

Juramento Yaqui

Para ti no habrá sol,
para ti no habrá muerte,
para ti no habrá dolor,
para ti no habrá calor,
ni sed, ni hambre, ni lluvia,
ni aire, ni enfermedad, ni familia.

Nada te causará temor,
todo ha terminado para ti,
excepto una cosa:

HACER TU TRABAJO.

En el puesto que has sido asignado,
ahí te quedarás para la defensa de tu nación,
de tu gente, de tu raza, de tus costumbres,
de tu religión.

¡ Juras cumplir con el divino mandato !

Con estas palabras, los capitanes yaquis dan autoridad a los nuevos
oficiales, quienes agachan sus cabezas y responden:

Jewi (Si)

Juramento Yaqui

Para ti no habrá sol,
para ti no habrá muerte,
para ti no habrá dolor,
para ti no habrá calor,
ni sed, ni hambre, ni lluvia,
ni aire, ni enfermedad, ni familia.

Nada te causará temor,
todo ha terminado para ti,
excepto una cosa:

HACER TU TRABAJO.

En el puesto que has sido asignado,
ahí te quedarás para la defensa de tu nación,
de tu gente, de tu raza, de tus costumbres,
de tu religión.

¡ Juras cumplir con el divino mandato !

Con estas palabras, los capitanes yaquis dan autoridad a los nuevos
oficiales, quienes agachan sus cabezas y responden:

Jewi (Si)

Agradecimiento Especial

*A ti padre celestial,
por darme la oportunidad de existir
y ser partícipe de tu gran creación,
por abrirme las puertas de tu sabiduría
y permitirme el conocimiento
de tu infinita obra, la ciencia,
para bien de nuestra humanidad.*

*A ti madre por darme la vida,
porque hasta el fin de tu existencia
apoyaste mis proyectos
y hacer de mí un hombre de bien.*

*He aquí tu hijo,
al que le depositaste toda tu confianza,
jamás te defraudará.*

*La semilla que junto con mi padre sembraron
y al cual con esfuerzos cultivaron,
al fin rendirá sus frutos.*

*Solo le pido al creador y a ti madre sus bendiciones
y que volvamos a encontrarnos
después del final de mi partida.*



Agradecimientos

Al Instituto Tecnológico de Sonora: Por abrirme sus puertas y ser mi casa de estudios durante mi formación profesional en todos estos años.

A mis asesores: Ing. Jaime López Cervantes e Ing. Dalia I. Sánchez Machado por su confianza y el gran apoyo recibido para la realización del presente trabajo.

Al Fondo del Sistema de Investigadores del Mar de Cortés (FOSIMAC) por financiar el proyecto.

Al Sr. Manuel Romo Morales por el apoyo e interés en la presente investigación.

A mis revisores: Q. Rosa Amelia Beltrán, Q. Jorge E. Cabrera Pinto e Ing. José Carlos Valdés Abril, por su tiempo y sugerencia realizadas para éste trabajo.

A mis maestros: M.C. Laura Gassós, Q. Roberto García, M.C. Ana Margarita Ramos, Ing. Ana Miskes, Ing. Ernesto García, Q. Lupita Aguilar, M.C. Ignacio Moreno Murrieta por ser maestros ejemplares.

Al personal de laboratorio: Esteban, Josefina, Mariano, Socorro y Don Panchito, por sus atenciones.

Dedicatoria

A Dios:

Por ser guía del hombre, de mi familia y de mi ser.

A mis padres:

Simón Valenzuela y Martina Ahumada² por darme la vida y cuidar de mí para formarme como hombre de bien.

A mis hermanos:

Bernarda, Luciano, Guillermina, Crisóforo, Leo y Miguel Ángel por compartir los buenos y malos momentos de nuestras vidas, y ser parte de esa gran familia.

A todos mis sobrinos.

A mis grandes amigos:

Hilda González, Georgina Favela, Rosa Avilés, Cristina Encinas, Blanca Nuñez, Olga Tavares, Zulema Cotri, Claudia Schwarzbeck, Albino Valenzuela, Luis A. Delgado, Francisco A. Gastelum, Mario Hernández y Carlos Yépez por compartir momentos inolvidables juntos.

A mis compañeros y amigos de la generación '98:

Erika Izordia, Mónica Casillas, Edna Cinco, Gloria López, Edith y Rosa Caballero, Ana Valenzuela, Iliana Valenzuela, Denise Valenzuela, Isabel Ramírez, Denise González, Wendy Acosta, Celia Encinas, Reymel Escamilla, José Luis Castro, Marcos Mora, Rogelio Gerardo y Cesar Martínez.

A mis pequeños amigos:

Leonor, Celina, Enery, el pequeño Gumer, Gerardo, Toñito, Gorge, Daniel, "Chato", Ivan, Lázaro y maestro Hernán.

A mis compañeros del proyecto:

Víctor, al compa Jesús Solís "Añiñi" y maestro José Carlos.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABLAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	ix
JUSTIFICACIÓN.....	xi
OBJETIVOS.....	xiii
HIPÓTESIS.....	xv
I. MARCO DE REFERENCIA.....	1
1.1 QUITINA.....	1
1.1.1 Generalidades.....	1
1.1.2 Estructura.....	2
1.1.3 Propiedades fisicoquímicas.....	3
1.1.4 Fuentes.....	3
1.1.5 Aplicaciones.....	4
1.2 ETAPAS DE LA EXTRACCIÓN DE QUITINA DE LA CABE- ZA DE CAMARÓN.....	5
1.2.1 Despigmentación.....	5
1.2.2 Desmineralización.....	6
1.2.3 Desproteínización.....	6
1.2.3.1 Química.....	6
1.2.3.2 Enzimática.....	8
1.3 FERMENTACIÓN LÁCTICA.....	12
1.3.1 Bacterias lácticas.....	14
1.3.2 Condiciones para la fermentación láctica.....	15
1.4 COSTOS.....	19

1.4.1	Concepto de costos.....	19
1.4.2	Costo total.....	19
1.4.3	Bases de costo y comportamiento del costo.....	22
II.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
2.1	UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO Y MATERIAL BIOLÓGICO	23
2.2	METODOLOGÍA.....	23
2.2.1	Elaboración de la harina de cabeza de camarón.....	26
2.2.2	Fermentación láctica de la cabeza de camarón.....	27
2.2.3	Extracción de quitina.....	29
2.2.3.1	Despigmentación y desmineralización.....	29
2.2.3.2	Desproteínización química.....	30
2.2.3.3	Desproteínización enzimática.....	30
2.2.4	Determinación de la calidad quitina, harina de cabeza de	31
	camarón y residuos de la fermentación.....	31
2.2.4.1	Humedad.....	32
2.2.4.2	Cenizas.....	33
2.2.4.3	Nitrógeno total.....	
2.2.4.4	Estimación del factor para la conversión de ni- trógeno a proteína de cabeza de camarón.....	35
2.2.5	Estimación de costo, rendimiento, tiempo de proceso a	35
	nivel laboratorio.....	37
III.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	37
3.1	CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE CABEZA DE CA- MARÓN.....	37
3.1.1	Distribución del tamaño de partícula.....	40
3.1.2	Humedad.....	41

3.1.3 Composición química.....	42
3.1.4 Factor de conversión para proteína.....	42
3.2 FERMENTACIÓN LÁCTICA.....	46
3.2.1 pH.....	47
3.2.2 Separación del residuo fermentado.....	48
3.2.3 Caracterización del residuo sólido fermentado.....	48
3.3 PURIFICACIÓN DE LA QUITINA.....	48
3.3.1 A partir de harina de cabeza de camarón.....	50
3.3.1.1 Desproteínización química.....	52
3.3.1.2 Desproteínización enzimática.....	52
3.3.2 A partir del residuo sólido de la fermentación.....	53
3.3.2.1 Desproteínización química.....	54
3.3.2.2 Desproteínización enzimática.....	54
3.4 CALIDAD DE LA QUITINA OBTENIDA.....	
3.4.1 Composición química de la quitina.....	55
3.5 ESTIMACIÓN GENERAL DEL COSTO DE PRODUCCIÓN DE QUITINA.....	56
3.5.1 Insumo, tiempo y equipo empleado durante el proceso para obtener quitina.....	61 63 65
CONCLUSIONES.....	
RECOMENDACIONES.....	
BIBLIOGRAFÍA.....	

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Fuentes actuales y futuras de quitina y	4
2	quitosana.....	
	Proporción de fragmentos de harina de cabeza de	38
3	camarón generados de la	
	molienda.....	39
4	Variación del contenido de humedad en la cabeza de	40
5	camarón y sus	
	harinas.....	43
6	Composición química de la harina de	44
7	camarón.....	
	Obtención del factor para la conversión de nitrógeno	46
8	a proteína de cabeza de	
	camarón.....	47
9	Monitoreo de pH durante la fermentación	
	láctica.....	49
10	Proporción de los residuos de la fermentación láctica	
	de la cabeza de	51
11	camarón.....	
	Características químicas del residuo sólido de la	52
12	fermentación	
	láctica.....	53
13	Relación de rendimiento por etapa al utilizar	
	desproteínización química en harina de cabeza de	
	camarón.....	55
	Relación de rendimiento por etapa al utilizar	

	desproteínización enzimática en harina de cabeza de camarón.....	
	Relación de rendimiento por etapa al utilizar desproteínización química en el residuo de la fermentación.....	
	Relación de rendimiento por etapa al utilizar desproteínización enzimática en el residuo de la fermentación láctica.....	
	Composición química de la quitina obtenida por desproteínización química y enzimática a partir de harina y residuo de la fermentación de cabeza de camarón.....	
14	Insumo, tiempo y equipo empleado para obtener quitina a partir de harina de cabeza de camarón.....	56
15	Insumo, tiempo y equipo empleado para obtener quitina a partir de residuo de la fermentación láctica.....	57
16	Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínización química de harina de cabeza de camarón.....	58
17	Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínización enzimática de harina de cabeza de camarón.....	58
18	Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínización química del residuo de la fermentación láctica de la cabeza de	59

	camarón.....	59
20	Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínización enzimática del residuo de la fermentación láctica de la cabeza de camarón.....	60
	Resumen del costo estimado de producción de 100 g de quitina en relación del método.....	

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Comparación de las estructuras químicas de quitina, quitosano y	2
2	celulosa.....	7
3	Posibles uniones de la quitina con otras biomoléculas.....	24
4	Metodología general para la extracción de quitina por el método de desproteínización química y enzimática.....	25
5	Metodología para la obtención de quitina por el	

	método de desproteinización química y enzimática del	36
6	residuo de la fermentación láctica de cabeza de camarón.....	45
	Metodología para la obtención de quitina estándar por el método de Horowitz y col.....	
	Comportamiento del pH en el proceso de fermentación láctica en cabeza de camarón fresco (<i>Panaeus vannamei</i>).....	

INTRODUCCIÓN

De la producción anual de camarón, solamente el 39% se distribuye en el mercado nacional y el 61% en el internacional (La economía en cifras, 1990). Durante 1995 fueron capturados alrededor de 85,000 toneladas de camarón en litorales del Golfo de México y del Pacífico, siendo el Estado de Sinaloa la entidad federativa que obtuvo en ese año la mayor producción de camarón (29,983 t). De todo el camarón que se comercializó en el país en 1993, el 17% aproximadamente proviene de la camaronicultura. La superficie potencial disponible para la camaronicultura en México es de aproximadamente 335,000 has. distribuidas en ambos litorales, de los cuales el Estado de Sonora dispone de 40,000 has. (Barrera,1987).

Cabe destacar que solo el 50% del animal es comestible y que el restante 50% está constituida por el cefalotórax (cabeza) no comestible y que

aparentemente no es aprovechada, ya que ocasionalmente se preparan cantidades relativamente pequeñas de harina a partir de estos desperdicios del procesamiento.

Si se considera que la producción anual promedio en México es de 70,000 t, se tendría una generación de cabeza de camarón de 35,000 t por año, ésta es una cantidad bastante respetable, tomando en cuenta los productos a obtener. Si estos mal llamados desperdicios no son aprovechados se convierten en contaminantes, tanto en altamar durante la captura como en tierra en las granjas camaronícolas (Cañipa,1994).

Sin embargo, estas descargas pueden evitarse, ya que los cefalotórax de camarón contienen en su estructura al polímero denominado quitina que tiene amplias aplicaciones (Escobedo,1994).

La quitina es un polisacárido importante que constituye la parte estructural fundamental de los invertebrados. Se encuentra abundantemente en los caparazones de los crustáceos y de algunos moluscos y también en la mayoría de los hongos y algas. Químicamente, la quitina es una poli-N-acetil-D-glucosamina lineal con uniones glucosídicas $\beta(1\rightarrow4)$. La quitina se asemeja mucho a la celulosa tanto en estructura como en función. Es fibrilar y altamente cristalina (Braverman, 1980).

La quitina tiene una combinación de propiedades fuera de lo común incluyendo, dureza, bioactividad y biodegradabilidad, las cuales la hacen un material especialmente atractivo. Con estos factores en mente, fueron instituidos estudios para promover a la quitina de cangrejo y exoesqueleto

de camarón como un recurso marino y aliviar así el creciente problema de la disposición de desechos en la industria de alimentos marinos.

JUSTIFICACIÓN

El camarón por sí sólo tiene un gran potencial económico tanto a nivel nacional como internacional, pero a su vez para ser comercializado es necesario cortar su cabeza, la cual representa un foco de infección tanto en tierra en las granjas camaronícolas, como en las plantas procesadoras, ocasionando un desequilibrio en el medio ambiente.

Para sanear así el creciente problema de dichos desperdicios, se han propuesto técnicas para la recuperación de compuestos valiosos a extraer de la cabeza de camarón y sobre todo la quitina, que puede ser obtenida por métodos químicos, enzimáticos y por fermentación láctica. Sin embargo, es importante realizar un estudio a nivel laboratorio que permita la comparación de los diversos métodos disponibles considerando para su evaluación la sencillez, rapidez, economía, grado de pureza y rendimiento

en la obtención de quitina de cabeza de camarón (*Panaeus vannamei*). Esto permitirá la toma de decisión en la elección del método más idóneo para ser llevado a nivel planta piloto y posteriormente a semi-industrial, y de esta manera promover la extracción a gran escala de éste compuesto en la región Noroeste de México, principalmente en el Sur de Sonora.

También, además de dar un valor agregado a los materiales de desecho, se generarán beneficios económicos adicionales para el productor, pescador y al personal que se empleará para la realización de estas actividades productivas, y a su vez se mantendrá un equilibrio en el medio ambiente al reducir la cantidad de desechos orgánicos que se tienen durante la captura, cultivo y procesamiento de camarón.

HIPÓTESIS

Es posible que el método de desproteinización de la quitina de cabeza de camarón influya en su calidad y rendimiento.

