



ESPE
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA



Estudio del proceso de obtención de quitina a partir de cangrejo (*Ucides occidentalis*) y camarón (*Litopenaeus vannamei*), considerando distintos métodos de extracción (Hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica y método hindú) y su aplicación como clarificante en la industria licorera.

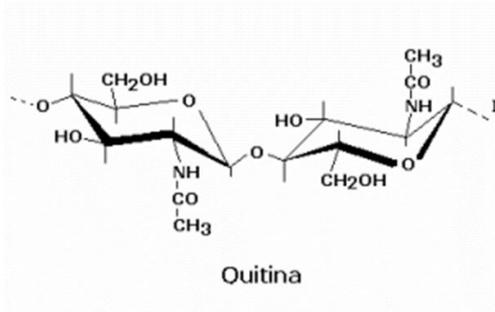
Autoras: Proaño Vera, Jazmín Nicole y Saavedra Cabrera, Leonela Alejandra

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

**Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de
Ingeniera en Biotecnología**

**Director: PhD. Juan Alejandro Neira
Cotutora: PhD. Sungey Sánchez Llaguno**





Se encuentra en gran medida en la naturaleza (exoesqueleto de mariscos, hongos, moluscos)

Aplicaciones



- Industria de alimentos y bebidas
- Aplicaciones Biomédicas
- Agricultura
- Tratamiento de aguas residuales

Características

- Grado de Desacetilación 66 %
- Contenido de Humedad 2-10 %
- Contenido de cenizas < 2 %
- Contenido de Nitrógeno 6-7 %



Objetivo General

Estudiar el proceso de obtención de Quitina a partir de cangrejo (*Ucides occidentalis*) y camarón (*Litopenaeus vannamei*), considerando distintos métodos de extracción (Hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica y método hindú) y su aplicación como clarificante en la industria licorera.



Objetivos Específicos



Evaluar el proceso de extracción de quitina a partir de los caparazones de cangrejo (*Ucides occidentalis*) y camarón (*Litopenaeus vannamei*).

Establecer el proceso de obtención adecuado considerando tres métodos de extracción: (hidrólisis ácida, fermentación, ácido láctico y método hindú)

Estudiar la aplicación de las quitinas obtenidas en la clarificación de vino.

Analizar el efecto de las quitinas considerando dos tipos de vino: mandarina (*Citrus reticulata*) y sandía (*Citrullus lanatus*).

Evaluar el efecto clarificante de la quitina considerando dos concentraciones: 0,3% g/L y 0,6% g/L.

Determinar el rendimiento de la quitina obtenida a partir de los crustáceos mediante balance de materiales.



Hipótesis Nula



- El método aplicado en la obtención de quitina (hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica e hindú) no influyen en el resultado final de la extracción.
- Las características de pH, humedad, cenizas y rendimiento de quitina no influyen en el resultado final de la extracción.
- Las diferentes concentraciones de quitina no influyen en las características finales del vino de frutas.

Hipótesis Alternativa



- El método aplicado en la obtención de quitina (hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica e hindú) influyen en el resultado final de la extracción.
- Las características de pH, humedad, cenizas y rendimiento de quitina influyen en el resultado final de la extracción.
- Las diferentes concentraciones de quitina influyen en las características finales del vino de frutas.

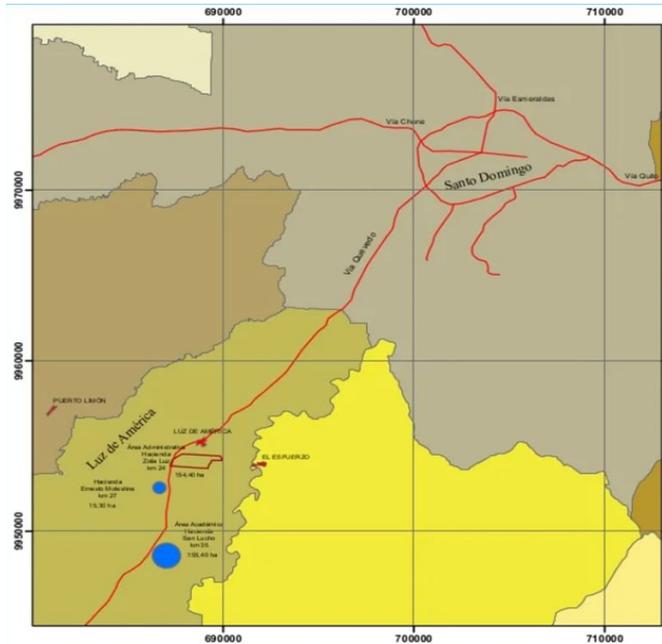


Figura 1. Localización de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”

Ubicación política

- País** : Ecuador
- Provincia** : Santo Domingo de los Tsáchilas
- Cantón** : Santo Domingo de los Colorados
- Parroquia** : Luz de América
- Dirección** : Santo Domingo, Vía Quevedo km 24
margen izquierdo

Ubicación ecológica

- Zona de vida** : Bosque húmedo tropical
- Altitud** : 224 msnm
- Precipitación** : 2860 mm año
- Humedad relativa** : 85%

Método Hidrólisis ácida



1

Lavado de los caparzones



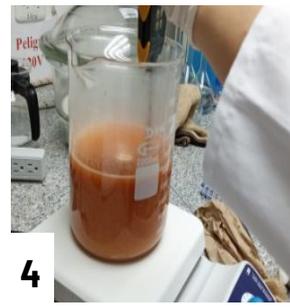
2

Secado de los caparzones



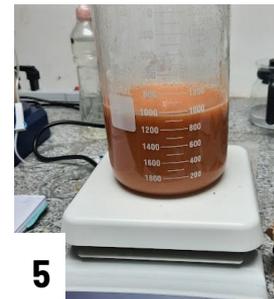
3

Molido y tamizado de los caparzones



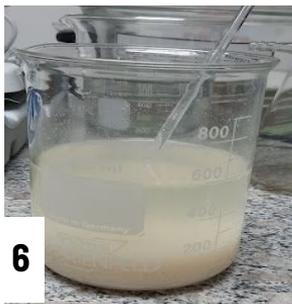
4

Desproteínización 1
NaOH (0.5%)



5

Desproteínización 2
NaOH (0.5%)



6

Despigmentación
NaOCl (3%)



7

Desmineralización
HCl (2N)



8

Secado



9

Quitina seca

Método Fermentación ácido láctica



1

Lavado de caparazones



2

Secado de los caparazones



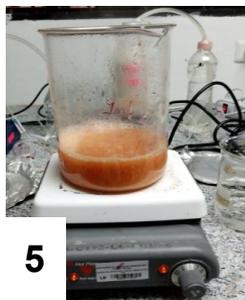
3

Molienda y tamizado



4

Desmineralización



5

Desproteinización
(NaOH (5%))



6

Blanqueo NaOCl
(0,1%)



7

Secado



8

Quitina

Método Hindú



1

Lavado de caparazones



2

Secado de los caparazones



3

Molienda y tamizado



4

Desproteínización 1 (NaOH (0,5%))



5

Desproteínización 2
(NaOH (3%))



6

Desmineralización HCl (1.25 N)



7

Secado



8

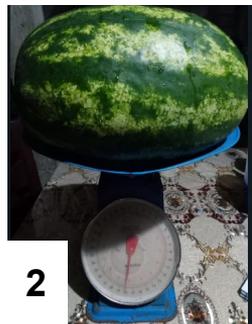
Muestra seca de quitina
por método hindú

