

Multiextracción de subproductos de los exoesqueletos de camarón (*Penaeus shmitti*) a partir de los desechos de la industria acuícola venezolana.

Multiextraction of byproducts from shrimp exoskeletons (*Penaeus shmitti*) from waste from the Venezuelan aquaculture industry.

Centeno-Bordones, Guillermo^{1*}; Sánchez, Luis²; Carrasco, MaríaGabriela²;
Gonzalez, Douglas²; García, José¹; García María Alejandra¹; Herrera, Susana¹;

¹ Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC),
Caracas, Venezuela.

² Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Central de Venezuela (UCV),
Caracas, Venezuela.

*gcentenol@uc.edu.ve/centeno.guillermo@gmail.com

Resumen

Esta investigación tiene como propósito principal evaluar la extracción de subproductos de los exoesqueletos de camarón (*Penaeus shmitti*) a partir de los desechos de la industria acuícola venezolana empleando dos métodos termoalcalinos. La industria acuícola venezolana con la producción de camarón, es la mayor industria de crecimiento del país logrando posicionar a Venezuela para el año 2024 entre los 10 principales países productores de este rubro. En este aspecto, se aplicó un primer proceso convencional de extracción de quitosano (Método A) y un segundo proceso de extracción alternando entre la desproteínización y la desmineralización (Método B). En ambos casos se obtuvo quitosano con porcentaje de desacetilación de 75 %, los infrarrojos FTIR mostraron bandas características del quitosano. Se obtuvo una diferencia cualitativa en el quitosano, por el método A el producto fue de color rosa-anaranjado y el quitosano del método B se obtuvo sin coloración. Solo aplicando el método A convencional se identificaron las caroproteínas y por el método B propuesto no se identificó estos compuestos. Por otra parte, se precipitaron las proteínas disueltas en la etapa en desproteínización, los espectros FTIR mostraron bandas características para los grupos funcionales C=O y C-N, presentes en los extremos de las cadenas de las proteínas. Se estudió la concentración de cloruro de calcio de los extractos arrojando un valor de 29,01 % para el método A y 30,71% para el método B, resultando que no existe diferencia significativa en la extracción de ambos métodos.

Palabras clave: Camarón, Desechos acuícolas, Quitosano, Astaxantina, Cloruro de Calcio.

Abstract

The main purpose of this research is to evaluate the extraction of byproducts of shrimp (*Penaeus shmitti*) exoskeletons from waste from the Venezuelan aquaculture industry using two thermoalkaline methods. The Venezuelan aquaculture industry, with shrimp production, is the country's largest growth industry, positioning Venezuela among the top 10 producing countries in this sector by 2024. In this aspect, a first conventional chitosan extraction process was applied (Method A) and a second extraction process alternating between deproteinization and demineralization (Method B). In both cases, chitosan was obtained with a deacetylation percentage of 75%, the FTIR infrared showed characteristic bands of chitosan. A qualitative difference was obtained in the chitosan, by method A, the product was pink-orange in color and the chitosan from method B was obtained without coloration. Only by applying the conventional method A were the caroproteins identified and by the proposed method B these compounds were not identified. On the other hand, the dissolved proteins were precipitated in the deproteinization stage, the FTIR spectra showed characteristic bands for the C=O and C-N functional groups, present at the ends of the protein chains. The calcium chloride concentration of the extracts was studied,

yielding a value of 29.01% for method A and 30.71% for method B, resulting in no significant difference in the extraction of both methods.

Keywords: Shrimp, Aquaculture waste, Chitosan, Astaxanthin, Calcium Chloride.

1 Introducción

El cultivo de camarones en Venezuela se ha consolidado como una actividad económica importante, para el año 2001 se estima que se produjeron 16 mil toneladas de camarón (Marmol y col., 2006). En el 2023 la producción alcanzó las 40.811 toneladas y para el 2024 se espera una producción de 65.000 toneladas según el reporte dado por el Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura de Venezuela (MINPESCA, 2024). La industria camaronera nacional ha tenido un incremento del 240% en los últimos años, ubicándose como el segundo exportador de camarones de Latinoamérica (Escobar, 2013). Este aumento en la producción acuícola de camarón, viene de la mano con el incremento en los desechos que se producen en la industria (Marmol y col., 2006; Hernández y col., 2019). Los investigadores antes mencionados, reportan que el 75% del peso vivo del espécimen es desecho, conformados en su mayoría por exoesqueletos, los cuales constituyen un pasivo ambiental para la industria acuícola nacional.

Sin embargo, estos desechos contienen componentes valiosos de alto valor agregado. Diversos estudios a nivel mundial han demostrado que estos residuos están compuestos principalmente por quitina, y el resto por carbonato de calcio y proteínas (Hernández y col., 2019; Villacreses, 2023). Estos tres componentes representan aproximadamente el 90 % del peso seco de la concha (Barros, 2015).