I. MARCO DE REFERENCIA

1.1 QUITINA

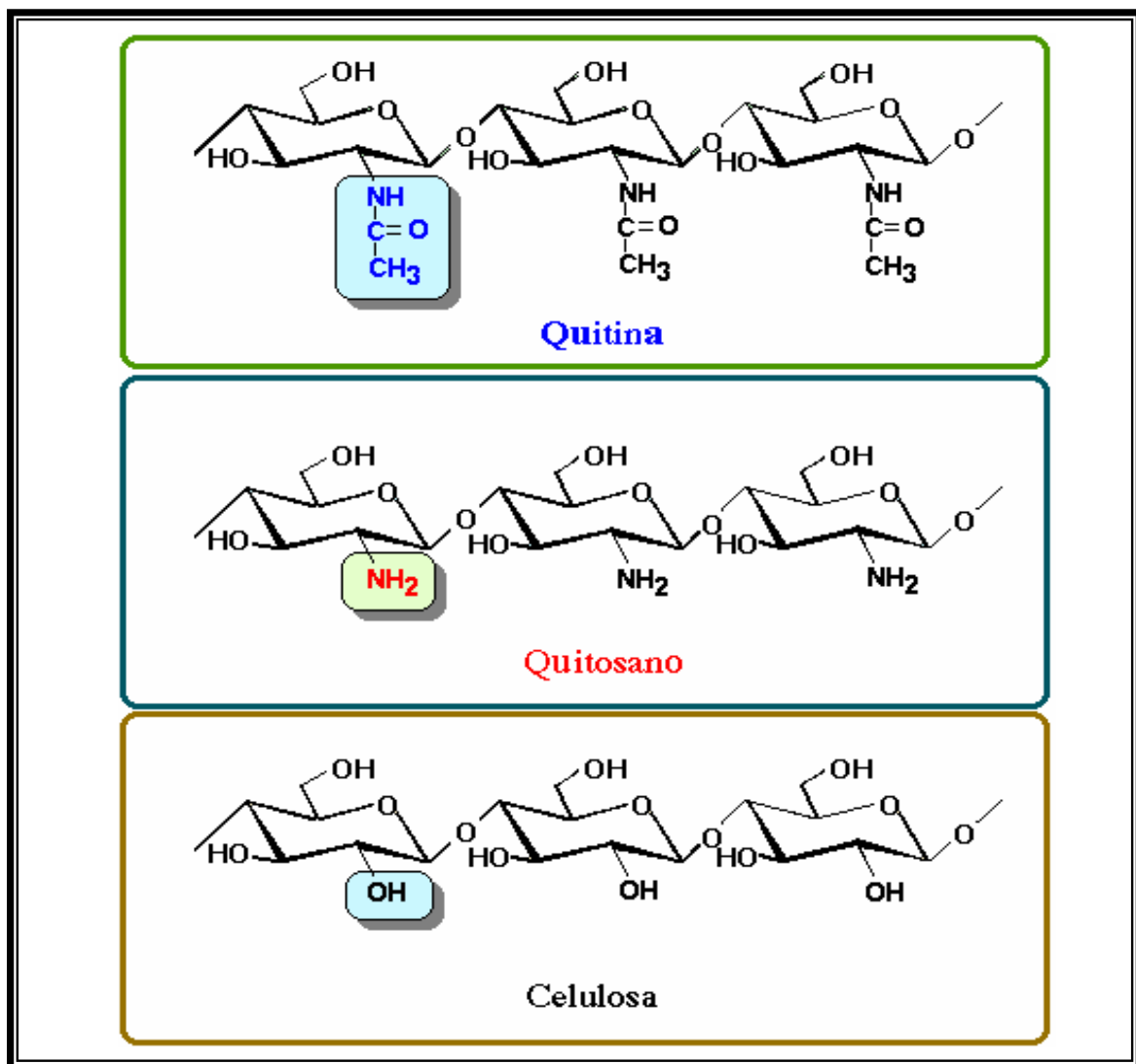
1.1.1 Generalidades

La quitina es, por mucho, el componente de mayor importancia en el cefalotórax de camarón. Fue descubierta por primera vez en 1811 por H. Braconnot, al estudiar la composición de hongos como *Agaricus volvaceus* con álcalis, aislando una sustancia nitrogenada a la cual llamó "fungina". En 1823, A. Odler descubrió la misma sustancia en la estructura de algunos insectos, dándole el nombre de quitina (palabra derivada del griego que significa túnica o envoltura). Posteriormente se encontró que ambas sustancias eran la misma y se encontraban presentes en otros organismos como levaduras, hongos, bacilos, insectos y algunos crustáceos. Sin embargo, fue hasta 1878 cuando se indicó que estaba compuesta por glucosamina y ácido acético, lo que ocasionó controversia entre los

hombres de ciencia de la época, estableciéndose finalmente en 1943 que la quitina es un polisacárido acetilado de la glucosamina (Cañipa,1994).

1.1.2 Estructura

El nombre químico de la quitina es poli- β -(1,4)-N-acetil-D-glucosamina, un biopolímero similar a la celulosa y distribuido ampliamente en la naturaleza, ocupando el segundo lugar en abundancia después de la celulosa (Austin,



1981) (Ver figura 1).

Figura 1. Comparación de las estructuras químicas de quitina, quitosano y celulosa.

Fuente: <http://user.chollian.met/~chitin/cellulose.gif>

La quitina se presenta en tres formas polimórficas: α , β y γ siendo la más abundante la α - quitina, que forma una estructura cristalina muy compacta y que no se hidrata. Las cadenas que la conforman presentan un arreglo antiparalelo, a diferencia de las cadenas β -quitina que muestran cadenas paralelas y es la más vulnerable, y la γ -quitina formada por dos cadenas arriba y una abajo, siendo la menos abundante. La explicación en cuanto a la cristalinidad y resistencia al tratamiento térmico, se debe a los puentes de hidrógeno que se forman entre cadenas (Cañipa, 1994).

1.1.3 Propiedades fisicoquímicas

La quitina es un sólido de color cristalino, insoluble en agua, soluciones salinas acuosas diluidas y en la mayoría de los solventes orgánicos. Es despolimerizado por ácidos inorgánicos concentrados, pero particularmente soluble en una mezcla de dimetilacetamida y cloruro de litio (Ornum, 1992). La quitina sufre degradación a altas temperaturas; no pueden resistir temperaturas mayores a 100-120°C, la descomposición térmica de la N-acetil-D-glucosamina, alcanza su valor máximo alrededor de los 200 °C. En la cocción, la β -quitina se degrada más rápido que la α -quitina debido a que permite una mejor penetración de agua entre sus cadenas (Cañipa, 1994).

1.1.4 Fuentes

La quitina es un carbohidrato presente en muchos organismos: hongos, levaduras, diatomeas, pared celular de plantas (junto o sustituyendo a la celulosa), cutícula de insectos, artrópodos, cangrejos, krills, camarones, etc. Sin embargo, actualmente la fuente principal de quitina la constituyen los crustáceos (Cañipa, 1994). En la tabla 1 se presentan las fuentes actuales y futuras de quitina y quitosana.

Tabla 1. Fuentes actuales y futuras de quitina y quitosana

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

(*) Fuentes comerciales actuales.

Fuente: Cañipa, 1994.

1.1.5 Aplicaciones

La quitina tiene una combinación inusual de propiedades que la convierten en un material especialmente provechoso (Austin, 1981). Es un recurso natural biológicamente reproducible, no tóxico (DL₅₀ 16g/kg de peso en ratones), biológicamente funcional y es posible emplearlo en la fabricación de geles, película, etc. (Escobedo, 1994). Por ser un polisacárido, puede ser agregado a los alimentos para controlar

propiedades funcionales, pues cuenta ya con la aprobación de la FDA para ser usado como aditivo alimentario.

En los organismos animales existen varias glucosidasas que permiten la biodegradación de éstas moléculas, por lo que se ha pensado en la aplicación de quitina en materiales biomédicos, una vez que se le hayan aplicado modificaciones tan simples como la desacetilación o la carboximetilación (Escobedo, 1994).

1.2 ETAPAS DE LA EXTRACCIÓN DE QUITINA DE LA CABEZA DE CAMARÓN

Entre los componentes de la cabeza de camarón se encuentran la quitina, pigmentos carotenoides con estructuras muy parecidas que globalmente se conocen como astaxantinas, sales minerales y las proteínas, que están asociadas posiblemente por conjugación de tipo iónico o enlaces covalentes entre ellas, dándole al animal la rigidez que lo caracteriza, además del color rosado después del cocimiento (figura 2).

La obtención de quitina a partir de desechos de algunos crustáceos, como el camarón y el cangrejo, consiste básicamente en dos etapas: despigmentación-desmineralización y desproteización.

1.2.1Despigmentación

Los pigmentos carotenoides conocidos como astaxantinas son los de mayor importancia en el cefalotórax de camarón y se encuentran unidos a las proteínas formando el complejo conocido como caroteno-proteína, el cual constituye el principal obstáculo para la extracción del pigmento. En estado natural existe una interacción mutua entre proteínas y carotenos que aumenta la estabilidad de éstos últimos. Si esta unión se debilita o se rompe, por ejemplo en el secado, la estabilidad decrece favoreciendo así

la extracción de los pigmentos. La desnaturalización del complejo caroteno-proteína por calentamiento o por la extracción con solventes resulta en un marcado color rojo brillante. Por otra parte, los carotenoides presentes en el camarón están combinados con los grupos amino de la quitina mediante enlaces imino tipo base de Schiff (Armenta, 1998).

Para la despigmentación se han probado enzimas proteolíticas para remover la unión de proteínas y pigmentos, así como otros sistemas de extracción tales como acetona, éter de petróleo, aceite de soya, mezclas de éter de petróleo-acetona-agua y acetona-ciclohexano (Cañipa, 1994).

El carácter no polar influye directamente en la eficiencia de la extracción de la astaxantina, ya que éste pigmento puede considerarse en mayor medida no polar causado por la larga cadena hidrocarbonada de unidades de isopreno, de tal manera que mediante el empleo de una mezcla de solventes, éter de petróleo:acetona:agua (15:75:10), cuya naturaleza es no polar, se puede lograr una mayor extracción de los pigmentos (Armenta,1998).

1.2.2 Desmineralización

Las sales minerales, principalmente fosfatos y carbonatos de calcio, para su remoción se han utilizado diversos solventes entre los que se puede mencionar al ácido clorhídrico y al ácido acético al 50 %. Al incrementar la concentración de ácido, la desmineralización también aumenta, pero afecta negativamente a la viscosidad del biopolímero residual (Cañipa, 1994).

1.2.3 Desproteínización

1.2.3.1 Química

Las cáscaras de camarón son generalmente tratadas con solución de hidróxido de sodio diluido (1-10%) a elevadas temperaturas (65-100°C) para disolver la proteína unida a la quitina. Se puede lograr una desproteinización óptima de todas las proteínas, al tratar con KOH 1% desechos de camarón (Gómez, 2000).

La desproteinización química del cefalotórax de camarón consiste en la hidrólisis de las uniones peptídicas en presencia de ácidos fuertes, bases fuertes y ciertas enzimas (Braverman, 1980). La solubilidad de las proteínas y, por tanto, el rendimiento de la extracción es mayor a pH alcalino que a pH ácido. De hecho, el número de restos negativamente cargados a $pH > pI$ (ác. aspártico y glutámico) es mayor que el

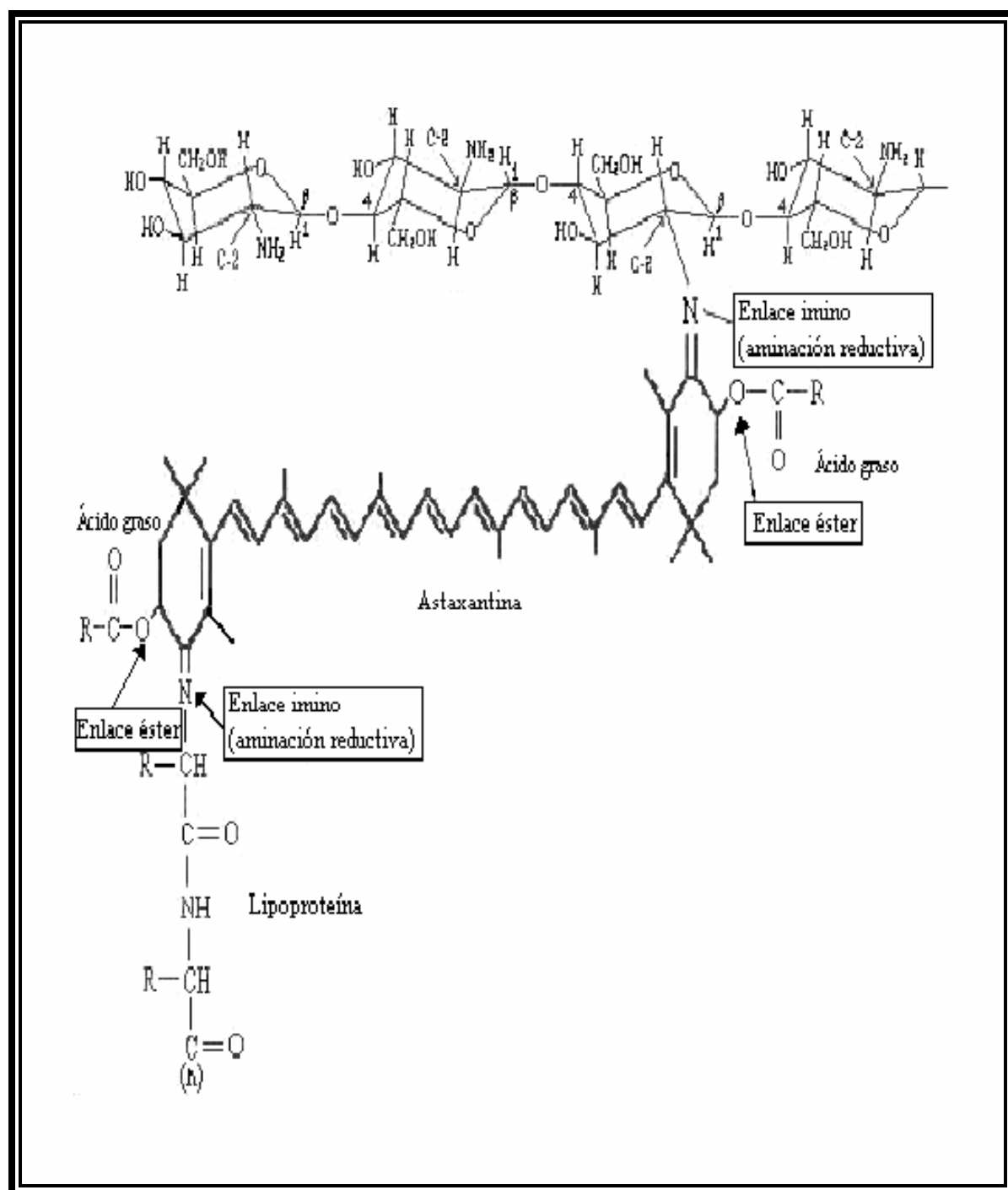


Figura 2. Posibles uniones de la quitina con otras biomoléculas.

Fuente: Armenta, 1998.

número de restos positivamente cargados a $\text{pH} < \text{pI}$ (lisina, por ejemplo) (Fennema, 1993).

El tratamiento de las proteínas en medio alcalino o el tratamiento térmico muy intenso induce varias reacciones de deterioro, principalmente de destrucción de algunos aminoácidos indispensables, de hidrólisis del enlace peptídico, de racemización y de formación de nuevos aminoácidos (Badui, 1990).

1.2.3.2 Enzimática

La desproteínización química implica un tratamiento con NaOH y calor. Las proteínas se pueden recuperar del filtrado proveniente de dicho proceso, si son centrifugadas, ajustadas a un pH de 4.5 con HCl, centrifugadas por segunda vez y secadas en un horno con vacío a 50 °C durante 8 horas. La recuperación de proteína de los desechos de camarón requieren que se neutralice el medio, lo cual a la vez facilita la formación de sales en la proteína recuperada (Cañipa, 1994). Queda también la alternativa de utilizar enzimas proteolíticas que permitan extraer las proteínas sin dañar al biopolímero ni a los aminoácidos de la proteína.

Escobedo, 1994, obtuvo quitina a partir cabeza de camarón, la cual fue sometida a un proceso de hidrólisis enzimática. Utilizando diferentes tipos de enzimas comerciales: alcalasa, neutrasa, papaína y proteasa alcalina; encontró que la proteasa alcalina fue con la que se obtuvo una mayor eficiencia de separación de 92.7% a una temperatura de 50°C y un pH de 9.5.

Las proteínas y péptidos se concentran para su utilización en la industria alimentaria, complemento alimenticio para ganado y peces, o bien, en formulación de medios de cultivo.

- **Definición de enzima**

Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores biológicos interviniendo en reacciones bioquímicas y se caracterizan porque hacen que ésta se efectúe a altas velocidades y con un alto grado de especificidad. Esta actividad enzimática está dada por la estructura, de tal manera que exista una región que reconozca a su sustrato (sitio activo).

Las enzimas muestran diferentes grados de especificidad, siendo la especificidad de enlace el nivel más bajo en esta característica. Las enzimas que constituyen ésta clasificación son, en su mayoría, degradativas entre las que se encuentran las proteasas con especificidad hacia el enlace peptídico (Escobedo, 1994).

