.0561
ají	0	5.9577	5.8418	5.5591
	1	5.9407	5.8298	5.5455
	2	5.9150	5.8106	5.5386
	3	5.8510	5.7705	5.5055
	4	5.8170	5.7494	5.4910
	5	5.7400	5.7046	5.4241
	6	5.6825	5.6639	5.3710

Tomando en cuenta la variación diaria de peso, se calculó el porcentaje de pérdida de humedad mediante la siguiente ecuación:

$$\%PFS = \frac{Pi - Pf}{Pf} \cdot 100$$

Donde:

PFS: pérdida fisiológica de peso expresada en porcentaje.

P_i : peso inicial de la muestra.

P_f : peso final de la muestra.

Tabla 3

Porcentaje de pérdida de humedad de las muestras de ñame (*Dioscorea alata L.*).

Muestra	Días	% Pérdida de humedad		
		M1	M2	B
ñame	1	0.85	0.86	0.65
	2	0.77	0.16	1.70
	3	0.86	0.84	1.22
	4	1.25	1.08	5.50
	5	0.70	0.68	4.79
	6	0.68	1.01	1.15
	7	1.23	1.16	8.94
Total		6.34	5.79	18.45

En la figura 4 se observa una comparación gráfica sobre los resultados de la pérdida de humedad de las muestras de ñame durante un tiempo de almacenamiento en refrigeración.

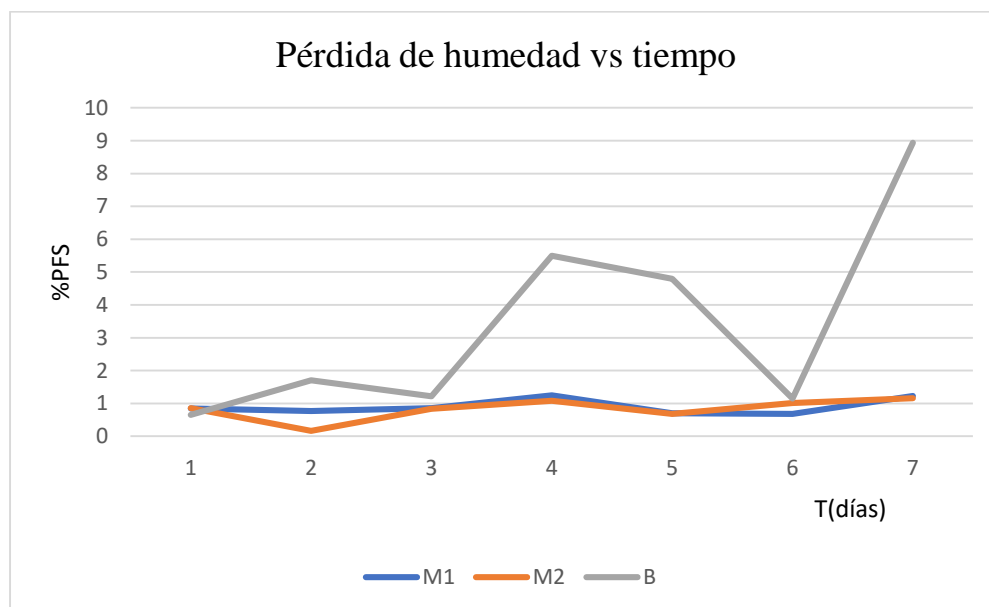


Figura 4. Gráfico comparativo de la pérdida de humedad en las muestras de ñame (*Dioscorea alata L.*). En donde:

M1= recubrimiento de quitosano obtenido a partir de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

M2= recubrimiento de quitosano obtenido a partir de camarón titi (*Xiphopenaeus riveti*).

B= sin recubrimiento.

Se observa en el gráfico que la muestra blanco presentó un mayor porcentaje de pérdida de agua (18.45% en total), en comparación con el 6.34 % y 5.79 % de las muestras 1 y 2 respectivamente, a las que se les aplicó recubrimiento con quitosano.