Las proteínas presentes en el camarón están formadas por aminoácidos como ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, arginina, cistina, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina, triptófano y valinas (Belandri y col., 2013). En el exoesqueleto de camarón se han determinado componentes proteicos de alta carga nutricional, que permite utilizar este desecho como una alternativa a ser utilizado en la alimentación animal y acuícola debido al contenido de caroproteínas (Herrarte, 2021; Armenta y col., 2002). Por su parte, la quitina constituye un importante recurso y se calcula que está presente entre el 20 y 25% en peso seco de los desechos de camarón (Marmol y col., 2006; Esmieu, 2015). La quitina representa la materia prima principal

para la producción de quitosano, ya que ambos compuestos son altamente usados en distintas ramas de la economía, entre las que destacan la tecnología de los alimentos, la farmacéutica, la ciencia de los materiales, la agricultura, el tratamiento de aguas residuales, ingeniería de tejidos, entre otras (Armenta y col., 2002, Romero, 2020, Herrarte, 2021).

El quitosano es un polisacárido catiónico lineal de la familia aminoglucopirano y al igual que la quitina, es biorenovable, biocompatible, biodegradable, no tóxico y no irritante (figura 1). Además, es un copolímero insoluble a pH neutro y básico, debido a sus enlaces intra e intermoleculares formados por puentes de hidrógeno (Serrano y cols., 2020).

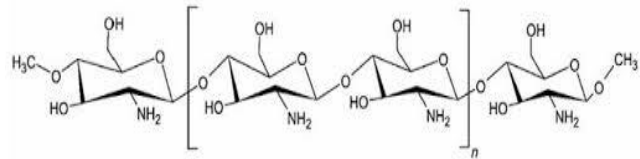


Fig 1. Estructura química del quitosano

Este polisacárido constituye principalmente un derivado de la quitina, se obtiene industrialmente mediante el proceso químico termoalcalino de desacetilación (Milquez, 2021; Serrano y col., 2020). Mediante la aplicación de este proceso se pueden obtener quitosanos de diferente peso molecular y grado de desacetilación (Hernández, 2021). Actualmente el proceso de obtención de quitosano se encuentra estandarizado; sin embargo, este proceso cuenta con dos etapas previas en las que se desechan como efluentes del proceso, productos de valor agregado como las caroproteínas y el cloruro de calcio, los cuales pueden ser de provecho para incrementar el rendimiento económico de la industria acuícola fomentando el aprovechamiento de subproductos y desechos industriales. Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto esta investigación tiene como propósito principal evaluar la extracción de subproductos de los exoesqueletos de camarón (*Penaeus shmitti*) a partir de los desechos de la industria acuícola venezolana empleado dos métodos termoalcalinos.

2 Procedimiento Experimental

2.1 Tratamiento de la muestra de los desechos de camarón (*Penaeus shmitti*)

La preparación de la materia prima, se partió de los desechos de camarón, los cuales se lavaron con agua del grifo para retirar la materia orgánica adherida y cualquier otro contaminante, siguiendo la metodología propuesta por Escobar, (2013). Luego se colocaron en bandejas y se secaron en una estufa Thelco Model 6 a 55 °C hasta peso constante. Seguidamente, se trituraron en un mortero de porcelana, ver figura 2. Finalmente, se tamizaron en un tamiz Fisher Scientific Company N° 18 de tamaño de poro 1,00 mm equivalente a 16 Mesh.



Fig 2. Preparación de la materia prima

2.2 Determinación de humedad

Se colocaron los desechos de camarón a secar, haciendo mediciones de la masa hasta peso constante, estableciendo intervalos de medición de 1 h. El contenido total de humedad se determinó considerando la masa inicial de desechos y la medición final (desechos secos). El cálculo se efectuó utilizando la siguiente ecuación:

$$\%Hr = \frac{(Masa\ Húmeda - Masa\ final\ seca)}{Masa\ Húmeda} * 100$$

Ec. (1)

Donde

%Hr: % de humedad retirado en un tiempo dado.

Masa húmeda: masa al inicio del experimento.

Masa final seca: masa seca en un tiempo dado.

2.3 Método A: convencional

2.3.1 Desproteínización de la muestra

Se pesó una cantidad de 10 g de desechos de camarón triturado y tamizado, luego se sometió a un proceso de desproteínización con hidróxido de sodio grado técnico NaOH (Merck) al 10% en una relación sólido: líquido (1:10), a una temperatura de 75 °C bajo agitación constante, durante un tiempo de 2 h. La mezcla formada se filtró por gravedad usando papel de celulosa con un tamaño de poro de 0,45 µm (Fisher Brand). Luego, se separaron los líquidos y se almacenaron en botellas ámbar, con el fin de recuperar las proteínas disueltas. Al líquido almacenado, se le añadió HCl (Merck) a 2N hasta alcanzar la precipitación, a un pH entre 3,5 y 4,5. Finalmente, el líquido resultante contenía las proteínas suspendidas, el mismo fue sometido a un proceso de centrifugado molecular de 10.000 rpm (Thermo Fisher) por 30 min y 20 °C para separar las proteínas, como se muestra en la figura 3. Debido al medio ácido de la suspensión se ajustó el pH a 7,3 con una solución de NaOH (Merck) al 10%, y se tomaron alícuotas del sobrenadante de cada muestra para obtener sus espectros FTIR (Thermo Fisher).