Elaboración de vino



1

Lavado de la fruta



2

Pesado



3

Obtención del mosto



4

Pasteurización



5

Activación de la levadura



6

Fermentación

Pruebas físico-químico de las quitinas obtenidas

Cenizas



$$C = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100$$

Humedad



$$H = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100$$

pH



Pruebas físico-químico del vino con las diferentes quitinas

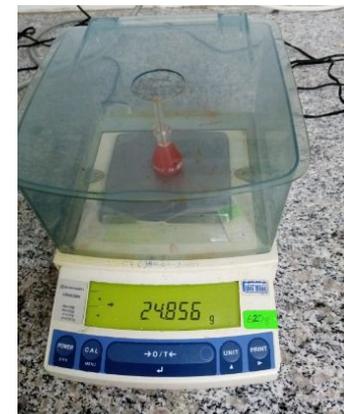
pH



Grados °Brix



Densidad



$$\text{Fórmula: } \rho = \left(\frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \right) \rho_{\text{agua}}$$

Pruebas físico-químicas del vino con las diferentes quitinas

Acidez



Absorbancia



Grados alcohólicos



$$\text{Fórmula: } \text{Acidez} \frac{g}{L} = \frac{V \cdot N \cdot \text{Peso molecular de ácido predominante}}{V_m}$$

Diseño Experimental

Diseño A*B

Parámetros físico-químicos

Factores del experimento:

FACTORES DE ESTUDIO	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
Factor A: Tipos de crustáceos	a0	Cangrejo
	a1	Camarón
Factor B: Métodos de extracción	b0	Hidrólisis Ácida
	b1	Fermentación Ácido Láctica
	b2	Método Hindú

Tratamientos a comparar:

Nº	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
1	a0+b0	Cangrejo+ Hidrólisis Ácida
2	a0+b1	Cangrejo+ Fermentación Ácido Láctica
3	a0+b2	Cangrejo+ Método Hindú
4	a1+b0	Camarón+ Hidrólisis Ácida
5	a1+b1	Camarón+ Fermentación Ácido Láctica
6	a1+b2	Camarón+ Método Hindú

Tipo de diseño

Modelo factorial (2x3) conducido en D.B.C.A

Repeticiones

cuatro repeticiones para seis tratamientos

Análisis funcional

Prueba de significancia de Tukey al 5% ($p < 0.05$)

Diseño Experimental

Diseño A*B*C

Factores del experimento:

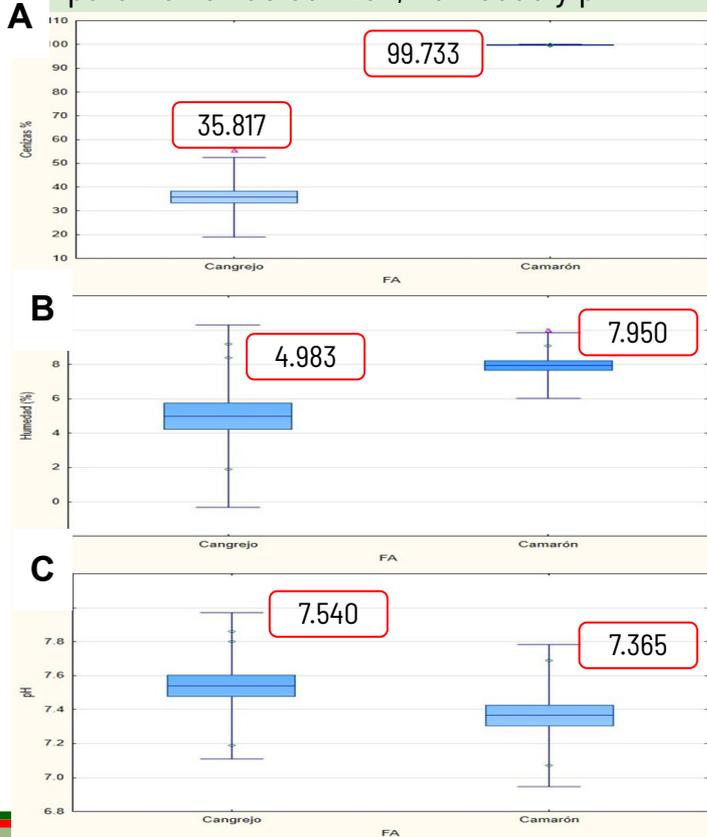
FACTORES DE ESTUDIO	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
Factor A: Tipo de quitina	a0	Quitina extraída del cangrejo por hidrólisis
	a1	Quitina extraída del cangrejo por fermentación
	a2	Quitina extraída del cangrejo por hindú
	a3	Quitina extraída del camarón por hidrólisis
	a4	Quitina extraída del camarón por fermentación
	a5	Quitina extraída del camarón por hindú

FACTORES DE ESTUDIO	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
Factor B: Vino de frutas	b0	Vino de Mandarina
	b1	Vino de Sandía
Factor C: Porcentaje de quitina	c0	0,3% g/L
	c1	0,6% g/L

Tipo de diseño
Modelo factorial
(6x2x2) conducido
en D.B.C.A

Análisis funcional
Prueba de
significancia de Tukey
al 5% ($p < 0.05$)

Factor A (tipo de crustáceo) con parámetros de cenizas, humedad y pH

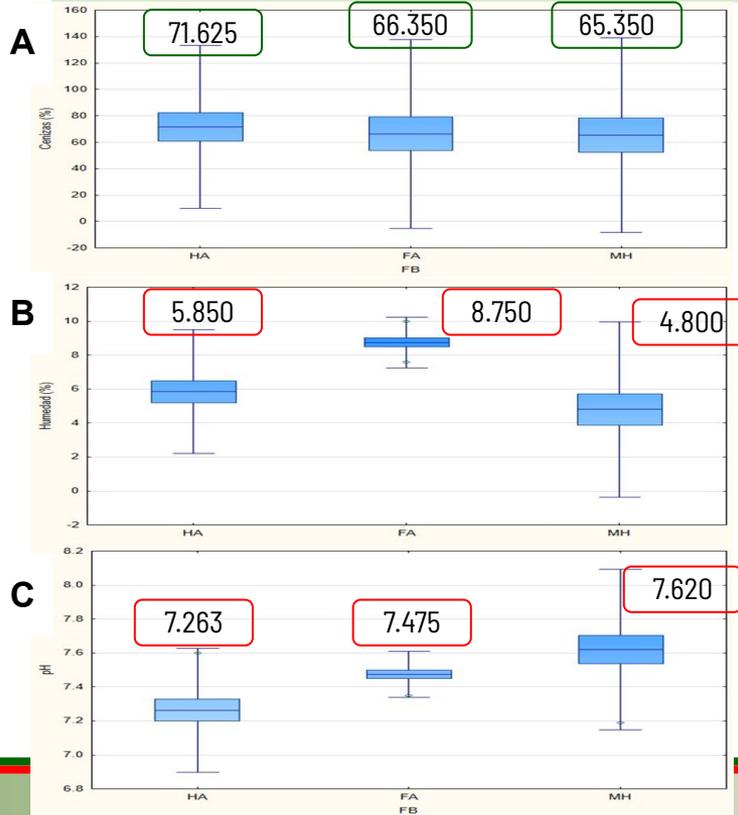


Cenizas: Los valores de la quitina obtenidos del cangrejo son superiores a los reportados por (Colina et al., 2014) con un rango de 0,02 a 1,99%. En cuanto a los resultados de la quitina obtenida del camarón son superiores a los reportados por (Tovar et al., 2018) con un valor de 7.5%.

