UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIRIQUI

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

ESCUELA DE CIENCIAS Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO A PARTIR DE
DESECHOS DE CAMARÓN MEDIANTE FERMENTACIÓN LÁCTICA**

TESIS

Para optar al grado de

LICENCIADA EN CIENCIA Y TECNOLGÍA DE LOS ALIMENOS

Presenta

NAUDI MASSIEL PITTI RODRIGUEZ

CIP: 4-810-2172

Asesor:

Profesor Alberto Escude

Co Asesores:

Profesor Francisco Alvarado

Profesor Luis Vega

República de Panamá, 2025

Dedicatoria

A Dios, Familia y Amigos

Agradecimiento

Primero que todo, a Dios, porque todo lo que he logrado en mi vida se lo debo a Él. Ha sido mi guía, mi fuerza y mi paz en los momentos más difíciles.

A mi mamá, por ser mi mayor motivación, por creer en mí incluso cuando yo dudaba; y, por estar siempre a mi lado con amor, apoyo y palabras de aliento.

A la memoria de mi tía Bety, gracias por su amor incondicional, por su paciencia y por ser una segunda madre para mí. Este logro también lleva su nombre.

Al profesor Alberto Escude, mi asesor, por su orientación, paciencia y confianza en mí a lo largo de este proceso. Su apoyo fue clave para el desarrollo de este trabajo.

A mi querido gato, por acompañarme en noches de estudio durante toda mi carrera. Su compañía silenciosa me dio consuelo y alegría en los momentos de cansancio.

Y a todas las personas que, de una u otra forma, influyeron para que hoy esté aquí. Cada gesto, palabra o ayuda tuvo un valor inmenso en este camino. ¡Gracias!

Índice de contenido

Dedicatoria.....	2
Agradecimiento	3
Resumen	10
Abstract.....	11
Introducción.....	12
CAPITULO I.....	14
MARCO INTRODUCTORIO.....	14
1.1 Aspectos generales del problema.....	15
1.3 Objetivo general.....	17
1.4 Objetivos específicos	17
1.5 Alcance del trabajo	18
1.6 Limitaciones.....	19
1.7 Justificación	19
CAPITULO II.....	21
MARCO TEÓRICO	21
2.1 Generalidades.....	22
2.2 Historia.....	23
2.3 Quitina.....	24
2.3.1 Estructura química.....	25
2.3.2 Fuentes de obtención.....	26
2.3.3 Propiedades y aplicaciones.....	27
2.4 Quitosano	28
2.4.1 Estructura química.....	29
2.4.2 Fuentes de obtención.....	30
2.4.3 Propiedades y aplicaciones.....	31
2.5 Suero lácteo.....	32
2.5.1 Composición y propiedades	33
2.5.2 Usos.....	34
2.5.3 Producción nacional	35
2.6 Ácido láctico	36

2.6.1 Propiedades y aplicaciones.....	37
2.6.2 Producción de ácido láctico por fermentación	38
2.7 Métodos de obtención del quitosano.....	39
2.7.1 Método químico	40
2.7.2 Método enzimático.....	40
2.7.3 Método biológico	41
2.8 Producción mundial de quitosano	42
2.9 Producción nacional de quitosano	43
2.10 Variables de estudio.....	44
2.10.1 Variable independiente.....	44
2.10.2 Variables dependientes.....	45
2.10.3 Variables de control	46
CAPITULO III	47
MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
3.1 Tipo de investigación.....	48
3.1.1 Investigación experimental	48
3.1.2 Investigación aplicada.....	48
3.1.3 Investigación descriptiva	48
3.2 Enfoque de la investigación.....	48
3.2.1 Enfoque cuantitativo	48
3.3 Diseño de la investigación	49
3.4 Material de estudio	49
3.5 Equipos y materiales utilizados	49
3.5.2 Equipos	50
3.6 Ubicación, espacio y tiempo.....	50
3.7 Obtención de la materia prima.....	51
3.8 Definiciones técnicas de los procesos	51
3.9 Procedimiento para el acondicionamiento de las materias primas	52
3.9.1 Acondicionamiento de las cáscaras de camarón.....	52
3.9.2 Acondicionamiento del suero lácteo.....	53
3.11 Ensayos preliminares para la estandarización del medio de fermentación	56
3.11.1 Objetivos de los ensayos preliminares.....	56
3.11.2 Variables monitoreadas.....	56
3.11.3 Diseño del ensayo	56
3.12 Procedimiento experimental.....	58

3.12.1 Preparación de las muestras de fermentación	58
3.12.2 Monitoreo durante la fermentación.....	60
3.12.3 Finalización de la fermentación y obtención del sólido.....	61
3.12.4 Caracterización del producto final	62
3.14 Análisis de cenizas aplicado	64
3.14.1 Fundamento.....	64
3.14.2 Materiales.....	64
3.14.3 Procedimiento.....	65
3.14.4 Cálculos y formulas	65
3.15 Análisis de Brix aplicado.....	65
3.15.1 Fundamento.....	65
3.15.2 Materiales.....	66
3.15.3 Procedimiento	66
3.16 Determinación del % de ácido láctico por titulación.....	67
3.16.1 Fundamento.....	67
3.16.2 Materiales.....	67
3.16.3 Procedimiento	68
3.16.4 Cálculos y formulas	68
3.17 Análisis de pH	69
3.17.1 Fundamento.....	69
3.17.2 Materiales.....	69
3.17.3 Procedimiento	69
3.18 Determinación de la temperatura.....	70
3.18.1 Fundamento.....	70
3.18.2 Materiales.....	70
3.18.3 Procedimiento	70
3.19.1 Fundamento.....	71
3.19.2 Materiales.....	71
3.19.3 Procedimiento	72
3.19.4 Grado de desacetilación	72
3.19.5 Cálculo y formulas.....	73
3.19.6 Interpretación	73
3.20 Método complementario: desacetilación química	73
3.20.1 Fundamento.....	73
3.20.2 Materiales.....	74

3.20.3 Procedimiento	74
3.21 Análisis estadístico	75
CAPITULO IV	76
ANALISIS Y RESULTADOS	76
4.1 Ensayos preliminares para la estandarización del medio de fermentación	77
4.1.1 Resultados del monitoreo.....	77
4.1.2 Medio de fermentación seleccionado.....	77
4.2 Monitoreo de las variables de estudio	78
4.2.1 Primera semana de análisis	78
4.2.2 Segunda semana de análisis	80
4.2.3 Discusión del comportamiento fermentativo	82
4.3.1 Resultados obtenidos	83
4.3.2 interpretación de resultados	84
4.4 Análisis de cenizas.....	85
4.4.1 Resultados obtenidos	85
4.4.2 Interpretación de los resultados	85
4.5 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	86
4.5.1 Espectros obtenidos	86
4.5.3 Discusión de resultados FTIR.....	87
4.6 Complementación química del proceso fermentativo para la obtención de quitosano .	88
4.6.1 Justificación de la complementación química	88
4.6.2 Proceso de desacetilación química aplicado al material fermentado.....	88
4.7 Observaciones físicas del material post- desacetilación.....	89
4.8 Cálculos de rendimientos.....	91
4.8.1 Comparación de rendimientos obtenidos con estudios previos	92
CAPITULO V.....	93
CONSIDERACIONES FINALES	93
5.1 Conclusiones.....	94
5.2 Recomendaciones	95
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
6.1 Referencias bibliográficas.....	97
ANEXOS	101
7.1 Glosario técnico	102
7.2 Imágenes del proceso experimental	103

Índice de flujogramas

Flujograma 1 Procesos para el acondicionamiento de las cáscaras de camarón	54
Flujograma 2 Procesos para el acondicionamiento del suero lácteo	55
Flujograma 3 Proceso experimental	63

Índice de cuadros

Cuadro 1 Monitoreo de pH, Brix y temperatura durante el primer ensayo preliminar	77
Cuadro 2 Monitoreo de pH, Brix y temperatura durante el segundo ensayo preliminar	77
Cuadro 3 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la semana 1 – Medio 1	78
Cuadro 4 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la semana 1 - Medio 2	79
Cuadro 5 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la segunda semana - Medio 1	80
Cuadro 6 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la segunda semana de fermentación - Medio 2	81
Cuadro 7 Resultados del último día de fermentación - Medio 3	82
Cuadro 8 Porcentaje de ácido láctico determinado por titulación durante las dos semanas de fermentación en el Medio 1	83
Cuadro 9 Porcentaje de ácido láctico determinado por titulación durante las dos semanas de fermentación en el medio 2	84
Cuadro 10 Evolución del contenido de cenizas en función del medio y el tiempo de fermentación	85

Índice de imágenes

Imagen 1	Monómero de la quitina.....	25
Imagen 2	Estructura molecular de la quitina	28
Imagen 3	Estructura química del quitosano	30
Imagen 4	Estructura química del ácido láctico.....	37
Imagen 5	Acondicionamiento de las cáscaras de camarón.....	52
Imagen 6	Acondicionamiento del suero	53
Imagen 7	Medios fermentativos preliminares	57
Imagen 8	Muestras de camarón sin fermentar.....	59
Imagen 9	Primer análisis de cenizas.....	59
Imagen 10	Medios de fermentación al inicio del proceso	60
Imagen 11	Medios de fermentación al final del proceso.....	61
Imagen 12	sólido residual post- fermentación.....	61
Imagen 13	comparación de muestras en polvo: antes (izquierda) y después (derecha) de la fermentación	62
Imagen 14	Etapas del proceso de desacetilación.....	89
Imagen 15	Sólido seco y pulverizado.....	89
Imagen 16	Transformación del quitosano: polvo a gel	90
Imagen 17	Suero pasteurizado.....	103
Imagen 18	Cáscaras frescas	103
Imagen 19	Preparación del medio	103
Imagen 20	Esterilización del equipo	103
Imagen 21	Medios de fermentación	104
Imagen 22	Inoculación	104
Imagen 23	Despigmentación exitosa.....	104
Imagen 24	Cáscaras post- fermentación.....	104
Imagen 25	Tamizado	105
Imagen 26	Pulverización	105
Imagen 27	Comparación visual de las etapas del proceso experimental.....	105

Índice de gráficas

Flujograma 1	Procesos para el acondicionamiento de las cáscaras de camarón	54
Flujograma 2	Procesos para el acondicionamiento del suero lácteo	55
Flujograma 3	Proceso experimental	63

Resumen

La propuesta de un método alternativo y sostenible para extraer quitosano es el objetivo en este corpus investigativo, a partir de residuos de camarón mediante fermentación láctica. Para ello, se fermentaron cáscaras de camarón durante 2 semanas utilizando suero lácteo inoculado con bacterias lácticas (*Lactobacillus*) provenientes de yogurt y azúcar como sustrato. Se monitorearon, diariamente, parámetros como pH, Brix, porcentaje de ácido láctico y temperatura. La eficacia del proceso de desmineralización fue evaluada mediante análisis de cenizas, con una remoción de hasta un 0.4%. Este porcentaje indica una eliminación efectiva de minerales. Aunque no se logró la desacetilación completa mediante fermentación, el proceso se complementó con un tratamiento químico con hidróxido de sodio (NaOH al 50%), con el propósito de obtener quitosano. El material tratado presentó un color blanquecino y características físicas compatibles con el quitosano; sin embargo, el análisis de espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) no arrojó resultados legibles lo que impidió confirmar estructuralmente su identidad. Se obtuvo un rendimiento del 22% de quitina y del 8% de quitosano con respecto al peso inicial de las cáscaras húmedas, con una conversión estimada del 36.4% de quitina y quitosano.

La fermentación láctica resultó ser una alternativa viable y demostró ser más amigable con el ambiente para la obtención de biopolímeros, contribuyendo a la valorización de residuos que provienen de las industrias pesqueras y lácteas.

Palabras claves: quitosano, quitina, fermentación láctica, residuos de camarón, biopolímeros.

Abstract

The objective of this research was to propose an alternative and sustainable method for the extraction of chitosan from shrimp waste through lactic fermentation. Shrimp shells were fermented for two weeks using whey inoculated with lactic acid bacteria (*Lactobacillus*) from yogurt and sugar as a substrate. Parameters such as pH, Brix, lactic acid percentage, and temperature were monitored daily. The efficiency of the demineralization process was evaluated through ash analysis, showing a removal of up to 0.4%, indicating effective mineral elimination. Although complete deacetylation was not achieved through fermentation alone, the process was complemented with a chemical treatment using sodium hydroxide (50% NaOH) to obtain chitosan. The treated material exhibited a whitish color and physical characteristics consistent with chitosan; however, FTIR spectroscopic analysis did not yield readable results, preventing structural confirmation of its identity. A yield of 22% chitin and 8% chitosan was obtained relative to the initial weight of the wet shells, with an estimated conversion of 36.4% into chitin and chitosan.

The results demonstrate that lactic fermentation is a viable and more environmentally friendly alternative for obtaining biopolymers, contributing to the valorization of waste from the fishing and dairy industries.

Keywords: Chitosan, chitin, lactic acid fermentation, shrimp waste, biopolymers.

Introducción

La industria alimentaria es una de las más importantes del mundo, ya que proporciona alimento a la población mundial. Sin embargo, también impacta negativamente al medio ambiente debido al mal manejo de sus desechos derivados de los procesos de transformación. Entre estos desechos están las cascara de camarón, las cuales provienen de la industria pesquera; y, el suero lácteo, residuo de la producción láctea. Ambos suelen ser desechados debido a la falta de ideas para aprovecharlos, a pesar de estar constituidos por compuestos de alto valor.

El quitosano se extrae del camarón. El quitosano es una macromolécula natural, clasificada como polisacárido. Posee una bioactividad de tendencia extrema. Este carbohidrato complejo se extrae de los camarones, cangrejos y langostas, de la estructura exoesquelética. Posee característica que lo ponderan como un compuesto atractivo por su capacidad no tóxica, biocompatible y biodegradable. Su alta capacidad de solubilidad en agua lo hace interesante para la ciencia. Esta característica le proporciona un amplio rango de usos, debido a sus grupos hidroxilos y funcionales aminos. Esta distribución polimérica le permite muchos cambios estructurales para participar en diferentes aplicaciones

Entre sus numerosas propiedades está la formación de películas y fibras, membranas, hidrogeles, y micropartículas.

Es un agente estimulador de la germinación, modificación de la tierra; además, funciona como fungicida y estimula, en las plantas, respuestas defensivas. Todas estas características resultan apropiadas para uso en la agricultura. En el área de la industria alimentaria, ha sido de gran utilidad para elaborar películas de fácil biodegradación; y también, para la confección de empaques antimicrobianos, gracias a la película que puede generar. La extracción más común de este biopolímero, se lleva a cabo con bases fuertes y ácidos, ambos, altamente concentrados durante el desarrollo de este método químico. Esta

actividad hace que este método sea costoso y poco amigable con el medio ambiente debido a los residuos tóxicos que genera. Considerando lo antes mencionado, surge la necesidad de explorar métodos alternativos, que sean más sostenibles y amigables con el medio ambiente.