Fig 3. Proceso de desproteínización

2.3.2. Desmineralización de la muestra

Siguiendo el procedimiento reportado por Escobar (2013) para la remoción del carbonato, se procedió en pesar 10 g de desechos de camarón triturados y tamizados. Se sometió a un proceso de desmineralización con ácido clorhídrico (HCl) a 2 N (Merck) en una relación sólido-líquido (1:10), a temperatura ambiente bajo agitación constante, durante un tiempo de 90 min. Los productos de la desmineralización, se filtraron usando papel de filtro de celulosa con un tamaño de poro de 0,45 µm (Fisher Brand), el líquido resultante se almacenó para determinar el calcio disuelto. Seguidamente, el líquido fue clarificado retirando el pigmento disuelto de coloración naranja mediante un proceso de filtrado con carbón activado, ver figura 4. Para tratar cada solución, se usaron dos cucharadas de carbón activado.

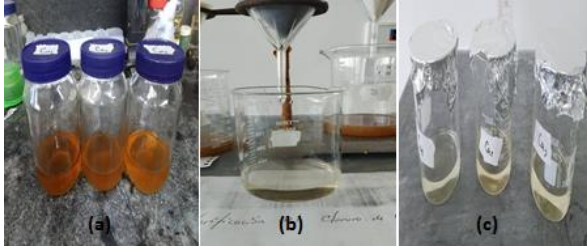


Fig 4. Proceso de despigmentación. (a) Muestra desmineralizada, (b) filtrado con carbón activado y (c) muestra clarificada

2.3.3 *n*-desacetilación de la quitina

Siguiendo el procedimiento expuesto por Hernández (2021), se pesó una cantidad de 10 g de desechos de camarón triturados y tamizados, se aplicó un proceso de desproteínización con NaOH (Merck) al 4 % en una relación sólido-líquido (1:10), a una temperatura de 75 °C bajo agitación, durante un tiempo de 2 h. Los productos fueron filtrados al vacío y lavados hasta llegar a un pH cercano de 7,0. Los sólidos se secaron en una estufa a 55 °C por 6 h. Después de ser secados se pesaron para medir la pérdida de masa y calcular la cantidad de ácido a utilizar. Seguidamente, se aplicó la desmineralización con HCl 2N (Merck) en una relación 1:10 a temperatura ambiente bajo agitación constante, durante un tiempo de 90 min. Los productos fueron filtrados y lavados hasta un pH cercano a 7,0. Los sólidos de secaron en una mufla a 55 °C por 6 h. Después de ser secados, se pesaron para calcular la pérdida de masa y calcular la cantidad de base a utilizar. Luego, se produjo quitosano a partir de la transformación de la quitina, mediante el proceso termoalcalino con una solución de NaOH (Merck) al 40 %, en relación sólido-líquido 1:10, a una temperatura de 80 °C bajo agitación constante por 2 h. La muestra obtenida, se filtró usando papel de filtro marca Genuine Whatman N° 2 haciendo lavados con agua destilada hasta un valor de pH cercano a 7,0. Los sólidos resultantes de la filtración se secaron en una mufla a 55 °C por 6 horas. Después de ser secados se pesaron para calcular la pérdida de masa.

2.4 Método B: Propuesta

En esta propuesta metodológica, se realizó un procedimiento que cambió el orden del procedimiento convencional, para la obtención de quitosano. El primer paso fue necesario pesar una masa de 10 g de desechos de camarón triturado y tamizado. La permuta procedimental realizó como primer paso una desmineralización, seguida de la desproteínización para concluir con una desacetilación termoalcalina, cambiando de esta manera el procedimiento convencional de la técnica de obtención de quitosano.

Las etapas aplicadas en cada bloque de extracción se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Métodos utilizados para la obtención de quitosano

Método A	Método B
Desproteínización	Desmineralización
Desmineralización	Desproteínización
Desacetilación	Desacetilación

2.5 Caracterización de las proteínas

Se analizaron las bandas características para la presencia de grupos amino (NH₂) y ácidos carboxílicos (COOH) presentes en los extremos de las cadenas de las proteínas, a partir de su caracterización, mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) (Thermo Fisher). Los espectros se generaron después de haber aislado a las proteínas, mediante un proceso de centrifugado molecular a 10.000 rpm (Thermo Fisher).

2.6 Caracterización del quitosano

Los quitosanos que se obtuvieron en ambos bloques de extracción, los cuales fueron caracterizados mediante los grados de acetilación (DA) y desacetilación (DD) de la quitina y el quitosano. El procedimiento consistió en calcular el DD mediante Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) (Thermo Fisher), método preferido para las absorbancias que se alcanzan a las longitudes de onda, para la absorbancia de la banda de referencia (estiramiento de OH⁻¹) y la de absorbancia de la banda de evaluación (amida I) como se muestra en la ecuación 2:

$$DA = 100 - \left[\left(\frac{A_{amidaI}}{A_{OH}} * \frac{100}{1,33} \right) \right] \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde

DA: es el grado de acetilación (%)