Humedad: Los valores de la quitina reportados que los valores reportados por (Barros et al., 2015) señalan que se encuentran dentro del rango establecido de 2-10.

pH: Los valores son superiores a los reportados por (Pacheco et al., 2009) los cuales señalan que el rango óptimo es entre valores de 4-7.

Factor B (método de extracción) con parámetros de cenizas, humedad y pH

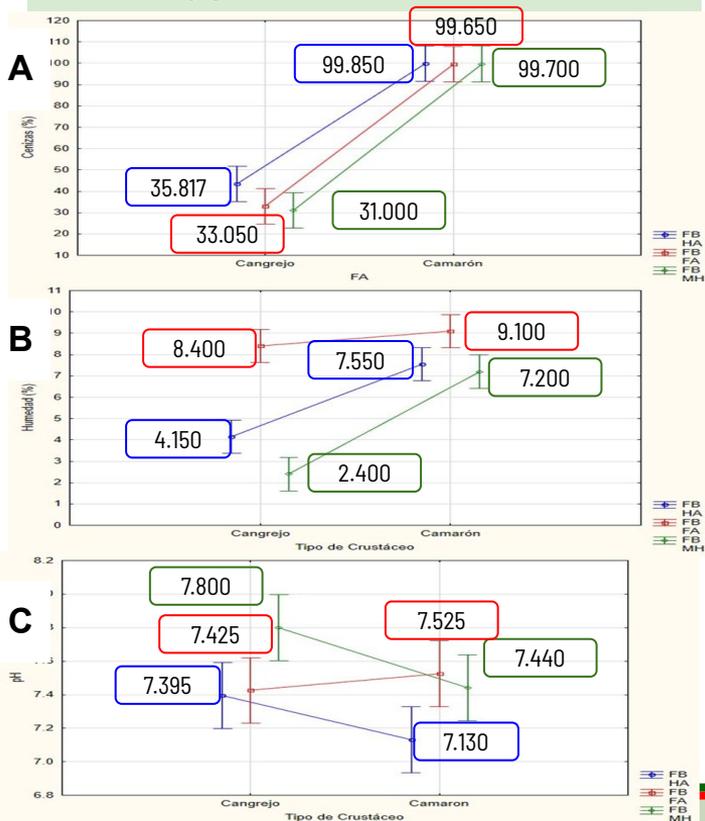


Cenizas: Los valores son superiores a los reportados por (Tovar et al., 2018) el rango va desde 13 a 19,1± 1,2%. Sin embargo (Colina et al., 2014) señalan que los valores de ceniza de cangrejo se encuentran entre 46 y 58.3 variando según la especie, mientras que para cangrejo se han reportado valores entre 23 y 34.2 considerando la composición química del exoesqueleto (Pesantes & Cuenca, 2017).

Humedad: Los valores obtenidos entran dentro del rango de la investigación realizada por (Mohan et al., 2021) con un máximo de humedad de 10%.

pH: Los valores de quitina obtenida por fermentación láctica fueron superiores a la investigación de (Rosero, 2019) un rango de 3.53 a 5.34. Los valores de quitina obtenida por método hindú, son superiores a los reportados por (Pacheco et al., 2009) los cuales señalan que el rango óptimo es entre valores de 4-7.

Interacción A*B con parámetros de cenizas, humedad y pH

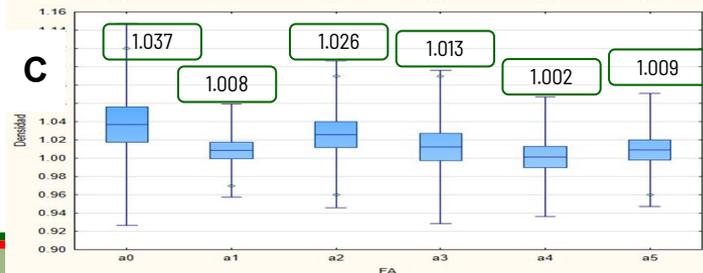
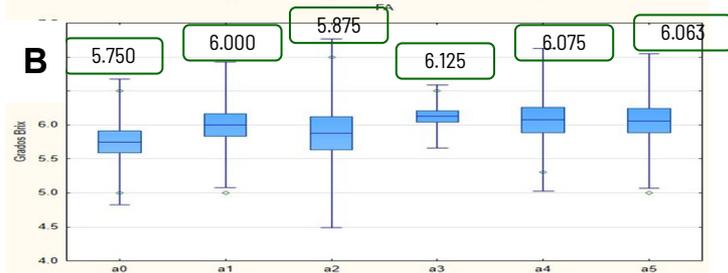
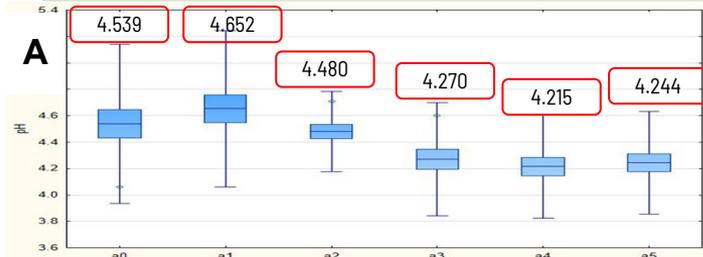


Cenizas: Los valores de la quitina obtenida del cangrejo por los tres métodos son superiores a los reportados por (Colina et al., 2014) con un rango de 0,02 a 1,99%. En cuanto a los resultados de la quitina obtenida del camarón por los tres métodos son superiores a los reportados por (Tovar et al., 2018) con un valor de 7.5%.

Humedad: Los valores obtenidos de humedad entre el tipo de crustáceos y método de extracción, se encuentran dentro del rango reportado por la investigación de (Barros et al., 2015) en el que menciona que el máximo de humedad es 10%.

pH: Según (GUZHÑA, 2022) los valores de quitina obtenida se encuentran dentro del valor referencial de 7.

Factor A (tipo de quitina) con parámetros pH, grados °Brix y densidad

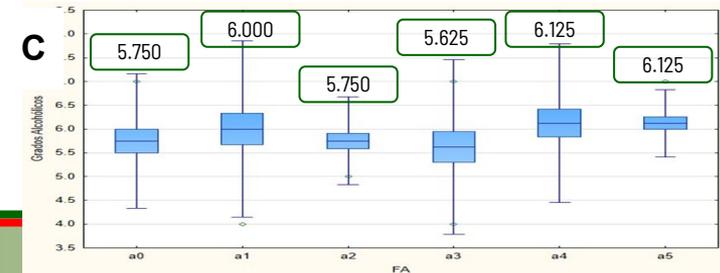
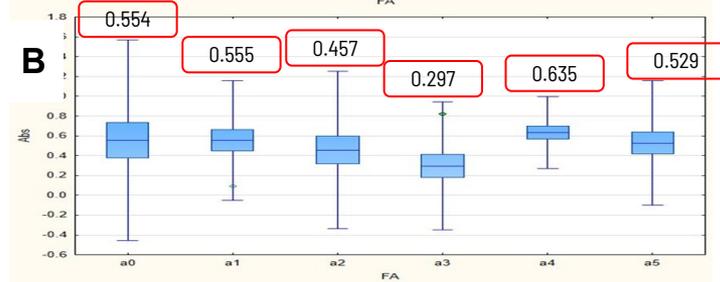
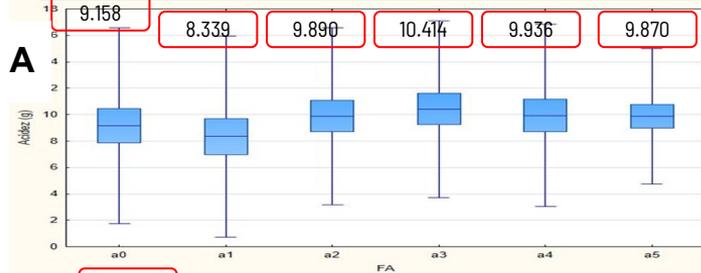


pH: El comportamiento de la quitina y derivados como quitosano está fuertemente influenciado por el pH del medio solvente con el que se trata, (KNORR, 1983) reportan valores de pH asociados en rango de 2-9.