Con base en este problema, se propuso la sustitución de los agentes químicos utilizados en la extracción del quitosano, como el hidróxido de sodio (NaOH) y el ácido clorhídrico (HCl), por el ácido láctico presente en el suero de leche. El ácido láctico se obtuvo por biotransformación a partir de sacarosa y lactosa (sustratos). Para desproteinizar se utilizaron bacterias (*Lactobacillus*), a través de una fermentación ácido-láctica, se redujo gradualmente el pH y hubo un incremento en la acidez total titulable. Los azúcares como lactosa, glucosa y aminoácidos presentes sirvieron como sustrato y fuente de energía. Las bacterias ácido-lácticas produjeron ácido láctico. Este ácido actuó en los exoesqueletos; y, en su efecto, del camarón se extrae quitina y quitosano. (Parra 2010)

El proyecto realizado es explicado en los siguientes 5 capítulos. Iniciado con el marco introductorio donde se da a conocer la situación actual de los desechos pesqueros y lácticos en Panamá, así como los objetivos del proyecto, luego sigue el marco teórico en donde se hace referencia a bibliografías y estudios relacionados con la investigación, posteriormente se narra la parte metodológica donde se describen los procedimientos seguidos para realizar el estudio, en el capítulo cuatro se presentan todos los resultados obtenidos en las distintas pruebas; y, finalmente, en el capítulo cinco se pueden apreciar las consideraciones finales.

CAPITULO I

MARCO INTRODUCTORIO

1.1 Aspectos generales del problema

Según los datos generados, a través de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la acuicultura se ha ido desarrollando en los países en vías de desarrollo en los últimos años. Dentro de estas actividades esta la producción de crustáceos, siendo el camarón el que más destaca por su interés económico y su versatilidad para la preparación de diversos platillos. (FAO, 2017)

En Panamá, la pesca y producción del camarón constituyen una de las principales actividades económicas de la república. El cultivo de camarones marinos se realiza en 9 354,49 ha. Esta área están distribuidas, principalmente, en el área central del país, 5 904,06 ha en las provincias de Coclé (distritos de Aguadulce, Antón, Natá y Penonomé), 1 393,56 ha en la provincia de Herrera (distrito de Parita, Chitré), 508,67 ha en la provincia de Los Santos (distrito de Los Santos, Guararé, Las Tablas y Tonosí), 1 003,71 ha en la provincia de Panamá (distrito de Chame, Capira y Panamá), 542,52 ha en la provincia de Veraguas (distrito de Montijo y Las Palmas) y 1,98 ha en la provincia de Chiriquí (distrito de Barú). (Food and Agriculture Organization [FAO], s. f.)

Sin embargo, esta actividad produce un significativo volumen de desechos que, por lo general, son considerados basura y generan contaminación en nuestro país. Alrededor del 48-60% del peso del camarón pertenece a la fracción no comestible (Li et al., 2022), compuesta por la cabeza, el exoesqueleto y la cola. Su incorrecto tratamiento provoca daños al medio ambiente. No obstante, estudios señalan que estos subproductos son ricos en componentes valiosos como lípidos, proteínas, pigmentos, carotenoides (como la antoxantina y quitina), que son de interés comercial.

La quitina es un polímero natural que forma parte del exoesqueleto de los crustáceos y es el segundo más abundante del planeta (el primero es la celulosa que se extrae de los árboles). Los desechos de camarón, como sus cabezas y caparazones, contienen esta quitina, la cual mediante un tratamiento de desacetilación se transforma en quitosano, un material más versátil, parcialmente soluble en agua y con muchas más aplicaciones a nivel comercial. (Mohanty, 2020)

Como se mencionó, anteriormente, el quitosano puede ser extraído a partir de la quitina, mediante métodos químicos. Estos métodos implican el uso de sustancias que generan residuos tóxicos causando un impacto climático y ambiental de incidencia negativa; y, en consecuencia, riesgos para la salud de los trabajadores. Además, la utilización de productos químicos y equipos especializados puede aumentar los costos.

Una alternativa viable es sustituir los ácidos químicos por ácidos naturales como el ácido láctico, presente en el suero de leche. Optar por esta alternativa también beneficiaría a las industrias lácteas, dado que el suero de leche obtenido durante la fabricación de queso puede causar un impacto negativo en medios acuáticos. Si a este suero no se le da un tratamiento correcto, debido a su alto contenido en nutrientes y materia orgánica como fósforo (P) nitrógeno (N). Ellos pueden causar eutrofización, que es el crecimiento de algas y plantas acuáticas. Este crecimiento reduce el oxígeno (O) en el hábitat acuático e incide en la vida de este ambiente. En consecuencia, tras su descomposición en los suelos libera gases de efecto invernadero como el metano (CH₄).

Durante el desarrollo de la investigación, se evidenció una falta de innovación en el desarrollo de proyectos sostenibles que agreguen valor a estos subproductos, a pesar del potencial del quitosano y la abundante disponibilidad de materia prima en Panamá. Entre las razones están la falta de infraestructuras para poder producirlo

industrialmente, la necesidad de inversiones que promuevan proyectos sostenibles, así como la carencia de métodos viables para su producción.

En respuesta a esta problemática, la fermentación láctica surge como una alternativa de extracción sostenible, porque tiene el potencial para eliminar proteínas y minerales de elementos como las cascaras de camarón, facilitando la extracción de compuestos como el quitosano con la ayuda de ácidos orgánicos. En este estudio, se presenta el aprovechamiento en conjunto de estos residuos (suero lácteo y cascaras de camarón). El quitosano se obtiene mediante las cáscaras de camarón que han sido fermentados con suero de leche y cultivos lácticos de yogur.

1.2 Hipótesis

Ha. La fermentación láctica permite reducir el uso de ácidos fuertes en la extracción de quitosano.

1.3 Objetivo general

- Proponer un método alternativo y sostenible para la extracción de quitosano a partir de residuos de camarón.

1.4 Objetivos específicos

- Evaluar el uso del ácido láctico como alternativa a los ácidos inorgánicos convencionales en la etapa de desmineralización.
- Caracterizar el quitosano obtenido con el método alternativo.
- Fomentar la valorización de subproductos derivados del camarón y de la industria quesera.

1.5 Alcance del trabajo

La orientación principal de este proyecto sobre la extracción y caracterización de quitosano, se realizó a partir de la desecación de los desechos de camarón y posterior fermentación con ácido láctico presente en el suero de leche. Se desarrolló en el campus central de la UNACHI, facultad de Ciencias Naturales y Exactas, en los laboratorios de Ciencia y Tecnología de los alimentos (L14), así como en los laboratorios de la Escuela de Química.

Esta iniciativa pretende proporcionar un método alternativo para la obtención de quitosano. Este producto es de gran interés debido a sus innumerables aplicaciones en distintas áreas. A saber, en la medicina (por el rango antibacteriano que posee), en la agricultura (por sus propiedades biológicas), en la industria alimentaria (por sus características antioxidantes y filmogénicas), entre otras.

Las fuentes de nuestras materias primas fueron: el restaurante Mar Caribe localizado en el corregimiento de Pedregal, donde diariamente se generan cantidades significativas de residuos de camarón, debido al proceso productivo y, la fábrica de quesos "El Che" productora de cantidades considerables de suero como subproducto en consecuencia de la coagulación de la leche, proceso necesario para la elaboración de quesos.

Otro de los objetivos de esta investigación es ofrecer una solución a las industrias camaroneras y queseras para que reutilicen sus desechos. También, se busca fomentar el desarrollo de un sector manufacturero que convierta este tipo de desechos industriales en productos altamente valiosos mediante un método eco amigable y económico.

En consecuencia, traería innovación, vacantes laborales, crecimiento económico, sostenibilidad, desarrollo regional y un impacto positivo en el medio ambiente al evitar la disposición inadecuada de desechos sólidos y líquidos.

1.6 Limitaciones

- Carencia de equipos para realizar análisis detallados, esto limitó la obtención de datos más exactos.
- El proceso de fermentación estuvo influenciado por las variaciones de temperatura y humedad, las cuales pudieron influir en los resultados.
- El tiempo, los recursos materiales y económicos fueron limitados, lo cual restringió la posibilidad de realizar ensayos complementarios.
- Las cáscaras de camarón y el suero lácteo requirieron un manejo rápido por su naturaleza perecedera.
- El conocimiento previo limitado en aspectos químicos representó un reto inicial, aunque también impulsó un proceso de aprendizaje durante la investigación.
- Se presentaron dificultades en el acondicionamiento de la muestra final de quitosano, lo que afectó la calidad del análisis FTIR y limitó la interpretación de los resultados espectrales.

1.7 Justificación

Panamá ha hecho muchas innovaciones en la industria camaronera. Entre estas innovaciones está la implementación de nuevas tecnologías de cultivos, nuevas normas y regulaciones, así como estudios para mejorar la eficiencia y producción. Sin embargo, el manejo de los residuos sigue siendo un desafío.

Reducir los desechos producidos en la industria alimentaria es fundamental para optimizar el uso de recursos y contribuir a la biosostenibilidad. Incorporar nuevas tecnologías para la creación de subproductos aprovechables en diversos sectores industriales, contribuyen a la producción responsable, beneficiando a la sociedad y al planeta.

En el mercado de consumo alimenticio, los camarones generan cantidades inmensas de residuos que abarcan las partes no comestibles como las cabezas, colas y exoesqueletos. Aproximadamente, el 75% del peso de los crustáceos reside en el exoesqueleto. Estructura que está formado por carotenoides, minerales, proteínas y quitina. Siendo este biopolímero, uno de los que más abundan en la naturaleza. Esta abundancia determina su potencial para extraer quitosano. El quitosano es un polisacárido biodegradable con propiedades de formación de películas.

Numerosas investigaciones han abordado la eficiencia del quitosano en la industria alimentaria, como aditivo, recubrimiento, embalaje, conservante, entre otros. No obstante, una de sus limitantes es el alto costo de producción debido a que su extracción se hace por métodos químicos. Estas técnicas emplean productos costosos y que además generan una gran cantidad de residuos que son peligrosos: y, por defecto, requieren gestión para una eliminación cuidadosa, de tal manera, que se pueda evitar la contaminación tanto para el agua como para el suelo.

Este proyecto nace del compromiso que, como tecnóloga en alimentos, tengo de encontrar la manera de un máximo aprovechamiento de todos los recursos de las industrias alimentarias (desechos), evitando la contaminación ambiental y pérdidas económicas para la empresa.

Desarrollar este trabajo de investigación nos permitió ser conscientes de que Panamá carece de industrias que se dediquen a la extracción del quitosano, porque resulta costoso. Esto hace necesaria la importación de este biopolímero lo que eleva su costo. El presente proyecto de investigación responde a esta necesidad; y, paralelamente, motivando la creación de nuevas industrias dedicadas a la obtención de este producto, proporcionándoles una metodología innovadora, económica y sostenible.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades

La industria alimentaria genera grandes volúmenes de efluentes líquidos, sólidos y gaseosos como resultado de sus procesos productivos. Estos efluentes suelen contener materia orgánica, grasas, aceites, proteínas, carbohidratos, residuos vegetales o animales, y altas cargas microbiológicas. Si no se gestionan, adecuadamente, pueden representar un riesgo significativo para el ambiente y la salud pública. Una mala gestión conduce a la contaminación de cuerpos de agua, suelos y provocar malos olores. Por esta razón, en las últimas décadas se ha incrementado el interés por aplicar tecnologías de tratamientos y aprovechamiento de estos residuos, con el objetivo de reducir su impacto ambiental y en muchos casos transformarlos en subproductos que diversifiquen el rango de utilidad, junto a un aumento del valor agregado.

La búsqueda de métodos más sostenibles para el aprovechamiento de residuos orgánicos ha sido impulsada por la creciente preocupación por el impacto ambiental de los procesos industriales. Un ejemplo de estos residuos son las cáscaras de camarón, principal desecho de las industrias pesqueras, formadas principalmente por quitina, materia mineral como el carbonato de calcio y proteína. Como indica Palma y Mercedes (2013), la composición en base seca está constituida por proteínas (13-58%), carbonatos y fosfatos de calcio (20-72%), lípidos (0.8-12%) y quitina (14-35%).

El quitosano es un derivado de la quitina que posee aplicaciones en un amplio rango en los sectores alimentario, biomédico, agrícola y cosmético por mencionar algunos. Esto se debe a sus propiedades biodegradables, biocompatibles y antimicrobianas, que les permite adaptarse fácilmente a un sin número de aplicaciones industriales. Es común obtenerlos mediante métodos químicos, en donde se utilizan sustancias corrosivas como el hidróxido

de sodio y el ácido clorhídrico, cabe destacar que las altas temperaturas requeridas para la extracción representan un riesgo para el personal y su entorno.

Por esta razón, se han investigado métodos alternativos más sostenibles, entre ellos está el uso de fermentaciones como la fermentación láctica. Esta transformación láctica de azúcares utiliza microorganismos capaces de producir ácido. Luego de ello se produce la desmineralización y desproteización de los compuestos que están presentes en el camarón, específicamente en las cáscaras. Esta trazabilidad permite la extracción ecológica y reduce la cantidad del uso de químicos fuertes hasta la obtención del quitosano.

La presente investigación, busca no solo dar a conocer un método ecológico para la extracción de quitina y quitosano, sino también fomentar la participación panameña en este tipo de estudios biotecnológicos. El desarrollo de estas propuestas innovadoras promueve la reutilización de los subproductos en el desarrollo de otras industrias (farmacia, cosmetología y otras). Estas iniciativas apoyan el fortalecimiento del quehacer científico en las investigaciones. En su efecto, impulsan soluciones a los retos ambientales actuales; y, fomentan un enfoque responsable y eficiente de los recursos.

2.2 Historia

Henri Braconnot, químico francés, descubrió la quitina en el 1811. Fue obtenida de un hongo que llamó fungine. Esta palabra significa hongos en italiano. Luego, en 1823, el científico Antoine Odier la llamó chitin. Esta palabra proviene del griego chitón que significa túnica o envoltura. Por otra parte, el quitosano fue descubierto por Charles Rouget, en 1859. Rouget después de sumergir quitina en una solución álcali y subirle la temperatura, descubre como se formaba un polímero soluble en ácidos orgánicos. Posteriormente, en el 1894, Hoppe y Seyler le asignan el nombre Chitosan. (Giraldo, 2015)

Durante el siglo XX, la estructuración química de la quitina fue clasificada como un polímero de N-acetilglucosamina, mientras que el quitosano fue identificado como el producto de la desacetilación por medio álcali de la quitina, compuesto principalmente por glucosamina.