Tabla 4

Cambios de coloración y textura durante almacenamiento

días	M1		M2		B	
	color	textura	color	textura	color	textura
1	blanco	firme	blanco	firme	blanco	firme
2	blanco	firme	blanco	firme	blanco	firme
3	blanco	firme	blanco	firme	blanco	firme
4	blanco	firme	blanco	firme	pardo	seca
5	blanco	firme	pardo	firme	pardo	seca
6	blanco	firme	pardo	firme	pardo	seca
7	pardo	ligeramente suave	pardo	ligeramente suave	pardo	muy seca

Durante los días de almacenamiento se observaron los cambios de color, en donde la muestra 1 mantuvo una coloración blanca hasta el sexto día; sin embargo, en la muestra 2 al quinto día ya se observaba pardeamiento, y en la muestra blanco al día cuarto. En cuanto a la textura la muestra 1 y 2, ambas mantuvieron la textura firme hasta el sexto día y el blanco comenzó a tener una textura seca a partir del cuarto día. A simple vista no se observó desarrollo de hongos. Por lo tanto, se demuestra que el quitosano obtenido del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) puede ser una alternativa para reducir el uso de sustancias que pueden llegar a ser tóxicos, como el metabisulfito, que actualmente es utilizado en ñame mínimamente procesado para prevenir el pardeamiento.

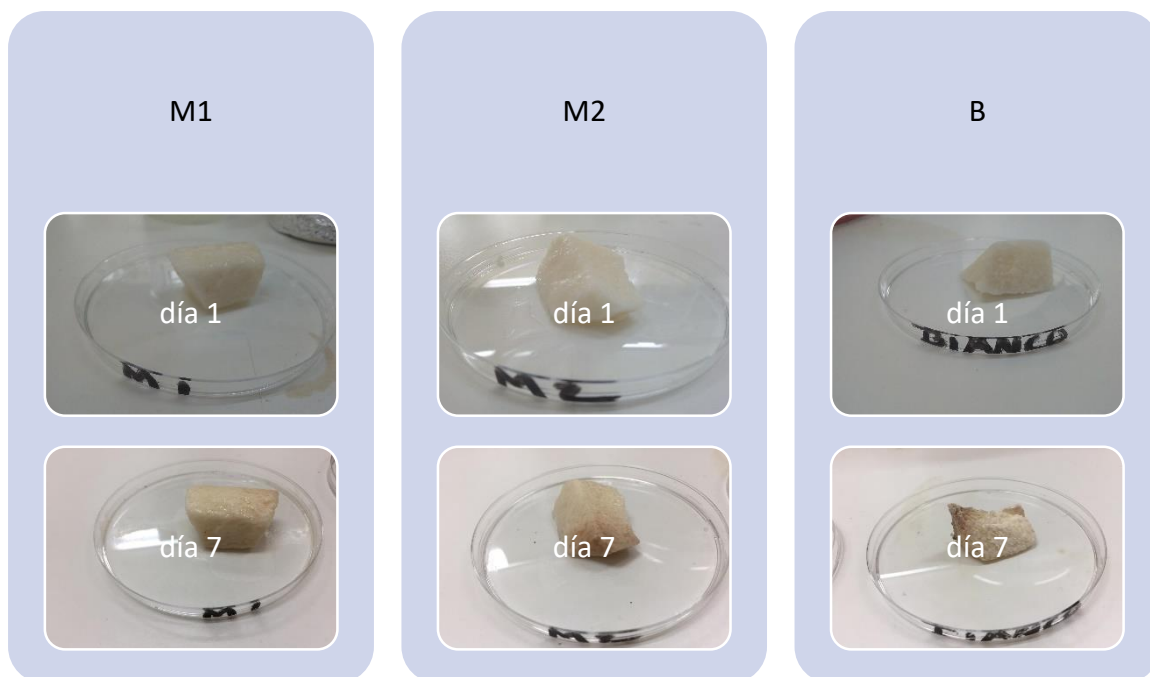


Figura 5. Cambios observados en las muestras de ñame durante almacenamiento en refrigeración.

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes de pérdida de humedad en las muestras de ají dulce observadas durante un periodo de seis días.