A_{OH}: absorbancia de la banda de estiramiento OH

A_{amidaI}: absorbancia de la banda de la amida I

2.7 Determinación de la concentración de calcio

En este procedimiento se midió el volumen del efluente clarificado con carbón activado, producto de la desmineralización. Seguidamente, para la preparación del indicador se mezclaron 0,5 g de Negro de Eriocromo T (Merck) con 100 g cloruro de sodio NaCl (Merck) y se trituraron en un mortero. Luego de preparado la mezcla indicadora, se agregaron 0,2 g a las muestras antes de titular

observándose una coloración vino rojizo. Para la preparación del titulante Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA) (Fisher Scientific) a 0,01 M se colocó 0,930 g del mismo en un balón aforado y diluyendo con agua destilada hasta 250 mL. Se agregó indicador a razón de 0,2 mL y agitando a la solución de cloruro de calcio hasta que se observó un cambio en la coloración a una tonalidad azul. En base a la cantidad de EDTA gastado se determinó la cantidad de cloruro de calcio experimental. Finalmente, se calculó el porcentaje de cloruro de calcio disuelto mediante la ecuación (3):

$$\%RCa, i = \frac{mCa}{md} \times 100\% \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde

% RCa,i: es el porcentaje de cloruro calcio disuelto
mCa: es la masa de cloruro de calcio calculado
md: es la masa de desecho inicial.

Con el fin de conocer la diferencia significativa en la obtención de la concentración de Calcio se aplicó una prueba t student por diferencias me medias con un 95% de confianza mediante el programa estadístico Statgraphic Centurion XVI.

3 Resultados y Discusión

El primer parámetro que se determinó para esta investigación, fue la variación del contenido de humedad total en la cáscara de camarón. Así mismo, en la figura 5 se muestra la curva de secado de cáscara de camarón a 55°C, el cual muestra el cambio de la masa de agua al transcurrir el tiempo durante el secado.

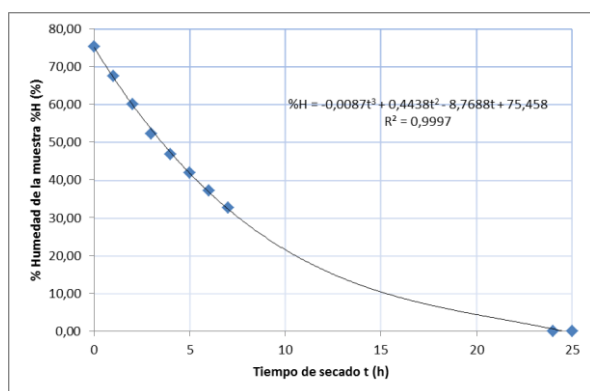


Fig 5. Curva de secado de cáscara de camarón a 55°C.

En este experimento se procedió a construir una curva de secado a 55 °C, para poder evaluar los distintos tiempos de secado, hasta obtener dos pesos iguales. Por medio de los resultados obtenidos, se determinó que la humedad de la muestra es de 75,22 %, representando un valor dentro de lo esperado y lo reportado por la literatura. Este resultado se pudo comparar con trabajos que han estudiado la composición del exoesqueleto de camarón, como lo fue el investigador Hernández, (2021), que obtuvo un porcentaje de humedad aproximadamente de 75-80%. Podríamos decir, que dicho resultado obtenido se encuentra en el rango obtenido por el autor citado; sin embargo, por las condiciones de trabajo en el laboratorio, no fue posible realizar mediciones de la humedad entre las 8 y las 24h. Razón por el cual se presume que, en tiempos menores a 24 h, las muestras podrían alcanzar la condición de secado.

Ahora bien, para la desproteínización de las muestras, como se mencionó en el marco metodológico, la extracción se efectuó por triplicado a temperatura moderadamente alta, con tiempos de contacto entre los desechos en medios alcalinos suficientes para garantizar un aislamiento completo. Estas proteínas fueron centrifugadas y el sobrenadante se caracterizó por medio de espectroscopía infrarroja (figura 6). Cabe destacar, que no fue posible cuantificar la cantidad de muestras, ya que no se disponía de sistemas de filtrado con tamaño de poro lo suficientemente pequeño para retenerlas.

En el espectro de infrarrojo (figura 6) del método A, se puede observar la vibración de tensión de N-H entre un rango de 3.500 cm⁻¹ y 3300 cm⁻¹, que corresponde a los grupos amino (NH₂), que en este caso es la presencia de una amina primaria característica de los aminoácidos. Aparte de los grupos aminos, las proteínas también presentan grupos carboxílicos (COOH) en los terminales de sus cadenas, con bandas en el espectro con intensidades entre 1.730 cm⁻¹ y 1700 cm⁻¹, que se verifica a 1700 cm⁻¹ para las muestras estudiadas (Song y col.,2013). Por lo tanto, se puede decir que el método aplicado para la extracción de las proteínas fue efectivo.

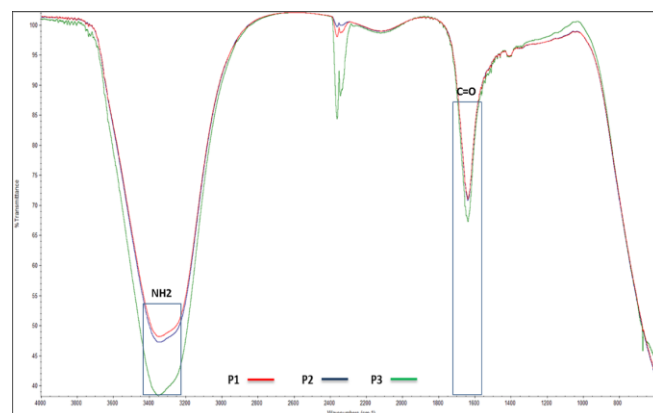


Fig 6. Espectros FTIR de las proteínas disueltas

De igual manera para el método B, luego de invertir el procedimiento tradicional aplicando primero la desmineralización y la desproteínización, se aplicó la técnica de centrifugación para detectar y cuantificar las proteínas disueltas; sin embargo, no se observó contenido de estas en el sobrenadante, lo que se puede atribuir a que durante el proceso de desmineralización con ácido las mismas fueron desnaturalizadas disolviéndose por completo.

Por otra parte, para la obtención de quitosano por el método A o convencional, se pueden reflejar los tres sólidos obtenidos (figura 7), que se describieron en el marco metodológico (2.3.3), que corresponde al proceso de la n-desacetilación de la quitina extraída de los desechos de camarón (*penaeus shmitti*).



Fig 7. Quitosano obtenido por el método convencional

En la figura 7, se puede observar que las tres muestras caracterizadas de quitosano, presentan una pigmentación rosada anaranjado. Esto se debe, a que en el quitosano obtenido no fueron removidos con eficiencia los pigmentos que se encuentran en la estructura de la concha de camarón. Estas impurezas se podrían decir que se debe a la presencia de carotenoides. La astaxantina, es el pigmento más abundante en los residuos de crustáceos, tipo carotenoide que predomina en los desechos de camarón (Armenta y col., 2002) (véase figura 8). Esta molécula posee una elevada actividad antioxidante (entre 10 a 100 veces más que otros carotenoides) (Cabanillas y col., 2020). La astaxantina está unida a una proteína y esta asociación da como resultado el color rosa-anaranjado del pigmento (Armenta y col., 2002).

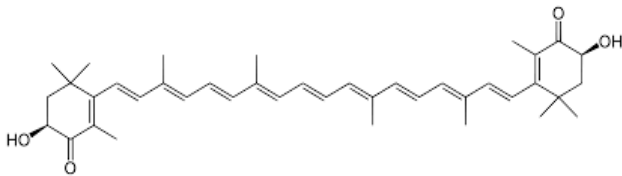


Fig 8. Estructura química de la astaxantina

Seguidamente, luego de la obtención de los quitosanos se caracterizaron las tres muestras, como se mencionó en el marco

metodológico 2.6, por medio de espectroscopia infrarroja FTIR (figura 9).

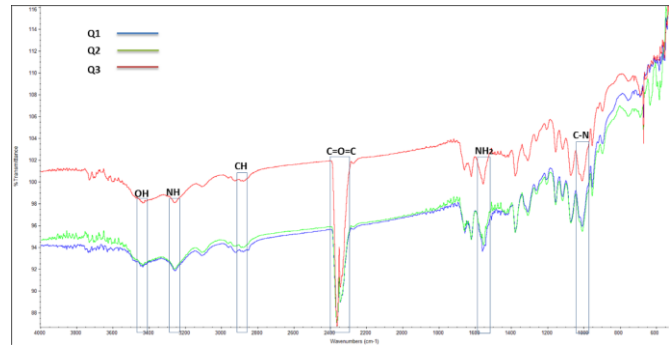


Fig 9. Espectros FTIR de los quitosanos del método convencional.

En la figura 9, se muestran los tres espectros de las muestras de los quitosanos, obtenidos mediante la desacetilación termoalcalina de las quitinas desproteínizadas, con hidróxido de sodio y desmineralizada con ácido clorhídrico. Se pueden detallar en el espectro de absorción las bandas, los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosano, evidenciándose las bandas de vibración de tensión del grupo amino a 1.650 cm^{-1} , a frecuencias más altas se observan las bandas de los grupos hidroxilo O-H a 3.450 cm^{-1} y a 3.260 cm^{-1} que se corresponde al estiramiento N-H para la amida I. Aparte, también se aprecian las bandas de tensión del grupo C-H a 2.875 cm^{-1} tanto asimétrica como simétrica del enlace C-H, que generalmente indica la presencia de uno a más alcanos.

Con base a los resultados del espectro FTIR mostrado anteriormente (figura 9), se tiene que efectivamente se obtuvo quitosano para las condiciones usadas en el experimento; sin embargo, por medio de otros trabajos realizados, como fueron los investigadores Fernandes y col., (2015), comentan que el quitosano utilizado en estudio de origen animal, siempre existe la posibilidad de contaminación por glucosaminoglicanos (GAG), que son otro tipo de polisacárido que se encuentra en estos organismos. Además, hay que tomar en cuenta, que no se va dar una completa desacetilación de la quitina; y es por ello que se ven reflejadas las bandas del grupo amida, que corresponde a N-C=O.

Así mismo, en la figura 9 podemos observar que a frecuencias bajas se encuentran bandas de absorción irregulares por la presencia de moléculas indeseadas (contaminantes) en las tres muestras. Estos contaminantes inducen perturbaciones al momento de detección de los grupos funcionales de interés, como lo son los dobles enlaces conjugados C=C, de los carotenoides (astaxantina), que se encuentran alrededor de una vibración de tensión aproximadamente de 1.600 cm^{-1} (Song y col., 2013).

Ahora bien, para el procedimiento del método B propuesto, en la figura 10 se pueden observar los tres productos de quitosano obtenidos. Como se mencionó anteriormente, en este procedimiento, los quitosanos que se obtuvieron fueron alternando las etapas del proceso comúnmente usado, para la extracción de quitina como precursora; es decir, se aplicó un tratamiento para desmineralizar y seguidamente un tratamiento para desproteínizar, para posteriormente desacetilizar la muestra.



Fig 10. Quitosano obtenido con variación del método.

De este modo, comparando los productos de quitosano obtenidos por ambas metodologías, se puede decir que para el procedimiento B propuesto, tiende a ser más efectivo el primer paso que vendría siendo la desmineralización, debido a que el HCl siendo un ácido fuerte, puede hidrolizar enlaces de otras moléculas que se encuentran en la concha del camarón, como lo es la astaxantina (figura 8). Es por ello, que para los tres productos de quitosano obtenidos, que corresponden a la segunda metodología, no se encuentran la coloración rosada-anaranjada, como lo presentan los otros tres productos de quitosano obtenidos de la primera metodología.

Los quitosanos obtenidos por el método A o convencional, puede hacer referencia que la presencia del NaOH en el proceso desproteínización como primer paso se puede lograr en un primer momento que se hidrolicen los enlaces éster, y que la molécula de astaxantina se mantenga intacta, tal como afirman Herrera-Andrade y col., (2011). Y es por este el motivo que el quitosano bajo esta metodología aplicada conserva una coloración rosa-naranjada. Ahora bien, con respecto a la metodología B, que tiene como primer paso la desmineralización aplicando HCl, por lo que el comportamiento de la astaxantina como un carotenoide se pueden descomponer, deshidratar, o isomerizar en presencia de ácidos, tal como lo afirman Herrera-Andrade y col., (2011) y Rodríguez-Amaya, (2001). Tomando en cuenta lo anterior se puede explicar el porque las muestras de quitosano bajo este método carecen de color, presentando un aspecto mas comercial.

Al igual que para el procedimiento convencional, a los tres productos obtenidos por el método B propuesto, se le realizó a los tres quitosano la caracterización por medio de del espectro FTIR, que se pueden observar en la figura 11. Comparando los resultados obtenidos, de ambas metodologías

podríamos decir que son similares, aunque a frecuencias más bajas en el espectro de la figura 11, no se refleja tantas señales acopladas, ya que en estos tres compuestos obtenidos no esta la presencia de los grupos C=C, que para el caso anterior corresponde a los enlaces conjugados de la astaxantina.

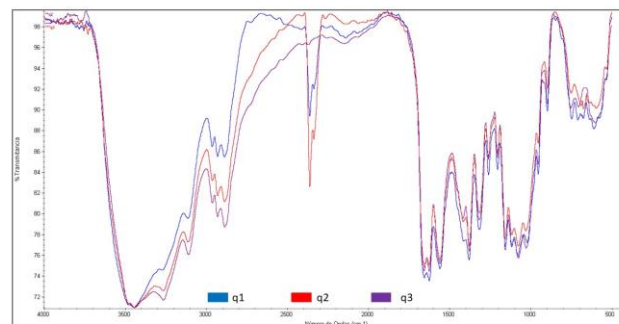


Fig 11. Espectros FTIR de los quitosanos metodología propuesta

En el espectro anterior, podemos observar que a mayor frecuencia se encuentran señales que se superponen, al igual que los investigadores Fernandes y col., (2015). Estos estiramientos corresponden a la vibración de tensión tanto asimétrica y simétrica del grupo hidroxilo O-H 3500-3200 cm^{-1} de los alcoholes y la tensión asimétrica de la amina primaria N-H a 3.350 cm^{-1} , que se encuentran en la estructura del quitosano. Seguidamente, se pueden observar las bandas características de vibración de tensión, tanto estiramiento asimétrico o simétrico del C-H del metilo con hibridación sp^3 2975-2.860 cm^{-1} , los dos metilenos con hibridación sp^2 junto con los metilenos que conforman el anillo del quitosano a una frecuencia de 2940-2.845 cm^{-1} .

Del mismo modo para los espectros de los productos obtenidos del método convencional, a frecuencias más bajas se puede observar que en el rango de 1.680-1.550 cm^{-1} se encuentra una banda de vibración de tensión del grupo N-C=O, que corresponde a la amida secundaria de la estructura, que en este caso vendría siendo la quitina. Otra banda que corresponde a la presencia de carbonos en la estructura, es la vibración de flexión del C-H que se encuentra a una frecuencia aproximadamente de 1420 cm^{-1} . Además de la presencia de oxígeno, que corresponde a los grupos hidroxilos del quitosano, en el espectro se puede observar un estiramiento de vibración de tensión asimétrica del C-O a 1.310-1.000 cm^{-1} que corresponde a los éteres acíclicos y cíclicos de la estructura del polisacárido (Vino y col., 2012).