El enfoque por estos compuestos disminuyó en los años treinta debido al interés por los polímeros sintéticos, que ofrecían propiedades ventajosas. Sin embargo, en los últimos años, han recobrado relevancia debido a características biodegradables y biocompatibles. Estas peculiaridades son especialmente valoradas, en la actualidad, por contribuir a la economía circular; y, responder a la creciente demanda de productos más saludables y sostenibles. Lo antes mencionado ha impulsado su uso para diversas aplicaciones la industria alimentaria, agricultura, medicina y la biotecnología. (Rinaudo, 2006; Kurita, 2001)

2.3 Quitina

Los biopolímeros más abundantes en la tierra: primero es la celulosa y luego, la quitina. Es un polisacárido La natural composición por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas mediante enlaces β -1,4 generan el polisacárido de la quitina. En los exoesqueletos de artrópodos como los crustáceos e insectos, además en las paredes celulares de los hongos se puede encontrar este biopolímero. La quitina aporta protección, soporte y sustentación al cuerpo de los insectos, a través del exoesqueleto. También, la quitina, en los hongos, evita que las células pierdan agua y les aporta rigidez.

Las características finales de la quitina dependen, en gran medida, del método que se utilice para extraerla. Cuando la quitina está en su estado puro tiene una apariencia blanquecina, sólida, inodora e insípida. Posee una estructura porosa que le permite absorber mucha agua y una elevada masa molecular. Debido a que es insoluble en agua sus aplicaciones son limitadas, es por esto que se recurre a sus derivados los oligosacáridos de quitina y el

quitosano. Estos derivados tienen características favorables como alta compatibilidad con otros compuestos, permitiéndoles mezclarse y usarse en diversas actividades humanas. (Miguel Á Ramírez y Col, 2010)

2.3.1 Estructura química

Tanto la quitina como la celulosa tienen una estructura similar, pero con un grupo acetilamino (-NHCOCH₃) en la posición C2 de cada unidad monomérica, lo que confiere propiedades físicas y químicas distintas, como mayor rigidez y baja solubilidad en agua. (Kumar,2000)

Su fórmula empírica es (C₈H₁₃NO₅)_n y puede encontrarse en varias formas cristalinas: α-, β- y γ-quitina. La β-quitina, presente en el calamar, existe como un hidrato cristalino de baja estabilidad, ya que el agua puede penetrar entre las cadenas de las capas. Por otro lado, la γ-quitina se encuentra en los capullos de los escarabajos. (Ramírez, Rodríguez, et al., 2010)

En cuanto a la α-quitina, es la forma más abundante. Según Rinaudo (2026), esta variante está caracterizada por tener una disposición antiparalela de las cadenas, esta posición permite la formación de enlaces de hidrógeno inter- e intracatenarios, otorgándole así una mayor estabilidad térmica y mecánica. Es importante destacar que su estructura química permite su conversión en quitosano, gracias a la desacetilación, el cual mejora su solubilidad en medios ácidos y amplía sus aplicaciones en la industria alimentaria, médica y biotecnológica.

Imagen 1 Monómero de la quitina

Fuente: Wikipedia contributors, (s/f).

2.3.2 Fuentes de obtención

La quitina está alojada, naturalmente, en muchos organismos, especialmente de manera estructural. Según Aranaz (2009), los exoesqueletos de crustáceos como langostas y camarones constituyen la fuente más común para su obtención, ya que tienen alto contenido de quitina y gran disponibilidad como residuo en la industria pesquera. Los cefalópodos como calamares y sepias tienen estructuras quitinosas en sus plumas internas o mandíbulas (como el pico del calamar), pero no son tan abundantes como los crustáceos.

Además, se ha confirmado la presencia de quitina en la en las paredes celulares de los hongos filamentosos (*Mucor*, *Aspergillus* y *Rhizopus*) y en la cutícula de los insectos. Estas fuentes se aprovechan poco porque su procesamiento es más complicado y la materia prima es limitada.

A pesar de lo antes mencionado, se han desarrollado estrategias para obtener quitina y quitosano a partir de fuentes fúngicas renovable. Según Yen y Mau (2007), algunos residuos agroindustriales pueden utilizarse como sustrato para el cultivo de hongos filamentosos, los cuales producen quitina y quitosano en sus paredes celulares. Esta opción permite dar un uso útil a desechos vegetales como cascaras, bagazos o residuos lignocelulósicos. Esto amplía la posibilidad de aprovechamiento sostenible de residuos orgánicos para su extracción.

2.3.3 Propiedades y aplicaciones

La quitina es un compuesto orgánico complejo y resistente. Posee propiedades biodegradables, no tóxicas y antimicrobianas. Estas características resultan valiosas para diversas aplicaciones industriales y científicas.

Un ejemplo de su aplicación en la medicina es la creación de apósitos para curar heridas más rápido y evitar infecciones. Kumar (2000) señala que la quitina también se puede usar para fabricar materiales para regenerar tejidos, como la piel o el cartílago.

En el área de la industria alimentaria, es utilizada como aditivo: ayuda a espesar alimentos, mejorar textura e incluso favorece la clarificación de bebidas. También se han realizados estudios para hacer recubrimientos comestibles, que ayudan a que los alimentos aumenten su vida de anaquel. (Shahidi y Abuzaytoun, 2005)

La agricultura también se ve beneficiada, ya que la quitina puede actuar como un fertilizante eficaz, haciendo que las defensas de las plantas se fortalezcan, al mismo tiempo que desarrolla un papel de plaguicida porque mantiene a raya los hongos que dañan los cultivos.

Los estudios sobre este biopolímero no cesan, actualmente se está usando en cosméticos (formulación de maquillaje), en productos farmacéuticos (formulación de tabletas) y hasta en la limpieza de aguas contaminadas (eliminación de metales pesados). El hecho de ser un compuesto natural, abundante y con muchas propiedades valiosas, lo convierten en el foco de atención para distintos sectores, esto demuestra la importancia de seguir investigando nuevas formas de aprovecharlo en beneficio de la salud, la industria y el ambiente.

Imagen 2 Estructura molecular de la quitina

Fuente: Sabry, (1992).

2.4 Quitosano

La quitina es la materia prima de donde se puede extraer una sustancia natural: el quitosano. La quitina está presente en estructuras duras de algunos animales, como los caparzones de camarones y langostas. El término quitosano viene del término quitina, que a su vez significa "túnica" o "cobertura". Este nombre tiene sentido porque la quitina forma una especie de capa protectora en el cuerpo de animales como insectos y crustáceos. Para obtener quitosano, la quitina debe someterse a un proceso de desacetilación, que consiste en remover ciertas partes químicas de la quitina para hacerla más funcional. Gracias a ese cambio, el quitosano puede disolverse en soluciones ácidas suaves y volverse más fácil de trabajar. (Kumar,2000)

Una de las grandes ventajas del quitosano es ser biodegradable, lo que significa que se descompone, naturalmente, sin causar daño al ambiente. También es biocompatible, es decir, que puede estar en contacto con el cuerpo humano sin causar reacciones negativas. Además, tiene propiedades antimicrobianas: combate bacterias y hongos. El quitosano y la quitina tienen características físicas similares, pero hay algunas diferencias significativas. La quitina es un material duro y más difícil de disolver, lo que le da una estructura resistente. El quitosano, por otra parte, luego del proceso de desacetilación, se vuelve más flexible y soluble en soluciones ácidas. Además, el quitosano tiene capacidad de formar geles y películas. En términos de color, ambos presentan un

aspecto blanquecino o amarillento; sin embargo, dado que el quitosano pasa por más procesos, puede adquirir una apariencia menos cristalina y una textura más suave que la de la quitina. Por su origen renovable, su bajo impacto ambiental, y todas las demás características antes mencionadas, el quitosano se ha convertido en un material prometedor para el desarrollo de tecnologías sostenibles.

2.4.1 Estructura química

El quitosano es un tipo de azúcar natural formado por cadenas largas de unidades de glucosa: componente que se encuentra en la quitina. Este polisacárido es un material estructural en los exoesqueletos de animales como los camarones. Su estructura básica proviene de la quitina, que está compuesta principalmente por un azúcar llamado *N-acetilglucosamina* (GlcNAc). Cuando la quitina se transforma en quitosano, algunos de estos grupos *acetilo* (un tipo de grupo químico) se eliminan, esto hace que cambie la estructura y que se generen nuevas propiedades. Este proceso se llama desacetilación. Después de este cambio, el quitosano se compone de *glucosamina* (GlcN). La GlcN es un azúcar similar al antes mencionado, pero sin grupo acetilo. El quitosano tiene una estructura de cadena lineal, donde los monómeros de glucosamina se conectan entre sí por enlaces llamados beta-glicosídicos. Además, el quitosano tiene grupos químicos llamados aminos libres (-NH₂) en su estructura, que no están presentes en la quitina. Estos grupos aminos son importantes porque le permiten al quitosano disolverse en medios ácidos y unirse a otros compuestos como metales o proteínas (Rinaudo, 2006). La estructura química del quitosano no solo lo diferencia de la quitina, sino que también le proporciona propiedades únicas que lo hacen versátil y funcional para distintas industrias.

Imagen 3 Estructura química del quitosano.

Fuente: Researchgate.net, (s/f).

2.4.2 Fuentes de obtención

La quitina es la principal fuente de donde se obtiene el quitosano. La quitina es un componente natural presente en los exoesqueletos de muchos animales. La fuente más común para obtenerlo son los residuos de mariscos, especialmente las cascaras de camarones, cangrejos y langostas. Estas cascaras contienen grandes cantidades de quitina y suelen estar disponibles en grandes volúmenes como desechos de la industria pesquera (Kumar, 2000). Esto lo convierte en una materia prima económica y sostenible.

Además de los crustáceos, también se ha logrado obtener quitosano a partir de insectos como escarabajos y de ciertos hongos, como los de genero *Mucor*. Aunque estas fuentes no son tan comunes como los mariscos, representan una buena alternativa, especialmente para personas alérgicas a los productos pesqueros o en regiones donde los crustáceos no son abundantes. (Rinaudo,2006)

El uso de estos residuos como fuente de quitosano, no solo permite aprovechar un subproducto que, de otra forma, seria desechado, sino que también ayuda a disminuir el daño ambiental; y, en su efecto, motivar la práctica de una economía circular. Esta ventaja ha

motivado a muchos investigadores a buscar métodos más ecológicos para extraer el quitosano, como el uso de fermentación en lugar de químicos agresivos.

2.4.3 Propiedades y aplicaciones

El quitosano y la quitina comparten muchas propiedades y usos, ya que el quitosano es extraído de la quitina. Ambos son biopolímeros naturales, biodegradables y no tóxicos. Características útiles en aplicaciones similares, como medicina, agricultura, alimentos y tratamiento de aguas.

La diferencia está en que el quitosano tiene más ventajas prácticas, ya que es más reactivo y soluble en medios ácidos, gracias a los grupos aminos (-NH₂) que se liberan durante el proceso de desacetilación (cuando la quitina es transformada a quitosano). El quitosano es un material muy útil que se puede aplicar en muchas áreas, gracias a que es seguro para el ser humano, no daña el ambiente y tiene propiedades antimicrobianas y biodegradables.

En los alimentos, es utilizado para recubrir frutas y verduras, ayudando a que duren más tiempo frescas. También puede aclarar jugos o vinos y a veces se añade a productos bajos en grasa porque puede atrapar parte de las grasas en el cuerpo. Por otra parte, el quitosano ayuda a limpiar el agua sucia, ya que puede atrapar metales pesados, colorantes y otras sustancias dañinas. Por eso se usa para tratar aguas residuales, especialmente en fábricas.

Las aplicaciones en la medicina son amplias, se usa en vendajes quirúrgicos para detener el sangrado, sirve como material en la creación de andamios para regenerar huesos y piel, su capacidad antimicrobiana lo hace útil en tratamientos contra infecciones y se sigue investigando su uso en productos para los ojos, los dientes y en terapias contra el cáncer. (Zhao, 2024)

En la agricultura, se usa como un fertilizante natural que ayuda a que las plantas crezcan más fuertes y resistentes a enfermedades. También se puede aplicar en las semillas para protegerlas desde el inicio. Entre sus otras aplicaciones está la fijación de colores en la industria textil, mejorador de la calidad en la fabricación de papel, ingrediente hidratante en la industria cosmética, entre muchos otros.

El quitosano se está volviendo cada vez más atractivo para las industrias debido a sus múltiples beneficios. Ofrece una alternativa sostenible frente a los polímeros sintéticos que tardan mucho en descomponerse y su versatilidad lo hacen muy útil. Estas características, resultan de provecho en muchos de los sectores industriales. Por todas estas razones, las industrias han comenzado a verlo como un recurso clave para un futuro más sostenible.

2.5 Suero lácteo

También conocido como lactosuero, tras la coagulación se genera un líquido en el desarrollo del proceso de la elaboración de quesos. Este líquido puede alcanzar un 90% del volumen invertido en la producción de la cuajada y todavía conserva muchos nutrientes, como lactosa (el azúcar natural de la leche), grasas, proteínas, minerales y vitaminas solubles en agua (Pescuma, 2010). Aunque por mucho tiempo fue considerado un desecho, hoy se valora por su contenido nutritivo y todas las posibilidades de usos que pueden dársele en la industria alimentaria y biotecnológica.

Existen dos tipos principales de suero: el dulce que se forma cuando se usa una enzima llamada renina; el ácido que se obtiene cuando la leche se corta con bacterias o ácidos. Cada tipo tiene características diferentes y puede servir para distintos fines (Smithers, 2008). Además, el suero tiene una carga contaminante muy alta si se desecha sin tratar, ya que contiene mucha materia orgánica. Sin embargo, esa misma composición lo hace útil para

fabricar productos como alimentos fermentados, fertilizantes, bioplásticos o biopolímeros como el quitosano, cuando se usa como medio de cultivo para microorganismos. (Prazeres,2012)

2.5.1 Composición y propiedades

El suero lácteo está compuesto principalmente por agua (alrededor del 93-95%), pero también contiene nutrientes importantes que provienen de la leche. Entre ellos se encuentran la lactosa, que es el azúcar principal (4-5%), proteínas solubles (0.6-0.8%), minerales como calcio, fósforo, sodio y potasio, así como vitaminas del complejo B. (Smithers, 2008)

La beta-lactoglobulina y la alfa-lactoalbúmina son las proteínas del suero, contienen todos los aminoácidos y tienen una alta calidad nutricional. También poseen propiedades funcionales, como la capacidad de formar espumas, geles y emulsiones, lo que las hace valiosas en las industrias de alimento.