Tabla 5

Porcentajes de la pérdida fisiológica de peso en las muestras de ají dulce (*Capsicum annum*)

Día	%Pérdida de humedad		
	M1	M2	B
1	0,28	0,2	0,24
2	0,43	0,32	0,12
3	1,08	0,69	0,59
4	0,58	0,36	0,26
5	1,32	0,77	1,21
6	1	0,71	0,97
Total	4.69	3.05	3.39

En la figura 5 se observa una comparación gráfica de los resultados obtenidos sobre la pérdida de humedad en las muestras de ají durante un tiempo de almacenamiento en refrigeración.

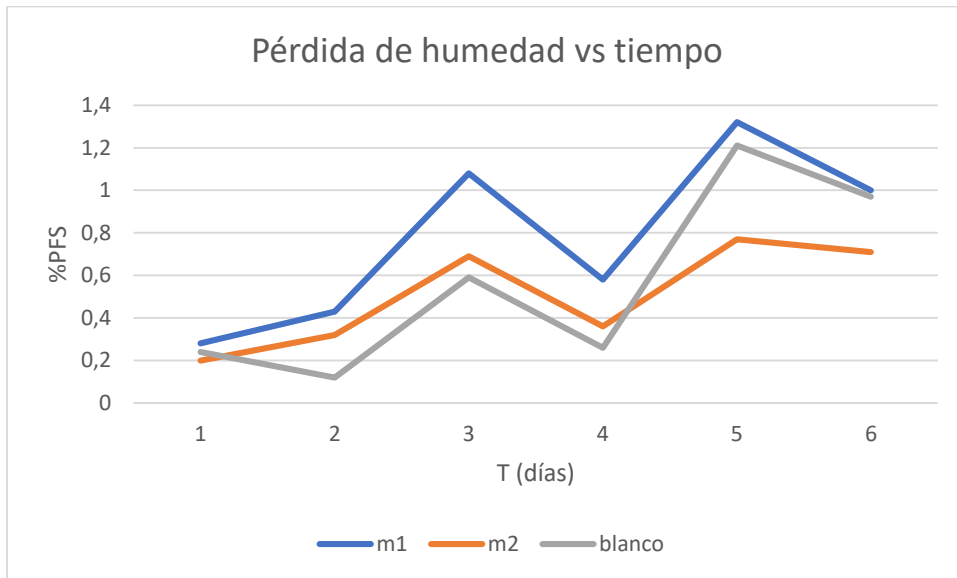


Figura 6. Gráfico comparativo del % de pérdida de humedad en muestras de ají dulce (*Capsicum annum*). En donde:

M1= recubrimiento de quitosano obtenido a partir de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

M2= recubrimiento de quitosano obtenido a partir de camarón titi (*Xiphopenaeus riveti*).

B= sin recubrimiento.

Se puede observar en el gráfico que la muestra 1 fue la que presentó mayor porcentaje de pérdida de humedad alcanzando un 4.69 % en total, mientras que la muestra 2 obtuvo un 3.05 % siendo la que menos perdió agua. A diferencia de la muestra de ñame, en este caso, el blanco obtuvo un 3.39 % estando por debajo de la muestra 1.



Figura 7. Muestras de ají al día 6 de estar bajo almacenamiento en refrigeración.

7.4. Aplicación de quitosano como película comestible

La capacidad filmogénica y actividad antimicrobiana son propiedades del quitosano que permiten la formación de películas resistentes, que pueden ser utilizadas en la conservación de diversos alimentos. Las características de estas películas dependen del peso molecular, el grado de desacetilación del quitosano utilizado.

Logramos elaborar un bioplástico a partir del quitosano de camarón blanco como se observa en la figura 6. La película obtenida presenta una coloración ligeramente amarilla, textura lisa y resistente. Estas características físicas podrían hacerla adecuada para su aplicación en la industria alimentaria.



Figura 8. Película obtenida a partir de solución de quitosano al 2% en ácido acético.

7.5. Rendimientos

El rendimiento se obtuvo en base a la diferencia de masa en las diferentes etapas de proceso.