Hay que tomar en cuenta, al igual que para los quitosanos obtenidos de la metodología convencional, en la zona del espectro entre 1.000-1.500 cm^{-1} se encuentran señales solapadas de flexiones de los grupos funcionales como la de grupo N-H de la amina primaria, la vibración de

tensión de la amida secundaria C-N y en especial la flexión del O-H de los alcoholes, que son estiramientos fuertes que se pueden ubicar a una frecuencia entre 1.350-1310 cm^{-1} de la estructura del quitosano. Por último, la señal en 896 cm^{-1} corresponde a la curvatura del C-H fuera del plano del anillo de monosacáridos (Song y col., 2013).

Finalmente, para la comparación de ambas metodologías, se determinó el grado de desacetilación de los seis quitosano obtenidos, resultado que es para determinar el porcentaje de quitina que fue convertida a quitosano (ecuación 3). En la tabla 2, se recopila el porcentaje de desacetilación de las muestras para ambos métodos.

Tabla 2. Grado de desacetilación de las muestras Q1, Q2 y Q3 y q1, q2 y q3 de ambos métodos

	Muestra	% DD [%DD \pm 0,01]	%DD Promedio
Método A	Q1	74,67	74,76
	Q2	74,83	
	Q3	74,78	
Método B	q1	74,70	74,76
	q2	74,83	
	q3	74,78	

Se observa que el grado de desacetilación está próximo al 75 %, este resultado es cónsono con lo reportado en trabajos enfocados en la producción de quitosano de los investigadores (Chávez, 2016; Colina y col, 2017), que reportan la obtención de quitosano con grados de desacetilación de 75 %. Por medio de los resultados obtenidos, se puede decir que, al invertir los procedimientos experimentales, de las metodologías para la obtención de quitosano, a partir de la quitina, el grupo amida del polisacáridoquitina, no presenta ningún cambio en su estructura, ya que el grado de desacetilación (tabla 2) dio similar.

Por otra parte, para la determinación de la concentración de cloruro de calcio, se realizaron tres experimentos. Primero, se desmineralizaron las muestras y se separaron los líquidos que contenían el cloruro de sodio. Hay que tomar en cuenta, el color rojo característico del camarón viene dado por la presencia de pigmentos, como las caroproteínas que en este caso sería la astaxantina, por lo que es necesario aplicar un proceso de clarificación de las muestras para obtener un producto de mejor calidad. Una vez realizadas las titulaciones en la tabla 3, se pueden observar los rendimientos del cloruro de calcio como Ca₁, Ca₂ y Ca₃.

Tabla 3. Rendimiento del cloruro de calcio

Muestra	% Rendimiento (%) [%Re \pm 0,01]	p-valor
Ca ₁	26,33	0,204
Ca ₂	29,28	
Ca ₃	31,55	
Promedio	29,01	
Ca ₁	29,86	
Ca ₂	30,22	
Ca ₃	32,05	
Promedio	30,71	

En la tabla 3, se puede observar que el contenido de calcio en las conchas de camarón aplicando el método A fue de 29,01 % y para el método B fue de 30,71%. Cabe destacar, este valor concuerda con estudios anteriores, como en el trabajo del investigador (Romero, 2020), que obtuvo como resultado que la cáscara de camarón contiene depósitos de calcio en el rango de (20 – 60) % en base seca. Colina y col., (2017), afirman que hay que tomar en cuenta, que la concentración de las especies de calcio varía dependiendo de la especie, sección del organismo, estado de nutrición y ciclo de reproducción del camarón. Con el fin de conocer si existen diferencias entre los métodos aplicados para la obtención de calcio se obtuvo que el p-valor fue de 0,204 por lo que se puede afirmar que estadísticamente no existe una diferencia significativa entre los métodos A y B con un 95 % de confianza.

5 Conclusiones

La multiextracción de subproductos a partir de los desechos sólidos de la industria camaronera venezolana, se ve potenciada por la obtención no solo de quitosano, sino de caroproteínas, el cloruro de calcio disuelto y la quitina. Estos productos pudiesen incrementar las ganancias de los acuicultores venezolanos, aplicando principios de la química verde y la economía circular extrayendo de los efluentes del proceso diferentes productos de interés comercial. En esta investigación se obtuvo quitosano por el método A convencional y el método B propuesto, en las conchas de camarón. Según los resultados obtenidos, el método propuesto B en términos cualitativos, presentó las mejores características para la obtención de quitosano en las conchas de camarón. mientras con el método A se pueden extraer mayores subproductos del proceso.

Se compararon los espectros de infrarrojos de ambos métodos, arrojando que para los quitosanos se comprobó la presencia de las bandas de los grupos NH₂, OH y la banda HN-C=O, que corresponde a la estructura del quitosano y la amida de la quitina. Se comprobó que el porcentaje de desacetilación en el quitosano fue el mismo para ambos métodos, no influyó la variación del método en este parámetro.

Se comprobó que para los productos del método A de obtención de quitosano, donde la aplicación inicial de NaOH determina la estabilidad de la astaxantina por lo que predominó la coloración rosa-anaranjado en los subproductos. Con respecto al método B la aplicación inicial de HCl permitió la degradación de los carotenoides, lo que llevó a mejorar las propiedades cualitativas del quitosano. Respecto a la concentración de cloruro de calcio en los residuos se determinó que la concentración fue de 29,01% para el método A y 30,71 para el método B.