Entre los minerales presentes en el suero está el calcio, fósforo, magnesio y potasio, que son importantes en la salud ósea y otras funciones corporales. También se encuentran vitaminas del complejo B y otros compuestos bioactivos. Esta característica puede generar beneficios en la salud; y, también puede tener efectos antimicrobianos y antioxidantes.

Con relación al contenido graso del suero lácteo, distintos autores coinciden en que su cantidad es baja en comparación con la leche entera. Según Lerner (2015), el suero contiene entre 0.1% y 0.5% de grasa, dependiendo del tipo de coagulación durante el proceso y que tanto alcance el grado de separación de la cuajada. Esta fracción lipídica está compuesta principalmente por triglicéridos, fosfolípidos y pequeñas cantidades de colesterol.

La acidez del suero varía según el tipo de coagulante utilizado en su producción. Como explica Torres-Llanez (2006), el suero dulce obtenido por acción enzimática suele presentar un pH entre 6.0 y 6.5. Pero el suero con pH ácido, tiene un rango más bajo, generalmente

entre 4.2 y 4.6. En cuanto al contenido de sólidos solubles medido en grados Brix, Ramírez-Navas (2011) indica que el suero contiene entre 5 y 6 °Brix, debido a la presencia de lactosa, sales y otros compuestos solubles. Estos valores son útiles para controlar procesos fermentativos y de concentración del suero.

2.5.2 Usos

El suero lácteo ha pasado de ser considerado un residuo industrial a tener categoría de materia prima al ser utilizado en múltiples procesos y aplicaciones. Diversos estudios han demostrado que puede utilizarse en la elaboración de alimentos funcionales, como bebidas fermentadas, productos panificados, sopas instantáneas y snacks nutritivos. De acuerdo con Ramírez y Navas (2011), su contenido de proteínas y lactosa permite enriquecer productos alimenticios tanto en valor nutricional como en características sensoriales. Además, como señalan Prazeres (2012), el suero también se ha aprovechado como sustrato en fermentaciones para producir ácido láctico, etanol, biogás y otros compuestos de interés en la industria biotecnológica. Por otro lado, algunas fracciones del suero, como los péptidos bioactivos, tienen propiedades antimicrobianas, antioxidantes e incluso inmunomoduladoras, lo que amplía su potencial uso en alimentos funcionales o suplementos. En aplicaciones no alimentarias, el suero puede emplearse para producir fertilizantes, cosméticos y materiales biodegradables, lo que contribuye a una economía circular.

El suero lácteo puede ser procesado de diversas maneras para aprovechar sus componentes nutritivos y funcionales. Uno de los métodos más comunes es la ultrafiltración que permite concentrar las proteínas del suero y separarlas de la lactosa y los minerales; esta técnica se utiliza para producir concentrados y aislados proteicos con alto valor biológico, ideales para alimentos deportivos o suplementos nutricionales (Smithers, 2008). Además, a través de técnicas de secado por aspersion, el suero se transforma en polvo, lo que facilita su almacenamiento y transporte. Otro proceso frecuente es la lactosa cristalizada, en donde se

da la separación y purificación de la lactosa para su uso como edulcorante. Todas estas formas de procesamiento no solo agregan valor al suero, sino que también ayudan a reducir su impacto ambiental al evitar su descarte como residuo.

2.5.3 Producción nacional

La producción de suero lácteo en Panamá está directamente vinculada al volumen de leche procesada por la industria quesera. En los últimos tiempos, se ha manifestado un desarrollo sostenido en la recepción de leches por partes de las plantas procesadoras. Por ejemplo, en el 2024, se registraron más de 163 millones de litros de leche entregados a la industria, lo que represento un incremento por el orden del 6% al compararlo con las estadísticas del año pasado. (La estrella de Panamá, 2025)

Este incremento sugiere una mayor disponibilidad de suero como subproducto, especialmente, en empresas que elaboran quesos frescos, semiduros y otros derivados. No obstante, este crecimiento se contrasta con una reducción en el número de productores lecheros, que ha bajado de 3,064 en 2019 a 2,743 en 2024, Estadística que podría tener implicaciones en la logística y distribución del suero. (La estrella Panamá, 2025)

En Panamá, el suero lácteo tiene un mercado limitado. Algunas empresas, como Derivados Lácteos Panamá, lo comercializan en supermercados locales y marcas como Designer Whey ofrecen suero de leche en polvo en tiendas como PriceSmart. Sin embargo, muchas pequeñas y medianas empresas (pymes) queseras carecen de la infraestructura necesaria para procesarlo o venderlo, lo que lleva al descarte de grandes volúmenes de suero.

Este descarte tiene consecuencias ambientales significativas. El suero lácteo posee una alta carga orgánica, y su vertido sin tratamiento en cuerpos de agua puede consumir grandes cantidades de oxígeno, afectando la vida acuática. Además, su acumulación puede generar olores desagradables y atraer vectores de enfermedades.

A pesar de lo antes mencionado, algunas industrias han comenzado a valorizar este subproducto. Por ejemplo, iniciativas como la de inversiones CH Panamá han mostrado que el suero en polvo puede utilizarse como ingrediente funcional en alimentos, aprovechando su contenido proteico y bajo costo. (Inversiones CH Panamá, 2024)

2.6 Ácido láctico

Es un compuesto orgánico que pertenece al grupo de los ácidos carboxílicos. Su fórmula química es $C_3H_6O_3$, y su estructura incluye un grupo hidroxilo (-OH) y un grupo carboxilo (-COOH), lo que lo hace un ácido hidroxil-carboxílico. Esta combinación de grupos funcionales le otorga propiedades tanto ácidas como reductoras, haciéndolo útil en diferentes aplicaciones industriales. (Encyclopedia.com)

Este ácido es un producto natural, a partir de azúcares fermentados, sobre todo la glucosa, debido a la acción bacteriana, por parte de las bacterias ácido-lácticas. Tiene un sabor ligeramente agrio y es soluble en agua. Lo encontramos comúnmente en alimentos fermentados como el chucrut, el kéfir y el yogur, también, se produce de manera natural en los músculos humanos durante el ejercicio intenso.

Históricamente, el ácido láctico fue identificado por primera vez en 1780 por el químico sueco Carl Wilhelm Scheele, quien lo aisló a partir de leche agria. Sin embargo, no fue hasta el siglo XIX que se descubrió su origen microbiano. Desde entonces, se ha usado ampliamente en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética, así como en la fabricación de bioplásticos y productos de limpieza.

El ácido láctico está presente de forma natural en el suero lácteo, especialmente cuando este proviene de procesos fermentativos, como en la elaboración de quesos o yogur. Esto se debe a que las bacterias ácido-lácticas, como el *Streptococcus*, y el *Lactobacillus*, transforman la lactosa en ácido láctico durante la fermentación. Esta transformación le da al suero un sabor

ligeramente ácido y también influye en su acidez (pH). Por ejemplo, en sueros fermentados, el pH puede bajar a valores cercanos a 4,5, lo que ayuda a conservar el producto por más tiempo y puede facilitar ciertos procesos, como la extracción de proteínas o compuestos bioactivos.

El ácido láctico en el suero no solo es importante por su efecto en el sabor y conservación, sino que también puede ser aprovechado en procesos industriales.

Imagen 4 Estructura química del ácido láctico.

Fuente: Fishersci.es (s/f).

2.6.1 *Propiedades y aplicaciones*

El ácido láctico ofrece varias ventajas gracias a sus propiedades químicas. Por tener tanto un grupo hidroxilo (-OH) como un grupo carboxilo (-COOH), puede participar en muchas reacciones útiles, como la formación de enlaces con otras moléculas, lo que lo hace versátil en procesos industriales. Es un líquido incoloro, soluble en agua y con sabor ácido. Tiene un pH bajo, lo que significa que puede ayudar a conservar alimentos al evitar el crecimiento de bacterias dañinas. Además, es biodegradable y no tóxico, lo que lo hace amigable con el medio ambiente.

Una propiedad importante es que puede actuar como conservante natural, ya que baja el pH de los alimentos y frena el desarrollo de microorganismos. También puede mejorar la textura y el sabor de productos como yogures, quesos o embutidos (Jay, 2020). En cosmetología, el ácido láctico se usa para exfoliar la piel de manera suave y mantener su hidratación. (García & López, 2019)

En la industria, tiene muchas aplicaciones. Se usa en la producción de alimentos fermentados, en la fabricación de plásticos biodegradables como el PLA (ácido poliláctico), y también en productos de limpieza. Además, se puede obtener de forma natural a partir de la fermentación de residuos agroindustriales como el suero de leche, siendo una alternativa para reducir desechos.

2.6.2 Producción de ácido láctico por fermentación

Ciertas bacterias convierten, sin necesidad de oxígeno, azúcares como la glucosa o la lactosa en ácido láctico, a través de un proceso natural que se conoce como la fermentación láctica. Este tipo de fermentación es realizado por bacterias que comúnmente se encuentran en el queso y yogur, que son alimentos fermentados.

Este método es que permite obtener ácido láctico que es uno de los principales beneficios, pues resulta económico y respetuoso con el ambiente. A diferencia de la síntesis química, no requiere altas temperaturas ni productos tóxicos. Además, puede utilizarse materia prima de bajo costo, como el suero lácteo, que muchas veces es descartado por la industria alimentaria. El proceso consiste en preparar un medio nutritivo, añadir bacterias ácido-lácticas y dejar fermentar por uno o dos días. Durante este tiempo, las bacterias consumen los azúcares y liberan ácido láctico, lo que también disminuye el pH del medio.

Actualmente, este proceso se aplica en distintas industrias por ser un método natural, económico y amigable con el ambiente. Una de las áreas donde más se utiliza es la industria

alimentaria, ya que este ácido actúa como conservante, regulador de acidez y potenciador del sabor en productos como yogures, quesos, encurtidos, embutidos curados y bebidas fermentadas.

En el ámbito de la investigación y la sostenibilidad, muchos proyectos actuales aprovechan residuos agroindustriales como el suero lácteo, cáscaras de frutas o aguas mieles como materia prima para producir ácido láctico por fermentación. Esto no solo permite obtener un producto útil, sino que también reduce la contaminación, apoyando el concepto de economía circular.

2.7 Métodos de obtención del quitosano

La obtención de quitosano ha sido ampliamente estudiada debido a su importancia en diversas aplicaciones industriales, médicas y ambientales. Como se ha mencionado antes, el quitosano se extrae principalmente de la quitina, un polímero natural presente en las cáscaras de crustáceos como camarones y cangrejos. Este proceso es esencial, ya que permite transformar un residuo marino en un producto de alto valor agregado.

Tradicionalmente, como explica Synowiecki y Al-Khateeb (2003), la producción de quitosano se realiza mediante métodos químicos que incluyen etapas de desproteínización, desmineralización y desacetilación, utilizando soluciones fuertes de hidróxidos y ácidos. Sin embargo, en los últimos años se ha buscado optimizar y hacer más sostenibles estos métodos, debido a preocupaciones ambientales y de seguridad. Métodos biológicos como la fermentación microbiana o los métodos enzimáticos han surgido como alternativas prometedoras, reduciendo el uso de reactivos químicos y mejorando la eficiencia del proceso. Estos métodos, aunque más costosos y lentos en comparación con los métodos químicos, son una opción más sostenible y segura para la producción de este biopolímero.

La elección del método de obtención influye directamente en las propiedades del quitosano, como su grado de desacetilación, pureza y peso molecular, aspectos que determinan su aplicabilidad. Por esta razón es fundamental comprender los diferentes procedimientos disponibles para saber cómo afectan al producto final.

2.7.1 Método químico

Es el procedimiento más utilizado para la obtención de la quitina y el quitosano. Este proceso consiste principalmente en tres etapas: desproteínización, desmineralización y desacetilación. En la desproteínización se eliminan las proteínas presentes en las cáscaras mediante el uso de soluciones alcalinas, como el hidróxido de sodio. Posteriormente, se realiza la desmineralización, donde se eliminan los minerales, especialmente el carbonato de calcio, usando ácidos como el ácido clorhídrico. Finalmente, la desacetilación transforma la quitina en quitosano, mediante un tratamiento con soluciones concentradas de hidróxido de sodio, sometido con altas temperaturas, este método reduce así el contenido de grupos acetilo. Aunque este método es efectivo y permite obtener grandes cantidades de quitosano, también presenta desventajas como el uso intensivo de reactivos químicos, el consumo de energía, sumado a los residuos generados que pueden impactar negativamente al medio ambiente. (Aranaz et al., 2009)

2.7.2 Método enzimático

Este método comenzó a desarrollarse cuando los científicos empezaron a estudiar como las enzimas, que son proteínas producidas por los seres vivos, pueden ayudar a descomponer sustancias de manera eficiente. En 1970, durante esta década, los investigadores descubrieron que ciertos microorganismos como bacterias y hongos producen

quitinasas, que son enzimas capaces de romper la quitina, el principal componente de las cáscaras de los crustáceos. Según Guzmán y Barrera (2009), este hallazgo fue clave porque mostró que, en lugar de usar productos químicos fuertes, se podía usar una enzima para hacer el proceso más ecológico y menos agresivo.

El método enzimático en términos ecológicos resulta ser menos agresiva que el proceso químico. Este método se basa en el uso de enzimas específicas para eliminar las proteínas y otros componentes no deseados de las cáscaras de los crustáceos. Las enzimas proteolíticas, como la quimotripsina y la tripsina, se utilizan para descomponer las proteínas, mientras que otras enzimas, como las quitinasas, pueden ayudar a degradar parcialmente la quitina para facilitar la conversión a quitosano. La principal ventaja de este enfoque es que reduce o elimina el uso de reactivos químicos agresivos, lo que lo convierte en un proceso más sostenible y respetuoso con el medio ambiente. Sin embargo, la principal limitación de este método es el costo elevado de las enzimas y la necesidad de controlar, cuidadosamente, las condiciones de reacción, como pH y temperatura, para evitar la inactivación enzimática.

2.7.3 Método biológico

Utiliza hongos y bacterias para descomponer la quitina de las cáscaras de crustáceos y convertirla en quitosano. Este proceso se basa en la fermentación, un tipo de reacción biológica en la que los microorganismos descomponen materiales orgánicos para obtener energía. En este caso, los microorganismos actúan sobre la quitina y la transforman en quitosano, a través de su acción sobre los enlaces químicos de la quitina.

Las bacterias lácticas son las de uso más común en este proceso. El ácido láctico, ácido orgánico, es producida por estos microorganismos. Este ácido orgánico ayudan a romper los enlaces de la quitina, facilitando su conversión en quitosano. Además, algunos hongos, como

el *Trichoderma harzianum* y *Aspergillus niger*, también producen quitinasas, que son enzimas capaces de descomponer la quitina de forma más específica y eficiente.

Una de las principales ventajas del método biológico es que es más ecológico y sostenible. Al utilizar microorganismos naturales, el proceso no requiere el uso de productos químicos agresivos, lo que hace que sea menos contaminante para el medio ambiente. Además, las condiciones de reacción son más suaves, ya que no se necesitan altas temperaturas o sustancias corrosivas. Sin embargo, este proceso es más lento en comparación con los métodos químicos, y todavía se están buscando formas de mejorar su eficiencia para hacerlo viable a gran escala.

2.8 Producción mundial de quitosano

La producción mundial de quitosano ha crecido mucho, en los últimos años, debido a las propiedades únicas de este material. Según un informe de Grand View Research (2023), El mercado mundial de quitosano estaba valorado en más de 10 mil millones de dólares y se espera que siga creciendo rápidamente, alcanzando alrededor de 47 mil millones de dólares para 2030. La mayor parte de la producción de quitosano se concentra en Asia, especialmente en China, India y Japón, que son los principales países.

La producción de quitosano en América está creciendo, pero no es tan grande como en Asia. En América del Norte, especialmente en Estados Unidos y Canadá, se utilizan cáscaras de camarón y otros restos de mariscos para producir quitosano, que se usa en varias industrias, como la farmacéutica, cosmética y alimentaria.

En América Latina la producción es pequeña, pero algunos países están comenzando a explorar más su potencial, especialmente porque tienen muchas cáscaras de mariscos disponibles como subproductos de la industria pesquera. Algunos estudios en países, como

Colombia, han demostrado que es posible extraer quitosano de manera efectiva a partir de estos residuos.

2.9 Producción nacional de quitosano

En Panamá, el quitosano no se produce de manera industrializada; en cambio se importa para satisfacer la demanda local. Según datos de importación, el precio promedio del quitosano importado puede llegar a costar \$13.40 por kilogramo. Este biopolímero se utiliza en diversas industrias nacionales. La importación deja en evidencia la necesidad de abastecer el mercado panameño con este material, ya que la producción local es escasa o nula.

La extracción de quitosano se está explorando, principalmente, en entornos académicos y de investigación. Por ejemplo, en universidades como la Universidad Tecnológica de Panamá (UTP) y la Universidad de Panamá (UP), se han llevado a cabo proyectos enfocados en la utilización de subproductos marinos, como las cáscaras de camarón, para la obtención de este biopolímero. Las extracciones se han realizado principalmente mediante métodos químicos tradicionales, utilizando soluciones ácidas y alcalinas para convertir la quitina en quitosano. Sin embargo, los métodos alternativos, como los procesos biológicos o enzimáticos que podrían ser más sostenibles y ecológicos, aún no han sido ampliamente explorados. La investigación en este campo está en desarrollo; y, existe un gran potencial para investigar métodos menos agresivos con el medio ambiente, pero estos enfoques aún permanecen inexplorados en la mayoría de los estudios en Panamá.

2.10 Variables de estudio

Las variables de estudio son los elementos que se van a observar, medir o controlar en una investigación. Son importantes porque ayudan a entender mejor el problema que se está estudiando y permiten organizar el experimento de forma clara.

En una investigación, normalmente se trabaja con diferentes tipos de variables: las independientes, que son las que el investigador modifica; las dependientes, que son los resultados que se observan o miden; y las variables de control deben tener las siguientes características:

- 1- Mantenerse constantes, y
- 2- No afecten los resultados.

En esta parte del trabajo, estas variables se utilizaron en el estudio, explicando por qué fueron importantes para lograr los objetivos de esta investigación.

2.10.1 Variable independiente

En este estudio, la variable independiente corresponde al tratamiento que se aplica a las muestras y que se espera que cause cambios en otras variables.

Proceso de fermentación: se refiere a la fermentación láctica de las cáscaras de camarón utilizando cultivos provenientes de yogur. Este proceso es fundamental porque, a través de la fermentación, se busca reducir la proteína y minerales de las cáscaras, favoreciendo la obtención de quitosano de manera más ecológica.

Naturaleza de la materia prima: es un factor determinante en el proceso de fermentación, ya que influyen en la actividad microbiana, en la descomposición de componentes no deseados y en la calidad del biopolímero obtenido.

2.10.2 Variables dependientes

Las variables dependientes son aquellas que se miden para evaluar los cambios provocados por la fermentación. Son importantes porque reflejan la evolución del proceso y permiten valorar la calidad del producto obtenido.

pH: se mide para seguir la acidificación del medio durante la fermentación. Un descenso del pH indica el crecimiento de bacterias lácticas y la producción de ácidos orgánicos, necesarios para descomponer las proteínas de las cáscaras.

Porcentaje de ácido láctico: representa la cantidad de ácido láctico generado por la actividad bacteriana. Su medición es clave para confirmar que la fermentación está ocurriendo correctamente y evaluar la eficiencia del proceso.

Grados Brix: indican la concentración de sólidos solubles (principalmente azúcares y productos de fermentación) en el medio. Esta variable ayuda a comprender la actividad microbiana y los cambios en el contenido de nutrientes disponibles.

Contenido de cenizas: se refiere a la cantidad de minerales residuales en la muestra. Es importante analizarlo porque un contenido adecuado de cenizas puede señalar una eliminación efectiva de sales minerales, favoreciendo el proceso de desmineralización.

Presencia de grupos funcionales: se evalúa mediante espectroscopía infrarroja (ATR) para identificar las características químicas del material obtenido. La presencia de ciertos grupos funcionales confirma la formación de quitosano y permite comparar la calidad del biopolímero obtenido.

2.10.3 Variables de control

Las variables de control son las condiciones que se mantienen constantes durante el experimento para asegurar que los resultados observados se deban, únicamente, a la fermentación y no a otros factores externos.

Temperatura: durante el proceso de fermentación, se mantiene una temperatura controlada para favorecer el crecimiento de los cultivos lácticos y garantizar la producción de ácido láctico. El control de la temperatura es esencial para evitar variaciones que puedan alterar el comportamiento microbiano y los resultados finales.

Tiempo: se establece un periodo fijo de fermentación de 14 días durante el cual se monitorean los cambios fisicoquímicos del medio de forma diaria.

CAPITULO III
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Tipo de investigación

3.1.1 Investigación experimental

En este tipo de investigación se manipula una o más variables para determinar su efecto en una variable dependiente (Muguira, 2015). La presente investigación es de tipo experimental porque implica la manipulación controlada de variables para observar y analizar sus efectos sobre el proceso de extracción del quitosano.

3.1.2 Investigación aplicada

En este tipo de investigación se aplican los resultados para mejorar la calidad de vida de las personas, impulsar el desarrollo económico y social, y solucionar problemas específicos de la sociedad (Ortega, 2022). Utilizamos este tipo de investigación porque buscamos mejorar un método ecológico para la extracción de quitosano con posibles beneficios industriales, ambientales y tecnológicos.

3.1.3 Investigación descriptiva

Este tipo de investigación se enfoca en observar, registrar y describir de manera detallada las características de un fenómeno o situación. La presente investigación es de tipo descriptivo, ya que busca caracterizar el proceso de fermentación láctica aplicado a cascaras de camarón, así como describir los cambios fisicoquímicos ocurridos durante el mismo.

3.2 Enfoque de la investigación

3.2.1 Enfoque cuantitativo

En el método cuantitativo se aplican técnicas específicas que permiten obtener resultados expresados en números. Utilizamos este enfoque porque nos basamos en la recolección y análisis de datos numéricos (pH, Brix, % de ácido láctico, rendimiento, etc.), el tratamiento de los datos fue de tipo descriptivo, ya que se organizaron en tablas y se

representaron gráficamente para observar tendencias a lo largo del tiempo, sin aplicar pruebas estadísticas inferenciales.

3.3 Diseño de la investigación

El diseño de la presente investigación fue experimental, porque se manipularon variables de forma deliberada como el tiempo de la fermentación y el tipo de cultivo láctico. También se observaron los efectos de esos cambios en los resultados y se controlaron condiciones como las proporciones y el tiempo.

Este diseño experimental fue el más adecuado, porque nos permitió evaluar el desarrollo del proceso de manera controlada, enfatizando en la comparación visual y descriptiva del comportamiento de los medios replicados, esto nos permitió observar los diferentes factores que influyeron en el rendimiento y la calidad del quitosano obtenido.

3.4 Material de estudio

El material de estudio utilizado en esta investigación fueron las cáscaras de camarón, las cuales representaron una fuente rica y abundante en quitina, el polisacárido base para la obtención de quitosano. Este subproducto fue seleccionado por su disponibilidad, bajo costo y potencial de valorización. Las cáscaras fueron fermentadas con el objetivo de evaluar la eficiencia de la extracción de quitosano.

3.5 Equipos y materiales utilizados

3.5.1 Materiales

- Cáscaras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) frescas.
- Suero de leche.
- Yogurt comercial natural (como cultivo lácteo).
- Agua destilada,

- Hidróxido de sodio (NaOH).
- Azúcar morena comercial (como fuente de sustrato)
- Agua potable
- Papel toalla
- Gasas esterilizadas
- Tape
- Materiales de laboratorio

3.5.2 Equipos

- Mufla de laboratorio
- Horno de laboratorio
- Autoclave
- Balanza analítica
- Ph-metro
- Refractómetro
- Cristalería de laboratorio

3.6 Ubicación, espacio y tiempo

El proyecto se desarrolló en la universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), ubicada en David, provincia de Chiriquí, Panamá. Las actividades experimentales se llevaron a cabo en distintos laboratorios de la institución. El proceso de fermentación y parte de los análisis se desarrollaron en los laboratorios de la Escuela de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, mientras que el secado de las muestras se realizó en los laboratorios de Bioquímica de la Escuela de Química. Para los análisis de caracterización, se utilizó el equipo disponible en el Centro de Investigación en Bioquímica y Química Aplicada (CIBQUIA), ubicado en el Parque Científico de la UNACHI.

3.7 Obtención de la materia prima

La materia prima utilizada en este estudio consistió en cáscaras de camarón (*Litopenaeus vannamei*), las cuales fueron recolectadas en el restaurante Mar Caribe, ubicada en el corregimiento de Pedregal. Las cáscaras se obtuvieron como subproducto del proceso de pelado de camarones.

El suero lácteo fue adquirido en la fábrica El Che, una empresa dedicada a la elaboración de quesos, localizada en el área de las Lomas, David, Chiriquí, Panamá. Este subproducto es generado diariamente durante el proceso de coagulación de la leche y generalmente, es descartado o vendido a muy bajo costo.

3.8 Definiciones técnicas de los procesos

- **Desproteínización:** proceso para eliminar las proteínas de las cáscaras.
- **Desmineralización:** proceso para eliminar los minerales de las cáscaras.
- **Secado:** proceso para eliminar la humedad de las cáscaras.
- **Acondicionamiento:** preparación inicial (limpieza, triturado, pesado) de los materiales antes del experimento.
- **Caracterización:** conjunto de pruebas para conocer las propiedades del producto.
- **Inóculo:** cantidad de bacterias que se añade para fermentar.
- **Filtración:** separar el líquido del sólido.
- **Agitación:** mezclar para mejorar el contacto entre componentes.
- **Precipitación:** formación de sólidos a partir de un líquido.
- **Suero lácteo:** líquido que sobra al hacer queso.

3.9 Procedimiento para el acondicionamiento de las materias primas

3.9.1 Acondicionamiento de las cáscaras de camarón

- Lavar las cáscaras con abundante agua potable.
- Retirar los restos de carne adheridos a las cáscaras.
- Preparar una disolución de cloro 100 ppm.
- Remojar las cáscaras por 10 minutos.
- Lavar las cáscaras con abundante agua potable.
- Escurrir en bandejas con papel toalla.
- Pesar y almacenar en el congelador hasta su posterior uso.

Para realizar los cálculos de la solución de cloro 100 ppm, se utilizó la siguiente fórmula de dilución: $c_1v_1 = c_2v_2$.

Imagen 5 Acondicionamiento de las cáscaras de camarón.

Fuente: Pitti (2025).

3.9.2 Acondicionamiento del suero lácteo

- Filtrar el suero para eliminar sólidos de grasa.
- Pasteurizar el suero en una olla por 30 minutos a 63° Celsius.
- Esterilizar los recipientes para almacenar el suero pasteurizado (hervir por 30 minutos).
- Envasar en caliente y sellar herméticamente.
- Dejar enfriar y luego almacenar en el refrigerador hasta su uso.

Imagen 6 Acondicionamiento del suero.

Fuente: Pitti (2025).

3.10 Diagramas de flujo de los procesos

Flujograma 1 *Procesos para el acondicionamiento de las cáscaras de camarón.*

Fuente: Pitti (2025).

Flujograma 2 *Procesos para el acondicionamiento del suero lácteo.*

Fuente: Pitti (2025).

3.11 Ensayos preliminares para la estandarización del medio de fermentación

3.11.1 *Objetivos de los ensayos preliminares*

Determinar las condiciones óptimas del medio de fermentación para la extracción eficiente de quitosano, mediante la evaluación de cambios en Ph, °Brix y temperatura durante un periodo de 2 días.

3.11.2 Variables monitoreadas

Durante los ensayos preliminares, se monitorearon las siguientes variables en intervalos de 24 horas.

- El pH del medio.
- Grados Brix para estimar la concentración de azúcares.
- Temperatura del medio de fermentación.

3.11.3 *Diseño del ensayo*

Se realizaron dos ensayos independientes, cada uno utilizando dos medios fermentativos iguales con el objetivo de asegurar tanto la reproducibilidad como la confiabilidad de los resultados. Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente y protegidas de la luz directa. Se utilizó suero lácteo inoculado con bacterias del género *Lactobacillus* provenientes de yogurt natural comercial y azúcar como fuente de carbono adicional. Entre las especies presentes se incluyen *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

En el primer ensayo preliminar se utilizaron concentraciones empíricas, definidas a partir de pruebas exploratorias y observaciones previas. Se utilizaron 250 ml de suero pasteurizado, 45 g de yogurt y 160 g de azúcar. Con estas cantidades se alcanzó un Brix inicial de 20 para

el medio 1 y un Brix de 20.1 para el medio 2, al igual que un Ph inicial de 6.5 para el medio 1 y un Ph de 6.5 para el medio 2.

En el segundo ensayo preliminar se utilizaron concentraciones basadas en lo reportado por Colina Rincón (2017), quienes emplearon un 10% m/v de la fuente de carbono y 5 g de inóculo por cada 100 g de muestra, obteniendo buenos resultados en la desmineralización. Se agregaron a los medios 250 ml de suero pasteurizado, 12.5 g de yogurt y 25 g de azúcar. Con estas cantidades se alcanzó un Brix inicial de 15.1 para el medio 1 y un Brix de 14.1 para el medio 2, al igual que un Ph inicial de 6.2 para el medio 1 y un Ph de 5.3 para el medio 2.

Las cantidades de azúcar e inóculo utilizadas en cada ensayo fueron calculadas aplicando la regla de tres simple, a partir de las concentraciones deseadas. Este método permitió ajustar proporcionalmente los componentes del medio fermentativo final.

Imagen 7 *Medios fermentativos preliminares.*

Fuente: Pitti (2025).

3.12 Procedimiento experimental

3.12.1 Preparación de las muestras de fermentación

Para la preparación de las muestras de fermentación, se esterilizó toda la cristalería y el material que estaría en contacto con la materia prima utilizando una autoclave a 15 PSI durante 15 minutos. Luego de la esterilización, se dejaron enfriar los matraces Erlenmeyer para evitar afectar la viabilidad de las bacterias lácticas al momento de agregarlas.

En cada Erlenmeyer se depositaron 250 ml de suero previamente pasteurizado, 50 g de cáscaras de camarón, 25 g de azúcar, 12.5 g de yogurt natural. Para determinar las cantidades necesarias de yogurt y azúcar, se realizaron cálculos basados en la proporción deseada en relación con el volumen total del medio, se utilizó la regla de tres simple.

Se prepararon tres medios identificados como Medio 1, Medio 2 y Medio 3. El Medio 3 fue reservado exclusivamente para la evaluación del rendimiento final, por lo que no fue sometido a análisis intermedios.

Se realizaron mediciones iniciales de °Brix, % de acidez titulable, Ph y temperatura. Adicionalmente, se realizó un análisis de cenizas a las cáscaras de camarón para saber el contenido inicial de minerales presentes en ellas.

Finalmente, los Erlenmeyer se taparon con gasas estériles para prevenir la contaminación externa y se agitaron suavemente para favorecer la homogenización. Las muestras fueron colocadas en un lugar con poca exposición a la luz solar para permitir el proceso de fermentación.

Imagen 8 *Muestras de camarón sin fermentar*

Fuente: Pitti (2025).

Imagen 9 *Primer análisis de cenizas*

Fuente: Pitti (2025).

Imagen 10 *Medios de fermentación al inicio del proceso*

Fuente: Pitti (2025).

3.12.2 *Monitoreo durante la fermentación*

La fermentación se llevó a cabo durante un periodo de dos semanas a temperatura ambiente. Durante este periodo, se realizaron mediciones diarias en los matraces 1 y 2 de las siguientes variables:

- ✓ pH: utilizando un pH calibrado.
- ✓ brix: mediante un refractómetro manual
- ✓ Porcentaje de ácido láctico: determinado por titulación acido-base.
- ✓ Temperatura: registrada con un termómetro de laboratorio.

Así mismo, se realizaron análisis de cenizas al inicio de la fermentación (día 0) para determinar el contenido inicial de minerales en las cascara de camarón; y, posteriormente, al finalizar cada semana.

Imagen 11 *Medios de fermentación al final del proceso*

Fuente: Pitti (2025).

3.12.3 *Finalización de la fermentación y obtención del sólido*

Al concluir las 2 semanas de fermentación, el contenido de los Erlenmeyer fue filtrado para separar el sólido del medio líquido. El material sólido recuperado fue lavado con abundante agua potable para eliminar residuos de suero y metabolitos de fermentación. Posteriormente el producto fue secado en horno de laboratorio a 24°C por 24 horas. Transcurrido el tiempo de secado, se procedió a moler la muestra en un molino de café para luego pasarla por un tamiz y almacenarla hasta su posterior análisis.

Imagen 12 *sólido residual post-fermentación*

Fuente: Pitti (2025).

3.12.4 Caracterización del producto final

El material seco obtenido fue sometido a análisis por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) utilizando un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR), con el objetivo de identificar los grupos funcionales presentes en la muestra obtenida. Adicionalmente, se realizaron análisis de cenizas para determinar la eficiencia del proceso de desmineralización y se determinó el porcentaje de rendimiento con base en el peso inicial de las cáscaras de camarón utilizadas en el matraz 3.

Imagen 13 comparación de muestras en polvo: antes (izquierda) y después (derecha) de la fermentación

Fuente: Pitti (2025).

13.13 Diagrama de flujo del proceso experimental

Flujograma 3 Proceso experimental

Fuente: Pitti (2025).

3.14 Análisis de cenizas aplicado

3.14.1 *Fundamento*

Este análisis se basa en la calcinación de una muestra orgánica a altas temperaturas, entre 500 °C y 600 °C, en un horno mufla, para eliminar toda la materia orgánica por combustión. Al residuo obtenido se le llama cenizas. Generalmente está formado por residuos inorgánicos como calcio, magnesio, entre otros.

Este análisis permite cuantificar el contenido mineral que tiene la muestra. En el caso del presente estudio, permite verificar si el proceso de desmineralización con bacterias lácticas es eficaz. También permite determinar la pureza de la muestra obtenida.

3.14.2 *Materiales*

- Horno mufla
- Crisoles de porcelana
- Pinzas metálicas
- Desecador
- Espátula
- Balanza analítica
- Muestra seca

3.14.3 Procedimiento

- Pesar 5 g de muestra seca en una capsula de porcelana desecada.
- Llevar al horno mufla a una temperatura de 550 °C a 570 °C
- Pasada una hora retirar y colocar en el desecador para que se enfríe
- Pesar en la balanza analítica

3.14.4 Cálculos y formulas

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{(P-p)}{M} \times 100$$

M

En donde:

P= Masa del crisol con las cenizas en gramos

p= Masa del crisol vacío en gramos

M= Masa de la muestra entera en gramos

3.15 Análisis de Brix aplicado

3.15.1 Fundamento

Este análisis se usa para medir el contenido total de sólidos solubles en una solución. Estos solidos pueden ser azúcares, sales minerales, ácidos orgánicos, vitaminas solubles, aminoácidos y compuestos solubles.

El resultado se expresa en grados Brix y cada grado equivale a 1 gramo de sólido por cada 100 gramos de solución. Este análisis se realiza con un refractómetro que mide como se desvía la luz al pasar por el líquido. En el caso del presente estudio, sirve para indicar la cantidad de azúcar consumida durante la fermentación.

3.15.2 *Materiales*

- Refractómetro
- Gotero
- Agua destilada
- Papel toalla
- Vasos químicos
- Solución por analizar

3.15.3 *Procedimiento*

- Limpiar la superficie del refractómetro.
- Calibrar el refractómetro colocándole una gota de agua destilada en el lente y ajustar la escala hasta que marque 0 ° Brix.
- Limpiar con papel
- Colocar 1 -2 gotas de la muestra sobre el lente.
- Cerrar la tapa para distribuir el líquido
- Observar a través del visor
- Anotar el valor
- Limpiar el lente con agua destilada y secar.

3.16 Determinación del % de ácido láctico por titulación

3.16.1 *Fundamento*

El ácido láctico es un ácido que al añadirle una base como el hidróxido de sodio (NaOH), reacciona con ella, esta reacción se llama neutralización. Para saber cuándo sea neutralizado se usa un indicador que cambia de color cuando se alcanza el punto de equivalencia. Con la cantidad de base usada, se puede calcular cuánto ácido láctico había en la muestra.

Conocer la cantidad de ácido láctico formado en los medios es fundamental porque está directamente relacionada con la eficacia del proceso de desproteización y desmineralización.

3.16.2 *Materiales*

- Bureta (50 ml)
- Soporte universal
- Pinza para bureta
- Pipeta (10 ml)
- Vasos químicos (100 ml)
- Solución de NaOH 0.1 M
- Indicador fenolftaleína
- Agua destilada
- Gotero
- Papel toalla

3.16.3 Procedimiento

- Lavar bien todo el material de vidrio con agua destilada.
- Llenar la bureta con la solución de NaOH 0.1 M
- Usar la pipeta para tomar un volumen conocido de la solución y colocarlo en el Erlenmeyer.
- Añadir 2-3 gotas de fenolftaleína al Erlenmeyer.
- Titular con NaOH gota a gota hasta que la solución cambie de color tenue que permanezca al menos 30 segundos.
- Anotar el volumen consumido.

3.16.4 Cálculos y formulas

$$\% \text{ de ácido láctico} = \frac{N_b \times V_b \times P \times 100}{W}$$

W

Donde:

Nb= Normalidad del NaOH 0.1 M

Vb= Volumen gastado de NaOH

P= Peso equivalente del ácido láctico

W= Peso de la muestra

3.17 Análisis de pH

3.17.1 *Fundamento*

Este análisis se fundamenta en que el pH está relacionado con la concentración de iones de hidrógeno presentes en una solución. Es un procedimiento que se utiliza para saber si una sustancia es ácida (menor a 7), básica (mayor a 7) o neutra (igual a 7) dependiendo de su medición en la escala numérica (0-7). Para medirlo se puede utilizar papel indicador, que cambia de color según el pH, soluciones indicadoras, como fenolftaleína, o instrumentos electrónicos como pH-metro digital.

El pH juega un papel importante en este estudio debido a que las bacterias lácticas producen ácido láctico y reducen el pH. Este descenso es importante porque favorece el proceso de desmineralización. Es por esto que se debe monitorear para comprobar la eficiencia de la fermentación.

3.17.2 *Materiales*

- pH-metro digital
- soluciones buffer para calibración (pH 4.0, 7.0 y 10.0)
- vasos químicos
- agua destilada
- papel toalla

3.17.3 *Procedimiento*

- *Calibrar el pH-metro* usando las soluciones buffer.
- Tomar una alícuota de 10 ml y colocar en un vaso químico.
- Introducir el electrodo del pH-metro en la muestra.
- Esperar unos segundos hasta que la lectura se estabilice.

- Anotar el valor que aparece en pantalla.
- Después de cada medición, enjuagar el electrodo con agua destilada y secar con papel.

3.18 Determinación de la temperatura

3.18.1 *Fundamento*

Se basa en la medición precisa del calor presente en una sustancia o sistema. En el presente estudio, determinar la temperatura es fundamental, ya que afecta directamente la actividad de las bacterias, la producción de ácido láctico, y por lo tanto la eficiencia de la extracción.

3.18.2 *Materiales*

- Termómetro digital
- vaso químico
- Papel toalla
- Soluciona medir

3.18.3 *Procedimiento*

- Encender el termómetro digital.
- Verificar que este en modo adecuado (°C o °F).
- Introducir el termómetro en la solución a medir.

- Esperar a que la lectura se estabilice.
- Leer y registrar la temperatura.
- Limpiar el termómetro con agua destilada y secar.

3.19 Análisis de Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

3.19.1 *Fundamento*

El análisis FTIR se basa en identificar los grupos funcionales presentes en una muestra. Funciona enviando luz infrarroja a la muestra y esa luz es absorbida en diferentes cantidades, según los enlaces químicos que tenga. Cada tipo de enlace vibra a una frecuencia específica, por lo que el FTIR genera un espectro para cada sustancia analizada.

Por este motivo es importante en este estudio, porque ayuda a confirmar si el proceso fue exitoso. Al verificar la presencia de los grupos funcionales característicos (como los grupos aminos y grupos hidroxilo), y también comprobar que se ha eliminado la mayor parte de la quitina original.

3.19.2 *Materiales*

- Muestra seca y en polvo
- Espectrofotómetro IRTracer-100
- Accesorio ATR
- Software LabSolutions IR (Para analizar y visualizar el espectro)
- Papel suave para limpiar el cristal

3.19.3 Procedimiento

- Encender el equipo y abrir el software.
- Limpiar el cristal con el paño suave.
- Limpiar el cristal ATR con un paño limpio y suave.
- Colocar una pequeña cantidad de la muestra en polvo sobre el cristal.
- Usar la tapa de precisión para asegurar un buen contacto.
- Seleccionar el rango de escaneo típico (4000 a 400 cm^{-1}).
- Iniciar la medición y esperar a que se genere el espectro.
- Usar el software para identificar los picos principales.
- Limpiar nuevamente el cristal ATR después del análisis.

3.19.4 Grado de desacetilación

El grado de desacetilación (GD) es una medida que indica el porcentaje de grupos acetilo ($-\text{COCH}_3$) eliminados de la quitina para formar quitosano. Cuando mayor sea el GD, más puro y funcional es el quitosano, especialmente para aplicaciones alimentarias. Para obtener los datos requeridos, se utiliza comúnmente la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), porque permite identificar los grupos funcionales.

Se deben comparar las señales de la absorbancia alrededor de 1655 cm^{-1} , que corresponden al grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) de las amidas, y la absorbancia alrededor de 3450 cm^{-1} que representa grupos hidroxilo ($-\text{OH}$), los cuales son constantes.

3.19.5 Cálculo y formulas

$$GD (\%) = 100 - (A_{1655} / A_{3450} \times K)$$

Donde:

A₁₆₅₅ = absorbancia en 1655 cm⁻¹

A₃₄₅₀ = absorbancia en 3450 cm⁻¹

K= 115 constante empírica según Brugnerotto (2001)

3.19.6 Interpretación

- Un GD > 70% se considera un quitosano puro y adecuado para aplicaciones alimentarias.
- Un GD entre 50% -70% se considera un quitosano con una pureza media, adecuado para el uso en agricultura.
- Un GD < 50% se debe purificar.

3.20 Método complementario: desacetilación química

3.20.1 Fundamento

La desacetilación química es una reacción que convierte la quitina en quitosano, eliminando ciertos grupos llamados grupos acetilo (-COCH₃) que están unidos a su estructura. Para lograrlo se utiliza una sustancia muy alcalina como el hidróxido de sodio (NaOH) el cual se calienta normalmente entre 80 y 100 grados.

Durante esta reacción se rompen los enlaces acetilo unidos a la quitina. Esto provoca que se formen grupos aminos libres (-NH₂) brindándole flexibilidad y solubilidad en medio ácido al quitosano.

3.20.2 *Materiales*

- Quitina seca
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 40% - 50%
- Agua destilada
- Vaso de precipitado (500 ml)
- Matraz Erlenmeyer
- Varilla de agitación
- Termómetro
- Filtro y papel filtro
- Embudo
- Guantes, gafas y bata de laboratorio
- Recipiente para residuos alcalinos

3.20.3 *Procedimiento*

- Disolver NaOH en agua destilada hasta obtener una solución al 40%-50%.
- Pesar entre 3 – 5 g de quitina seca.
- Añadirla al matraz.
- Verter en el matraz la solución de NaOH hasta cubrir bien la quitina.
- Colocar el matraz sobre la placa calefactora a 90 – 100 °C.
- Mantener la temperatura constante durante 1 a 3 horas, con agitación constante.
- Pasado el tiempo, se debe dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Filtrar el sólido usando embudo y papel

- Lavar el sólido varias veces con agua destilada caliente, hasta que el pH del filtrado sea cercano a 7
- Secar el sólido a 40°C por 24 horas hasta tener un polvo seco.