Grados °Brix: Los valores obtenidos se encuentran en el rango permitido por las normas INEN 374 siendo el valor mínimo de 5.

Densidad: Los valores obtenidos de densidad se encuentran mayores a 1, aproximándose al valor reportado en la literatura de (Mushi et al., 2014) con un valor de 1,425 g/cm³.

Factor A (tipo de quitina) con parámetros acidez, absorbancia y grados alcohólicos



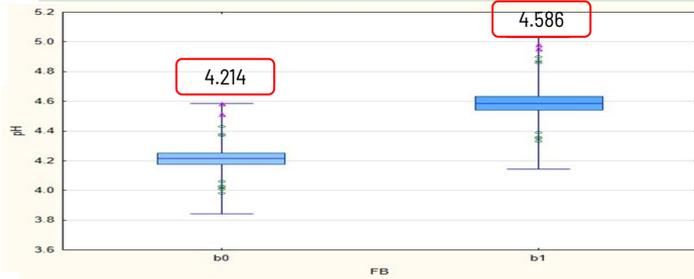
Acidez: Los grupos aminos de la quitina nativa se encuentra en forma acetilada, durante los procesos comunes de extracción por métodos químicos se utiliza diferentes concentraciones de ácidos y álcalis en donde se produce una inevitable desacetilación ya que al reaccionar con dichos componentes se ve alterada su composición química (A. López, 2010).

Absorbancia: Siendo los valores obtenidos mayores a mencionado por (Zuñá & Valverde, 2019) con un rango de 0,141 a 0,124, con longitud de onda de 750 nm para quitina obtenida de residuos de cangrejo y camarón.

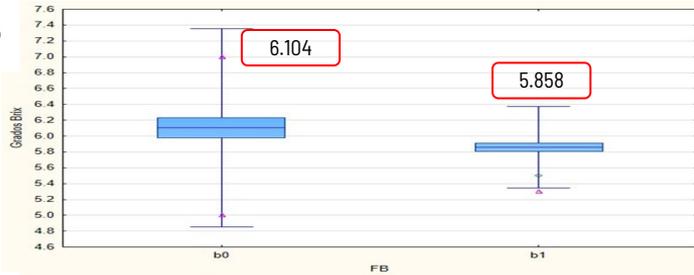
Grados Alcohólicos: De acuerdo a los datos obtenidos se pudo evidenciar que los valores se encuentran en un rango de 5-6 permitido por las normas INEN 374.

Factor B (tipo de vino) con parámetros pH, grados ^oBrix y densidad

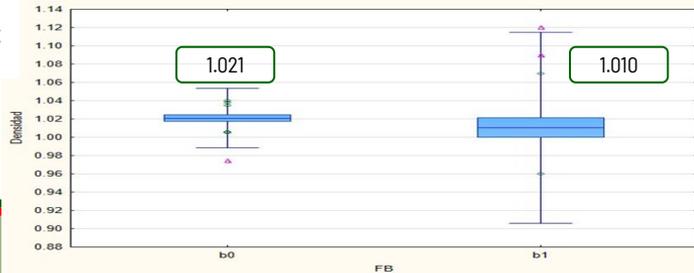
A



B



C

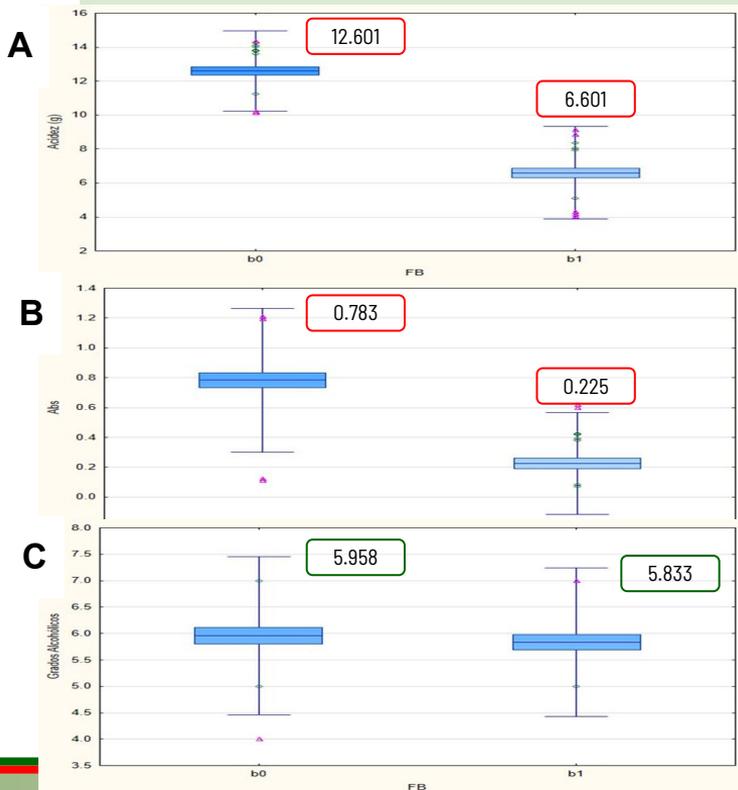


pH: La determinación del pH es una medida complementaria de la acidez total, la estabilidad del vino, la fermentación, el sabor y color están estrechamente relacionados con el pH del mismo. (Aparicio et al., 2014) menciona que el pH del vino pueden verse afectados por la composición de ácidos orgánicos.

Grados ^oBrix: Los valores se encuentran dentro del rango propuesto por la normativa INEN 374 del valor mínimo de 5.

Densidad: La disminución o aumento de la densidad se debe a la presencia de alcohol donde se encuentran compensados mayoritariamente por la influencia interna del extracto (Taco, 2012).

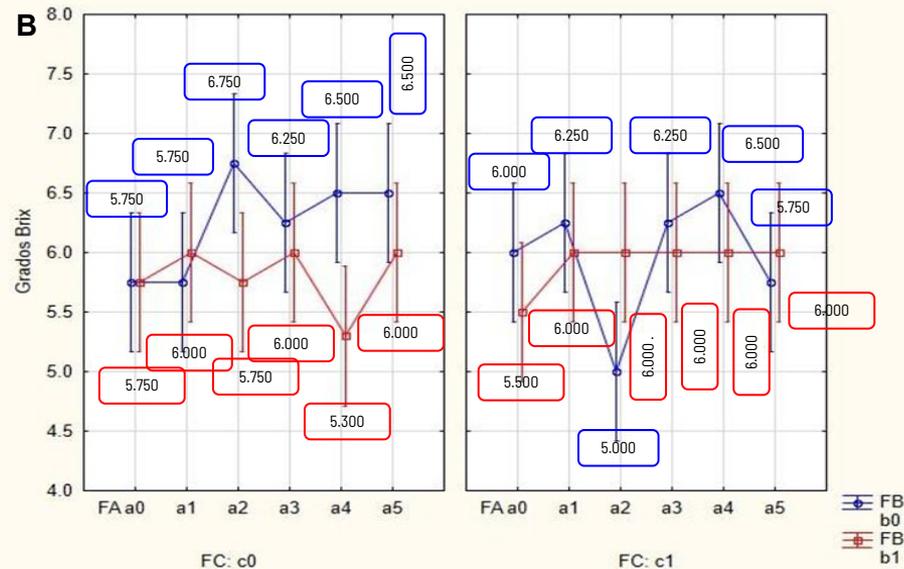
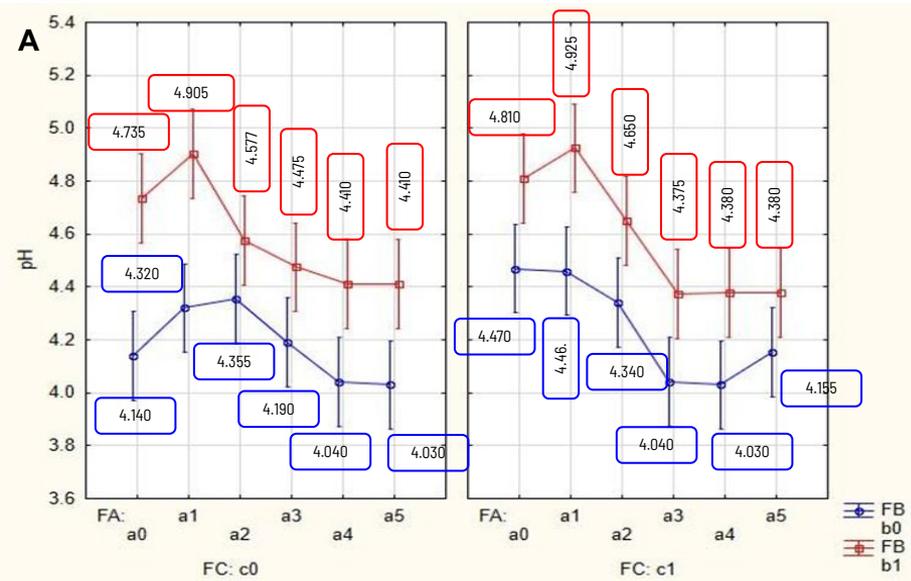
Factor B (tipo de quitina) con parámetros acidez, absorbancia y grados alcohólicos



Acidez: Los valores obtenidos se encuentran dentro de la normativa INEN 374 sobre acidez total de vinos de frutas, siendo el valor mínimo permitido de 4 y un valor máximo permitido de 16.

Absorbancia: (Mármol et al., 2012) señala que el oscurecimiento de los vinos está relacionado con la cantidad de compuestos fenólicos presentes, mismos que alteran el color, aroma y sabor, causando disminución de las cualidades visuales y sensoriales del vino.

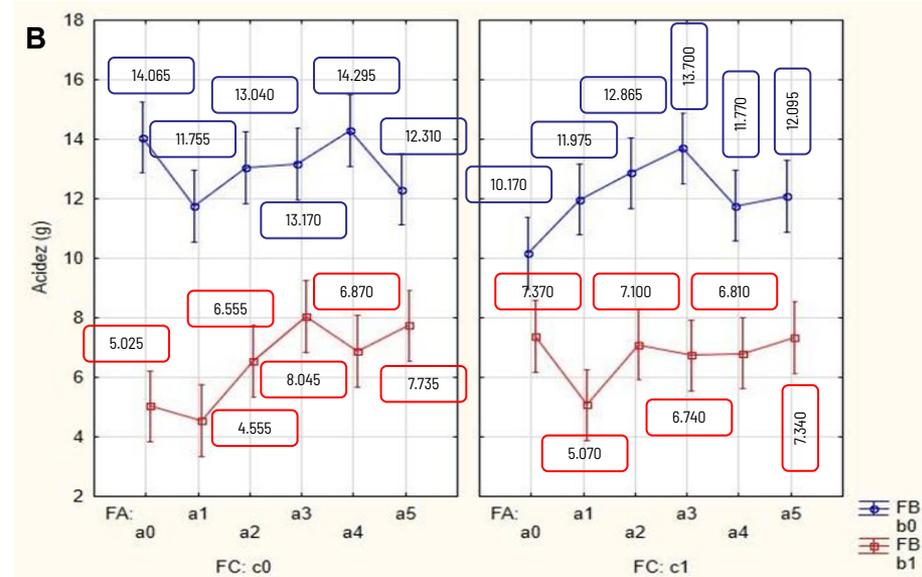
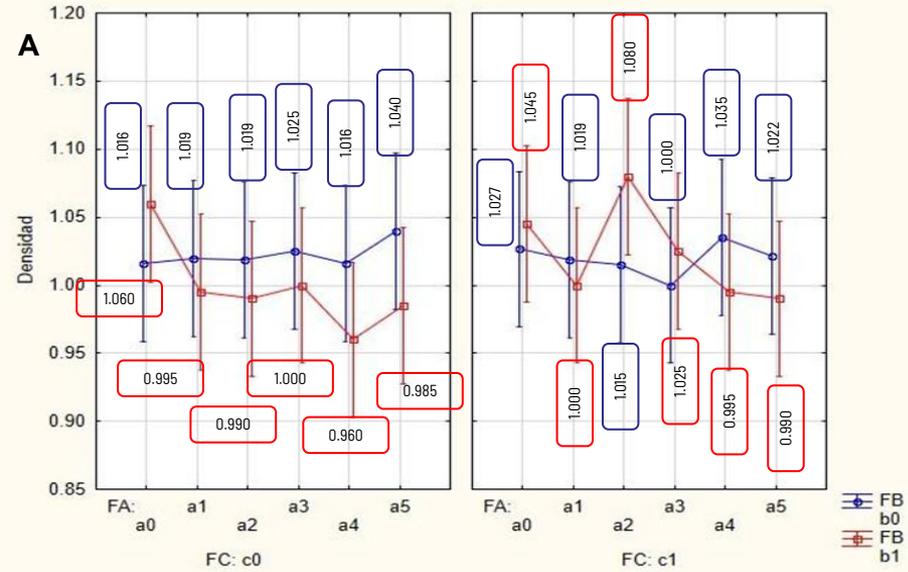
Grados Alcohólicos: Los valores se ajustan a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 374 en donde los requisitos de las bebidas alcohólicas de frutas deben tener un mínimo de 5.



pH: Los valores obtenidos se encontraron en rango de 4.040 a 4.925.

Grados ^oBrix: Se encuentran dentro del rango propuesto por la normativa INEN 374 cuyo valor mínimo es de 5.

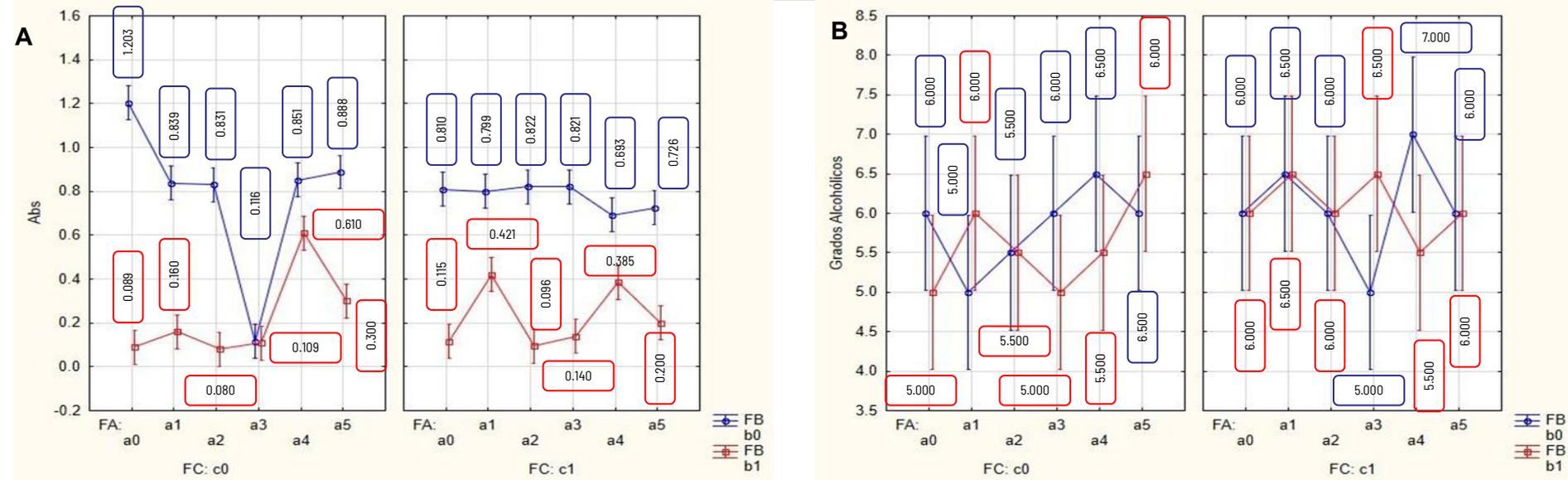
Interacción A*B*C con parámetros densidad y acidez



Densidad: Los valores obtenidos son inferiores a los reportados (Mushi et al., 2014) en el cual la densidad para la quitina es de 1.43 g/cm³.

Acidez: Se encuentran dentro del rango de 4 a 16g/L según la norma INEN 374.

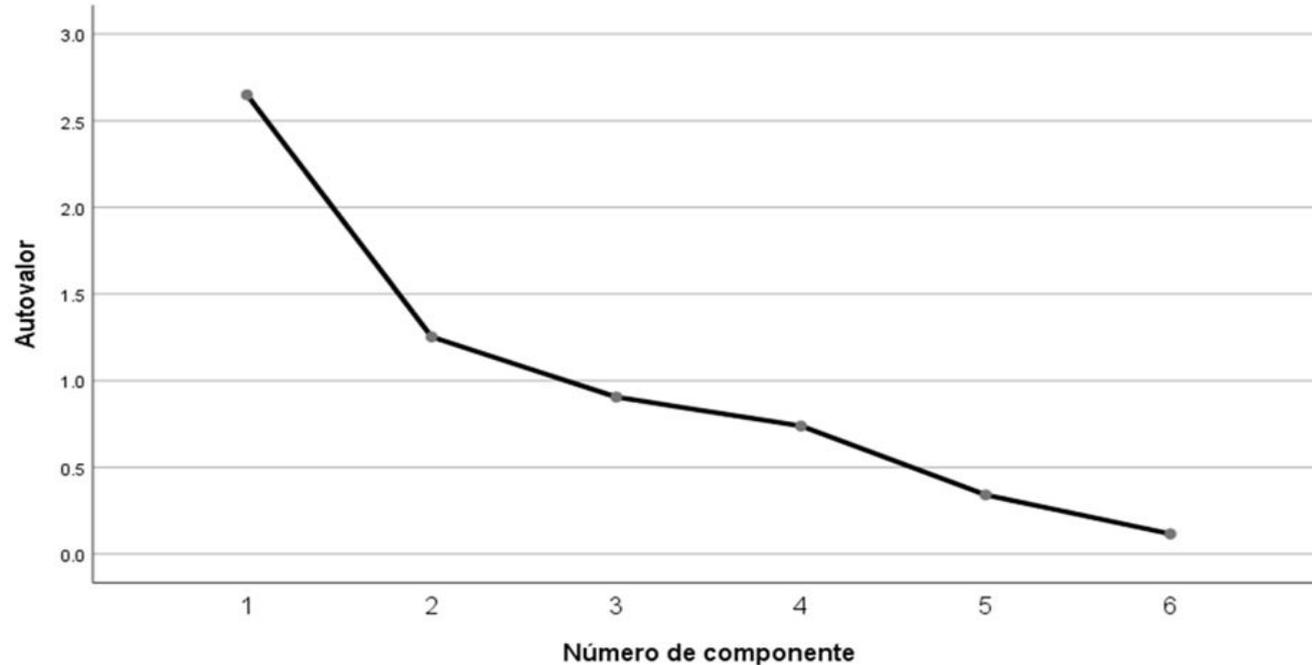
Interacción A*B*C con parámetros absorbancia y grados alcohólicos



Absorbancia: Los valores están dentro del rango de (Zuña & Valverde, 2019) de 0,141 a 0,124, para quitina obtenida de residuos de cangrejo y camarón.

Grados Alcohólicos: Los mismos cumplen con los valores permitidos por las normas INEN 374.

Gráfico de sedimentación



Se identifica 3 componentes principales encontrados



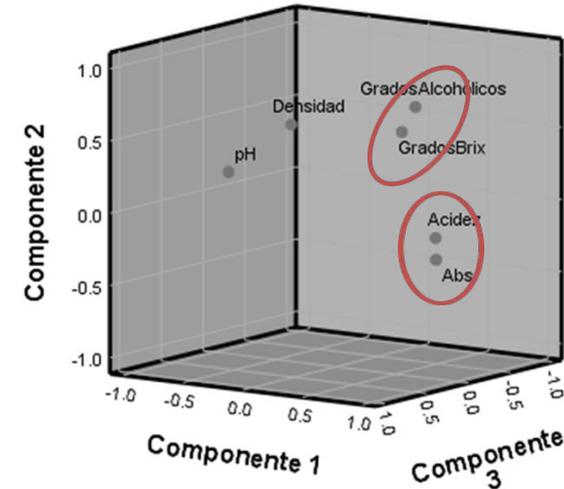
Donde:

- El componente 1 aporta a la reducción con un valor de 44.1.
- El componente 2 aporta 20.87
- El componente 3 15.08.