Las proteasas están clasificadas de acuerdo a sus mecanismos de hidrólisis de los enlaces peptídicos. Estos mecanismos dependen en gran parte del residuo de aminoácido involucrado en el centro activo de la enzima. Existen cuatro clases principales de proteasas de interés para la hidrólisis de proteína en alimentos, según sea su sitio de acción: Las proteasas serínicas que tiene un residuo de serina en el centro activo, así como también ác. aspártico e histidina y con un máximo de actividad a valores de pH alcalinos; las proteasas cisteínicas, caracterizadas por el grupo cisteína (SH-) en su centro catalítico, y las metalo-proteasas, que poseen un residuo de ác. glutámico en el sitio activo y que requieren de un catión divalente tales como Zn, Ca o Mg para catalizar la hidrólisis de los enlaces peptídicos,

ambas con un máximo de actividad a valores de pH cercanos a la neutralidad; y las proteasas aspárticas, distinguida por la presencia de un residuo de ácido aspártico en el sitio activo cuyo máximo de actividad catalítica se encuentra a un valor de pH ácido (García-Carreño, 1992; Navarrete, 1998).

- **Estructura enzimática**

La estructura de las enzimas como la de las proteínas, consta de cuatro niveles:

- ♦ Estructura primaria, que se refiere a la secuencia lineal de los diferentes aminoácidos que conforman la cadena polipeptídica.
- ♦ Estructura secundaria, que indica las interacciones entre aminoácidos cercanos en la secuencia para generar una forma estructural regular.
- ♦ Estructura terciaria, que se refiere a los plegamientos de la cadena polipeptídica sobre sí misma causante de las interacciones entre aminoácidos existentes en regiones lejanas de la secuencia.
- ♦ Estructura cuaternaria, es el arreglo o interacción de varias subunidades o cadenas polipeptídicas que forman una sola enzima como unidad funcional.

Las fuerzas involucradas en el mantenimiento de la estructura tridimensional de las proteínas globulares, como lo son las enzimas, son interacciones no-covalentes y pueden presentarse entre diferentes partes de la enzima como entre la enzima y el medio que la rodea.

La conformación específica y activa de una enzima es el resultado de todas éstas interacciones. Cuando las condiciones del medio se alteran de

tal forma que algunas de éstas interacciones resultan debilitadas, se presenta la modificación de una gran parte de la estructura, en donde la conformación activa no es la más favorecida (Sidney, 1977). La transición de una conformación ordenada a una desordenada se conoce normalmente como desnaturalización.

Un factor ambiental decisivo en la conformación de la proteína es la temperatura, ya que puede elevarse lo suficiente como para provocar que se destruya un puente de hidrógeno o una interacción hidrofóbica, teniendo lugar una brusca transición estructural, y de esta manera, se llega a la desnaturalización enzimática.

Otros factores que pueden afectar la estabilidad conformacional son el valor de pH, la presencia de disolventes y la concentración de iones en el medio entre otros.

- **Mecanismo de acción de las proteasas**

El mecanismo de acción entre las diferentes clases de proteasas (serínicas, cisteínicas aspárticas y metalo-proteasas) presenta una serie de analogías (Escobedo, 1994).

Los requisitos para que tenga lugar la catálisis, son los siguientes:

- Un grupo nucleofílico, Nu^- , que ataque al grupo carbonilo, permitiendo la formación del intermediario.
- Una especie electrofílica, E^+ , en la vecindad de la amida, de manera que se incremente la polarizada del grupo y se establezca la carga negativa que se genera en el átomo de oxígeno en el intermediario.
- Una especie donadora de protones, $X-H$, para hacer al $-NH$ un mejor grupo saliente.

Las especies nucleofílicas y donadoras de protones provienen de la misma enzima, dependiendo del tipo del que se trate, por ejemplo, en una proteasa cisteínica como la papaína, el $\text{N}^{\ominus}$ y la especie $\text{X} - \text{H}$, son los aminoácidos Cys-25 e His-159, respectivamente. Ambos se encuentran dentro de la cadena polipeptídica de la enzima.

En las proteasas serínicas como la quimiotripsina, el papel del nucleófilo está a cargo de la serina (Ser-195) y en las metaloproteínas como la carboxipeptidasa un ión metálico, usualmente el Zn^{+2} , sirve como electrófilo.

- **Cinética enzimática**

Existen cuatro parámetros experimentales que deben tenerse bien definidos al trabajar con enzimas (además del sustrato y la enzima misma) y que en buena medida determinan la velocidad con que se llevará a cabo la reacción.

- La concentración del sustrato $[\text{S}]$ generalmente expresada como porcentaje en peso del sustrato respecto a la masa total de la mezcla de reacción al inicio del ensayo.
- El porcentaje enzima/sustrato ($\% \text{E/S}$), siendo la concentración de enzima respecto a la concentración de sustrato al inicio de la reacción. Puede estar dada en porciento en peso o en unidades de actividad por unidad de masa (g ó kg) de sustrato.

- La temperatura, conforme se eleva aumenta la velocidad de reacción. Pero también se incrementa la posibilidad de desnaturalización de la enzima, dada su estructura proteínica.
- El valor de pH, ya que afecta a la carga eléctrica de la enzima y por lo tanto determina el que la estructura sea funcional o no. Cerca del punto óptimo de pH existe la mayor afinidad hacia el sustrato y la reacción se da con mayor eficiencia.

1.3 FERMENTACIÓN LÁCTICA

En términos generales, la fermentación implica el empleo de microorganismos para llevar a cabo transformaciones de la materia orgánica catalizada por enzimas (Owen, 1989).

La fermentación ácido láctica, es uno de los métodos ancestrales empleados para preservar alimentos, así como para lograr mejoras en las propiedades sensoriales y nutricionales. Las fermentaciones lácticas son aquellas en que el ácido es producido *in situ* por bacterias lácticas a partir de una fuente de carbohidratos, los microorganismos responsables pueden pertenecer a la microflora natural o ser cultivos iniciadores (Frazier, 1993).

Por el método de fermentación, el pescado o desperdicio de pescado es preservado y parcialmente digerido por el ácido láctico producido, un pH de 4-4.5 es suficiente. Es necesario para la fermentación agregar carbohidratos fermentables como las melazas. Se prefiere el ensilado biológico debido a que no se desarrolla un olor a rancidez en los productos (Armenta, 1998).

La fermentación en pescado ha sido aplicada, en un principio de forma artesanal, sirviendo como antecedentes para el desarrollo de tecnología

en países tropicales. El hecho de que el suministro de cabeza de camarón sea temporal o limitado geográficamente constituye un problema, y la solución es la práctica del fermentado-ensilado de estas cabezas para preservarlas. Los cambios significativos que ocurren durante el almacenamiento son la autólisis de los tejidos y liberación de amoníaco (Armenta, 1998).

Según estudios realizados por Fagbenro (1997) sobre el efecto del almacenamiento prolongado en la calidad química y nutricional de las cabezas de camarón fermentadas, después de siete días de iniciada la fermentación, la aireación no tiene efecto alguno en la disminución del pH, puesto que los valores promedios de pH son de 4.2. y 4.1 en los tratamientos aerobios y anaerobios respectivamente (Armenta, 1998).

Los buenos ensilados no tienen ningún signo de contaminación por hongos y otras bacterias, pero después de 180 días se presenta un incremento gradual del pH desde 4 hasta 5. La estabilidad en el pH puede deberse a la acción amortiguadora de los aminoácidos y otras clases sobre el ensilado o probablemente a la neutralización parcial del ácido por el calcio que proviene de los sedimentos de quitina

Después de 180 días el contenido de nitrógeno no proteico se incrementa gradualmente hasta un 50.1% del total de nitrógeno. También se observa una variación ligera en la humedad, la proteína cruda y el contenido de ceniza, pero el contenido de lípidos aparentemente se incrementa significativamente (Armenta, 1998).

1.3.1 Bacterias lácticas

La fermentación láctica es un proceso microbiano muy complejo en el cual una población de bacterias lácticas llega a ser la microflora predominante. Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos Gram (+), no esporulados y que tienen la característica por producir ácido láctico como producto principal durante la fermentación de carbohidratos (Frazier, 1993).

El desarrollo de bacterias lácticas durante el proceso fermentativo da lugar a: (1) disminución del crecimiento de microorganismos perjudiciales, aminorando o evitando las alteraciones comunes, y (2) producción de sabores diversos por acumulación de ácidos orgánicos y por sustancias que dan lugar a un producto final característico y definido (Frazier, 1989). Los requerimientos nutricionales que éstas tienen son exigentes porque necesitan la adición de varias vitaminas y aminoácidos para fermentar los carbohidratos. Aunque el pez contiene una baja cantidad de carbohidratos, han aislado bacterias lácticas de éste, las cuales presentan menos exigencias nutricionales para su desarrollo (Armenta, 1998).

Las bacterias lácticas han sido aisladas de varias muestras de alimentos de mar como camarón, pescado, alimentos de mar empacados al vacío como el surimi, y pescado almacenado bajo 100% de CO₂ a 5°C. Mauguin y Novel (1994) aislaron 86 diferentes cultivos y se agruparon de acuerdo a su morfología celular, presencia o ausencia de ácido diaminopimelico en la pared celular, y la configuración del lactato. Cincuenta y cuatro cultivos pertenecieron al género *Lactococcus* y algunos de ellos exhibieron DNA homólogo con *L. Lactis* subsp. *Lactis*. Cuatro cultivos fueron identificados como *lactobacillus plantarum*, ocho del género *Leuconostoc* y 16 pertenecientes al género *Carnobacterium*. Una bacteria facultativa

heterofermentativa (*Lactobacillus*) y tres cultivos más no fueron identificados. El 47% de los cultivos aislados presentaron patrones similares de fermentación de carbohidratos, especialmente entre cultivos del género *Lactococcus* y *Carnobacterium* (Armenta, 1998).

Balogun y Akegbejo-Samsons (1992) mencionan que fueron aisladas de camarón de Sri Lanka, por la Dra. Zainoha Zakaria, bacterias lácticas que pueden ser empleadas en los ensilados biológicos de los residuos de camarón y pescado (Armenta, 1998).

1.3.2 Condiciones para la fermentación láctica

Armenta (1998) menciona que las condiciones para que se desarrolle con seguridad la fermentación láctica dependen sobre todo de la rapidez de crecimiento y producción de ácido por parte de la bacteria láctica y la supresión, por la disminución del pH u otros factores antimicrobianos, de microorganismos competitivos. La mayor influencia en el crecimiento de bacterias lácticas y la velocidad con la cual decrece el pH de la fermentación son debido a:

- ϕ **Fuente de carbohidratos.** En pescado y crustáceos frescos es muy baja la cantidad de carbohidratos libres, por lo tanto es necesario agregar alguna otra fuente de carbono para la buena producción de ácido en la fermentación. Normalmente las bacterias lácticas requieren de un tiempo, según sea el tipo de azúcar, para fermentarlo, algunas bacterias para generar energía emplean al aminoácido L-arginina en presencia de bajas concentraciones de glucosa.

- ϕ **Factores orgánicos de crecimiento.** Las vitaminas, aminoácidos y otros factores orgánicos de crecimiento son requeridos para el crecimiento de las bacterias lácticas, estos factores son disponibles en cantidades adecuadas a partir de los músculos del pescado y crustáceos.
- ϕ **Condiciones anaerobias.** La pronta exclusión del oxígeno durante las etapas iniciales de la fermentación es un factor importante en la reducción del crecimiento de las bacterias Gram (-), las cuales son contaminantes antes de que se establezcan las condiciones acidificantes. Es necesario el mantenimiento de las condiciones anaeróbicas, especialmente en la superficie, para impedir el crecimiento de microorganismos aerobios obligados, como hongos y levaduras, los que pueden tolerar las condiciones de acidez y desarrollarse, propiciando otra dirección en la fermentación, ya que se presenta una disminución en la cantidad de ácido orgánico y en consecuencia sube el valor de pH de la fermentación del material con serias implicaciones que repercuten en la calidad y seguridad del producto.
- ϕ **Temperatura.** La temperatura puede ser considerada como un factor de influencia en la composición de la población microbiana y del sabor final de las fermentaciones naturales. Ciertamente, las temperaturas altas promueven el rápido crecimiento de microorganismos indeseables, incluyendo los contaminantes y peligrosos para la salud y así como promover el crecimiento de las bacterias lácticas.
- ϕ **Concentración de sal.** La sal tiene una doble función en la fermentación, disminuyendo el agua libre, y ayudando a las bacterias

lácticas en la competencia con bacterias contaminantes y peligrosas. El efecto del cloruro de sodio sobre la microflora depende de la concentración en que ésta sal se encuentre en la fase líquida, valor que usualmente es desconocido. Al no tener esta información es difícil estimar los efectos de la sal en la competición de las bacterias lácticas y otros microorganismos. Sin embargo, la presencia de cloruro de sodio en diversos tipos de fermentaciones lácticas de diversos alimentos sugieren que las concentraciones son suficientes para ayudar al crecimiento de las bacterias lácticas.

ϕ **Concentración de ácidos orgánicos y valor de pH.** El crecimiento de las bacterias lácticas es necesariamente acompañado por la excreción de ácido láctico y, en algunas circunstancias, de ácido acético, y en consecuencia se disminuye el valor de pH en el medio. Las bacterias lácticas son tolerantes a medios con bajo pH provocado por la presencia de ácidos orgánicos débiles. La toxicidad de éstos ácidos orgánicos débiles se relaciona con su no disociación, lo cual se relaciona con el pKa del ácido y el valor del pH del sistema. Por lo tanto, para que la inhibición en alimentos sea efectiva sobre los microorganismos contaminantes y peligrosos para la salud, es importante que el valor de pH en la fermentación pueda llegar rápidamente a los niveles a los cuales la proporción de la forma del ácido no disociado presente sea significativa. El pKa del ácido láctico es de 3.87.

ϕ **Concentración de bióxido de carbono.** La tolerancia a altas concentraciones de bióxido de carbono es el factor ecológicamente decisivo para las bacterias lácticas. La mayoría de las otras bacterias

son substancialmente poco tolerantes. Así, la producción temprana de bióxido de carbono en fermentaciones por bacterias lácticas heterofermentativas puede ser un factor en la supresión rápida de bacterias contaminantes y peligrosas.

- ϕ **Producción de otros compuestos inhibitorios.** Algunas bacterias lácticas producen además de ácido láctico otros compuestos como ácido acético y bióxido de carbono que tienen efecto antagonistas en la competición con otros microorganismos. Otros compuestos, inhibidores de crecimiento de otras bacterias, producidos por algunas bacterias lácticas, son conocidos como bacteriocinas, como la nisina.
- ϕ **Capacidad de amortiguadores del sustrato.** La preservación de alimentos por la fermentación natural ácido láctica depende sobre todo del establecimiento rápido de las condiciones ácidas hasta el punto de inhibir el desarrollo de otros microorganismos. Es obvio que la mayor influencia lo tiene la velocidad con la cual declina el valor de pH, la cual depende de la capacidad de amortiguamiento del material a fermentar.
- ϕ **Cantidad inicial de bacterias lácticas.** Las fermentaciones tradicionales dependen de la cantidad de microorganismos que se encuentran en forma natural en el sustrato o en su caso agregar un inóculo, seguido del suministro de las condiciones necesarias para la proliferación del tipo de bacterias deseadas. La inoculación de un número suficiente alto de bacterias es apropiada en fermentaciones como la de la mezcla arroz-pescado porque se consigue una acidificación rápida, pero no ha sido posible identificar el cultivo más adecuado.

φ **Cantidad inicial de microorganismos competidores.** Antes de que los microorganismos contaminantes o peligrosos alcancen poblaciones peligrosas ocasionando cambios indeseables o produciendo poblaciones infecciosas o toxigénicas, su multiplicación debe de ser suprimida por el crecimiento y actividad metabólica de las bacterias lácticas.

1.4 COSTOS

1.4.1 Concepto de costo

La palabra costo tiene dos acepciones básicas: Puede significar la suma de esfuerzos y recursos que se han invertido para producir algo; así, por ejemplo, se dice: “su examen le costó dos días de estudio”, lo que significa que utilizó dos días para poder presentarlo. La segunda acepción se refiere a lo que se sacrifica o se desplaza en lugar de la cosa elegida; en éste caso, el costo de una cosa equivale a lo que se renuncia o sacrifica con el objeto de obtenerla, así por ejemplo: “su examen le costó no ir a la fiesta”, quiere expresar que el precio del examen fue el sacrificio de su inversión.

El primer concepto, aun cuando no se aplicó al aspecto fabril, expresa los factores técnicos e intelectuales de la producción o elaboración, y el segundo manifiesta las consecuencias obtenidas por la alternativa elegida.

1.4.2 Costo total

El costo, económicamente hablando, representa, en términos generales, toda la inversión necesaria para producir y vender una artículo; ahora bien, éste costo se puede dividir en: Costo de producción, costo de distribución, y costo administrativo, pero además, toda empresa puede

tener otros gastos, impuestos sobre la renta, y reparto de utilidades a los trabajadores, que también integran el costo total, desde el punto de vista de la entidad o empresa; partes integrales que enseguida se explican:

Costo de producción

Representa todas las operaciones realizadas desde la adquisición de la materia prima, hasta su transformación en artículo de consumo o de servicio, integrado por tres elementos o factores que a continuación se mencionan:

Materia prima

Es el elemento que se convierte en un artículo de consumo o de servicio. A la materia prima, cuando se le puede identificar por su monto y/o tangibilidad en un artículo elaborado, se le conoce como Materia Prima Directa, excepto cuando su apreciación en el artículo producido se dificulta, o su valor no justifica un procedimiento laborioso y en ocasiones demasiado costoso para precisarlo en éste.

Sueldos y Salarios

Es el esfuerzo humano necesario para la transformación de la materia prima. También se le conoce con los siguientes nombres: “Mano de obra”, “Sueldos y Salarios Devengados”, “Costo del trabajo”, entre otros. Cuando es factible cuantificar la materia prima y la labor en la unidad producida, son elementos directos del costo precisamente porque su aplicación es específica a la unidad

Gastos indirectos de producción

Son los elementos necesarios, accesorios para la transformación de la materia prima, además de los “sueldos y salarios directos”, como son: el lugar donde se trabaja, el equipo, las herramientas, la luz y fuerza, etcétera. Los tres elementos anteriores son importantes e indispensables para la elaboración de un artículo de consumo o de uso, y su cuantificación se hace por medio del común denominador llamado moneda.

Por lo tanto el costo de producción, está formado por la materia prima, los sueldos y salarios directos, y los gastos indirectos de producción (que incluyen los gastos financieros de producción).

Costo de distribución

Está integrado por las operaciones comprendidas, desde que al artículo de consumo o de uso se ha terminado, almacenado, controlado, hasta ponerlo en manos del consumidor. Incluye, naturalmente, los gastos financieros de distribución.

Costo de administración

Comprende, por exclusión, todas las demás partidas normales, propias y consuetudinarias, no localizadas en los costos de producción, y distribución; o dicho de otra manera, está formado por las operaciones habidas desde después de la entrega del bien de servicio o de uso al cliente, hasta que se reciba en la caja o se deposite en el banco, el importe, a precio de venta del bien respectivo, así como las demás

partidas administrativas no incluidas en los costos de producción o de distribución.

Otros costos

Comprende todas aquellas partidas no propias ni indispensables para el desarrollo de las actividades de la empresa, las cuales no son consuetudinarias, ni normales, y por lo tanto difícil de preverse, ya que no se sabe cuáles serán y cuándo acontecerán, pero una vez sucedidas sí forman parte del costo total de la entidad. Ejemplo de éstos costos son: los casos fortuitos o de fuerza mayor, como una huelga, un incendio, un temblor, una inundación, etc.

Impuesto sobre la renta y reparto de utilidades a los trabajadores

En el caso de haber utilidades, éstas partidas, naturalmente, también forman parte del costo total.

1.4.3 Bases de costo y comportamiento del costo

Las bases de costo son factores que modifican el costo; dado que lo controlan o causan, sirven para describir su comportamiento; por lo tanto, para evaluar el comportamiento de costo deben medirse la actividad y los cambios en la base de costo de la actividad; es decir, si el trabajo en la línea de producción es la actividad, los costos de la mano de obra directa serían la selección lógica como base del costo. A medida que se modifican éstas horas, cabe esperar que cambien los costos de mano de obra directa.

Conocer el comportamiento de los costos pueden ser de sumo interés para el costeo, planeación, control y toma de decisiones en relación con un producto. Por tal razón, la descripción del comportamiento de costos para las actividades quizá sea uno de los aspectos más valiosos del sistema de información de administración de costos. Por lo general, se identifican tres categorías importantes del comportamiento de costos: fijos, variables y mixtos.

☞ Costos fijos

Los costos fijos son costos que en total permanecen constantes dentro de la escala relevante a medida que cambia el nivel de la base de costo.

☞ Costo variable

Los costos variables se definen como costos que en total varían en proporción directa a los cambios en la base de costos.

☞ Costo mixto

Los costos mixtos tienen un componente fijo y otro variable.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO Y MATERIAL BIOLÓGICO

El presente trabajo se realizó en el laboratorio LV-716, Unidad Nainari del Instituto Tecnológico de Sonora, ubicado en Antonio Caso S/N, Colonia Villa ITSON de Ciudad Obregón, Sonora. Como material biológico se empleó la cabeza de camarón de Bahía de Guásimas y de acuacultura, ésta última proporcionada por la planta congeladora Yaco Impulsora de la Costa S.A. de C.V., localizada en Cd. Obregón, Sonora.

2.2. METODOLOGÍA

El experimento se desarrolló según el procedimiento indicado en la figura 3 y 4, donde se especifican los tratamientos que recibió el desecho de camarón, las etapas de purificación, los parámetros de calidad para la quitina obtenida y la evaluación de prefactibilidad. A continuación se describe cada una de las partes.

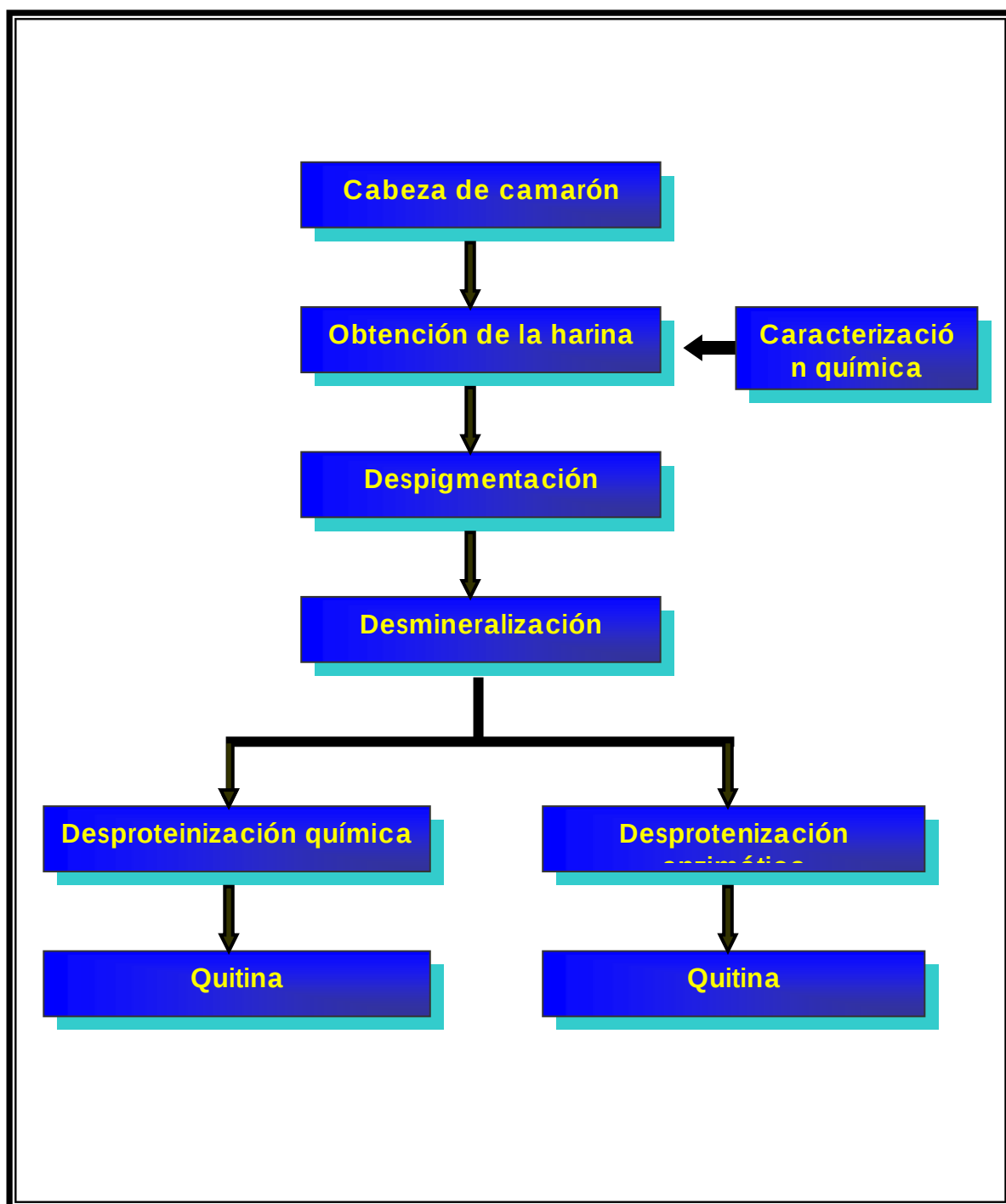


Figura 3. Metodología general para la extracción de quitina por el método de desproteínización química y enzimática

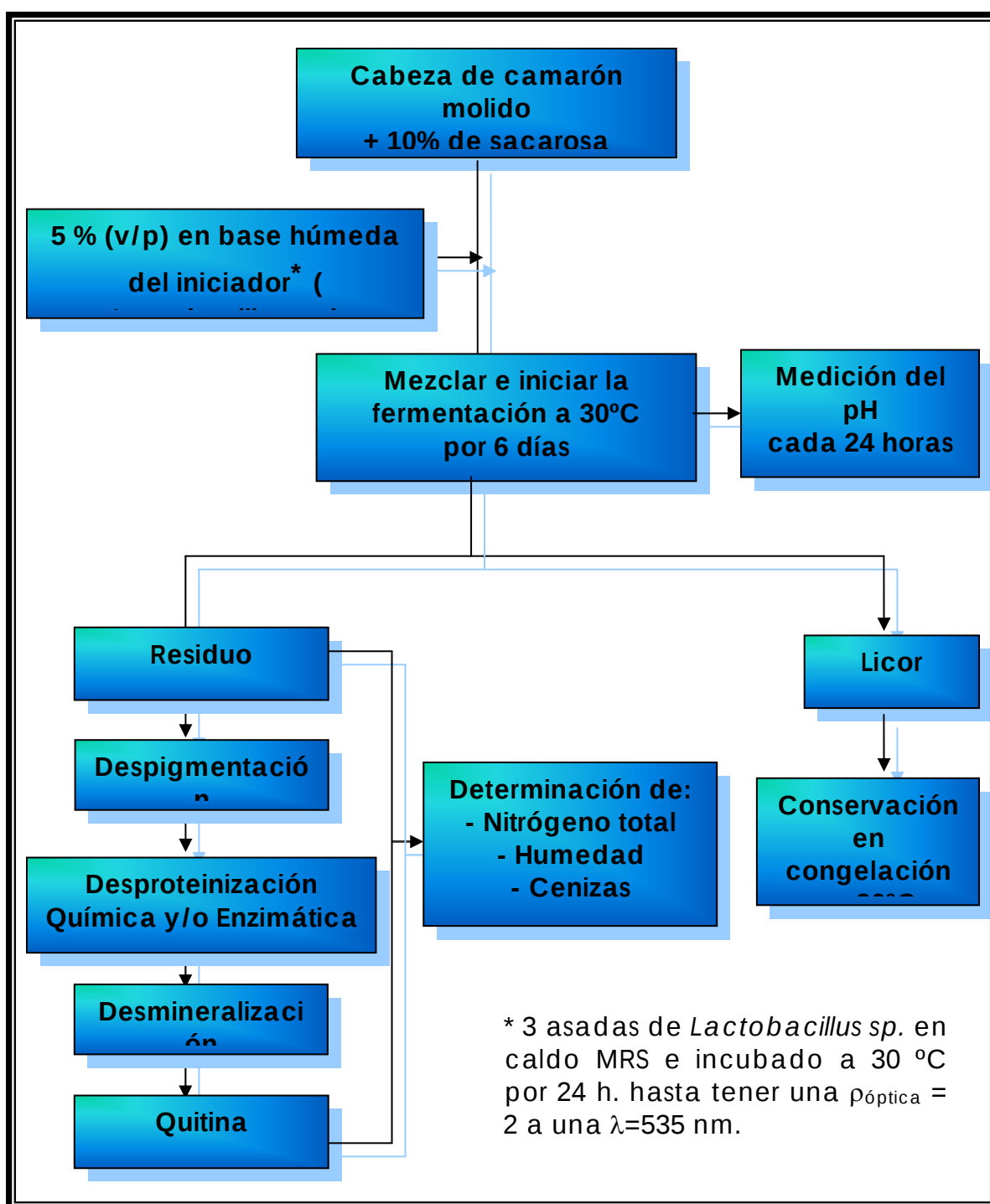


Figura 4. Metodología para la obtención de quitina por el método de desproteínización química y enzimática del residuo de la fermentación láctica de cabeza de camarón

2.2.1 Elaboración de harina de cabeza de camarón

a). Obtención de la muestra

Las cabezas de camarón frescas, recolectadas en la Bahía de Guásimas y en la Planta congeladora, fueron transportadas en hieleras al laboratorio LV-711, Unidad Nainari del ITSON.

b). Limpieza y almacenamiento

A las cabezas frescas se les eliminó manualmente la materia extraña (peces, jaibas, algas y corales) y al mismo tiempo recibían un lavado bajo el chorro de agua potable. Una vez homogenizada la muestra, se colocaron entre 3 y 5 kg. de cabezas enteras en bolsas del plástico para facilitar su manejo y su rápida congelación durante 2 días, y por lo tanto su buena conservación.

c). Secado

Para ello se empleó la parte de muestra de cabeza de camarón entera conservada mediante congelación. Una vez descongeladas se procedió a secarlas en un secador marca VORTON modelo TR2-1600, bajo las siguientes condiciones: temperatura del aire a flujo perpendicular de $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, monitoreando la humedad cada media hora hasta presentar humedad final del 8%, para lo cual se requiere aproximadamente 4 horas.

➤ Método de la termobalanza

La humedad se determina usando una termobalanza analítica marca OHAUS. El método consiste en pesar 10 g de muestra en el plato del aparato, extenderla lo mejor posible y conectar el aparato de tal manera que la lámpara quede exactamente sobre la muestra. Seleccionar el tiempo y el voltaje adecuado con los controles (de preferencia

condiciones suaves). Registrar la variación de peso cuando éste llegue a un valor constante. Calcular el porcentaje de pérdida de peso, el cual corresponde al contenido de humedad de muestra y por lo tanto de la cabeza de camarón en proceso de secado.

d). Molienda

Después de obtener las cabezas secas, se continuó con la reducción de tamaño en un molino de cizalla marca The Straub Company, modelo 4E Grinding Hill. Es importante que las muestras estén completamente secas para evitar posibles dificultades durante la molienda.

e). Tamizado

Se realizó empleando un tamizador mecánico Steve-Shaker portable N° 6958 con tamices de malla No. 20, 40 y 60, las muestras que quedaron retenidas en la malla No. 20 y 40 se volvieron a moler nuevamente para obtener un tamaño de partícula menor que quedara retenida en la No. 60. La fracción que traspasó la malla No. 60 se desechó debido a que es un polvo muy fino, de difícil manipulación y de aprovechamiento pobre de la quitina.

f). Conservación

Las harinas fueron conservadas a temperatura ambiente en bolsas de papel, debidamente cerradas y rotuladas, el tiempo necesario hasta su utilización.

g). Caracterización de la harina

La humedad, cenizas y nitrógeno total, se determinaron en la harina entera por los métodos estándar (AOAC, 1980).

2.2.2 Fermentación láctica de la cabeza de camarón

Para ello se requirió como materia prima la pasta de cabeza de camarón *Panaeus vannamei*, previamente congelada y molida. Las cabezas de camarón congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se molieron en un molino para carne marca TORREY modelo 12 con dado 4 mm. La muestra molida, se colectó en botes de plástico blanco de 1l, tapados y almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador American modelo CL 110, lo cual permitió su conservación hasta el momento de su utilización.

❖ Microorganismos

Se utilizaron cepas puras de *Lactobacillus sp.*, la cual fue suministrada por el M.C. Roberto Armenta de la Universidad Autónoma Metropolitana de la Cd. de México, la cual fue aislada de residuos de camarón por la Dra. Zainoha Zakaria, de la Universidad de Loughborough y suministrado el cultivo en agar MRS. Para obtener el inóculo, esta bacteria se incubó en caldo MRS a 30°C durante 24 horas, hasta alcanzar una densidad óptica igual a 2, determinada a una $\lambda=535$ en un espectrofotómetro marca Genesis.