3.21 *Análisis estadístico*

El análisis de los datos obtenidos durante la fermentación láctica fue de tipo descriptivo. Las variables monitoreadas diariamente (pH, Brix, porcentaje de ácido láctico y temperatura) se organizaron en tablas y se representaron gráficamente para observar sus tendencias a lo largo del tiempo. Adicionalmente, se realizaron análisis gravimétricos del contenido de cenizas en distintos puntos del proceso (inicio, mitad y final), los cuales se interpretaron también de forma descriptiva para evaluar la reducción de compuestos inorgánicos durante la fermentación. No se aplicaron pruebas estadísticas inferenciales ni se calcularon medidas de dispersión como promedios o desviaciones estándar, dado que el enfoque del estudio fue observar comportamientos generales entre medios replicados. Finalmente, se llevó a cabo un análisis estructural mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) sobre los productos obtenidos, con fines cualitativos.

CAPITULO IV

ANALISIS Y RESULTADOS

4.1 Ensayos preliminares para la estandarización del medio de fermentación

4.1.1 Resultados del monitoreo

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en los ensayos preliminares.

	Tiempo (horas)	pH	°Brix	Temperatura °C
Medio 1	24 horas	6.5	20	26.9 °C
	48 horas	4.6	20	25.4°C
	Tiempo (horas)	pH	°Brix	Temperatura
Medio 2	24 horas	6.5	20.1	26.9°C
	48 horas	4.5	20	25.4°C

Cuadro 1 Monitoreo de pH, Brix y temperatura durante el primer ensayo preliminar

Fuente: Pitti (2025).

	Tiempo (horas)	pH	°Brix	Temperatura °C
Medio 1	24 horas	6.2	15.1	24 °C
	48 horas	4.2	15	25.9°C
	Tiempo (horas)	pH	°Brix	Temperatura
Medio 2	24 horas	6.2	15.1	24 °C
	48 horas	4.3	15	25.9°C

Cuadro 2 Monitoreo de pH, Brix y temperatura durante el segundo ensayo preliminar

Fuente: Pitti (2025)

4.1.2 Medio de fermentación seleccionado

El medio correspondiente al segundo ensayo fue seleccionado para la prueba final, ya que presentó una mayor disminución del pH en comparación con el primero, lo cual indica una mayor actividad fermentativa y favorece los procesos de desmineralización para la extracción de quitosano.

4.2 Monitoreo de las variables de estudio

Durante las 2 semanas de fermentación, se registraron los cambios de pH, Brix, % de ácido láctico y temperatura.

4.2.1 Primera semana de análisis

Día	Brix	pH	% de ácido láctico	Temperatura °C
1	14	6.9	0	32.1°C
2	15	5.1	0.4	29.1°C
3	15.4	4.8	0.6	24.1 °C
4	15.3	4.8	0.7	24.9 °C
5	15	3.5	1.0	23.0 °C

Cuadro 3 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la semana 1 – Medio 1

Fuente: Pitti (2025)

Gráfica 1 Variación de Brix, pH, ácido láctico y temperatura durante la primera semana de fermentación - Medio 1

Durante la primera semana de fermentación del Medio 1, se observó una disminución del pH y un incremento progresivo del ácido láctico, lo que indica una fermentación de tipo láctica. El contenido de Brix disminuyó inicialmente, pero luego mostró un leve aumento. La temperatura ambiente descendió ligeramente a lo largo del período.

Fuente: Datos tomados del cuadro 3 del presente trabajo.

Día	Brix	pH	% de ácido láctico	Temperatura °C
1	14.4	6.8	0.4	32.1°C
2	15	5.1	0.4	29.0°C
3	15.4	4.8	0.6	22.0 °C
4	15.1	4.6	1.0	25.2 °C
5	14.3	3.0	1.3	22.0 °C

Cuadro 4 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la semana 1 - Medio 2

Fuente: Pitti (2025).

Gráfica 2 variación de Brix, pH, ácido láctico y temperatura durante la primera semana de fermentación - Medio 2

Durante la primera semana de fermentación del Medio 2, se observó una disminución progresiva del pH y un incremento sostenido en la concentración de ácido láctico. Los sólidos solubles (Brix) aumentaron ligeramente al inicio, posteriormente disminuyeron. La temperatura del medio descendió gradualmente.

Fuente: Datos tomados del cuadro 4 del presente trabajo.

4.2.2 Segunda semana de análisis

Día	Brix	pH	% de ácido láctico	Temperatura °C
1	11.4	2.8	1.7	27.1°C
2	11.2	2.8	1.7	25.0°C
3	11.0	2.7	1.8	23.0 °C
4	10.1	2.7	2.0	22.0 °C
5	10.0	2.7	2.0	23.1 °C

Cuadro 5 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la segunda semana - Medio 1

Fuente: Pitti (2025)

Gráfica 3 variación de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la segunda semana de fermentación - Medio 1

Durante la semana 2 en el medio 1, se observó una disminución en los sólidos solubles (Brix) al igual que el pH, mientras que la concentración de ácido láctico aumentó a 2%. La temperatura del medio descendió.

Fuente: Datos tomados del cuadro 5 del presente trabajo.

Día	Brix	pH	% de ácido láctico	Temperatura °C
1	12.3	2.7	1.7	27.0°C
2	12.3	2.7	1.7	25.0°C
3	12.2	2.7	1.6	23.0 °C
4	12.0	2.7	1.8	22.0 °C
5	12.4	2.7	2.0	23.1 °C

Cuadro 6 Monitoreo de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la segunda semana de fermentación - Medio 2

Fuente: Pitti (2025).

Gráfica 4 variación de pH, Brix, ácido láctico y temperatura durante la segunda semana de fermentación- Medio 2

En la segunda semana de fermentación del medio 2, los sólidos solubles (Brix) mostraron un ligero descenso y luego un aumento levemente. El pH se mantuvo constante, mientras que el contenido de ácido láctico alcanzó un 2%. La temperatura presentó una disminución.

Fuente: Datos tomados del cuadro 6 del presente trabajo.

Día	Brix	pH	% de ácido láctico	Temperatura °C
Final	12.4	2.6	2.0	24.1°C

Cuadro 7 Resultados del último día de fermentación - Medio 3

Fuente: Pitti (2025).

4.2.3 Discusión del comportamiento fermentativo

Durante las dos semanas de fermentación, ambos medios (1 y 2) mostraron un comportamiento típico de una fermentación láctica exitosa, caracterizada por la disminución del pH, aumento del ácido láctico y una disminución gradual en los valores de Brix.

En la semana 1, se observó una fuerte acidificación: el pH en el Medio 1 bajo de 6.96 a 3.5 y en el Medio 2 de 6.85 a 3.0. Paralelamente, la concentración de ácido láctico aumentó hasta 1.0% y 1.3% respectivamente. Los valores de Brix se mantuvieron estables en ambos casos, lo cual podría atribuirse a la liberación de sólidos solubles como minerales o proteínas presentes en las cáscaras de camarón; y, que, posteriormente, migraron al medio debido al proceso de desmineralización. Si bien el brix se asocia, principalmente, con el contenido de azúcares, el refractómetro utilizado para el análisis también detecta otros sólidos solubles como proteínas, sales minerales y aminoácidos. En este caso, es posible que a medida que las bacterias ácido- lácticas consumieran los azúcares, la liberación de minerales y proteínas desde las cáscaras compensara la disminución esperada de sólidos solubles.

En la semana 2, el pH se estabilizó en ambos medios alrededor de 2.7 y el ácido láctico continuó aumentando ligeramente, alcanzando 2.0% en ambos casos. Los Brix comenzaron a disminuir más visiblemente, especialmente en el Medio 1 indicando un mayor consumo de sustratos solubles por parte de los microorganismos. La temperatura se mantuvo dentro de

un rango favorable para la actividad de las bacterias lácticas (22-27°C) sin alteraciones bruscas.

El Medio 3 fue analizado, únicamente, al finalizar la fermentación, mostrando un pH de 2.6, 2.0% de ácido láctico y un valor de 12.4 Brix, lo que indica que también se alcanzaron condiciones favorables de fermentación.

Los tres medios permitieron una acidificación adecuada y una producción efectiva de ácido láctico necesario para la desmineralización de las cáscaras de camarón. El comportamiento similar entre medios confirma la reproducibilidad del proceso.

4.3 Determinación del % de ácido láctico por titulación

4.3.1 Resultados obtenidos

Se determinó el porcentaje de ácido láctico mediante titulación ácido-base, utilizando hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N y fenolftaleína como indicador. Se titularon 10 ml de muestra por cada día de la semana.

En las siguientes tablas, se muestran los resultados obtenidos durante las 2 semanas de fermentación para los medios 1 y 2.

Semana 1		
Día	Volumen de NaOH (ml)	% de ácido láctico
1	4.3	0.4
2	4.4	0.4
3	6.7	0.6
4	8.4	0.7
5	11.2	1.0
Semana 2		
6	19.3	1.7
7	20.1	1.8
8	20.3	1.8
9	21.8	1.9
10	21.0	2.0

Cuadro 8 Porcentaje de ácido láctico determinado por titulación durante las dos semanas de fermentación en el Medio 1

La tabla muestra la evolución del ácido láctico durante el proceso de fermentación, se observa un aumento constante, especialmente notable en la segunda semana.

Fuente: Pitti (2025).

Semana 1		
Día	Volumen de NaOH (ml)	% de ácido láctico
1	4.3	0.4
2	4.4	0.4
3	6.8	0.6
4	11.7	1.0
5	15.0	1.3
Semana 2		
6	18.3	1.6
7	28.3	1.6
8	20.3	1.8
9	21.8	1.9
10	22.3	2.0

Cuadro 9 Porcentaje de ácido láctico determinado por titulación durante las dos semanas de fermentación en el medio 2

Se observa un incremento progresivo en la concentración de ácido láctico desde los primeros días hasta alcanzar un valor máximo de 2% al final del proceso.

Fuente: Pitti (2025).

4.3.2 interpretación de resultados

Durante las dos primeras semanas de fermentación, tanto el medio 1 como el medio 2 mostraron un incremento progresivo en la concentración de ácido láctico, alcanzando valores cercanos a 2.0% (p/v) al finalizar el periodo experimental. En ambos casos, se observó una producción inicial moderada de ácido en los primeros días (0.4%) seguida de un aumento más pronunciado a partir de la segunda semana.

Este comportamiento indica que los cultivos lácteos presentes, en ambos medios, se adaptaron progresivamente al entorno fermentativo, aumentando su actividad metabólica y por ende la producción de ácido láctico con el paso del tiempo. La similitud en los valores obtenidos indica que las condiciones empleadas en los dos medios favorecieron de manera comparable la fermentación láctica, sin diferencias significativas en el rendimiento ácido.

Estos resultados reflejan que ambos medios fueron eficaces para promover la fermentación y la acidificación del sustrato, siendo adecuados para el objetivo del experimento.

4.4 Análisis de cenizas

4.4.1 Resultados obtenidos

Muestra general antes de la fermentación: 6%		
Medio	Semana 1	Semana 2
Medio 1	2%	0.2%
Medio 2	2%	0.4%
Medio 3	-	0.2%

Cuadro 10 Evolución del contenido de cenizas en función del medio y el tiempo de fermentación

La tabla muestra el porcentaje de cenizas que se encontró en las muestras antes y durante el proceso de fermentación. Al inicio el valor fue de 6.0%. En la primera semana, los medios 1 y 2 bajaron a 2.0%. En la segunda semana los medios presentaron valores más bajos: 0.4% en medio 1 y 0.2% en los medios 2 y 3. Esto indica una disminución en el contenido de minerales con el avance de la fermentación.

Fuente: (Pitti 2025).

4.4.2 Interpretación de los resultados

Los resultados muestran que el contenido de cenizas disminuyó a medida que avanzaba la fermentación. Al inicio las muestras tenían un 6% de cenizas, pero en la primera semana ya habían bajado a un 2%. En la segunda semana, se observó una disminución aun mayor, especialmente, en los medios 2 y 3, que llegaron a 0.2%. Esto puede deberse al consumo o transformación de compuestos minerales por los microorganismos presentes durante la fermentación. El medio 1 también mostró una reducción, aunque no tan baja, llegando a 0.4%. En general, se nota una tendencia clara de reducción de cenizas conforme avanza el tiempo y cambia el medio.

Aunque los 3 medios fueron preparados con los mismos componentes y en las mismas proporciones, la diferencia en los resultados del Medio 1 al final de la fermentación que presentó un contenido de cenizas de 0.4% frente al 0.2% de los otros medios, puede deberse a variaciones en las condiciones del ambiente de fermentación como las fluctuaciones de temperatura, oxigenación o contaminación cruzada que pudieron afectar la actividad microbiana. También es posible que haya habido una menor eficiencia en la fermentación, en ese medio, en particular, lo que limitó la reducción de minerales.

4.5 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

4.5.1 Espectros obtenidos

Gráfica 5 Espectros FTIR del biopolímero obtenido tras la fermentación láctica

El espectro muestra las bandas características del biopolímero extraído después de la fermentación láctica. Se observan señales funcionales típicas de la quitina como las bandas de Amida I (1644 cm⁻¹) y Amida II (1550 cm⁻¹).

Fuente: Pitti (2025).

4.5.2 *Identificación de picos observados*

- **3274 cm⁻¹**: estiramiento O-H y N-H (enlaces de hidrogeno). Presentes en quitina y quitosano.
- **2924 cm⁻¹**: estiramiento asimétrico C-H (grupos alquilo). Presente en quitina y quitosano.
- **1644 cm⁻¹**: estiramiento C=O, Amida I. Principalmente se encuentra en la quitina.
- **1550 cm⁻¹**: flexión N-H y estiramiento C-N, Amida II. Común en quitina y quitosano.
- **1379 cm⁻¹**: deformación C-H (alquilo). Común en quitina y quitosano.
- **1312 cm⁻¹**: estiramiento C-N y flexión N-H, propio de la Amida III. Está presente en quitina, aunque puede estar en el quitosano si la desacetilación es incompleta.
- **1239 cm⁻¹**: estiramiento C-N o C-O. Común en quitina y quitosano.
- **1069 cm⁻¹**: estiramiento C-O/ C-O-C (polisacárido). Común en quitina y quitosano.
- **1027 cm⁻¹**: estiramiento C-O o C-OH (alcoholes/ polisacáridos). Común en quitina y quitosano.

4.5.3 *Discusión de resultados FTIR*

El análisis espectroscópico por FTIR permitió identificar la presencia de grupos funcionales característicos de la quitina lo que nos indican la presencia de quitina en la muestra. Se observó una banda ancha en 3274 cm⁻¹ que corresponde a un enlace O-H y N-H comunes en polisacáridos. Además, se identificaron bandas en 1644, 1550 y 1312 cm⁻¹ pertenecientes a los enlaces C-O de los anillos de azúcar.

Estos resultados confirman que el biopolímero extraído mediante fermentación láctica fue, principalmente, quitina porque conservó los grupos amida. No se encontraron señales de quitosano lo que indica que la muestra no fue desacetilada de manera exitosa. Por el contrario, el proceso de desmineralización fue efectivo, ya que no se detectó ningún pico cercano a 875, 1400, 1450 cm⁻¹, propios de carbonatos (CaCO₃), ni tampoco hubo señales fuertes en la región 500-700 cm⁻¹, propios de sales inorgánicas (fosfatos o silicatos). Esto

nos indica que el carbonato de calcio presente en las cascaras de camarón fue removido con éxito, dejando un material orgánico rico en quitina.

4.6 Complementación química del proceso fermentativo para la obtención de quitosano

4.6.1 *Justificación de la complementación química*

Aunque la fermentación funcionó bien para eliminar minerales de las cascaras de camarón, la desacetilación no se logró de manera exitosa, por lo que el producto obtenido fue principalmente quitina y no quitosano. Es decir que, aunque los microorganismos usados en la fermentación produjeron ácidos que ayudaron a limpiar el material, no fueron suficientes para eliminar los grupos acetilo, parte importante para la transformación de quitina a quitosano.

Debido a esto fue necesario aplicar una complementación química con un tratamiento alcalino para favorecer la desacetilación y alcanzar los resultados deseados.

4.6.2 *Proceso de desacetilación química aplicado al material fermentado*

Para llevar a cabo la desacetilación se preparó una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 50 %. Se añadió 10 ml de la solución preparada por cada gramo de quitina obtenida mediante fermentación láctica, proporción utilizada en estudios previos como el de Tovar (2021), quienes evaluaron su efectividad en procesos de desacetilación. La mezcla se calentó a 100 °C durante 2 horas, utilizando una plancha de calentamiento dentro de una cámara de extracción. Finalizado el tiempo de reacción, la muestra fue filtrada y lavada con abundante agua destilada hasta que el pH del filtrado alcanzó un valor cercano a 8. Posteriormente, el sólido obtenido se secó en horno a 40 °C durante 24 horas, para luego realizar los análisis necesarios.

Imagen 14 *Etapas del proceso de desacetilación*

Fuente: Pitti (2025).

Imagen 15 *Sólido seco y pulverizado*

Fuente: Pitti (2025).

4.7 Observaciones físicas del material post- desacetilación

Luego del tratamiento químico con hidróxido de sodio, el material obtenido presentó cambios notables en su apariencia y comportamiento físico. Se observó una coloración

blanquecina en comparación con el tono más oscuro de la quitina sin tratar, lo cual es característico del quitosano parcialmente purificado. Asimismo, el material mostró una textura más ligera, menos rígida y mayor homogeneidad, indicativa de modificaciones en el biopolímero.

Otra observación relevante fue su ligera solubilidad en ácido acético, propiedad asociada a la presencia de grupos amino libres propios del quitosano. Esta solubilidad parcial sugiere que el proceso de desacetilación fue exitoso.

Aunque estas evidencias no son concluyentes por si solas, son indicativas de que el material experimentó una transformación estructural compatible con la obtención de quitosano, respaldando de forma indirecta los resultados del tratamiento químico.

Imagen 16 *Transformación del quitosano: polvo a gel*

Fuente: Pitti (2025).

4.7.1 Limitaciones en la caracterización del material post- desacetilación

Si bien se esperaba validar la obtención del quitosano mediante espectroscopia FTIR, el análisis no arrojó resultados legibles. Es posible que se debiera a una baja concentración de grupos funcionales característicos, a la interferencia de residuos orgánicos o a un acondicionamiento insuficiente de la muestra, lo que impidió la obtención de espectros

claros. Esta limitación redujo la posibilidad de confirmar, estructuralmente, la presencia del quitosano, aunque otras observaciones indirectas sugieren su formación parcial.

4.8 Cálculos de rendimientos

- Rendimiento de quitina

$$\% = (\text{masa de quitina obtenida} / \text{masa húmeda de las cáscaras de camarón}) \times 100$$

$$\% = 11 \text{ g} / 50 \text{ g} \times 100$$

$$\% = \mathbf{22}$$

- Rendimiento de quitosano

$$\% = (\text{masa de quitosano obtenido} / \text{masa de quitina usada}) \times 100$$

$$\% = (4 \text{ g} / 11 \text{ g}) \times 100$$

$$\% = \mathbf{36.4}$$

- Rendimiento global de quitosano

$$\% = (\text{masa de quitosano obtenido} / \text{masa de cáscaras húmedas de camarón}) \times 100$$

$$\% = (4 \text{ g} / 50 \text{ g}) \times 100$$

$$\% = \mathbf{8}$$

4.8.1 Comparación de rendimientos obtenidos con estudios previos

Los rendimientos obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los rangos reportados por otros autores. El rendimiento de la quitina fue de 22% lo cual es coherente con lo observado por diversos investigadores, quienes indican que las cascaras de camarón pueden contener entre un 17% y un 33% de quitina, dependiendo de factores como la especie, el tratamiento previo y el método de extracción empleado (Arévalo, 2016). Asimismo, el rendimiento de conversión de quitina a quitosano fue del 36.36%. Este valor también es consistente con lo reportado por estudios previos, donde se ha señalado que la eficiencia de la desacetilación depende de varias variables como la concentración de hidróxido de sodio, el tiempo y la temperatura de reacción. Rendimientos en el rango de 30% al 70% son comunes en la literatura. (Vallejo & León, 2021)

Con respecto al proceso fermentativo, se ha demostrado que el uso de fermentación láctica para la obtención de quitina a partir de residuos de camarón es una alternativa eficiente y ambientalmente amigable, con rendimientos similares a los obtenidos por métodos químicos tradicionales. (González, 2025)

CAPITULO V
CONSIDERACIONES FINALES

5.1 Conclusiones

La fermentación láctica de cascaras de camarón durante 2 semanas, utilizando suero lácteo, azúcar y yogurt como inóculo de bacterias ácido lácticas, permitió eliminar de manera eficiente proteínas y minerales, pasos fundamentales para la obtención quitina. Durante el proceso se observó una disminución constante del pH, un aumento del ácido láctico y una baja en los Brix lo que indica una fermentación activa. Además, los análisis de cenizas mostraron una reducción significativa del mineral de manera progresiva.

Aunque el objetivo inicial era obtener directamente quitosano mediante la fermentación láctica, esto no fue posible solo con ese tratamiento. Sin embargo, se logró extraer quitina, lo cual representa un avance importante ya que es la base para obtener quitosano. Posteriormente, al aplicar un tratamiento alcalino con hidróxido de sodio al 50% se logró completar la desacetilación; y, así obtener quitosano. Debido a que la fermentación ya había eliminado gran parte de las proteínas y minerales, no hubo necesidad de usar ácidos fuertes en las etapas previas.

La hipótesis nula proponía que la fermentación láctica no reduce el uso de ácidos fuertes en la extracción de quitosano. Sin embargo, los resultados obtenidos demuestran que, si se puede disminuir el uso de químicos agresivos gracias al tratamiento biológico previo, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, que afirma que la fermentación láctica permite reducir el uso de ácidos fuertes en la extracción de quitosano.

La presente investigación demuestra que la fermentación láctica es una alternativa biotecnológica útil, económica y más amigable con el ambiente para el aprovechamiento de residuos de camarón. Aunque no se logró obtener quitosano, directamente, por vía fermentativa, sí se contribuyó considerablemente al proceso, facilitando su obtención con menos intervenciones químicas. La fermentación láctica, por sí sola, resulta útil y muy

efectiva para la obtención de quitina, convirtiéndola en una opción viable para aplicaciones donde no es necesario convertirla en quitosano.

5.2 Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación se proponen las siguientes recomendaciones para futuras investigaciones o aplicaciones del proceso.

- Extender el tiempo de fermentación bajo condiciones óptimas para evaluar si es posible lograr la conversión de quitina en quitosano.
- Pulverizar adecuadamente la muestra antes del análisis FTIR para asegurar una lectura adecuada.
- Evaluar la aplicación del quitosano en frutas frescas como recubrimiento para prolongar su vida útil.
- Utilizar cepas puras de bacterias lácticas en lugar de yogurt comercial para aumentar la eficacia del proceso.
- Analizar la calidad de la quitina y del quitosano obtenido para evaluar sus posibles aplicaciones.
- Evaluar el proceso a mayor escala para conocer su viabilidad económica y técnica.
- Analizar el licor resultante de la fermentación para identificar compuestos útiles y maneras de aprovecharlo.
- Comparar el impacto ambiental y el costo del proceso químico tradicional.
- Capacitar a personas productoras rurales para que procesen sus propios residuos de camarón mediante fermentación láctica y obtengan quitina, la cual puede usarse directamente como biofertilizante natural.

REFERENCIAS

6.1 Referencias

- Aranaz, I., Mengíbar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., ... & Heras, Á. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3(2), 203–230.
- Camarón que se desecha se pierde: la fermentación láctica como solución. (2025, enero 7). RDU UNAM. https://www.revista.unam.mx/2025v26n1/camaron_que_se_desecha_se_pierde_la_fermentacion_lactica_como_solucion/
- Cisneros, I., Curbelo, C., Cobeña, M., & Molina, D. (2018). Método alternativo para la desacetilación de la quitina. *Universidad Ciencia y Tecnología*, 1(02), 8. <https://uctunexpo.autanabooks.com/index.php/uct/article/view/80>
- [Encycloperdia.com](https://www.encycloperdia.com)
- Food and Agriculture Organization. (s. f.). *National Aquaculture Sector Overview – Panama*.
- García, M., & López, A. (2019). Uso de ácidos orgánicos en cosmética natural. *Revista de Tecnología y Ciencia Cosmética*, 8(2), 22–29.
- Giraldo, J. D. (2015). Un futuro para la quitina y el quitosano. https://www.researchgate.net/publication/277302279_UN_FUTURO_PARA_LA_QUITINA_Y_EL_QUITOSANO
- Grand View Research. (2023). Chitosan market size, share & trends analysis report by application (food & beverages, pharmaceutical, cosmetics, others), by region (North America, Europe, APAC), and segment forecasts, 2023 - 2030. Recuperado el 27 de abril de 2025, de <https://www.grandviewresearch.com>
- Guzmán-Gómez, J. A., & Barrera-Necha, L. L. (2009). Quitinasas: actividades hidrolíticas para control de hongos patógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 27(2), 59–69. <https://1library.co/document/yr399nr8-quitinasas-actividades-hidrol%C3%ADticas-para-control-de-hongos-pat%C3%B3genos.html>
- Inversiones CH Panamá. (2024, abril 17). El suero en polvo es un producto obtenido del suero de leche [Publicación de Instagram]. https://www.instagram.com/ch_panama/p/C-5IZAzNA83/
- Jay, J. M. (2020). *Microbiología de los alimentos*. Editorial Acribia.

- Kurita, K. (2001). Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Progress in Polymer Science*, 26(9), 1921–1971 [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00007-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00007-7)
- Kumar, M. N. V. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1–27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)
- La Estrella de Panamá. (2025, marzo 6). Recepción de lácteos por la industria panameña crece 6%. *La Estrella de Panamá*. <https://www.laestrella.com.pa/economia/recepcion-de-lacteos-por-la-industria-panamena-crece-6-DA11008579>
- Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA). (2024, febrero). Informe mensual de los programas – enero 2024. <https://mida.gob.pa/wp-content/uploads/2024/02/Informe-mensual-ENERO-2024-oficial.pdf>
- Muguira, A. (2015, noviembre 18). Tipos de investigación y sus características. *QuestionPro*. <https://www.questionpro.com/blog/es/tipos-de-investigacion-de-mercados/>
- Li, Z., Liu, Q., Zhang, D., Wang, S., Sun, Q., & ... (2022). *Comparison of the proximate composition and nutritional profile of byproducts and edible parts of five species of shrimp*.
- Muzzarelli, R. A. A. (2011). Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydrate Polymers*, 76(2), 167–182. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.039>
- Mohanty, A. K., Singh, R., & Bandyopadhyay, S. (2020). Chitosan and chitosan-based composites for energy and environmental applications: A review of advances in. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 4777–4804. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01244-6>
- Ortega, C. (2022, diciembre 9). Investigación aplicada: Definición, tipos y ejemplos. *QuestionPro*. <https://www.questionpro.com/blog/es/investigacion-aplicada/>
- Palma y Julia Mercedes Malespin Rocha, E. M. M. (2013, abril). Estudio de la fermentación láctica para la recuperación de quitina a partir de desechos de camarón y langostino. <https://ribuni.uni.edu.ni/820/1/38797.pdf>

- Pescuma, M., Hébert, E. M., Mozzi, F., & Font de Valdez, G. (2010). Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*, 27(5), 605–611. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.02.004>
- Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48–68. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>
- Quitina. (s/f). Quimica.es. Recuperado el 21 de abril de 2025, de <https://www.quimica.es/enciclopedia/Quitina.html>
- Ramírez, M. A., Rodríguez, A. T., Alfonso, L., & Peniche, C. (2010). La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación agrícola. *Biotecnología Aplicada*, 27, 262–269. <https://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2010/27/4/BA002704RV262-269.pdf>
- Ramírez-Navas, J. S. (2011). Caracterización del lactosuero y alternativas para su aprovechamiento. Universidad del Valle. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co>
- Researchgate.net. (s/f). Recuperado el 25 de abril de 2025, de https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Estructura-quimica-del-quitosano-8_fig2_235431334
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Sabry, S. A. (1992). Microbial degradation of shrimp shell waste. *Journal of Basic Microbiology*, 32, 378–383.
- Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal*, 18(7), 695–704. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.008>
- Synowiecki, J., & Al-Khateeb, N. A. A. Q. (2003). Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(2), 145–171. <https://doi.org/10.1080/10408690390826473>

- Tetra Pak. (s/f). Apoyando un sector lácteo autosuficiente en Panamá. <https://www.tetrapak.com/es-cac/insights/cases-articles/supporting-dairy-sector-panama>
- Torres-Llanez, M. J. (2006). Propiedades funcionales del suero lácteo: Características físico-químicas y aplicaciones en la industria alimentaria. Universidad Autónoma de Chihuahua. <https://www.researchgate.net/publication/292321173>
- Vallejo, S., & León, D. (2021). Obtención de quitosano a partir de quitina mediante desacetilación alcalina. Repositorio Universidad de Guayaquil. <https://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/45566>
- Wikipedia contributors. (s/f). Quitina. Wikipedia, The Free Encyclopedia. <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Quitina&oldid=164514109>
- Yen, M. T., & Mau, J. L. (2007). Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. Carbohydrate Polymers, 70(3), 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.002>
- Zhao, Y., Zhang, M., