



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO CAMPUS CALKINÍ

**PROPUESTA DE UNA TÉCNICA VERDE DE EXTRACCIÓN DE
QUITOSANO DE EXOESQUELETOS DE CAMARÓN PARA SU
POSIBLE APLICACIÓN EN RECUBRIMIENTO DE ALIMENTOS.**

TESIS

Que presenta:

GIOVANNA BOLÍVAR MORENO

Como requisito para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
(BIOMATERIALES POLIMERICOS)**

Director de tesis:

DR. LUIS HUMBERTO MAY HERNÁNDEZ

Calkiní, Campeche, México

14 DE ENERO DE 2024





Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, en el Estado de Campeche

Calkiní, Campeche a 23 de febrero de 2024.

El Comité de tesis del candidato (a) a grado: Giovanna Bolivar Moreno, constituido por CC. Dr. Luis Humberto May Hernández, Dr. Oscar Fernando Pacheco Salazar, Dr. William Alejandro Talavera Pech y Dr. Ivan Alfredo Estrada Mota habiéndose reunido con el fin de evaluar el contenido teórico-metodológico y de verificar la estructura y formato de la tesis titulada: **PROPUESTA DE UNA TÉCNICA VERDE DE EXTRACCIÓN DE QUITOSANO DE EXOSQUELETOS DE CAMARÓN PARA SU POSIBLE APLICACIÓN EN RECUBRIMIENTO DE ALIMENTOS**, que presenta como requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Ingeniería, según lo establece el Capítulo 2, inciso 2.15.5, de los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado del Tecnológico Nacional de México, dictaminaron su aprobación para que pueda ser presentada en el examen de grado correspondiente.

ATENTAMENTE

DR. LUIS HUMBERTO MAY HERNÁNDEZ
DIRECTOR DE TESIS

DR. OSCAR FERNANDO PACHECO SALAZAR
CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. WILLIAM ALEJANDRO TALAVERA PECH
TUTOR

DR. IVAN ALFREDO ESTRADA MOTA
TUTOR

Av. Ah Canul s/n por Carretera Federal - C. P. 24900 - Calkiní, Campeche
www.itescam.edu.mx - Tel. (981) 8292042 Fax. (981) 8167701

CFI-FO-05-07
Vigente desde: Enero 2023
Revisión 03



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLOGÍA
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Departamento de Posgrado e Investigación

Calkiní, Campeche a 20 de febrero de 2024.

Asunto: Autorización de Impresión de tesis

**GIOVANNA BOLÍVAR MORENO
PRESENTE.**

Me es grato comunicarle que después de la revisión realizada por el jurado designado para su examen de grado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería, se acordó autorizar la impresión de su tesis titulada:

**"PROPUESTA DE UNA TÉCNICA VERDE DE EXTRACCIÓN DE QUITOSANO DE
EXOESQUELETOS DE CAMARÓN PARA SU POSIBLE APLICACIÓN EN
RECUBRIMIENTO DE ALIMENTOS"**

Para la institución es muy satisfactorio compartir con usted el logro de esta meta.


INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE CALKINÍ
"DEPARTAMENTO DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN"
CLAVE 94MSU0113P
CALKINÍ, CAMPECHE, MÉXICO

ATENTAMENTE

**DR. LUIS ALFONSO CAN HERRERA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche, C.P. 24900
Tel. 996-8134870, Ext. 1004, e-mail: coordinacion.posgrado@itescam.edu.mx,
| itescam.edu.mx |



2024
Felipe Carrillo
PUERTO

RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis titulado:

“PROPUESTA DE UNA TÉCNICA VERDE DE EXTRACCIÓN DE QUITOSANO DE EXOSQUELETOS DE CAMARÓN PARA SU POSIBLE APLICACIÓN EN RECUBRIMIENTOS DE ALIMENTO”

Del programa de Maestría en Ciencias de la Ingeniería fue llevado a cabo por GIOVANA BOLIVAR MORENO y se realizó en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, bajo la Dirección del **DR. LUIS HUMBERTO MAY HERNÁNDEZ** y del **DR. OSCAR FERNANDO PACHECO SALAZÁR**.

ATENTAMENTE

“Sabiduría, fortaleza de nuestra cultura.”



MTRO. RODOLFO ENRIQUE CARDOZO RIVERO
DIRECTOR GENERAL



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE
CALKINÍ

“DIRECCIÓN GENERAL”

CLAVE: AIMS00015

AV. AH CANUL 5/4, CARRETERA FEDERAL, CALKINÍ, CAMPECHE, C.P. 24900

Calkiní, Campeche a 20 de febrero de 2024.

DECLARATORIA DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de materiales y métodos, resultados y discusión de este documento, es producto del trabajo de investigación realizado durante mis estudios de posgrado y con base en los términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial le pertenece patrimonialmente al Tecnológico Nacional de México - Campus Calkiní. En virtud de lo manifestado reconozco que los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que se deriven de lo correspondiente a dicha información son propiedad de la citada institución educativa.



GIOVANNA BOLÍVAR MORENO



Instituto Tecnológico Superior de Campeche, en el Estado de Campeche

Calkini, Campeche a 27 de Febrero de 2024

Asunto: Carta de liberación de plagio

Dr. Luis Alfonso Can Herrera
Jefe del Departamento de Posgrado e Investigación
PRESENTE

Por este medio, me permito informarle que con base en los resultados obtenidos por el software institucional Turnitin similarity, es posible afirmar que el porcentaje de similitud de la tesis (13%), es menor al máximo permitido por el consejo académico. La tesis analizada corresponde al estudiante **GIOVANNA BOLIVAR MORENO** con número de matrícula G22137973 perteneciente al Programa de Maestría en Ciencias de la Ingeniería, cuyo título de tesis es "Propuesta de una Técnica Verde de Extracción de Quitosano de Exoesqueletos de Camarón para su Posible Aplicación en Recubrimiento de Alimentos", dirigida por el DR. LUIS HUMBERTO MAY HERNANDEZ.

Con base a lo descrito anteriormente, se establece la tesis como **LIBERADA DE PLAGIO**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DR. RACIEL JAVIER ESTRADA LEÓN
PRESIDENTE DEL CONSEJO DE POSGRADO

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico Superior de Calkiní en el estado de Campeche (ITESCAM) por el uso de sus instalaciones, además de todos los conocimientos adquiridos durante estos años para el estudio de la maestría.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por la beca otorgada para la realización de estudios de la maestría.

Al Dr. Luis H. May Hernández, director de esta tesis, por su apoyo para la realización de este trabajo.

Al M.C. Daniel Bolívar Moreno por el apoyo incondicional, profesional, pero sobre todo por estar presente en cada una de las travesías que decido emprender.

A mis padres Jose Bolívar y Concepción Moreno por todo el apoyo y cariño brindado.

A todas las personas que hicieron posible la realización de este proyecto.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	VI
INDICE DE FIGURAS.....	X
INDICE DE TABLAS.....	XI
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT	XIII
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1. ANTECEDENTES.....	2
1.1 Antecedentes.....	2
1.2 Marco conceptual	5
1.2.1 Camarón	5
1.2.2 Producción nacional de Camarón	5
1.2.3 Componentes de los desechos de camarón	7
1.2.4 Niveles estructurales de la cascara de camarón	7
1.2.5 Quitina	8
1.2.5.1 Estructura química de la quitina	10
1.2.5.3 Estructura cristalina de la quitina	12
1.2.6 Extracción de la quitina.....	12
1.2.6.1 Método químico	13
1.2.6.1.1 Etapas del proceso de extracción por el método químico.....	13
1.2.6.1.1.1 Desmineralización.....	14
1.2.6.1.1.2 Desproteínización	14
1.2.6.1.1.3 Despigmentación	14
1.2.7 Quitosano	15
1.2.7.1 Estructura química del quitosano	16
1.2.7.2 Obtención del quitosano método químico	17
1.2.7.2.1 Desacetilación de la quitina	17
1.2.7.2.2 Biopelículas de quitosano	20
1.2.8 Aplicaciones del quitosano y sus derivados.....	20
1.2.8.1 Aplicaciones en la industria alimentaria	20
1.2.8.2 Aplicaciones en la industria textil	20

1.2.8.3 Aplicaciones en la agricultura	21
1.2.9 Propiedades del Quitosano.....	21
1.2.9.1 Fuentes de obtención	21
1.2.10 Aplicaciones de la quitina y quitosano	21
1.2.11 Caracterización de la quitina y quitosano.....	23
1.2.12 Percarbonato de sodio.....	23
1.2.13 Técnicas de caracterización	24
1.2.13.1 Método casting	24
1.2.13.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	25
1.2.13.3 Viscosimetría capilar.....	26
1.3 Justificación	28
1.4 Hipótesis	29
1.5. Objetivos de Investigación.....	31
1.5.1 Objetivo general	31
1.5.2 Objetivos específicos	31
CAPITULO 2. MATERIALES Y METODOS	32
2.1 METODOLOGÍA	32
2.1.1 Obtención de las muestras	32
2.1.2 Limpieza	33
2.1.3 Secado.....	33
2.1.4 Triturado	34
2.1.5 Desmineralización.....	34
2.1.6 Desproteínización	37
2.1.7 Desacetilación por método químico (heterogéneo).....	38
2.1.8 Elaboración de películas de quitosano por el método casting	39
2.2 Técnicas de caracterización	40
2.2.1 Espectroscopia de IR por Transformada de Fourier (FTIR)	40
2.2.2 Permeabilidad de membranas.....	40
2.2.3 Propiedades mecánicas	41
2.2.4 Grado de hinchamiento	41
2.2.5 Viscosimetría capilar	41
CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	42

3.1 Análisis por FTIR.....	42
3.2 Efecto del uso de percarbonato en el proceso de Desacetilación	45
3.3 Determinación de grado de acetilación por FTIR.....	49
3.4 Peso molecular (viscosimetría capilar)	50
3.5 Grado de hinchamiento	53
3.6 Permeabilidad.....	53
3.7 Espesor de películas.....	54
3.8 Tensión	54
CAPITULO 4. CONCLUSIONES.....	56
4.1 CONCLUSIONES.....	56
BIBLIOGRAFÍAS	58

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Niveles estructurales del exoesqueleto de camarón (Raabe et al., 2005).....	8
Figura 1.2 Estructura química de la quitina.	10
Figura 1.3 Molécula de la quitina.....	11
Figura 1.4 formas polimórficas de quitina (Pakizeh et. al., 2021).....	12
Figura 1.5 Método de extracción química (Mohan, et. al., 2020).	13
Figura 1.6 Estructura química del Quitosano.	16
Figura 1.7 Molécula del quitosano.	16
Figura 1.8 Proceso de transformación de la quitina a quitosano. (Yadav, et. al., 2019).....	18
Figura 1.9 Descomposición del percarbonato de sodio en agua (Ruiz, 2008).....	24
Figura 1.10 Método casting para la elaboración de películas (Escobar, 2020).	25
Figura 2.11 Estrategia de obtención del quitosano	32
Figura 2.12 Proceso de acondicionamiento de las cascara de camarón.....	33
Figura 2.13 Proceso de secado de las cascara de camarón	33
Figura 2.14 Proceso de triturado de las cascara de camarón.	34
Figura 2.15 Preparado de la solución de HCl y pesado de la haría de camarón.....	35
Figura 2.16 Proceso de desmineralización.....	35
Figura 2.17 Proceso de secado de las muestras ya desmineralizadas.	36
Figura 2.18 Muestra de cascara de camarón ya desmineralizada.....	36
Figura 2.19 Proceso de Desproteinización.....	37
Figura 2.20 Quitina obtenida.....	37
Figura 2.21 Proceso de desacetilación con carbonato de sodio.....	38
Figura 2.22 Muestra de quitosano obtenido con carbonato de sodio.....	38
Figura 2.23 Proceso de elaboración de las películas de quitosano.....	39
Figura 2.24 Secado de las películas de quitosano.....	39
Figura 2.25 Películas de quitosano (desacetiladas con percarbonato de sodio).....	40
Figura 3.26 Picos característicos de grupos funcionales de C-H entre 2400-3000.....	42
Figura 3.27 Picos característicos de las interacciones moleculares de los grupos funcionales de interés en cada proceso de transformación de la quitina (grupos acetilados y las moléculas de sacarosa como unidad repetitiva).....	43

Figura 3.28 Comparación de los grupos acetil en las moléculas de quitina y quitosano....	44
Figura 3.29 Efecto de la integración del PCB en el proceso de desacetilación.	47
Figura 3.30 Comparativa de FTIR de películas de quitosano obtenidas por dos procesos.	48
Figura 3.31 Unidades de N-acetil glucosamina (a) y de glucosamina (b).....	49
Figura 3.32 Representación de la expresión de Huggins para el quitosano	52

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Especies de camarón de la península de Yucatán	6
Tabla 1.2 Composición de los desechos de camarón (Hamed, et al., 2016).	7
Tabla 3.3 Resumen de picos característicos de quitosano	44
Tabla 3.4 Absorbancias de los picos características.....	50
Tabla 3.5 Tiempo de caída de las soluciones	50
Tabla 3.6 Relación de condiciones para determinar las constantes k y a de la ecuación Mark-Houwink-Sakurada	51
Tabla 3.7 Análisis de viscosidad en las disoluciones de quitosano a 25°C	51
Tabla 3.8 Grado de hinchamiento de muestras con diferentes procesos de desacetilación	53
Tabla 3.9 Resultados del comportamiento mecánico del quitosano obtenido.....	55

RESUMEN

Varios estudios de extracción de quitina y quitosano en diferentes especies de camarón establecen la viabilidad de la técnica de extracción más allá de las pequeñas variaciones en el rendimiento; sin embargo, estas técnicas generan cantidades considerables de agua residual de lavados, soluciones ácidas y bases concentradas. Además, que las técnicas son selectivas al momento de realizar la extracción, pues no consideran las extremidades del camarón pues contienen grandes cantidades de proteínas que no son de interés.

En el presente trabajo se realizó la extracción de quitosano de especies de camarón de gran tamaño y nativas de la península de Yucatán. Es importante considerar que existe una amplia variedad de especies de camarón, como lo son el blanco (*Litopenaeus setiferus*), rosado (*Farfantepenaeus duorarum*), café (*F. aztecus*), rojo (*F. brasiliensis*) y rojo del Caribe (*F. notialis*) (Almaral-Mendivil, 2000; May-Kú y Ordóñez-López, 2006), en tanto, la postlarva de *L. setiferus* sólo ha sido registrada en Celestún (Almaral, 2000).

Derivado de la variedad existente de especies de camarón en la península, y la importancia de recuperar la mayor parte de los residuos de las empresas productoras de camarón, era impráctico realizar un estudio selectivo por especie. Por lo que se determinó utilizar exoesqueletos de camarón de tamaño considerable, los cuales fueron molidos a un tamaño particular, para su posterior desmineralización y desproteínización; esto siguiendo la metodología de otros trabajos donde la concentración de los reactivos se considera de menor impacto. Posteriormente, al polvo obtenido en la etapa de desproteínización, se le aplicó la técnica de desacetilación. Esta técnica fue aplicada siguiendo metodologías comprobadas por otros autores, y una propuesta donde la técnica de desacetilación integra el percarbonato de sodio como agente oxidante.

De los resultados obtenidos se puede mencionar que el percarbonato de sodio, cuando es integrado en una segunda etapa del tratamiento de desacetilación de la quitina, permite tanto un grado de desacetilación mayor al 60 % como promover puntos de entrecruzamiento con las cadenas terminales de grupos glucosídicos hidrolizados. Incrementando las propiedades mecánicas, la permeabilidad y reduciendo la absorción de humedad, lo cual favorecería la utilización de películas de quitosano como recubrimientos de alimentos.

ABSTRACT

Several chitin and chitosan extraction studies in different shrimp species establish the feasibility of the extraction technique beyond small variations in performance; However, these techniques generate considerable quantities of washing water, concentrated acid solutions and bases. Furthermore, the techniques are selective when performing the extraction, since they do not consider the limbs of the shrimp as they contain large amounts of proteins that are not of interest.

In the present work, the extraction of chitosan from large shrimp species native to the Yucatan Peninsula was carried out. It is important to consider that there are a variety of shrimp species: white (*Litopenaeus setiferus*), pink (*Farfantepenaeus duorarum*), brown (*F. aztecus*), red (*F. brasiliensis*) and Caribbean red (*F. notialis*) (Almaral-Mendivil). , 2000; May-Kú and Ordóñez-López, 2006), meanwhile, the postlarva of *L. setiferus* has only been recorded in Celestún (Almaral, 2000).

Derived from the existing variety of shrimp species on the peninsula, and the importance of recovering most of the waste from shrimp producing companies, it was impractical to carry out a selective study by species. Therefore, it will be considered to use shrimp exoskeletons of considerable size, which were ground to a particular size, for subsequent demineralization and deproteinization; This follows the methodology of other works where the concentration of the reagents is considered to have less impact. Subsequently, the deacetylation technique was applied to the powder obtained in the deproteinization stage. This technique was applied following methodologies proven by other authors, and a proposal where the deacetylation technique integrates sodium percarbonate as an oxidizing agent.

From the results obtained, it can be mentioned that sodium percarbonate, when integrated into a second stage of the chitin deacetylation treatment, allows both a degree of deacetylation of 60% and promotes cross-linking points with the terminal chains of hydrolyzed glycosidic groups. . . Increasing mechanical properties, permeability and reducing moisture absorption, which would favor the use of chitosan films as food coatings.