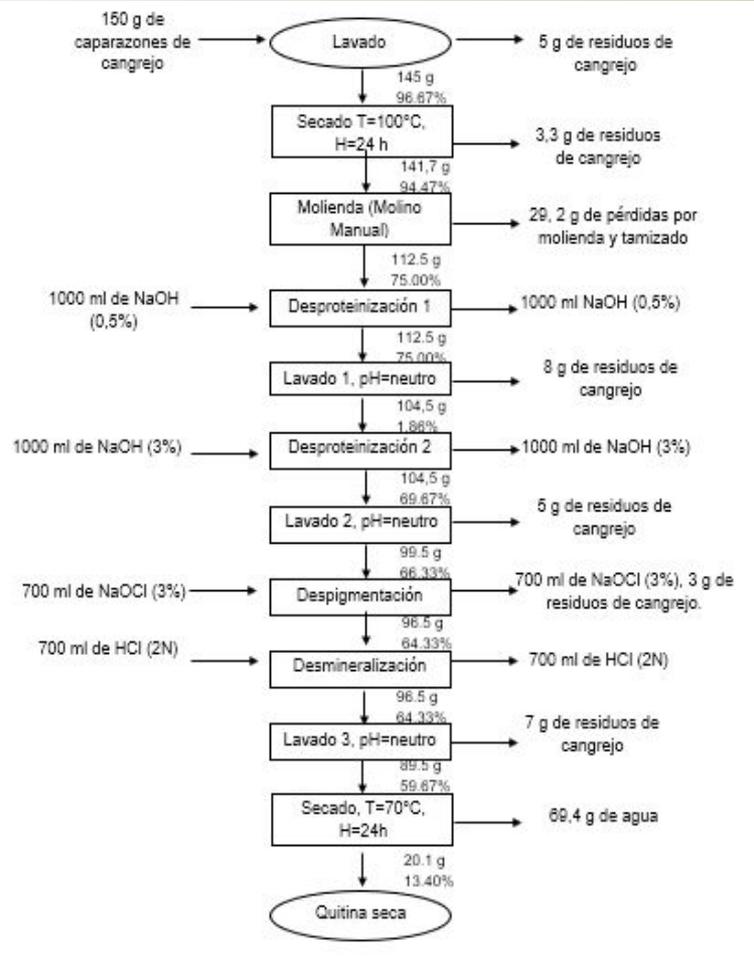
En total explica el 80.09% del experimento en un gráfico tridimensional.

Análisis de componentes principales

Matriz de correlaciones						
	pH	Grados Brix	Densidad	Acidez	Abs	Grados Alcohólicos
pH	1.000	-0.351	.031	-0.817	-0.619	-0.087
Grados Brix	-0.351	1.000	.177	.315	.145	.237
Densidad	.031	.177	1.000	.141	-0.053	.109
Acidez	-0.817	.315	.141	1.000	.774	.085
Absorbancia	-0.619	.145	-0.053	.774	1.000	.090
Grados Alcohólicos	-0.087	.237	.109	.085	.090	1.000



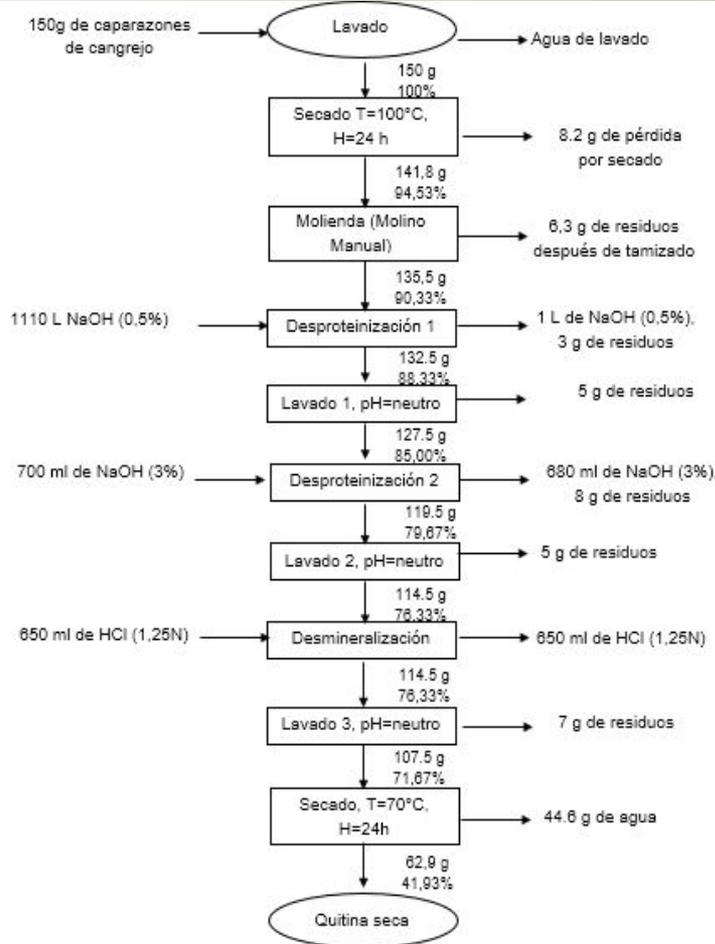
Balance de materiales
(Quitina obtenida por
Hidrólisis ácida)



$$\%R = \frac{P_f}{P_o} \times 100$$

$$\%R = \frac{P_f}{P_o} \times 100 = \frac{20,1g}{150g} \times 100 = 13.40 \%$$

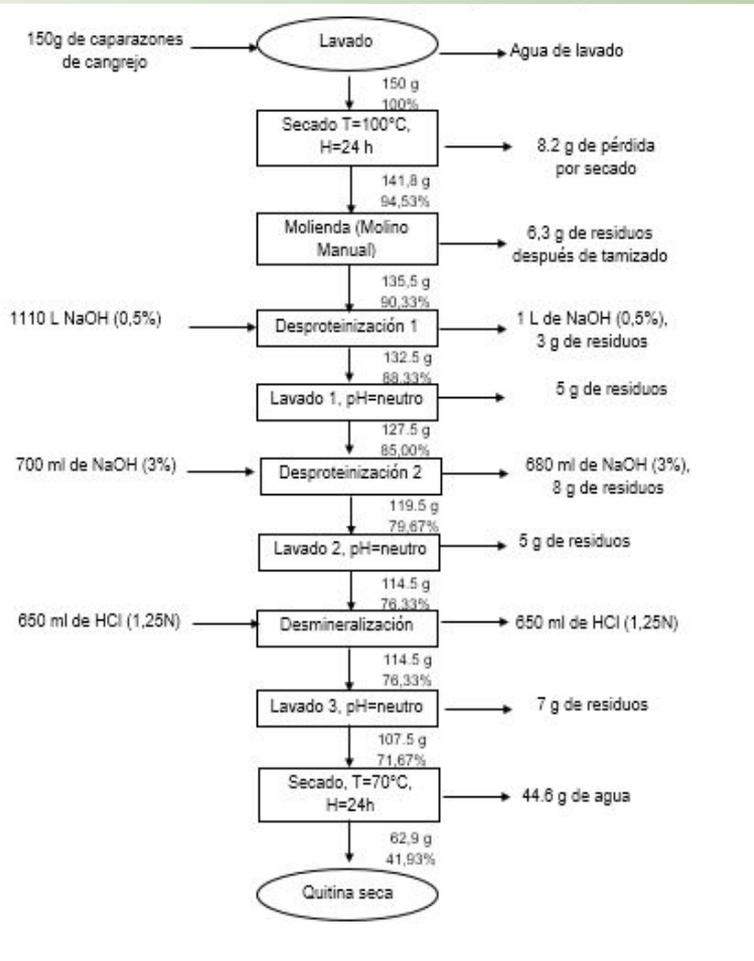
Balance de materiales
(Quitina obtenida por
fermentación ácido
láctica)



$$\%R = \frac{Pf}{Po} \times 100$$

$$\%R = \frac{Pf}{Po} \times 100 = \frac{17,90g}{100g} \times 100 = 17.90\%$$

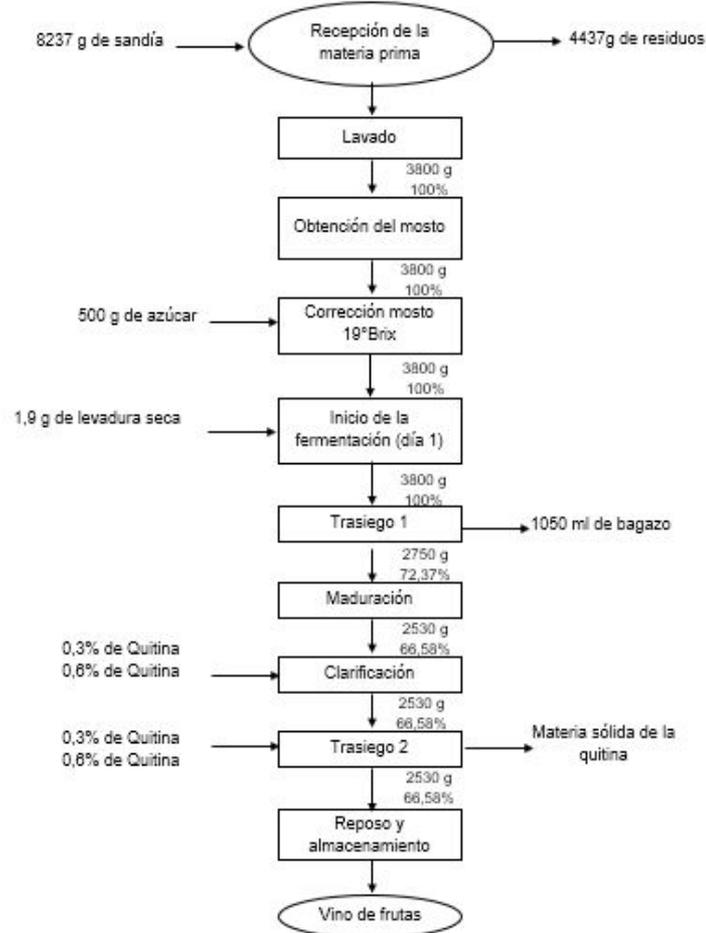
Balace de materiales
(Quitina obtenida por
Método Hindú)



$$\%R = \frac{Pf}{Po} \times 100$$

$$\%R = \frac{Pf}{Po} \times 100 = \frac{62,90g}{150g} \times 100 = 41,93\%$$

Balance de materiales vino de sandía



$$\%R = \frac{P_f}{P_o} \times 100$$

$$\%R = \frac{P_f}{P_o} \times 100 = \frac{2530g}{3800g} \times 100 = 66.58\%$$



Vinos de mandarina y sandía antes de la clarificación



Vinos de mandarina y sandía después de la clarificación



Petrifilms de Coliformes, Enterobacterias, *Salmonella* y *E. Coli* sin crecimiento. Con muestra de vino

FACTOR A

Se concluye que los valores de ceniza obtenidos 35,81% a 99.73% varía entre los tipos de crustáceos, debido a la estructura y composición de los mismos ya al ser sometidos a diferentes temperaturas se identifica que el cangrejo al tener un exoesqueleto rico en minerales como el carbonato de calcio tiene la capacidad de desprender la quitina más fácilmente a comparación del camarón.

En humedad y pH los datos obtenidos de 4.98% a 7.95% y 7,36 a 7,54 respectivamente, permiten validar el procedimiento realizado ya que se encuentran dentro de los valores reportados. Los residuos de cangrejo son los que contienen mejores valores en los diferentes parámetros analizados en la presente investigación.

FACTOR B

Se concluye que el valor de pH si varió entre los métodos de extracción encontrándose los mismos en un rango de 7.26 a 7,62, esto debido a las diferentes concentraciones de reactivos utilizados para las diferentes etapas de obtención de quitina, el método hindú e hidrólisis ácida cumplen con los rangos reportados por diferentes investigaciones.

En cuanto los resultados obtenidos para cenizas de los tres métodos se obtuvieron valores comprendidos entre 65.35% y 71,62%, se puede concluir que no cumplieron con los rangos mencionados por diferentes investigaciones, mientras que humedad se obtuvieron valores de 4.80 a 5.85, los cuales si cumplen con los rangos reportados con las investigaciones. El método de extracción hindú, presentó un mayor rendimiento tanto para los desechos de camarón como para los de cangrejo.

Interacción A*B

Se concluye que en la variable de cenizas los datos obtenidos de la quitina obtenida de cangrejo por hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica y método hindú son inferiores en comparación a los obtenidos por la quitina obtenida de camarón por hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica y método hindú. No obstante, ambos se consideran superiores a los valores registrados en diferentes investigaciones.

En cuanto a los resultados de pH y humedad, se consideran aptos ya que en las dos variables se encuentran en los rangos establecidos por diversos autores. La quitina obtenida por el método hindú de los desechos de cangrejo, presentó las mejores características y rendimiento

FACTOR A

Se concluye que en los valores obtenidos de grados $^{\circ}$ Brix de 5 a 6, densidad intervalos de 1 y grados alcohólicos de 5 a 6 se encuentran dentro de rangos mencionados por diferentes investigaciones.

En cuanto a pH y acidez se obtuvieron valores de 4 y 8 a 9 respectivamente por lo que todos los resultados están dentro de los parámetros mencionados por diferentes autores.

En los resultados de absorbancia los valores obtenidos no se encuentran en los valores mencionados por diferentes investigaciones.

FACTOR B

Se concluye que los resultados obtenidos en grados $^{\circ}$ Brix 5.85 a 6.10, acidez 6.6 a 12.6, absorbancia 0.22 a 0.78 y pH 4, se encuentran dentro de los parámetros ya mencionados. Debido a las características físicas y químicas del vino de mandarina y sandía.

En cuanto a densidad se reportó un valor de 1 y grados alcohólicos 5.83 a 5.95 todos los resultados se encuentran en los reportados por diferentes autores.

FACTOR C

Se concluye que en las variables evaluadas se obtuvieron los valores siguientes pH 4.38 a 4.41, densidad 1.01 a 1.02, grados $^{\circ}$ brix 5.93 a 6.02, acidez 9.41 a 9.78, absorbancia 0.502 a 0.506 y grados alcohólicos 5.70 a 6.08 por lo se encuentran dentro de los parámetros referidos anteriormente.

Interacción A*B*C

Se concluye que en las variables de pH, densidad y grados alcohólicos los datos no presentaron variaciones, mientras que para las variables de grados ^obrix y acidez se encuentran dentro de los establecidos en la normativa. Absorbancia se reporta que el mejor tratamiento fue la quitina extraída de cangrejo por método hindú aplicado a vino de sandía a una concentración de 0.6%.

Considerando la investigación realizada se puede concluir que respecto al rendimiento evaluado en los desechos de cangrejo y camarón por hidrólisis ácida, fermentación ácido láctica y método hindú, este último tuvo un valor alto con respecto a las otras 2 metodologías.

Para la extracción de quitina se recomienda utilizar caparazones de cangrejo ya que los valores de ceniza, pH y humedad se ajustan a los parámetros establecidos por diferentes autores.

En cuanto al procedimiento de extracción se recomienda utilizar el método hindú ya que este proporciona un mejor rendimiento a comparación de las 2 metodologías utilizadas.

Para la extracción de quitina por fermentación ácido láctica es recomendable trabajar en un biorreactor con la capacidad adecuada para la materia prima ya que se debe asegurar que este proceso tenga agitación constante

Se recomienda la quitina obtenida por el método hindú para la clarificación de vino, ya que se obtuvo los valores más bajos de absorbancia a comparación con las quitinas obtenidas por otros métodos.



GRACIAS POR SU ATENCIÓN



E S P E
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA