



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

**FACULTAD DE CIENCIAS MATEMÁTICAS
FÍSICAS Y QUÍMICAS**

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

INGENIERO QUÍMICO

TEMA:

“CARACTERIZACION Y OBTENCION DE UN POLIMERO BIODEGRADABLE
“QUITOSANO” A PARTIR DEL EXOESQUELETO DE CAMARON (*PENAEUS
VANNAMEI*)”

AUTORES:

**ZAMBRANO ZAMBRANO PAOLA KATHERINE
CAMACHO YEN CHONG ROSENDO ALEJANDRO**

DIRECTOR DE TESIS:

ING. IVÁN CISNEROS

**PORTOVIEJO - MANABÍ - ECUADOR
2013**

RESUMEN

La presente investigación se la realizó desde septiembre del 2012 hasta marzo del 2013 en el laboratorio de Bromatología y Calidad de la Estación Experimental Portoviejo (EEP) del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP.

Ubicado en el sitio el Cady, parroquia Colon, cantón Portoviejo, provincia de Manabi, en las coordenadas geográficas 01°14' de latitud sur y a 80°16' de latitud occidental.

Como objetivo se planteó obtener y caracterizar quitosano a partir de exoesqueleto de camarón (*peneaus vannamei*), cultivado en Ecuador y recopilados de la industria camaronera Bilbosa ubicada en la Vía Manta-Montecristi, Km. 6 ½ de la provincia de Manabí; la cual se llevó a cabo mediante un lavado y selección minucioso de la materia prima, eliminando patas, colas, cabeza y residuos de carnes, e impurezas para facilitar el aislamiento de quitina mediante procesos fuertes de desmineralización y desproteinización y de ahí obtener quitosano mediante desacetilación.

En la obtención de quitosano se aplicó un diseño experimental de dos factores con dos niveles en un sistema de análisis 2^2 , con una réplica de cada nivel. Determinándose un número de cuatro tratamientos en una relación 1:7(w/w) para cada uno por 60 min.

Se planteó dos factores de estudio: Concentración del hidróxido de sodio y temperatura para la desacetilación de la quitina, a fin de evaluar si estas variables generan un producto con Características diferentes a las reportadas bibliográficamente.

Las características físico-químicas del quitosano fueron analizadas en base a los siguientes parámetros: peso molecular, porcentaje de humedad, contenido de cenizas, contenido de nitrógeno, proteína, fibra y grado de desacetilación.

En base a los análisis estadísticos, los mejores resultados indican un peso molecular de $1,17E05$ g/mol, 4,34% de proteína, 6,95% de nitrógeno, 51,41% de fibra, 4,15% de humedad, 0 % de contenido de cenizas y un grado de desacetilación del 96.99% calculado en base al contenido de nitrógeno.

OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

OBJETIVO GENERAL

- Obtener y caracterizar el quitosano a partir del exoesqueleto de camarón (*Penaeus vannamei*) del Ecuador para su comercialización.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Extraer y purificar quitina mediante un proceso químico de desmineralización y desproteinización del exoesqueleto de camarón.
- Obtener quitosano a partir de la desacetilación de la quitina aislada mediante un tratamiento alcalino fuerte de esta.
- Definir factores a estudiar y Realizar variaciones de ellos y del proceso para encontrar su efecto sobre las propiedades del quitosano.
- Establecer el porcentaje de humedad del quitosano y determinar el grado de desmineralización a través del Contenido de cenizas.
- Determinar la mejor concentración de NaOH y temperatura para la desacetilación de la quitina.

DISEÑO METODOLOGICO

Ubicación

La presente investigación se realizó desde septiembre del 2012 hasta marzo del 2013, en la E.E “Portoviejo” del INIAP ubicada en la parroquia Colón, cantón Portoviejo, provincia de Manabí, en las coordenadas geográficas 01°14´de latitud Sur y a 80°16´de Longitud Occidental.

Delineamiento experimental

Diseño experimental: Diseño completamente al azar

Numero de tratamientos: 4

Repeticiones: 2

ADEVA

Puntos de variación	Gl ¹
Total	7
Tratamiento	3
Error E	4

Parámetros estudiados

La presente investigación se realizó utilizando cascara de camarón para el aislamiento de quitina, a las cuales se les dio tratamiento alcalino fuerte con dos concentraciones y dos temperatura diferentes para su desacetilación y posterior obtención de quitosano.

Los parámetros estudiados concentración y temperatura

NIVEL A: Concentración de la solución de Hidróxido de sodio

Nivel A₀: 50%

Nivel A₁: 70%

NIVEL B: Temperatura de desacetilacion

Nivel b_0 : 100°C

Nivel b_1 : 105°C

Interacciones.

a_0b_0 = concentración de NaOH 50% a una temperatura de desacetilacion 100°C

a_0b_1 = concentración de NaOH 50% a una temperatura de desacetilación 105°C

a_1b_0 = concentración de NaOH 70% a una temperatura de desacetilación 100°C

a_1b_1 = concentración de NaOH 70% a una temperatura de desacetilación 105°C

Manejo del experimento

El presente trabajo se realizó con 20 kg de caparazones frescos de camarón (*Penaeus vannamei*) cultivado en Ecuador y recopilados de la industria camaronera Bilbosa ubicada en la Vía Manta-Montecristi, Km. 6 ½ de la provincia de Manabí.

El hidróxido de sodio (NaOH) fue proporcionado por la industria Dan Química al igual que el ácido clorhídrico (HCl) corresponde a la casa comercial Merck S.A. Con respecto a los equipos utilizados se utilizó lo siguiente:

Para secar el producto final se utilizó una estufa Memmert del laboratorio de INIAP. Luego del secado final, se procedió a triturar el quitosano en un molino manual marca Corona, del mismo laboratorio.

Para realizar el aislamiento de la quitina se usaron solución de ácido (HCl) y base (NaOH) para desmineralización y desproteínezación respectivamente, la cual se llevó a cabo en el laboratorio de Dan Química.

Las distintas pruebas para obtención de quitosano fueron realizadas en el Laboratorio de INIAP.

Obtención de Quitina

Para la obtención de la quitina se usó una selección y adaptación de los métodos reportados por Sabvedra y Colaboradores, Tesis Doctoral de Garcia I. y Colaboradores, Artículo reportado por Parada Y Colaboradores, Enciclopedia de Tecnología Química de Kirk Y Othmer y lo presentado por la Universidad Santo Tomas como practica de Laboratorios citado en su pág. Wed⁽¹⁾, todo esto registrada en la biblioteca general de la Universidad Técnica De Ambato.

Recepción de la materia prima

Los caparazones de camarón se lavaron y se retiraron patas, cola y Residuos de carne, con el propósito de eliminar la mayor cantidad de proteína que puede interferir en el proceso.

Secado

Se secaron los caparazones en una estufa Memmert a 90°C por 5 horas, luego se procedió a triturar en un molino manual marca Corona para facilitar el proceso.

Cocción 1

Los caparazones se colocaron en un vaso de precipitación de 2000cm³ una vez triturados y se sometieron a desproteínezación con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,5% en una relación 2:3(w/w) por 30 min manteniendo agitación constante y la temperatura en 80°C para desproteínizar y eliminar colorantes de los caparazones.

Separación

Se decantó utilizando un cedazo de lienzo fino y se descartó el líquido sobrenadante, para trabajar con el sólido precipitado el cual fue lavado con abundante agua hasta obtener un pH cercano a 7.

Cocción 1

El sólido de la etapa anterior se colocó en un vaso de precipitación de 2000cm³ y se trató con una cantidad igual en peso, de solución de hidróxido de sodio (NaOH) 3% por 10

min, manteniéndose la temperatura a 80°C y agitación constante, se filtro utilizando un cedazo de lienzo fino y se descarto el liquido. Se repitió esta operación tres veces, para continuar con la desproteinizacion y eliminación de colorantes del camarón. Al final se lavo con agua abundante hasta llegar a un pH 7.

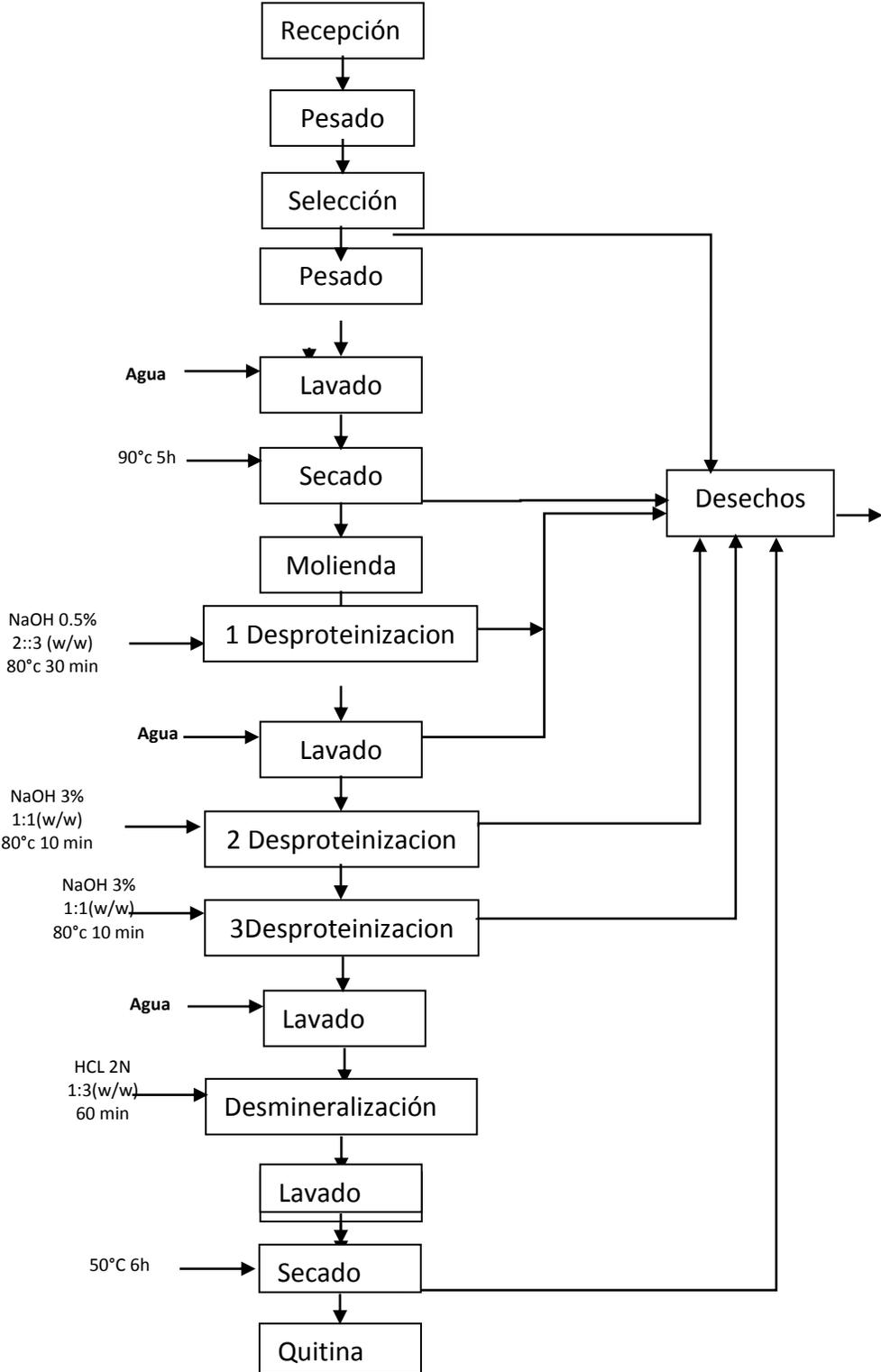
Desmineralización.

El sólido remanente obtenido en la etapa anterior, se lavo con abundante agua hasta pH cercano a 7 y se desmineralizo con una solución de acido clorhídrico 2N en relación solido liquido 1:3 a temperatura ambiente por 60 min. Esto tuvo como propósito eliminar la mayor cantidad de minerales de los caparazones. Se lavo con abundante agua hasta alcanzar pH cercano a 7, se filtro en lienzo fino y se descarto el líquido obtenido.

Secado

El sólido obtenido, quitina, se coloco en capsula de porcelana y se seco en estufa Memmert a 50°C durante 6 horas.

IAGRAMA 1. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA OBTENCION DE QUITINA A PARTIR DE CAPARAZONES DE CAMARON (PENAEUS VANNAMEI)



Diseño Experimental

Se planteo un diseño de experimentos de tipo factorial. Cochran⁽ⁱⁱ⁾ manifiesta que al realizar experimentos secuenciales es aconsejable utilizar un diseño experimental 2^n

Obtención De Quitosano

Para la obtención de quitosano se aplico un diseño experimental de dos factores con dos niveles en un sistema de análisis 2^2 , con una réplica de cada nivel. Determinándose un número de cuatro tratamientos en una relación 1:7(w/w) para cada uno por 60 min.

Respuesta experimental:

En la obtención del quitosano se determino.

- Proteínas y % nitrógeno
- Grado de desacetilacion mediante ecuación reportada por Taboada y colaboradores⁽ⁱⁱⁱ⁾

Hipótesis

Obtención de Quitosano.

- Hipótesis Nula (H_0)

(H_0) las diferentes concentraciones de NaOH (50 Y 70%) y temperatura (100 y 105°C) en la desacetilacion no tienen efecto sobre las propiedades del quitosano.