INTRODUCCIÓN

Los desperdicios de camarón poseen un alto contenido de compuestos como lo son proteínas, pigmentos y quitina. Este es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza, se encuentran en los exoesqueletos de algunos crustáceos (cangrejos, camarones) así como en las paredes de algunos hongos. Puede obtenerse mediante distintos métodos químicos y biológicos en distintas etapas de procesamiento como desmineralización, desproteinización y desacetilación empleando concentraciones elevadas de compuestos ácidos y básicos. Debido a la versatilidad y características de este material ha sido posible su aplicación en diversos campos desde la medicina, hasta los cosméticos, así como en la elaboración de películas protectoras para alimentos y en la formación de hidrogeles. De la quitina es posible extraer el derivado denominado quitosano. Este polisacárido lineal tiene como una de sus características ser insoluble en agua sin embargo es soluble en medios ácidos, otra característica destacable de este biopolímero es que es no tóxico. El cual, es obtenido mediante un tratamiento químico llamado desacetilación (Hernández, I., et al., 2016). Es un biopolímero, entre las propiedades principales de este material se encuentra su capacidad biodegradable, biocompatible y biofuncional, gracias a estas características ha sido posible emplearla en múltiples áreas como lo son la industria farmacéutica, bioquímica, biotecnología, alimentos, etc. (López, H. A. M. et al.).

La extracción de quitosano a partir de la cáscara de camarón ha sido documentada por varios trabajos, donde predomina el uso de altas concentraciones de ácidos (0.1-2 mol) y bases (3-5 mol), bajo un estricto control de la temperatura, que pueden reducir el peso molecular de quitosano y afectar las propiedades mecánicas finales. Por lo que en este proyecto se presenta el aislamiento de quitina y quitosano de exoesqueletos de camarón, usando menores concentraciones básicas y reduciendo residuos contaminantes. Por lo que el objetivo de este trabajo fue desarrollar un proceso de obtención de quitina y quitosano a partir de exoesqueletos de camarón mediante técnicas amigables con el medio ambiente, reduciendo la concentración de las soluciones básicas y los tiempos de trabajo, junto con un agente oxidante de estudio.

CAPITULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Antecedentes

En un estudio realizado por Dima et al., (2013) se reportó la optimización del proceso de obtención de quitina y quitosano a partir de diferentes fuentes (cangrejos, langostino y calamar de la zona de Madryn y Rawson). Para obtener la quitina los exoesqueletos molidos fueron sometidos a despigmentación, descalcificación y desproteización. Para obtener el quitosano la quitina fue desacetilada con NaOH al 50% a 120°C. El grado de desacetilación del quitosano fue de 90,2% para langostino y calamar y del 86,2% para cangrejo. Así mismo se midió el efecto inhibitorio de este compuesto sobre el patógeno *Vibrio alginolyticus*. El quitosano obtenido en una solución de micropartículas demostró tener efectos inhibitorios a concentraciones de 0.125% y 0.05% respectivamente, además de presentar efecto bactericida sobre el patógeno.

En un estudio realizado por Pusedá-Cuestas (2014) se reportó un método para la extracción de quitosano adecuado a las condiciones del laboratorio, empleando exoesqueletos de camarón crudo. De la misma manera, por medio de un espectro de absorción de luz infrarrojo se realizó una comparación entre los espectros obtenidos del quitosano comercial marca Aldrich y el quitosano obtenido, con el fin de evaluar la presencia de los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosano. Así mismo se realizó un ensayo *in vitro* para evaluar la inhibición en el crecimiento micelial de los fitopatógenos *Botrytis* y *Fusarium*, en donde se observó que el quitosano obtenido en el laboratorio sí interviene en el crecimiento micelial de los hongos previamente mencionados.

En un estudio realizado por Knidri et al., (2019) se reportó la extracción de quitina a través del calentamiento por microondas, tanto el efecto del tiempo de reacción, así como la concentración de HCl y NaOH a diferentes concentraciones, los resultados indicaron que se obtuvo un quitosano con bajo grado de acetilación utilizando una solución de NaOH al 50%; el uso del calentamiento por microondas permitió adquirir quitosano con un peso molecular medio alto. Este método ecológico permitió reducir el tiempo de extracción del quitosano a unos pocos minutos en comparación con el método tradicional el cual requiere de más tiempo.

En un estudio realizado por Elescano-Bautista et al., (2019) se reportó donde la elaboración de un biopolímero conformado por quitosano entrecruzado con ácido cítrico (QAC) como posible antifúngico para inhibir el crecimiento del fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Este trabajo se realizó en etapas: la primera etapa consistió en la obtención de quitosano a partir de exoesqueleto de langostino blanco mediante cuatro procesos y entrecruzarlo con ácido cítrico por esterificación. La segunda etapa, fue el aislamiento del fitopatógeno en estudio de un cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) infectado, y por último se evaluó la eficiencia del antifúngico mediante la comparación del crecimiento micelial (mm) de la muestra testigo y las muestras con porcentajes de quitosano al 1%, 1.5% y 2%, determinando así el porcentaje de inhibición. Como resultados se indica que el producto obtenido fue el QAC, alcanzando un 37.5% de rendimiento global. Así mismo se evaluó el efecto inhibitorio del QAC ante el hongo *Rhizoctonia solani* en un lapso de cinco días consecutivos; dicho efecto actuó directamente proporcional a la concentración del tratamiento, en donde se alcanzó un 95.07% de inhibición del crecimiento micelial a una concentración de 2% del QAC. Así mismo se observó que a pesar de presentar una acción antifúngica en las concentraciones de 1% y 1.5% del biopolímero, estas muestras solo llegaron a oscilar entre 20.84% a 93.77% de eficiencia.

En un realizado por Rasweefali et al., (2021) se reportó la extracción de quitosano a través de los desechos de conchas de camarón de lodo de aguas profundas (*Solenocera hextii*) con el empleo de un método químico, alterando los tiempos de desacetilación. El grado de desacetilación del quitosano extraído fue de $75,5 \pm 0,36$, $85 \pm 0,38$ y $87 \pm 0,32$ %, y los pesos moleculares fueron $263,95 \pm 1,16$, $52,61 \pm 0,44$ y $5,15 \pm 0,14$ kDa respectivamente para CH-1,5, CH-3 y CH-6. Se observó que el tiempo de desacetilación influyó significativamente en la estructura y las propiedades fisicoquímicas del quitosano. Como resultados del análisis de Microscopia Electronica de Barrido (por sus siglas en inglés SEM) se expuso una estructura superficial granular lisa y los picos de XRD obtenidos fueron idénticos al quitosano comercial. El tiempo de desacetilación para CH-3 se encontró óptimo para la extracción comercial de este biopolímero. Las capacidades de fijación de agua y de unión de grasa del quitosano de esta especie de camarón extraído fueron significativamente más altas que del quitosano comercial de camarones costeros además son adecuadas para diversas aplicaciones alimentarias funcionales.

En un estudio realizado por Preciado Romaña (2022) se reporto la extracción y caracterización de quitosano obtenido del procesamiento de residuos de camarón *Penaeus monodo*. Este estudio se desarrollo bajo un diseño experimental en el cual se variaron las etapas de extracción (desproteínización o desmineralización) y la concentración de hidróxido de sodio (NaOH) en la solución utilizada en la etapa de desproteínización (1% p/v y 4% p/v). Este procedimiento incluyó una primera etapa de desmineralización seguido de la desproteínización con una concentración de 1% p/v de hidróxido de sodio. A partir de la caracterización del compuesto se determinó que los factores tuvieron incidencia estadísticamente significativa con respecto al tamaño de partícula y el grado de desacetilación obtenido; con esto se obtuvieron las condiciones las cuales les permitieron el mayor grado de desacetilación. Los resultados indicaron que para la obtención de un mayor grado de desacetilación (GD: 85.46%) se debe iniciar el proceso por la desmineralización, seguido de la desproteínización con una concentración de 1% p/v de hidróxido de sodio.

En un estudio realizado por Contreras Payés (2022) se reporto la optimizacion del metodo de extracción de quitosano a partir de cascaras de camarón mediante el uso de radiación de microondas, para la extracción de este biopolímero se emplearon cuatro etapas como lo indica el procedimiento original que es la desproteínización, desmineralización, decoloración y desacetilación, de tal forma que en cada una de las etapas mencionadas se utilizaron distintos tiempos de calentamiento en microondas así como diferentes concentraciones de reactivos para poder establecer la combinación adecuada en cada una de las etapas. Se reporto que el emplear la radicación de microondas como una alternativa al método de calentamiento convencional es viable, ya que el tiempo de calentamiento disminuye aproximadamente de 6 horas a solo 24 minutos. Con referencia al quitosano obtenido se encontró que es un polimero de calidad ademas de ser similar al quitosano obtenido en otras investigaciones en donde se empleó el uso del método de calentamiento convencional.

En un estudio realizado por Rahayu et al., (2022) se reporto el efecto de cuatro soluciones ácidas para el proceso de extracción de la quitina, los resultados indicaron que el uso de ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y ácido nítrico son eficaces en la eliminación de la mayor contaminacion de minerales los cuales se encuentran presentes en las cáscaras de los

camarones, así mismo fue posible observar que el tipo de solución ácida empleada provocó un cambio en la cristalinidad de la quitina extraída.

1.2 Marco conceptual

1.2.1 Camarón

El camarón es posible encontrarlo en todo el mundo. México es uno de los países que posee una amplia diversidad biológica en todo el mundo. Posee el 23% de la fauna mundial de crustáceos. Los camarones son crustáceos del orden de los decápodos, habitan desde aguas dulces como saladas, dentro de regiones templadas, tropicales, y frías. Son comunes en las lagunas costeras. Solo en la península de Yucatán se reportan cinco especies: el camarón blanco (*Litopenaeus setiferus*), el rosado (*Farfantepenaeus duorarum*), el café (*F. aztecus*), el rojo (*F. brasiliensis*) y el rojo del Caribe (*F. notialis*) (Almaral-Mendivil, 2000; May-Kú y Ordóñez-López, 2006). Particularmente la postlarva de *L. setiferus* sólo ha sido registrada en Celestún (Almaral, 2000).

1.2.2 Producción nacional de Camarón

La temporada de captura nacional de camarón 2019-2020 registró un volumen de producción de 47 mil 664 toneladas de crustáceo, según información recabada por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER).

En el 2017 la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), reportó un aproximado de alrededor de 9.8% de la producción de alimentos marinos la cual corresponde a los crustáceos en donde el camarón es el de mayor importancia. Ese mismo año, México produjo alrededor de 227 000 toneladas de camarón, por lo que se estima que la generación de desechos ascendió a más de 100 000 toneladas (FAO, 2018). Desafortunadamente la descomposición de estos desechos producen olores desagradables la cual generan problemas ambientales cuando no son tratados adecuadamente.

Los desperdicios de camarón son ricos en proteínas, lípidos, pigmentos y quitina; estos productos pueden ser recuperados, sin embargo, debido a la dificultad para remover las

CAPITULO I. ANTECEDENTES

proteínas asociadas a la quitina varios autores han desarrollado y reportado distintas metodologías.

Tabla 1.1 Especies de camarón de la península de Yucatán

	Especie
	Camarón blanco (<i>Litopenaeus setiferus</i>)
	Camarón rosado (<i>Farfantepenaeus duorarum</i>)
	Camarón café (<i>F. aztecus</i>)
	Camarón rojo (<i>F. brasiliensis</i>)
	Camarón rojo del Caribe (<i>F. notialis</i>)

1.2.3 Componentes de los desechos de camarón

Los desechos de camarón son considerados una fuente potencial de proteína y de otros biomateriales como la quitina, ácidos grasos, fosfolípidos, carotenoides, aminoácidos libres, oligoelementos y carbonatos de calcio, estudios demuestran que la cascara de camarón en estado seco contiene un 18% de quitina, 43% de proteína, 29% de ceniza y 10% de grasa (Guzhñay Lozano, 2022).

El exoesqueleto de los crustáceos es una capa no celular secretada por la epidermis, el cual se encuentra formando una organización jerárquica de varios niveles estructurales. En el nivel molecular se encuentra la quitina, la cual mediante su alineamiento antiparalelo forma estructuras altamente cristalinas; los estudios determinan que el porcentaje presente de quitina en los exoesqueletos es del 15%-40%. (Ariza, et. al., 2019). En la tabla numero 1.2 es posible observar la composición de los desechos de camarón.

Tabla 1.2 Composición de los desechos de camarón (Hamed, et al., 2016).

Compuesto	Contenido en %
Quitina	15-20
Proteínas	35-50
Minerales	10-15
Lípidos	2-7
Pigmentos (astaxantina)	1-5

1.2.4 Niveles estructurales de la cascara de camarón

El exoesqueleto de los crustáceos es un tejido de carácter fibroso, que estructuralmente está constituido por varios niveles; si se observa a nivel molecular está constituido principalmente de quitina, si la orientación de las microfibrillas forma cadenas antiparalelas estamos ante la presencia de α - quitina (Raabe et al., 2005). En el nivel estructural numero

dos lo conforman moléculas en forma de unidades cristalinas llamadas nanofibras, las cuales están recubiertas por proteínas (Raabe et al., 2005) y tienen un tamaño de 2-5 nm de diámetro y 300 nm de longitud. Las nanofibras compuestas de quitina-proteína se agrupan para así formar capas de quitina-proteína y poder conformar una red plana; el espacio sobrante entre una fibra a otra es ocupada por proteínas y minerales lo cuales en su mayoría se encuentran en forma de cristales de carbonato de calcio. (López, 2010).

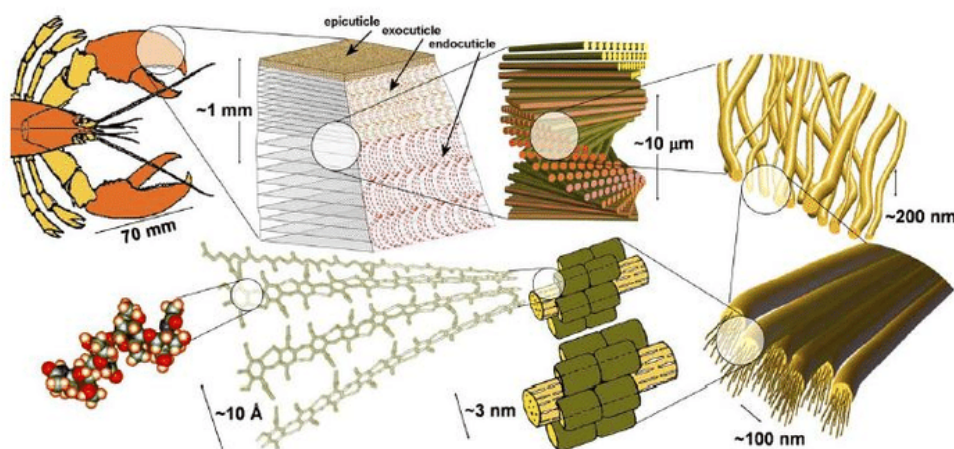


Figura 1.1 Niveles estructurales del exoesqueleto de camarón (Raabe et al., 2005).

El exoesqueleto de camarón está constituido entre 30%-40% de proteína, 30%-50% de carbonato de calcio y finalmente entre un 20%-30% de quitina, en menor cantidad lo constituyen pigmentos y sales minerales. La cantidad de minerales presentes en los exoesqueletos se le atribuye a la edad y al ciclo reproductivo del artrópodo. Los exoesqueletos con mayor cantidad de calcio y baja quitina lo presentan específicamente las especies con mayor edad (López, 2010).

1.2.5 Quitina

La quitina proveniente del griego tunic que significa envoltura, podemos encontrarla con gran facilidad ya que está distribuida en la naturaleza, y es altamente hidrofóbica.

Fue descubierta en el año de 1811 por un profesor francés llamado Henri Braconnot y en 1884 fue oficialmente nombrado polisacárido natural (Ahmad et al., 2020).

Estructuralmente es muy parecida a la estructura química de la celulosa (Ahmad et al., 2020). Es considerado el segundo polisacárido más abundante en el mundo ya que el primer lugar lo ocupa la celulosa. Entre sus características destaca su biocompatibilidad, actividad antibacteriana, pero sobre todo la facilidad con la que puede degradarse por eso es considerada un material biodegradable (Sixto-Berrocal et al., 2023). La quitina está presente de forma natural como elemento estructural en los exoesqueletos de una amplia gama de organismos eucariotas como crustáceos, insectos y paredes celulares de hongos. La biocompatibilidad y la no toxicidad son algunas características que favorecen su uso en varios sectores industriales (Joseph et al., 2021).

La producción industrial de este biomaterial prácticamente se basa en el uso de las conchas de diversas especies de crustáceos (camarones, langostas, cangrejos y krill), esto debido a la facilidad de encontrar estos materiales que prácticamente son desechos de las plantas procesadoras de especies marinas (Velásquez, C. L, 2006)

La quitina fue aislada por primera vez en el año 1811, por el químico Francés Henri Braconnot, estudiando los derivados del Hongo *Agaricus volva* además de otros hongos, denominándolo inicialmente como fungina en 1823.

La quitina posee una consistencia dura e inflexible de tonalidad blanca; es una sustancia no tóxica y biodegradable, de alto peso molecular. Su estructura es fibrosa y presenta características químicas y biológicas que le permiten una gran variedad de usos, que van desde la industria agrícola hasta la de los cosméticos (Salas, D. 2011). La quitina posee excelentes propiedades mecánicas que permiten la formación de fibras y películas biodegradables. Entre sus derivados se encuentra el quitosano, la astaxantina, las proteínas, los pigmentos y el calcio. El primero de ellos, es el principal y se obtiene a través de la desacetilación, (García J. A et al., 2011).

Cada año se producen entre 1012 y 1014 toneladas de quitina de base marina (Dhillon et al., 2013).

La quitina es insoluble en solventes comunes debido a su alta estructura cristalina, es por ello por lo que es difícil su extracción con disolventes convencionales lo que ha propiciado

que el proceso sea tardado y laborioso (Ahmad et al. 2020); la dificultad de disolver, la mala biodegradabilidad y otros factores limitan la aplicación de quitina (Wang, et al., 2020).

1.2.5.1 Estructura química de la quitina

La estructura química de la quitina es similar a la celulosa; los grupos hidroxilo (OH) son reemplazados por el grupo acetilamina (NHCOCH_3) y son poli (N-acetil D-glucosamina) o poli- β - [1,4]-N-acetil-d-glucosamina en la naturaleza. A pesar de que ambos polímeros confieren componentes estructurales a los cuerpos que lo poseen la diferencia es que la celulosa provee a la pared celular de la planta y la quitina da fuerza a los exoesqueletos de los artrópodos (Ahmad et al., 2020).

La presencia de unidades repetitivas de unidades n-acetiladas β -1,4D glucosamina en el biopolímero es el grado de acetilación (DA), mientras que el porcentaje de unidades de β -1,4-D-glucosamina en el polisacárido es el grado de desacetilación (DD) (Joseph et al., 2021). Es decir, la quitina es un compuesto de cadena larga integrado por moléculas idénticas de azúcares simples, es un polisacárido nitrogenado biodegradable, de alta masa molecular, compuesto por enlaces β (1-4) 2-acetoamida-2-desoxi- α -D-glucosa, o bien por unidades de N-acetil glucosamina (Fig. 1.2 y Fig. 1.3) (Barreras, C.L. 2019).

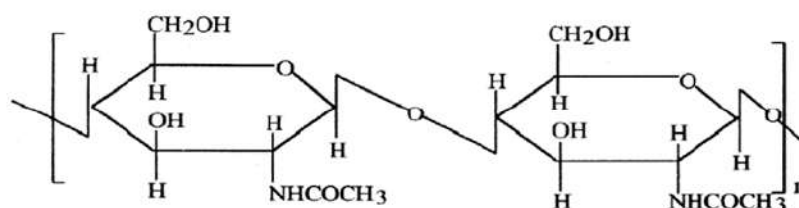


Figura 1.2 Estructura química de la quitina.

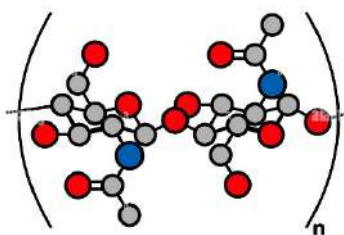


Figura 1.3 Molécula de la quitina.

Estructuralmente la quitina contiene 6-7% de nitrógeno y en su forma desacetilada, el quitosano contiene 7-9.5% de nitrógeno. En el quitosano, se eliminan alrededor del 60 y el 80% de los grupos acetilo presentes en la quitina. La quitina está presente de tres formas diferentes: α , β y γ quitina. La forma α , que es obtenida principalmente de conchas de algunos crustáceos como el cangrejo y los camarones, está ampliamente distribuida. Tanto α como β quitina/quitosano están disponibles comercialmente. Las cadenas de α -quitina están alineadas de manera antiparalela. La disposición antiparalela en α -quitina da lugar a un fuerte enlace de hidrógeno ocasionando que esta sea más estable. La forma β que en su mayoría es obtenida de moluscos como el calamar, está dispuesta en paralelo, mientras que la forma γ contiene dos hebras paralelas y una antiparalela de quitina. Actualmente es posible convertir la forma β a la forma α , pero no a la inversa (Ehrlich, 2010).

Una de las características de la quitina es que es insoluble en agua debido a sus enlaces de hidrógeno intermoleculares. Pero es posible obtener derivados solubles en agua a base de quitina como el quitosano o la carboximetilquitina. Una de sus características más importantes es la capacidad (flexibilidad) de ser moldeada en diferentes formas, como fibras, hidrogeles, perlas, esponjas y membranas. El origen de la quitina afecta su cristalinidad, pureza, disposición de la cadena del polímero y dicta sus propiedades (Khoushab et al., 2010). Químicamente hablando la quitina está unida con polímeros como proteínas, pigmentos, lípidos, otros polisacáridos y minerales como carbonatos de magnesio y calcio en proporciones variadas dependiendo de la fuente natural donde se obtenga (Ehrlich, 2010).

1.2.5.3 Estructura cristalina de la quitina

La quitina es clasificada en tres diferentes formas polimorfas (α , β y γ) las cuales depende de las diferentes orientaciones de sus microfibrillas.

La forma polimorfa más predominante es α y está presente en los exoesqueletos de los crustáceos, pero estudios han demostrado que también se puede encontrar en la pared celular de ciertos hongos, levaduras y también en la cutícula de insectos (Ahmad et al., 2020). La posición de las microfibrillas en la α -quitina están unidos por enlaces de hidrogeno lo que impide el hinchazón y permeabilidad al agua a diferencia de la β -quitina la cual tiene menor contenido de enlaces de hidrogeno (Pakizeh et al., 2021).

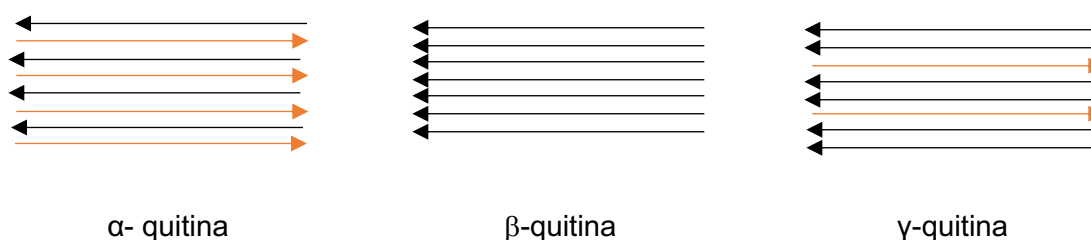


Figura 1.4 Formas polimórficas de quitina (Pakizeh et al., 2021)

1.2.6 Extracción de la quitina

La quitina está conectada con otras biomoléculas como proteínas y minerales, por lo que estas impurezas deben ser eliminadas para obtener la materia prima de interés de forma pura (Villacís et al., 2022).

La quitina se extrae de los exoesqueletos de crustáceos, artrópodos y en la pared celular de algunos hongos por diferentes tratamientos, químico, biológico y enzimático.

Aunque en la actualidad se han estudiado métodos de extracción de quitina el único tratamiento que proporciona el mejor rendimiento es el tratamiento químico, por tal motivo es el más aplicado en la industria y consiste en remover la materia orgánica y minerales que se encuentran presentes, seguidamente por la hidrólisis de la proteína, utilizando altas cantidades de soluciones de HCl y NaOH. De igual forma es posible la obtención de la

quitina a través de la aplicación de bacterias ácido lácticas, las cuales por medio de un proceso de fermentación llevan a cabo la hidrólisis de las proteínas (Alejandro, 2017).

1.2.6.1 Método químico

La obtención de la quitina por vía química consiste en la eliminación de los minerales y proteínas presentes en el exoesqueleto de los crustáceos y en algunos casos se le incluye la eliminación de pigmentos, el orden de estos pasos depende de los subproductos que se deseen obtener.

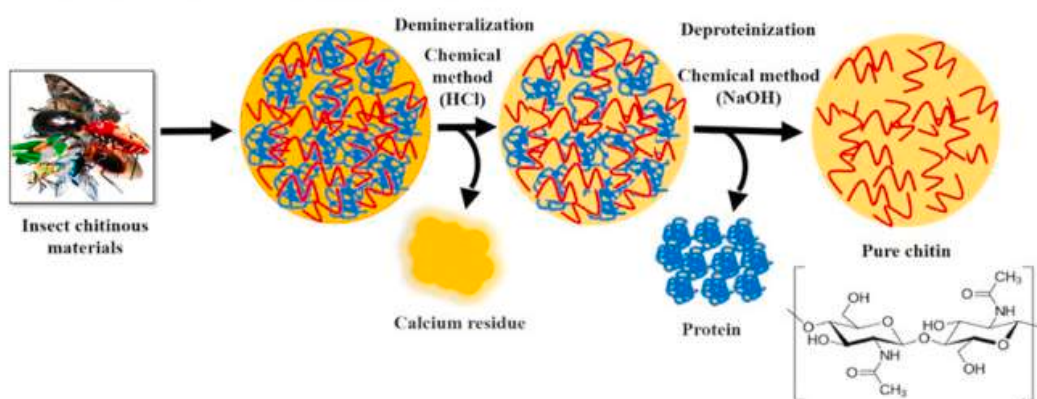


Figura 1.5 Método de extracción química (Mohan, et al., 2020).

Este tratamiento requiere de tres pasos los cuales son: desmineralización, desproteínización y despigmentación.

1.2.6.1.1 Etapas del proceso de extracción por el método químico

Para poder desarrollar el proceso de extracción de la quitina y de esta manera obtenerla en su forma pura, es necesario llevar a cabo una serie de pasos. El tratamiento inicia con el acondicionamiento de la materia prima, el cual consiste en la eliminación de ciertas partes que componen el exoesqueleto de los crustáceos específicamente de los camarones (colas, patas, trazas de carne, cabezas) para después continuar con la desmineralización, la desproteínización y como paso final la decoloración.

1.2.6.1.1.1 Desmineralización

Como su nombre lo indica consiste en la eliminación de minerales, para remover estos componentes se utilizan ácidos como HCl, HNO₃, H₂SO₄, CH₃COOH y HCOOH. (Villacís et al., 2022). El componente inorgánico mayoritario presente en el exoesqueleto de los crustáceos es el carbonato de calcio con formula química CaCO₃; el ácido clorhídrico (HCl) es el más usado por su reactividad para la eliminación de componentes minerales. El tiempo del tratamiento y las concentraciones de ácido a utilizar son variables de los cuales hay que tener mucho cuidado, ya que al realizar el tratamiento a temperaturas muy elevadas podría provocarse la degradación del polímero (Abadía Piquero et al., 2010). Es importante llevar a cabo la remoción del carbonato de calcio presente en los exoesqueletos ya que es el responsable de la baja solubilidad de la quitina (Preciado Romaña, 2022).

1.2.6.1.1.2 Desproteínización

Este paso consiste en la separación de las proteínas, para lograr esto se requiere del uso de hidróxido de sodio y la eficiencia depende de la temperatura con la cual se efectúa este proceso, y de la concentración de la base. (Villacís et al., 2022). La aplicación de hidróxido de sodio a los residuos de camarón permite que los compuestos orgánicos como las proteínas contenidas en estas sean hidrolizadas de forma eficiente, este proceso se lleva a cabo ya que este tipo de reactivo tiene un pH demasiado alto, lo que hace favorable este procedimiento (Preciado Romaña, 2022). Es importante mencionar que tratamientos prolongados a temperaturas altas puede ocasionar la ruptura de las cadenas y llevar a cabo la desacetilación parcial del polímero. Estudios han demostrado que es posible emplear carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de potasio, hidróxido de calcio, sulfito de sodio, bisulfito de sodio, fosfato de sodio y sulfuro de sodio para disolver la proteína (Piquero et al., 2010).

1.2.6.1.1.3 Despigmentación

Los exoesqueletos de los crustáceos tienen componentes que le confiere el color, la astaxantina, la cantaxantina, el astaceno, la luteína y el β -caroteno son los encargados de esto (Piquero et al. 2010). Si es indispensable que la quitina no presente ningún pigmento es decir que sea incoloro, es importante llevar a cabo el proceso de despigmentación el

cual como su nombre lo indica consiste en eliminar los pigmentos lipídicos(carotenoides), para ello se utiliza peróxido de hidrogeno o permanganato de potasio. En áreas como la biomedicina donde la quitina se utiliza para medicamentos es necesario realizar este paso ya que los pigmentos residuales pueden traer efectos secundarios (Pakizeh et al., 2021).

1.2.7 Quitosano

El quitosano es producto de la desacetilación parcial de la quitina, es un polisacárido lineal. Se obtuvo por primera vez por Rougt en 1859, cuando le realizó un tratamiento a la quitina, con una solución de hidróxido de potasio (KOH), a diferencia de la quitina inicial, era soluble en ácidos orgánicos, la llamó quitina modificada, en 1894, Hoppe-Seyler, lo nombró quitosano (Singal et al., 2001).

El quitosano no se presenta como una molécula única, sus moléculas pueden variar en los valores de masa molecular y grado de desacetilación (GD) promedio o grupos aminos libres, lo cual determina la calidad de estos polímeros, influyendo no solo sobre el resto de sus propiedades fisicoquímicas, sino también en su biodegradabilidad, hinchamiento en agua, actividad inmunológica, bioactividad y biocompatibilidad (Barreras, C.L., 2019).

A diferencia de la quitina, que es posible encontrarla en la naturaleza a través de crustáceos e insectos el quitosano solo es posible encontrarla de forma natural en hongos *Mucoraceae* (Kou et al., 2021).

Este polisacárido es el único polímero existente en la naturaleza, y sus características como su densidad de carga y solubilidad solo dependen de una cosa y es el grado de acetilación, la única diferencia entre estos dos es que la densidad de carga depende del pH del medio y la solubilidad del peso molecular; la única limitante que el quitosano presenta es la falta de solubilidad en medios básicos y pH neutro (Kou et al., 2021).

Debido a la presencia mayoritaria de grupos -NH₂ protonados en la estructura química del quitosano esta se puede solubilizar en medios ácidos, si el 50 % de los grupos aminos existentes en este polímero se protonan se vuelve soluble (Aranaz et al., 2021).

El quitosano tiene una biocompatibilidad y degradabilidad admirables. Además, el quitosano también tiene una amplia gama de actividades farmacológicas biológicas como

bacteriostáticas, antioxidantes, inmunomoduladores, antitumorales, etc. (Wang, et al., 2020).

1.2.7.1 Estructura química del quitosano

En su estructura química es un polisacárido lineal compuesto de cadenas β - (1-4) distribuidas aleatoriamente de D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil D-glucosamina (unidad acetilada). Se obtiene por desacetilación de la quitina; se encuentra en estado natural en las paredes celulares de algunos hongos; sin embargo, su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, usualmente soluciones de hidróxido de sodio o de potasio a altas temperaturas (Baltodano y Yaipen, 2006). Debido a su composición química este compuesto se comporta como un buen bioadhesivo, biocompatible y biodegradable (Matsumoto, 2011).

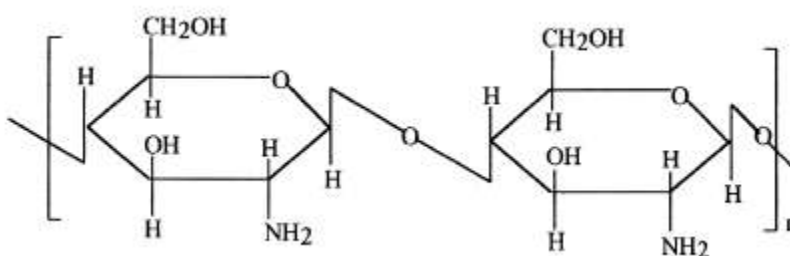


Figura 1.6 Estructura química del Quitosano.

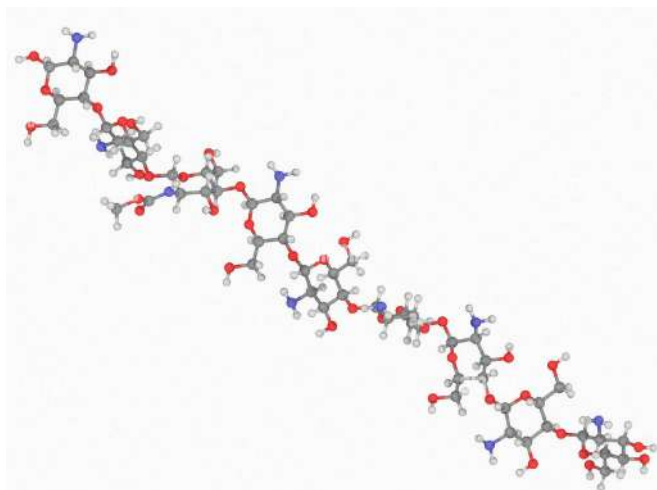


Figura 1.7 Molécula del quitosano.

El grado de desacetilación se define generalmente como la relación glucosamina/N-acetil glucosamina, que aumenta a medida que la quitina se convierte en quitosano. Por lo tanto, cuando el porcentaje de N-acetil glucosamina es mayor que la glucosamina, el biopolímero se llama quitina y cuando el porcentaje de glucosamina excede a la N-acetil glucosamina, el compuesto 290 se llama quitosano (Hamed, et al., 2016).

1.2.7.2 Obtención del quitosano método químico

La obtención del quitosano por método químico se conoce como desacetilación y es el más empleado en la industria. Los desechos de los crustáceos se descalcifican y desproteinizan para obtener quitina y esta a su vez es tratado con NaOH para eliminar el acetilo y obtener quitosano. El método de degradación química es simple, fácil de implementar y de alta eficiencia (Wang, et al., 2020).

1.2.7.2.1 Desacetilación de la quitina

El quitosano es obtenido mediante un proceso químico conocido como N-desacetilación de la quitina, y es el proceso más importante el cual consiste en la eliminación de grupos acetilos a partir de la cadena de quitina hasta alcanzar un completo grupo amino (NH_2). (Hernández, et al., 2021).

Para la obtención de quitosano la quitina es sometida a un tratamiento de hidrolisis alcalina a altas concentraciones y temperaturas elevadas, los reactivos que son utilizados con mayor frecuencia es el NaOH y KOH (Pakizeh et al., 2021).

Los principales parámetros para que se lleve correctamente la desacetilación de la quitina son el tiempo de reacción, la temperatura, la concentración y la naturaleza del reactivo alcalino (Pakizeh et al., 2021).

Aunque actualmente la desacetilación de la quitina se puede llevar a cabo por métodos enzimáticos, los elevados costos y su baja productividad ha hecho que se sigan utilizando los métodos convencionales de extracción como lo es la desacetilación por vía química, aunque esta implique ciertas inconsistencias en el grado de desacetilación y peso molecular, pero sobre todo produce grandes cantidades de residuos acuosos (Pakizeh et al., 2021).

La desacetilación termoquímica o también llamada desacetilación termo alcalina está dividida en dos tipos: la homogénea y la heterogénea. La desacetilación homogénea se efectúa a temperaturas bajas o incluso a temperatura ambiente con largos periodos de tiempo, de esta forma se asegura que exista una uniformidad por parte de la reacción (López, 2010); una de las ventajas de la desacetilación homogénea es la alta solubilidad y la independencia de la reacción a la estructura cristalina (Pakizeh et al., 2021).

La desacetilación heterogénea se lleva a cabo en temperaturas altas de 100°C a 140°C las cuales favorecen la velocidad de reacción (López, 2010), este es el más utilizado en las industrias debido al pretratamiento de la quitina; la desacetilación por vía heterogénea se efectúa mediante dos mecanismos reacción y difusión (Pakizeh et al. 2021).

Usualmente para ambos procesos de desacetilación se utiliza NaOH como reactante.

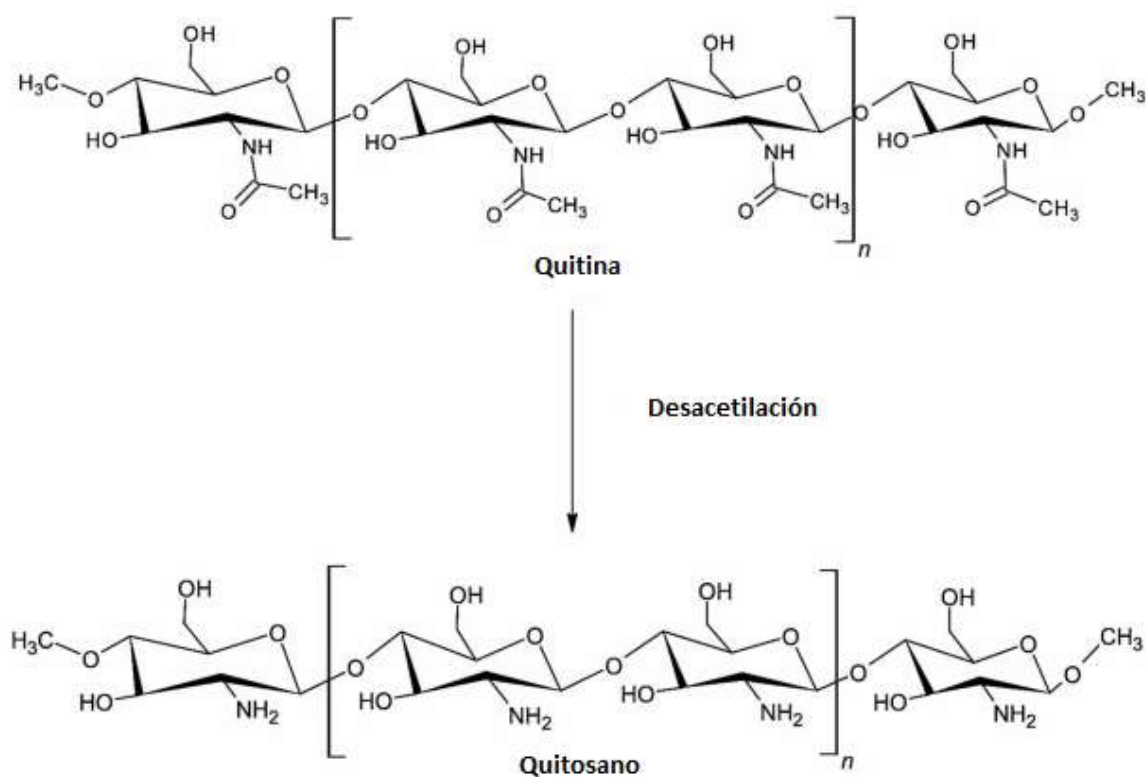


Figura 1.8 Proceso de transformación de la quitina a quitosano. (Yadav, et al., 2019).

El proceso de desacetilación ocurre por varias reacciones simultáneas de primer orden en la superficie de las partículas de quitina cristalina. La presencia de NaOH, permite que ocurran las reacciones subsecuentes con la escisión de la cadena acetamida de la quitina. La importancia de asegurar el ingreso de grupos OH⁻ en la superficie de la quitina no porosa, obliga a reducir el tamaño de la partícula para asegurar reacciones en las fases amorfas de la quitina, que posteriormente se propagan en los límites de las fases cristalinas. Lo que provoca la generación de poros y el ingreso subsecuente de demás grupos OH⁻.

Sin embargo, la reacción de desacetilación pasa por etapas lentas y rápidas. Las etapas de lentitud son derivadas a diversas causas, las más comunes se debe a procesos reversibles de desacetilación, presencia de fases amorfas y cristalinas en la quitina, y cambios en la morfología de la quitina derivadas de procesos de lavado. De igual manera se han encontrados efectos de difusión de iones hidróxido, disminución de la concentración de la solución alcalina, productos de reacción, porosidad de la partícula de la quitina, reacciones paralelas por reactivos incluidos, formación de inhibidores, intermedios inactivos (complejos e hidratos), e hidratación de partículas reaccionantes.

Después de terminar el proceso de desacetilación de la quitina aparece quitosano disuelto, acetato de sodio que forma un anión acetato hidratado (CH₃COO⁻) y un catión metálico del álcali hidratado.

Durante la desacetilación es posible que ocurra algún proceso de estado de equilibrio que promueve una reversibilidad de la reacción. Ante la formación de moléculas de acetato de sodio se modifica la cinética y se desvía hacia la formación de quitina cuando la concentración de NaOH es menor al 0.01 molar con respecto a 1 gr de quitina.

La presencia de fases cristalinas amorfas y cristalinas, se sabe disminuye la cinética de la reacción, pero pueden permanecer como zonas rígidas que se transforman en la nueva fase cristalina de quitosano.

1.2.7.2.2 Biopelículas de quitosano

Debido a sus características filmogénicas, antimicrobianas, biocompatible y biodegradable del quitosano ha hecho posible que se elaboren biopelículas; las películas elaboradas de quitosano tienen buena flexibilidad y transparencia, así como resistencia a los aceites; todas estas propiedades son posible gracias a la estructura lineal que estas poseen. La elaboración de las películas de quitosano es su mayoría son disueltas con ácido acético lo que ha generado que sean permeables a ciertos gases como CO_2 y O_2 otra característica es que el porcentaje de elongación es muy bajo y tienen resistencia a la tracción (Espinosa et al., 2020).

1.2.8 Aplicaciones del quitosano y sus derivados

Los derivados de quitosano tienen actividades biológicas como bacteriostático, antioxidante, inmunomodulatorio, antitumoral, antiinflamatorio, etc. Además, el quitosano y sus derivados son específicamente biocompatibles y degradables, por lo que podrían usarse en diversos campos (Wang, et al., 2020).

1.2.8.1 Aplicaciones en la industria alimentaria

La amplia versatilidad del quitosano y sus derivados como agentes antimicrobianos y de fácil elaboración para películas, los hacen útiles para el embalaje y conservación de alimentos. Las películas elaboradas con quitosano tienen las siguientes características: no son tóxicas, insolubles en agua, comestibles, e incluso resultan mejor que las bolsas de plástico ya que tiene mejores efectos antisépticos, de frescura e hidratación en los alimentos (Wang, et al., 2020).

1.2.8.2 Aplicaciones en la industria textil

El quitosano en la industria textil es utilizado para la elaboración de fibras. La fibra de quitosano tiene buena biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad y actividad antibacteriana. Por lo tanto, reduce el crecimiento de microorganismos como bacterias y hongos en los textiles (Wang, et al., 2020).

1.2.8.3 Aplicaciones en la agricultura

Envolver una capa de película de quitosano en las semillas puede inhibir el crecimiento de patógenos fúngicos alrededor de las semillas y mejora la resistencia de la planta a las enfermedades (Wang, et al., 2020).

1.2.9 Propiedades del Quitosano

La quitina y el quitosano combinan propiedades fisicoquímicas, como la capacidad de formar sistemas de hidrogeles, micro y nano partículas, con propiedades biológicas como la bio y muco- adhesividad que en su conjunto los hacen particularmente atractivos en la ingeniería y diseños de materiales empleados en ciencias de la salud. El quitosano es degradado por varias enzimas, entre ellas las quitinasas y la lisozima presente en superficies mucosas y en suero humano, así como por enzimas gástricas como la papaína, pepsina y lipasa A (Goycoolea et al., 2009).

1.2.9.1 Fuentes de obtención

La quitina es un biopolímero que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y después de la celulosa es el segundo polisacárido en mayor abundancia, está presente en el exoesqueleto de artrópodos como: langostas, cangrejos y camarón; insectos y también se encuentra en la pared celular de las diatomeas, y otras algas, y hongos; este material por sí mismo no es tóxico y es relativamente fácil de degradar, por lo que su aplicación es ambientalmente aceptable (Crin G., 2005).

La producción industrial de este biomaterial se basa en el tratamiento de las conchas de diversos tipos de crustáceos debido a la facilidad de encontrar estos materiales como desecho de las plantas procesadoras de estas especies (Larez, 2006). El exoesqueleto contiene alrededor del 15-40% de quitina (α -quitina), proteínas alrededor del 20 al 40% y carbonato de calcio entre 20-50%, como componentes principales, y presenta en menor cantidad pigmentos y otras sales metálicas.

1.2.10 Aplicaciones de la quitina y quitosano

Debido a la versatilidad de la quitina y el quitosano es posible su utilización en las siguientes áreas:

- a) Agricultura: en esta área las aplicaciones son variadas, algunas de las que se han desarrollado y son consideradas las más habituales son:
- ✓ Recubrimiento de semillas con biopelículas elaboradas con quitosano para su conservación durante el almacenamiento y prolongar la vida en anaquel.
 - ✓ La utilización de fertilizantes como liberadores controlados.
 - ✓ Como repelente bactericida y fungicidas para la preservación y protección del inicio de las plantaciones.
- b) Medicina: en la actualidad se sabe que la quitina y el quitosano desde años atrás han sido empleados para generar el aceleramiento de las curaciones de las heridas. Un claro ejemplo de esto es que en Corea, la quitina era extraída del calamar y utilizada como tratamiento de abrasiones, otro ejemplo muy escuchado es de los mexicanos los cuales obtenían quitosano de las paredes celulares de ciertos hongos y los colocaban en las heridas para de esta forma acelerar el proceso de cicatrización. Actualmente el uso médico de estos materiales ha ido evolucionando de tal forma que son empleados para la elaboración de membranas utilizadas para el procesos de hemodiálisis, sistemas liberadores de fármacos, suturas quirúrgicas elaboradas con quitina, gasas y vendajes a partir de quitosano, apósitos para heridas y elaboración de cremas para tratar heridas ocasionadas por quemaduras, y su muy reciente utilización en el tratamiento de tumores ocasionados por la leucemia así como el control del virus del SIDA (Velásquez, 2003).
- c) Tratamiento de aguas: esta es una de las áreas a la que más importancia se le ha dado gracias a que la quitina y el quitosano son materiales considerados biodegradables y su utilización no generan ningún tipo de contaminación ni daño al medio ambiente. Algunas de estas aplicaciones fundamentales en esta área son:
- ✓ Es empleado en aguas residuales que contienen elevada alcalinidad y turbidez como coagulante.
 - ✓ Es utilizado como floculante para la eliminación de ciertas partículas de grado coloidal.
 - ✓ En el tratamiento de aguas residuales es utilizado como absorbente de metales pesados y como removedor de arsénico y otras sustancias contaminantes presentes en el agua como colorantes, compuestos orgánicos, etc.

- d) **Cosméticos:** en el área de los cosméticos tanto la quitina y el quitosano son muy utilizados, a continuación se menciona algunas de las aplicaciones más relevantes:
 - ✓ Para la elaboración de pastillas para tratar sobrepeso, específicamente para adelgazar o también conocidos como productos dietéticos, el quitosano atrapa la grasa presente en el estómago.
 - ✓ También funciona para la elaboración de cremas para afeitar, productos para la piel, pastas dentales, etc.
- c) **Biosensores:** son múltiples los usos del quitosano en esta área, particularmente funciona como una base para lograr la inmovilización de enzimas a un sustrato determinado. A continuación, se mencionan algunos ejemplos empleados en esta área:
 - ✓ Sensor para glucosa en sangre humana, basado en la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa sobre quitosano.
 - ✓ Sensor para la localización de fenoles en aguas de desecho utilizadas en plantas industriales, apoyándose en la inmovilización de la enzima tirosinasa.
 - ✓ Sensores utilizados para la inmovilización de nanopartículas espacialmente ordenadas (Velásquez, 2006).

1.2.11 Caracterización de la quitina y quitosano

Conocer el grado de desacetilación del quitosano es un parámetro obligatorio para caracterizar este polímero. Hoy en día existen múltiples técnicas para caracterizar las muestras de quitosano y sobre todo muy específicamente para conocer el grado de desacetilación de esta; algunas de las técnicas más empleadas son: espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), calorimetría diferencial de barrido y valoración potenciométrica.

1.2.12 Percarbonato de sodio

El percarbonato de sodio (PSC) o también conocido como carbonato de sodio peroxihidratado es un polvo incoloro y soluble en agua, es utilizado como blanqueador, desinfectante y en la actualidad debido a que se ha estudiado con más detenimiento se utiliza para el tratamiento de aguas residuales; es considerado un producto ecológico,

debido a que no contamina el ambiente, esto debido a que la tener contacto con el agua reacciona de tal forma que se descompone en dos sustancias agua oxigenada (H_2O_2) y carbonato de sodio (Na_2CO_3).

El percarbonato al diluirse en agua comienza un proceso de descomposición en el que genera carbonatos, sodio y peróxido el cual actúa como oxidante el cual se descompone a oxígeno, los componentes mencionados anteriormente están presentes en el agua por tal motivo el percarbonato no agrega ninguna sustancia toxica al agua que pueda contaminar el medio (Ruiz, 2008).

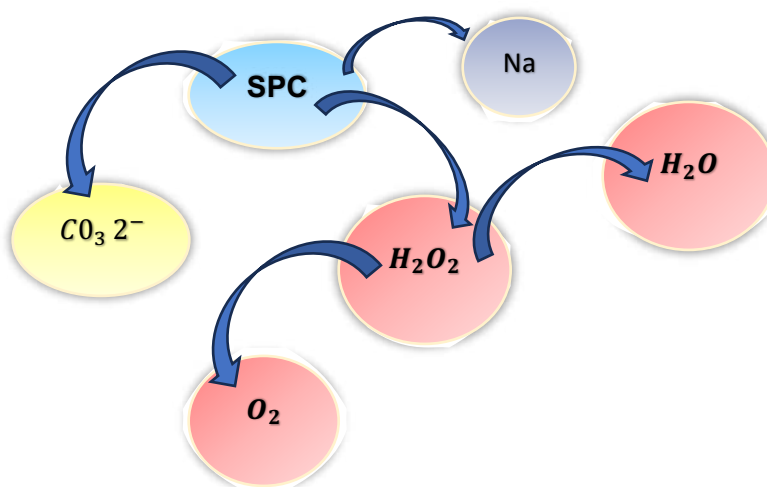


Figura 1.9 Descomposición del percarbonato de sodio en agua (Ruiz, 2008)

1.2.13 Técnicas de caracterización

1.2.13.1 Método casting

El método casting o también conocido como vaciado en la caja consiste en verter un líquido en un molde, dicho molde es colocado a condiciones de temperatura y humedad controladas para que el solvente comience a evaporarse para que de esta forma comience el proceso de endurecimiento y se pueda formar una película rígida (Solano et al., 2018).

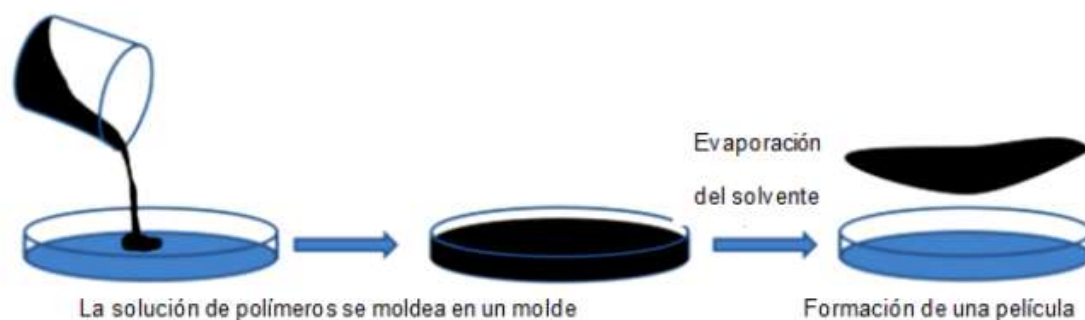


Figura 1.10 Método casting para la elaboración de películas (Escobar, 2020).

1.2.13.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja (IR) o también conocido como infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) tiene un amplio rango de aplicación, desde el análisis de moléculas pequeñas o complejos moleculares hasta el análisis de células o tejidos (Berthomieu, et al., 2009).

La espectroscopia FTIR también se ha aplicado cada vez más al estudio de proteínas. Esto se refiere al análisis de la conformación de proteínas, el plegamiento de proteínas, y de los detalles moleculares de los sitios activos de proteínas durante las reacciones enzimáticas utilizando espectroscopia de diferencia FTIR inducida por reacción (Berthomieu, et al., 2009).

La espectroscopia de infrarrojo es una herramienta útil para la identificación de grupos funcionales. La región del espectro que pertenece al infrarrojo abarca la radiación de longitudes de onda de 12800 a 10 cm^{-1} . Para que una molécula absorba en el infrarrojo debe sufrir un cambio en el momento bipolar, como consecuencia de movimiento rotacional y vibracional. Los espectros de absorción en el infrarrojo se explican suponiendo que son el resultado de los distintos cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales y rotacionales a otros estados de energía.

Esta técnica se basa en medir la cantidad de energía absorbida por la muestra a partir de la incidencia de un haz de infrarrojo. Esto se logra escaneando con el haz de infrarrojo la muestra y usando la transformada de Fourier para medir todas las longitudes de onda a la vez. A partir de eso, se puede trazar un espectro de transmitancia o absorbancia, que permite tener una interpretación de cuales enlaces o grupos funcionales están presentes (Rodríguez Martínez, 2011).

Para confirmar su estructura, se considera como banda característica (AM) a aquella localizada a 1320 cm⁻¹, correspondiente al estiramiento C-N del grupo amida (amida III) con línea de base = 1402-1478 cm⁻¹ y como referencia (AR) a la banda localizada a 1420 cm⁻¹ asignada a la deformación C-H y con línea de base = 1276-1348cm⁻¹. Estas señales fueron propuestas por Brugnerotto y colaboradores (Brugnerotto et al., 2001), los cuales han reportado una correlación lineal que viene expresada por la siguiente relación:

$$A_{1320}/A_{1430} = 0,3822 + 0,03133 \text{ DA (\%)} \quad R^2 = 0,990$$

Así, el grado de acetilación se obtiene de la siguiente ecuación:

$$\text{DA (\%)} = 31,92 (A_{1320}/A_{1430}) - 12,20$$

Dichos autores proponen que esta calibración es válida para el rango entero de DA y para todo tipo de muestras, independientemente de la composición química, técnica, estado o estructura, ya que sus valores están de acuerdo con los DA determinados por espectroscopía ¹H-¹³C-RMN. A. (Puerta, et al. 2015).

1.2.13.3 Viscosimetría capilar

Mediante el ensayo de viscosimetría capilar es posible calcular el peso molecular de polímeros. Para esto es necesario utilizar diferentes definiciones de viscosidad para transformar la viscosidad cinemática (medida) en la viscosidad reducida, ya que a partir de esta última se puede determinar la viscosidad intrínseca y el peso molecular.

La viscosidad intrínseca es una medida del volumen hidrodinámico que ocupan las macromoléculas en solución y por tanto un reflejo de su tamaño; $[\eta]$ es altamente dependiente de la concentración del polímero en solución, (C) (ecuación 1).

CAPITULO I. ANTECEDENTES

Experimentalmente $[\eta]$ se obtiene a partir de mediciones de viscosidad relativa de soluciones con diferentes concentraciones de polímero.

Para llevar a cabo este procedimiento se utilizan las definiciones presentadas en las ecuaciones 1 a 4.

Viscosidad relativa:

$$\eta_r = \frac{\eta_s}{\eta_0} = \frac{t}{t_0} \quad (1)$$

Donde: η_s es la viscosidad de la solución

η_0 es la viscosidad del solvente puro.

Viscosidad específica:

$$\eta_{sp} = \eta - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad (2)$$

Viscosidad reducida:

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad (3)$$

Viscosidad inherente:

$$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{C} \quad (4)$$

Viscosidad intrínseca:

$$[\eta] = \left(\frac{\eta_{sp}}{C} \right)_{c=0} = \left[\frac{\ln \eta_r}{C} \right]_{c=0} \quad (5)$$

Conociendo la viscosidad intrínseca se puede determinar el peso molecular en las muestras analizadas, siempre y cuando el polímero obedezca la ecuación de Huggins; esto es, si presenta un comportamiento lineal entre la concentración y la viscosidad reducida:

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k [\eta]^2 C \quad (6)$$

La viscosidad intrínseca mide el volumen específico efectivo de un polímero aislado, razón por la que su determinación se realiza extrapolando a concentración nula. Su valor depende del tamaño y forma de la molécula de soluto, así como de su interacción con el solvente y de la temperatura de trabajo. Para un sistema polímero-solvente puede utilizarse la expresión de Mark-Houwink-Sakurada para:

$$[\eta] = kM^a \quad (7)$$

Donde k y a son constantes que dependen del sistema polímero-disolvente-temperatura. El valor de a está relacionado con la conformación de la molécula y las condiciones termodinámicas de la disolución. Despejando la ecuación y dejándolo en términos de la masa molecular:

$$M_v = ([\eta]/k)^{1/a}$$

En soluciones poliméricas diluidas la viscosidad intrínseca $[\eta]$ es una medida del tamaño de una molécula en solución. La viscosidad intrínseca tiene unidades de volumen/masa y está directamente relacionada con el peso molecular promedio del polímero en solución.

1.3 Justificación

El quitosano es un biopolímero, producto de la desacetilación de la quitina. La quitina es el componente mayoritario del exoesqueleto de los crustáceos, como el camarón, cangrejos, langostas y krill. Este polímero debido a la gran versatilidad y características que posee en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas como lo son su no toxicidad, biocompatibilidad, es utilizado en diferentes campos, como la agricultura, la medicina, la cosmetología, la farmacéutica y en el procesamiento de alimentos. Debido al incremento de producción en las industrias pesqueras, año con año se desechan altas cantidades de residuos marinos

que, de no ser colocados en los lugares adecuados, terminan en las costas, trayendo consigo un aumento de enfermedades y contaminación ambiental. En la actualidad existen diferentes trabajos documentados en donde extraen quitina y quitosano utilizando altas concentraciones de ácidos y bases, así como el uso de largos periodos de tiempo y la utilización de altas temperaturas.

De manera general, el método químico de desacetilación tiene varias desventajas como: un alto consumo de energía, residuos de solución alcalina concentrada, y residuos químicos que requieren de un manejo adecuado para prevenir la contaminación. Aunque la cinética de la desacetilación es conocida por ser más rápida en los primeros 60-90 min, y posteriormente se ralentiza en tiempos prolongados que se extienden hasta en 6 hr. En la práctica, alcanzar grados de desacetilización altos o cercanos al 100% no se pueden hacer por una sola técnica, siendo insostenible su intento. Aplicar más técnicas, implica un incremento en costos, generación de residuos, una variedad de reacciones alternas y resultados con baja repetibilidad.

En este proyecto se pretende el aprovechamiento de residuos de camarón provenientes de la península de Yucatán, para la extracción de quitina y por consiguiente del quitosano, para la elaboración de biopelículas. De igual forma se propone una técnica verde la cual consiste en la reducción de la concentración de bases y en la reducción de la temperatura, por otro lado, en el proceso de desacetilación implementar el uso de percarbonato de sodio como agente oxidativo alcalino que pueda promover reacciones de entrecruzamiento.

1.4 Hipótesis

La naturaleza de la molécula de quitina parcialmente desacetilada, acumula cargas negativas que pueden repeler grupos OH- y reducir la velocidad de desacetilación. Que a su vez, forman amidas cuasi-estables en el quitosano formado que incrementa su estabilidad cuando existe una alta concentración de NaOH que queda solvatada por las moléculas de agua, de ahí que se puede mantener la reacción por largos periodos de tiempo. Por otro lado, durante la desacetilación la presencia de fases cristalinas en la quitina promueve dos mecanismos, disminuye la cinética de la reacción de desacetilación y mantiene zonas rígidas que se transforman en una nueva fase cristalina en el quitosano.

Cuando se trata quitosano con alto o bajo grado de desacetilación, a una concentración mayor de 0.5 M de H_2O_2 , con tiempos mayores a 30 min y temperaturas cercanas a los 90 °C aumenta la severidad del peróxido, y la mayor parte de los productos obtenidos son de baja masa molecular. El peróxido de hidrogeno en su etapa de descomposición genera radicales libres que atacan los enlaces glucosídicos β -D(1-4) del quitosano, mediante una reacción oxidativa en fase homogénea, que incrementa su agresividad al estar en presencia de una solución de ácido acético.

Por otro lado, la presencia de agua “libre” derivado de su carga polar, neutraliza las cargas de los aniones cuasi-estables y se acelera la velocidad. De ahí la importancia de integrar en el proceso de desacetilación de quitina al percarbonato de sodio parcialmente solubilizado en su etapa de descomposición, en la que generará agua y peróxido de hidrogeno; que podrán generar tanto puntos de depolimerización y a su vez estos actuarán como agentes de entrecruzamiento.

Por lo que, en este proyecto, se plantea una primera etapa de desacetilación utilizando una menor cantidad de NaOH concentrado (50 %) y condiciones específicas (30 min y temperatura menor a 80°C). Posterior a este tiempo, inicia la segunda etapa, integrando al percarbonato de sodio en su etapa secundaria de descomposición donde el peróxido de hidrogeno liberado (0.5 M H_2O_2) promoverá la depolimerización parcial del quitosano. Con estas etapas, se espera reducir el uso de altas cantidades de NaOH concentrado hasta un 50%, así como promover grados de desacetilación aceptables y algunos puntos de entrecruzamiento. Todo esto permitirá incrementar las propiedades mecánicas de las películas de quitosano y reducir la hidratación que provoca su desintegración.

1.5. Objetivos de Investigación

1.5.1 Objetivo general

- Establecer y desarrollar una técnica amigable con el medio ambiente para extraer quitosano de exoesqueletos de camarón, utilizando percarbonato de sodio en el proceso de desacetilación.

1.5.2 Objetivos específicos

- Determinar una técnica de extracción (purificación, desmineralización y desproteínización) de quitina a partir de exoesqueletos de camarón, mediante una investigación documental
- Analizar fisicoquímicamente la harina de los exosqueletos de camarón de especies nativas de la península de Yucatán, en cada etapa de la extracción de quitina mediante la técnica FTIR.
- Determinar una técnica de desacetilación como referencia de la harina de quitina para obtener quitosano, mediante una investigación documental
- Obtener harina de quitosano obtenida por la técnica propuesta, y analizarla mediante la técnica de FTIR para determinar su composición y el grado de desacetilación.
- Desarrollar una técnica verde de desacetilación heterogénea de la harina de quitina y analizar el efecto de un posible mecanismo de entrecruzamiento en medio básico oxidativo agregando percarbonato de sodio.
- Evaluar la harina desacetilada obtenida por la técnica de referencia y la propuesta, utilizando las técnicas de FTIR y viscosimetría capilar.
- Evaluar películas de quitosano mediante el análisis mecánico a tensión, permeabilidad y absorción de humedad.

CAPITULO 2. MATERIALES Y METODOS

2.1 METODOLOGÍA

2.1.1 Obtención de las muestras

Las cáscaras de camarón de la especie *Litopenaeus setiferus* cocidas se obtuvieron de la zona pesquera del puerto de Celestún y *también* se obtuvieron cáscaras de camarón de la especie *Farfantepenaeus aztecus* de las bodegas de Isla Arena, Campeche. Ácido clorhídrico (36.5 - 38.0%, BAKER ANALYZED® ACS, J. T. Baker). Hidróxido de sodio ($\geq 98\%$ (by acidimetry), AR® ACS, Macron Fine Chemicals™).

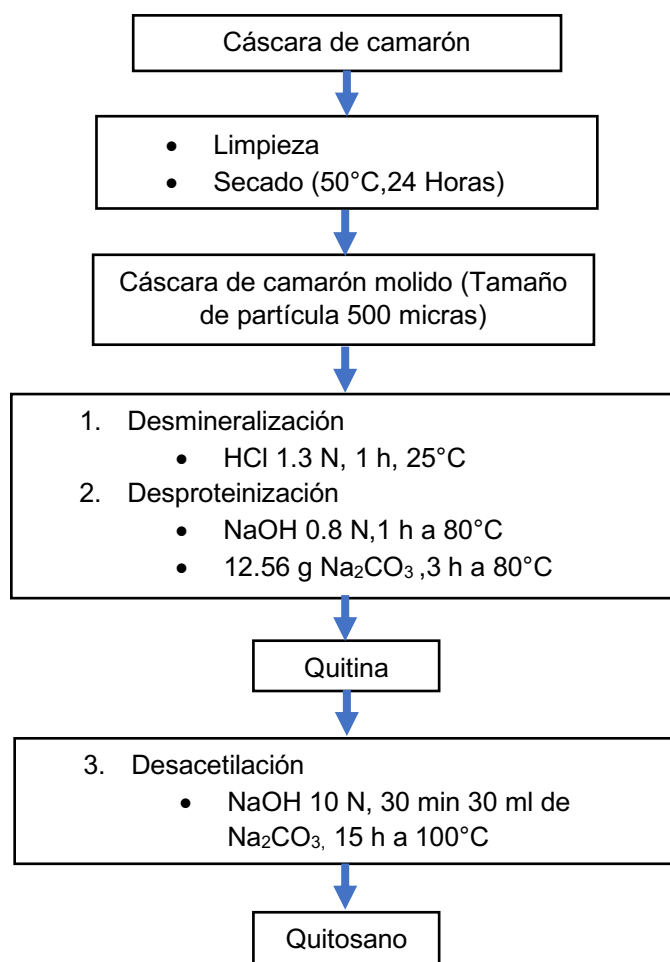


Figura 2.11 Estrategia de obtención del quitosano

2.1.2 Limpieza

Las cascaras de camarón se sometieron a limpieza en donde se le retiraron las patas, cabeza, cola y residuos de carne, dejando exclusivamente el caparazón, posteriormente se lavaron con abundante agua y se drenaron para eliminar el exceso de agua.



Figura 2.12 Proceso de acondicionamiento de las cascaras de camarón.

2.1.3 Secado

Después para secar las cascaras de camarón se colocaron en charolas de aluminio y se llevaron a un horno a 50°C por 24 horas.



Figura 2.13 Proceso de secado de las cascaras de camarón

2.1.4 Triturado

Los exoesqueletos se pesaron y colocaron en un molino para café en donde se realizó el primer triturado, posteriormente se colocaron en una unidad básica de triturado micro fino MF 10 IKA hasta alcanzar una harina fina de 0.5 m (500 micras).



Figura 2.14 Proceso de triturado de las cascaras de camarón.

2.1.5 Desmineralización

Para el proceso de desmineralización se preparó una solución de HCl al 1.3 N, se pesó 10 g de la harina de cascara de camarón y se le agregó 60 ml de HCl 1.3 N (Fig. 2.15), se agitó por 60 min a 25 °C, transcurrido este tiempo las muestras se filtraron y lavaron con agua destilada hasta obtener un pH neutro. Después se colocaron en un horno de convección hasta alcanzar una temperatura de 40° C por 12 horas (Fig. 2.16, 2.17, 2.18).



Figura 2.15 Preparado de la solución de HCl y pesado de la harina de camarón.

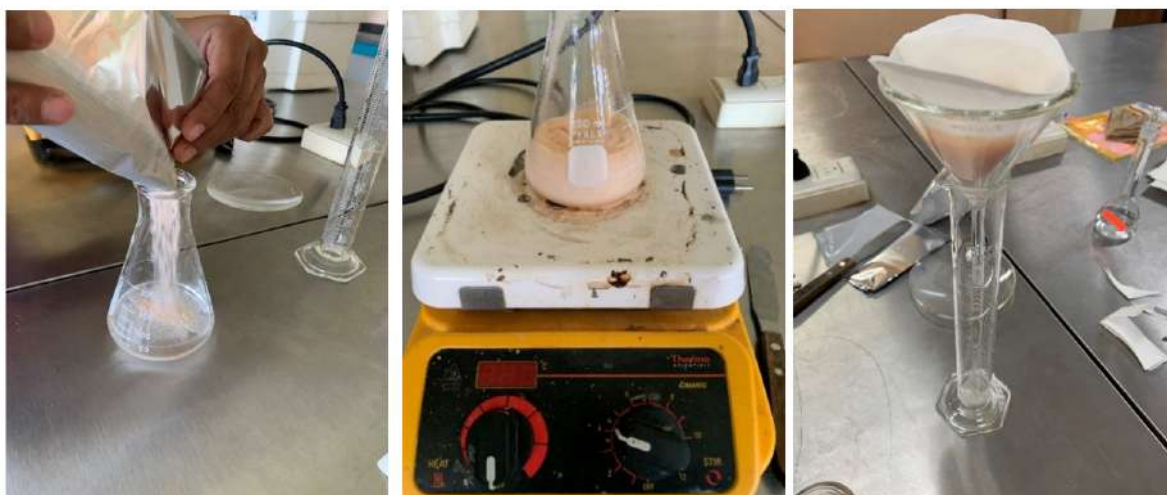


Figura 2.16 Proceso de desmineralización.



Figura 2.17 Proceso de secado de las muestras ya desmineralizadas.



Figura 2.18 Muestra de cascara de camarón ya desmineralizada.

2.1.6 Desproteínización

A las cascarras de camarón ya desmineralizadas se le agregó 30 ml de NaOH 0.8 N, las muestras se agitaron por 1 hora a una temperatura de 80 °C, pasado ese tiempo se agregó 50 ml de percarbonato de sodio y se agitó por 3 horas, se filtraron y se lavaron con abundante agua destilada hasta tener un pH neutro; las muestras son secadas a 40 °C por 12 horas (Fig. 2.19 y 2.20).



Figura 2.19 Proceso de Desproteínización.

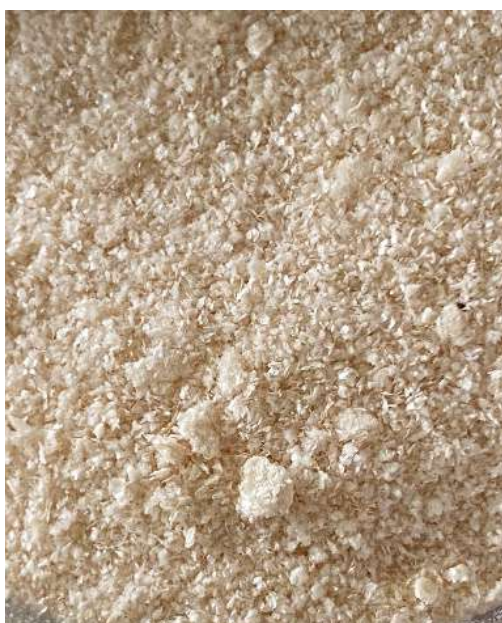


Figura 2.20 Quitina obtenida.

2.1.7 Desacetilación por método químico (heterogéneo)

Para la obtención de quitosano se utiliza la muestra ya desmineralizada y desproteinizada y se le agregó 30 ml NaOH 10 N después se agitó por 15 horas a una temperatura de 80 °C, transcurrido ese tiempo se agregó 30 ml de percarbonato de sodio manteniendo la agitación por 30 min. Posteriormente se filtró y lavó con abundante agua destilada hasta obtener un pH de 7.0, después se colocó en un horno de convección a una temperatura de 40 °C por 12 horas (Fig. 2.21 y 2.22).



Figura 2.21 Proceso de desacetilación con carbonato de sodio.



Figura 2.22 Muestra de quitosano obtenido con carbonato de sodio.

2.1.8 Elaboración de películas de quitosano por el método casting

Para la elaboración de películas de quitosano se utilizó el método convencional casting, se preparó una solución de ácido acético al 5%, se pesó 2 g de quitosano y se le agregó 55 ml del ácido acético posteriormente se colocó en agitación por 3 horas, transcurrido ese tiempo la muestra se colocó en una charola de metal con antiadherente y posteriormente se colocó en un horno a 50°C por 24 horas (Fig. 2.23, 2.24 y 2.25).



Figura 2.23 Proceso de elaboración de las películas de quitosano.



Figura 2.24 Secado de las películas de quitosano.



Figura 2.25 Películas de quitosano (desacetiladas con percarbonato de sodio).

2.2 Técnicas de caracterización

2.2.1 Espectroscopia de IR por Transformada de Fourier (FTIR)

Para obtener el espectro IR del quitosano, se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier Thermo Scientific Nicolet 8700, con una resolución de 4 cm^{-1} y un barrido de 4000 a 400 cm^{-1} . Se realizaron 20 escaneos por muestra en el modo de reflexión total atenuada (ATR).

2.2.2 Permeabilidad de membranas

Para esta prueba se acondicionaron dos cámaras por 24 h antes de las pruebas, con soluciones saturadas KCl y K₂SO₄ creando humedades relativas de 85 y 97 %, respectivamente.

Las celdas de prueba fueron acondicionadas de acuerdo con la ASTM E96-80, en la que se sugiere el método gravimétrico (celda de doble fondo). Dos grupos de películas se colocaron en las celdas de prueba, sujetadas con ligas y selladas con parafina. Se registró el peso inicial y las celdas de prueba fueron transferidas a las cámaras ambientales las cuales ya estaban acondicionadas a 82 % y 95% de humedad relativa. Las cámaras ambientales se mantuvieron a $17\text{ °C} \pm 2$ y a $36\text{ °C} \pm 2$.

2.2.3 Propiedades mecánicas

La prueba se realizó utilizando un dinamómetro de 500N y muestras con dimensiones de 4 cm de largo y 1 cm de ancho. El espesor fue de acuerdo con el obtenido en el párrafo anterior.

2.2.4 Grado de hinchamiento

Para esta prueba se utilizará 10 muestras en forma de película con peso aproximado de 10 mg, las cuales se pesaron en seco (M_i), posteriormente fueron sumergidas en agua destilada y volviéndose a pesar cada 2 min para observar su evolución en el hinchamiento. Al termino de 10 min se midió el peso obtenido de cada muestra hinchada (M_s) y se determinó su grado de hinchamiento usando la formula siguiente:

$$G_h = \frac{M_i - M_s}{M_i} * 100\%$$

2.2.5 Viscosimetría capilar

Para determinar el peso molecular del quitosano se utilizó un viscosímetro capilar tipo Pinkevitch, el cual estuvo en un baño termostático controlado por un recirculador de agua con regulación de temperatura en $\pm 0.1^\circ \text{C}$. Las muestras de quitosano se prepararon por disolución en una mezcla compuesta de ácido acético 0.1 M y cloruro de sodio 0.2 M, en una proporción de 1% p/V (quitosano/solución). Se establecieron 5 concentraciones para el estudio entre $1.5 \times 10^{-3} - 3.5 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$.

Una vez establecidas las condiciones de trabajo se procedió a determinar el tiempo de caída de la disolución polimérica y a partir de la ecuación de Poiseuille se calculo su viscosidad.

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Análisis por FTIR

Las curvas de FTIR fueron divididas en dos zonas para una mejor interpretación y visualización de los picos característicos. Las bandas pertenecientes a los grupos funcionales de C-H entre 2400-3000, no presentan modificaciones de importancia después de los tratamientos agresivos en hidróxido y ácido clorhídrico, lo cual indica que no sufrieron procesos degradativos en las moléculas sacarosas predominantes en toda la molécula (Figura 3.26).

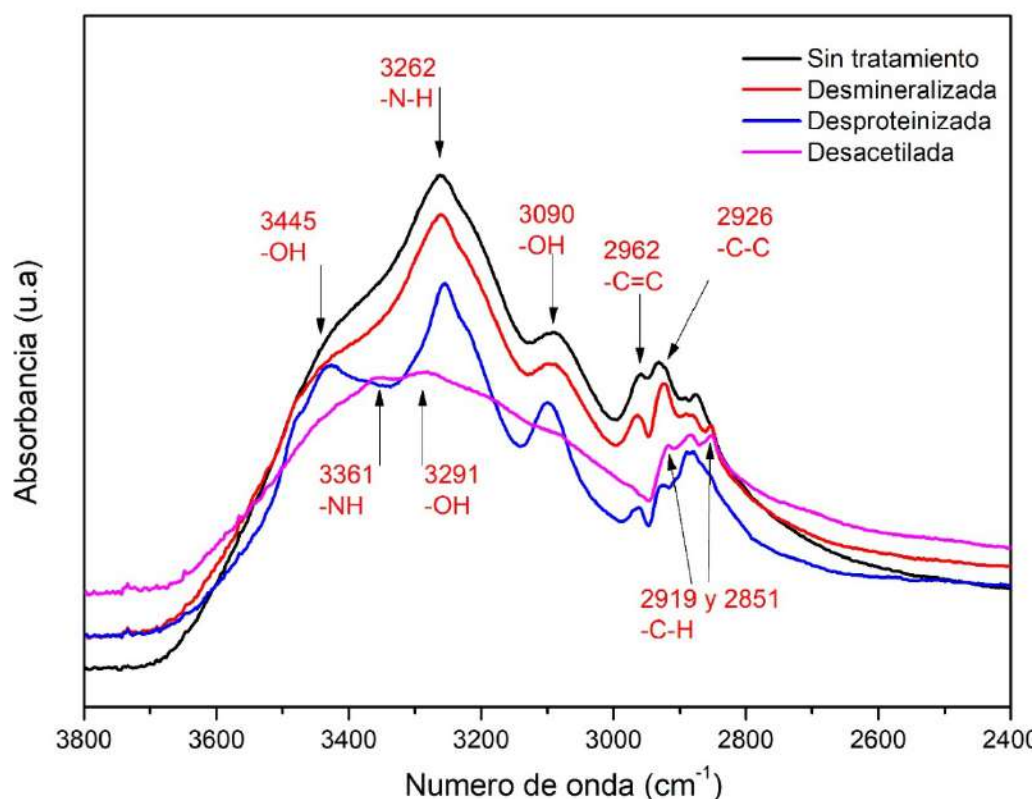


Figura 3.26 Picos característicos de grupos funcionales de C-H entre 2400-3000.

Lo que se observa en la Figura 3.26 del espectro de FTIR, son los picos característicos de la muestra natural de polvo de las cascavas de camarón, de quitina después de desmineralizar y desproteínizar las cascavas, así como quitosano después de desacetilar. En primera

instancia se observan intensidades a 2962, 2926 y 1620 cm^{-1} asociado a la astaxantina, que desaparece con los tratamientos. Se pueden apreciar bandas de los grupos funcionales de OH y N-H en el intervalo de 3000 hasta 3600 cm^{-1} . Se aprecia los grupos funcionales OH en 3445 y 3090 cm^{-1} , y grupos N-H en 3262 de los grupos amina I, que disminuyen hasta obtener una amplia banda donde se sobreponen tanto los alargamientos y tensiones de todos los grupos OH libres y NH de las aminas I libres, en la muestra de quitosano. Los picos característicos del quitosano obtenido son similares al quitosano comercial (Tabla 3.3).

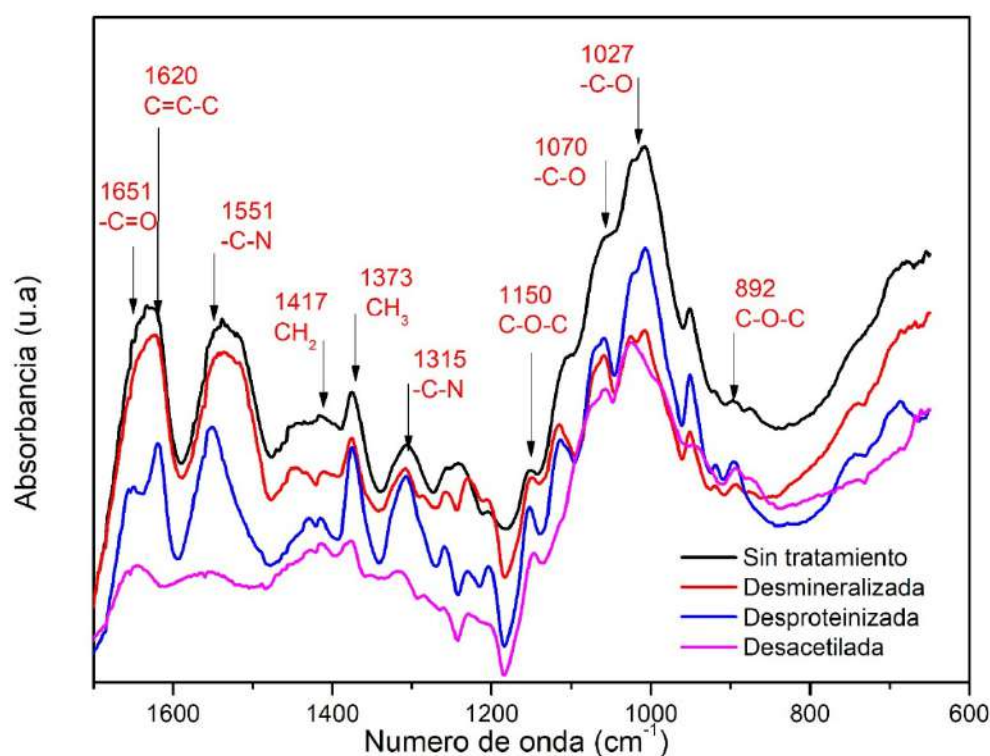


Figura 3.27 Picos característicos de las interacciones moleculares de los grupos funcionales de interés en cada proceso de transformación de la quitina (grupos acetilados y las moléculas de sacarosa como unidad repetitiva).

En la Figura 3.27, se observan interacciones de los grupos funcionales presentes de los grupos acetil, como los carbonilos C=O en 1651 cm^{-1} de las amidas I, grupos metil CH_2 en 1417 cm^{-1} , grupos metilo CH_3 en 1373 cm^{-1} y las interacciones C-N en 1551 cm^{-1} de las amidas II. Todos estos disminuyen drásticamente como se esperaba solo durante la

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

desacetilación. La amplia banda entre $1485\text{-}1611\text{ cm}^{-1}$ corresponde a las interacciones de las aminas I libres. La banda a 1315 cm^{-1} corresponde a la deformación CO-NH al CH_2 de la amida II (glucosamina). La banda característica de $\text{C}=\text{O}$ del grupo acetamida (COCH_3) aparece a 1480 cm^{-1} , lo que indica un bajo grado de desacetilación. Además no se observan reacciones derivadas de reacciones de Mailard ($\text{C}=\text{O}$ y NH_2) a 780 cm^{-1} , relacionadas con altos grados de desacetilación.

El intervalo $848\text{-}1180$ pertenece a las interacciones de la cadena principal o unidades repetitivas (sacarosa) del quitosano, las cuales no disminuyen. Esto indica que los procesos químicos aplicados no degradan dichas moléculas de soporte estructural, químicamente hablando.

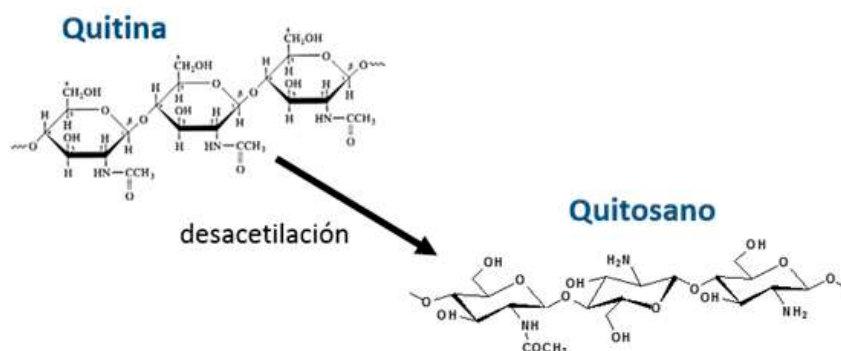


Figura 3.28 Comparación de los grupos acetil en las moléculas de quitina y quitosano.

Tabla 3.3 Resumen de picos característicos de quitosano

Compuesto asociado	Numero de onda (cm^{-1})	
	Quitosano comercial	Quitosano obtenido
-OH	3361 y 3086	3344 y 3090
-N-H (amina I)	3438, 3291	3391
C-H (estiramiento simétrico y asimétrico)	2921 y 2877	2919 y 2851
-C=O (amida I)	1645	1651
-N-H (flexión amina I)	1589	1538
-C-N (estiramiento amida II)	1510 a 1570	1551
CH_2 (deformación simétrica)	1422	1417

CH ₃ (deformación simétrica)	1375	1373
-C-N (estiramiento amida III)	1325	1315
-C-O (estiramiento simétrico)	1030 y 1080	1027 y 1070
-C-O-C (estiramiento asimétrico) estructura sacarosa	897 y 1154	892 y 1150

3.2 Efecto del uso de percarbonato en el proceso de Desacetilación

En este apartado del estudio se compararon muestras obtenidas por el proceso de desacetilación original con respecto al proceso para reducir el uso de altas cantidades de hidróxido de sodio.

En la Figura 3.29 se observa una reducción del pico a 1550 cm^{-1} asociado a grupos amida II, lo cual indica que puede modularse la reducción de grupos amino. Entre 2650 y 3700 cm^{-1} se puede observar un efecto de la presencia de humedad en las muestras, que presentan más definición en picos característicos asociados con enlaces de puentes de hidrogeno.

Al integrar el percarbonato al proceso de desacetilación, las intensidades asociadas a la estructura piranosa (1160 y 1430 cm^{-1}) no se ven afectadas, lo cual indica que ante procesos oxidativos con el PCS no se degradó el polímero con las concentraciones utilizadas.

Por otro lado, el quitosano obtenido por la N-desacetilación de las quitinas tratadas con el PCS presentan mayor intensidad en la banda a 2870 cm^{-1} correspondiente al estrechamiento C-H del anillo de glucosa; esta banda es sensible a variaciones en el grado de desacetilación; un incremento en la intensidad de esta se asocia con un incremento en el grado de desacetilación. De manera similar la banda a 3290 cm^{-1} es más intensa y se desplaza hacia la derecha, que corresponde a un estrechamiento N-H, asociado al grado de desacetilación [Fernández et. al., 2003].

Las interacciones ácido acético residual aparecen ligeramente en algunas de las muestras (1700 - 1720 , 1417 cm^{-1}).

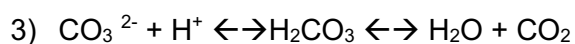
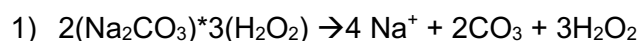
En la molécula de quitina parcialmente desacetilada se acumulan cargas negativas que repelen grupos OH- y reduce la velocidad de desacetilación. Derivado de esto, se forman amidas cuasi-estables de quitosano que incrementa su estabilidad cuando existe una alta

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

concentración de NaOH, y se mantiene por largos periodos de tiempo. Ante la presencia de agua “libre” estas moléculas se neutralizan y se acelera la velocidad de desacetilación.

La presencia de agua libre reduce la formación de estos aniones cuasi-estables. De ahí la importancia de integrar en el proceso de desacetilación al percarbonato de sodio en su etapa ultima de descomposición en la que genera agua.

A partir de las siguientes consideraciones que eficiente los radicales libres. Sin embargo, su bajo poder oxidante puede ser aprovechado para promover reacciones de entrecruzamiento parciales acompañados de procesos de depolimerización mínimos, durante la primera etapa de descomposición:



En la etapa de formación del peróxido de hidrogeno se generan radicales libres que atacan los enlaces glucosídicos β -D(1-4) del quitosano, y este proceso toma aproximadamente 10 min. (referencia de esta información)

Cuando se trata quitosano con alto o bajo grado de desacetilación, a una concentración mayor de 0.5 M de H_2O_2 , tiempos mayores a 30 min y temperaturas cercanas a los 90 °C aumenta la severidad del peróxido, y la mayor parte de los productos obtenidos son de baja masa molecular. En el proyecto se manejaron concentraciones menores al 0.5 M, 30 min de exposición y temperaturas de 80 °C para reducir la depolimerización ante el peróxido formado en la etapa 1 de la descomposición del percarbonato de sodio.

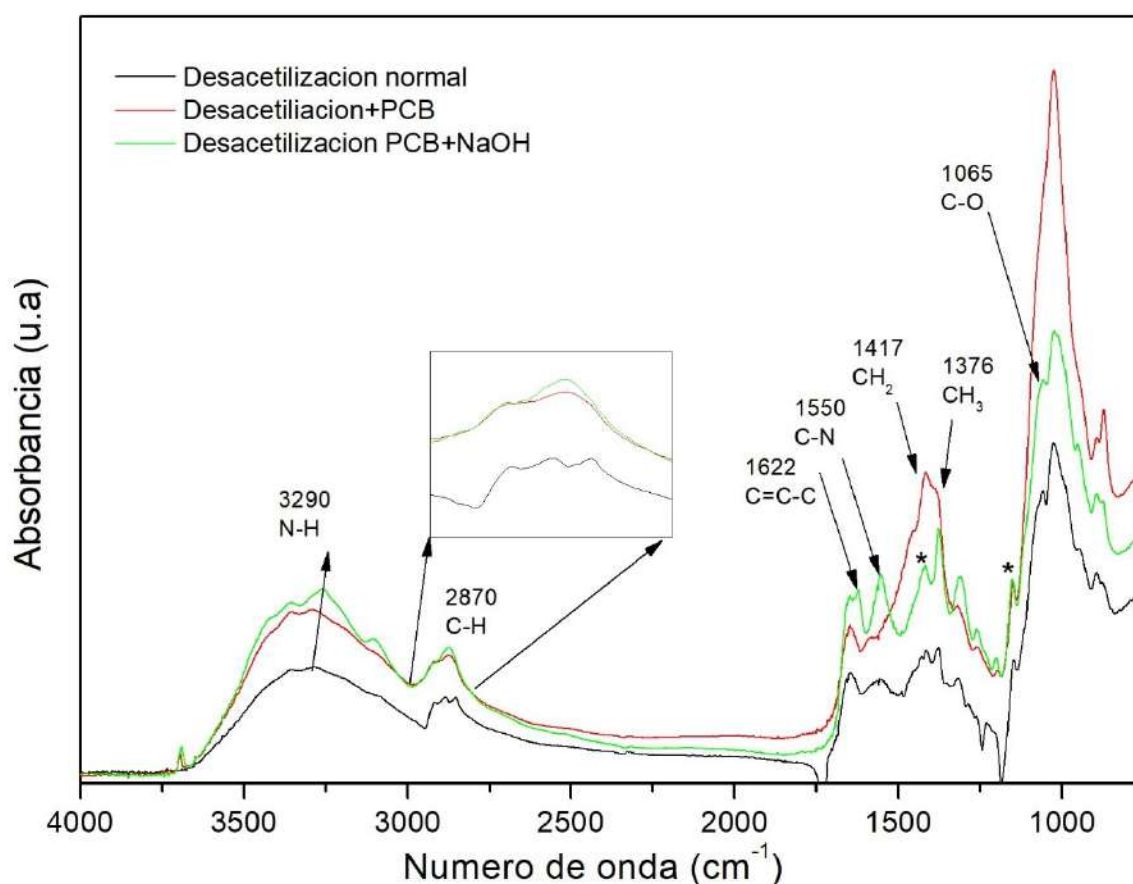


Figura 3.29 Efecto de la integración del PCB en el proceso de desacetilación.

En la Figura 3.30 se presenta el efecto de usar PCS durante el proceso de desacetilación, donde se puede observar que las bandas características del anillo piranosa (a), enlaces glucosídicos y cadenas de carbohidratos (b) permanecen, y se vuelven más definidos. El incremento de la rigidez estructural provoca un reducido efecto en la absorción de humedad, lo cual puede estar asociado a la formación de fases cristalizadas de quitosano similar a cuando se incrementa el entrecruzamiento químico.

El grado de desacetilación para este tratamiento fue del 89-97, según el análisis por FTIR. La muestra quedó particulada y de difícil disolución.

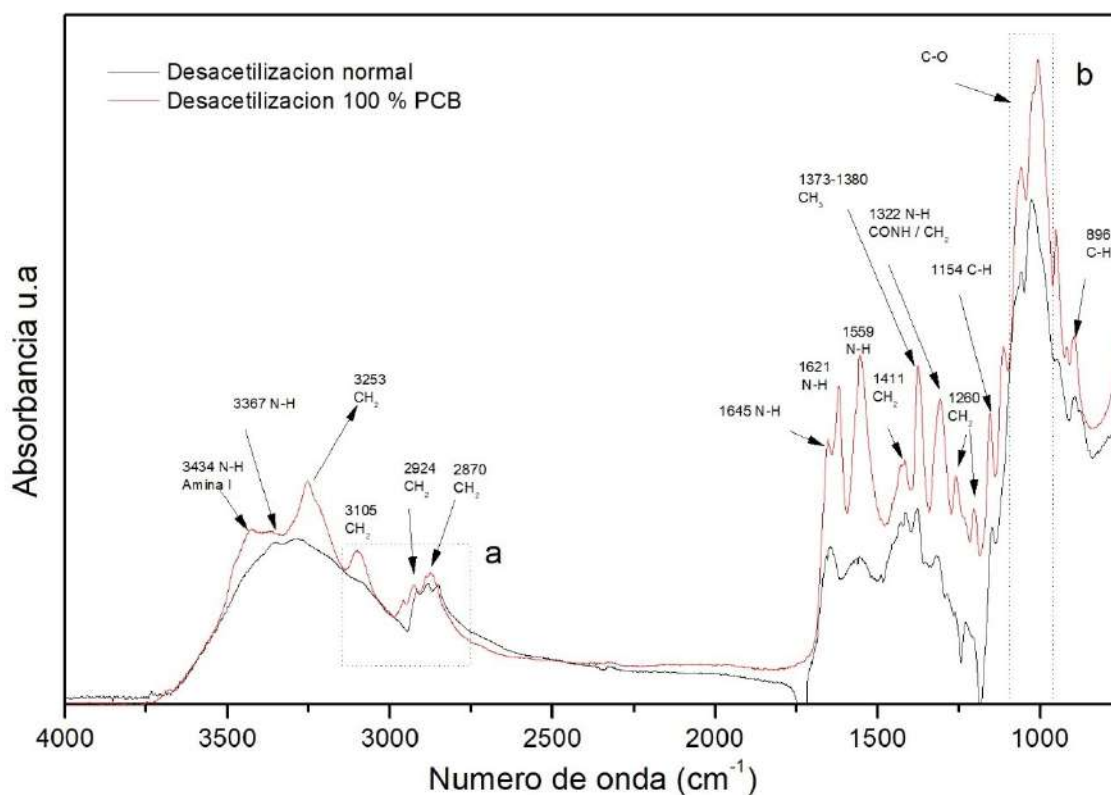


Figura 3.30 Comparativa de FTIR de películas de quitosano obtenidas por dos procesos.

El color de los caparazones de crustáceos está asociada a la presencia de pigmentos como la astaxantina, la cantaxantina, el astaceno, la luteína y el β -caroteno, por lo que es común emplear agentes oxidantes tradicionales, como el H_2O_2 (0.5–3%) y el NaClO (0,32%). Aunque estos atacan grupos aminos libres pueden introducir modificaciones en el polímero. Como se estableció en estudios anteriores, las intensidades a 3427, 3343, 2962, 2926, 1620, 1552, 1377, 857 y 783 cm^{-1} son asociados a la antoxantina, pero estas son solapadas por las correspondientes vibraciones de CH_2 y N-H , sin embargo, aunque no se observan en el FTIR las coloraciones desaparecen con los tratamientos de PCB.

Se puede observar en la Figura 3.30 el efecto del poder oxidante del PCS a altas concentraciones, promoviendo intensidades características de la cadena de quitosano degradada a 3434, 3253, 2870, 1559 cm^{-1} . En tanto la banda a 1621 cm^{-1} corresponde al

grupo carbonilo situado a los extremos de la cadena polimérica, que incrementa por escisión del enlace glucosídico.

3.3 Determinación de grado de acetilación por FTIR

Para determinar el grado de acetilación del quitosano obtenido, se analizaron bandas características. La intensidad a 1320 cm^{-1} corresponde al estiramiento C-N del grupo amida (amida III) con una línea de base de $1402\text{-}1478\text{ cm}^{-1}$, y como referencia se establece la banda localizada a 1420 cm^{-1} asignada a la deformación C-H y con línea de base de $1276\text{-}1348\text{ cm}^{-1}$. Estas señales ya han sido consideradas que poseen una correlación lineal (Brugnerotto et al., 2001).

De igual forma, se ha considerado la asociación de tanto la N-acetilglucosamina y la glucosamina (Figura 3.31), que aportan las intensidades en 1651 cm^{-1} , así como las intensidades derivadas de los grupos OH en 3450 cm^{-1} .

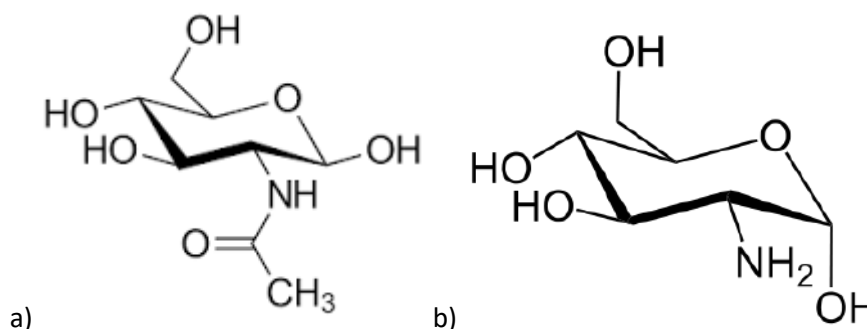


Figura 3.31 Unidades de N-acetil glucosamina (a) y de glucosamina (b).

En este estudio se propuso determinar el grado de desacetilación (GDA) mediante FTIR. Por FTIR se usa la fórmula propuesta por Brugnerotto et al. 2001, usando las intensidades de las absorbancias que aparece en 1651 y 3450 cm^{-1} :

$$\text{GDA} = 100 - \left(\frac{A_{1651}}{A_{3445}} \times \frac{100}{1.33} \right) = 100 - NA$$

Donde:

NA= N-acetilacion

$A_{1651} = 0.031$ (a partir de una línea base restada)

$A_{3450} = 0.052$ (a partir de una línea base restada)

1.33 = es la relación de las absorbancias para un quitosano 100% acetilado.

Tabla 3.4 Absorbancias de los picos características

	A_{1651}	A_{3450}	N-Acetilación
Quitina	0.062	0.0619	75.2
Quitosano	0.031	0.0521	44.8

Para el caso del quitosano se tiene un grado de desacetilación (GDA):

$GDA = 100 - NA = 55.2$

3.4 Peso molecular (viscosimetría capilar)

Varias investigaciones han propuesto los valores de k y a , como se muestra en la Tabla 3.6. Por ejemplo, Kasaai y colaboradores (2018) para el sistema quitosano-ácido acético al 1 % v/v las constantes $K = 4.74 \times 10^{-3} \text{ mLg}^{-1}$ y $\alpha = 0.72$, obteniendo así un peso molecular promedio viscoso de 208 kDa. Este resultado está entre las especificaciones de algunos fabricantes que reportan valores entre 190 kDa y 310 kDa, clasificándolo como quitosano de mediano peso molecular.

Tabla 3.5 Tiempo de caída de las soluciones

Disolución	Concentración (g/ml)	Tiempo de caída (seg)
M1	1.59E-01	189
M2	1.11E-01	161
M3	4.80E-02	126
Disolvente	-	105

Tabla 3.6 Relación de condiciones para determinar las constantes k y a de la ecuación Mark-Houwink-Sakurada

Referencia	Condiciones	K (cm ³ /g), a	GA (%)
Magami y col, 1988	0.1 M Ac. ACet-0.2 M NaCl, 25°C	1.81E-3, 0.93	0-40
Davankov, 1988	0.167M Ac. Acet-0.47 M NaCl	111.5, 0.147	--
Roberts and Domszy, 1982	0.1M Ac. Acet - 0.2M NaCl 0.1M A. Acet - 0.02MNaCl	1.81E-3, 0.93 3.04E-5, 1.26	--
Knaul, Kasai, Bui, & Creber, 1998	0.25 M Ac.Acet 0.25 M Acet.Sodio	1.4E-4, 0.83	54-91
Lee, 1974	0.2M Ac. ACet-0.1M NaCl/4M urea	8.93E-1, 0.71	--
Kassai, 2007	0.1 M Ac.Acet – 0.2 NaCl	4.74E-3, 0.72	81.7 %

Tabla 3.7 Análisis de viscosidad en las disoluciones de quitosano a 25°C

Parámetro viscosimétrico	Disolución		
	M1	M2	M3
η_{rel}	1.80	1.53	1.20
η_{sp}	0.80	0.53	0.20
η_{red}	50.31	48.05	41.67
η_{inh}	3.70E+01	3.85E+01	3.80E+01
$[\eta]$	38.29		

En la Tabla 3.7 se puede observar una reducción de la viscosidad conforme se reduce la concentración, siendo que las viscosidades relativas, específica, reducida e inherente, están relacionadas con la viscosidad intrínseca o índice del límite de viscosidad $[\eta]$, a través de la fórmula de Huggins. La cual considera el análisis de la viscosidad reducida con respecto a la concentración, siendo la viscosidad intrínseca el valor de la viscosidad a concentración cero (ordenada en el origen) que dio 38.29 ml/g.

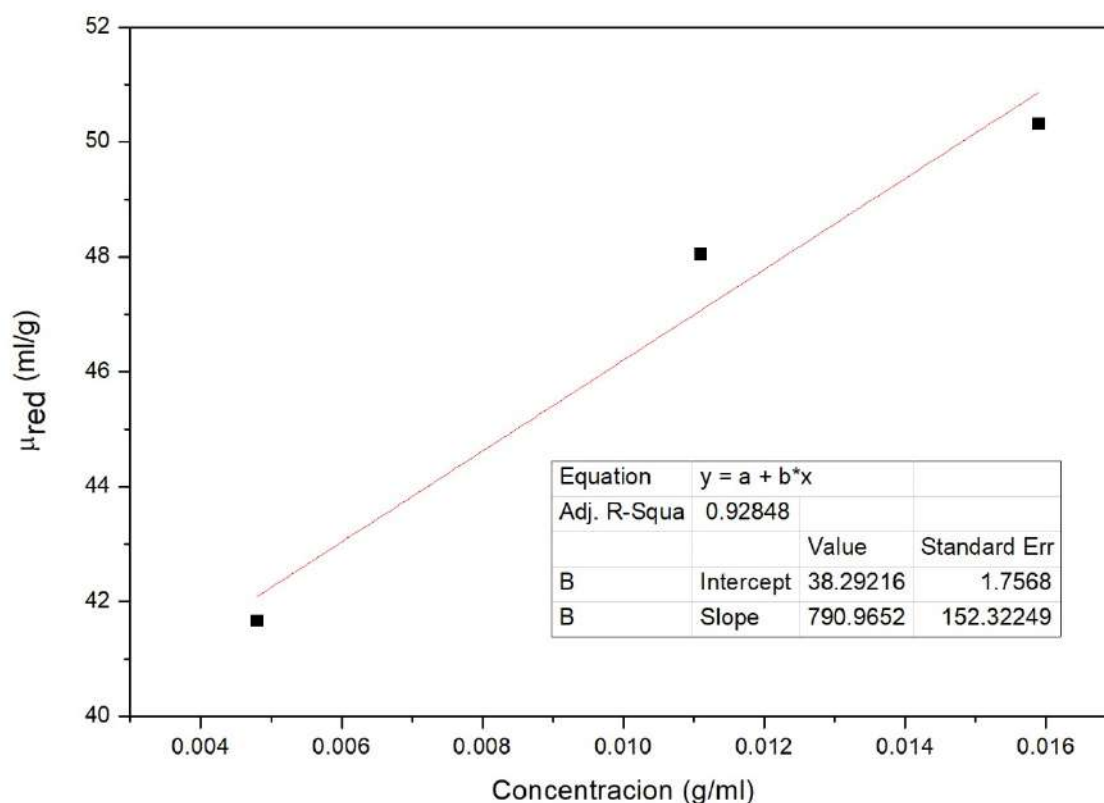


Figura 3.32 Representación de la expresión de Huggins para el quitosano (elaboración propia).

La viscosidad intrínseca asocia el volumen específico efectivo de un polímero aislado, y su valor depende de la forma y tamaño de la molécula polimérica; además de la interacción de este con el disolvente y la temperatura de estudio.

Para este estudio se eligieron los valores de Maghami y Roberts (1988), siendo que el valor del grado de desacetilación es cercano al 40%, de acuerdo con los resultados obtenidos por FTIR.

$$M_v = \left(\frac{[38.29]}{1.81 \times 10^{-3}} \right)^{1/0.93}$$

Dando un peso molecular de 44,768.76 g/mol para el quitosano extraído por la técnica propuesta.

3.5 Grado de hinchamiento

El hinchamiento fue proporcional con respecto al tiempo, y al término de 10 min se midió el peso obtenido de cada muestra hinchada.

Tabla 3.8 Grado de hinchamiento de muestras con diferentes procesos de desacetilación

Muestra	Grado de Hinchamiento	Estado de la película
Desacetilación original	35.5 % (1.65 ±)	Se hidrata y rompe con facilidad al tacto
Desacetilación modificada (100 % PCS)	0 %	No se hidrata y no cambia sus características solidas
Desacetilación modificada (50/50 NaOH: PCS)	15 % (2.13 ±)	Hidrata, no fractura al tacto y presenta poca flexibilidad

En cuanto a las pruebas de hinchamiento, las muestras con el tratamiento modificado de desacetilación, presentó mejor estabilidad a la humedad con respecto a la muestra con el tratamiento original.

3.6 Permeabilidad

En esta prueba se registró la pérdida o ganancia de peso contra el tiempo de la absorción de humedad de las membranas, y la pendiente resultante fue dividida por el área expuesta de la película obteniéndose así la Transmisión de Vapor de Agua. Para este estudio, se considera usar 18°C como condición simulada de almacenamiento, en un ambiente de humedad relativa del 95 % para una condición interna (por ejemplo, en frutas) y externa (del refrigerador) de 82%.

Los datos fueron tratados de acuerdo con las ecuaciones descritas para permeabilidad en la norma ASTM D1653. La pérdida o incremento de peso de las celdas de prueba se midió cada 30 min hasta realizar 8 registros, posterior al estado de equilibrio

En este apartado del estudio se analiza la permeabilidad de muestras entrecruzadas con ácido carboxílicos y muestras sin entrecruzar. Las que no fueron entrecruzadas presentaron hinchamiento y fractura a los 20 min de iniciada la prueba de permeabilidad. En tanto, las

muestras ya entrecruzadas lograron soportar al menos 4 horas del estudio hasta su fractura cuando alcanzan una presión establecida.

La menor permeabilidad efectiva fue presentada por la película de quitosano de referencia en donde presentó un valor de $1.262 \text{ g mm} / \text{m}^2 \text{ h KPa}$ y el valor más alto de permeabilidad fue para las películas de quitosano obtenido con un valor de $3.96 \text{ g mm} / \text{m}^2 \text{ h KPa}$. Este resultado podría deberse principalmente a la presencia de grupos amida producto de la reacción de entrecruzamiento de los grupos carboxílicos con la amina, reduciendo los enlaces de hidrógeno y reduciendo el espacio intermolecular. De tal forma que la capacidad de absorción de las moléculas polares como el agua se vea reducido en la superficie.

3.7 Espesor de películas

Con las condiciones propuestas se logró obtener películas de quitosano de referencia sin tratamiento con espesores de $0.06 \pm 0.014 \text{ mm}$ y cuando se entrecruzan con ácidos dicarboxílicos se obtuvieron espesores de $0.09 \pm 0.026 \text{ mm}$ de espesor. El quitosano obtenido por la técnica propuesta permitió obtener muestras con espesores de $0.07 \pm 0.008 \text{ mm}$ y cuando se entrecruzan con ácidos dicarboxílicos se obtuvieron espesores de $0.09 \pm 0.016 \text{ mm}$ de espesor.

El incremento del espesor se asocia a la formación de redes tridimensionales que propicia una estructura tipo xerogel menos rígida, lo cual corresponde a lo observado en las pruebas a tensión.

3.8 Tensión

El entrecruzamiento parcial mediante ácidos dicarboxílicos promueve la formación de grupos amida que reducen los hidrógenos libres e incrementan la resistencia mecánica de acuerdo con el grado de entrecruzamiento que se propuso de 10% p/p en la relación quitosano/ácidos dicarboxílicos.

Tabla 3.9 Resultados del comportamiento mecánico del quitosano obtenido

Muestra	Modulo (MPa)	Deformación (%)
Referencia comercial s/e	32.7	6.7
Referencia comercial c/e	32.6	11.5
Obtenida s/e	26.1	10.0
Obtenida c/e	8.0	80.0
Modificada Q/PCS (20%)	337.93	7.5

Se puede observar que es posible incrementar la deformación utilizando inicialmente entrecruzamientos parciales con ácidos dicarboxílicos de bajo peso molecular en quitosano con pesos moleculares bajos (300 kDa); y posteriormente promover un entrecruzamiento con altos pesos moleculares que mantengan la flexibilidad y reducir el grado de hinchamiento (35%) que se obtuvo en pruebas anteriores.

El proceso propuesto usando PCS en el proceso de la desacetilación, puede incrementar la resistencia de la película hasta 10 veces su resistencia, en tanto se compromete el grado de desacetilación hasta un 36 %. Cabe mencionar que el tratamiento de desacetilación se redujo hasta un 50 % de NaOH, que es contaminante, compensándolo con una solución de PCS.

CAPITULO 4. CONCLUSIONES

4.1 CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos, queda demostrado que es posible utilizar el PCS en el tratamiento de desacetilación en concentraciones menores al 25% p/p de quitina/PCS-NaOH.

Derivado de los procesos involucrados en la desacetilación de la quitina, esta fue reducida a un tamaño de 0.5 micras, lo cual permitió de manera continua rendimientos del 25%, similar a otros trabajos.

Las películas presentaron rugosidades derivado de procesos de cristalización de la muestra en segundas disoluciones se obtuvieron muestras más lisas y con mejores propiedades mecánicas.

El proceso de obtención de películas obtenidas con el uso de PCS, requieren más tiempo de disolución y un proceso rápido de secado para evitar la formación de fases rígidas.

La naturaleza de la molécula de quitina parcialmente desacetilada acumula cargas negativas que normalmente repelen grupos OH⁻ y reduce la velocidad de desacetilación. Derivado de esto, se forman amidas cuasi-estables de quitosano que incrementa su estabilidad cuando existe una alta concentración de NaOH, y se mantiene por largos periodos de tiempo. Ante la presencia de agua “libre” estas moléculas se neutralizan y se acelera la velocidad de desacetilación. La presencia de agua libre reduce la formación de estos aniones cuasi-estables. De ahí la importancia de integrar en el proceso de desacetilación al percarbonato en su etapa ultima de descomposición en la que genera agua.

Se ha reportado en trabajos que el uso de peróxido de hidrógeno promueve reacciones de despolimerización en condiciones ácidas. Las cuales facilitan la dispersión de grupos aminos que reaccionaran con el H₂O₂, y promueven la fragmentación del enlace glucosídico. En este trabajo se utilizó el percarbonato, aprovechando su capacidad oxidativa y los compuestos que este libera con el tiempo; favoreciendo procesos

CAPITULO 4. CONCLUSIONES

simultáneos de degradaciones glucosídicas de alto peso molecular, y formación de policomplejos (entrecruzamientos) de grupos carboxílicos y aminas libres. La cinética de la reacción de esta reacción será analizada en futuros trabajos.

Las películas obtenidas presentan características de interés para su aplicación en películas para alimentos, como la resistencia a la solubilidad en agua, pasando por un proceso de hinchamiento que puede ser modulado por la técnica. La alta resistencia a la tensión favorecida por una flexibilidad la hace adecuada para aplicaciones de embalaje. No se observaron residuos contaminantes en las películas tal como ácido, hidróxido o percarbonato, derivado de los lavados y las concentraciones utilizadas.

BIBLIOGRAFÍAS

- 1) Ahmad, S. I., Ahmad, R., Khan, M. S., Kant, R., Shahid, S., Gautam, L., ... & Hassan, M. I. (2020). Chitin and its derivatives: Structural properties and biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 526-539.
- 2) Agüero Luztonó, L., Silva, D. Z., & Ivirico, J. E. (2000). Cephalexine liberation from poly (acrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels. *Biomecánica*, 8(1), 58-62.
- 3) Alejandro, A. M. A. (2017). Caracterización fisicoquímica de biopolímeros obtenidos del exoesqueleto de la cacerolita de mar (*Limulus polyphemus*).
- 4) Amashta, I. A. K., Trabanca, O. K., & Trabanca, D. K. (2005). Materiales inteligentes: Hidrogeles macromoleculares. Algunas aplicaciones biomédicas. In *Anales de la real sociedad española de química* (No. 4, pp. 35-50). Real Sociedad Española de Química.
- 5) Ariza, L. Q., Prieto, J. V., & Padilla, L. G. (2019). Evaluación metodológica del proceso químico extractivo de quitina y quitosano en latinoamérica. *Ingenio Magno*, 10(1), 180-194.
- 6) A. Davankov, *Vysokomol. Soedin.*, Ser. A: 22, 1834 (1980).
- 7) Ávila Romero, A. G. (2015). Obtención de un hidrogel de quitosano mediante la irradiación con un haz de electrones acelerados, para determinar su aplicación en la adsorción de cromo (Bachelor's thesis, Quito, 2015.).
- 8) Abadía Piquero, J., & Navarro Gómez, F. (2010). Preparación y caracterización mecánica de hidrogeles de quitosano para soporte de células de cartílago. Trabajo de graduación de Química Industrial. Zaragoza, Escuela Universitaria, Ingeniería Técnica Industrial.
- 9) Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, A., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 13(19), 3256.
- 10) Baltodano T., L., Yaipen C., J. Obtención, caracterización y diseño de una forma farmacéutica semisólida (ungüento) a base de quitosano con efecto cicatrizante, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú, 2006.
- 11) Benavides Cuellar, M. A. (2002). "Quitina-quitosana: los polimeros del futuro."
- 12) Benítez, J., Contreras, D., Guzmán, P., Ramírez, A., Prin, J., & Rojas de Gáscue, B. (2011). Estudio de la Difusión y Cinética de Hinchamiento en Hidrogeles de Poliacrilamida. *Rev. Iberoam. Polim*, 12(6), 292-299.

- 13) Berthomieu, C., & Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis research*, 101, 157-170.
- 14) Bruck, S. D. (1973). Polymeric materials: status of biocompatibility. *Biomaterials, Medical Devices, and Artificial Organs*, 1(1), 79-98.
- 15) Brugnerotto, J., Lizardib, J., Goycoolea, F., Argüelles, W. y Desbrières, J. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan Characterization. *Polymer*, 42, 3569-3580.
- 16) Berkovich, L. A., Timofeyera, G. I., Tsyurupa, M. P., & Davankov, V. A. (1980). *Vysokomol. Soedin Series A*, 22, 1834–1839.
- 17) Contreras Payés, A. X. (2022). Optimización de la extracción de quitosano a partir del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus Vannamei*, utilizando radiación de microondas como alternativa sostenible.
- 18) Concepción Barreras, L. (2019). Propuesta tecnológica para producir quitina y quitosano a partir de exoesqueletos de crustáceos (Doctoral dissertation, Universidad Central ``Marta Abreu`` de Las Villas. Facultad de Química y Farmacia. Departamento de Ingeniería Química).
- 19) Curbelo Hernández, Caridad, & Palacio Dubois, Yadira. (2021). Tratamiento químico de residuos de camarón para la obtención de quitina. *Centro Azúcar*, 48(2), 103-116.
- 20) Dhillon, G. S., Kaur, S., Brar, S. K., & Verma, M. (2013). Green synthesis approach: extraction of chitosan from fungus mycelia. *Critical reviews in biotechnology*, 33(4), 379-403.
- 21) Domard A, Rinaudo (1983). Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 5, 49-52.
- 22) Escobar Guadarrama, J. A. (2020). Elaboración y caracterización de biopelículas elaboradas con quitosano y adicionadas con partículas de almidón.
- 23) Espinosa-Cavazos, K. G., Sáenz-Galindo, A., & Castañeda-Facio, A. O. (2020). Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. *Afinidad*, 77(591).
- 24) Ehrlich, H. (2010). Chitin and collagen as universal and alternative templates in biomineralization. *International Geology Review*, 52(7-8), 661-699.
- 25) Fernández, C.; Ausar, S.; Badini, R.; Castagna, L.; Bianco, I.; Beltramo, D., 2003, "An FTIR spectroscopy study of the interaction between α s-casein-bound phosphoryl groups and chitosan", *International Dairy Journal.*, 13, 897–901.
- 26) García, J. A., & Ordoñez Beltrán, L. M. A. (2011). Desarrollo de un proceso para la obtención de quitina a partir de micelio utilizando agua subcrítica [recurso electrónico].

- 27) Goycoolea, F.; Remuñan L., C; Alonso, M.J (2009). Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia.
- 28) Guibal, E., et al. (1999). "Chitosan sorbents for platinum sorption from dilute solutions." 38(10): 4011-4022.
- 29) Guzhñay Lozano, C. G. (2022). Evaluación de la eficiencia de extracción de quitina de la cáscara de camarón (*Litopenaeus vannamei*), obtenida enzimáticamente con papaína y quimotripsina (Bachelor's thesis).
- 30) G. A. F. Roberts, J. G. Domszy, Int. J. Biol. Macromol. 4, 374 (1982).
- 31) Hernández, C. C., Dubois, Y. P., & Hernández, S. F. (2021). Desacetilación de quitina obtenida por vía química de exoesqueletos de camarón *litopenaeus vannamei*. Revista Centro Azúcar, 48(3), 53-61.
- 32) Hernández, I., et al. (2016). "Elaboración de un hidrogel a partir de quitosano para la eliminación de metales pesados (Cu) en una muestra modelo de agua." 3(9): 16-21.
- 33) Huertaa, A. C., Rincóna, M. C., Valbuenaa, A. C., & Lópezza, A. (2012). Obtención y caracterización de papel de quitosano. Revista Iberoamericana de polimeros, 13(2), 41-51
- 34) Joseph, S. M., Krishnamoorthy, S., Paranthaman, R., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2021). A review on source-specific chemistry, functionality, and applications of chitin and chitosan. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2, 100036.
- 35) Knaul, J. Z., Kasaai, M. R., Bui, V. T., & Creber, K. A. M. (1998). Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review. Canadian Journal of Chemistry, 76, 1699–1706.
- 36) Kou, S. G., Peters, L. M., & Mucalo, M. R. (2021). Chitosan: A review of sources and preparation methods. International Journal of Biological Macromolecules, 169, 85-94.
- 37) Katime, I., et al. (1996). "Swelling kinetics of poly (acrylamide)/poly (mono-n-alkyl itaconates) hydrogels." 40(4): 281-286.
- 38) Knidri, H. E., Dahmani, J., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2019). Rapid and efficient extraction of chitin and chitosan for scale-up production: Effect of process parameters on deacetylation degree and molecular weight. International journal of biological macromolecules, 139, 1092-1102.
- 39) Khoushab, F., & Yamabhai, M. (2010). Chitin research revisited. Marine drugs, 8(7), 1988-2012.

- 40) Kassai MR. Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperaturesystem using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydrate Polymers*. 2007; 68: 477-488.
- 41) Lopez, N. A. P. (2010). Extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosanos: caracterización y aplicación (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I; Université autonome métropolitaine (Universidad Autónoma Metropolitana) (Iztapalapa)).
- 42) López, H. M, Medina-Torres, N., Patrón-Vázquez, J., Ramirez, G., Ayora, T., Pacheco-López, N. (2017). Obtención de quitosano a partir del exoesqueleto de camarón mediante extracción asistida por ultrasonido.
- 43) Matsumoto, K.; Producción de quitina y quitosano, nuevo proceso biotecnológico para la obtención de quitina y quitosano, Universidad Autónoma Metropolitana, 2011.
- 44) Mohan, K., Ganesan, A. R., Muralisankar, T., Jayakumar, R., Sathishkumar, P., Uthayakumar, V., ... & Revathi, N. (2020). Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends in food science & technology*, 105, 17-42.
- 45) Miya M, Iwamoto R, Yoshikawa S (1983). Highly deacetylated chitosan and its properties. *J. Appl. Polymers Sci.*, 28, 1909-1917.
- 46) Maghami G y Roberts G, *Makromol Chem.*, 189, 195, (1988).
- 47) Pakizeh, M., Moradi, A., & Ghassemi, T. (2021). Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells. *European Polymer Journal*, 159, 110709.
- 48) Pedley, D. G., Skelly, P. J., & Tighe, B. J. (1980). Hydrogels in biomedical applications. *British Polymer Journal*, 12(3), 99-110.
- 49) Puerta, M., Montenegro, H., & Montenegro, D. V. (2015). Evaluación del quitosano a partir del grado de desacetilación de la quitina. *Scientia*, 25(1), 103-114.
- 50) Preciado Romaña, D. (2022). Extracción y caracterización de quitosano obtenido a partir de residuos del procesamiento de camarón *Penaeus monodon*.
- 51) Piquero, J., & Gómez, F. N. (2010). Preparación y caracterización mecánica de hidrogeles de quitosano para soporte de células de cartílago. *Universidad de Zaragoza*, 1-50.
- 52) Ramirez, A., Benítez, J. L., De Astudillo, L. R., & De Gascue, B. R. (2016). Materiales polimeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante ftir, dsc, meb y met. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 36(2), 108-130.

- 53) Rodríguez Martínez, M. L. (2011). Adsorción de metales pesados mediante biocompositos con base en quitina de diferentes grados de acetilación (Master's thesis).
- 54) Ruiz, E. (2008). Síntesis electroquímica de percarbonato de sodio por medio de reacciones anódicas y catódicas acopladas. CENTRO.
- 55) Rahayu, A. P., Islami, A. F., Saputra, E., Sulmartiwi, L., Rahmah, A. U., & Kurnia, K. A. (2022). The impact of the different types of acid solution on the extraction and adsorption performance of chitin from shrimp shell waste. *International Journal of Biological Macromolecules*, 194, 843-850.
- 56) Raabe, D., Sachs, C., & Romano, P. J. A. M. (2005). The crustacean exoskeleton as an example of a structurally and mechanically graded biological nanocomposite material. *Acta Materialia*, 53(15), 4281-4292.
- 57) Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21.
- 58) Sixto-Berrocal, A. M., Vázquez-Aldana, M., Miranda-Castro, S. P., Martínez-Trujillo, M. A., & Cruz-Díaz, M. R. (2023). Chitin/chitosan extraction from shrimp shell waste by a completely biotechnological process. *International Journal of Biological Macromolecules*, 230, 123204.
- 59) Salas, D. (2011). Estudio de prefactibilidad para la puesta en marcha de una planta procesadora de quitina, ubicada en el cantón Eloy Alfaro de la provincia del Guayas. Trabajo de Grado), Facultad de Ingeniería Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito.
- 60) Singal, AK. Chawla, M., Pharm, J., Pharmacol. 53, 1047. 2001. Referenciado por: PAZ, Nilia., et al., "Evaluación viscosimétrica del quitosano derivado de la quitina de langosta"
- 61) Tian, Feng & Liu, Yu & Hu, Keao & Zhao, Binyuan. (2004). Study of the depolymerization behavior of chitosan by hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*. 57. 31-37.
- 62) Velásquez, C. L. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en química*, 1(2), 15-21.
- 63) Velásquez, C. L. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 4(2), 91.
- 64) Velasco-Reyes, J. F., Díaz-Narváez, G. C., Ramírez-Carrillo, R. E., & Pérez-Cabrera, L. E. (2019). Producción de quitosano a partir de desechos de camarón generados del

procesamiento industrial. Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos, 4, 897-901.

- 65) Villacís, P., & Moncerrath, M. (2022). Aprovechamiento de fuentes alternativas para la obtención de quitina (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- 66) V. F. Lee, University Microfilms (Ann Arbor) 74/29446 (1974)
- 67) Wang, W., Xue, C., & Mao, X. (2020). Chitosan: Structural modification, biological activity and application. International Journal of Biological Macromolecules, 164, 4532-4546.
- 68) Yadav, M., Goswami, P., Paritosh, K., Kumar, M., Pareek, N., & Vivekanand, V. (2019). Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials. Bioresources and Bioprocessing, 6(1), 1-20.