❖ Condiciones de fermentación

A los residuos de camarón descongelado se le adicionó 10% de sacarosa (p/p) y se inoculó con la cepa de *Lactobacillus sp.* (5% v/p). La fermentación de este sustrato semisólido se llevó a cabo por 7 días a 30°C en muestras de 2 kg, para lo cual se emplearon frascos de cristal con tapa de plástico y capacidad para 4 kg. El pH se monitoreo cada 24 horas, con la ayuda de un potenciómetro marcas VWR Scientific modelo 2000 previamente calibrado con soluciones buffer pH 7 y pH 4; ésto, con el fin

de confirmar la disminución del pH y su estabilidad durante todo el proceso.

Después de transcurrido los 7 días de fermentación y haberse mantenido el pH 4, el fermentado se procedió a tamizar con malla de lino y lavado con agua corriente, el licor obtenido se conservó en congelación a -20 °C para análisis posteriores (enzimas y proteínas).

El residuo sólido obtenido fue secado en estufa a 80°C por 6 horas para su posterior caracterización química con los métodos empleados para la caracterización de la harina de cabeza de camarón. A diferencia de las harinas de camarón este residuo fue tratado primeramente por una desproteinización química y/o enzimática y posteriormente una despigmentación-desmineralización.

2.2.3 Extracción de quitina

A continuación se describe la secuencia de pasos que se siguieron para la purificación de quitina.

2.2.3.1 Despigmentación y desmineralización

El cefalotórax de camarón contiene en su estructura, además de quitina que es el polímero de interés para este trabajo, un pigmento de tipo xantina y sales minerales. Estos dos últimos componentes se eliminaron siguiendo la técnica de Cañipa (1994).

Para realizar la despigmentación se preparó una combinación de disolventes conteniendo acetona (75 %), éter de petróleo (15 %) y agua (10 %). La relación harina-solvente empleada fue 1 g/10 ml, se mantuvo la

mezcla durante 3 horas en agitación constante (300 rpm), a temperatura ambiente.

Al finalizar este tiempo las muestras se filtraron con papel filtro grueso y vacío para eliminar la fase líquida que contiene al pigmento extraído. La fracción sólida se enjuagó varias veces con acetona hasta que los residuos del lavado se observaron incoloros y posteriormente se secaron en estufa a 80 °C durante 6 horas.

Ya que se eliminó la parte de los pigmentos, se procedió a la desmineralización. Esta consistió en tratar a la muestra con HCl 1N, en relación 1g/ 10 ml, durante 3 horas, a temperatura ambiente y con agitación constante (300 rpm). Al transcurrir las 3 horas se agregó agua corriente a la muestra, con el fin de disminuir la acidez y enseguida se vertió sobre un tamiz de malla No. 80, en donde la harina fue lavada, primeramente con abundante agua corriente y posteriormente con agua desionizada. A continuación, para facilitar el secado, se filtra con vacío finalmente se seca en estufa a 80 °C durante 6 horas.

En este punto, la harina problema contiene un complejo proteína-quitina que posteriormente es tratado químicamente o bien enzimáticamente con una proteasa alcalina comercial para solubilizar la proteína y finalmente obtener quitina.

2.2.3.2 Desproteínización química

A la muestra despigmentada y desmineralizada se le realizó la desproteínización por el método de Cañipa (1994), empleando NaOH al 4.5 % a una relación masa:volumen de 1:15, el matraz se tapó con papel

aluminio y se colocó en un baño a 65 ± 5 °C con agitación constante durante 3 horas. Transcurrido el tiempo preestablecido, se diluyó con agua de la llave y se filtró sobre tamiz No. 100, se lavó a chorro de agua hasta alcanzar la neutralidad y la remoción de la proteína hidrolizada. El último lavado se hizo con agua desionizada. Luego, el sólido se colocó sobre papel filtro grueso y se removi6 toda la humedad posible con vacío. Finalmente, el residuo se secó en estufa a 80 °C durante 6 horas.

2.2.3.3. Desproteínización enzimática

Para ello se empleo la técnica de Escobedo (1994), pesándose 10 g de harina de cefalot6rax de camar6n previamente despigmentada y desmineralizada y se mezcl6 con 80 ml de la preparaci6n de un buffer de carbonatos ajustado a pH 9.5, previamente verificado con potenci6metro. Por otro lado se prepararon 5 ml de una soluci6n de la enzima proteasa alcalina TAKABATE 380, marca ENMEX, de tal forma que la relaci6n enzima:proteína fuese del 1%. Se colocaron, sin mezclar, ambas soluciones en un baño de agua a 50 °C. Una vez alcanzada esa temperatura en ambos sistemas, se añaadi6 la soluci6n enzimática a la muestra, y se empez6 a contabilizar los 180 minutos de hidr6lisis, controlando la temperatura y manteniendo constante la agitaci6n (300 rpm). Transcurrido este tiempo, se inactiv6 a la enzima llevando el sistema a ebullici6n 5 minutos. Se enfri6 y lav6 a chorro de agua en un tamiz No. 100 para remover la proteína hidrolizada. Se enjuag6 con agua desionizada, se realiz6 un nuevo filtrado sobre papel filtro grueso para la remoci6n de toda la humedad posible empleándose vacío y se procedi6 a secar en una estufa a 80 °C durante 6 horas.

2.2.4 Determinación de la calidad de la quitina, harina de cabeza de camarón y residuos de la fermentación

Tanto la harina de cabeza de camarón, los residuos de la fermentación como las quitinas obtenidas por los tres métodos evaluados, se les realizaron determinaciones de humedad por el método de la estufa, cenizas (AOAC, 1980), nitrógeno total por el método Kjeldahl (AOAC, 1980) y a su vez comparando éstas últimas con una muestra de quitina comercial marca Sigma.

2.2.4.1 Humedad

Se realizó por el método de la estufa la cual consistió en pesar 2 g de harina en la cápsula de porcelana, el cual había sido previamente pesado después de secarlo 2 horas a 130 °C con la ventilación abierta. Se Retiró de la estufa, dejándolo enfriar en desecador y posteriormente pesar tan pronto como se haya equilibrado con la temperatura ambiente.

Se calcula el porcentaje de humedad reportándolo como pérdida de peso por secado a 130 °C.

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{(A - B)}{m} \cdot 100$$

Donde:

A = Peso de la cápsula más muestra húmeda

B = Peso de la cápsula más muestra secada
en la estufa

m = Peso de la muestra en gramos

2.2.4.2 Cenizas

Se pesaron con precisión 3 g de harina en un crisol de porcelana previamente pesado después de haber sido calcinado 2 horas a 600 °C. Luego se calcinó la muestra carbonizándola primero con mechero en una campana de extracción, hasta que ya no saliera humo. Se metió a la mufla, cuidando que la temperatura no pasara de 550 °C para evitar que los cloruros se volatilizaran. Posteriormente se suspendió el calentamiento cuando las cenizas estuvieron blancas o grises (cuando se observaban puntos negros, éstas se humedecían con gotas de agua destilada y se secaban en la estufa a 130 °C para luego calcinarlas). Finalmente se enfrió en desecador y se pesaron. El porcentaje de cenizas se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{(A - B)}{m} \cdot 100$$

Donde:

A = Peso del crisol + cenizas

B = Peso del crisol vacío

m = Peso de muestra en gramos

2.2.4.3 Nitrógeno total

Se realizó por el método Kjeldahl que consiste en una digestión, destilación y titulación.

➤ Digestión

Se pesó 1 g de muestra y se colocó en el fondo de un matraz Kjeldahl de 800 ml, se adicionaron 3 perlas de vidrio, 8.5 g de mezcla digestora y finalmente 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Antes de iniciar la digestión encender el extractor de gases del equipo, ajustar el reostato del digestor a temperatura media; colocar el matraz en el digestor, y cuando la solución deje de espumar, ajustar el reostato de tal manera que el contenido del matraz siga en ebullición hasta obtener un color azulverdoso transparente, dejar la muestra por 30 minutos más en el digestor. El matraz se gira ocasionalmente para facilitar la remoción del carbón; una vez completa la digestión, dejar enfriar el matraz y su contenido.

➤ Destilación

Limpiar completamente el destilador utilizando de 150 a 200 ml de agua en un matraz Kjeldahl, desechándose el destilado.

Colocar en el extremo inferior del condensador un matraz Erlenmeyer conteniendo 50 ml de ácido bórico al 4% y 5 gotas de indicador rojo de metilo, de tal manera que el extremo por donde sale el destilado quede inmerso en el líquido contenido en el matraz.

Si la solución contenida en el matraz se hubiera cristalizado durante el enfriamiento, calentar ligeramente, posteriormente agregar 300 ml de agua destilada manteniendo el matraz inclinado durante la operación.

Añadir con sumo cuidado dos piezas de granalla de zinc y resbalando por las paredes adicionar 90 ml de hidróxido de sodio al 50% previamente enfriado en baño de hielo, de tal manera que se forme una capa de

hidróxido de sodio sin mezclarse por debajo de la solución contenida en el matraz.

Inmediatamente conectar el matraz destilador abriendo la llave de agua de enfriamiento y agitando el contenido del matraz hasta que la solución adquiera un color uniforme, destilar manteniendo una ebullición constante hasta obtener un volumen de 300 ml en el matraz que contenga el ácido bórico.

Una vez terminada la destilación, no se apaga la fuente de calor sin antes desconectar el bulbo Kjeldahl del condensador; de lo contrario el destilado será succionado por el matraz Kjeldahl.

➤ Titulación

Añadir dos gotas de indicador rojo de metilo al destilado y titular con una solución valorada de ácido sulfúrico 0.1 N hasta un punto final de color amarillo cobre o incoloro.

El porcentaje de Nitrógeno se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{ml blanco} - \text{ml problema}) (N \text{ H}_2\text{SO}_4) (0.014) (100)}{\text{g de muestra}}$$

El contenido de proteína en las harinas de cefalotórax de camarón se hizo restando el nitrógeno quitínico al porcentaje de nitrógeno total y multiplicando esta diferencia por el factor 6.25. Para ello tuvo que determinarse previamente el contenido de quitina de las muestras empleando un método riguroso como es el de Horowitz y col (1957. La

descripción de este método, así como el diagrama de flujo se muestran a continuación.

2.2.4.4 Estimación del factor para la conversión de nitrógeno a proteína de cabeza de camarón

Primeramente se requiere obtener quitina estándar (Figura 5) y para ello se aplica el método propuesto por Horowitz y col. (1957), y posteriormente se determina la cantidad de nitrógeno en ella y finalmente se obtiene el factor de conversión.

➤ Descripción del método

Se pesan 10 g de muestra descalcificada (b.s.) y se mezclan con 100 ml de ácido fórmico al 90%. Agitar durante 18 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, la mezcla se diluye con agua deionizada y se filtra con un tamiz número 100; hacer enjuagues con agua desionizada. Posteriormente, el residuo se trata con 500 ml de una solución de NaOH al 10% a 100 °C con agitación constante durante 2.5 horas. Enjuagar con agua desionizada. El residuo es quitina.

2.2.5 Estimación de costo, rendimiento, tiempo de proceso a nivel laboratorio

Se realizó un estudio de costos integrando los requerimientos de material, reactivos y equipo, tomando como base al tratamiento elegido en cada etapa; así como también, el tiempo y el rendimiento. Se hizo un cálculo estimado de costo de 100 g. de quitina a partir de materia prima, la cabeza de camarón fresca.

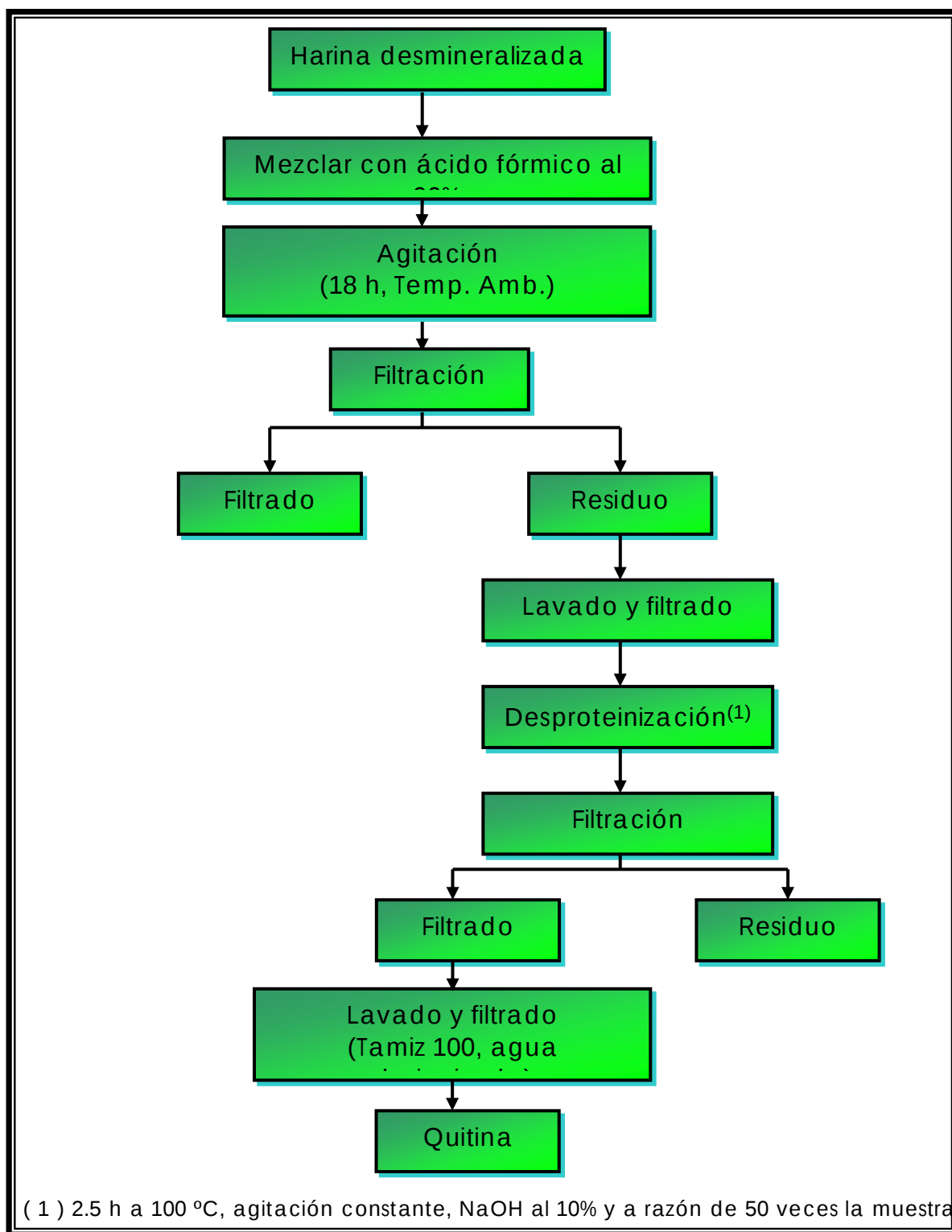


Figura 5. Metodología para la obtención de quitina estándar por el método de Horowitz y col.

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Para la extracción de quitina a partir de la cabeza de camarón se utilizaron como procesos fundamentales el secado para la obtención de la harina y la fermentación láctica elaborar el residuo sólido fermentado. Tanto la harina como el residuo de la fermentación fueron caracterizados químicamente, y posteriormente desproteinizados química y enzimáticamente con el fin de comparar su efecto en la calidad y el rendimiento de la quitina obtenida por ambos métodos de purificación empleados. También se realizó una estimación de costo tomando como base de cálculo 100 g de quitina obtenida por ambas técnicas.

3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE CABEZA DE CAMARÓN

3.1.1 Distribución del tamaño de partícula

Las operaciones implicadas en la preparación de las muestras de cabeza de camarón, es decir, la obtención, lavado, secado, molienda y tamizado

no representan dificultad alguna, ya que se emplean procesos comunes y accesibles. Después de la molienda de las cabezas secas se tiene, como resultado de su tamizado, que las partículas correspondientes a la malla No. 40 y 20 representan la fracción mayoritaria, con un 54.5% y 34.5%, respectivamente, del total de las harinas. Juntas representan más del 80% del total de las harinas. Las partículas obtenidas de la malla No. 10 tienen la ventaja de poder ser molidas nuevamente. En la tabla 2 se muestra la distribución fraccionadas de las partículas obtenidas del tamizado.

Tabla 2. Proporción de fragmentos de harina de cabeza de camarón generados de la molienda (en base a un kg de muestra seca).

MUESTRA	PESO (g)	PORCENTAJE (%)
Harina entera	66	6.6
Harina de malla 20	345	34.5
Harina de malla 40	545	54.5
Harina de malla 60	44	4.4
TOTAL	1000	100.0

En muchas operaciones de la manufactura de los alimentos suele ser una necesidad frecuente desmenuzar los sólidos mediante la aplicación de fuerzas mecánicas. La razón de disminuir el tamaño de la partícula de una masa dada del sólido producido conduce a un aumento en la superficie del sólido, y dicho aumento en superficie sirve de ayuda a la velocidad de extracción de un soluto deseado que crece al aumentar el área de contacto entre el sólido y el disolvente (Brennan, 1970). A su vez el tamizado permite fraccionar uniformemente en tamaños a partir de la mezcla original.

3.1.2 Humedad

La humedad es uno de los parámetros importantes a controlar durante las operaciones de secado de la cabeza de camarón, pues la presencia de agua puede facilitar o complicar el proceso de trituración y conservación. Para ello se evalúa el contenido de humedad de las muestras del cefalotórax de camarón en diferentes etapas del procesamiento, los cuales se reportan en la tabla 3. En ella se aprecia un alto contenido de humedad en cabeza frescas, 77.5% y una reducción hasta 8.5% después del secado. El contenido de humedad continúa disminuyendo, aunque en menor proporción, al moler las cabezas, debido a que se genera calor o altas temperaturas por la fricción entre las partículas. Finalmente al tamizar la harina entera, separando las partículas por su tamaño, la harina de malla No. 40 presenta una humedad ligeramente menor a las otras.

Tabla 3. Variación del contenido de humedad en la cabeza de camarón y sus harinas.

MUESTRA	% HUMEDAD
Cabeza fresca	77.5
Cabeza seca	8.5
Harina entera	8.0
Harina malla No. 20	7.6
Harina malla No. 40	7.0

Simpson y Haard (1985) reportan humedad en la harina de cabeza de camarón del 4.4%, por su parte Cañipa (1994) un 7.3%, mientras que las partículas de malla 20 y 40 presentan humedades de 7.6 y 7.0 %, respectivamente; estos valores tienen la ventaja de que se reduce su capacidad de rehidratación debido a que durante el secado se propician daños térmicos que alteraran los grupos polares (hidroxilos, aminas,

carbonilos, etc.) por lo que dichos grupos ya no están disponibles, permitiendo así una mejor conservación de la harina. Del agua contenida en un alimento dependen las propiedades reológicas y de textura de éste, pero también es responsable en gran medida de las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas que son las tres principales causas del deterioro de un producto (Badui, 1993). Además la capacidad de producción y eficiencia de la molienda pueden resultar afectadas. En presencia de humedad puede tener lugar también una aglomeración de los productos (Brennan, 1970).

Es por ello que se requiere del secado de la materia prima para contrarrestar éstos efectos y aumentar así su vida de anaquel. Otro de los efectos favorables del secado es que permite la disminución de la estabilidad de los carotenos, rompiendo o debilitando la unión que existe con las proteínas y por lo tanto la facilidad de extracción de los pigmentos (Chen y Meyers, 1982^a; 1982 b).

3.1.3 Composición química

En la tabla 4 se presenta la composición química de la harina de cabeza de camarón, para lo cual a la muestra primeramente se le dio un secado previo hasta un porcentaje de humedad especificado, se molió y tamizó con malla No. 20 y 40, evaluándose finalmente humedad, proteínas y cenizas. Se observa un alto contenido de proteína en malla No. 40; la determinación de proteína, para el caso del cefalotórax de camarón, es un punto polémico, debido a que no existe un factor para transformar directamente el nitrógeno total en proteínas. En este caso se empleó un factor de 5.81, cuyo origen se explica detalladamente en la discusión de la tabla 5.

Tabla 4. Composición química de la harina de camarón.

No. MALLA	HUMEDAD (%)	PROTEÍNA (%)	CENIZAS (%)
20	7.64	42.30	16.98
40	6.97	48.16	15.67

Si se comparan los resultados de la tabla 4 con los obtenidos en investigaciones realizadas anteriormente por Simpson y Haard (1985), quienes reportaron un contenido de proteína de 43.13%, cenizas 25.2%, humedad 4.4% y los de Cañipa (1994) quien reporta un contenido de proteína de 44.71%, cenizas 26.32% y humedad 7.3%; se tiene que son semejantes en todas las fracciones excepto en el contenido de cenizas. Sin embargo, No y Meyer (1995) mencionan que la diferencia de fracciones de los componentes del cefalotórax de camarón se debe al tipo de especie empleada y a la temporada de captura del camarón.

Se puede decir que la cabeza de camarón está compuesta en mayor proporción de proteína, lo cual lo hace altamente valioso desde el punto de vista nutricional por el aporte de aminoácidos y especialmente de los esenciales (como treonina, valina, isoleucina, leucina, lisina, triptófano, metionina y fenilalanina) (Cañipa, 1994), y de minerales; los cuales, requieren de su remoción, casi en su totalidad, en las etapas de purificación de la quitina, principalmente cuando se requiere obtener quitina de buena calidad, ya que la presencia de cenizas y proteínas en la quitina es un indicador de la efectividad del método utilizado, y por lo tanto repercute finalmente en el precio de la misma.

3.1.4 Factor de conversión para proteína

Fue necesario determinar un factor de conversión para el tipo de proteína que se está trabajando, por no encontrarse en bibliografía este dato. La finalidad de obtener este factor se debe a que la cabeza de camarón está compuesta por nitrógeno proteico y no proteico, esta última fracción corresponde al nitrógeno quitínico, lo cual falsea el resultado final durante la cuantificación del contenido de proteína cruda real de la muestra; por lo que se requiere realizar la corrección de proteína.

En la tabla 5 se presenta el valor de proteína cruda y proteína corregida en las harinas de malla No. 20 y 40. El primer valor corresponde a la proteína que se obtiene al multiplicar por 6.25 el contenido de nitrógeno total en la muestra. El segundo valor se obtiene restando el contenido de nitrógeno quitínico del nitrógeno total, para lo cual se tuvo que hacer un estudio del contenido de quitina de la muestra por el método de Horowitz y col (1957), cuya técnica se describe en la figura 5. Así la diferencia se atribuye exclusivamente al nitrógeno proteico, por lo cual al multiplicar este valor por 6.25 se obtiene la proteína corregida en la muestra y finalmente el factor de conversión que surge como producto del cociente del valor de proteína corregida entre el valor del nitrógeno total de la muestra, dando como valores 5.67 y 5.96 para malla 20 y 40, respectivamente; sin embargo se empleó un factor de 5.81 que es el promedio de los dos factores obtenidos, este valor es inferior al factor 6.25 el cual se utiliza generalmente para la conversión de proteína de origen animal, por lo que al utilizar éste como factor para la harina de cabeza de camarón da un contenido de proteína más alto que si se utilizaran los factores de conversión aquí obtenidos. Por otra parte Cañipa (1994) obtiene los factores de conversión de 5.28 y 5.40 para las mallas 20 y 40 respectivamente, los cuales son

inferiores a los reportados en el presente trabajo, esto puede deberse a la especie utilizada y a la temporada de captura del camarón.

3.2 FERMENTACIÓN LÁCTICA

3.2.1pH

El monitoreo del pH en la fermentación láctica es uno de los parámetros indicativos sobre la eficiencia del proceso de fermentación, en este caso una disminución hasta el punto óptimo es lo deseable. En la tabla 6 se muestran los promedios de pH registrado desde su inicio hasta el final del proceso, siendo monitoreados cada 24 horas por un periodo de 6 días.

Los resultados anteriores se emplearon para su representación gráfica como se observa en la figura 5, en donde se esquematiza el comportamiento del pH durante el proceso de fermentación de la cabeza de camarón cruda molida, obteniéndose valores entre

Tabla 5. Obtención del factor para la conversión de nitrógeno a proteína de cabeza de camarón.

	No. MALLA	
	20	40
a) Rendimiento quitina estándar %	11.77	6.40
b) Nitrógeno quitínico %	5.87	5.72
c) Nitrógeno quitínico ($a*b/100$) g	0.69	0.37
d) g N ₂ /100 g harina	0.69	0.37
e) N ₂ total en la muestra %	7.46	8.08
f) Proteína total, factor 6.25 %	46.63	50.50

g) N ₂ quitínico	%	0.69	0.37
h) Quitina (N ₂ quitínico * 100/6.9)	%	10.00	5.36
i) Nitrógeno corregido (e - g)		6.77	7.71
j) Proteína corregida, factor 6.25		42.31	48.19
k) Factor (j/e)		5.67	5.96
Promedio del factor		5.81	5.81

promedios deseables para la estabilización de sólidos de pH 4.4 ya que el rango óptimo para este proceso es de pH 4.2 a 4.5 en un tiempo de 6 días a 30°C; los cuales resultan semejantes a los obtenidos por Cira y col. (1999) quienes logran descender el pH de 7.5 hasta 4.4 utilizando una cepa pura de *Lactobacillus sp.* como inóculo iniciador y teniendo como fuente de carbohidratos la sacarosa al 10% (p/p). Por otra parte Vargas (2000) y Gómez (2000) quienes emplearon como inóculo al *Lactobacillus sp.* presente, en forma inmovilizada y como fuente de carbohidratos la melaza, en un producto denominado "probiótico" y ajustando el pH de la fermentación cercano a 6.5 con ácido cítrico observan el descenso de pH hasta 4.4 en 6 días. Esta disminución del pH es el resultado de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, producido por los microorganismos presentes en el sistema.

Tabla 6. Monitoreo de pH durante la fermentación láctica.

Tiempo (Días)	pH
0	7.7
1	6.4
2	5.2

3	5.2
4	4.6
5	4.5
6	4.4

En la gráfica se observa que durante el primer día el descenso de la acidez fue mínima, debido a que el inóculo de *Lactobacillus sp.* estaba en la fase de latencia o adaptación al sustrato, pero al transcurrir del primero al segundo día la variación de pH fue mayor de 7.7 a 5.2, es decir cuando el microorganismo está en la fase logarítmica, y los días posteriores el lactobacilos entra en la fase estacionaria ya que es inhibido por el ácido láctico, esto lo explica Vargas (2000) al considerar que la acidificación y la multiplicación celular del microorganismo están muy relacionadas con las cuatro fases del desarrollo microbiano, es decir a mayor reproducción mayor cantidad de ácido láctico generado y que a su vez éste cambio de acidez es provocado por la liberación del fosfato inorgánico y amonio debido a la degradación enzimática de ATP y la capacidad buffer del sustrato.

Si bien la cabeza de camarón alberga una microflora natural donde se encuentra una gran variedad de bacterias lácticas que pueden ser aisladas y emplearlas como inóculo en la fermentación de residuos de camarón. Esto puede indicar el empleo innecesario del inóculo iniciador en un proceso fermentativo; sin embargo éste último por ser una cepa pura tiene la ventaja de predominar en mayor cantidad sobre los competidores, favoreciéndose así su rápida multiplicación y propagación; teniéndose por lo tanto un aumento en la cantidad de ácido láctico sintetizado, que afecta al desarrollo de la mayoría de los microorganismos causantes de la putrefacción.

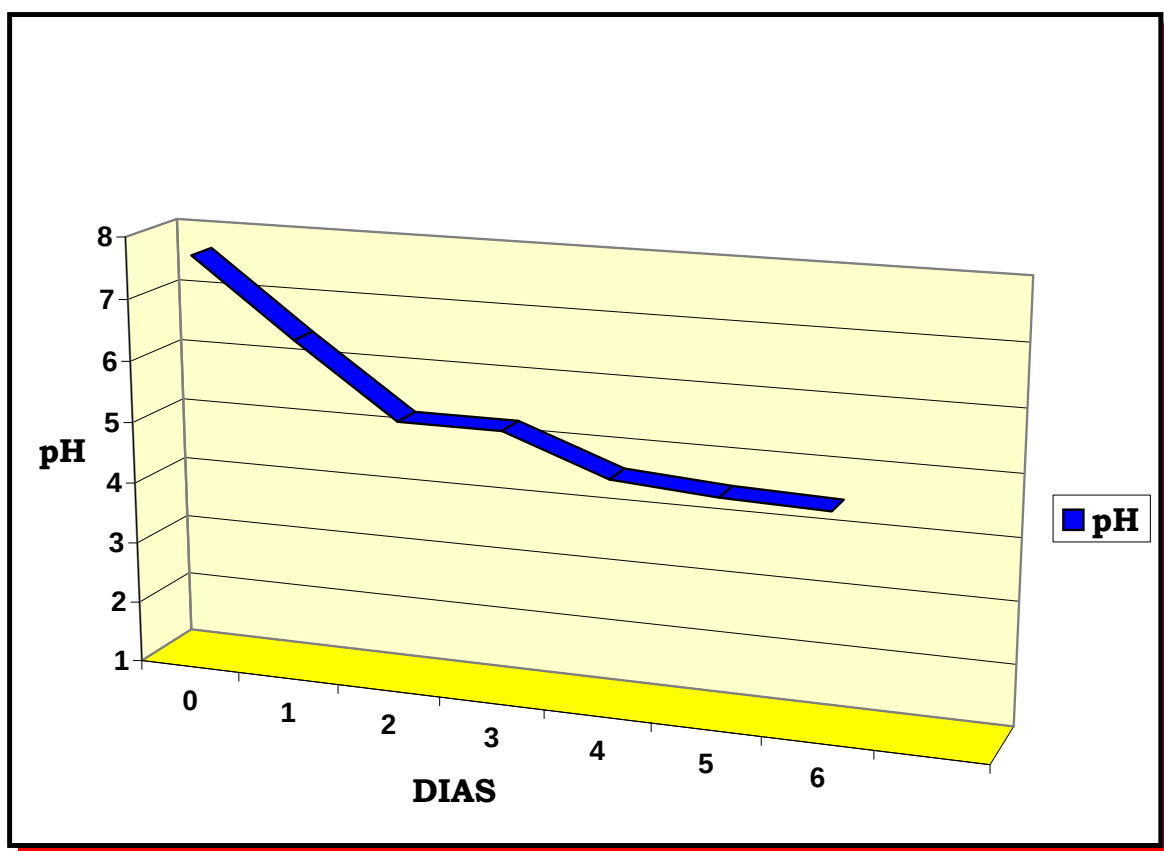


Figura 6. Comportamiento del pH en el proceso de fermentación láctica en cabeza de camarón fresco (*Panaeus vannamei*).

3.2.2 Separación del residuo fermentado

En la tabla 7 se muestra la fracción de residuo sólido fresco y licor separado mediante filtración de manera artesanal. Como producto de la fermentación de 2000 g de cabeza de camarón fresca se obtienen 234.5 g de residuo sólido fresco que representa el 11.73%, llevándose a sequedad para luego realizarle los análisis correspondientes a su caracterización química y purificación; por otra parte, el licor o sobrenadante obtenido es de 1750 ml que representa el 88.27%, el cual puede ser almacenado en refrigeración para extraer otros materiales de interés.

Tabla 7. Proporción de los residuos de la fermentación láctica de la cabeza de camarón.

CABEZA DE CAMARÓN FRESCA Y MOLIDA (g)	PRODUCTOS DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA	
	SÓLIDO FRESCO (g)	LICOR (ml)
2000	234.5	1750
100%	11.72%	87.50

Estos resultados indican que la mayor proporción está representado por el licor que contienen como componentes: agua, pigmentos, proteínas, minerales, complejos enzimáticos y ácidos orgánicos, productos de la fermentación y que pueden ser separados los componentes de valor comercial como pigmentos y proteínas. Gómez (2000) mediante centrifugación refrigerada logró obtener como resultado de la separación un 36 % de residuo sólido, 61 % de licor y 3 % de sobrenadante (correspondiente a los pigmentos). Esta gran diferencia en los resultados demuestra que la centrifugación bajo refrigeración, en comparación con el método artesanal, tiene la ventaja de separar eficientemente las fases generadas por la fermentación, evitando al máximo la pérdida del residuo sólido, el cual contiene mayor proporción de quitina que es obtenida mediante un proceso de purificación.

3.2.3 Caracterización del residuo sólido fermentado

En la tabla 8 se reportan los resultados obtenidos de la caracterización química del residuo sólido fermentado, de la cual se partió inicialmente con 2000 g de cabeza de camarón fresca y molida para la fermentación,

obteniéndose 234.5 g de sólido filtrado, posteriormente se sometió a secado a 85 °C hasta humedad final de 8.3 %, dando como resultado 64.3 g de sólido seco, y que a su vez se le determinó proteína total por el método Kjeldahl usando como factor de conversión 5.81; así como el porcentaje de cenizas con un valor de 13.23 %.

Tabla 8. Características químicas del residuo sólido de la fermentación láctica

CABEZA DE CAMARÓN FRESCA (g)	SOLIDO FERMENTADO FRESCO (g)	SÓLIDO FERMENTADO SECO (g)	HUMEDAD (%)	PROTEÍNA (%)	CENIZAS (%)
2000	234.5	64.3 g	8.3	32.13	13.23

Comparando éstos resultados con los reportados en la tabla 4 del presente trabajo, sobre la caracterización de la harina de cabeza de camarón sin fermentar, se observa el producto de la fermentación del cefalotórax, posee menor contenido de proteína y cenizas, esto se debe a que durante la fermentación existe una desproteización del residuo que es causada por el aumento en la actividad proteolítica de las enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo localizado en la cabeza de camarón, con lo que se provoca una hidrólisis de las proteínas según lo sugieren Cira y col (1998); y Gómez (2000). Por otra parte las condiciones de alta acidez provocan una desmineralización del residuo de camarón al reaccionar el ácido láctico con los minerales (carbonato y fosfato de calcio) unidos a la quitina, lo cual produce a su vez una descarboxilación que conduce a la liberación de CO₂, apreciándose por la formación de

burbujas en la superficie del medio lo cual coincide con las observaciones reportadas por Cira y Col (1998) y Gómez (2000).

Los resultados obtenidos podrán servir en un momento dado para determinar las concentraciones y volúmenes de reactivos utilizados en la purificación de la quitina, y reducir así en gran medida los costos de dichos materiales, los cuales a su vez afectan al medio ambiente.

3.3 PURIFICACIÓN DE LA QUITINA

3.3.1 A partir de harina de cabeza de camarón

3.3.1.1 Desproteinización química

En la tabla 9 se indica el rendimiento para cada una de las etapas al extraer la quitina de la harina de cabeza de camarón, para ello se toma una base de cálculo de 100 g de harina para realizar el proceso de separación de minerales, proteínas y pigmentos. Como primer paso se realizó la despigmentación con una mezcla de acetona:éter de petróleo:agua relación de 75:15:10, y relación masa:volumen de 1:10 con un rendimiento de 91.01 g; el residuo sólido filtrado; ya seco se procedió a desmineralizarlo mediante ácido clorhídrico al 1N con relación masa:volumen del 1:20, dando un rendimiento de 31.27 g; y finalmente la desproteinización química con hidróxido de sodio al 4.5% en relación masa:volumen de 1:10. El residuo sólido obtenido es quitina cruda con un rendimiento del 11.99%.

Cañipa (1994) reporta 12 % de rendimiento de quitina como resultado de su investigación al aplicar el método químico durante la extracción en

harina de cabeza de camarón, por lo que al hacer la comparación con el rendimiento de 11.99% de quitina obtenida se confirma la semejanza entre ellos.

Tabla 9. Relación de rendimiento por etapa al utilizar deproteínización química en harina de cabeza de camarón.

MUESTRA INICIAL	DESPIGMENTACIÓN (RESIDUO)	DESMINERALIZACIÓN (RESIDUO)	DESPROTEINIZACIÓN QUÍMICA (QUITINA)
100 g	91.01 g	31.27 g	11.99 g

Durante el proceso de purificación de la quitina, la despigmentación se logra debido a que el pigmento astaxantina es una molécula no polar, y conociendo que un solvente no polar solubiliza compuestos no polares y viceversa, entre los solventes utilizados, para éste caso está la acetona que es levemente polar y el éter de petróleo que es solvente no polar. Según Luna (2000) la efectividad de la técnica empleada radica en los solventes y en la necesidad de que la muestra este libre de agua (seca), ya que el agua tiene una polaridad muy alta y su solubilidad es muy baja en los solventes utilizados e impide que el solvente entre en contacto con el pigmento Luna (2000).

Otra de las etapas de la purificación de quitina es la desmineralización que consiste en la remoción de los minerales, principalmente fosfatos y carbonatos de calcio, que se encuentran asociados a la quitina mediante enlaces iónicos. La reacción se lleva a cabo por intercambio iónico, en la que el ión cloro del ácido clorhídrico se une al ión calcio de los fosfatos y carbonatos, formando el cloruro de calcio, siendo éste soluble en agua,

por lo tanto es fácilmente eliminarlo por el drenado; pero la desventaja de éste procedimiento es que afecta negativamente a la viscosidad del biopolímero residual Cañipa (1994).

Estos resultados demuestran que es posible obtener quitina a partir de residuos de los crustáceos por hidrólisis química de las uniones peptídicas empleando hidróxido sodio, ya que a pH alcalino, a diferencia de pH ácido, es mayor la solubilidad de las proteínas y, por tanto, el rendimiento en la extracción de proteínas. Sin embargo, es importante mencionar el impacto ambiental de los efluentes al utilizar compuestos químicos para lograr este objetivo. Con esto ciertamente se logra la separación de la quitina, ya que el tratamiento alcalino ayuda a la solubilización de la proteína; sin embargo, Escobedo (1994) indica que pH tan alcalino que se alcanza hasta 12.5 en combinación con la temperatura (60 °C ó más), provoca daños también en la molécula de quitina.

3.3.1.2 Desproteinización enzimática

En la tabla 10 a diferencia con la tabla 9 en la desproteinización enzimática de la quitina se obtiene un rendimiento mayor de quitina cruda de 13.98 g a partir de 100 g de harina de cabeza de camarón en comparación con el tratamiento químico donde se obtiene 11.99 g/ 100 g de harina de cabeza de camarón; por lo que, si se compara el método químico y el enzimático para la obtención de quitina, el método enzimático es mejor, por dos razones fundamentales que son esenciales en las metas de este proyecto: La primera es un mayor rendimiento, y segunda, la no utilización de reactivos que al final del proceso se

convierten en contaminantes, y finalmente se logra reducir los costos de separación de la quitina y simplificar el proceso.

El procedimiento enzimático para la desproteinización permite reducir el uso de reactivos agresivos y, por lo tanto, se facilita la recuperación de otros componentes de interés, y se minimiza la despolimerización de la quitina, así como la desacetilación no controlada. Estudios realizados sobre la efectividad de este método han arrojado muy buenos resultados y la factibilidad de llevar a cabo una desproteinización enzimática para extraer quitina (Cañipa, 1994; Lizardi, 1998 y Luna, 2000).

Tabla 10. Relación de rendimiento por etapa al utilizar desproteinización enzimática en harina de camarón.

HARINA DE CAMARÓN	DESPIGMENTACIÓN (RESIDUO)	DESMINERALIZACIÓN (RESIDUO)	DESPROTEINIZACIÓN ENZIMÁTICA (QUITINA)
100 g	91.28 g	32.24 g	13.90 g

Si en lugar de efectuar una hidrólisis química se lleva a cabo una hidrólisis enzimática empleando proteasas, se tendrá un rompimiento gradual de los enlaces peptídicos que permita que la proteína se desprenda del complejo quitínico y se solubilice en el medio de reacción, quedando un polisacárido menos dañado, ya que las enzimas no lo atacan (Escobedo, 1994).

Es por ello que se considera al tratamiento enzimático como una alternativa para la etapa de extracción de proteína y obtener quitina,

buscando así mejorar la calidad del producto. Puesto que la enzima utilizada en el presente trabajo tiene la característica de ser una endopeptidasa capaz de hidrolizar los enlaces peptídicos de las moléculas proteicas en intervalos de pH óptimos para su actividad de 9 a 10, y temperaturas óptimas de 60 °C, existe el riesgo de que bajo estas condiciones las proteínas sean desnaturizadas provocando así la exposición de los enlaces peptídicos y subsecuentemente la susceptibilidad a la acción de las enzimas.

3.3.2 A partir del residuo de la fermentación

3.3.2.1 Desproteínización química

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos del tratamiento químico aplicado a los residuos de la fermentación para la purificación de la quitina, para lo cual se tomó una base de cálculo de 100 g del residuo sólido inicial. La separación de sus componentes que consistió primeramente en la despigmentación con una mezcla de acetona:éter de petróleo:agua relación de 75:15:10 y relación masa volumen de 1:10, teniéndose un rendimiento de 90.1 g, posteriormente el residuo sólido filtrado y seco se desproteinizó químicamente con hidróxido de sodio al 4.5% en relación masa:volumen de 1:10, generándose un rendimiento de 67.7 g, y finalmente desmineralizarlo mediante ácido clorhídrico al 1N con relación masa:volumen del 1:20. El residuo sólido obtenido fue quitina cruda con un rendimiento de 52.4 g.

Tabla 11. Relación de rendimiento por etapas al utilizar desproteínización química en el residuo de la fermentación

RESIDUO DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA	DESPIGMENTACIÓN (RESIDUO)	DESPROTEINIZACIÓN QUÍMICA (RESIDUO)	DESMINERALIZACIÓN (QUITINA)
100 g	90.1 g	67.7 g	52.4 g

Comparando este rendimiento con el presentado en la tabla 9 y 10, donde se trabajó con harina de cabeza de camarón, resulta ser alto, en apariencia; pues para obtener la cantidad de 52.4 g de quitina a partir de residuo sólido fermentado se requirió de 3110 g de cabeza de camarón fresca, mientras que para obtener el mismo rendimiento a partir de harina de cabeza de camarón se requerirían 1939 g de cabeza de camarón fresca, la cual es menor. Pero la diferencia estriba en las características químicas de ambas, puesto que el residuo sólido presenta una prepurificación por efecto de la fermentación por lo que requiere de menos cantidad de reactivos para su posterior purificación en comparación a la harina.

3.3.2.2 Desproteínización enzimática

En el residuo de la fermentación generalmente se espera una cantidad menor a la inicial de los componentes de la cabeza de camarón, dentro de los cuales se encuentran: Lípidos, cenizas, proteínas y pigmentos, aún así éstos requieren de una extracción o purificación para la obtención de quitina. Para lograrlo, primeramente, se realizó la despigmentación con una mezcla de acetona:éter de petróleo:agua relación de 75:15:10 y relación masa volumen de 1:10, presentándose un rendimiento de 90.1 g, el residuo sólido filtrado y seco se procedió a desproteínizarlo con una enzima comercial "Tekabate", determinándose un rendimiento del 73.3 g, y posteriormente desmineralizarlo mediante ácido clorhídrico al 1N con

relación masa:volumen del 1:20. El residuo sólido obtenido fue quitina cruda con un rendimiento del 55.9 g (tabla 12).

Tabla 12. Relación de rendimiento por etapa al utilizar desproteínización enzimática en el residuo de la fermentación láctica.

RESIDUO DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA	DESPIGMENTACIÓN (RESIDUO)	DESPROTEINIZACIÓN ENZIMÁTICA (RESIDUO)	DESMINERALIZACIÓN (QUITINA)
100 g	90.1 g	73.3 g	55.9 g

A partir de métodos biológicos se pueden obtener productos con mejores resultados, aunque con frecuencia los rendimientos son bajos comparados con los métodos químicos. Dentro de estos métodos se encuentra el procedimiento del ensilado con bacterias lácticas, el cual tiene la ventaja sobre los métodos, de que es posible recuperar producto de alto valor agregado, tales como enzimas, proteínas y pigmentos a partir de los mismos residuos. Además combinados con la desproteínización enzimática presentan la ventaja de obtener una quitina de mayor calidad debido a que las enzimas no destruyen al biopolímero, permitiendo una efectiva hidrólisis de los enlaces peptídicos, y a su vez una reducción en la utilización de reactivos nocivos, que al final son la principal fuentes de contaminación del medio ambiente.

3.4 CALIDAD DE LA QUITINA OBTENIDA

3.4.1 Composición química de la quitina

En la tabla 13 se muestran los resultados de la caracterización química de las quitinas obtenidas a partir de harina de cabeza de camarón y residuo de la fermentación mediante desproteínización química y enzimática,

cuyos métodos se detallan ampliamente en la metodología. Los parámetros principales evaluados fueron: cenizas y nitrógeno, teniéndose niveles de cenizas el máximo (1.3 %) para la obtenida por desproteínización enzimática a partir de harina de cabeza de camarón y mínima (0.9%) para la obtenida de la desproteínización química del residuo de la fermentación, en la cual también el porcentaje de nitrógeno total resultó bajo, aunque esta disminución del contenido de nitrógeno se observa que predomina en los métodos químicos aplicado tanto para la harina como para el residuo de la fermentación en comparación con la desproteínización enzimática.

Gómez (2000) y Cañipa (1994) obtuvieron 0.4 y 0.65% de cenizas respectivamente; a su vez la quitina comercial de la marca Sigma presenta 0.85% de cenizas; por lo tanto, los valores obtenidos en la quitina extraída resultan superiores a los recomendados pero en general se encuentran dentro de los niveles aceptables en función del uso que tendría la quitina. La presencia de cenizas en la quitina es un indicador de la efectividad del método utilizado para remover el carbonato cálcico, por lo que se puede decir que el proceso de desmineralización es eficiente según Luna (2000) cuando el contenido de cenizas es menor del 1%.

Tabla 13. Composición química de la quitina obtenida por desproteínización química y enzimática a partir de harina y residuo de la fermentación de la cabeza de camarón.

COMPONENTE (%)	HARINA DE CABEZA DE CAMARÓN		RESIDUO DE LA FERMENTACIÓN	
	METODO QUÍMICO	METODO ENZIMÁTICO	MÉTOD QUÍMICO	MÉTOD ENZIMÁTICO
Cenizas	1.0	1.3	0.9	1.0
Nitrógeno total	4.4	5.9	4.9	5.4

En cuanto al contenido de nitrógeno, éstos son inferiores a los reportados por Gómez (2000) y Cañipa (1994), 7.14 y 6.29% respectivamente, y a los de la quitina comercial Sigma, siendo más marcados en las muestras que fueron tratadas químicamente. Teóricamente se considera como quitina pura un rango de porcentaje de nitrógeno de 6.7 - 7.01% según Luna (2000). Sin embargo, los bajos niveles de nitrógeno obtenidos en este trabajo pueden deberse a que las proteínas fueron solubilizadas en mayor proporción durante el tratamiento químico por efecto de la temperatura y de la concentración de los agentes químicos tales como hidróxido de sodio o bien a la pérdida de nitrógeno durante la operación del equipo Kjendhal.

3.5 ESTIMACIÓN GENERAL DEL COSTO DE PRODUCCIÓN DE QUITINA

A continuación se presenta una relación de los materiales, reactivos, equipo y tiempo necesarios para la realización de éste proyecto. El estudio preliminar acerca de costos, corresponde a escala experimental y deberán ajustarse si se desea realizarlos a nivel piloto.

3.5.1 Insumos, tiempo y equipo empleado durante el proceso para obtener quitina

En la tabla 14 y 15 se presentan los requerimientos mínimos, divididos en etapas para la producción de 100 g de quitina a nivel laboratorio a partir de harina de cabeza de camarón y residuo de la fermentación láctica.

Como se puede observar en la tabla 14 el equipo que se utiliza por más tiempo y que requiere más potencia es la estufa de secado cuando se inicia la extracción de quitina de la harina de cabeza de camarón. En

cambio en la tabla 15, se tiene que la incubadora representa el equipo de mayor tiempo de uso (168 h) y con una potencia de 600 W/hora, seguido por la estufa de secado. Por ello se considera que estos equipos influyen directamente sobre el costo de producción de quitina.

Tabla 14. Insumo, tiempo y equipo empleado para obtener quitina a partir de harina de cabeza de camarón.

ETAPA		MATERIAL Y REACTIVOS	EQUIPO, POTENCIA Y TIEMPO	OPERACIÓN MANUAL
Obtención, secado, molido y tamizado de muestra		Cabeza de camarón fresca 3.70 kg	Secador eléctrico 6600 W, 3h Molino p/ cereal 667 W, 20' Tamizador 971 W, 20'	2.5 h
Despigmentación		Eter de petróleo 1.25 l Acetona 6.26 l Agua destilada 0.83 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h
Desmineralización		Ác. clorhídrico 0.47 l Agua desionizada 1.70 l Agua destilada 14.71 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h
Desproteínización	Química	Hidróxido de sodio 0.18 kg Agua destilada 3.91 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h
	Enzimática	Enzima Tekabate 0.004 kg Na ₂ CO ₃ 0.004 kg NaHCO ₃ 0.015 kg agua destilada 0.13 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h

Tabla 15. Insumo, tiempo y equipo empleado para obtener quitina a partir de residuo de la fermentación láctica.

ETAPA		MATERIAL Y REACTIVOS	EQUIPO, POTENCIA Y TIEMPO	OPERACIÓN MANUAL
Obtención, congelación y molienda de la muestra		Cabeza de camarón fresca 5.93 kg	Congelador 1491 W, 48 h Molino p/carnes 2237 W, 20'	1 h

Preparación de inóculo		Cepa Caldo MRS 0.02 kg	Incubadora 600 W, 24 h	0.25 h
Periodo de fermentación y secado del residuo			Incubadora 600 W, 144 h Estufa 760 W, 6 h	1 h
Despigmentación		Eter de petróleo 0.29 l Acetona 1.43 l Agua destilada 0.19 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h
Desproteínización	Química	NaOH 0.12 kg Agua destilada 2.58 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h
	Enzimática	Enzima 0.0006 kg Na ₂ CO ₃ 0.0020 kg NaHCO ₃ 0.01 kg Agua destilada 1.30 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h
Desmineralización		Ác. clorhídrico 0.08 l Agua desionizada 0.20 l Agua destilada 2.62 l	Agitador magnético 180 W, 3h Estufa p/secado 750 W, 6h	1h

En lo que se refiere a los reactivos y su costo, el más caro es el éter y el que se utiliza en mayor cantidad es la acetona, pero ambos solventes pueden recuperarse en 70%, por lo tanto su efecto en el costo podría verse disminuido al considerar este beneficio.

Por otra parte, en la tabla 16, 17, 18 y 19 respectivamente se indican los insumos y equipo empleados para la obtención de 100g de quitina, a términos económicos, con precios vigentes a la fecha (Septiembre del 2000), para la desproteínización química y enzimática, tanto para la harina como para el residuo de la fermentación.

En la tabla 17 a diferencia de la tabla 16, el costo de los insumos y equipo utilizados es menor y a su vez con un mayor rendimiento, por lo tanto esto se reflejaría en mejores ganancias para la empresa.

Tabla 16. Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínización química de harina de cabeza de camarón.

INSUMOS	CANTIDAD	PRECIO	TOTAL
Cabeza de camarón fresca	3.71 Kg	\$ 0.00	\$.00
Éter de petróleo	1.25 l	163.95/ l	204.94
Acetona	6.26 l	57.05/l	359.95
HCl	0.47 l	50.01/l	23.55
NaOH	0.18 kg	208.00/kg	37.44
Agua destilada	19.46 l	2.60/l	50.60
Agua desionizada	1.70 l	7.37/l	12.53
Energía eléctrica	35.46 KWH	0.41/KWH	14.54
		TOTAL:	\$ 703.55

Tabla 17. Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínización enzimática de harina de cabeza de camarón.

INSUMOS	CANTIDAD	PRECIO	TOTAL
Cabeza de camarón fresca	3.20 Kg	\$ 0.00	\$ 0.00
Éter de petróleo	1.08 l	163.95/ l	177.06
Acetona	5.40 l	57.05/l	308.07
HCl	0.40 l	50.01/l	20.00
NaHCO ₃	0.02 kg	428.00/kg	8.56
Na ₂ CO ₃	0.004 kg	318.00/kg	1.27
Enzima	0.004 kg	325.00/kg	1.30
Agua destilada	15.60 l	2.60/l	40.56
Agua desionizada	1.40 l	7.37/l	10.32
Energía eléctrica	35.46 KWH	0.41/KWH	14.54
TOTAL			\$ 581.68

Por otra parte al comparar los resultados de las tablas 16 y 17 con la 18 y 19 se observa una marcada diferencia, puesto que para obtener 100 g de quitina a partir de residuo sólido fermentado se requiere de una mayor cantidad de materia prima debido a que en la actualidad la cabeza de camarón es un desperdicio sin importancia para el acuacultor o pescador; sin embargo, los costos de producción se ven reducidos con respecto a los

presentados en la tabla 16 y 17. Puesto que la cantidad de reactivos es menor al purificar la quitina proveniente del residuo de la fermentación.

Tabla 18. Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínezación química del residuo de la fermentación láctica de la cabeza de camarón.

INSUMOS	CANTIDAD	PRECIO	TOTAL
Cabeza de camarón fresca	5.94 Kg	\$ 0.00	\$ 0.00
Caldo MRS	0.02 kg	3400.00/kg	60.00
Azúcar	0.59 kg	6.00/kg	3.54
Éter de petróleo	0.29 l	163.95/ l	47.55
Acetona	1.43 l	57.05/l	81.58
HCl	0.08 l	50.01/l	24.96
NaOH	0.12 kg	208.00/kg	4.00
Agua destilada	5.27 l	2.60/l	13.70
Agua desionizada	0.20 l	7.37/l	1.47
Energía eléctrica	206.76 KWH	0.41/KWH	84.77
		TOTAL:	\$ 329.57

Tabla 19. Costo estimado de 100 g de quitina obtenida por desproteínezación enzimática del residuo de la fermentación láctica de la cabeza de camarón.

INSUMOS	CANTIDAD	PRECIO	TOTAL
Cabeza de camarón fresca	5.56 kg	\$ 0.00	\$ 0.00
Caldo MRS	0.02 kg	3400.00/kg	68.00
Azúcar	0.56 kg	6.00/kg	3.36
Éter de petróleo	0.27 l	163.95/ l	44.27
Acetona	1.34 l	57.05/l	76.45
HCl	0.08 l	50.01/l	4.00
NaHCO ₃	0.01 kg	428.00/kg	4.28
Na ₂ CO ₃	0.002 kg	318.00/kg	0.64
Enzima	0.000.6 kg	325.00/kg	0.20
Agua destilada	4.30 l	2.60/l	11.18
Agua desionizada	0.20 l	7.37/l	1.47
Energía eléctrica	206.76 KWH	0.41/KWH	84.77

		TOTAL:	\$ 298.62
--	--	--------	-----------

Tabla 20. Resumen del costo estimado de producción de 100 g de quitina en relación del método.

	HARINA DE CABEZA DE CAMARÓN		RESIDUO DE LA FERMENTACIÓN	
	METODO QUÍMICO	METODO ENZIMÁTICO	MÉTODO QUÍMICO	MÉTODO ENZIMÁTICO
Cabeza fresca	3.71 kg	3.20 kg	5.96 kg	5.56 kg
Costo	\$ 703.55	\$ 581.68	\$ 329.57	\$ 298.62

En la tabla 20 se presenta un resumen general del costo de producción de 100 g de quitina, observándose que éste es menor al utilizar el residuo de la fermentación y la desproteínización enzimática, por lo tanto se beneficia la calidad y el costo de producción de la quitina.

CONCLUSIONES

- 🌀 Es posible obtener quitina mediante la desproteínización química y enzimática de la harina y residuo sólido fermentado de la cabeza de camarón.
 - 🌀 El rendimiento de la quitina en residuo sólido fermentado se ve afectado cuando se emplea filtración artesanal.
 - 🌀 Los métodos de extracción empleados en la harina y residuo sólido fermentado de la cabeza de camarón no influyen determinadamente en la calidad de la quitina obtenida, la cual cumple con los
-

parámetros más importantes especificados en investigaciones anteriores.

🌀 Los costos de producción de quitina a nivel laboratorio se reducen al emplear la combinación de métodos de fermentación láctica y desproteínización enzimática, aunque el tiempo para su producción es más prolongado.

🌀 La fermentación láctica combinada con la desproteínización enzimática resulta una alternativa viable para preservar los desechos de camarón, ya que facilita su manejo, deposición o utilización con el fin de resolver problemas de contaminación generados por las plantas procesadoras de camarón.

BIBLIOGRAFÍA

Armenta, R. E. 1998. Estudio sobre caroproteínas extraídas de residuos de camarón fermentados y no fermentados. Tesis de Maestría en Biotecnología de la UAM, México.

Austin, P. R.; Brine, C.J.; Castle, J.E. y Zikakis, J.P: 1981. Chitin: New facets of Research. Science.

AOAC. 1980. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Assoc. Offic. Anal. Chem. Horowitz, W. Ed. 13^a. Ed. Washington, D.C. U.S.A.

Barrera, V. B. 1987. La camaronicultura: práctica reciente en México. Acuavisión. México.

Badui Dergal S. 1993. Química de los alimentos. Editorial Alambra, México D.F.

Braverman, J. B. S. 1980. Bioquímica de los alimentos. Ed. El Manual Moderno, México.

Brennan, J. G. 1970. Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. Ed. Acribia, 1^a. Ed. España.

Burgess, G. H. 1987. El pescado y la industria derivada de la pesca. Acribia, S.A. España.

Cañipa, A. J. 1994. Estudio químico sobre el aprovechamiento integral del cefalotórax de camarón. Tesis de Maestría en Ciencias de los Alimentos. Facultad de Química, UNAM, México.

Chen, H. M. y Meyers, S. P. 1982^a. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. J. Food Sci, 47: 892-96.

Chen, H. M. y Meyer, S. P. 1982^b. Effect of antioxidants on stability of astaxanthin pigment in crawfish waste and oil extrac. J. Agric. Food Chem., 30: 469-73

Cira, Ch. L. A., Guerrero, L. Li., Huerta, O. S. y Shirai, K. 1998. Evaluación de diversas fuentes de carbono en la fermentación láctica de desechos de camarón (*panaeus* sp). departamento de Biotecnología, UAM-Iztapalapa, México.

Desrosier, N. 1992. Elementos de tecnología de alimentos. CECSA, México.

- Escobedo, G. 1994. Obtención de quitina por métodos enzimáticos a partir de cefalotórax de camarón. Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de química, México.
- Fagbenro, O. A. 1997. Preparation, properties and preservation of lactic acid fermented shrimp heads. Food research International. 29 (7): 595-99.
- Frazier, W. C. 1993. Microbiología de los alimentos. 4ª edición. Editorial Acribia. p.215-223. España.
- Fennema, O. R. (1993). Química de los alimentos. Ed. Acribia, España.
- García-Carreño F. L. (1993) Protease inhibition in theory and practice. Biotechnology Education, Inglaterra.
- Gómez, M. M. 2000. Extracción de quitina de cabeza de camarón (*Panaeus vannamei*) con y sin fermentación láctica. Tesis de Licenciatura. ITSON. Cd. Obregón, Sonora.
- Horowitz, S. T.; Roseman, S y Blumenthal, H.J. 1957. Preparation of glucosamine oligosaccharides. 1. separation. Citado en Muzzarelli R. 1978. Chitin. Pergamon Press. U.K.: 90.
- La economía en cifras. 1990. Ed. Nacional Financiera, México.
- Lizardi, M. J. 1998. Implementación de tecnologías alternativas para la obtención de polisacáridos funcionales a partir de biodesechos

- pesqueros quitinosos. Tesis de Maestría en Ciencias. CIAD. Hermosillo, Sonora.
- Luna, F. C. 2000. Efecto de diversas fuentes de carbono en la fermentación láctica de cabeza de camarón (*Panaeus vannamei*) para obtener quitina. Tesis de Licenciatura. ITSON. Cd. Obregón, Sonora.
- Navarrete, M. A. 1998. Aspectos fundamentales en hidrólisis de proteína. Memorias del Curso de Biotecnología Marina, CIBNOR, México.
- 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.
- Ornum, J. V. 1992. Shrimp. Waste must it be wasted?. INFOFISH International. FAO, Malasia.
- Sidney, A.B. 1977. Estructura y función de las enzimas. H. Blume Ediciones. España.
- Simson, B. K. y Haard, N. F. 1985. The use of proteolytic enzymes to extract carotenoproteins from shrimp wastes. J. Appl. Biochem. 7: 212-22.
- Vargas, R. R. 2000. Obtención de pigmentos de cabeza de camarón (*Panaeus vannamei*) con y sin fermentación láctica. Tesis de Licenciatura. ITSON. Cd. Obregón, Sonora.

<http://user.chollian.met/~chitin/cellulose.gif>

OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto de la desproteinización química y enzimática en la calidad y rendimiento de la quitina obtenida a partir de harina o residuo de la fermentación de la cabeza de camarón (*Panaeus vannamei*).

Objetivos específicos:

- ❖ Obtener quitina de la cabeza de camarón a partir de su harina o del residuo de la fermentación láctica mediante desproteinización química y enzimática.
 - ❖ Determinar el grado de pureza de quitina extraída en cada método mediante la determinación de nitrógeno total y cenizas.
-

Objetivo general

- ❖ Determinar el tiempo requerido por cada método en la extracción de quitina.
- ❖ Evaluar el costo de producción de quitina a nivel laboratorio.

CONTENIDO

- INDICE
- DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS
- RESUMEN
- INTRODUCCIÓN
- JUSTIFICACIÓN
- OBJETIVOS
- HIPÓTESIS
- REVISIÓN LITERARIA
- MATERIALES Y MÉTODOS
- CONCLUSIONES Y DISCUSIONES
- RECOMENDACIONES
- BIBLIOGRAFÍA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
DIVISIÓN DE INGENIERÍA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS

DESPROTEINIZACIÓN QUÍMICA Y ENZIMÁTICA PARA OBTENER QUITINA DE LA CABEZA DE CAMARÓN (*Panaeus vannamei*)

TESIS QUE, PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO BIOTECNÓLOGO

PRESENTA

Simón Fernando Valenzuela Ahumada

CD. OBREGÓN, SON;

OCTUBRE DEL 2000

RECOMENDACIONES

- 🌀 El cefalotórax de camarón es un subproducto que puede ser aprovechado. Tiene la ventaja de que proviene de un recurso renovable, es una materia prima económica y, además, especialmente como fuente de quitina, quitosano, pigmentos y proteínas. Con el aprovechamiento integral de estos componentes se evitaría el problema de estos residuos contaminantes, tanto en las granjas camaronícolas como en las plantas procesadoras.
 - 🌀 La siguiente etapa de esta investigación debe comprender estudios a escala piloto para evaluar la factibilidad técnico-económica y con estos resultados ofrecer la tecnología desarrollada al sector productivo.
-

- ☞ También es necesario realizar estudios a nivel laboratorio sobre la desacetilación de la quitina para obtener quitosano, la cual tiene una amplia gama de aplicaciones.
- ☞ El empleo de la centrifugación refrigerada para la separación de los componentes de la fermentación es importante pues así se incrementaría el rendimiento de residuo sólido fermentado.

RESUMEN

El propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto de la desproteínización química y enzimática de la harina y del residuo fermentado de la cabeza de camarón sobre la calidad y rendimiento de la quitina.

Primeramente fue necesario obtener la cabeza de camarón, las cuales fueron facilitadas por la comunidad de Bahía de Guásimas y la planta congeladora Yaco Impulsora de la Costa S.A. de C.V., y luego se empleó el proceso de secado para obtener la harina y la fermentación láctica para generar el residuo sólido fermentado, y posteriormente realizar la caracterización química de ambos materiales.

Tanto la harina como el residuo sólido de la fermentación fueron despigmentadas, desmineralizadas y desproteínizadas química y enzimáticamente para la obtención de quitina, y finalmente se determinó su calidad y rendimiento. La calidad no se vió afectada por ninguno de los métodos empleados, pues los parámetros de calidad evaluados cumplen con los requerimientos sugeridos en investigaciones anteriores. En cuanto al rendimiento, para el caso el residuo sólido fermentado si se ve afectado, pero no por los métodos aplicados sino por las operaciones de filtración realizadas artesanalmente.

Finalmente se realizó una estimación del costo de producción a nivel laboratorio de quitina para los dos métodos evaluados, teniéndose mejores resultado con la combinación del método de fermentación láctica con la desproteínización enzimática.