



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

Programa de Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Obtención de glucosamina hidrociorada (GlcHCl) a partir de la hidrólisis ácida de quitina y quitosano extraídos de desecho de jaiba (*Callinectes arcuatus*)

## TESIS

Que para obtener el Grado de:

## MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

***Q.B. Flor Angélica Moreno Villa***

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## RESUMEN

En este trabajo se buscó establecer las mejores condiciones de procesamiento químico para obtener y caracterizar quitina, quitosano y glucosamina, a partir del procesamiento químico del desecho de jaiba capturado en la región.

Primeramente se extrajo quitina a partir del desecho de jaiba, la cual posteriormente se convirtió a quitosano; ambos productos fueron caracterizados a la par con muestras comerciales (análisis químico proximal, peso molecular y grado de desacetilación). Tanto los polímeros obtenidos de jaiba como los comerciales se sometieron a una hidrólisis ácida con HCl, a diferentes temperaturas y proporciones polímero:ácido, para la obtención de glucosamina hidrociorada (GlcHCl). Las fracciones líquidas, que permanecieron en la solución ácida, fueron posteriormente precipitadas. Al final los polvos se analizaron por HPLC y FT-IR.

La quitina y el quitosano obtenidos de jaiba fueron de mayor pureza comparados con los polímeros comerciales, ya que el procesamiento químico al que se sometieron permitió extraer compuestos con mayor grado de pureza, removiéndose en mayor cantidad la materia orgánica. Los rendimientos de quitina y quitosano fueron de 16 y 9%, respectivamente, ambos con peso molecular medio y con un grado de desacetilación alrededor del 14% para las quitinas y aproximadamente del 89% para los quitosanos.

La hidrólisis ácida de los polímeros quitinosos permitió obtener mayores concentraciones de GlcHCl en la quitina y quitosano de jaiba que en los polímeros de grado comercial, oscilando las concentraciones en un rango de 0.1-0.6 mg/ml a 70°C.

# CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	i
CONTENIDO.....	ii
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	3
Generalidades e Importancia de los Crustáceos.....	3
Producción de Crustáceos en México.....	3
Producción de Crustáceos en Sonora.....	4
Generalidades de la Jaiba.....	5
Clasificación y Taxonomía.....	5
Distribución, Hábitat y Abundancia.....	6
Principales Especies.....	6
Producción de Jaiba en México.....	6
Producción de Jaiba en Sonora.....	7
Aprovechamiento del Desecho de Crustáceos.....	7
Métodos de Extracción de Compuestos Quitinosos.....	7
Método químico tradicional.....	7



Método biológico (biotecnológico).....	10
Fermentación ácido-láctica.....	10
Ensilaje.....	10
Enzimático.....	11
Quitina y Quitosano.....	12
Estructura Química.....	13
Propiedades Fisicoquímicas.....	13
Composición químico proximal.....	15
Peso molecular.....	16
Viscosidad.....	16
Grado de desacetilación.....	16
Solubilidad.....	17
Propiedades Funcionales.....	18
Coagulación.....	18
Adsorción y de quelación.....	19
Actividad antimicrobiana.....	19
Aplicaciones.....	19
Quitooligómeros.....	23
Generalidades.....	23
Obtención.....	24

Depolimerización química.....	25
Depolimerización física.....	25
Depolimerización enzimática.....	25
Propiedades.....	26
Aplicaciones.....	26
Glucosamina.....	27
Estructura Química.....	28
Importancia.....	28
Producción a Nivel Industrial.....	29
Factores que afectan la obtención de glucosamina.....	29
JUSTIFICACIÓN.....	31
HIPÓTESIS.....	32
OBJETIVO GENERAL.....	32
Objetivos Particulares.....	32
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
Etapa 1: Obtención y Caracterización de los Polímeros Quitinosos.	34
Obtención de Quitina.....	34
Obtención de Quitosano.....	35
Análisis de Rendimientos de Quitina Quitosano.....	35
Caracterización Fisicoquímica de Quitina y Quitosano.....	35

Determinación del Contenido de Cenizas.....	36
Determinación de Proteínas Totales.....	36
Determinación del Grado de Desacetilación.....	36
Determinación del Peso Molecular.....	37
Peso molecular promedio de la quitina.....	37
Método Dimetilacetamida/cloruro de Litio.....	37
Método con NaOH.....	38
Peso molecular promedio de quitosano.....	38
Etapa 2.Obtención y Análisis de Glucosamina Hidroclorada (GlcHCl)	
a Partir de los Polímeros Quitinosos.....	39
Hidrólisis Ácida de Quitina y Quitosano.....	39
Preparación de la Muestra para la Cuantificación por HPLC.....	39
Cuantificación de Glucosamina por HPLC (Método INA).....	40
Análisis por FT-IR.....	41
Diseño de Experimentos.....	41
Análisis Estadístico.....	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
Etapa 1. Obtención y Caracterización de los Polímeros Quitinosos.	43
Análisis Proximal del desecho seco de Jaiba.....	43
Análisis de Rendimientos.....	44
Caracterización Fisicoquímica.....	45

Análisis Proximal de Quitinas.....	45
Análisis Proximal de Quitosanos.....	45
Determinación del Grado de Desacetilación.....	48
Determinación del Peso Molecular Promedio de Quitina.	49
Determinación del Peso Molecular Promedio de Quitosano.	51
Etapa 2. Obtención y Análisis de Glucosamina Hidroclorada (GlcHCl) a Partir de los Polímeros Quitinosos.....	52
Hidrólisis Ácida de Quitinas.....	52
Cuantificación por HPLC de Hidrolizados de Quitinas..	55
Hidrólisis Ácida de Quitosanos.....	57
Cuantificación por HPLC de Hidrolizados de Quitosanos	59
Análisis por FT-IR.....	63
CONCLUSIONES.....	71
RECOMENDACIONES.....	72
BIBLIOGRAFIA.....	73
ANEXOS.....	82
Trabajos presentados y publicaciones relacionadas con la tesis.....	101



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág</b>
Tabla 1	Análisis proximal del desecho de jaiba..... 43
Tabla 2	Rendimientos de quitina y quitosano en base al desecho inicial seco..... 44
Tabla 3	Cuantificación del contenido de ceniza y proteína residual de quitinas.... 46
Tabla 4	Cuantificación del contenido de ceniza y proteína residual de quitosanos..... 46
Tabla 5	Porcentaje de desacetilación de quitinas y quitosanos..... 48
Tabla 6	Peso molecular promedio de las quitinas..... 50
Tabla 7	Peso molecular promedio de quitosanos..... 51
Tabla 8	Concentración y Pureza de GlcHCl obtenida en hidrolizados de quitinas de jaiba y comerciales..... 56
Tabla 9	Concentración y Pureza de GlcHCl obtenida en hidrolizados de quitosanos de jaiba y comerciales..... 61

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1	Procesamiento químico del desecho de crustáceos para la obtención de productos quitinosos..... 8
Figura 2	Estructura química de A) celulosa, B) quitina y C) quitosano..... 14
Figura 3	Posibles productos de la depolimerización de quitina..... 24
Figura 4	Estructuras químicas de hidrocloreuro de glucosamina y sulfato de glucosamina..... 27
Figura 5	Estructura química de (A) Glucosa, (B) D-glucosamina y (C) N-acetilglucosamina..... 28
Figura 6	Diagrama general de actividades..... 33
Figura 7	Efecto de la proporción polímero/ácido a 50°C en la hidrólisis de quitinas..... 54
Figura 8	Efecto de la proporción polímero/ácido a 70°C en la hidrólisis de quitinas..... 54
Figura 9	Cromatogramas de GlcHCl obtenidos de los hidrolizados de quitina de jaiba y comercial por análisis de HPLC..... 55
Figura 10	Efecto de la proporción polímero: ácido a 50°C en la hidrólisis de quitosanos..... 57
Figura 11	Efecto de la proporción polímero: ácido a 70°C en la hidrólisis de quitosanos..... 58
Figura 12	Cromatogramas de GlcHCl obtenidos de los hidrolizados de quitosanos de jaiba y comercial por análisis de HPLC..... 60
Figura 13	Precipitado de la fracción líquida de la hidrólisis de quitosanos a 50°C..... 62

Figura 14	Precipitado de la fracción líquida de la hidrólisis de quitosanos a 70°C.....	63
Figura 15	Espectro de infrarrojo de GlcHCl comercial.....	64
Figura 16	Hidrolizado de quitina de jaiba en proporción 1:50 polímero: ácido.....	66
Figura 17	Hidrolizado de quitina comercial en proporción 1:50 polímero: ácido.....	66
Figura 18	Hidrolizado de quitosano de jaiba en proporción 1:20 polímero: ácido.....	67
Figura 19	Hidrolizado de quitosano comercial en proporción 1:20 polímero: ácido.....	67
Figura 20	Precipitado del hidrolizado de quitosano de jaiba en proporción 1:37 polímero: ácido.....	68
Figura 21	Precipitado del hidrolizado de quitosano comercial en proporción 1:20 polímero: ácido.....	69
Figura 22	Espectro de infrarrojo A) GlcHCl y B) GlcHCl con pastillas de KBr.....	70



# INTRODUCCIÓN

Actualmente, el estado de Sonora es uno de los principales productores de crustáceos a nivel nacional, dentro de los que destacan la jaiba y el camarón y, por ende, es uno de los principales generadores de desechos contaminantes (vísceras y exoesqueleto), los cuales contienen del 30-40% de proteínas, 30-50% de carbonato de calcio y 20-30% de quitina, principalmente (Archer, 2008). Por tal motivo, hoy en día se buscan alternativas viables tanto químicas como biológicas, para extraer los componentes de interés comercial y darle un valor agregado.

El uso de tratamientos biológicos, tienen la ventaja de la extender la vida de anaquel del desecho, y poder así obtener compuestos de alto valor comercial como quitina y el quitosano (Peniche, 2006). Ambos polímeros se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en la cutícula de insectos, paredes celulares de hongos y caparazones de crustáceos, constituyendo los últimos la fuente más importante a nivel comercial (Larez, 2008).

Otros compuestos quitinosos de gran importancia son los quitoooligómeros, compuestos derivados de la depolimerización de la quitina, los cuales se pueden obtener de diferentes tamaños (monómeros, dímeros, trímeros, tetrameros, etc.), dependiendo del tratamiento y las condiciones de reacción (Muzarelli, 1994). Uno de los más importantes en los últimos años por su amplia aplicación en la industria farmacéutica es la glucosamina, la cual se encuentra dentro del cuerpo humano en el líquido sinovial, también interviene en la producción de colágeno y proteoglicanos, dos constituyentes necesarios para el mantenimiento y restauración del cartílago articular (Zerkak, y col., 2004). La glucosamina se ha convertido en un popular suplemento debido a su alto rango de aplicaciones, desde osteoartritis hasta alteraciones articulares producidas por la edad o el ejercicio físico, de ahí el gran interés por extraer dichos compuestos, así como de encontrar aplicaciones potenciales de los compuestos recuperados (Koryagin y col., 2006).



Por otro lado, en el estado de Sonora no se cuenta con plantas de tratamiento de desecho de crustáceos, lo contrario permitiría el aprovechamiento integral del mismo, favoreciendo a los sectores ligados a la captura, cultivo y comercialización, coadyuvando a reducir la contaminación ambiental ocasionada, y como parte de un proyecto integral es que en éste trabajo se buscó establecer una metodología sencilla para tratar el desecho de crustáceos generado durante la obtención de productos como la jaiba y producir compuestos de alto valor agregado, tales como la glucosamina.

# ANTECEDENTES

## Generalidades e Importancia de los Crustáceos

Los crustáceos son animales que pertenecen a los artrópodos, caracterizados por tener sus patas formadas por segmentos articulados y presentar el cuerpo protegido por una cubierta gruesa de quitina (a lo que deben su nombre), la cual necesitan cambiar o mudar para poder crecer (Zúñiga, 2002).

Viven en aguas marinas, salobres y dulces, distribuidos en todo el mundo, y muchas especies como los camarones, las langostas, los cangrejos, los percebes y los langostinos, son explotadas comercialmente y forman parte de la alimentación humana, siendo en muchos países la base de su economía pesquera debido a los altos costos que estos organismos han alcanzado en los mercados internacionales (Lee, 1996).

En la actualidad, la captura de algunos de estos crustáceos, como los camarones y las langostas, se ha convertido en una actividad cara y complicada. Incluso la pesca de crustáceos puede tener impacto ambiental considerable cuando se utilizan redes de arrastre. Por esto, su cultivo se presenta como una magnífica alternativa que permite incrementar las poblaciones y hacer más racional la explotación de estos recursos (Rosas, 2002).

La producción mundial de crustáceos se ha incrementado enormemente en los últimos años (Peña-Messina, 2009), y con ella, la generación de desechos contaminantes como vísceras y exoesqueleto. Los residuos de crustáceos contienen principalmente del 30-40% de proteínas, 30-50% de carbonato de calcio y 20-30% de quitina. Estas proporciones varían según la especie, alimentación y temporada de captura (Healy col., 1994).

### **Producción de Crustáceos en México.**

La República Mexicana posee 11,592.77 km de litoral, de los cuales 8,475.06 km corresponden al litoral del Pacífico. Por la ubicación geográfica del país, sus aguas



ofrecen medios muy diversos para el desarrollo de distintas especies de organismos acuáticos debido a la variabilidad de climas y condiciones ecológicas, la cual es mayor en las aguas marinas; esto permite que en los mares de México se encuentren especies de climas templado, cálido y frío, de fondo y superficie, costeras y de alta mar, regionales y migratorias, y de todas las transiciones entre estos tipos extremos. En cuanto a crustáceos se refiere, México ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en producción de crustáceos, principalmente camarón, langosta y jaiba, siendo el Estado de Sonora el principal productor a nivel nacional (NOM-039-PESC., 2005).

### **Producción de Crustáceos en Sonora.**

Teniendo el litoral como área susceptible para la acuicultura, donde existen 51,700 ha de lagunas litorales, esta actividad se ha desarrollado de manera integral, esencialmente el cultivo de camarón, más que en ninguna otra región de México. En ambas actividades, pesca y acuicultura, Sonora es líder al aportar el 58% de la producción nacional de productos marinos y acuícolas, lo que representa más de 700,000 ton con un valor superior a los 4 mil 300 millones de pesos (COSAES, 2009). Lo anterior ubica a esta actividad como uno de los sectores económicos más importantes en la Entidad federativa. El procesado industrial genera gran cantidad de desechos, principalmente las cabezas y caparazones, los cuales contienen compuestos de gran interés económico, como quitina, proteína, pigmentos carotenoides como la astaxantina y calcio; esta cantidad de desechos constituye un contaminante potencialmente peligroso debido a su alta carga orgánica, que lo hace altamente perecedero (Goycoolea y col., 2004).

Por otro lado, la jaiba es otro crustáceo que se tiene en el Estado, aunque en menor proporción. No obstante, de manera similar al camarón, también genera desechos que contienen menor cantidad de proteína y una gran cantidad de sales minerales de calcio y fósforo, tales como cloruros, carbonatos y acetatos, los cuales los hacen ser más estable a temperatura ambiente. De aquí la importancia

de su estudio, ya que es una fuente con alto valor comercial desde el punto de vista de su composición química (Rosas-Correa, 2008).

## Generalidades de Jaiba

El nombre científico *Callinectes* se deriva del latín, *Calli*, hermosa y *nectes* nadador, la traducción literal sería “hermoso nadador”. De las especies de jaiba la más predominante en las costas mexicanas es la jaiba azul (*Callinectes arcuatus*) también conocida como jaiba cuata. En cuanto a su distribución, se localiza desde la Baja California hasta Ecuador, siendo recurso ideal para la producción de jaiba de concha suave (Ramírez-Félix y col., 2003).

Son organismos independientes de los sistemas lagunarios, con un ciclo de vida complejo, ya que comprende estadíos planctónicos, nectónicos y bentónicos, los cuales se llevan a cabo entre los sistemas lagunarios y cerca de la zona marina de los mismos, en una gran variedad de hábitats. Las jaibas son de los macroinvertebrados más abundantes en dichos sistemas y soportan pesquerías comerciales y domésticas importantes en el Pacífico Mexicano. Tienen un papel primordial en la cadena trófica, son presa de muchas especies y es un voraz depredador de otras (Ramírez-Félix y col., 2003).

### Clasificación y Taxonomía.

Las jaibas son cangrejos de la familia Portunidae (Crustácea: Decápoda), que se distinguen de otros crustáceos por presentar un caparazón ancho, aplastado dorsalmente, que pertenecen al género *Callinectes*. La familia Portunidae se caracteriza por la forma aplanada de los últimos dos segmentos del último par de patas (el quinto), modificación que proporciona a estos cangrejos la facultad de desplazarse nadando, razón por la cual se llama a los miembros de la familia Portunidae “los cangrejos nadadores” (Brusca, 1980).



### **Distribución, Hábitat y Abundancia.**

La abundancia de las poblaciones de jaiba puede fluctuar drásticamente cada año. Son organismos con estrategia de selección reproductiva del tipo "r", misma que se caracteriza por producir una gran cantidad de organismos jóvenes, tener un crecimiento rápido, alcanzar su madurez sexual tempranamente, tener altas tasas de mortalidad y una duración de vida corta. Dichas especies presentan grandes fluctuaciones interanuales en su abundancia debido a factores ambientales. La época registrada de mayor abundancia de jaiba ocurre en el verano y para el estado de Sonora es en el mes de Agosto (Montemayor-López y col., 2003).

### **Principales Especies.**

Tres especies de jaibas del género *Callinectes*, *C. arcuatus*, *C. bellicosus* y *C. toxotes*, se encuentran presentes en las costas del pacífico americano y constituyen un recurso económico importante, debido a la fuente alimenticia, la participación pesquera en la diversificación de la actividad y el empleo (Ramírez-Félix y col., 2003).

### **Producción de Jaiba en México.**

En México, la captura de jaiba ha mostrado un gradual incremento (Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2007), produciéndose 26,127 ton del peso vivo, de las cuales 15,928 ton corresponden al Pacífico Mexicano, donde los principales productores son Sonora (37%) y Sinaloa (82%) mientras que el Golfo y el Mar Caribe aportan el 63%, destacándose las producciones conjuntas de Veracruz, Tamaulipas y Campeche con el 88.6% (SAGARPA, 2009).

### **Producción de Jaiba en Sonora.**

Como ya se mencionó, Sonora y Sinaloa son los principales productores de crustáceos marinos del Pacífico Mexicano, por lo tanto también son de los principales generadores de desperdicios anuales en la región. Para el caso específico de Sonora, la producción de jaiba es muy variable año con año ya que

en algunas ocasiones es muy favorable y en otras la producción es muy baja, dependiendo de las condiciones climáticas. Aún así su aporte económico es importante, tan solo en el 2009 la producción de este organismo generó 26,434 mil pesos (SAGARPA-SAGARHPA-OEIDRUS, 2009).

## **Aprovechamiento del Desecho de Crustáceos**

Dependiendo de la especie de crustáceo, aproximadamente del 20-65% del organismo es comestible y del 35-80% se considera como desecho, que en su conjunto suman un valor considerable, por lo que si no es aprovechado puede ocasionar graves problemas de contaminación ambiental (Grimmett y col., 2006). Estos desechos están constituidos principalmente de quitina, proteínas, pigmentos y calcio. Aunque estos compuestos se encuentran asociados, pueden ser separados utilizando métodos químicos promoviendo éstos la eliminación de materia orgánica, favoreciendo la obtención de productos en específico con alto contenido de pureza (Healy y col., 2003).

### **Métodos de Extracción de Compuestos Quitinosos.**

El método de procesamiento para la obtención de compuestos quitinosos depende de la fuente de desecho y, por consiguiente, las características fisicoquímicas de los productos obtenidos también serán diferentes e influirán en sus propiedades funcionales.

#### Método químico tradicional.

En el proceso químico (Figura 1), los exoesqueletos de los crustáceos normalmente son tratados con soluciones de NaOH (1-10%) a temperaturas entre los 65 y 100°C durante un periodo de 1 a 24 horas (Saavedra y col., 1998). El contenido mineral de los residuos de los crustáceos oscila entre 30 y 50% y está constituido principalmente por carbonato de calcio y en menor proporción por fosfato de calcio.





**Figura 1.** Procesamiento químico del desecho de crustáceos para la obtención de productos quitinosos. (Fuente: Lárez, 2006).

La eliminación del carbonato de calcio se realiza por tratamiento ácido con soluciones diluidas de HCl, aunque también se han utilizado otros ácidos como H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, HNO<sub>3</sub> y CH<sub>3</sub>COOH (Percot y col., 2003). Además, los exoesqueletos de crustáceos contienen pigmentos que pueden ser recuperados. La mayor parte de los pigmentos presentes son astacina, astaxantina, cantaxantina, luteína y el β-caroteno.

Tras la desmineralización con tratamientos ácidos estos pigmentos pueden ser separados mediante extracciones con etanol, éter, acetona y cloroformo. El empleo de ácido acético al 50% en caliente puede desmineralizar las cáscaras y extraer los carotenoides al mismo tiempo. Otra opción para realizar la decoloración sería emplear agentes blanqueadores como  $H_2O_2$  al 0.5-3% (v/v) o NaClO al 0,32% (p/v) (Chebotok y col., 2006).

La obtención del quitosano se produce por desacetilación de la quitina. El proceso químico se puede llevar a cabo de dos formas, homogéneo y heterogéneo. La desacetilación homogénea comienza con un pre-tratamiento de hinchamiento y la eventual disolución completa de la quitina en frío mediante la utilización de una relación de quitina a NaOH (p/p) de 1:10 (Einbú, y col., 2004).

Luego se somete a desacetilación a temperaturas cercanas a la del ambiente, es decir 24-25°C durante períodos de tiempo de 7 días. Esto permite que la reacción no se localice en determinados lugares de la cadena y que el ataque a los grupos amida sea más uniforme.

La desacetilación heterogénea, en algunos casos, se lleva a cabo en soluciones acuosas concentradas de bases como NaOH o KOH, bajo condiciones severas (100-160°C). Las condiciones en las que se lleva a cabo la desacetilación heterogénea permite reducir la longitud de la cadena; por este motivo es conveniente repetir varias veces el tratamiento alcalino por cortos periodos de tiempo, aislando el producto en cada etapa (Galed y col., 2005).

Industrialmente, la quitina se utiliza como materia prima para la producción de quitosano y de glucosamina, mediante la hidrólisis ácida de la quitina en ácidos concentrados como el ácido clorhídrico y el ácido sulfúrico, a temperaturas elevadas. Esta hidrólisis de la quitina con ácido concentrado se lleva a cabo en 3 pasos:

- (1) La degradación de los polisacáridos poliméricos en unidades más pequeñas.
- (2) La producción de N-acetilglucosamina de estas unidades más pequeñas.



- (3) La conversión de la N-acetilglucosamina en glucosamina y ácido acético (Mojarrad y col., 2007).

El método químico tiene a su favor que es rápido y práctico, es por eso que es el más utilizado por la industria. Además es menos costoso que los métodos biológicos (Gimeno y col., 2007). Las desventajas de este método es la gran cantidad de reactivos que utiliza, por ende, produce una gran cantidad de efluentes (Hernández, 2004).

En general los procesos que se utilizan para el aprovechamiento de los desechos, sobre todo el método químico, donde se utilizan grandes cantidades de reactivos como HCl, NaOH, NaClO, etanol y cloroformo, arrojan grandes cantidades de efluentes ácidos y básicos, además el agua de lavado de la muestra cruda inicial (Tharanathan y Kittur, 2003). Para hacer del proceso un sistema integrado que permita hacer más factible la implementación del proceso de aprovechamiento de los desechos biológicos que se generan en una zona determinada, estos efluentes tienen que ser tratados para su posterior liberación al ambiente.

#### Método biológico (biotecnológico).

*Fermentación ácido-láctica.* Consiste en una fermentación bacteriana, para lo cual se mezcla el material con azúcares fermentables que favorecen el crecimiento de bacterias ácido-lácticas. Estas bacterias pueden estar naturalmente presentes en el material o bien, pueden pertenecer a un cultivo iniciador. Las bacterias ácido lácticas producen ácidos y antibióticos, los cuales destruyen bacterias dañinas. El azúcar proporciona un efecto conservador durante las etapas iniciales de la fermentación, suprimiendo la producción bacteriana de enzimas que liberan amonio a partir de aminoácidos. Durante este proceso, el ácido generado usualmente es ácido láctico, es por ello que se le denomina fermentación ácido láctica (Khanafari y col., 2008).

*Ensilaje.* Se obtienen al añadir ácidos, ya sean orgánicos o inorgánicos, con el fin de bajar el pH lo suficiente para prevenir el deterioro por microorganismos.

Durante el ensilado el desecho es degradado por los ácidos añadidos. Cuando el ensilado se prepara con ácidos orgánicos puede ser directamente usado para la alimentación animal, por lo que debe ser neutralizado antes de utilizarse (Plascencia-Jatomea, 2000).

*Enzimático.* Consiste en la utilización de enzimas comerciales inespecíficas como celulasas, glucanasas, pectinasas, lipasas y proteasas. Entre las proteasas podemos destacar a la papaína, una proteasa particularmente atractiva debido a su origen vegetal. El proceso enzimático consiste en la digestión enzimática o fermentación con bacterias proteolíticas con actividad no quitinolítica, por ejemplo, *Pseudomonas maltophilia* (Novikov, 2006).

Las quitinasas son endo- $\beta$ -1,4-N acetilglucosaminidasas que hidrolizan los enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos de quitinas, quitodextrinas y quitosanos parcialmente acetilados de forma aleatoria. Están presentes en hongos, insectos, algunas bacterias y en plantas superiores. Las bacterias producen quitinasas para digerir la quitina y utilizarla como fuente de carbono y energía mientras que en las plantas, las quitinasas están involucradas en mecanismos de defensa frente a patógenos que contienen quitina (Rabea y col., 2005).

La quitina desacetilasa es el enzima que cataliza la conversión de quitina a quitosano por la desacetilación de los residuos N-acetil-D-glucosamina. La limitación de este método es que la enzima no es muy efectiva en la desacetilación de quitina insoluble y por lo tanto es necesario un pretratamiento (Ramírez y col., 2000).

El quitosano es hidrolizado principalmente por las quitosanasas. Las cuales catalizan la degradación del quitosano parcialmente acetilado de forma endohidrolítica. La capacidad para hidrolizar quitosanos con diferente grado de desacetilación depende del microorganismo que produce la quitosanasas. En función de la especificidad del sustrato las quitosanasas microbianas se pueden dividir en dos grupos I y II. Las que pertenecen al grupo I sólo pueden hidrolizar quitosano, mientras que las que pertenecen al grupo II pueden hidrolizar quitosano y carboximetilcelulosa (Ramírez y col., 2006).



El quitosano también se puede degradar con enzimas comerciales inespecíficas, como celulasas, glucanasas, pectinasas, lipasas y proteasas. Otra proteasa que hidroliza de forma eficiente el quitosano es la pronasa, una serina proteasa obtenida a partir de *Streptomyces griseus*, obteniéndose quitosano de bajo peso molecular, oligómeros y monómeros. La máxima despolimerización con pronasa tiene lugar a pH 3.5 y 37°C (Sánchez y col., 2007).

Este proceso disminuye la degradación química de la quitina; además es respetuoso con el medio ambiente, sin embargo no se consigue la eliminación de toda la proteína. La principal ventaja de este método respecto al método químico es la obtención de un material uniforme en sus propiedades físicas y químicas, hecho muy apreciado para aplicaciones biomédicas (Healy y col., 2003).

Uno de los aspectos negativos de las quitinasas y quitosanasas, es que no están disponibles para aplicarlas a escala industrial, además su costo es muy elevado.

## Quitina y Quitosano

Durante las últimas décadas, los compuestos quitinosos han despertado un interés notable en vista de la diversidad de propuestas novedosas acerca de sus aplicaciones. Se caracterizan por ser naturales, no tóxicos y de bajo impacto ambiental e inocuidad, además se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en los caparazones de insectos, paredes celulares de microorganismos como hongos y levaduras, y en crustáceos (Dutta y col., 2004).

La quitina, cuya estructura fundamental está basada en aminoazúcares, constituye el segundo polímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Cabe mencionar que es el principal constituyente del exoesqueleto de insectos, crustáceos y arácnidos, aunque se encuentra también en hongos comestibles (setas), levaduras, coral, zooplancton, mariposas, algas y hongos (Nicol y col., 1993).

Cuando la quitina se desacetila se produce el quitosano, un biopolímero biodegradable, no tóxico y biocompatible para humanos y para la mayoría de los

animales, además posee propiedades antimicrobianas contra diversos microorganismos, tanto en solución como en películas recubiertas. En adición, el quitosano es reconocido por la FDA como un producto GRAS (Generally Regarded As Safe) (No. GRN 000073 y GRN 000170) y por lo tanto está aceptado para su uso en alimentos (FDA, 2001; 2005).

La presencia de grupos aminos en la cadena polimérica (polímero catiónico), ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se estudian en la actualidad, debido a la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones tales como las reacciones de anclaje de enzimas, reacciones de injerto, obtención de películas biodegradables, etc., de las cuales se obtienen materiales con propiedades adecuadas y aplicaciones potenciales.