Referencias

- Armenta, R; Guerrero, I; Huerta, S (2002) Extracción de caroproteínas a partir de residuos de camarón fermentados. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 1 (1-2) pp. 49-55.
- Barros, G. T. (2015). Extracción y comparación de la quitina obtenida a partir de caparazón de Callinectes sapidus y Peneaus vannameis. Cartagena, Colombia.
- Belandria, J; Morillo, N (2013). Perfil de aminoácidos y contenido de pigmentos en las harinas de residuos de camarón. *Zootecnia Tropical*, 31 (1), pp 24-34. <http://ve.scielo.org/pdf/zt/v31n1/art02.pdf>.
- Cabanillas, L; Gutiérrez, É; Basilio, J (2020). Desechos de camarón: un coctel de oportunidades para la industria. *Ciencia*, 71 número 4. https://revistaciencia.amc.edu.mx/online/X1_71_4_1274_DesechosCamaron.pdf
- Chávez, A.. (2016) Extracción y Caracterización de Proteínas Recuperadas en el Proceso de Producción de Quitosano . Zulia, Venezuela.
- Colina, M; Medina, Kare; Vargas, J, Rincón, D; Arismendi, R; Montilla, B (2017). Extracción de Quitina Utilizando Ácido Láctico. Maracaibo, Zulia, Venezuela .
- Escobar, D. (2013). Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos. Pereira, Colombia.
- Fernandes, M; Teodosio, K; Sabry, D; Lanzi, G; Oliveira, H (2015). Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation? *Mar. Drugs*, 13, 141-158; doi:10.3390/md13010141.
- Herrarte, D (2021) Aprovechamiento de desecho de cabeza de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), para la elaboración de un snack de alto valor proteico. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería-Escuela de Estudios de Postgrado.
- Herrera-Andrade, M. H. Sanchez-Machado D.I., Lopez_cervantes, J., Nuñez-Castelum, J.A & Moreno-Ramos, O.H. (2011). Extracción de la astaxantina y su estabilidad. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 7(1), 21-27.
- Marmol, Z; Gutiérrez, E; Páez, G; Ferrer, J; & Rincón, M. (2006). Desacetilación termoalcalina de quitina de concha de camarón. *Multiciencia*, 4 (2), pp 1-10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90440203>.
- Ministerio del poder popular para la pesca y la acuicultura (Minpesca) [mayo,2024]. Panorama del sector camaronero en Venezuela. Comunicaciones. <http://minpesca.gob.ve/2024/05/24/venezuela-cuenta-con-un-clima-adecuado-para-la-produccion-de-camaron-durante-todo-el-ano/#:~:text=El%20cultivo%20de%20camar%C3%B3n%20es,mil%20toneladas%20para%20el%202024>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods (Vol. 71). Washington: ILSI press.
- Romero, P (2020). Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estao del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. Valencia, Carabobo, Venezuela.
- Serrano, A; Pereira J (2020). Review: Chitosan, a versatile biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications. *Revista Ingeniería UC*, 27 (2), pp. 118-135. <https://www.redalyc.org/journal/707/70764230002/>
- Song, C; Yu, H; Zhang, M; Yang, Y; Zhang, G. (2013). Physicochemical properties and antioxidant activity of chitosan from the blowfly *Chrysomya megacephala* larvae. *Int. J. Biol. Macromol* 60, 347–354.
- Vino, A.B; Ramasamy, P; Shanmugam, V; Shanmugam, A. (2012) Extraction, characterization and in vitro antioxidative potential of chitosan and sulfated chitosan from Cuttlebone of *Sepia aculeata* Orbigny, 1848. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* 2, S334–S341.
- Villacreses, A (2023). Plan de negocio para la creación de una empresa dedicada a la producción y comercialización de harina de cabeza de camarón. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magister en Agronegocios sostenibles.

Recibido: 10 de noviembre del 2023

Aceptado: 24 de marzo del 2024

Centeno-Bordones, Guillermo. Doctor en Química Tecnológica. Investigador-Jefe del Laboratorio de Tecnologías Químicas Marinas del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

 <https://orcid.org/0000-0003-1436-4764>

Sánchez, Luis: Estudiante ingeniería química de la Universidad Central de Venezuela.

Correo electrónico: Luiszr07@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0000-8533-7865>

Carrasco, María Gabriela. Ingeniero químico y profesora de la Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela.

Correo electrónico: Mgcucv@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0004-4045-1831>.


Gonzalez, Douglas. Ingeniero químico y profesor del Dpto de Química Aplicada, Facultad Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela.

Correo electrónico: Douglasg5986@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0000-2012-691x>.


García, José. Licenciado en química y profesional asistente a la investigación en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Correo electrónico: Josesgs@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0005-2633-5786>

García María Alejandra. Licenciada en química y profesional asistente a la investigación en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Correo electrónico: Mariale2074@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0003-9030-0452>

Herrera, Susana. Licenciada en química y profesional asistente a la investigación en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Correo electrónico: Suhene@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0004-7388-8642>