- Hipótesis Alternativa(H_1)

(H_1) las diferentes concentraciones de NaOH (50 Y 70%) y temperatura (100 y 105°C) en la desacetilacion si tienen efecto sobre las propiedades del quitosano.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Obtuvimos y caracterizamos quitosano al aprovechar los exoesqueleto del camarón (*peneaus vannamei*) cultivados en el Ecuador, aislando quitina de camarón en base a una desmineralización y desproteínezación fuerte, y posterior desacetilación de la quitina transformándola en quitosano, en la que las propiedades físicas y químicas analizadas, dieron valores semejantes a las reportadas bibliográficamente y a otras investigaciones, lo que permitiría ser llevada a su comercialización. Las principales características físicas y químicas del quitosano obtenido fueron: humedad 9.02% ; ceniza 0% ; pH 7; fibra 51.41% ; grasa 2.5%; nitrógeno 6.95%; proteína 4.34%; grado de desacetilación 96.99%; peso molecular $1.17E05$ g/mol.
- El lavado y la selección minuciosa de la materia prima, en la que se retiraron patas, colas, cabeza y residuos de carnes, ayudó al aislamiento de la quitina, que se logró extraer y purificar al someterla bajo un proceso fuerte de desmineralización (HCl) y desproteínezación (NaOH), reflejando la eficiencia del proceso al comparar los resultados de los análisis realizados en contenido de ceniza 0.12% y proteína 30.94 %, con datos bibliográficos y con los resultados de los análisis de la materia prima inicial , (ceniza 27.5% y proteína de 41.8%) usada en la investigación. Lo que permite concluir que la quitina bajo estas condiciones es la apropiada para la obtención de quitosano, por su bajo contenido de minerales e impureza reflejado en el porcentaje de ceniza.
- Con un tratamiento alcalino fuerte, se llevó a cabo la desacetilación de la quitina, obteniendo quitosano con un grado de desacetilación del 96.66 %. El costo en la producción de 80 g de quitosano con grado de desacetilación 96.99% calculado en base al contenido de nitrógeno, es de 20 dólares aproximadamente, en lo que se requiere 506.67g de NaOH y 258.45 ml de HCl para su obtención, . Lo cual indica que la comercialización bajo estas propiedades y costo se podrían dar de manera exitosa
- Los factores que se definieron, fueron concentración de hidróxido de sodio y temperatura en la desacetilación de la quitina, en la que empleando un diseño experimental de dos factores con dos niveles en un sistema de análisis 2^2 , con variación de concentración de NaOH 50% ; 70 % y temperatura de 100 ; 105°C, permitió determinar que hay efecto directo sobre las propiedades del

quitosano al ser desacetilado bajo diferentes condiciones, Esto indica que hay efecto en la concentración NaOH y temperatura en las propiedades del quitosano al desacetilizar la quitina bajo estas condiciones, siendo la temperatura la de mayor influencia en el quitosano obtenido. Debido que a alta temperatura provoca una mayor desacetilación del quitosano, En el proceso de obtención del quitosano mientras mayor es la desacetilación alcanzada, se obtendrá un mayor número de grupo amino libres, menor contenido de proteína, nitrógeno, y menor rendimiento en su obtención,

- Las propiedades físicas químicas del quitosano varían según su grado de desacetilación, el mejor grado de desacetilación que obtuvimos en nuestra investigación fue el de 96.99%, permitiéndonos establecer el contenido de humedad del quitosano 9.02% y ceniza 0%.lo cuales son muy cercano a los datos bibliográficos,
- De acuerdo al análisis de varianza se estableció que la mejor combinación es a una concentración de NaOH 70% y a una temperatura de 100°C, en la que obtuvimos propiedades diferentes en contenido de humedad 9,02%, ceniza 0%, proteína 4,34%, peso molecular 1,17E05g/mol y grado de desacetilación de 96, 66% calculado en base al contenido de nitrógeno que es 6,95%, resultados similares a lo reportados bibliográficamente y otras investigación.

RECOMENDACIONES

Es importante trabajar con materia prima fresca por lo que el camarón en especial la cabeza es susceptible a la contaminación microbiana debido que en ella se encuentra todo los aparatos digestivos provocando su descomposición fácilmente lo que interferiría en la obtención del quitosano.

Se recomienda una selección y lavado minucioso de la materia prima para facilitar el aislamiento de la quitina y obtener un quitosano de buena calidad

Al trabajar con ácido y base fuerte, y a temperatura elevadas es recomendable tomar las debidas precauciones usando protección, guantes, mascarilla gorro debido que son químicos corrosivos y tóxicos, perjudiciales para la salud.

Tomar bien en cuenta la temperatura de desacetilacion ya que la temperatura es un factor altamente influyente en la degradación de polímero, provocando una desacetilacion parcial o completa, lo cual afectaría directamente a las propiedades del quitosano