- Exoesqueleto de camarón: 9.9 g por cada 100 g de colas de camarón.
- Harina: 31.6 g por cada 100 g de exoesqueleto.
- Quitina: 45.06 g por cada 100g de harina.
- Quitosano: 35.2 g por cada 100 g de harina.

VIII. Conclusiones

Finalizado el trabajo de investigación, hemos concluido lo siguiente:

- ✓ La harina de exoesqueleto de camarón blanco analizada presentó 23.9% de cenizas, 20.2% de proteínas y 1.07% de extracto etéreo.
- ✓ Luego de los procesos químicos de despigmentación, desmineralización y desproteínización, se obtuvo un rendimiento de 45.06 g de quitina por cada 100 g de harina.
- ✓ Se logró obtener 35.2 g de quitosano por cada 100 g de harina, con un grado de desacetilación de 78.9 ± 1.02 .
- ✓ El quitosano obtenido del camarón blanco permitió la elaboración de recubrimiento, utilizado en ñame y ají. En el caso del ñame funcionó para retardar el pardeamiento y la pérdida de agua en un periodo de seis días. Por el contrario, en las muestras de ají no minimizó la pérdida de agua como se esperaba.
- ✓ Se comprobó que los quitosanos obtenidos de camarón blanco y camarón tití tienen características diferentes, en su grado de desacetilación. Mientras que en su aplicación como recubrimiento actúan de manera similar.
- ✓ La película obtenida de quitosano de camarón blanco presentó características físicas (resistencia, textura lisa) que pueden ser utilizadas en la industria alimentaria

IX. Recomendaciones

- Se recomienda aumentar el porcentaje de quitosano y/o adicionar otros componentes para estudiar el efecto en las biopelículas y en los recubrimientos.
- Se deben realizar otros análisis a las biopelículas obtenidas de camarón blanco para conocer con más precisión sus características y definir su aplicación en la conservación de alimentos.
- Evitar la contaminación de quitosano con agentes externos que puedan afectar la apariencia del mismo.
- Realizar otros estudios a los subproductos (pigmentos, proteínas y carbonato de calcio) de las etapas del proceso químico para la obtención de quitina.

X. Referencias bibliográficas

Acuicultura, Camarón blanco del Pacífico. Recuperdo de

<https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuicultura-camaron-blanco-del-pacifico>

Allan, C. R. and L. A. Hardwiger.(1979). *The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition*. Experimental Mycology 3: 285–287.

AOAC International: “Official Methods of Analysis”. 17ªed. Gaithersburg, USA, 2000.

Auró, A.; Ocampo, L. (2006). *El libro del camarón*. México.

Bateman, J.V. (1970). “*Nutrición animal*”. Manual de Métodos Analíticos. México.

Blackwell,J. y Weih, M.A.(1980). *Structure of chitin-protein complexes: ovipositor of the ichneumon fly Megarhyssa*. Journal of molecular biology. Pag 49-60.

Benavidez, L; Ballesteros, M; Vega, J.; Camacho, M.; Caballo, S.; (2010). *Degradación térmica de quitina y quitosano*. Revista Iberoamericana de polímeros.

Breve descripción de la tecnología de la cría de camarones peneidos en Panamá. Recuperado de <http://bdigital.binal.ac.pa/bdp/idiap/camaronespeneidos.pdf>

Domard, A. (1989). *Physicochemical properties of chitinous materials*. Adv. In chitin Sci., 3, 24-37.

Espinoza, E. (2007). *Propiedades físicas y biológicas de dos tipos de esponjas de quitosano para su aplicación como biomaterial*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima Perú

Fernández, B.; (2011). *Estudio del método de evaporación lenta para la fabricación de películas poliméricas basadas en quitosano y glicerol orgánico*. Tesis de maestría. Universidad Javeriana.

Giraldo Pedraza, J. (2015). *Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano*. Recuperado de:

https://www.researchgate.net/publication/277302110_PROPIEDADES_OBTENCION_CARACTERIZACION_Y_APLICACIONES_DEL_QUITOSANO

Goycoolea F, Agullo E, Mato R. Fuentes y Procesos en: Quitina y Quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 2004; 3: 109-130.

James, C.S; (1999) *Analytical Chemistry of Foods*. An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.

Kirk R. S., Sawyer R & Egan, H. (1996). *Composición y análisis de alimentos de Pearson, segunda edición*. Compañía editorial continental SA de CV, México.

Lárez Velásquez, Cristóbal. (2006). *Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro, avances en química*. Universidad de los Andes, Mérida-Venezuela.15-21.

Lárez Velásquez, Cristóbal. (2008). *Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica*. Revista UDO Agrícola. 8.1.22.

Recuperadode:https://www.researchgate.net/publication/216597815_Algunas_potencialidades_de_la_quitina_y_el_quitosano_para_usos_relacionados_con_la_agricultura_en_Latinoamerica.

Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo, K., Aiello-Mazarri, C., Chandler, C. y Gutierrez, E. (2012). *Quitina y quitosano, polímeros amigables*. Una revisión de sus aplicaciones. Revista Tecnocientífica URU. Recuperado de:
https://www.academia.edu/30629151/Quitina_y_Quitosano_pol%C3%ADmeros_amigables._Una_revisi%C3%B3n_de_sus_aplicaciones

- Mora, j.; Chavez, L.; Araya, M. & starbird, R. (2011). *Elaboración de membranas de quitosano para la eliminación de metales pesados de aguas industriales*. Costa Rica. Centro de investigación en protección Ambiental (CIPA). Disponible en: http://tecdigital.tec.ac.cr/servicios/ojs/index.php/investiga_tec/article/viewFile/778/699.
- Morey, A. & Quinde, A. (2012). *Obtención de quitosano y su aplicación en recubrimientos comestibles en mezclas con almidón*. Universidad de Guayaquil.
- Nielsen, S. (2003). *Food Analysis laboratory Manual*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Nielsen, S. (1998); *Food Analysis* Second Edition; An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.
- Nollet, Leo M. L. (1996). *Handbook of food analysis*. M. Dekker, New York.
- Pacheco, N. (2010). *Extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosanos: Caracterización y aplicación*. Food and Nutrition. Université Claude Bernard - Lyon I, Español.
- Pastor, A. (2004). *Quitina y Quitosano: Obtención, Caracterización y Aplicaciones*. CYTED, Lima, Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Pearson. D. (1993). *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Acribia, S.A. Zaragoza (España).
- Prashanth K, Tharanathan R (2007). *Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potencial- an overview*. Trends in food sciences and technology, 18, 117-131
- Preto Malca, R. (2005). *National Aquaculture Sector Overview. Vision general del sector acuícola nacional – Panamá. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheet*.

Departamento de Pesca y Agricultura de la FAO. Recuperado de :

http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_panama/es

Rabea, E., Badawy, M., Stevens, C., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). *Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action*. *Biomacromolecules*, 4, 1457–1465.

Roberts, GAF. (1992). *Chitin Chemistry*. London: Macmillan.

Tacon, A. (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación*. Programa cooperativo gubernamental. FAO. Brasil. Recuperado de:
<http://www.fao.org/docrep/field/003/ab492s/AB492s00.htm>

Vázquez, J., & Vidal, M. (2011). *Caracterización y alternativa de uso de una película biodegradable de quitosano a partir de la extracción de quitina de langostino (Pleuroncodes planipes) para la industria de alimentos* (tesis de grado). Universidad de El Salvador, San Salvador. Recuperado de:
http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2099/1/Caracterizaci%C3%B3n_y_alternativa_de_uso_de_una_pel%C3%ADcula_biodegradable_de_quitosano_a_partir_de_la_extracci%C3%B3n_de_quitina_de_langostino_%28pleuroncodes_planipes%29_para_la_industria_de_alimentos.pdf

Visión general del sector acuícola en Panamá. F.A.O. 2005. Recuperado de:

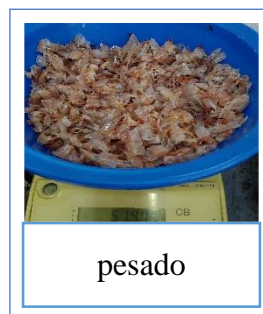
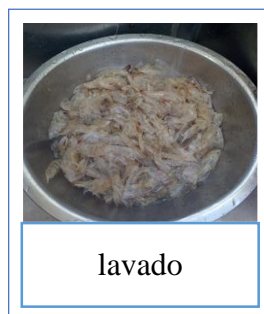
http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_panama/es

Anexos

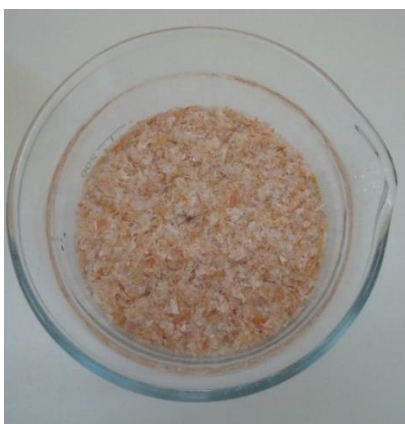
Anexo 1. Muestras de colas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)



Anexo 2. Pasos para la obtención de harina de exoesqueleto de camarón



Anexo 3. Harina de exoesqueleto de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

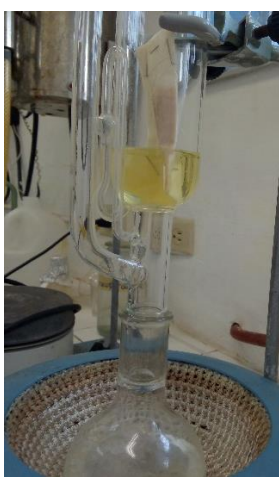


Anexo 4. Análisis proximal de la harina

- ✓ Determinación de cenizas



- ✓ Determinación de extracto etéreo mediante método de Soxhlet



- ✓ Determinación de proteínas totales



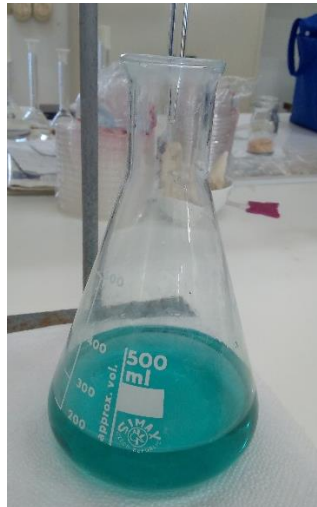
preparación de la muestra



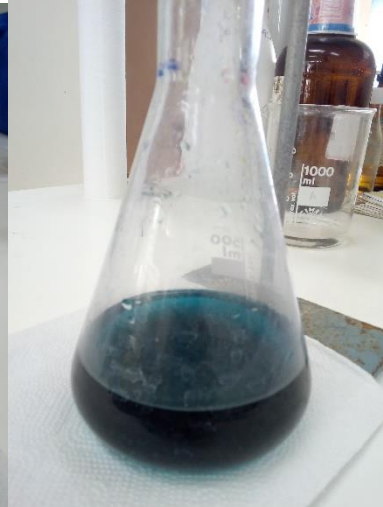
Etapa de digestión



Etapa de destilación



Titulación



Anexo 5. Proceso de obtención de quitina y quitosano

1. Etapa de despigmentación

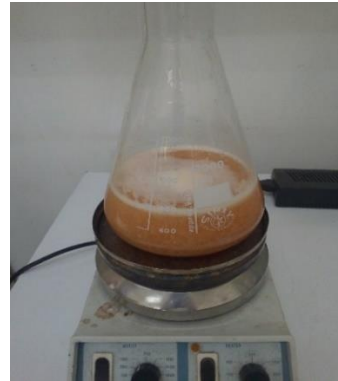


Preparación de la harina con solución de etanol 85% en relación 1:10



Agitación y filtración de la harina

2. Etapa de desmineralización



3. Etapa de desproteínización



4. Etapa de desacetilación