### **Estructura Química.**

La estructura molecular de la quitina (Figura 2) presenta similitudes con la de la celulosa; la diferencia entre sus cadenas radica en el segundo carbono, el cual presenta un grupo acetamida en la quitina y un grupo hidroxilo en la celulosa (Abram, 2004). Básicamente la quitina es un polímero de cadena lineal formado por poli [B-(1-4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosas], con un peso molecular alto (Kato y col., 2003).

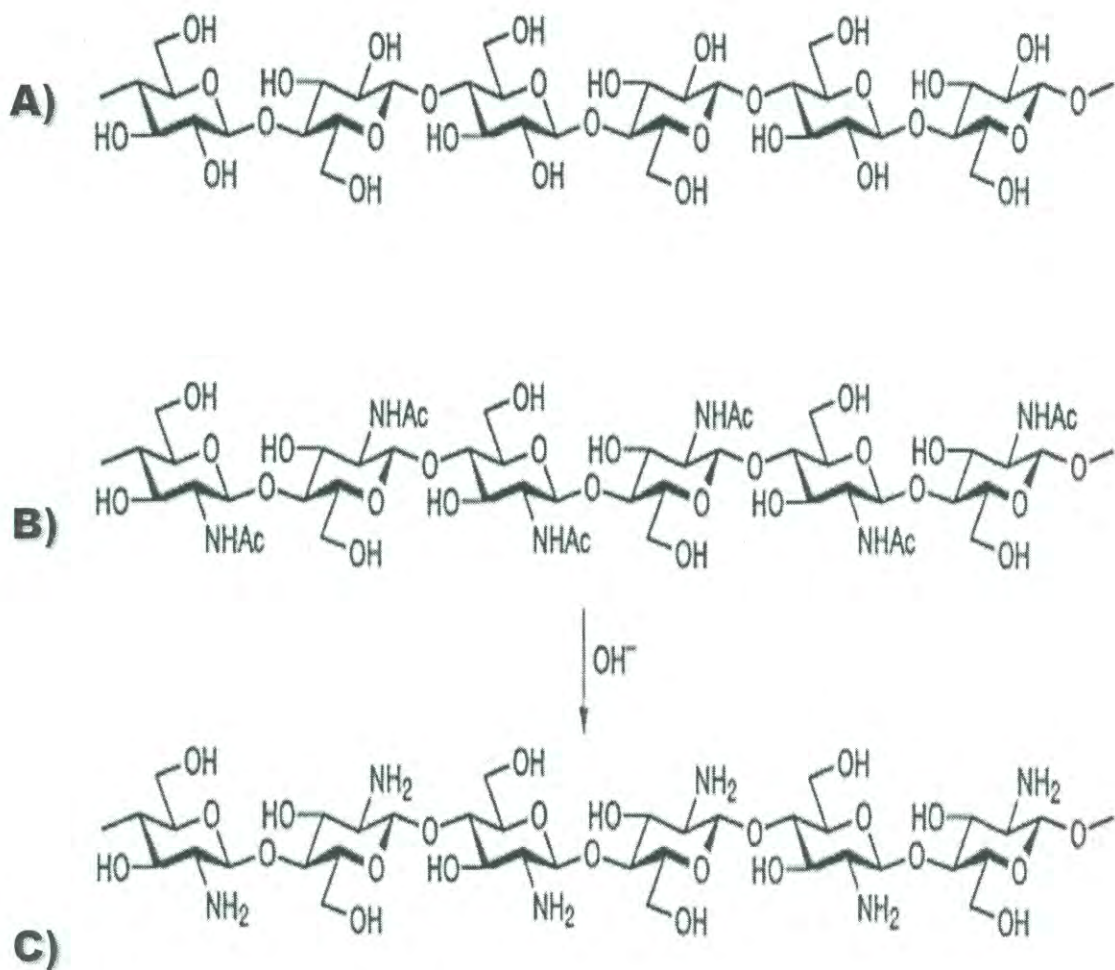
Por otra parte, el quitosano (Figura 2) es el producto parcialmente desacetilado de la quitina. Es un polisacárido catiónico lineal compuesto por unidades de  $\beta$ -(1-4)-2-desoxi-2-amino-D-glucopiranosas (D-glucosamina) y  $\beta$ -(1-4)-2-desoxi-2-acetoamido-D-glucopiranosas (N-acetil-D-glucosamina) (Sastre y col., 2004); presenta una configuración tridimensional helicoidal estabilizada mediante enlaces de puente de hidrógeno (Xu y col., 2008).

### **Propiedades Fisicoquímicas.**

A diferencia de la quitina que es prácticamente insoluble, el quitosano es soluble en soluciones diluidas de ácidos orgánicos e inorgánicos, insoluble en solventes orgánicos y a concentraciones de ión hidrógeno por arriba de pH de 6.5. Ambos se



pueden caracterizar en cuanto a su calidad mediante la medición de sus propiedades intrínsecas tales como pureza, forma física, peso molecular, viscosidad y grado de desacetilación. Podemos decir que estas últimas 3 son las características más importantes de los productos quitinosos. La calidad varía en función del proceso que se utiliza para su extracción y su posterior refinamiento. (Arguelles y col., 2004).



**Figura 2.** Estructura química de A) celulosa, B) quitina y C) quitosano. (Fuente: Kurita, 2001).

### Composición químico proximal.

La calidad de la quitina y quitosano, es el parámetro que hay que tomar en cuenta y para lograrlo es necesario que tenga una buena pureza, y esto va a depender del proceso de obtención que se haya empleado y las condiciones de reacción. Durante la desproteinización se debe tomar en cuenta la optimización de las condiciones de velocidad de agitación para reducir el efecto de la formación de espuma característica de las proteínas y para mejorar la reacción entre la fase líquida y la sólida (Goycoolea y col., 2004; Peniche, 2006).

Es necesario señalar que cuando la extracción de proteínas se efectúa en condiciones operativas severas para asegurar su remoción completa, éstas sufren modificaciones químicas sustanciales. El aumento en la concentración del reactivo, la temperatura, o la prolongación del tiempo de reacción, no sólo produce la ruptura de los enlaces entre proteínas y quitina, sino que las proteínas sufren una sustancial hidrólisis de su estructura, lo que genera cadenas de poli-péptidos de bajos pesos moleculares (Goycoolea y col., 2004).

El carbonato de calcio se hace presente mayoritariamente como calcita en condiciones cristalinas, y la remoción de ésta se realiza por tratamientos con ácidos como HCl, HNO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>COOH y HCOOH, aunque habitualmente se lleva a cabo con soluciones diluidas de HCl a temperatura ambiente (Peniche, 2006).

Un aspecto importante en esta etapa es que la cantidad de ácido sea igual o ligeramente superior a la estequiométrica necesaria para asegurar que se complete la reacción. El lavado de los productos en cada una de las etapas también es de suma importancia ya que de no hacerse correctamente, propiciará el rompimiento de la cadena polimérica de la quitina.

Otra causa es el remanente de NaOH o HCl en cualquiera de las etapas, que puede afectar el desarrollo de la etapa subsiguiente debido a que una parte del ácido o de la base se utilizaría para neutralizar el remanente anterior, afectando la eficiencia del procesamiento (Goycoolea y col., 2004).



### Peso molecular.

La mayoría de los quitosanos comerciales tienen un grado de desacetilación mayor del 70% y un peso molecular que se extiende entre 100 y 1500 KDa (Beaulieu, 2005). El peso molecular es otro de los parámetros importantes y se puede determinar por métodos como cromatografía, dispersión de luz y viscometría (Argüelles y col., 2004; Vilches y col., 2005).

La viscometría es un método simple y rápido para la determinación del peso molecular y se basa en el estudio de la viscosidad intrínseca de una solución del polímero, la cual posteriormente se relaciona con el peso molecular del mismo según la ecuación de Mark-Houwink (Argüelles y col., 2004; Vilches y col., 2005):

$$[\eta] = KM_v^\alpha$$

Donde:

**M<sub>v</sub>**: Es el peso molecular promedio viscosimétrico

**K y α**: Son dos constantes que dependen de la naturaleza del polímero, del sistema disolvente utilizado y de la temperatura

**[η]**: Es la viscosidad intrínseca.

### Viscosidad.

Debido a su alto peso molecular y a su estructura lineal no ramificada, el quitosano es un potente agente espesante en medio ácido y se comporta como un material pseudoplástico, cuya viscosidad depende de la agitación. La viscosidad de las soluciones aumenta al incrementar la concentración de éste, mientras que disminuye al elevar la temperatura y el grado de desacetilación del producto (No y col., 2003).

### Grado de desacetilación.

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano; sin embargo, cuando la desacetilación del material de partida es incompleta, se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades (1-4)- 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y (1-4)-



2-amino-2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y ésta genera quitosanos con distintas propiedades. La diferencia en dichas propiedades puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso (Hiwang y col., 2002).

El grado de desacetilación del quitosano es una de las características químicas más importantes que influyen su funcionamiento en varias aplicaciones (Muzzarelli, 1977; Baxter y col., 1992). Además, revela el contenido de grupos amino libres en los polisacáridos (Li y col., 1992; Nadarajah, 2005) y es un parámetro que se puede utilizar para distinguir entre la quitina y quitosano.

Las variables como temperatura y concentración de la solución de NaOH o el tamaño de partícula, afectan el retiro de los grupos acetilo de la quitina. A su vez, la densidad y la porosidad de la quitina son factores que afectan la velocidad de penetración del álcali en las regiones amorfas y en cierta medida las regiones cristalinas del polímero, dando como resultado una gama de moléculas de quitosano con diversas características y por lo tanto también varían sus usos (Baxter y col., 1992).

### Solubilidad.

Durante un largo tiempo, la quitina se ha considerado como un polímero intratable y los estudios de las propiedades de sus soluciones han sido muy limitados. Lo anterior se debe a la escasa solubilidad de la quitina en la mayoría de los solventes conocidos sin que se produzca una degradación apreciable que haga posible sus estudios. La quitina es incluso insoluble en aquellos sistemas de solventes típicos para la celulosa, a pesar de las similitudes estructurales entre ambos compuestos (Pastor de Abraham y col., 2004).

La quitina es altamente hidrofóbica y insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos. Es soluble en hexafluoroisopropanol, hexafluoroacetona, y cloroalcoholes en conjunto con aquellas soluciones de ácidos minerales y dimetilacetamida (DMAc) conteniendo cloruro de litio (LiCl) al 5% (Dutta y col., 2004). La quitina parcialmente desacetilada con cerca de 50% de desacetilación

preparada en condiciones homogéneas es soluble en agua. Sin embargo, se muestra parcialmente soluble en agua a temperatura ambiente, dejando geles transparentes y muy hinchados, por lo que es necesario para tratar la muestra con hielo triturado para la disolución completa (Kurita, 2001).

En cambio, la presencia de grupos amino en la molécula del quitosano, convierte a este polímero en un polielectrolito catiónico natural con un pKa de alrededor de 6.5, lo que le confiere propiedades muy particulares. Además la presencia de los grupos amino e hidroxilo permite su modificación química fácilmente (Krajewska, 2001).

El quitosano es insoluble en los solventes orgánicos o el agua. Sin embargo, es soluble en ácidos acuosos debido a la presencia de grupos amino libres. Los ácidos orgánicos como el ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, ácido pirúvico, y el ácido oxálico son utilizados frecuentemente para disolver a este polímero. Los ácidos minerales tales como el ácidos clorhídrico y el ácido nítrico también producen soluciones de quitosano y son los más adecuados (Park y col., 2002).

### **Propiedades Funcionales.**

La mayoría de los polisacáridos de origen natural, como por ejemplo la pectina, agar, agarosa y carragenina son ácidos en la naturaleza, mientras que la quitina y el quitosano son polisacáridos básicos. Entre sus propiedades se incluyen la habilidad para formar películas, quelantes de metales, además de características como emulsificantes, espesantes y gelificantes (Larez, 2008).

#### Coagulación.

El quitosano es un polímero policatión eficaz en la coagulación y la deshidratación de lodos activados utilizados en el tratamiento de aguas residuales. Las plantas de aguas residuales derivadas del procesamiento de alimentos pueden ser floculadas con quitosano, y el proceso es de importancia práctica para la recuperación de las proteínas y fabricación de alimento para el ganado (Thome y col., 1997).



### Adsorción y de quelación.

El quitosano puede absorber los colorantes, hidrocarburos aromáticos y las proteínas. También adsorben cationes metálicos tales como el cobre, mercurio, cadmio, hierro, manganeso, níquel, zinc, plomo y plata, aunque el quitosano presenta mayor afinidad por los grupos amino libres (Muzarelli, 1973; Roberts, 1992). Acumula incluso compuestos organomercuriales altamente tóxicos y es candidato adsorbente para eliminar tóxicos de metales pesados de aguas residuales industriales. La capacidad de adsorber metales está influida notablemente por el grado de acetilación, por lo general, aumenta con una disminución en el contenido de acetilo. Sin embargo, las muestras preparadas por desacetilación de quitina en solución homogénea muestran hasta el 50% de grupos desacetilados. Estos resultados indican que la capacidad de adsorción está influenciada no sólo por el contenido de grupos aminos libres, sino también por hidrofiliidad de la moléculas adsorbente (Kurita y col., 2001).

### Actividad antimicrobiana.

Por otro lado, se ha demostrado que el quitosano posee propiedades antimicrobianas contra diversos microorganismos. Algunos autores han reportado que el grupo amino en la posición del carbono 2 del residuo de glucosamina, es el que le da la característica antimicrobiana al quitosano (Plascencia y col., 2004). Este efecto inhibitorio se ha detectado en una amplia variedad de bacterias, hongos (Serbi y col., 2003), levaduras (Ralston y col., 1964) y virus (Kochkina y col., 1995). La actividad antimicrobiana del quitosano está influenciada por su peso molecular, el grado de desacetilación, la concentración en la solución y el pH del medio (Peniche y col., 2004; Nadarajah, 2005).

### **Aplicaciones.**

La principal aplicación de la quitina y el quitosano han sido en la medicina para acelerar la cicatrización de heridas cortantes y quemaduras. Desde la antigüedad en países como Corea usaban la quitina de plumas de calamar en el tratamiento



de abrasiones, mientras que y en México aplicaban quitosano de hongos para la aceleración de la cicatrización de heridas (Serrano y col., 2007).

En el campo de la biomedicina existen evidencias convincentes de que la quitina y el quitosano pueden ser aplicados sin riesgos tanto en animales como en humanos, ya que ejercen un gran número de acciones beneficiosas cuando el cuerpo humano es afectado por intervenciones quirúrgicas, heridas, quemaduras y úlceras.

Adicionalmente, el quitosano es un producto muy atractivo para el tratamiento específico de las quemaduras ya que puede formar películas resistentes, biocompatibles, hidrofílicas y degradadas naturalmente por enzimas del cuerpo. Estas membranas pueden aplicarse directamente sobre la quemadura dado que presenta propiedades bactericidas (Sashiwa y col., 2001).

Otra ventaja de este tipo de tratamiento es que permite permeabilidad al oxígeno y evita la pérdida de líquidos corporales, previniendo la privación de oxígeno a los tejidos dañados. Como el quitosano es degradado por medio de enzimas del cuerpo, significa que no necesita ser retirado, ya que el gradual crecimiento de los tejidos dañados lo va eliminando.

En la actualidad, entre los usos médicos más sencillos de estos materiales, podemos mencionar: producción de suturas quirúrgicas a partir de quitina, producción de gasas y vendajes tratados con quitosano, cremas bactericidas para el tratamiento de quemaduras, acción como antiácido, reducción de la placa dental por sus propiedades antibacterianas, en la curación de úlceras y lesiones a nivel tópico.

La quitina y el quitosano se utilizan como secuestradores de sales biliares y anticoagulantes, también se considera que podría prevenir enfermedades como el cáncer de colon debido a que, por su efecto benéfico sobre las bacterias intestinales, luego de tomar de 3 a 6 g por día de este polisacárido durante dos semanas se reduce la intensidad de putrefacción intestinal. El quitosano estimula la producción de vitamina K (Desai y col., 2008).



Actualmente el quitosano se está aplicando en el ámbito de los biosensores, especialmente como soporte para la inmovilización de enzimas sensibles a un sustrato específico. Algunos ejemplos son como sensor para glucosa en sangre humana, basado en la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa sobre quitosano, usando adicionalmente azul de Prusia; sensor para la detección de fenoles en aguas de desecho en plantas industriales, basado en la inmovilización de la enzima tirosinasa; sensores basados en la inmovilización de nanopartículas especialmente ordenadas (Rinaudo, 2006).

Gracias a la compatibilidad del quitosano con muchos compuestos orgánicos como surfactantes, almidones, sales de amonio cuaternario, polímeros catiónicos y no iónicos y aniones polivalentes, se pueden formar geles y precipitados. La naturaleza catiónica del polímero permite formar complejos con fármacos o excipientes de carga opuesta, con lo cual se modifican algunas de sus características fisicoquímicas.

Los biopolímeros se han estudiado por su posible papel en la liberación controlada de principios activos por su habilidad para formar geles, pero también, se le ha visto utilidad en formas de dosificación de liberación rápida. Se ha ensayado el polímero con un alto grado de desacetilación, como excipiente para comprimidos, pero esta aplicación es limitada, debido a que no presenta propiedades reológicas y de compresibilidad adecuadas (Vogan y col., 2008).

Otra de las aplicaciones de la quitina y quitosano está en el tratamiento de aguas. Esta área es una de las más importantes debido a que el quitosano y la quitina son sustancias "ambientalmente amigables". Los principales usos son: coagulante primario para aguas residuales con turbidez y alta alcalinidad, floculante para la remoción de partículas coloidales sólidas y aceite de pescado, captura de metales pesados y pesticidas en soluciones acuosas. Algunos copolímeros de injerto del quitosano muestran alta efectividad para remover metales pesados, especialmente los derivados de ácidos alquenodiólicos (Hernández, 2004).

En áreas como la agricultura se ha visto que el recubrimiento de semillas con películas de quitosano, favorece su conservación durante el almacenamiento.



Estos beneficios se han probado en sistemas liberadores de fertilizantes, agente bactericida y fungicida para la protección de plántulas (inicio de las plantaciones). También se han utilizado como tratamiento en postcosecha de frutas y verduras con el fin de aumentar su conservación, protección frente a plagas y hongos, como virucida y estimulante de crecimiento de estos productos (Wu y col., 2005).

Como ya se ha mencionado la aplicación de estos productos es muy amplia, ya que también se usan dentro de la cosmetología, porque pueden fabricar cápsulas para adelgazar, denominadas "atrapa grasas", obtener aditivos bactericidas en jabones, shampoos, cremas de afeitar, cremas para la piel y pasta dental. También como agentes hidratantes para la piel, debido a que sus geles pueden suministrar agua y evitar la resequedad.

Una propiedad del quitosano importante de mencionar, es que forma una película que ayuda a dosificar otros principios activos, por lo que se introduce en cremas humectantes, pues es una molécula que absorbe el agua; en los shampoo se utilizan como ingrediente, ya que desarrolla una película que da protección y brillo al cabello (Xu y col., 2008).

Otra área de importancia es la industria papelera, donde el principal insumo es la celulosa. La función del quitosano es fijar y dar resistencia al papel. Una de sus más prometedoras aplicaciones podría ser como plástico biodegradable, sustituyendo al plástico tradicional derivado del petróleo, que es difícil de degradarse, lo que genera mucha contaminación. Otra función del polímero en esta área es aumentar el rendimiento de la pulpa y retener el agua.

Como material plástico alternativo, el quitosano ya ha sido sometido a pruebas en el laboratorio desarrollándose una película tipo celofán a partir de esta sustancia natural, "una envoltura que incluso podría comerse" (Larez, 2008).

En la Industria textil, el quitosano también es usado para evita el encogimiento de los tejidos y fijar el color; sirven como componentes de fibras que se utilizan en la mejora de lanas y en la impermeabilización de algodones y linos (Peral, 2003).

Por otro lado, en química analítica, se utiliza para las aplicaciones cromatográficas, intercambiadores de iones, absorción de iones de metales



pesados y absorción de ácidos, fabricación de electrodos específicos para metales, etc. (Peral, 2003).

Una de las aplicaciones más potenciales del quitosano que se tienen en la actualidad es en la industria alimentaria, por su uso en la envoltura y recubrimiento protector de alimentos en forma de películas. Estas películas se emplean, junto con otros elementos, en recubrimientos para frutas, retrasando el envejecimiento, disminuyendo la oxidación, las pérdidas de transpiración y protegiendo frente al ataque de hongos. Las películas de quitosano son resistentes, duraderas y flexibles, con propiedades mecánicas similares a polímeros comerciales de fuerza media (Rabea y col., 2005).

Asimismo, debido a sus propiedades funcionales, el quitosano es agregado a los alimentos para proporcionarles propiedades de espesantes, gelificantes y emulsificantes, para mejorar la textura ya que fija agua y grasa. También es empleado como estabilizante del color, como agente que previene la precipitación del vinagre y como aditivos con características nutricionales. Sin embargo el uso de quitosano como aditivo se ha dado principalmente para alimentación animal (Ibrahim y col., 1999).

## Quitooligómeros

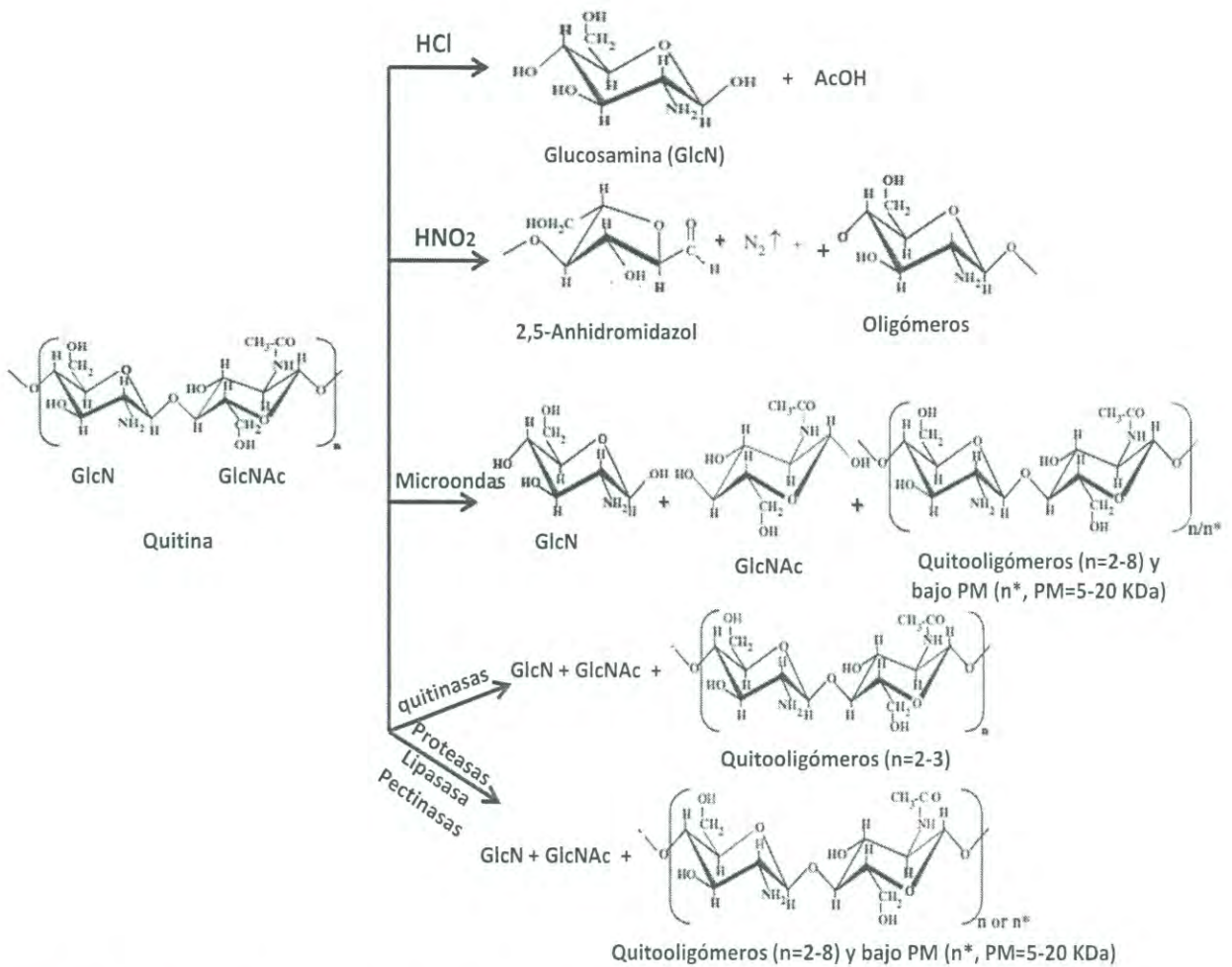
### **Generalidades.**

Son compuestos derivados de la depolimerización de la quitina y del quitosano. Dependiendo del tratamiento y las condiciones de reacción, se pueden obtener de diferentes tamaños y estructuras como son los tetrámeros, trímeros, dímeros y monómeros, tales como las unidades estructurales de N-acetilglucosamina y la glucosamina misma. Estas últimas están presentes en diferentes glucosaminoglicanos (GAG), son heteropolisacáridos lineales y aniónicos presentes en las matrices extracelulares de los tejidos humanos. Normalmente los GAG se encuentran unidos covalentemente a proteínas centrales y forman los proteoglicanos, los cuales tienen la función de organizar y dar funcionamiento adecuado a la matriz extracelular (Abram, 2004).

## Obtención.

Los quitooligómeros de bajo peso molecular pueden ser obtenidos por la hidrólisis de las cadenas de polímeros, principalmente quitina (Figura 3). A estas moléculas más pequeñas se les han atribuido algunas aplicaciones específicas especialmente en el uso farmacéutico (Tokuyasu y col., 2000).

La depolimerización de quitina y quitosano puede llevarse a cabo por tres vías: química, física y enzimática.



**Figura 3.** Posibles productos de la depolimerización de quitina. (Fuente: Harish, 2007).



### Depolimerización química.

La depolimerización química se lleva a cabo por hidrólisis ácida de la quitina con HCl, HNO<sub>2</sub> a altas temperaturas o por radicales libres mediante la reacción de oxidación utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. La degradación ácida no es específica; la hidrólisis da como resultado una gran cantidad de monómeros y también una gran cantidad de ácido residual lo que representa problemas al momento de eliminarlo (Il'ina y col., 2008).

El tratamiento químico utiliza ácidos fuertes, es un método muy común y rápido para producir una serie de quitoooligómeros, pero tiene algunas desventajas, como es el alto costo y el bajo rendimiento, además de la gran acidez residual (Chebotok y col, 2006).

### Depolimerización física.

Este tipo de reacción es una alternativa interesante para la hidrólisis de polímeros. Se da principalmente por radiaciones UV, microondas, tratamientos térmicos o tratamientos por ultrasonido. Se han estudiado diferentes polisacáridos como xantana y carboximetilcelulosa (Popa-Nita y col., 2009). Recientemente, se han preparado oligómeros de bajo peso molecular en presencia de sales en hidrólisis ácida con ayuda de irradiación de microondas. El mecanismo se explica debido a la absorción directa de energía térmica por las moléculas de sal, que causa el sobrecalentamiento en la solución. Aumenta la conductividad de la solución y hay pérdida de microondas dieléctrica y el acoplamiento e influencia de los solventes hace una gran tasa de calentamiento (Xing y col., 2005).

### Depolimerización enzimática.

Los métodos enzimáticos están cobrando importancia debido a que permiten depolimerización selectiva en condiciones suaves y los productos de la degradación pueden ser oligómeros de muy bajo peso molecular y con alta solubilidad en agua.



En el caso de la degradación enzimática, se utilizan enzimas como quitosanasa, glucanasa, lipasa y algunas proteasas. También se existen enzimas inespecíficas como la lisozima, celulasa, lipasa, amilasa, papaína y pectinasa que son capaces de despolimerizar a los polímeros como la quitina (Harish, 2007).

### **Propiedades.**

En los últimos años se ha hecho énfasis en las propiedades antioxidantes que tienen el quitosano de bajo peso molecular y/o los quitooligómeros. En el caso del quitosano esta propiedad depende de su peso molecular y del grado de desacetilación. Koryagin y col. (2006) estudiaron la actividad antioxidante de los quitosanos con diferentes grados de desacetilación y pesos moleculares altos, y de quitooligómeros derivados del quitosano. Este estudio fue realizado in vivo en animales normales y en animales expuestos a la radiación ionizante (como un modelo de estrés oxidativo), en donde encontraron que los quitooligómeros tienen una actividad antioxidante superior comparada con los polímeros de mayor tamaño. Sin embargo, los factores que afectan la actividad antioxidante aun son objeto de investigación (Sun y col, 2007).

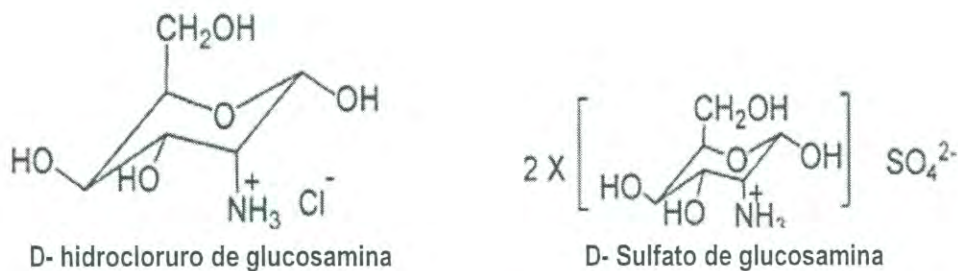
### **Aplicaciones.**

En el campo biomédico, los quitooligómeros han demostrado ser más aplicables que la quitina y el quitosano, por ser más pequeños y por su alta solubilidad en agua a diferentes pH. También por poseer actividades específicas como por ejemplo, provocar la apoptosis entre las células cancerosas, inhibir el crecimiento tumoral, ser inmunoestimulantes, antimicrobianos y con actividades antioxidantes (Koryagin y col., 2006).

En base a lo anterior es posible deducir la importante necesidad de estudiar la depolimerización de quitina y quitosano obtenidos a partir del desecho de jaiba para obtener oligómeros de muy bajo peso molecular como la glucosamina.

## Glucosamina

La glucosamina es un monosacárido obtenido naturalmente de la quitina (Sitanggang y col., 2009). También es sintetizada en el laboratorio a partir de precursores simples como hongos. No obstante, es elaborada por diversos fabricantes y el rótulo del producto a menudo no consigna el origen de sus ingredientes. La pureza de los suplementos nutricionales no está garantizada, por lo que se observan variaciones en su potencia y calidad. La glucosamina se encuentra disponible en sales sulfato y clorhidrato (Figura 4), dependiendo del procesamiento químico al que se haya sometido la quitina.



**Figura 4.** Estructuras químicas de hidrocioruro de glucosamina y sulfato de glucosamina. (Fuente: Mojarrad, 2007).

Las preparaciones orales pueden contener *N*-acetilglucosamina. Algunas preparaciones contienen sodio y otras se encuentran en combinación con extractos de hierbas, vitaminas y minerales (Donald, 2006).

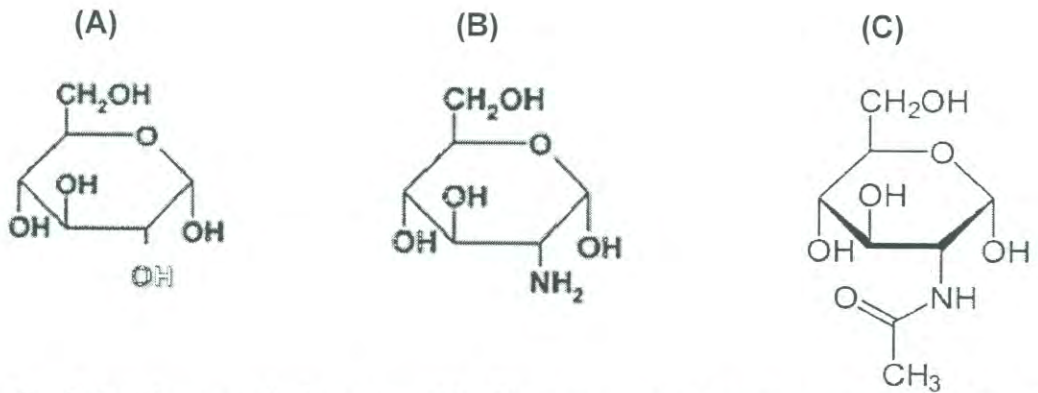
La glucosamina y la *N*-acetilglucosamina son aminoazúcares que están contruidos de bloques de quitina y quitosano. Estos se encuentran en una variedad de moléculas en la naturaleza, células y tejidos. La glucosamina se ingiere para disminuir el dolor provocado por la artritis no sólo en humanos, sino también en caballos de carreras y mascotas (como los perros), debidos a que ha



sido propuesta como un agente condroprotector que podría detener la progresión de la degradación del cartílago y estimular la síntesis de tejido nuevo (Nakamura y col., 2007).

### Estructura Química.

La glucosamina es una molécula muy parecida estructuralmente a la glucosa, solo que en la glucosamina, el átomo de oxígeno del carbono 2 de la glucosa se reemplaza por un átomo de nitrógeno (Figura 5). El término químico para esta forma modificada de glucosa, es aminoazúcar (Badui, 1993).



**Figura 5.** Estructura química de (A) Glucosa, (B) D-glucosamina y (C) N-acetilglucosamina. (Fuente: Badui, 1993).

### Importancia.

De la mayoría de los quitooligómeros, el monómero de glucosamina (2-amino-2-deoxyglucosa, quitosamina), es el más utilizado a nivel industrial. Como se mencionó anteriormente se encuentra naturalmente dentro del cuerpo humano en la estructura de cartílagos y trabaja para estimular la función articular y la reparación de los mismos. La glucosamina está constituida en un 50% por el ácido hialurónico, un ácido lubricante que se encuentra en el líquido sinovial. Además, juega un papel clave en la producción de colágeno y proteoglicanos, dos

constituyentes necesarios para el mantenimiento y restauración del cartílago articular. Los proteoglicanos tienen dos funciones importantes: la primera es absorber la cantidad adecuada de agua para dar al cartílago la elasticidad necesaria para la compresión; la segunda está relacionada con la organización del colágeno (Sato y col., 2003).

### **Obtención a nivel industrial.**

El método más utilizado para obtención de glucosamina a nivel industrial es el método químico, que parte de la quitina o material quitinoso, básicamente. El método comprende varias etapas (USA Patent 6486307, 2009):

- a) Molienda de la quitina o material quitinoso a poco menos de 20 mesh de malla.
- b) Digestión de la quitina con HCl concentrado, mediante calentamiento a 95 °C hasta producir una pasta.
- c) Enfriamiento de la mezcla a temperatura ambiente y filtración del precipitado.
- d) Disolución del precipitado en agua y con carbón activado a temperatura ambiente.
- e) Filtración de la solución y desechos sólidos.
- f) Evaporación de la solución para recuperación de sólidos de hidrocloreto de glucosamina (GlcHCl).
- g) Lavado de los sólidos con el etanol.
- h) Secado de los sólidos y su caracterización fisicoquímica.

### **Factores que influyen en la obtención de glucosamina.**

La concentración de ácido juega un papel muy importante en la obtención de glucosamina, se debe tener cuidado de no usar concentraciones muy altas (>50%) ya que la molécula puede sufrir cambios en su estructura dando lugar a la formación de diferentes compuestos como sales inorgánicas (Mojarrad y col, 2007).



La temperatura y el tiempo de reacción deben ser constantes, ya que a mayor tiempo de reacción se puede ocasionar la degradación o descomposición del monómero de glucosamina y un menor tiempo de reacción no permite la hidrólisis completa de la quitina. Es recomendable que el HCl sea calentado antes de la adición de la quitina. Preferiblemente, por encima de 50°C, cercano a los 65°C. La quitina se añade poco a poco sin dejar de agitar para evitar la formación de espuma en exceso (Mojarrad y col, 2007).

Otro factor muy importante es el lavado en el cual es preferible utilizar etanol, pero éste se debe diluir debido a que la glucosamina puede solubilizarse y perderse.

## JUSTIFICACIÓN

México ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en la producción de crustáceos y el estado de Sonora es el principal productor a nivel nacional, con una producción de camarón en el año 2009, de 81,423 ton y de jaiba 2,209 ton. El procesamiento de estos organismos se ha incrementado grandemente en las últimas décadas, generando una gran cantidad de desecho contaminante, desecho que contiene gran cantidad de productos de valor e interés comercial como quitina, quitosano, proteínas, pigmentos, calcio, enzimas, entre otros (Peral y col., 2002).

El desecho de camarón se ha destinado para la elaboración de harinas de consumo animal aunque en una pequeña cantidad (aprox. 5%) a pesar de que este desecho es rico en proteínas y pigmentos (Plascencia-Jatomea, 2000); en cambio al desecho de jaiba, no se le ha destinado ningún uso, encontrándosele arrojado en diferentes áreas aledañas a las granjas de cultivo, playas, restaurantes, entre otros, contaminando seriamente el medio ambiente; realmente se considera un desperdicio ya que este subproducto contiene abundantes cantidades de calcio y polímeros quitinosos (Arguelles y col, 2004).

Ante esta situación se busca un método para aprovechar el desecho de jaiba en Sonora, contar con una infraestructura accesible y viable en la región que permita el aprovechamiento del subproducto y darle así un valor agregado a través de procesamientos químicos, así como las aplicaciones potenciales de los compuestos recuperados.

Es importante mencionar que en Sonora no se cuenta con plantas de tratamiento del desecho de crustáceos, por lo que además de contribuir al gran problema ecológico, se favorecen diversos sectores ligados a la captura, cultivo y comercialización en la región del sur del Estado.



# HIPÓTESIS

La proporción polímero:ácido utilizada en la hidrólisis ácida de quitina y quitosano extraídos a partir de desecho de jaiba (*Callinectes arcuatus*) mediante tratamiento químico, permite obtener una mayor cantidad de glucosamina hidrociorada (GlcHCl), con respecto a la cantidad obtenida a partir de polímeros quitinosos de grado comercial (Sigma-Aldrich).

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Obtener glucosamina a partir de polímeros quitinosos (quitina y quitosano) extraídos de desecho de jaiba (*Callinectes arcuatus*) mediante procesamiento químico.

### Objetivos Particulares

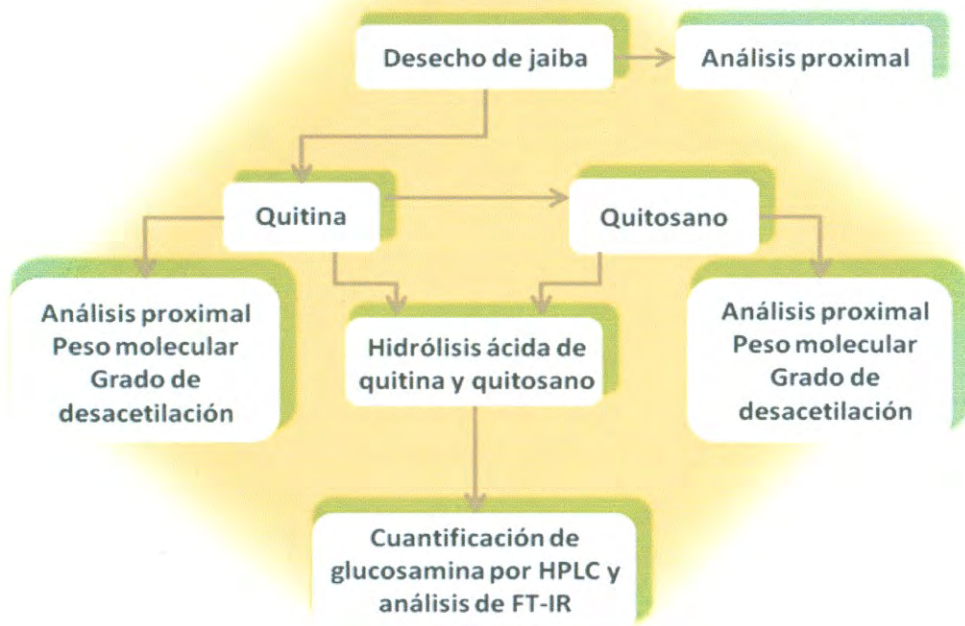
1. Extraer y caracterizar la quitina obtenida a partir del procesamiento químico del desecho de jaiba.
2. Obtener y caracterizar el quitosano obtenido mediante la desacetilación heterogénea de quitina de jaiba.
3. Depolimerizar la quitina y el quitosano mediante hidrólisis ácida y determinar la concentración de glucosamina final.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se llevó a cabo en 2 etapas (Figura 6):

Etapa 1: Caracterización del desecho y extracción y caracterización de los polímeros quitinosos

Etapa 2: Obtención y análisis de glucosamina hidrociorada (GlcHCl) a partir de los polímeros quitinosos.



**Figura 6.** Diagrama general de actividades.



## Etapa 1

### Obtención y Caracterización de los Polímeros Quitinosos

El desecho de crustáceos (Jaiba: *Callinectes arcuatus*) fue proporcionado por Biopigmentos S.A. de C.V., quien se encargó de recolectar la materia prima en el Sur de Navojoa, darle un secado solar y enviarla al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora (DIPA-UNISON). El desecho seco se trituró en un molino cafetalero marca Moulinex S.A. de C.V. para reducir el tamaño de partícula (aprox. 5 mm). Después se le hizo un análisis proximal (% proteína, % ceniza, % humedad y % calcio), mediante las técnicas recomendadas por la AOAC (1990). Posteriormente, mediante un lavado somero con agua en proporción (1:5) durante 15 minutos, se eliminó la mayoría de tierra y polvo que contenía inicialmente.

La obtención de quitina se llevó a cabo por tratamiento químico. Una vez obtenida, se caracterizó y se desacetiló para la obtención de quitosano, el cual también fue caracterizado. Todas las reacciones se llevaron en conjunto con quitina y quitosano comerciales como controles.

#### **Obtención de Quitina.**

Primeramente se hizo una desmineralización a través de una hidrólisis ácida con HCl 2N por 2 h a 25°C; al terminar la reacción se hicieron varios lavados con agua corriente para eliminar el exceso de ácido y se dejó drenar para continuar con la siguiente hidrólisis básica empleando NaOH 2M. Al término de esta última reacción, también se hicieron varios lavados, sólo que en esta ocasión con la finalidad de eliminar el exceso de hidróxido. El producto obtenido (Lote 1) se dejó secando toda la noche en la estufa a 40°C. Al día siguiente se pesó para calcular los rendimientos de quitina obtenidos.

## **Obtención de Quitosano.**

La quitina obtenida, insoluble en agua, fue sometida a un proceso de desacetilación alcalina heterogénea con NaOH al 50% en proporción 1:13 (p/v) en agitación durante 2 horas, esta reacción se hizo a una temperatura de 116°C para que se convierta a quitosano. De igual forma que con la quitina, el quitosano se lavó varias veces eliminando el exceso de hidróxido y se dejó secar a 40°C.

Para obtener una mayor reproducibilidad de datos, se procesó un segundo lote (Lote 2) siguiendo las mismas condiciones anteriores. Este último fue obtenido con un color más oscuro, de igual manera se desacetiló pero durante una hora más de reacción que en el lote 1, debido a que no se lograba estabilizar la temperatura. Es importante mencionar que el tamaño de partícula de este segundo quitosano era más grande, por lo tanto no se disolvía totalmente en medio ácido.

Análisis de rendimientos de quitina y quitosano. El análisis de rendimientos se hizo en base al desecho inicial y el desecho final de las quitinas y los quitosanos, calculando el porcentaje de la fracción remanente, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = (\text{Pf}/\text{Pi}) \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Pi= Peso inicial con respecto al desecho de jaiba.

Pf= Peso final.

## **Caracterización fisicoquímica de quitina y quitosano**

Tanto la composición de las cadenas de estos polímeros como sus dimensiones suelen variar en dependencia del material de partida y de la rigurosidad del método de obtención, por lo que la determinación del grado de acetilación y su masa molecular son dos parámetros obligatorios para caracterizar estos polisacáridos, ya que ambas tienen una gran incidencia en sus propiedades. Otras



características tales como la polidispersidad de su masa molecular, el contenido de proteína, su solubilidad y el porcentaje de cenizas son también necesarios.

La caracterización de los compuestos quitinosos en este trabajo se hizo en base a un análisis químico proximal, donde se determinó el contenido de proteína y ceniza residual; el grado de acetilación y el peso molecular. Esta caracterización se describe a continuación:

Determinación del contenido de cenizas. El contenido de cenizas se determinó gravimétricamente a partir del residuo obtenido tras la combustión de la muestra durante 2 h a 550°C en la mufla (A.O.A.C, 1990).

Determinación de proteínas totales. La concentración de proteína se determinó por una extracción de 0.2 g de muestra con NaOH al 2% en proporción sólido/líquido de 1:20 (p/v) a 90°C durante 2 h para extraer el nitrógeno de la proteína residual de las muestras (Argüelles y col., 2004). El extracto de proteína obtenido se filtró con papel whatman No. 2 para separar el material insoluble. El contenido nitrógeno residual de la solución se determinó por el método micro Kjeldahl (AOAC, 1990).

Determinación del grado de acetilación. Se hizo mediante Espectroscopía de Infrarrojo Transformada de Fourier (FT-IR) con pastillas de KBr, las cuales se prepararon moliendo una pequeña cantidad del polímero finamente dividida (aproximadamente 2 mg) conjuntamente con 100 mg de KBr y la mezcla se prensó para obtener una pastilla. Los espectros arrojados se analizaron determinando la relación de los valores de absorbancias entre dos bandas de absorción determinadas en el espectro para calcular el porcentaje de acetilación de acuerdo a la ecuación reportada por Khan (2002). Posteriormente se analizaron los espectros resultantes, haciendo ajustes con las líneas bases de correlación de los valores de absorbancias ( $A_{1655}$ ,  $A_{3450}$ ) descrito por Sabnis (1997).

$$\%DA = 97.67 - [26.486 \times (A_{1655}/A_{3450})] \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

$A_{1655}$  = abs correspondiente a las vibraciones de deformación de la banda Amida I.

$A_{3450}$  = abs correspondiente a las vibraciones de estiramiento del grupo OH.

Determinación del peso molecular. La viscosimetría es el método más utilizado para obtener el peso molecular de polímeros quitinosos. Este método se basó en la obtención de la viscosidad intrínseca  $[\eta]$ , que está relacionada con el peso molecular en la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (Ecuación 3) (Argüelles y col, 2004).  $M_v$  es el peso molecular promedio viscosimétrico,  $K$  y  $\alpha$  son constantes que dependen de la naturaleza del polímero, del sistema disolvente utilizado y de la temperatura y,  $[\eta]$  es la viscosidad intrínseca (Arguelles y col., 2004).

$$[\eta] = KM_v^\alpha \quad (\text{Ecuación 3})$$

Peso molecular promedio de quitina. La viscosidad de la quitina se determinó de dos maneras distintas, la primera con una solución de dimetilacetamida (DMAc) con 5% cloruro de litio (LiCl) y la segunda con NaOH en frío como quitina alcalina, las cuales se describen a continuación:

#### A) Método dimetilacetamida (DMAc)/cloruro de Litio (LiCl)

En el primer método se preparó una solución de solución de quitina al 0.1% (v/v) en DMAc-5%LiCl. Se filtró con filtros de fibra de vidrio whatman GF-F y se cuidó estrictamente en un desecador para que no absorbiera agua del ambiente, ya que afecta la medición de viscosidad. Después se pasó el solvente por el viscosímetro bien limpio y seco con el fin de ambientar el equipo. Posteriormente la solución se midió en el viscosímetro sumergido en un baño de agua sólo que esta vez fue a 20°C, para determinar la viscosidad intrínseca y con ella el peso molecular. Las



constantes de la Ecuación de Mark-Houwink fueron  $K=2.1 \times 10^{-2}$  g/mol y  $\alpha=0.88$  (Tervojevich, 1996).

#### B) Método con NaOH

El segundo método consistió en preparar una solución de quitina alcalina en NaOH al 40% (v/v) y mantenerla a 4°C durante 72 h. Después se mezcló con hielo destilado finamente triturado y se agitó vigorosamente hasta obtener una solución viscosa de 2.25 mg de quitina en NaOH al 10% (p/p), finalmente se filtró en frío con filtros de fibra de vidrio. Se determinó la viscosidad intrínseca de la misma forma que las anteriores, y se calculó el peso molecular como se describió anteriormente. Para el NaOH las constantes de la Ecuación de Mark-Houwink fueron  $K=0.10$  g/mol y  $\alpha=0.68$  de acuerdo a Einbú (2004).

Peso molecular promedio de quitosano. Primeramente se preparó una solución madre al 0.1% (p/v) en una mezcla de ácido acético 0.3M con acetato de sodio 0.2M y se utilizó un viscosímetro capilar Ubbelohde el cual se introdujo en un baño de agua a 25°C. Primeramente se corrieron 10 ml del solvente como control y después se limpió muy bien el viscosímetro para medir 10 ml de la muestra de quitosano, midiendo el tiempo que tardó en pasar entre dos marcas fijas, conociéndose éste como viscosidad relativa.

Enseguida se fue agregando 1 ml de solvente, al mismo tiempo que se iba diluyendo la muestra y se volvía medir, siempre cuidando la temperatura del baño del agua, y de esta forma se fueron obteniendo sucesivamente los puntos hasta obtener todos los valores de viscosidad relativa y con ellos obtener mediante la extrapolación gráfica de las curvas obtenidas, lo que sería el valor de viscosidad intrínseca.

Posteriormente, se calcularon los valores de peso molecular a partir de los valores de la viscosidad intrínseca empleando la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada. Las constantes utilizadas fueron  $K=8.2 \times 10^{-2}$  y  $\alpha = 0.76$ , de acuerdo a Rinaudo (1993).

## Etapa 2

### Obtención y Análisis de Glucosamina Hidroclorada (GlcHCl) a partir de los Polímeros Quitinosos.

#### Hidrólisis ácida de quitina y quitosano.

La hidrólisis de los polímeros quitinosos se llevó a cabo durante 90 min; tanto a las muestras comerciales (QnC y QsC) como a las obtenidas en este trabajo (QnJ y QsJ), se les agregó HCl al 10% (v/v) y se colocaron en placas de calentamiento y agitación mecánica en la campana de extracción durante 90 min. Se emplearon 2 temperaturas, 50 y 70°C, y se manejaron 3 proporciones de polímero:HCl, 1:20, 1:37 y 1:50.

Se observó que las muestras comerciales se tornaron de color café a los 15 min, y a los 60 min se empezaron a degradar no pudiendo recuperar casi nada de muestra, ya que se disolvieron completamente.

En cambio, las muestras de jaiba, no se degradaron completamente, de tal forma que en todos los tratamientos quedaron sólidos remanentes, los cuales se decantaron y se dejaron en la estufa toda la noche para su evaporación. Una vez que se tuvieron los polvos, se pesaron y se midieron los volúmenes de las fracciones líquidas, ya que a partir de éstos se cuantificó la concentración de glucosamina por HPLC (Mojarrad, 2007).

Para cuantificar la posible glucosamina que se haya quedado disuelta en la muestra, las fracciones ácidas fueron precipitadas con alcohol/acetona (50:50) (v/v), se centrifugaron y finalmente se neutralizaron a pH de 6.83 con NaOH al 2%.

#### Preparación de la muestra para la cuantificación por HPLC (Método INA 121.000).

Se pesaron 50 mg de muestra y se aforaron a 50 ml con acetato de sodio 0.1 M. Se tomó una alícuota de 5 ml, la cual se mezcló con 400 µl de fenilisotiocianato y 15 ml de metanol, para aforar posteriormente a 50 ml con una mezcla de metanol/agua (60:40) (v/v).



Se transfirieron 5 ml de la solución final a un tubo de ensaye y se centrifugó por 1min. Después se colocó el tubo en baño de agua a 80°C durante 15min. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Al final se añadieron al tubo 5ml de heptano y se agitó mecánicamente por 1 min, una vez que se formaron 2 fases, se tomó la más densa (la capa de metanol) para su posterior análisis en el HPLC. La concentración final aproximada según el método utilizado es de 0.1 mg/ml.

### **Cuantificación de glucosamina por HPLC (Método INA121.000).**

Se utilizó un equipo de HPLC marca VARIAN (Bomba VARIAN modelo 9012), con un detector de UV-Visible (modelo 9050) a una longitud de onda de 240 nm y una columna de fase reversa marca Pursuit XRS C18, de 4.6 ID x 150mm x 5 μ. El flujo fue de 1.5 ml/min, y el volumen de inyección de 10 μl. La duración de corrida de cada muestra fue de 15 min.

El método utilizado fue isocrático y la fase móvil fue una mezcla de Acetonitrilo/agua/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> en proporciones de (10:90:0.1). La columna se lavó con acetonitrilo durante 10 min cada 5 inyecciones, para eliminar el fenilostiocianato (PTIC) que se quedaba acumulado en ella.

El porcentaje de pureza de la muestra se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{R_u}{R_s} \times C \times \frac{50ml}{W} \times \frac{50ml}{5ml} \times 100$$

(Ecuación 4)

Donde:

R<sub>u</sub>= Área del pico de la muestra

R<sub>s</sub>= Área del pico del estándar

C= Concentración de glucosamina en mg/ml

W= Peso de la muestra (mg).

## **Análisis por FT-IR**

Los hidrolizados ácidos de quitina y quitosano se analizaron mediante un espectrofotómetro FT-IR (Infrarrojo Transformada de Fourier), usando como control HCl al 10% (v/v), usando un intervalo espectral de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Este análisis se le aplicó a las fracciones líquidas ácidas, después de la hidrólisis.

No obstante, cuando las fracciones líquidas fueron precipitadas, también se analizaron por FT-IR para comprobar si se tenía el monómero de GlcHCl o si se había degradado.

## **Diseño Experimental**

En la primera etapa, se llevó a cabo un análisis estadístico utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (Anexo 2), a un nivel de significancia  $P = 0.05$ , donde las variables respuesta fueron: % de proteína, % de ceniza, peso molecular, grado de desacetilación y rendimientos. La diferencia entre los diferentes tratamientos se determinó mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey, a un intervalo de confianza de 95%.

Fuentes de variación (variables independientes): Tipo de polímero.

Niveles de la fuente de variación:

- a) Quitina
- b) Quitosano

Variables respuesta:

- % Proteína
- % Ceniza
- Peso Molecular
- Grado de desacetilación
- Rendimiento

En la segunda etapa, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (Anexo 3), a un nivel de significancia  $P = 0.05$ , donde la variable respuesta fue la



concentración gr de GlcHCl. La diferencia entre los diferentes tratamientos se determinó mediante la prueba Tukey, a un intervalo de confianza de 95%.

Para cada tipo de polímero, se establecieron dos fuentes de variación (variables independientes): temperatura y proporción polímero:ácido.

Fuentes de fuentes de variación:

a) Temperatura, con 2 niveles: 50 y 70°C.

b) Proporción polímero:ácido, con 3 niveles: 1:20, 1:37 y 1:50.

Variable respuesta: concentración de glucosamina hidrociorada.

Los resultados de FT-IR de las muestras sometidas a tratamiento de hidrólisis ácida (líquidos y polvos), fueron sometidos a un análisis descriptivo de los espectros obtenidos.

NOTA: En la segunda etapa, se utilizó además un diseño factorial completamente al azar de 4 x 2 x 3, con dos repeticiones (Anexo 4), donde los factores fueron: A) los polímeros de jaiba y los comerciales (Quitina y quitosano), B) la temperatura (50°C y 70°C), y C) la proporción polímero: ácido (1:20, 1:37 y 1:50).

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados, en cada una de las etapas, se llevó a cabo utilizando el programa IBM SPSS Statistics versión 17.0, 2010 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Etapa 1:

#### Obtención y caracterización de los polímeros quitinosos

##### Análisis proximal del desecho seco de jaiba

En la Tabla 1, se puede observar el análisis proximal del desecho de jaiba. Los valores que se obtuvieron están dentro de los rangos establecidos por Goycoolea (2004), quien reporta valores de composición química del desecho de crustáceos en base seca de 13-58% proteína, 20-72% de cenizas y 0.8- 12% de lípidos.

**Tabla 1.** Análisis proximal de los desechos de jaiba.

Análisis	Porcentaje
Proteína %	15.17 ± 2.1
Ceniza %	64.91 ± 1.2
Ca %	49.11 ± 17.6
Humedad %	7.96 ± 0.1

Valores promedio de 3 repeticiones ± el error estándar. Ca=Calcio y está cuantificado a partir del contenido de cenizas.



## Análisis de Rendimientos.

El rendimiento promedio de quitina y quitosanos obtenidos a partir del procesamiento del desecho de jaiba (*Callinectes arcuatus*), fue de 16.28% para quitina y de 9.03% para quitosano, como se observa en la Tabla 2.

Con respecto a la quitina se observó que el proceso fue reproducible, encontrando valores más altos en comparación a los reportados por Moreno-Villa (2008) para la misma especie de jaiba (rendimiento de 12.61%). Lo anterior puede deberse a que en el presente estudio se utilizó un proceso continuo para la obtención de quitina, evitando pérdidas de material durante los lavados.

Los rendimientos de quitina varían en función del proceso y condiciones de extracción, de la especie, edad, sexo, alimentación, época y lugar de captura (Arguelles y col., 2004).

**Tabla 2.** Rendimientos de quitina y quitosano en base al desecho inicial seco.

	Desecho inicial	Quitina (%)	Quitosano (%)
Lote 1	1650 g	16.09	9.97
Lote 2	1320 g	16.48	8.09
Promedio	-----	16.28 ± 0.27	19.03 ± 1.33

Valores promedio de 3 repeticiones ± el error estándar.

Oduor-Odote y col. (2005) reportaron rendimientos del 23% de quitina obtenida a partir de desecho de jaiba (*Sylla cerrata*). Sin embargo, dichos autores reportan contenidos de ceniza del 30%, lo cual nos indica que la especie que ellos utilizaron tiene una composición química muy diferente a *Callinectes arcuatus* que sólo se obtuvo un contenido de quitina fue del 16%, sin embargo se encontró un menor contenido de ceniza de 3.3%. Otra explicación puede ser las condiciones de

desmineralización que se tuvieron durante el procesamiento, debido a que los autores reportan cantidades de HCl de 0.5M, lo cual puede explicar el mayor rendimiento de quitina obtenido.

Los rendimientos de quitosano a partir de quitina de jaiba encontrados en este estudio fueron más altos a los reportados por Oduor-Odote y col. (2005), quienes obtuvieron rendimientos de quitosano de 7.65%, respecto a la quitina obtenida. Esto posiblemente se deba a que las condiciones de desacetilación empleadas en nuestro estudio fueron más drásticas, es decir temperaturas más elevadas (100, 120 y 140°C) mediante desacetilación heterogénea de la quitina con NaOH al 50% (p/p) en proporción 1:20, esto provoca que la muestra se depolimerice en un mayor grado por lo que el tamaño de partícula también disminuye, afectando el rendimiento por la pérdida de material durante el lavado.

## **Caracterización Físicoquímica.**

### **Análisis proximal de quitinas.**

La Tabla 3 muestra el análisis proximal de quitinas obtenidas a partir del desecho de jaiba. La cantidad de proteína residual de la quitina de los Lotes 1 y 2 fueron menores ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a la muestra comercial. Por otra parte, no se observaron diferencias estadísticas ( $P > 0.05$ ) en el contenido de ceniza residual de los polímeros. Con base a lo anterior, se puede deducir que el tratamiento utilizado en el presente trabajo resultó ser más efectivo para eliminar la proteína remanente.

### **Análisis proximal de quitosanos.**

La tabla 4 muestra el análisis proximal de los quitosanos obtenidos. Nuevamente, los valores de proteína de las muestras de los Lotes 1 y 2 fueron menores ( $P \leq 0.05$ ) al comercial, mientras que no se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ) con respecto a la cantidad de ceniza residual (<2.2%). Al igual que en el caso anterior, se deduce que el tratamiento utilizado en el presente trabajo fue más efectivo para eliminar proteínas y cenizas.



**Tabla 3.** Cuantificación del contenido de ceniza y proteína residual de quitinas.

	PROTEÍNA (%)	CENIZA (%)
Quitina Lote 1	0.29 ± 0.090 <sup>a</sup>	3.34 ± 0.489 <sup>a</sup>
Quitina Lote 2	0.25 ± 0.044 <sup>a</sup>	3.31 ± 0.996 <sup>a</sup>
Quitina Comercial	1.16 ± 0.236 <sup>b</sup>	2.57 ± 0.034 <sup>a</sup>

Valores promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Letras diferentes dentro de una misma columna indican valores estadísticamente distintos.

**Tabla 4.** Cuantificación del contenido de ceniza y proteína residual de quitosanos.

	PROTEÍNA (%)	CENIZAS (%)
Quitosano Lote 1	0.18 ± 0.044 <sup>a</sup>	2.09 ± 0.278 <sup>a</sup>
Quitosano Lote 2	0.12 ± 0.018 <sup>a</sup>	1.31 ± 0.311 <sup>a</sup>
Quitosano Comercial	0.43 ± 0.002 <sup>b</sup>	2.12 ± 0.319 <sup>a</sup>

Valores promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Letras diferentes dentro de una misma columna indican valores estadísticamente distintos.

Uno de los aspectos importantes a tomar en cuenta es la agitación mecánica que se le dio al desecho durante el procesamiento, provocando la ruptura de las asociaciones de proteína-quitina y minerales-quitina, dando como resultado productos más puros y más decolorados, lo cual los hace ser de mayor calidad.

En un estudio similar, Fernández (2004) utilizó cangrejo Dungeness (*Cancer magister*) para la extracción de quitina; las condiciones de procesamiento fueron

similares a las utilizadas en este estudio con la diferencia de que ellos desproteinizaron a 65°C y agregaron al procesamiento la decoloración con NaOCl, obteniendo valores de proteína y ceniza de 8.23 y 0.2%, respectivamente.

Young y col. (1998) trabajaron con quitinas y quitosanos comerciales y reportan contenidos de proteína de 5.97% para quitina y 7.13% para quitosano, mientras que el porcentaje de ceniza se mantuvo por debajo del 1%, pero a diferencia de los anteriores ellos utilizaron polímeros comerciales.

Los valores de proteína reportados en la literatura son mayores a los encontrados en este trabajo, probablemente porque no se le dio un tratamiento previo a la muestra, por lo que se está cuantificando el nitrógeno estructural presente en la molécula de quitina y quitosano.

No obstante, los valores se ubican dentro del porcentaje óptimo establecido, el cual oscila aproximadamente del 1-7% de proteína residual (Percot y col., 2003).

Los valores de proteína y ceniza residuales varían en función del método de extracción y de la especie utilizada. Moreno-Villa (2008) reportó porcentajes de proteína y ceniza por debajo del 1% para quitina y quitosano obtenidos a partir de desecho de jaiba por vía química, variando las condiciones de procesamiento principalmente las concentraciones de HCl y la temperatura de reacción.

No y col. (2003) obtuvieron quitina a partir de caparzones y patas de cangrejo (*Chionoecetes opilio*) y posteriormente quitosano, ellos utilizaron HCl 1N por 30 min para desmineralizar, temperatura ambiente y desproteinizaron con NaOH al 3% por varios tiempos de 0-30 min, los valores que reportan de proteína son de 7.53% y ceniza de 5.3%.

Estos valores nuevamente se encuentran por encima de los encontrados en los polímeros de jaiba, esto se puede deber a que ellos utilizaron tiempos de procesamiento menores por lo que no fue suficiente para eliminar toda la materia orgánica que se encuentra en el desecho. Además, la especie de crustáceo que utilizaron los autores es diferente, y quizá tenga mayor cantidad de mineral ocluido en el desecho, todos estos factores así como también el procesamiento químico del desecho influyen en la pureza final de los polímeros quitinosos.



### **Determinación del Grado de Desacetilación.**

El análisis de FT-IR permitió determinar el grado de desacetilación de las quitinas y quitosanos, obteniendo valores entre 10-14 y 89%, respectivamente, incluyendo las muestras comerciales (Tabla 5). La ecuación y el método de determinación son elementos importantes a considerar, ya que se ha reportado que dichos factores influyen en la variación de resultados (Khan y col., 2002).

Varios estudios reportan valores de desacetilación similares a los obtenidos en este trabajo. In Cho y col. (1998) obtuvieron valores de desacetilación de 17.1 y 90.6% para quitina y quitosano comerciales por el método descrito por Sannan y col. (1978), donde utilizaron la técnica de titulación coloidal con polivinil sulfato de potasio N/400.

De igual manera, No y col. (2003) quienes obtuvieron quitosano mediante condiciones heterogéneas a 15 psi/121°C con NaOH al 45% por 30 min en proporción 1:15 (p/v), reportaron valores de 78.4% de desacetilación con el mismo método reportado anteriormente (Sannan, 1978).

**Tabla 5.** Porcentaje de desacetilación de quitinas y quitosanos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Desacetilación (%)</b>
Quitina Lote 1	~ 10.31
Quitina Lote 2	~ 11.55
Quitina Comercial	~ 14.18
Quitosano Lote 1	~ 89.61
Quitosano Lote 2	~ 89.13
Quitosano Comercial	~ 89.62

Ramírez y col. (2000) trabajaron con quitosanos obtenidos a partir de quitinas comerciales y utilizaron el método de potenciometría (fórmula no reportada), obteniendo valores alrededor del 75% de desacetilación. Comparando estos resultados con los encontrados en este estudio, fueron mayores a los reportados en la literatura.

### **Determinación del Peso Molecular Promedio.**

#### Peso molecular promedio de la quitina.

La estimación del peso molecular de una disolución depende del fenómeno de adsorción de los componentes del solvente por la estructura del polímero (Morgenstern y col., 1996). En este caso, es posible que los iones  $\text{Cl}^-$  no hayan alcanzado a interactuar con los grupos  $\text{OH}$  y  $\text{NHCOH}_3$  de la estructura cristalina de la quitina, dando así resultados mayores a pesar de que las partículas sólidas remanentes se pesaron y se restaron al peso inicial de muestra para sacar así la concentración real.

Al utilizar la técnica de viscosimetría con el solvente DMAc/LiCl se obtuvo un mayor valor de peso molecular con respecto a los valores obtenidos con solución de NaOH en frío (Tabla 6). Esto se puede deber a que el primer solvente, es muy volátil y altamente higroscópico (Poirier y col., 2002), por lo que pudo haber absorbido humedad del ambiente y al momento de interactuar con la muestra no la disolvió completamente, dejando partículas sólidas sin disolverse.

En cambio, al utilizar NaOH en frío, la molécula se torna más "flexible" y se acomoda mejor, lo que da estimaciones de peso molecular menores (Einbú, 2004). Esto se puede ver reflejado en la solubilidad completa de la quitina en NaOH; en este caso, la cadena polimérica no sufre degradación a pesar de la fuerza de agitación y movimientos de vibración. El resultado final es una solución viscosa.



**Tabla 6.** Peso molecular promedio de las quitinas.

	[ $\eta$ ] (dl/g)	DMAc/LiCl (KDa)	[ $\eta$ ] (dl/g)	NaOH (KDa)
Quitina Lote 1	2573.5 $\pm$ 189.9	319.9	916.5 $\pm$ 64.4	297.1
Quitina Lote 2	2873.4 $\pm$ 241.9	352.8	1007.5 $\pm$ 77.1	334.4
Quitina Comercial	3992.6 $\pm$ 297.3	473.7	1013.8 $\pm$ 78.3	336.8

Valores promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar.

Pocos autores reportan el peso molecular de la quitina y la gran mayoría reporta solamente la viscosidad intrínseca y no profundizan sobre la metodología que utilizaron. Percot y col. (2003) realizaron cinéticas de desmineralización y desproteínización para optimizar la extracción de quitinas provenientes de desecho de camarón, el cual se desmineralizó con HCl 0.25 M variando diferentes tiempos de reacción desde 2 a 1440 min y desproteínizaron con NaOH 0.1 M.

Los valores de viscosidad intrínseca obtenidos, en ambos procesamientos, desde 2100 hasta 3300 dl/g, dichos valores se reportan como peso molecular medio. Algunos de los valores de viscosidad intrínseca de las quitinas de jaiba cayeron dentro de los reportados por dichos autores, principalmente los valores arrojados por la técnica con DMAc/LiCl. La quitina comercial arrojó valores de 3992.64, sin embargo sigue siendo de peso molecular medio.

Yasutomo y col. (2003) estudiaron la conversión alcalina de quitinas provenientes de alga marina (*Thalassiosira weissflogii*), utilizando NaOH, observando que la muestra no sufrió degradación, solamente se llevó a cabo la conversión de  $\beta$ -quitina a  $\alpha$ -quitina, reportando valores de peso molecular entre 1290 a 1410 KDa.

En comparación con los valores de peso molecular encontrados en este estudio, los datos bibliográficos descritos anteriormente se encuentran por arriba de los

obtenidos para las  $\alpha$ -quitinas provenientes del procesamiento químico del desecho de jaiba, Tretenichenko y col. (2006) reportaron valores entre 274.1 a 660.0 KDa para quitina del esqueleto de un organismo acuático (tipo medusa) llamado *Obelia longissima* (*Hydrozoa*). Estos valores son similares a los encontrados en este trabajo; sin embargo, los autores no reportaron la metodología ni la ecuación utilizada para determinar el peso molecular.

Peso molecular promedio de quitosano.

Como se mencionó anteriormente, el peso molecular depende en gran parte de las condiciones de reacción. Bajo las condiciones utilizadas, los valores de peso molecular de los quitosanos obtenidos a partir de quitina de jaiba fueron de 480 KDa, es decir, quitosano de peso molecular medio, mientras que el quitosano comercial fue de 171 KDa, que corresponde a un peso molecular bajo (Tabla 7).

**Tabla 7.** Peso molecular promedio de quitosanos.

	<b>Viscosidad intrínseca (dl/g)</b>	<b>Peso molecular (KDa)</b>
Quitosano Lote 1	9.60 ± 0.505	~ 455
Quitosano Lote 2	8.58 ± 0.133	~ 510
Quitosano Comercial	3.59 ± 0.172	~ 171.1

Valores promedio de 3 repeticiones ± error estándar

Es importante señalar las condiciones de procesamiento que llevó cada uno en particular y el grado de pureza que se obtuvo finalmente, ya que la presencia de impurezas (material inorgánico, calcio, etc.), presentes en el quitosano afectan la



viscosidad de la solución. En el caso del quitosano de jaiba, conocemos las etapas del procesamiento y las condiciones de reacción dado que el desecho se procesó en el laboratorio; sin embargo, el quitosano comercial resultó ser de peso molecular bajo, lo cual se puede atribuir a diferentes condiciones de procesamiento tales como mayor temperatura, ocasionando la degradación de las cadenas poliméricas, disminuyendo la viscosidad y por consiguiente, el peso molecular.

La literatura reporta valores similares para quitosano obtenido a partir de cangrejo. No y col. (2003), reportan valores de 549-813 KDa, variando diferentes tiempos de desproteización desde 0 hasta 30 min. Asimismo Oduor-Odote y col. (2005) encontraron valores entre 155 y 417 KDa para quitosanos provenientes de quitina de jaiba desacetilada con NaOH al 50% a 120°C durante 2 h.

Existen otros estudios que reportan la obtención de quitosanos de muy bajo peso molecular, inclusive valores de aproximadamente 10 KDa, ya que durante el procesamiento hay degradación de la cadena polimérica ocasionando que se formen cadenas de menor tamaño y peso molecular (Nadarajah, 2005).

## **Etapa 2:**

### **Obtención y Análisis de Glucosamina Hidroclorada (GlcHCl) a Partir de los Polímeros Quitinosos**

#### **Hidrólisis Ácida de Quitinas.**

En la Figura 7 se muestra el efecto de la proporción polímero/ácido sobre la hidrólisis de las quitinas, a una temperatura de 50°C. Se observó que independientemente del volumen de ácido utilizado, la QnJ presentó una mayor ( $P \leq 0.05$ ) concentración de GlcHCl (0.035-0.038 mg/ml) con respecto a la muestra comercial. Esto se debe al grado de desacetilación de las quitinas, ya que a mayor

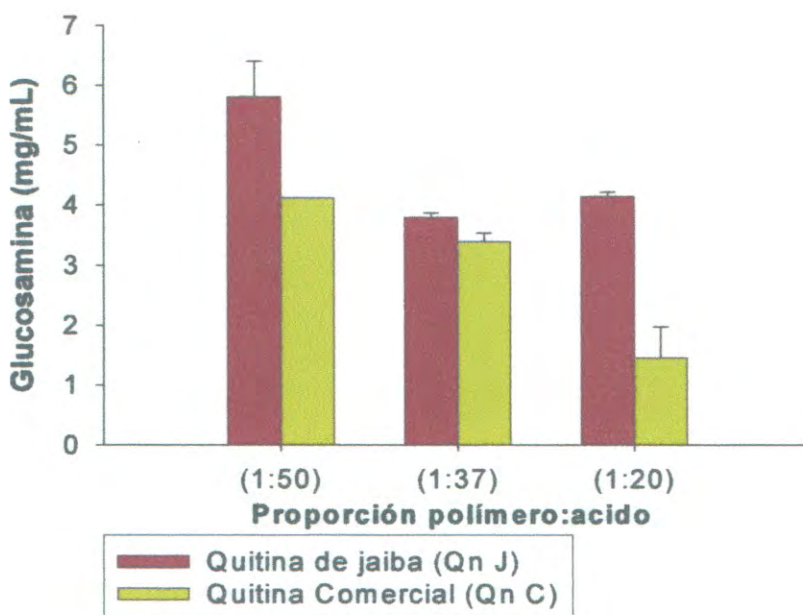
grado de desacetilación se obtienen mayor concentración de GlcHCl, debido al rompimiento del grupo acetilo y la nueva formación del grupos aminos (conversión de quitina a quitosano) (Novikov, 2004). Conforme se incrementó la proporción polímero: ácido la concentración de oligómeros también derivados de la quitina comercial aumentó, en cambio en la quitina de jaiba se obtuvo más concentración en la proporción 1:20.

Chebotok y col. (2006), reportan que la producción de acetilglucosamina (GlcNAc) durante la hidrólisis ácida de la quitina y el quitosano disminuye con un aumento en el grado de desacetilación, por lo que a 50°C se puede decir que la hidrólisis de quitina es incompleta, dando lugar posiblemente a la formación de una mezcla de macromoléculas y productos de peso molecular bajo (oligómeros y monómeros).

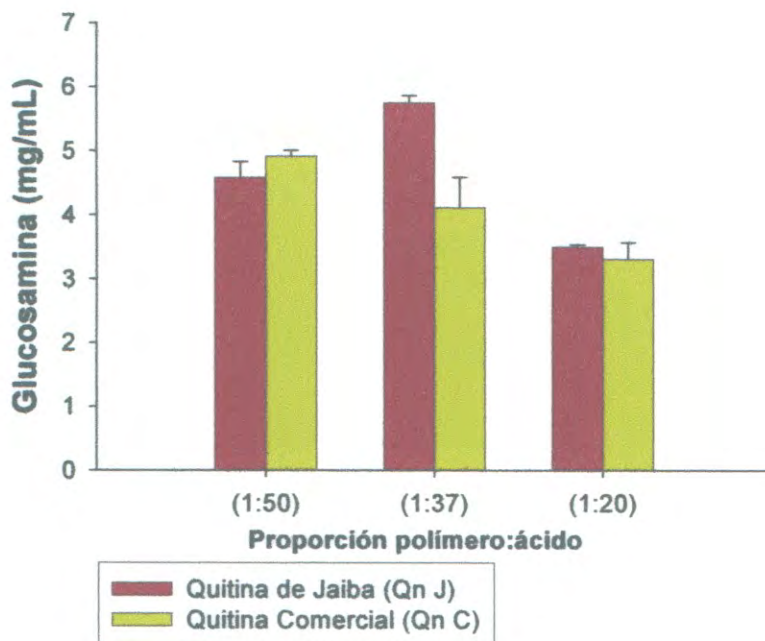
A 70°C (Figura 8) se observó una tendencia similar a la figura 7. Al aumentar la proporción de ácido se incrementó el rompimiento de los enlaces glucosídicos  $\beta$ -(1-4) de la cadena polimérica, dando como resultado fracciones acetiladas de menor tamaño. Durante los primeros pasos de la hidrólisis ácida se forma mayor cantidad de GlcNAc debido al rompimiento de los enlaces glucosídicos  $\beta$  (1-4) de la cadena de quitina; no obstante, la concentración de GlcHCl se incrementa conforme aumenta el tiempo de reacción, debido al rompimiento del grupo acetoamido del carbono 2 liberando el ión acetato, el cual reacciona con el protón del HCl, para dar lugar a la formación de ácido acético, provocando una disminución de pH (Novikov, 2004).

Mojarrad y col. (2007) obtuvieron glucosamina hidrociorada a partir de quitina proveniente de exoesqueletos de camarón mediante la hidrólisis ácida con HCl, reportando rendimientos en un rango de 16-98%, probando concentraciones de HCl al 37% a 100°C durante 4 horas. Estos valores son mayores a los encontrados en este trabajo, lo cual se puede deber a que el ácido se utilizó a temperaturas mayores, por lo que la molécula se hidrolizó hasta llegar al monómero, dando rendimientos mayores.





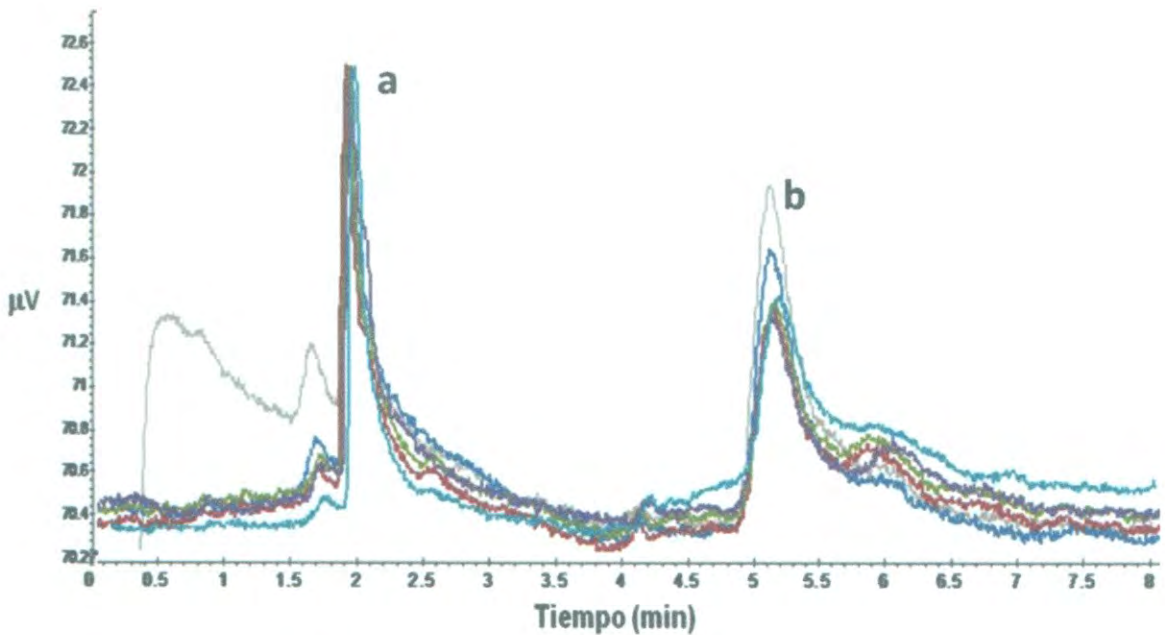
**Figura 7.** Efecto de la proporción polímero/ácido a 50°C en la hidrólisis de quitinas.



**Figura 8.** Efecto de la proporción polímero/ácido a 70°C en la hidrólisis de quitinas.

### Cuantificación por HPLC de Hidrolizados de Quitina.

Para la cuantificación de hidrocloreuro de glucosamina (GlcHCl) se utilizó un estándar comercial de D-(+)-Glucosamine hydrochloride, minimum 99% (Cat. G4875. Sigma, USA), se prepararon concentraciones de 0.001, 0.005, 0.01, 0.025, 0.05 y 0.1 mg/ml para correr previamente una curva estándar (Anexo 1). Los cromatogramas más representativos de los hidrolizados de quitinas de desecho de jaiba y comerciales, se muestran en la Figura 9.



a) Solvente; b) GlcHCl

**Figura 9.** Cromatogramas de GlcHCl obtenidos de los hidrolizados de quitinas de jaiba y comercial por análisis de HPLC.

En todos los hidrolizados de quitinas se encontró la presencia del monómero de GlcHCl (Tabla 8), detectando variaciones en la concentración dependiendo del tipo y procedencia de polímero ya sea de jaiba o comercial. El pico (a) corresponde al frente de solvente, este pico se hace notar mayormente su intensidad como se ve



en la figura, y el pico (b) que se encuentra entre 5-5.5 minutos aproximadamente corresponde a la GlcHCl.

**Tabla 8.** Concentración y Pureza de GlcHCl obtenida en hidrolizados de quitinas de jaiba y comerciales

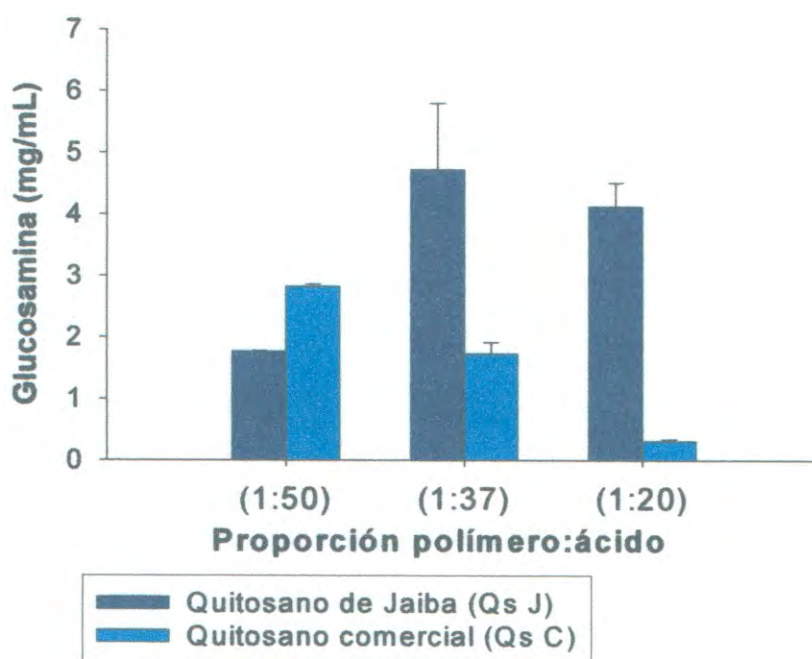
Polímero	Proporción (Polímero:ácido)	Temp. (°C)	Concentración de GlcHCl (mg/ml)	Pureza (%)
Qn J	1:50	70	4.6 ± 0.2	22.46 ± 0.3
Qn J	1:37	70	5.8 ± 0.1	26.10 ± 0.5
Qn J	1:20	70	3.5 ± 0.0	18.76 ± 0.1
Qn J	1:50	50	5.8 ± 0.6	24.08 ± 0.0
Qn J	1:37	50	3.8 ± 0.0	18.99 ± 0.1
Qn J	1:20	50	4.7 ± 0.1	21.17 ± 0.0
Qn C	1:50	70	4.9 ± 0.1	23.75 ± 0.1
Qn C	1:37	70	4.1 ± 0.5	21.95 ± 0.0
Qn C	1:20	70	3.3 ± 0.3	17.86 ± 0.5
Qn C	1:50	50	4.0 ± 0.0	18.58 ± 0.1
Qn C	1:37	50	3.4 ± 0.1	18.28 ± 0.1
Qn C	1:20	50	1.5 ± 0.5	9.13 ± 0.2

**Qn J=** quitina de jaiba; **Qn C=** quitina comercial

Asimismo el porcentaje de pureza de las muestras hidrolizadas tanto de jaiba como comerciales, varió en un rango de 9.13 a 26.10%, siendo las quitinas de jaiba las que sobresalieron, sobre todo a proporciones de 1:37 a 70°C, obteniéndose el valor de pureza mayor (Tabla 8).

### Hidrólisis Ácida de Quitosanos.

En la Figura 10, se muestra el efecto de la proporción polímero:ácido a una temperatura de 50°C. Se puede observar que la concentración del monómero obtenido a partir del QsC, se incrementó ( $P \leq 0.05$ ) conforme se aumentó el volumen de ácido utilizado. Por el contrario, la depolimerización del quitosano obtenido a partir de desecho de jaiba (QsJ) permitió obtener mayor ( $P \leq 0.05$ ) cantidad de glucosamina, sin observar una tendencia en función de la proporción polímero:solvente.



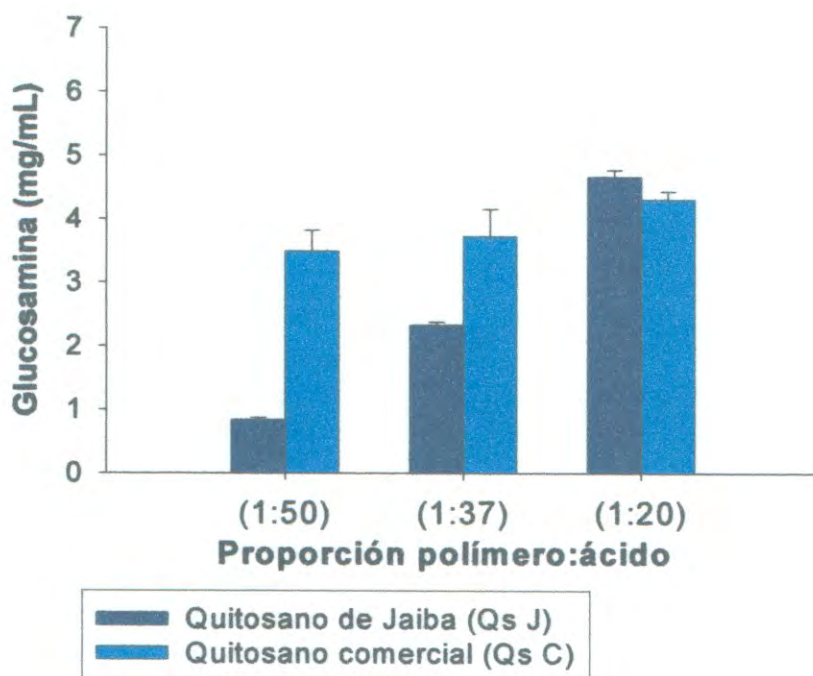
**Figura 10.** Efecto de la proporción polímero: ácido a 50°C en la hidrólisis de quitosanos.

El QsC posee menor peso molecular (171.1 kDa) con respecto al QsJ ( $482.5 \pm 27.5$  kDa), lo cual puede explicar la mayor susceptibilidad a la despolimerización o degradación de los enlaces glucosídicos  $\beta$  (1-4) de las cadenas del quitosano



comercial debida a la penetración del ácido (Cabrera y Van, 2005), permitiendo obtener mayores concentraciones de GlcHCl.

No obstante, a 70°C (Figura 11) se observó una tendencia similar para ambos tipos de quitosano, encontrando que la temperatura es un factor significativo en el proceso de depolimerización. Independientemente del tipo de quitosano, la concentración de glucosamina disminuyó conforme se fue incrementando la cantidad de ácido, esto se puede atribuir a que la molécula de GlcHCl se pudo haber ido degradando debido a las condiciones más drásticas, es decir mayor cantidad de ácido y mayor temperatura.



**Figura 11.** Efecto de la proporción polímero: ácido a 70°C en la hidrólisis de quitosanos.

Lo anterior indica que las variables de proceso tales como la temperatura, la relación polímero:solvente, la concentración del solvente y el tiempo de reacción, son factores que influyen de manera determinante sobre las reacciones de

despolimerización, de tal modo que su adecuado control y optimización permitirá establecer una metodología viable para la obtención de glucosamina a partir del aprovechamiento del desecho de jaiba, en particular en lugares en donde se cuenta con poca infraestructura, ya que es una de las metas del presente trabajo.

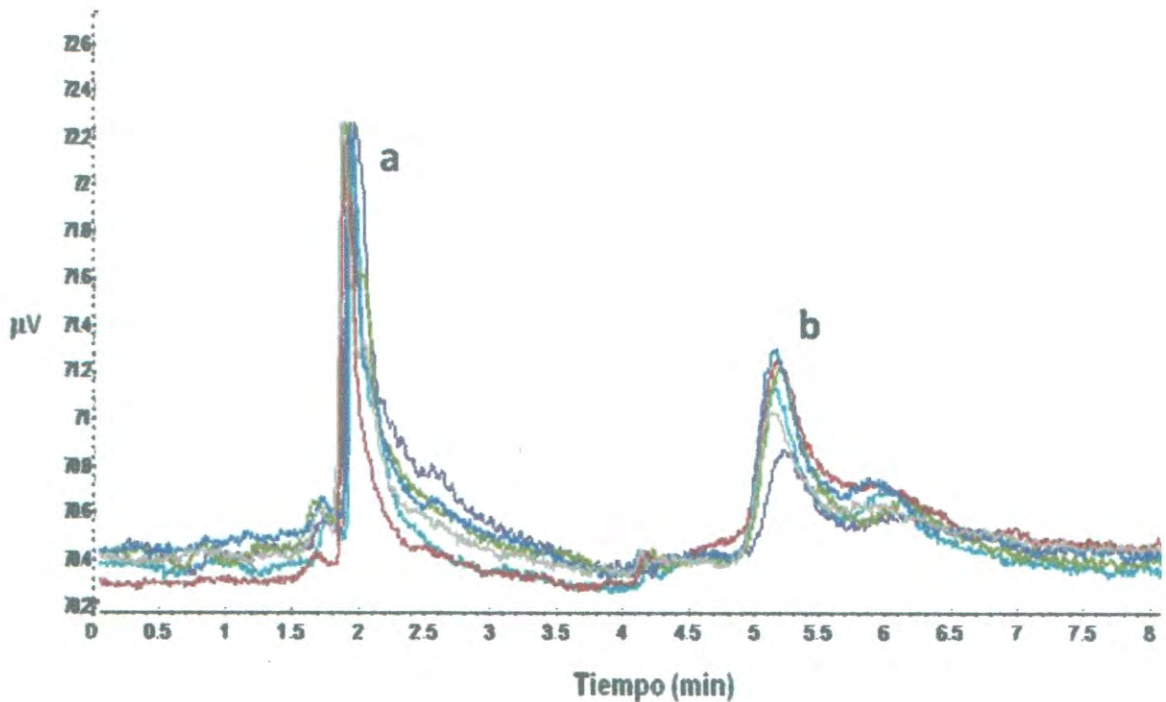
Várum y col. (2001) encontraron mediante la hidrólisis ácida de quitosanos, que la tasa de hidrólisis de los enlaces glucosídicos era igual a la tasa de N-acetilación en ácido diluido, mientras que los enlaces glucosídicos se hidrolizan 10 veces más rápido que el grupo acetilo en HCl concentrado.

Los autores concluyeron que la hidrólisis del enlace acetilo ocurre mediante una reacción SN2 (en donde el paso limitante de la velocidad es la adición de agua al ión carbonio), mientras que la hidrólisis de los enlaces glucosídicos corresponde a una reacción SN1 (en donde el paso limitante de la velocidad es la formación del ion carbonio). La especificidad del ácido fue tal, que los enlaces entre las dos unidades acetiladas (A-A) y entre una acetilada y una unidad de desacetilizada (A-D), se rompieron tres veces más rápido con respecto a los otros dos enlaces (D-A y D-D).

### **Cuantificación por HPLC de Hidrolizados de Quitosano.**

Para la cuantificación de glucosamina hidrociorada (GlcHCl) a partir de los hidrolizados de quitosano se utilizó el mismo estándar comercial que se utilizó con los hidrolizados de quitinas (Anexo 1). Los cromatogramas más representativos de los hidrolizados de quitosanos de jaiba y comerciales, se muestran en la Figura 12.





a) Solvente; b) GlcHCl

**Figura 12.** Cromatogramas de GlcHCl obtenidos de los hidrolizados de quitosanos de jaiba y comercial por análisis de HPLC.

De igual manera que en los hidrolizados de quitina, en todas las muestras se encontró la presencia de GlcHCl (Tabla 9), detectando variaciones en la concentración dependiendo del tipo y procedencia de polímero ya sea de jaiba o comercial. Nuevamente, el pico (a) corresponde al frente de solvente, este pico se hace notar mayormente su intensidad como se ve en la figura, y el pico (b) que se encuentra entre 5-5.5 minutos aproximadamente corresponde a la GlcHCl.

En adición, los porcentajes de pureza de las muestras hidrolizadas tanto de jaiba como comerciales, variaron en un rango de 5.72 a 25.46%, sobresaliendo el quitosano comercial tratado con una proporción de 1:20 (polímero:ácido) a 70°C (Tabla 9).

**Tabla 9.** Concentración y Pureza de GlcHCl obtenida en hidrolizados de quitosanos de jaiba y comerciales

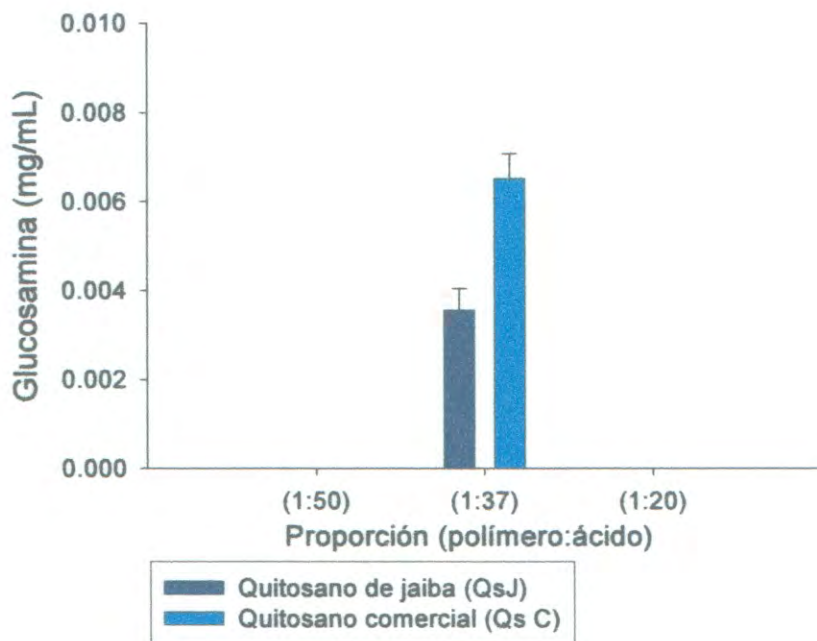
Polímero	Proporción (Polímero:ácido)	Temp. (°C)	Concentración de GlcHCl (mg/ml)	Pureza (%)
Qs J	1:50	70	0.8 ± 0.0	6.53 ± 0.0
Qs J	1:37	70	2.3 ± 0.0	13.61 ± 0.0
Qs J	1:20	70	4.7 ± 0.1	25.46 ± 0.0
Qs J	1:50	50	1.8 ± 0.0	9.34 ± 1.7
Qs J	1:37	50	4.7 ± 0.1	23.37 ± 0.0
Qs J	1:20	50	4.1 ± 0.4	21.21 ± 0.2
Qs C	1:50	70	4.8 ± 0.3	19.56 ± 0.5
Qs C	1:37	70	1.4 ± 0.4	21.43 ± 0.0
Qs C	1:20	70	5.3 ± 0.1	24.43 ± 0.5
Qs C	1:50	50	2.8 ± 0.0	12.70 ± 0.2
Qs C	1:37	50	1.7 ± 0.2	9.11 ± 0.0
Qs C	1:20	50	0.3 ± 0.0	5.72 ± 0.0

**Qs J=** quitosano de jaiba; **Qs C=** quitosano comercial

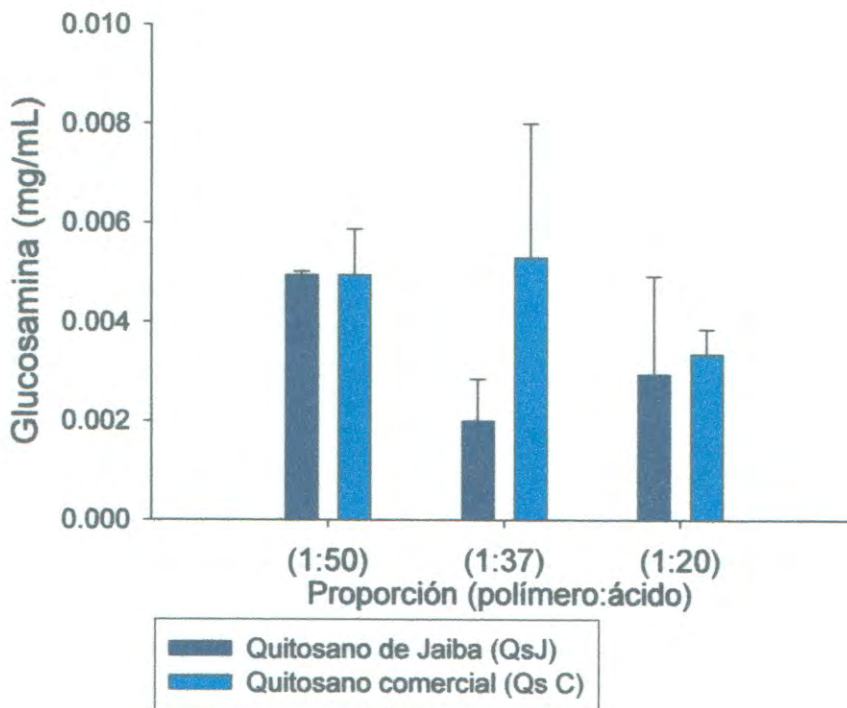
Por otro lado, al precipitar las fracciones ácidas hidrolizadas se encontraron variaciones entre las quitinas y los quitosanos, observando formación de precipitados sólo en los tratamientos con quitosano, en particular en las reacciones llevadas a cabo a 70°C, probablemente a 50°C la hidrólisis no fue completa y sólo se formaron mezclas de macromoléculas y productos de bajo peso molecular, que no fueron detectados por el equipo de HPLC ya que la técnica utilizada fue específica para la cuantificación de GlcHC y los productos de hidrólisis contienen una mezcla de oligómeros, monómeros y ácido acético (Novikov, 2004).



Sin embargo hubo un tratamiento a 50°C donde se observó precipitación al utilizar la proporción 1:37 (Figura 13), mientras que a 70°C precipitaron los tres tratamientos (Figura 14). No obstante, las cantidades obtenidas de glucosamina fueron mínimas (0.2 a 0.58 mg/ml) comparadas con las cantidades obtenidas a partir de las muestras sin precipitar. Lo anterior indica que la GlcHCl se continuó degradando durante el tiempo que permaneció en la solución ácida a temperaturas de refrigeración, imposibilitando su precipitación y posterior cuantificación.



**Figura 13.** Precipitado de la fracción líquida de la hidrólisis de quitosanos a 50°C.



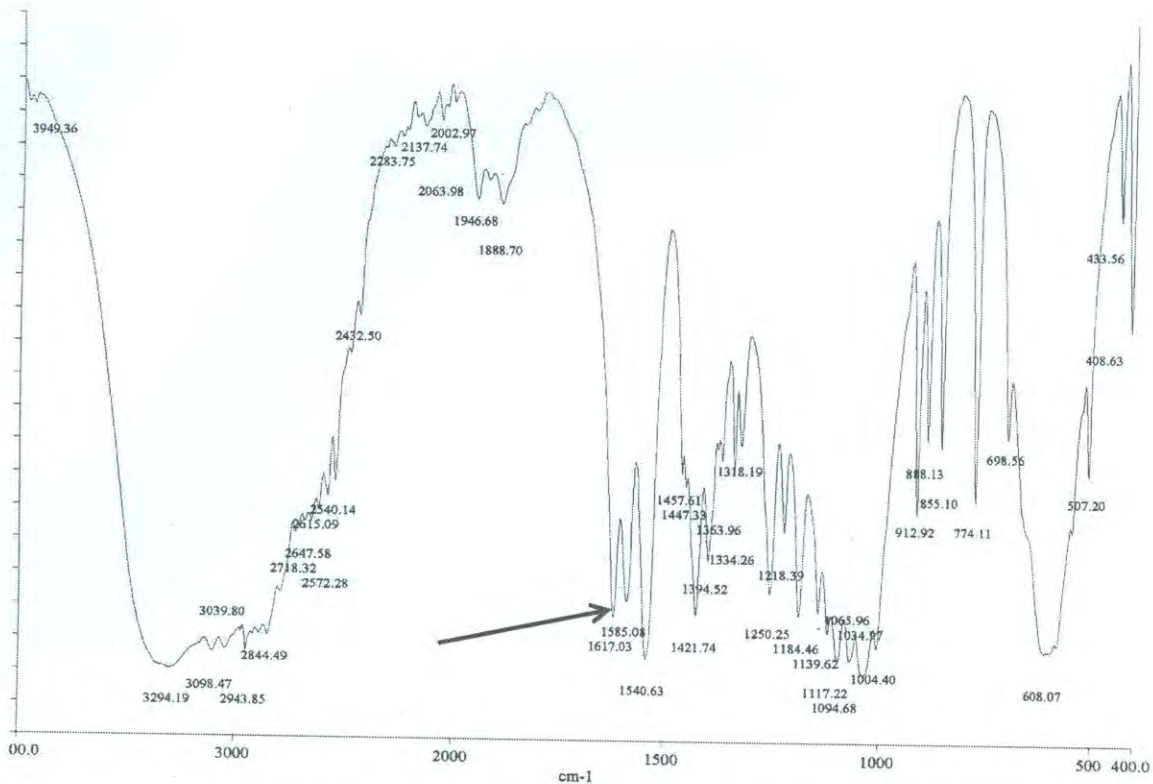
**Figura 14.** Precipitado de la fracción líquida de la hidrólisis de quitosanos a 70°C.

### Análisis por FT-IR

En esta sección se muestra una selección de los espectros más representativos de cada tratamiento tanto quitinas como quitosanos, ya sean de jaiba o comerciales; se escogieron los que arrojaron mayores rendimientos en el análisis de HPLC, es decir, todos a temperaturas de 70°C, y proporciones polímero:solvente de 1:50 y 1:20, el resto de los espectros se encuentran en la sección de anexos (Anexo 5).

En todos los espectros obtenidos por el análisis de FT-IR, se encuentra un pico característico que absorbe alrededor de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , el cual se le atribuye al grupo amino (Mojarrad, 2007), como se muestra en el espectro de GlcHCl comercial (Figura 15).





**Figura 15.** Espectro de infrarrojo de GlcHCl comercial.

Sin embargo el análisis se llevó a cabo estando las muestras en solución ácida con HCl al 10%, es decir, sin ser neutralizadas todavía, por lo que se afectó su determinación al no detectarse los picos definidamente.

Este hecho se puede atribuir a que durante la reacción de hidrólisis, las cadenas poliméricas de los compuestos quitinosos de jaiba y comerciales, se fueron degradando de tal manera, que los que había en la solución ácida era una mezcla de una gran diversidad de oligómeros de diferente tamaño y peso molecular por lo que los diferentes oligómeros absorben en regiones distintas (Novikov, 2004). En la mayoría de los espectros, se observa el pico más ancho característico a los  $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a los estiramientos del enlace O-H (Cesteros-Iturbide, 2004).

Las variaciones en el tamaño y ensanchamiento de los picos se pueden deber a que las moléculas cuando se someten a una espectroscopia de infrarrojo poseen movimiento vibracional continuo.

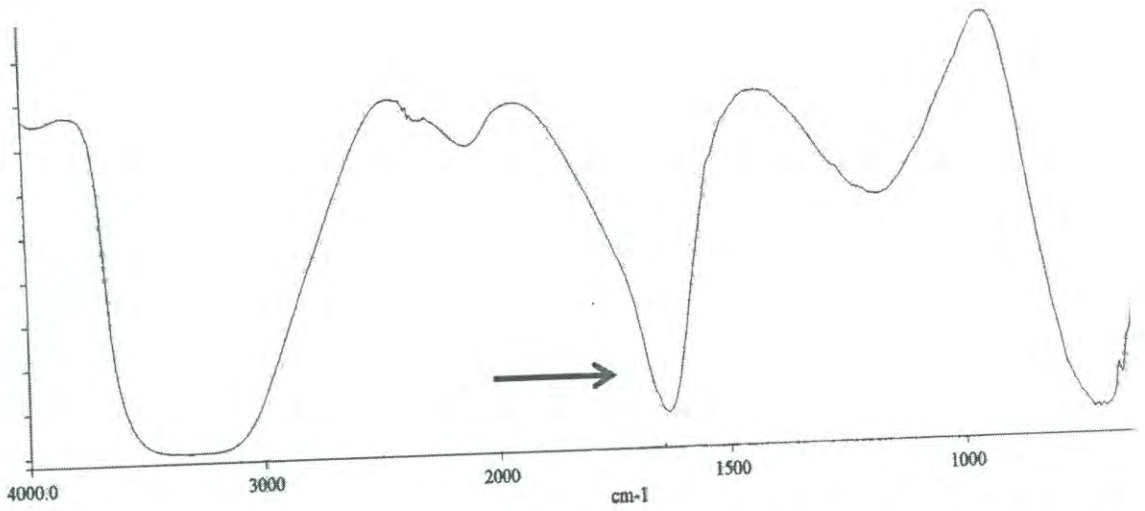
En términos generales, las vibraciones pueden ser de dos tipos: stretching (estiramiento) y bending (flexión). Las vibraciones stretching son aquellas en las que los átomos de un enlace oscilan alargando y acortando la distancia del mismo sin modificar el eje ni el ángulo de enlace, mientras que las vibraciones bending son aquellas que modifican continuamente el ángulo de enlace (Cesteros-Iturbide, 2004).

En los hidrolizados de las quitinas tanto de jaiba (Figura 16), como comercial (Figura 17) se aprecia la aparición del pico característico del grupo amino aproximadamente a  $1600\text{ cm}^{-1}$ , con ello se puede atribuir la presencia de GlcHCl en solución.

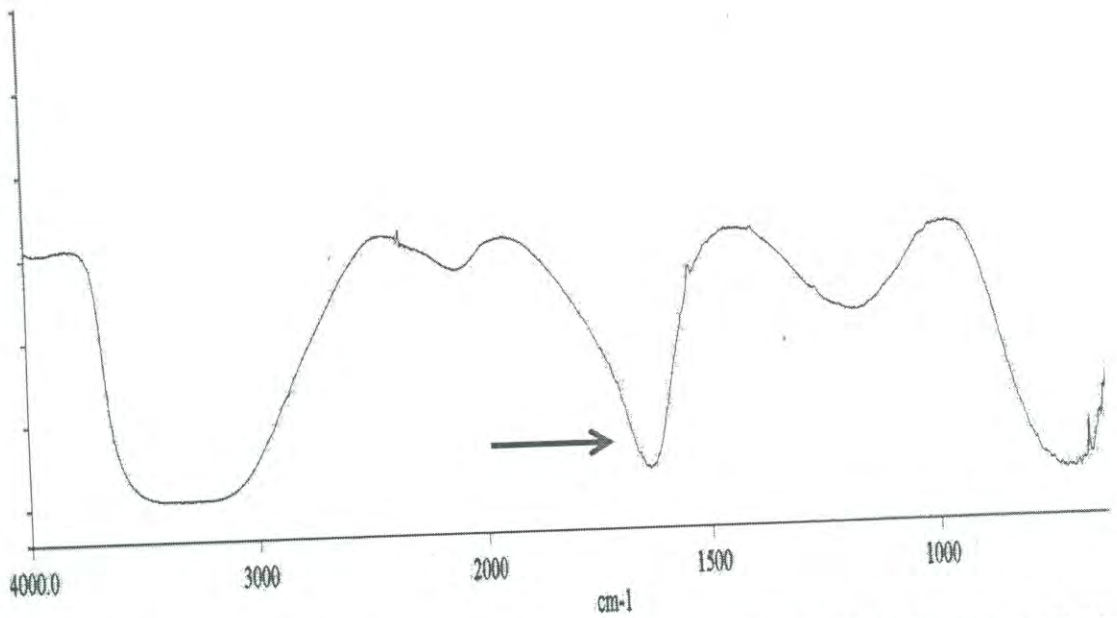
De igual forma se muestran los hidrolizados de quitosanos de jaiba (Figura 18) y comercial (Figura 19) en donde se observa la presencia de la banda ancha, aproximadamente a  $1600\text{ cm}^{-1}$ , y estas modificaciones tal vez se deban a que durante la hidrólisis a altas temperaturas ( $70^{\circ}\text{C}$ ), las moléculas del grupo amino tengan movimientos de flexión, haciendo que se vea diferente con respecto al espectro de GlcHCl, es decir más ancho.

Debido a lo anterior fue necesario hacer una neutralización, seguida de una precipitación de los hidrolizados. Sin embargo, los hidrolizados de quitina no precipitaron, a diferencia de los de quitosano que si lo hicieron aunque fueron cantidades muy pequeñas las que lograron recuperarse de 0.002 a 0.0058 mg/ml. Dichas muestras, ya neutralizadas y secas se analizaron nuevamente por HPLC como se describió anteriormente en las Figuras 13 y 14 y por análisis de FT-IR con la finalidad de encontrar picos más definidos.

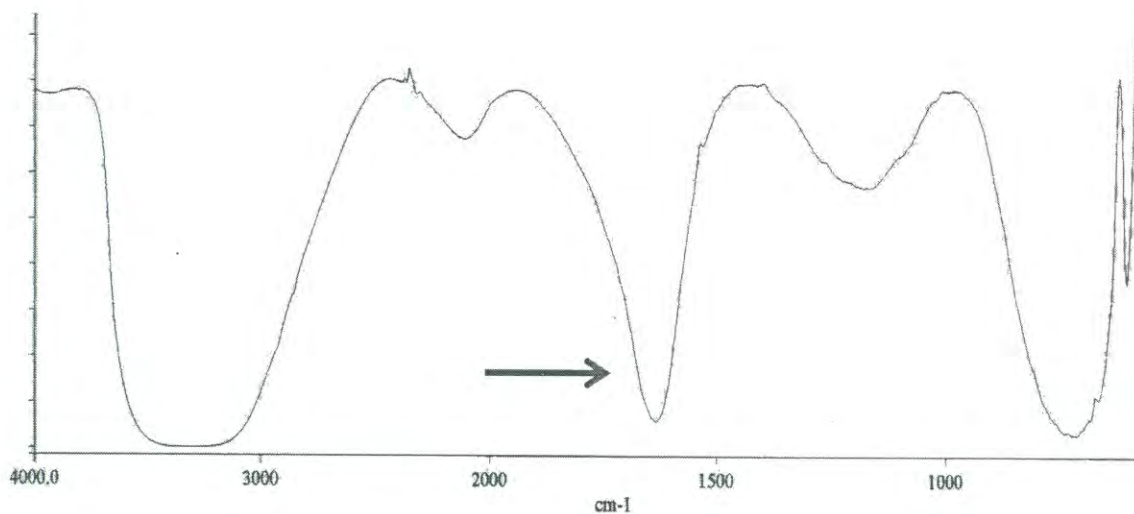




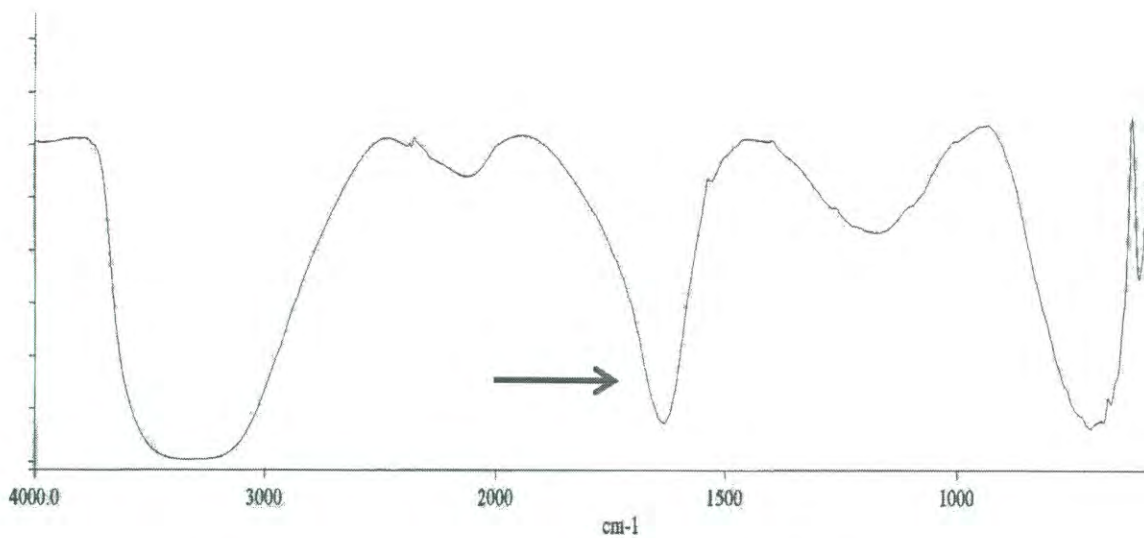
**Figura 16.** Hidrolizado de quitina de jaiba en proporción (1:50) polímero:ácido.



**Figura 17.** Hidrolizado de quitina comercial en proporción (1:50) polímero:ácido.



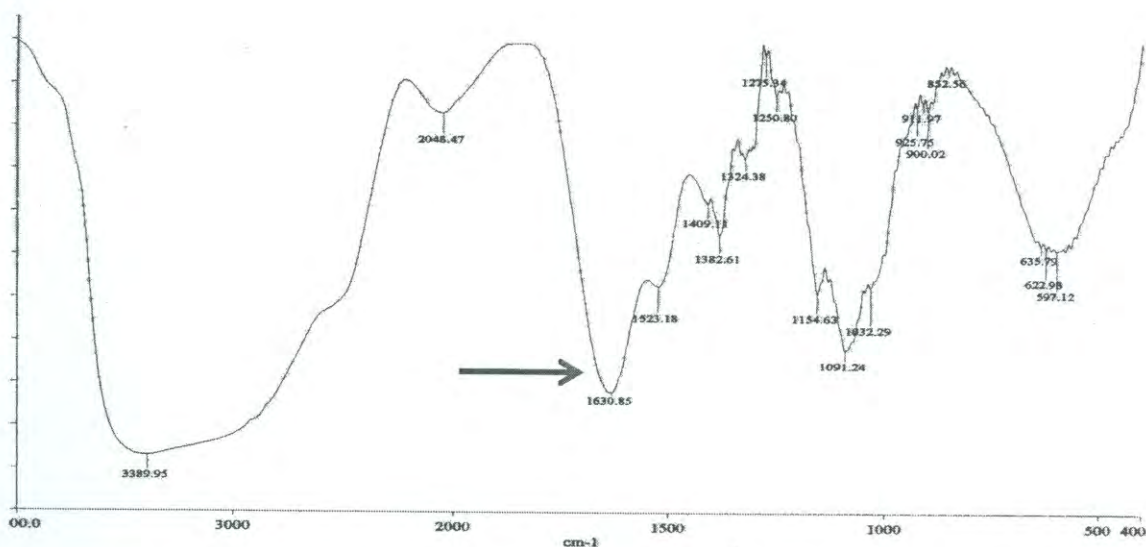
**Figura 18.** Hidrolizado de quitosano de jaiba en proporción (1:20) polímero:ácido.



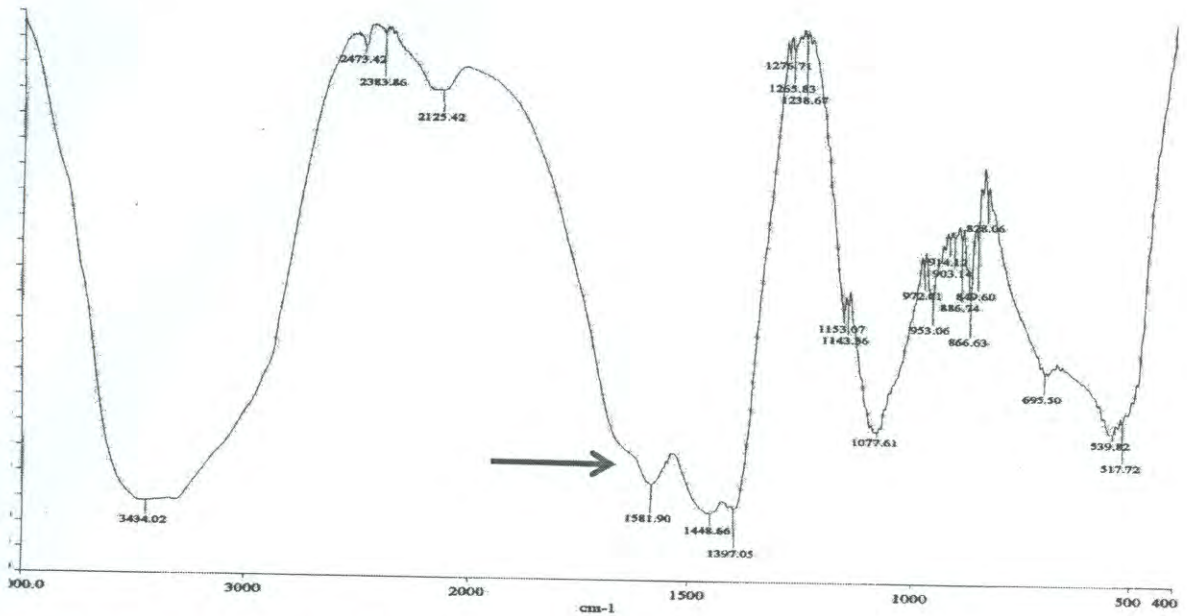
**Figura 19.** Hidrolizado de quitosano comercial en proporción (1:20) polímero:ácido.



Sin embargo se observó que en el espectro del precipitado de hidrolizado de quitosano de jaiba, no apareció el pico ancho característico que indica la presencia del grupo amino, sino que apareció el pico con cierta deformación (Figura 20 y 21). Esto se puede atribuir a dos razones, la primera puede ser que la GlcHCl se encuentre en solución y al precipitar la hayamos eliminado, y la segunda puede deberse a que se continuó degradando durante el tiempo que permaneció en la solución ácida a temperaturas de refrigeración. Por lo que se sobrentiende que el monómero se encuentra en mayor cantidad en las primeras soluciones de los hidrolizados de los polímeros, tal como se muestra en las Figuras 14, 15, 16 y 17, respectivamente.



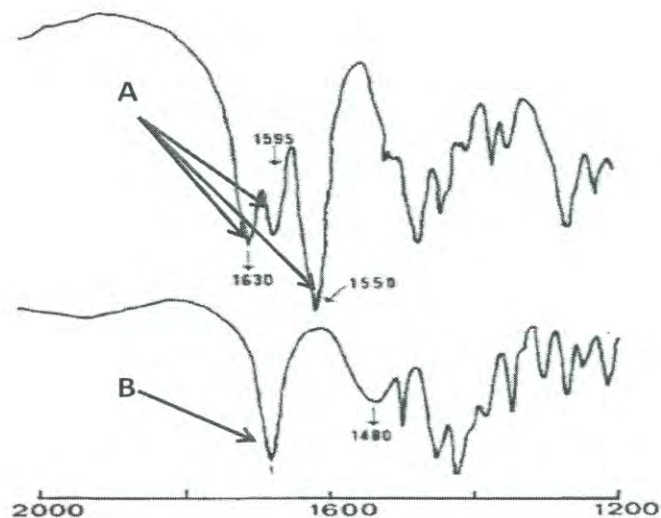
**Figura 20.** Precipitado del hidrolizado de quitosano de jaiba en proporción (1:37) polímero:ácido.



**Figura 21.** Precipitado del hidrolizado de quitosano comercial en proporción (1:20) polímero:ácido.

Estudios anteriores han reportado que cuando la glucosamina en estado sólido, se mezcla con pastillas de KBr para su análisis de FT-IR, se modifica la banda característica del grupo amino (Figura 22), emitiendo una sola banda más ancha y no las 2 bandas en forma de “tijera” que normalmente aparecen en el espectro original, a una longitud de onda alrededor de los  $1621\text{ cm}^{-1}$  (Pusino y col., 1989). En resumen podemos agregar que el análisis de FT-IR de las muestras sin precipitar, arrojó espectros muy similares entre sí, presentando una banda ancha alrededor de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo amino. Sin embargo las muestras estaban en solución acida, lo cual hace que se generen compuestos que interfieren en el análisis, ya que no se tienen glucosamina pura y por lo tanto no se observan claramente las bandas características. Por lo anterior para confirmar estos resultados fue necesario precipitar las muestras y volver a analizarlas por FT-IR con la finalidad de obtener muestras de glucosamina pura y no tener interferencias de ningún tipo.





**Figura 22.** Espectro de infrarrojo A) GlcHCl y B) GlcHCl con pastillas de KBr. Fuente, Pusino y col., 1989.

En los espectros obtenidos de muestras precipitadas se observa claramente la banda que absorbe alrededor de  $1600\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo amino, indicando con ello, que la depolimerización utilizada fue efectiva para la obtención de GlcHCl.

## CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos, se concluye que los objetivos planteados se cumplieron de manera satisfactoria ya que se obtuvo quitina, quitosano y glucosamina a partir del desecho de jaiba.

En la hidrólisis ácida de quitina y quitosano a 70°C, las proporciones polímero: solvente de 1:50 y 1:20 permitieron obtener mayor concentración de GlcHCl. Asimismo, las quitinas y quitosanos obtenidos a partir de desecho de jaiba favorecieron una mayor obtención del monómero con respecto a los polímeros de grado comercial.

El estudio de la hidrólisis ácida de quitina y quitosano por HPLC muestra una acumulación de oligómeros y monómeros de la quitina y el quitosano, la obtención de dichos productos de bajo peso molecular se desacelera con el aumento del grado de desacetilación de los productos quitinosos, por lo que se puede añadir que entre mayor sea el grado de desacetilación, mayor será la concentración de glucosamina.

Sin embargo, esta dependencia será sólo de las condiciones experimentales de hidrólisis ácida. Por lo tanto, los procesos de desproteización y desmineralización para la obtención de quitina se deben realizar con cuidado para evitar desacetilación descontrolada, que puede afectar el rendimiento de los productos finales, el quitosano y desde luego el monómero de GlcHCl.

Los productos obtenidos finalmente presentaron características físicas y químicas similares a las especificaciones técnicas reportadas para los productos de grado comercial, con lo que se puede concluir que es posible implementar un tratamiento sencillo que permita el aprovechamiento del desecho de jaiba generado en la región del Sur del Estado de Sonora.



## RECOMENDACIONES

Se recomienda optimizar las condiciones de hidrólisis ácida de los polímeros quitinosos (quitina y quitosano) de jaiba:

- a) Aumentar el rango de temperatura de reacción, es decir mayor de 50°C, por lo que se esperaría que hubiera una mayor hidrólisis de la cadena polimérica.
- b) Diferentes tiempos de reacción, ya sean mayores o menores, a fin de ir monitoreando los diferentes cambios en la degradación de los polímeros al estar en contacto con el HCl.
- c) Diferentes concentraciones de ácido, podrían ser mayores al 10%, para obtener rendimientos mayores de los productos finales debido a una mayor hidrólisis.

Asimismo se recomienda llevar acabo ensayos realizando precipitaciones inmediatamente después de concluir el tiempo de hidrólisis, para evitar la formación de compuestos diferentes a la glucosamina, es decir productos de la degradación del monómero.

Realizar una purificación parcial de las muestras tanto sólidas como líquidas, a fin de mejorar la resolución de los espectros de FT-IR y cromatogramas de HPLC.

## BIBLIOGRAFÍA

- AOAC.** 1990. Official methods of analysis of AOAC International. 15th ed. Arlington, Virginia: AOAC International.
- Archer, M. y Russell, D.** 2007. Crustacea processing waste Management. Seafish Research and Development. Pp: 1-23.
- Argüelles, W., Heras A.C., Acosta, N., Galed, G., Gallardo, A, Miralles, B., Peniche, C. y Román, J.S.** 2004. Caracterización de Quitina y quitosano. En: Quitina y Quitosano: obtención caracterización y aplicaciones. 1a ed. Ed. Fondo editorial Pontificia Universidad Católica de Perú. Lima, Perú. 312.
- Arguelles, W., Goycoolea, F.M., Lizardi, J., Peniche, C. y Higuera-Ciapara, I.** 2003. Chitin and chitosan in dell network systems. Polymer Gels: Fundamentals and Applications. 833: 102-121.
- Badui, D.S.** 1993. Química de los alimentos. 3ª ed. Ed. Pearson educación. México. 180-182.
- Barclay, T.S. y Tsourounis, C.** 1998. Glucosamina. Pharmacotherapy. 32:574-579, 1998.
- Baxter, A., Dillon, M., Taylor, K.D.A. y Roberts G.A.F.** 1992. Improved method for FTIR determination of the degree of N-acetylation of chitosan. Int. J. Biol. Macromol. 14:166-9.
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea F.M., Arguelles-Monal, W., Desbrieres, J. y Rinaudo, M.** 2001. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. Polymer. 42: 3559-80.
- Cabrera, J.C. y Van C.P.** 2005. Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of chitosan. Biochemical Engineering Journal. 25(2):165-172.
- Cesteros-Iturbe, L.C.** 2004. Aplicaciones de la FTIR al estudio de las interacciones polímero-polímero. Revista Iberoamericana de Polímeros. 5(3):111-132.
- Chebotok, E.N., Novikov, V. Yu., y Konovalova, I.N.** 2006. Depolymerization of Chitin and Chitosan in the Course of Base Deacetylation. Journal of Applied Chemistry. Russia. 79(7): 1162-1166. Daum, G., Stober, H., Veltrup, K.,



- Meinhardt, F. and Bisping, B. 2007. Biotechnological process for chitin recovery out of shrimp waste. *Journal of Biotechnology*. 131: S188-S188.
- Domard, A.**, y Rinaudo, M. 1983. Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *Int J Biol Macromol*. 5: 49–52.
- Domard, A.** y Cartier, N. 1989. Glucosamine oligomers: 1. Preparation and characterization *International Journal of Biological Macromolecules*. 11(5): 297-302.
- Donald, L.B.** 2006. Glucosamine: an ingredient with skin and other benefits. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 5: 309–315.
- Dutta, P.K., Dutta, J.** y Tripathi, V.S. 2004. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 63: 20-31.
- Einbu, A., Naess, S.N., Elgsaeter, A., Várum, K.M.** 2004. Solution properties of chitin in alkali. *Biomacromolecules*. 5: 2048–54.
- Einbu, A., Grasdalen H., y Várum K.M.** 2007. Kinetics of hydrolysis of chitin/chitosan oligomers in concentrated hydrochloric acid. *Carbohydrate Research* 342:1055–1062.
- Galed, G., Miralles, B., Panos, I., Santiago, A. y Heras, A.** 2005. N-Deacetylation and depolymerization reactions of chitin/chitosan: Influence of the source of chitin. *Carbohydrate Polymers*. 62: 316-320.
- Gimeno, M., Ramírez-Hernández, J., Martínez-Ibarra, C., Pacheco, N., y García-Arrazola, R.** 2007. One-Solvent Extraction of Astaxanthin from Lactic Acid Fermented Shrimp Wastes. *Agricultural Food Chemistry*. 55: 10345–10350.
- Goycoolea, F., Agulló, E., y Mato, R.** 2004. Fuentes y obtención En: Quitina y quitosano: obtención caracterización y aplicaciones. Pastor, A. 1a ed. Ed. Fondo editorial Pontificia Universidad Católica de Perú. Lima, Perú. 109-130.
- Grimmett, M.J.** 2006. The chemical characterization and crop response of crustacean shell processing waste. *Canadian Journal of Plant Science*. 86: 758-758.
- Harish-Prashanth, K.V. y Tharanathan R.N.** 2007. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential. Review. *J.Food Science & Technology*. 18: 117-131.

- Healy, M.G., Romo, C.R. y Bustos, R.** 1994. Bioconversion of Marine Crustacean Shell Waste. *Resources Conservation and Recycling*. 11: 139-147.
- Healy, M., Green, A. y Healy, A.** 2003. Bioprocessing of marine crustacean shell waste. *Acta Biotechnologica*. 23: 151-160.
- Hernández, I.** 2004. La quitosana un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. 25: 97-110.
- Hua, J., Suguro, S., Hirano, S., Sakamoto, K., y Nagaoka, I.** 2005. Preventive actions of a high dose of glucosamine on adjuvant arthritis in rats. *Inflammation research*. 54: 127–132.
- Hwang, K.T., Jung, S.T., Lee, G.D., Chinnan, M.S., Park, Y.S. y Park, H.J.** 2002. Controlling molecular weight and degree of deacetylation of chitosan by response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 1876-1882.
- Ibrahim, I. I. M., Salama, M. F. y El-Banna, H. A.** 1999. Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Nahrung-Food*. 43: 418-423.
- Il'ina, A.V., Kulikov, S.N., Chalenko, G.I., Gerasimova, N.G., y Varlamov V.P.** 2008. Obtaining and Study of Monosaccharide Derivatives of Low-Molecular-Weight Chitosan. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 44 (5): 551–558.
- Khan, T.A., Peh, K.K. y Chang.** 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 5(3): 205-212.
- Kikkawa, Y., Kawada, T., Furukawa, L. y Sakuno, T.** 1990. A convenient preparation method of chitooligosaccharides by acid hydrolysis, *J. Facul. Agr., Tottori University* 26(1): 9–17.
- Koryagin, A.S., Erofeeva, E. A., Yakimovich, N. O., Aleksandrova, E. A., Smirnova, L. A. y Mal'kov, A. V.** 2006. Analysis of Antioxidant Properties of Chitosan and Its Oligomers. *Pharmacology y Toxicology*. 142 (4): 461-463.
- Krajewska, B.** 2001. Diffusional properties of chitosan hydrogel membranes. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 76: 636-642.
- Kurita, K.** 2001. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Prog. Polym. Sci.,Tokio, Japan*. 26(9): 1921-1971.



- Larez, V.C.** 2003. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4(2): 91-97.
- Larez, V.C.** 2006. Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Artículo divulgativo*. 1(2):15-21.
- Larez, V.C.** 2008. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*. Venezuela. 8(1): 1-22.
- LEE, O'C.** Cultivo de Crustáceos. 1996. Edición: Pri. 450p.
- Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W., y Goosen M.F.A.** 1992. Applications and properties of chitosan. *J. Bioact. Compat. Polym.* 7: 370-97.
- Mármol, Z., Gutiérrez, E., Paéz, G., Ferrer, J y Rincón, M.** 2006. Desacetilación termoalcalina de quitina de conchas de camarón. *Multiciencias*, 4(2): 1-10.
- Mojarrad, J.S, Mahboob N., Masood A. y Bourbour S.** 2007. Preparation of Glucosamine from Exoskeleton of Shrimp and Predicting Production Yield by Response Surface Methodology. University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. *Rev. Journal of Agricultura and Food Chemistry*. 55: 2246-2250.
- Muzzarelli, R.A.A.** 1977. Chitin. Oxford. Pergamon Press. Pp:326
- Muzzarelli, R.A.A., Tomasetti, M., y Ilari, P.** 1994. Depolymerization of chitosans with the aid of papain. *Enz. Microb. Technol.* 16: 110–114.
- Nadarajah, K.** 2005. Development and characterization of antimicrobial edible films from crawfish chitosan. University and Agricultural and Mechanical College. Louisiana State University. Baton Rouge LA. U.S.A. 8-30, 95-99.
- Nakamura, H., Masuko, K., Yudoh, K., Kato, T., Kamada, T. y Kawahara, T.** 2007. Effects of glucosamine administration on patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 27: 213–218.
- Nicol, S. y Hosie, G.W.** 1993. Chitin Production by Krill. *Biochemical Systematics and Ecology*. 21: 181-184.
- No, H.K., Kim S.D. y Meyers S.P.** (1999). Effect of physical and chemical treatments on chitosan viscosity. *Journal of Korean Soc for Chitin and Chitosan*. 4: 177-83.

- No, H.K., Lee, K.S., Kim, I.D., Park, M.J., Kim, S.D. y Meyers, S.P.** 2003. Chitosan treatment affects yield, ascorbic acid content, and hardness of soybean sprouts. *Journal of Food Science*. 68: 680-685.
- No, H.K., y Meyers, S.P.**1995. Preparation and characterization of chitin and chitosan-a review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 4(2): 27-52.
- Novikov, V. Y.** 2004. Acid Hydrolysis of Chitin and Chitosan. *Journal of Applied Chemistry*. 77(3): 490-493.
- Novikov, V. Y.** 2006. Enzymatic depolymerization of chitin and chitosan. *Journal of Peptide Science*. 12: 180-180.
- Oudor-Odote, P.M., Struszczyk, M.H., y Peter, M.G.** 2005. Characterization of chitosan from blowfly larvae and some crustaceans species from Kenyan marine waters prepared under different conditions. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*. 4(1): 99-107.
- Park, S.Y., Marsh, K.S., y Rhim, J.W.** 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films, affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*. 67(1). 194:197.
- Pastor, A.A. y Higuera I.** 2004. Generalidades. En: *Quitina y quitosano: obtención características y aplicaciones*. 1a ed. Ed. Fondo editorial Pontificia Universidad Católica de Perú. Lima, Perú.1-55.
- Patente:** Preparation of glucosamine hydrochloride. United States Patent 6486307. <http://www.freepatentsonline.com/6486307.html>
- Peña-Messina, E.** 2009. El cultivo de camarón y la calidad ambiental: ¿Cómo disminuir sus efectos nocivos en las costas de Nayarit?. *Revista Fuente*. 1: 13-17.
- Peniche, C.A.** 2006. Estudios sobre quitina y quitosana. Tesis doctoral. Universidad de La Habana, Cuba. Pp: 1-89.
- Peniche, C., Aguilar, M.R., Aranaz, I., Mayorga, A., Paños, I., Román J.S., y Tapia, C.** 2004. Aplicaciones en ciencias de la vida. En: *Quitina y quitosano: obtención características y aplicaciones*. 1ª ed. Ed. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica de Perú. Lima, Perú. Pp: 273.
- Peral, G.I.** 2003. Elementos valiosos en los residuos de industrias transformadoras de productos de la pesca: Quitina-Quitosano y sus aplicaciones. *Sustrai*. 58. Pp: 52-54.



- Peral, G.I.** 2002. Elementos valiosos en los residuos de industrias transformadoras de productos de pesca: quitina, quitosano y sus aplicaciones. 43. Pp: 69-74.
- Percot, A., Viton C. y Domard A.** 2003. Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells. *Revista Biomacromolecules*. France. 4: 12-18.
- Plascencia-Jatomea, M.** 2000. Recuperación de proteínas a partir de desechos de camarón y su aplicación en dietas para acuicultura. Universidad Autónoma. Pp: 11-13.
- Plascencia-Jatomea, M.** 2004. Estudio de la actividad antifúngica del quitosano en solución y en películas. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa. México, D.F. 4-24,71-87.
- Plascencia-Jatomea, M., Viniera, G., Olayo, R., Castillo-Ortega, M. M., y Shirai, K.** 2003. Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. *Macromol. Biosci.*, 3(10): 582-586.
- Poirier, M. y Charlet G.** 2002. Chitin fractionation and characterization in N, N-dimethylacetamide/lithium chloride solvent system. *Carbohydr Polym.* 50: 363-70.
- Proyecto de Norma Oficial Mexicana, PROY-NOM-039-PESC-2003:** Pesca responsable de jaiba en aguas de jurisdicción federal del litoral del Océano Pacífico. Especificaciones para su aprovechamiento. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Ganadería de desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Publicado en 1ª. Sección de DIARIO OFICIAL, Jueves 24 de noviembre de 2005. Pp: 54-52.
- Pusino, A., Micera, G., Premoli, A. y Gessa, G.** 1989. D-glucosamine sorption on Cu(II)-montmorillonite as the protonated and neutral species. *Clays and Clay Minerals.* 37(4): 377-380.
- Rabea, E.I., Badawy, M., Rogge, T. M., Stevens, C. V., Hofte, M., Steurbaut, W. y Smaghe, G.** 2005. Insecticidal and fungicidal activity of new synthesized chitosan derivatives. *Pest Management Science.* 61: 951-960.
- Ramírez, L., Cabrera, M., Gutiérrez, R. y Rodríguez, K.** 2000. Metodología de obtención de quitosana a bajas temperaturas a partir de quitina de langosta. *Cultivos Tropicales.* 21: 81-84.
- Ramírez-Félix, E., Singh-Cabanillas, J., Gil-López, H.A., Sarmiento-Nafate, S., Salazar-Navarro, I., Montemayor-López, G., García-Borbón, J.A., Rodríguez-**



Domínguez, G.y Castañeda-Lomas, N. 2003. La Pesquería de Jaiba (*Callinectes spp.*) en el Pacífico Mexicano: Diagnóstico y Propuesta de Regulación. SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN COMISIÓN NACIONAL DE ACUACULTURA Y PESCA INSTITUTO NACIONAL DE LA PESCA. Mazatlán, Sinaloa

**Ramírez-Coutino**, L., Marin-Cervantes, M.D., Huerta, S., Revah, S. y Shirai, K. 2006. Enzymatic hydrolysis of chitin in the production of oligosaccharides using *Lecanicillium fungicola* chitinases. *Process Biochemistry*. 41: 1106-1110.

**Rinaudo**, M., Milas M. y Le-Dung, P. 1993. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *Int J Biol Macromol*. 15: 281–285.

**Rinaudo**, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci*. 31(7): 603–632.

**Rosas-Correa**, C.O. y Navarrete, A. 2008. Parámetros poblacionales de la jaiba azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) en la bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(2): 247-253.

**Saavedra**, A. P., Guillen, A. R. T., Brauer, I. R. E., Silva, A. R. L.y Ciapara, I. H. 1998. Shrimp shell waste as a source of chitin biopolymers. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*. 48: 58-61.

**Sabnis**, S, Block LH. 1997. Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of N-deacetylation of chitosan. *Polym Bull* 39: 67-71.

**SAGARPA-OEIDRUS**. 2009. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable del Estado de Sonora. <http://www.oeidrus-sonora.gob.mx>

**Sánchez**, A., Sibaja, M., Vega-Baudrit, J. y Madrigal. 2007. Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostino (*Pleuoncodes planipes*) con potenciales aplicaciones biomédicas. *Revista iberoamericana de Polímeros*. 8: 241-267.

**Sannan**, T., Kurita, K. y Iwakura, Y. 7. 1978. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*.19: 458-459.



- Sashiwa, H., Fujishima, S., Yamano, N., Kawasaki, N., Nakayama, A., Muraki, E. y Aiba, S.** 2001. Production of N-acetyl-D-glucosamine from beta-chitin by enzymatic hydrolysis. *Chemistry Letters*. Pp: 308-309.
- Sato, K., Saimoto, H., Morimoto, M. y Shigemasa, Y.** 2003. Depolymerization of chitin and chitosan under hydrothermal conditions. *Sen-I Gakkaishi*. 59: 104-109.
- Sawitzke, A. D., Shi, H., Finco, M. F., Dunlop, D. D., Bingham, C. O., Harris, C. L., Singer, N. G., Bradley, J. D., Silver, D., Jackson, C. G., Lane, N. E., Oddis, C. V., Wolfe, F., Lisse, J., Furst, D. E., Reda, D. J., Moskowitz, R. W., Williams, H. J. y Clegg, D. O.** 2008. The Effect of Glucosamine and/or Chondroitin Sulfate on the Progression of Knee Osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 58: 3183-3191.
- Serrano, R.** 2007. El quitosano puede ser un buen regenerador del cartílago. *Diario Medico*.
- Shirai, K.** 1999. Utilización de desechos de camarón para obtención de quitina, proteínas y pigmentos por vía microbiana. Tesis Doctoral. Departamento de Biotecnología. Universidad Autonoma Metropolitana. México. 2-30, 103-110.
- Sitanggang, A.B., Ho-Shing, W, y Wang, S.S.** 2009. Determination of Fungal Glucosamine Using HPLC with 1-naphthyl Isothiocyanate Derivatization and Microwave Heating. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 14: 819-827.
- Terbojevich, M, Carraro, C. y Cosani, A.** 1988. Solution studies of the chitin-lithium chloride-N, N-dimethylacetamide system. *Carbohydr Res*;180:73–86.
- Tharanathan, R.N. y Kittur, F.S.** 2003. Chitin the undisputed biomolecule of great potencial. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1):61-87.
- Tokuyasu, K., Mitsutomi, M., Yamaguchi, I., Hayashi, K., y Mori, Y.** 2000. Recognition of Chitooligosaccharides and Their N-Acetyl Groups by Putative Subsites of Chitin Deacetylase from a Deuteromycete, *Colletotrichum lindemuthianum* *Biochemistry*. 39: 8837-8843.
- Tommeraas, K., Varum, K.M., Christensen, B.E. y Smidrod, O.** 2001. Preparation and characterization of oligosaccharides produced by nitrous acid depolymerisation of chitosans, *Carbohydr. Res*. 33(1):137–144.
- Valenzuela, J.M.A., Suárez B.J, Sánchez Z.A. y Rosas V.C.** 2002. Cultivo de camarón blanco del Golfo de México (*Litopenaeus setiferus*) en estanques de

manto freático. Memorias del II Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Limnología.

- Varum**, K.M., Ottoy, M.H. y Smidsrod, O. 2001. Acid hydrolysis of chitosans. *Carbohydr. Polym.* 46(1): 89–98.
- Vogan**, L.C., Adam, P. y Rowley, A.F. 2008. Shell disease in crustaceans – just chitin recycling gone wrong? *Environmental Microbiology.* 10: 826-835.
- Wu**, T., Zivanovic, S., Draughon, F.A., Conway, W.S. y Sams, C.E. 2005. Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53: 3888-3894.
- Xu**, D., Hein, S. y Wang, K. 2008. Chitosan membrane in separation applications. *Materials Science and Technology.* 24: 1076-1087.
- Yasutomo**, N., Hiroko, T., Yoshiharu, N., Masahisa, W., Shigeru, O. y Shigenori, K. 2003. Alkali-Induced Conversion of  $\beta$ -Chitin to  $\alpha$ -Chitin. *Biomacromolecules*, 4: 896-899.
- Young**, I. C., Hong, K. N., y Meyers, S.P. 1998. Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products. *J. Agric. Food Chem.*, 46: 3839-3843.
- Zerkak**, D., y Dougados, M. 2004. The Use of Glucosamine Therapy in Osteoarthritis. *Current Rheumatology Reports.* 6: 41–45.
- Zhang**, M.I y Tan, T. 2003. Insecticidal and fungicidal activities of chitosan and oligo-chitosan. *Journal of Bioactive and compatible polymers*, 18. 391-399.
- Zúñiga-Romero**, O. 2002. Guía de biodiversidad Vol.1, Macrofauna y algas marinas. No. 2 Crustáceos.



# ANEXOS

## ANEXO 1

### Curva estándar de GlcHCl comercial.

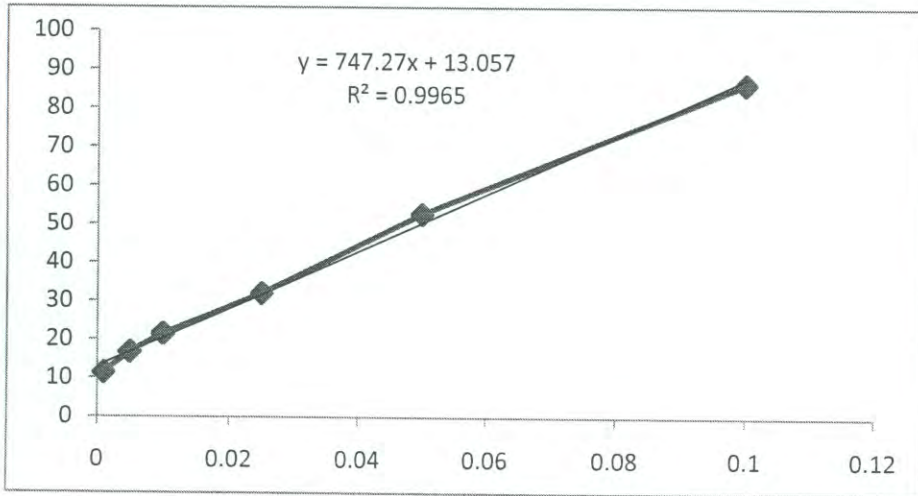
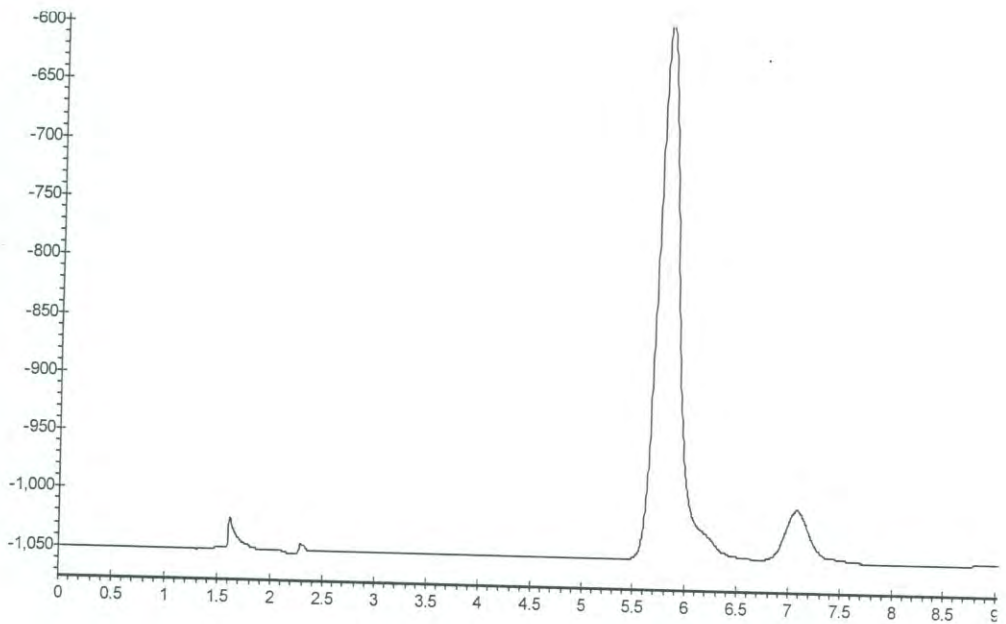


Tabla de diluciones para la curva estándar de glucosamina

Conc. (mg/mL)	Área
0.001	11.42
0.005	16.81
0.01	21.55
0.025	32.08
0.05	52.76
0.1	86.45





**Cromatograma del estándar de GlcHCl comercial.**

## ANEXO 2

### Análisis estadístico de la Etapa 1:

### Obtención y caracterización de los polímeros quitinosos.

#### Oneway (PROTEÍNA)

#### Descriptives

proteína	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					quitina lote 2	3		
quitosano lote 2	3	.1833	.06351	.03667	.0256	.3411	.11	.22
quitina lote 1	3	.2500	.06093	.03512	.0989	.4011	.21	.32
quitosano lote 1	3	.1233	.02309	.01333	.0660	.1807	.11	.15
Total	12	.2125	.09488	.02739	.1522	.2728	.11	.44

#### Test of Homogeneity of Variances

proteína	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	4.833	3	8	.033

#### ANOVA

proteína	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.050	3	.017	2.745	.113
Within Groups	.049	8	.006		
Total	.099	11			



## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable:proteina

	(I) polimero	(J) polimero	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	quitina lote 2	quitosano lote 2	.11000	.06377	.372	-.0942	.3142
		quitina lote 1	.04333	.06377	.902	-.1609	.2475
		quitosano lote 1	.17000	.06377	.107	-.0342	.3742
	quitosano lote 2	quitina lote 2	-.11000	.06377	.372	-.3142	.0942
		quitina lote 1	-.06667	.06377	.729	-.2709	.1375
		quitosano lote 1	.06000	.06377	.785	-.1442	.2642
	quitina lote 1	quitina lote 2	-.04333	.06377	.902	-.2475	.1609
		quitosano lote 2	.06667	.06377	.729	-.1375	.2709
		quitosano lote 1	.12667	.06377	.269	-.0775	.3309
quitosano lote 1	quitina lote 2	-.17000	.06377	.107	-.3742	.0342	
	quitosano lote 2	-.06000	.06377	.785	-.2642	.1442	
	quitina lote 1	-.12667	.06377	.269	-.3309	.0775	

## Homogeneous Subsets

Proteína

	polimero	N	Subset for alpha =
			0.05
Tukey HSD <sup>a</sup>	quitosano lote 1	3	.1233
	quitosano lote 2	3	.1833
	quitina lote 1	3	.2500
	quitina lote 2	3	.2933
	Sig.		.107
Tukey B <sup>a</sup>	quitosano lote 1	3	.1233
	quitosano lote 2	3	.1833
	quitina lote 1	3	.2500
	quitina lote 2	3	.2933

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

# Oneway (CENIZA)

## Descriptives

ceniza

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
quitina lote 2	3	3.3417	.69187	.39945	1.6230	5.0604	2.59	3.95
quitosano lote 2	2	2.0920	.39315	.27800	-1.4403	5.6243	1.81	2.37
quitina lote 1	3	3.3127	1.40805	.81294	-.1951	6.8105	1.81	4.61
quitosano lote 1	3	1.3120	.44077	.25448	.2171	2.4069	.96	1.81
Total	11	2.5530	1.18778	.35813	1.7550	3.3510	.96	4.61

## Test of Homogeneity of Variances

ceniza

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.713	3	7	.251

## ANOVA

ceniza

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.643	3	2.881	3.690	.070
Within Groups	5.466	7	.781		
Total	14.108	10			



## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: ceniza

	(I) biopol	(J) biopol	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	quitina lote 2	quitosano lote 2	1.24967	.80665	.461	-1.4205	3.9198
		quitina lote 1	.02900	.72149	1.000	-2.3592	2.4172
		quitosano lote 1	2.02967	.72149	.096	-.3586	4.4179
	quitosano lote 2	quitina lote 2	-1.24967	.80665	.461	-3.9198	1.4205
		quitina lote 1	-1.22067	.80665	.479	-3.8908	1.4495
		quitosano lote 1	.78000	.80665	.772	-1.8901	3.4501
	quitina lote 1	quitina lote 2	-.02900	.72149	1.000	-2.4172	2.3592
		quitosano lote 2	1.22067	.80665	.479	-1.4495	3.8908
		quitosano lote 1	2.00067	.72149	.101	-.3876	4.3889
quitosano lote 1	quitina lote 2	-2.02967	.72149	.096	-4.4179	.3586	
	quitosano lote 2	-.78000	.80665	.772	-3.4501	1.8901	
	quitina lote 1	-2.00067	.72149	.101	-4.3889	.3876	

## Homogeneous Subsets

ceniza

	biopol	N	Subset for alpha =
			0.05
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	quitosano lote 1	3	1.3120
	quitosano lote 2	2	2.0920
	quitina lote 1	3	3.3127
	quitina lote 2	3	3.3417
	Sig.		.118
Tukey B <sup>a,b</sup>	quitosano lote 1	3	1.3120
	quitosano lote 2	2	2.0920
	quitina lote 1	3	3.3127
	quitina lote 2	3	3.3417

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.667.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed

## ANEXO 3

### Análisis estadístico de la Etapa 2: Obtención y Análisis de Glucosamina Hidroclorada (GlcHCl) a partir de los Polímeros Quitinosos.

#### Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
TX1	Qn Flor	2	.0459	.00247	.00175	.0236	.0681	.04	.05
	Qn comercial	2	.0492	.00092	.00065	.0409	.0574	.05	.05
	Qs Flor	2	.0084	.00035	.00025	.0052	.0115	.01	.01
	Qs comercial	2	.0479	.00332	.00235	.0180	.0777	.05	.05
	Qs Flor precip	2	.0049	.00007	.00005	.0043	.0056	.00	.01
	Qs comercial precip	2	.0049	.00092	.00065	-.0033	.0132	.00	.01
	Total	12	.0269	.02179	.00629	.0130	.0407	.00	.05
TX2	Qn Flor	2	.0580	.00601	.00425	.0039	.1120	.05	.06
	Qn comercial	2	.0102	.00000	.00000	.0102	.0102	.01	.01
	Qs Flor	2	.0177	.00007	.00005	.0170	.0183	.02	.02
	Qs comercial	2	.0283	.00035	.00025	.0251	.0314	.03	.03
	Qs Flor precip	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Qs comercial precip	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	12	.0190	.02099	.00606	.0057	.0323	.00	.06
TX3	Qn Flor	2	.0575	.00113	.00080	.0473	.0677	.06	.06
	Qn comercial	2	.0412	.00474	.00335	-.0014	.0837	.04	.04
	Qs Flor	2	.0233	.00049	.00035	.0188	.0277	.02	.02
	Qs comercial	2	.0142	.00431	.00305	-.0246	.0529	.01	.02
	Qs Flor precip	2	.0020	.00085	.00060	-.0056	.0096	.00	.00
	Qs comercial precip	2	.0053	.00269	.00190	-.0188	.0294	.00	.01
	Total	12	.0239	.02077	.00600	.0107	.0371	.00	.06
TX4	Qn Flor	2	.0380	.00007	.00005	.0373	.0386	.04	.04
	Qn comercial	2	.0339	.00141	.00100	.0212	.0466	.03	.03
	Qs Flor	2	.0472	.01471	.01040	-.0849	.1793	.04	.06
	Qs comercial	2	.0173	.00191	.00135	.0001	.0344	.02	.02
	Qs Flor precip	2	.0036	.00332	.00235	-.0263	.0334	.00	.01
	Qs comercial precip	2	.0080	.00156	.00110	-.0060	.0220	.01	.01
	Total	12	.0246	.01740	.00502	.0136	.0357	.00	.06
TX5	Qn Flor	2	.0350	.00035	.00025	.0318	.0381	.03	.04
	Qn comercial	2	.0331	.00255	.00180	.0102	.0560	.03	.03
	Qs Flor	2	.0465	.00113	.00080	.0363	.0567	.05	.05
	Qs comercial	2	.0530	.00127	.00090	.0416	.0644	.05	.05
	Qs Flor precip	2	.0294	.00198	.00140	.0116	.0472	.03	.03
	Qs comercial precip	2	.0034	.00049	.00035	-.0011	.0078	.00	.00
	Total	12	.0334	.01643	.00474	.0229	.0438	.00	.05
TX6	Qn Flor	2	.0474	.00071	.00050	.0410	.0538	.05	.05
	Qn comercial	2	.0145	.00523	.00370	-.0325	.0615	.01	.02
	Qs Flor	2	.0412	.00389	.00275	.0062	.0761	.04	.04
	Qs comercial	2	.0031	.00028	.00020	.0006	.0056	.00	.00
	Qs Flor precip	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Qs comercial precip	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	12	.0177	.02047	.00591	.0047	.0307	.00	.05



### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TX1	Between Groups	.005	5	.001	328.690	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.005	11			
TX2	Between Groups	.005	5	.001	159.135	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.005	11			
TX3	Between Groups	.005	5	.001	111.535	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.005	11			
TX4	Between Groups	.003	5	.001	15.782	.002
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.003	11			
TX5	Between Groups	.003	5	.001	259.359	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.003	11			
TX6	Between Groups	.005	5	.001	127.115	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.005	11			

### Homogeneous Subsets

#### TX1

MUESTRA		N	Subset for alpha = .05	
			1	2
Tukey HSD <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0049	
	Qs comercial precip	2	.0049	
	Qs Flor	2	.0084	
	Qn Flor	2		.0459
	Qs comercial	2		.0479
	Qn comercial	2		.0492
	Sig.		.474	.500
Tukey B <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0049	
	Qs comercial precip	2	.0049	
	Qs Flor	2	.0084	
	Qn Flor	2		.0459
	Qs comercial	2		.0479
	Qn comercial	2		.0492

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

TX2

MUESTRA	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	
Tukey HSD <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0000			
	Qs comercial precip	2	.0000			
	Qn comercial	2		.0102		
	Qs Flor	2		.0177		
	Qs comercial	2			.0283	
	Qn Flor	2				.0580
	Sig.		1.000	.142	1.000	1.000
Tukey B <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0000			
	Qs comercial precip	2	.0000			
	Qn comercial	2		.0102		
	Qs Flor	2		.0177		
	Qs comercial	2			.0283	
	Qn Flor	2				.0580

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

TX3

MUESTRA	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	
Tukey HSD <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0020				
	Qs comercial precip	2	.0053	.0053			
	Qs comercial	2		.0142	.0142		
	Qs Flor	2			.0233		
	Qn comercial	2				.0412	
	Qn Flor	2					.0575
	Sig.		.850	.139	.126	1.000	1.000
Tukey B <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0020				
	Qs comercial precip	2	.0053	.0053			
	Qs comercial	2		.0142	.0142		
	Qs Flor	2			.0233		
	Qn comercial	2				.0412	
	Qn Flor	2					.0575

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.



TX4

MUESTRA		N	Subset for alpha = .05		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0036		
	Qs comercial precip	2	.0080		
	Qs comercial	2	.0173	.0173	
	Qn comercial	2		.0339	.0339
	Qn Flor	2		.0380	.0380
	Qs Flor	2			.0472
	Sig.		.359	.104	.383
Tukey B <sup>a</sup>	Qs Flor precip	2	.0036		
	Qs comercial precip	2	.0080		
	Qs comercial	2	.0173	.0173	
	Qn comercial	2		.0339	.0339
	Qn Flor	2		.0380	.0380
	Qs Flor	2			.0472

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

TX5

MUESTRA		N	Subset for alpha = .05				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD <sup>a</sup>	Qs comercial precip	2	.0034				
	Qs Flor precip	2		.0294			
	Qn comercial	2		.0331			
	Qn Flor	2		.0350			
	Qs Flor	2			.0465		
	Qs comercial	2				.0530	
	Sig.		1.000	.069	1.000	1.000	
Tukey B <sup>a</sup>	Qs comercial precip	2	.0034				
	Qs Flor precip	2		.0294			
	Qn comercial	2		.0331	.0331		
	Qn Flor	2			.0350		
	Qs Flor	2				.0465	
	Qs comercial	2					.0530

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

## TX6

MUESTRA	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup> Qs Flor precip	2	.0000		
Qs comercial precip	2	.0000		
Qs comercial	2	.0031		
Qn comercial	2		.0145	
Qs Flor	2			.0412
Qn Flor	2			.0474
Sig.		.842	1.000	.307
Tukey B <sup>a</sup> Qs Flor precip	2	.0000		
Qs comercial precip	2	.0000		
Qs comercial	2	.0031		
Qn comercial	2		.0145	
Qs Flor	2			.0412
Qn Flor	2			.0474

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.



## ANEXO 4

### Análisis estadístico de la Etapa 2:

### Obtención y Análisis de Glucosamina Hidroclorada (GlcHCl) a partir de los Polímeros Quitinosos.

## ANÁLISIS DE VARIANZA UNIVARIADO

Advertencias La prueba post hoc no se realizó para TEMP porque hay menos de tres grupos

#### Factores entre sujetos

		N
POLIM	1.00	12
	2.00	12
	3.00	12
	4.00	12
PROP	1.00	16
	2.00	16
	3.00	16
TEMP	50.00	24
	70.00	24

#### Prueba de efectos entre sujetos

Dependent Variable: CONC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.155E-02 <sup>a</sup>	23	5.020E-04	32.431	.000
Intercept	5.898E-02	1	5.898E-02	3810.113	.000
POLIM	2.651E-03	3	8.838E-04	57.089	.000
PROP	6.208E-04	2	3.104E-04	20.050	.000
TEMP	3.781E-05	1	3.781E-05	2.442	.131
POLIM * PROP	2.255E-03	6	3.759E-04	24.281	.000
POLIM * TEMP	3.861E-03	3	1.287E-03	83.127	.000
PROP * TEMP	3.793E-04	2	1.896E-04	12.250	.000
POLIM * PROP * TEMP	1.742E-03	6	2.904E-04	18.756	.000
Error	3.715E-04	24	1.548E-05		
Total	7.090E-02	48			
Corrected Total	1.192E-02	47			

a. R Squared = .969 (Adjusted R Squared = .939)

## Pruebas de Post Hoc

### POLIM (Polímeros)

#### Comparaciones múltiples

Dependent Variable: CONC

Tukey HSD

(I) POLIM	(J) POLIM	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	1.160E-02*	1.606E-03	.000	7.169E-03	1.603E-02
	3.00	1.625E-02*	1.606E-03	.000	1.182E-02	2.068E-02
	4.00	1.967E-02*	1.606E-03	.000	1.524E-02	2.410E-02
2.00	1.00	-1.1600E-02*	1.606E-03	.000	-1.6031E-02	-7.1689E-03
	3.00	4.650E-03*	1.606E-03	.037	2.189E-04	9.081E-03
	4.00	8.067E-03*	1.606E-03	.000	3.636E-03	1.250E-02
3.00	1.00	-1.6250E-02*	1.606E-03	.000	-2.0681E-02	-1.1819E-02
	2.00	-4.6500E-03*	1.606E-03	.037	-9.0811E-03	-2.1891E-04
	4.00	3.417E-03	1.606E-03	.173	-1.0144E-03	7.848E-03
4.00	1.00	-1.9667E-02*	1.606E-03	.000	-2.4098E-02	-1.5236E-02
	2.00	-8.0667E-03*	1.606E-03	.000	-1.2498E-02	-3.6356E-03
	3.00	-3.4167E-03	1.606E-03	.173	-7.8478E-03	1.014E-03

Based on observed means.

\*. The mean difference is significant at the .050 level.

## Subconjuntos Homogéneos

CONC

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

POLIM	N	Subset		
		1	2	3
4.00	12	2.727E-02		
3.00	12	3.068E-02		
2.00	12		3.533E-02	
1.00	12			4.693E-02
Sig.		.173	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.548E-05.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .050.



# PROP (Proporción)

## Comparaciones múltiples

Dependent Variable: CONC

Tukey HSD

(I) PROP	(J) PROP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-3.0125E-03	1.391E-03	.098	-6.4864E-03	4.614E-04
	3.00	5.663E-03*	1.391E-03	.001	2.189E-03	9.136E-03
2.00	1.00	3.012E-03	1.391E-03	.098	-4.6139E-04	6.486E-03
	3.00	8.675E-03*	1.391E-03	.000	5.201E-03	1.215E-02
3.00	1.00	-5.6625E-03*	1.391E-03	.001	-9.1364E-03	-2.1886E-03
	2.00	-8.6750E-03*	1.391E-03	.000	-1.2149E-02	-5.2011E-03

Based on observed means.

\*. The mean difference is significant at the .050 level.

## Subconjuntos Homogéneos

CONC

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

PROP	N	Subset	
		1	2
3.00	16	3.028E-02	
1.00	16		3.594E-02
2.00	16		3.895E-02
Sig.		1.000	.098

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.548E-05.

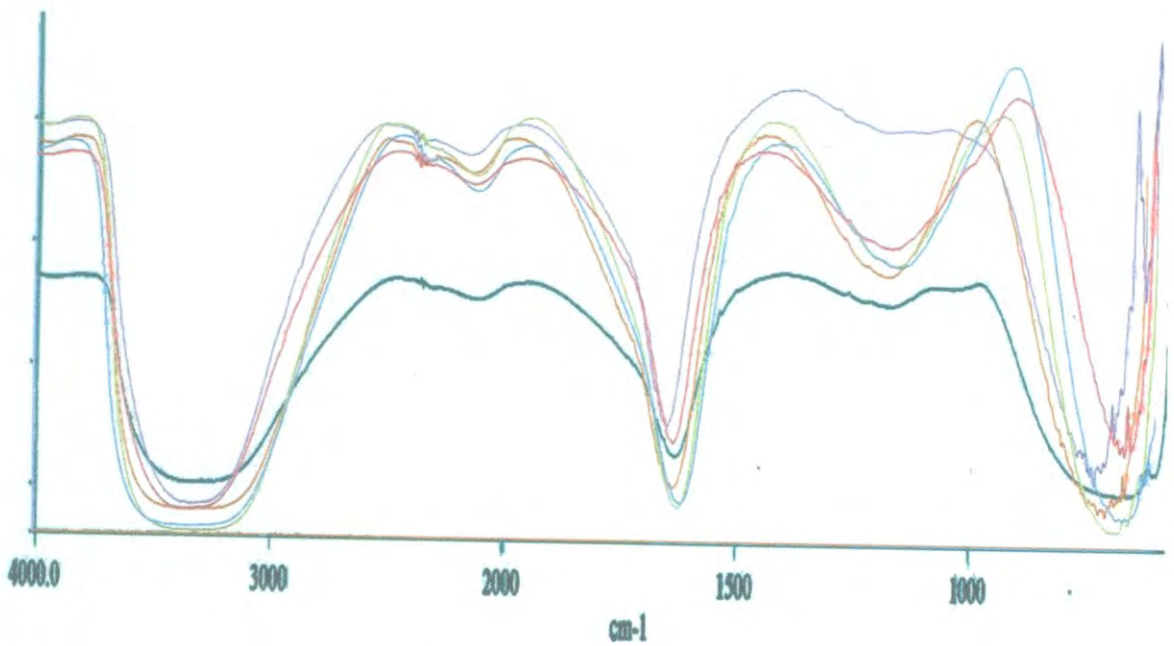
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 16.000.

b. Alpha = .050.

## ANEXO 5

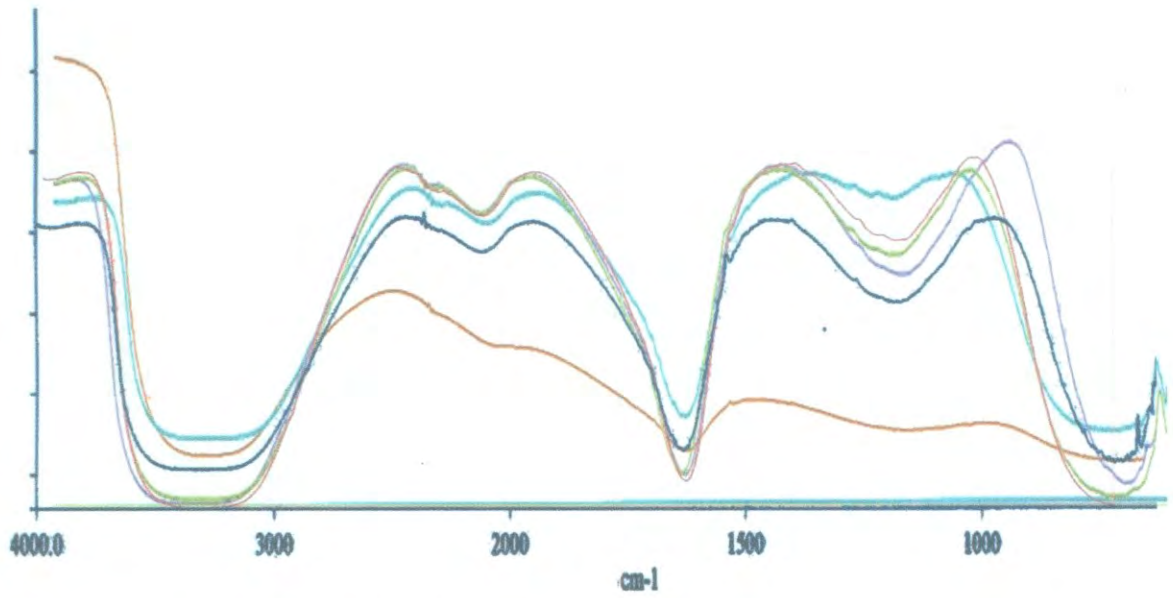
### Análisis de FT-IR de quitina y quitosano de jaiba y comerciales.

50°C, a 1:50  
70°C, a 1:50  
50°C, a 1:37  
70°C, a 1:37  
50°C, a 1:20  
70°C, a 1:20

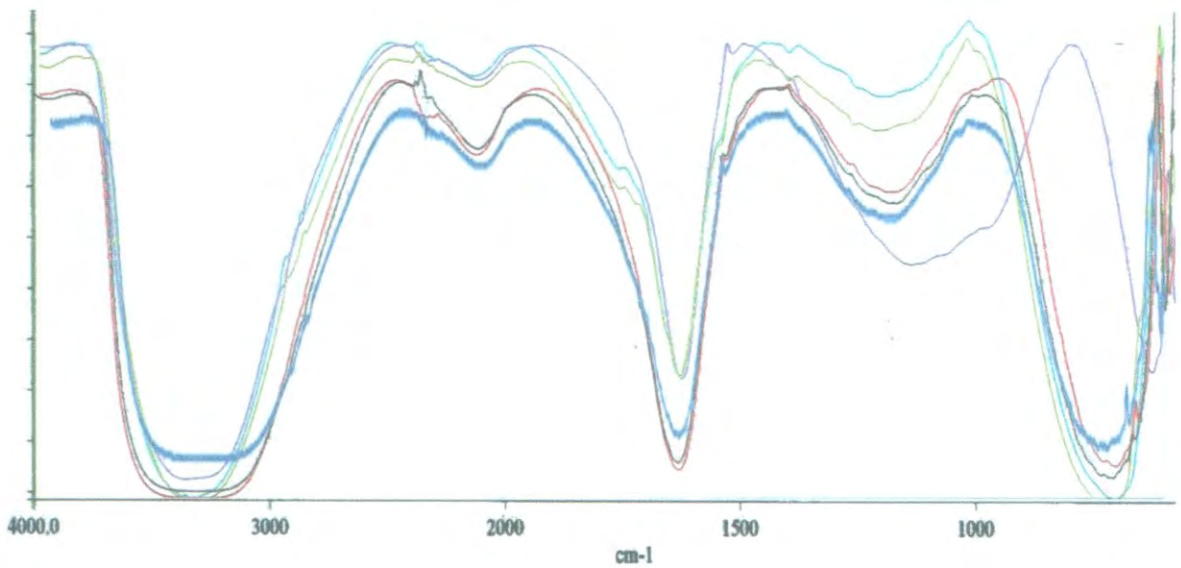


Espectros de los hidrolizados de quitina de jaiba.

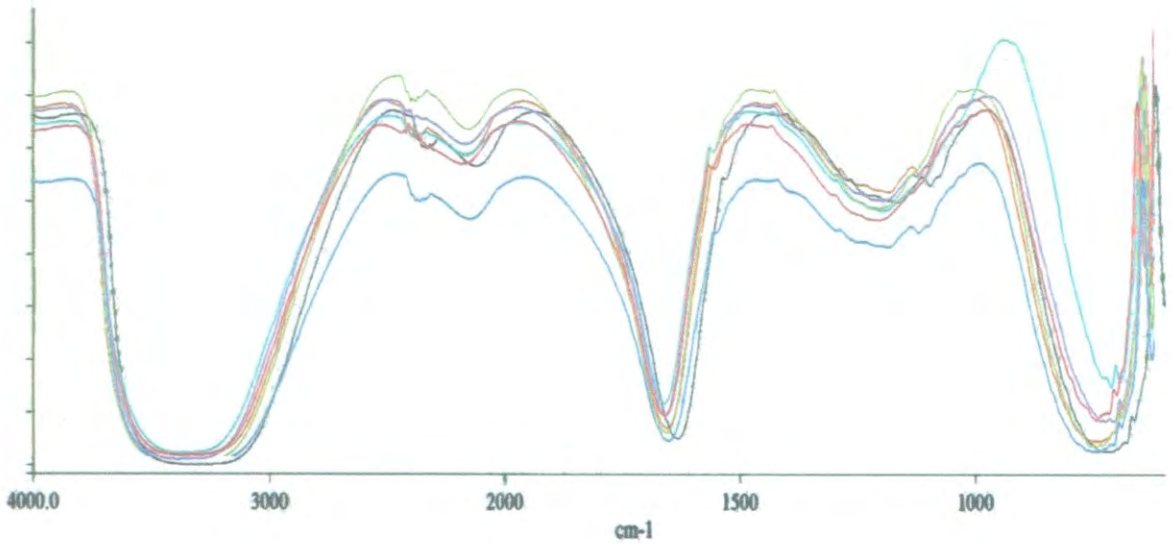




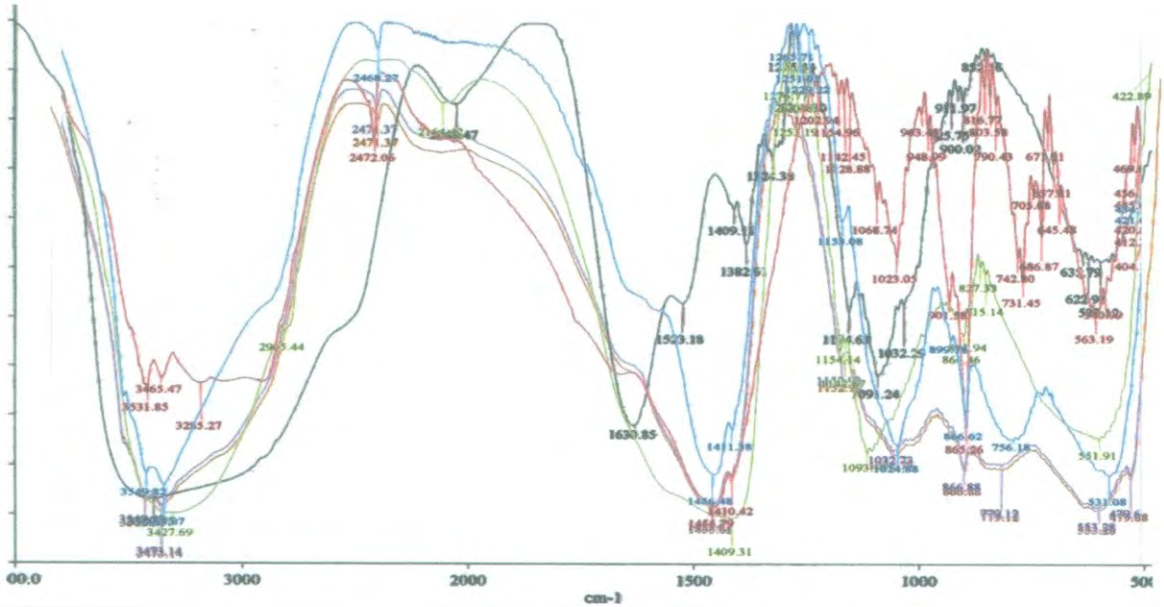
**Espectros de los hidrolizados de quitina comercial.**



**Espectros de los hidrolizados de quitosano de jaiba.**

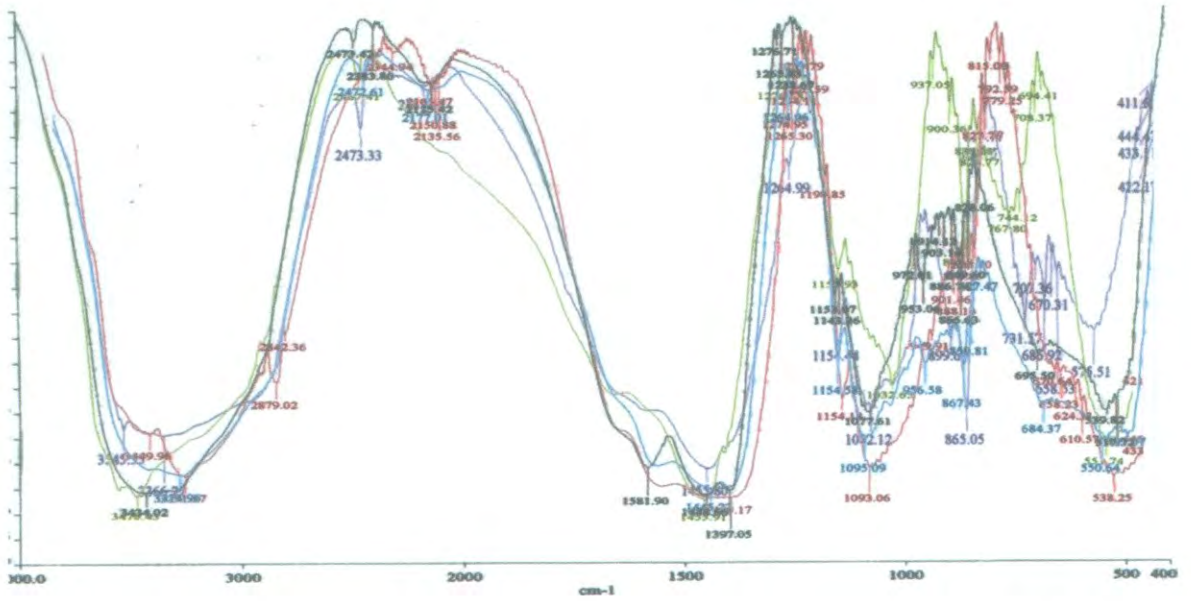


**Espectros de los hidrolizados de quitosano comercial.**



**Espectros de precipitados de los hidrolizados de quitosano de jaiba.**





**Espetros de precipitados de los hidrolizados de quitosano comercial.**

## TRABAJOS PRESENTADOS Y PUBLICACIONES

Los resultados obtenidos durante el desarrollo del presente trabajo de tesis fueron presentados en Congresos Nacionales e Internacionales. Asimismo, se escribió una memoria en extenso y un artículo de revisión el cual se encuentra en la etapa final de discusión para su envío.

### Congresos Internacionales.

1. *“Estudio de los efluentes generados en el aprovechamiento de desecho de jaiba (Callinectes arcuatus) para la obtención de quitina y quitosano”*. V Simposio Iberoamericano de Quitina. Santiago de Chile, Chile. Junio 6 - 9, 2010.
2. *“Recovery of chitinous polymers from crab (Callinectes arcuatus) waste and study of the waste waters produced”*. 60th Pacific Fisheries Technologists Conference. Portland, Oregon, USA. Febrero 22-25, 2009.
3. *“Aprovechamiento de desechos de camarón (Litopenaeus vanameii) y jaiba (Callinectes arcuatus) para la obtención y caracterización de productos quitinosos”*. First International Congress on Biotechnology and Bioengineering. México, D.F. 5-7 de Noviembre de 2008.

### Congresos Nacionales.

1. *“Recovery of chitinous polymers from crab (Callinectes arcuatus) waste and study of the waste waters produced”*. Reunión Universitaria de Investigación en Materiales, RUIM'09. Hermosillo, Sonora, México, del 2 al 4 de diciembre de 2009.
2. *“Aprovechamiento de Desechos de camarón (Litopenaeus vanameii) y jaiba (Callinectes arcuatus) para la obtención y caracterización de productos quitinosos”*. Reunión Universitaria de Investigación en Materiales, RUIM'08. Hermosillo, Sonora, México, del 3 al 5 de diciembre de 2008.



## **Memorias en extenso.**

1. *“Caracterización de efluentes del procesamiento químico de desecho de crustáceos en México para la obtención de quitina”*. Memorias de IX Taller y Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia. Isla de Pascua, Chile, del 19-23 de Octubre de 2008.

## **Artículo de revisión.**

1. *“Aprovechamiento de desechos de crustáceos para la obtención de polímeros quitinosos”*.





SIAQ

Sociedad Iberoamericana de Quitina

V Simposio Iberoamericano de Quitina  
6 - 9 de Junio de 2010, Santiago, Chile

# CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

ACREDITAMOS QUE EL TRABAJO

“ESTUDIO DE LOS EFLUENTES GENERADOS EN EL APROVECHAMIENTO DE DESECHO DE JAIBA (*Callinectes arcuatus*) PARA LA OBTENCIÓN DE QUITINA Y QUITOSANO”

PLASCENCIA-JATOMEA, R., MORENO-VILLA, F.A., LIZARDI-MENDOZA, J., MERAZ, M., GÓMEZ-ÁLVAREZ, A., PLASCENCIA-JATOMEA, M., ALMENDARIZ, F.J.

Fue presentado como contribución POSTER en el V Simposio Iberoamericano de Quitina  
Y para que así conste y surta los efectos oportunos, se expide el presente en  
Santiago, Chile, 9 Junio 2010

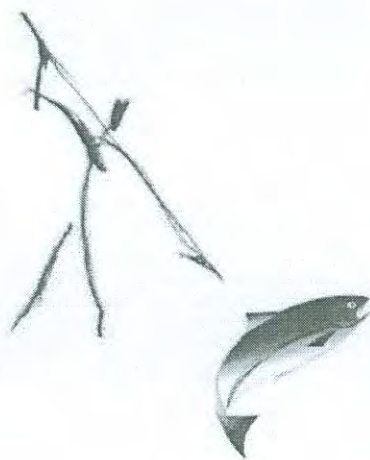
Telma Teixeira Franco  
Presidente  
Sociedad Iberoamericana de Quitina





**PFT  
2009**

**Portland  
Oregon**



**To Our Health!**

**60th  
Pacific  
Fisheries  
Technologists  
Annual Meeting**

**February 22-25, 2009  
Downtown Hilton  
Portland, Oregon**





Marketing and Consumer Education

- 17\* - Impact of Fish Consumption Advisory on Intake of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Japan - YING ZHANG. Graduate School of Environment and Information Sciences, Yokohama National University, Japan.
- 18 - Educating Consumers about Wild Domestic Shrimp - LIZ BROWN. University of Georgia Marine Extension Service.
- 19 - Consumer Attitudes towards Unfamiliar Traditional Fish Products - A Marketing Survey for Smoked Fish in Turkey - SEVIM KÖSE. Faculty of Marine Sciences, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey.
- 20 - The Change of Composition and Content of Fatty Acid in Pacific Saury during Cooking Process - CHIA-MIN LIN. Department of Seafood Science, National Kaohsiung Marine University, Taiwan, ROC.

Seafood Chemistry

- 21 - Simultaneous Determination of Ten Biogenic Amines in Fish Products by High Performance Liquid Chromatography - ZHUOPING DING. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, China.
- 22 - Taste-Active and Odorous Compounds in Chinese Mitten-Handed Crabs - KEHAI LIU. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai, China.
- 23 - Effect of Different Salinity Content on Gelation Properties of Surimi Fish Proteins during Frozen Storage - ANGEE HUNT. Oregon State University Seafood Lab, Astoria, OR.
- 24 - Determination of Biogenic Amines with HPLC-APCI-MS - TED H. WU. USDA Agricultural Research Service, University of Alaska-Fairbanks, Fairbanks, AK.
- 25 - Evidence of Aspartic Proteinase Activity in Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) Hepatopancreas - JOSE LUIS CÁRDENAS-LÓPEZ. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Sonora, Mexico.

Byproducts and Value-added Products

- 26\* - Chemical Characterization of Human-Grade Commercial Alaska Salmon Oil - TRINA LAPIS. Fishery Industrial Technology Center, Univ. of Alaska, Fairbanks, Kodiak, AK.
- 27\* - Collagen from Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) Fins and Commercial Chitosan Biofilm: Evaluation of Mechanical and Physicochemical Properties - JOE LUIS ARIAS-MOSCOSO. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México.
- 28\* - Recovery of Chitinous Polymers from Crab (*Callinectes arcuatus*) Waste and Study of the Waste Waters Produced - FLOR ANGELICA MORENO-VILLA. Depto. de Investigación y Posgrado en Alimentos, México.
- 29 - Utilizing Salmon Byproducts after Extraction of PUFA-rich Oils - CINDY BOWER. USDA Agricultural Research Service, Fairbanks, AK.



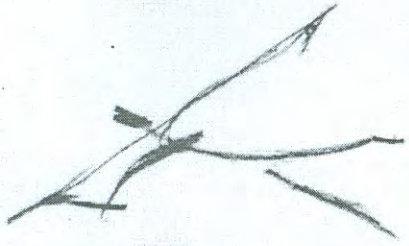
fin with 0.5 M acetic acid. The physical and mechanical properties of the ASC:Chitosan film was different to those from cellophane films. The blending of acid soluble collagen from squid fins and commercial chitosan gives the possibility to produce a new material with potential in food or biomedical applications.

## 28 - Recovery of Chitinous Polymers from Crab (*Callinectes arcuatus*) Waste and Study of the Waste Waters Produced

MORENO-VILLA, F.A.<sup>1</sup>, Plascencia-Jatomea, R.<sup>2</sup>, Díaz-Rojas, E.I.<sup>1</sup>, Almendariz, F.J.<sup>2</sup>, Lizardi-Mendoza, J.<sup>3</sup>, Ezquerro-Brauer, J.M.<sup>1</sup> and Plascencia-Jatomea, M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Depto. de Investigación y Posgrado en Alimentos; <sup>2</sup>Depto. de Ingeniería Química y Metalurgia, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n. Col. Centro. Hermosillo, Son., México; <sup>3</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora, México

Sonora is one of the States with increased production of crustaceans in Mexico, generating a large amount of by-products that can be used. Because of its high volume and slow degradation, besides the semiarid weather conditions prevailing in the region, the accumulation of such waste causes a severe problem of environmental pollution due to the high organic matter. In 2007, 68,500 Tons of shrimp were produced and 30-35% of the total weight is waste, while 70-75% of the total weight of crab is considered as waste. The chemical method is the most commonly used in the processing of crustacean byproducts for the recovery of chitinous polymers at industrial level. The process involves large amounts of HCl, NaOH, ethanol and chloroform, among others, that are added at different stages of processing, generating significant volumes of acid and basic effluents, in addition to the water used to rinse the raw material. Unfortunately, there isn't information on the treatment of effluents generated in the use of crustacean byproducts for the recovery of chitinous materials in Mexico, and the amount of effluent generated during this activity aren't well documented. The objective of this work was to establish a chemical process for the extraction of chitin and chitosan from crab waste in Sonora, and to study the physical and chemical characteristics of the effluents generated. For the treatment, the dry crab waste was washed with running water, then deproteinized with NaOH, demineralized with HCl and deacetylated with NaOH conc. At each stage, the effluents were collected in order to determine its total volume and the pH. Subsequently, samples of 1L were collected and maintained in refrigeration at 4°C, until analysis. The biopolymers were analyzed to determine their chemical composition (AOAC, 1990), molecular weight (intrinsic viscosity) and deacetylation degree (FT-IR). The analysis for the waste waters were: total and volatile suspended solids (OSH and SSV) gravimetrically, chemical oxygen demand (COD), total nitrogen Kjeldahl (NKT) and ammoniacal nitrogen (NH<sub>4</sub>); before their study, the effluents were neutralized to pH=7. The yields were 12 and 9% for chitin and chitosan, respectively, which presented good appearance and color, low protein content (<2%) and ash (<6%). The deacetylation degree of chitosan was 88%, with a molecular weight of 304 KDa. With regard to the effluents characterization, it was noted that in the stage of deproteinization there are high values of NH<sub>4</sub>, DQO<sub>total</sub>, DQO<sub>soluble</sub>, NKT and solid, comparing with the demineralization stage, where there was a reduction of about 50% in relation to the first stage. In conclusion, the used processes allowed the recovery of chitin and chitosan with good physicochemical properties, allowing give a simple treatment to the biological waste generated in the region. It was also possible to know information about the characteristics of the wastewaters, which is important for the establishment of the conditions for the degradation of these pollutants by biological treatment, which represents our next goal.





# PACIFIC FISHERIES TECHNOLOGISTS

Certificate of Recognition

Presented to

**Flor Angelica Moreno-Villa**

*Second Place Winner*

*Poster Presentation*

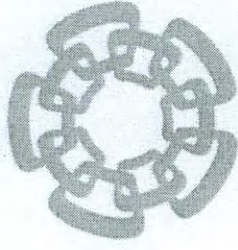
**PFT Annual Meeting February 22-25, 2009**

Recovery of Chitinous Polymers from Crab (*Callinectes arcuatus*) Waste and Study of the Waste Waters Produced"



**ICBB**  
1st 2008

**First International Congress on  
Biotechnology and Bioengineering**



**Cinvestav**

*Certificate of participation to:*

*Moreno-Villa, F.A., Cortez-Rocha, M.O., Castillo-Ortega, M.M.,  
Santacruz-Ortega, H., Graciano-Verdugo, A.Z., Plascencia-Jatomea, M.*

*For the poster presentation entitled:*

*APROVECHAMIENTO DE DESECHOS DE CAMARÓN (*Litopenaeus vanamei*)  
Y JAIBA (*Callinectes arcuatus*) PARA LA OBTENCIÓN Y  
CARACTERIZACIÓN DE PRODUCTOS QUÍMICOS*

**During "The First International Congress on Biotechnology and Bioengineering" organized by the Biotechnology and Bioengineering Department of the Center of Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute (Cinvestav), held on November 5-7, 2008 in Mexico City, México.**

*Ferd*  
Dr. Fernando Esparza García

*Honorary President*

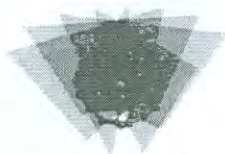
  
Dr. Héctor M. Poggi Varaldo

*Head of the Biotechnology  
and Bioengineering Department*

*Dr. Josefina Barrera Cortés*

*Congress Secretary*





RUIIM 2009

LA UNIVERSIDAD DE SONORA

A través del

Departamento de Investigación en Física

Otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

A:

Moreno-Villa, F. A., Plascencia-Jatomea, R., Díaz-Rojas, E. I., Almendariz, F. J., Lizardi-Mendoza, J., Ezquerro-Brauer, J. M., Plascencia-Jatomea, M.

Por haber presentado el CARTEL

**"RECOVERY OF CHITINOUS POLYMERS FROM CRAB (*Callinectes arcuatus*)  
WASTE AND STUDY OF THE WASTE WATERS PRODUCED"**

en la **Reunión Universitaria de Investigación en Materiales 2009**, celebrada en el Auditorio del Departamento de Física de la Universidad de Sonora, los días 2, 3, y 4 de Diciembre de 2009.

**Dr. Julio César Saucedo Morales**

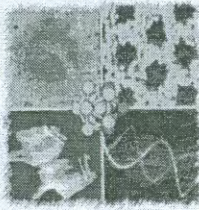
Jefe del Departamento de  
Investigación en Física

**Dr. Alvaro Posada Amarillas**  
Presidente del Comité Organizador



EL SABER DE MIS HIJOS  
HARÁ MI GRANDEZA





RUIIM 2008

# LA UNIVERSIDAD DE SONORA

A través del

Departamento de Investigación en Física

Otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

A:

*Moreno-Villa, F. A., Cortez-Rocha, M. O., Castillo-Ortega, M. M., Santacruz-Ortega, H., Graciano-Verdugo, A. Z., Plascencia-Jatomea, M.*

Por haber impartido el CARTEL

**"APROVECHAMIENTO DE DESECHOS DE CAMARÓN (*Litopenaus vanameii*) Y JAIBA (*Callinectes arcuatus*) PARA LA OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PRODUCTOS QUITINOSOS"**

en la Reunión Universitaria de Investigación en Materiales 2008, celebrada en el Auditorio del Departamento de Física de la Universidad de Sonora, los días 3, 4 y 5 de Diciembre de 2008.

**Dr. Julio César Saucedo Morales**  
Jefe del Departamento de  
Investigación en Física

**Dr. Alvaro Posada Amarillas**  
Presidente del Comité Organizador



EL SABER DE MIS HIJOS  
HARA MI GRANDEZA





International  
Water Association



# MEMORIAS

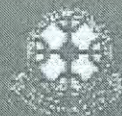
## IX Taller y Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia

Isla de Pascua, Chile • 19-23 Octubre 2008

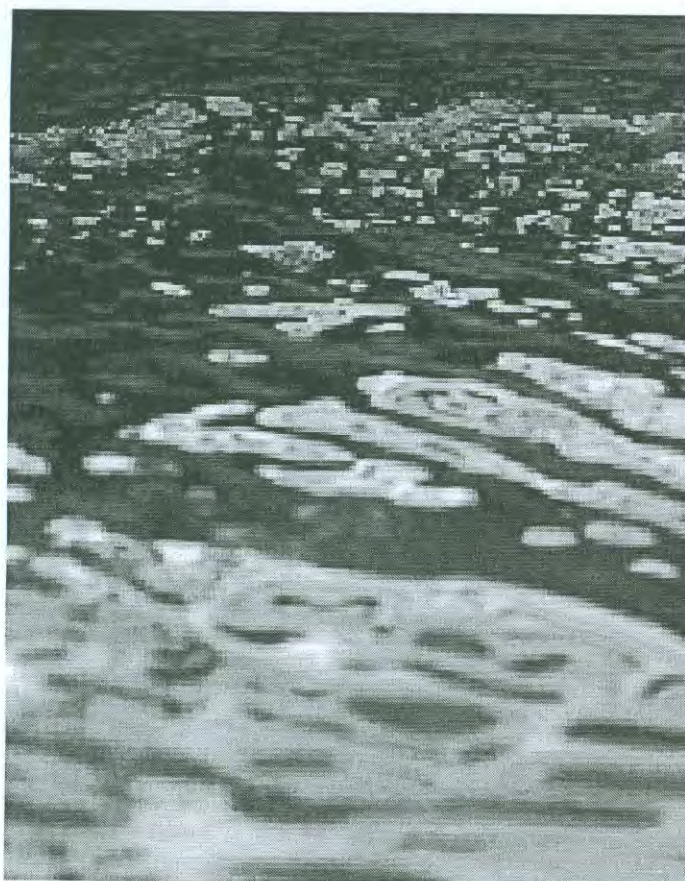
Organizadores



UNIVERSIDAD  
CATOLICA  
DE VALPARAISO



UNIVERSIDAD  
DE LA FRONTERA





**CARACTERIZACIÓN DE EFLUENTES DEL PROCESAMIENTO QUÍMICO DE DESECHO DE CRUSTÁCEOS EN MÉXICO PARA LA OBTENCIÓN DE QUITINA**

838

*Plascencia-Jatomea, R.\*; Moreno-Villa, F.A.\*\*; Diaz-Rojas, E.I.\*\*; Plascencia-Jatomea, M.\*\*; Meraz, M.\*\*\* y Almendariz, F.J.\**

Universidad de Sonora,\*Area de Biorremediación, DIQyM, \*\*DIPA. Blvd Luis Encinas \*\*\*Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F.

**DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE BTEX EM REATORES ALIMENTADOS COM ÁGUA CONTAMINADA POR GASOLINA**

841

*Gavazza, S.<sup>1</sup>; Pedroza, S.<sup>2</sup>; Florencio, L.<sup>2</sup>; Kato, M. T.<sup>2</sup>; Paim, A. P. S.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Núcleo de Tecnologia, Centro Acadêmico do Agreste; <sup>2</sup>Departamento de Engenharia Civil; <sup>3</sup>Departamento de Química Fundamental. Universidade Federal de Pernambuco.

**POTENCIAL METANOGENÉTICO E COMUNIDADE MICROBIANA ENVOLVIDA NA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA ALDICARBE**

845

*A. A. Struzziatto, D. V. Vich, M. A. T. Adorno e M. B. A. Varesche*

Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de São Carlos – Departamento de Hidráulica e Saneamento.

**THERMOPHILIC TREATMENT OF BULK DRUG PHARMACEUTICAL INDUSTRIAL WASTEWATER BY USING MIXED CONSORTIA IN HYBRID UP FLOW ANAEROBIC SLUDGE BLANKET (HUASB) REACTOR**

850

*D.Sreekanth1, D.Sivaramakrishna1, V.Himabindu 1\*, Y.Anjaneyulu2.*

Centre for Environment, Institute of Science and Technology, Jawaharlal Nehru Technological University

5 - *Pre y post tratamiento para digestores anaerobios*

852- 911

**DESEMPENHO DE SISTEMA ANAERÓBIO EM DOIS ESTÁGIOS COM REATORES DE FLUXO ASCENDENTE COM MANTA DE LODO (UASB) E DE LEITO FIXO (FILTRO ANAERÓBIO), SEGUIDOS DE FILTRO BIOLÓGICO PERCOLADOR PARA O PÓS-TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA.**

852

*R. M. Duda\* & R. A. de Oliveira \*\**

\*Doutoranda em Microbiologia Agropecuária, Univeristy of São Paulo State.\*\* Prof. Doutor; Rural Engineering Department.

**EFEITO DA CARGA ORGÂNICA VOLUMÉTRICA E DA MISTURA NO TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA EM REATORES SEQUENCIAIS EM BATELADA ANAERÓBIOS EM SÉRIE SEGUIDOS DE LAGOAS DE POLIMENTO**

857

*Duda, R. M.\*; Gomes, M. J. de C.\*\*; Oliveira, R. A. de*

\*Doutoranda em Microbiologia Agropecuária, University of São Paulo State

\*\*Zootecnista, University of São Paulo State

\*\*\*Prof. Doutor; Rural Engineering Department, University of São Paulo



**IX** Taller y Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia  
Isla de Pascua, 19-23 de Octubre de 2008

**PROCEEDINGS**



**BIOTHANE**

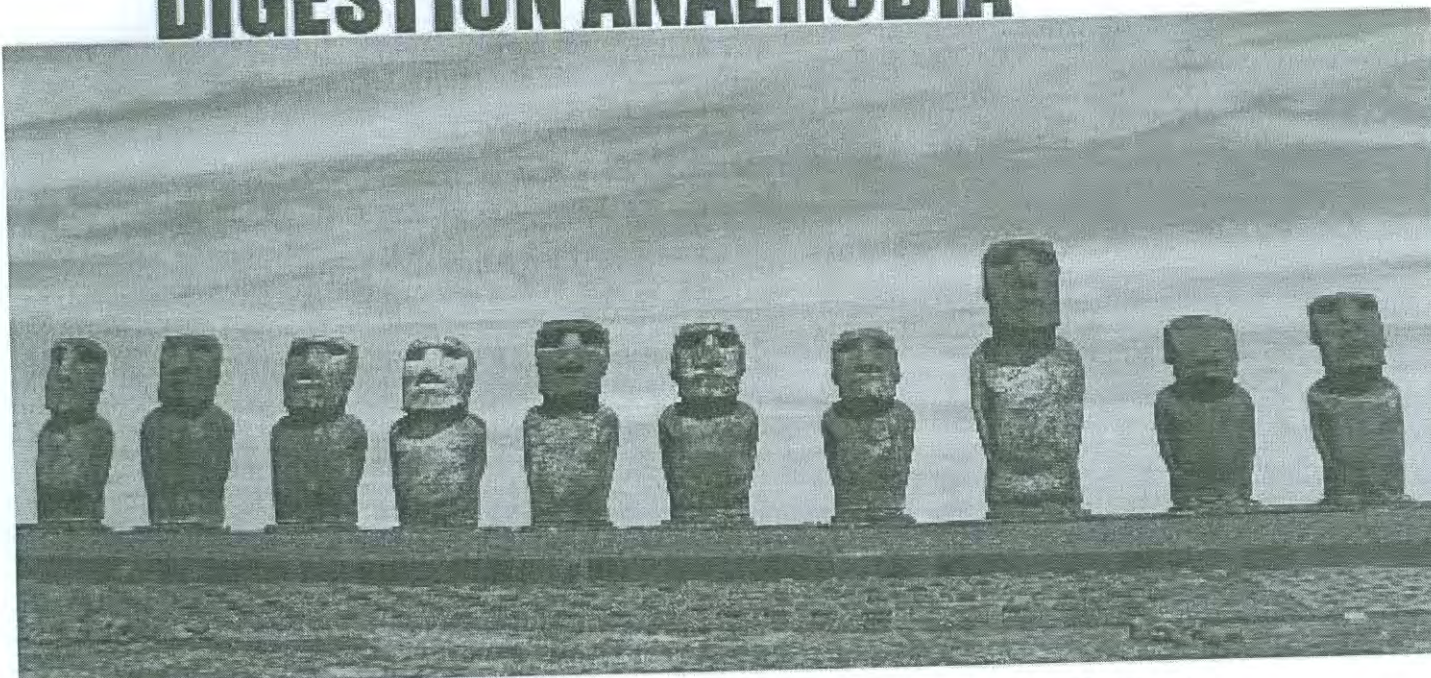
**VEOLIA**  
WATER



**PONENCIAS**

**Congreso Latinoamericano de**

**DIGESTION ANAEROBIA**



**4**

**Aplicaciones específicas y  
compuestos xenobióticos.  
(CompXeno)**



## COMPXENO - POSTERS

# CARACTERIZACIÓN DE EFLUENTES DEL PROCESAMIENTO QUÍMICO DE DESECHO DE CRUSTÁCEOS EN MÉXICO PARA LA OBTENCIÓN DE QUITINA

Plascencia-Jatomea, R.<sup>\*</sup>, Moreno-Villa, F.A.<sup>\*\*</sup>, Díaz-Rojas, E.I.<sup>\*\*</sup>, Plascencia-Jatomea, M.<sup>\*\*</sup>, Meraz, M.<sup>\*\*\*</sup> y Almendariz, F.J.<sup>\*</sup>

Universidad de Sonora,<sup>\*</sup>Area de Biorremediación, DIQyM, <sup>\*\*</sup>DIPA. Blvd Luis Encinas SN, Hermosillo, Sonora, México.(E-mail: rplascencia@correoa.uson.mx / fjalmendariz@iq.uson.mx)

<sup>\*\*\*</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F.

**Resumen:** El objetivo de este trabajo fue estudiar las características físicas y químicas de los efluentes provenientes del procesamiento de desecho de crustáceos cultivados en Sonora, México. Se recolectó el efluente generado en cada una de las etapas del proceso (lavado somero, desproteínización, desmineralización y desacetilación) realizado para la obtención de quitina y quitosano a partir de desecho de jaiba, los cuales fueron cuantificados y analizados. En el lavado somero se utilizó agua corriente y se generó un efluente ligeramente alcalino, mientras que en las etapas de desproteínización y desacetilación se utilizó NaOH lo cual generó efluentes básicos; por su parte, en la desmineralización se utilizó HCl, generando un efluente ácido. Al mezclar los efluentes se obtiene una mezcla compuesta con un pH neutro, una DQO<sub>T</sub> de 14681 mg/L y una DQO<sub>S</sub> de 7390 mg/L, así como 0.93% de NTK y una concentración de sólidos suspendidos totales y volátiles de 5.93 g/L y 3.74 g/L respectivamente. Con el conocimiento estos parámetros se podrá establecer una estrategia de tratamiento anaerobio/aerobio para la remoción de materia orgánica y nitrógeno.

**Palabras clave:** Desecho de Crustáceos; Quitina; Quitosano; Tratamiento Biológico.

## INTRODUCCIÓN

México ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en producción de crustáceos, siendo el Estado de Sonora el principal productor a nivel nacional. Durante el 2007 se obtuvo una producción de camarón de más de 68,500 Ton de las cuales del 30-35% del peso total de camarón y 70-75% del peso total de la jaiba es considerado como desecho (COAES, 2007). Para el aprovechamiento de estos subproductos se cuenta con métodos tanto químicos como biológicos, siendo los primeros los más utilizados para la obtención de polímeros quitinosos a nivel industrial (Larez, 2006). La importancia de la utilización de productos quitinosos radica en sus amplias aplicaciones, existiendo sectores en los cuales su uso es vasto y conocido, y otros en los cuales representa una interesante vía de investigación. Algunas de sus aplicaciones son: tratamiento de aguas, industria alimentaria, medicina, biotecnología, agricultura, cosmética, entre muchas otras (Synowiecki y Al-Khateeb, 2003). En el proceso químico, importantes cantidades de agentes como HCl, NaOH, etanol y cloroformo, entre otros, son adicionados en diferentes etapas de procesamiento, generando grandes volúmenes de efluentes ácidos y básicos, además del agua de lavado de la muestra cruda inicial (Tharanathan y Kittur, 2003). Dichos efluentes tienen que ser tratados para su posterior liberación al ambiente. Al respecto se han estudiado metodologías anaerobias y aerobias para el tratamiento de efluentes afines, como es el caso del tratamiento de efluentes de pescaderías y de la industria procesadora de productos marinos, mostrando buenos resultados en las eficiencias de remoción de componentes orgánicos (Gharsallah *et.al*, 2002., Boopathy y col., 2007). Sin embargo, no existe información sobre el tratamiento de efluentes generados en el aprovechamiento de los residuos de camarón y jaiba para la obtención de polímeros quitinosos,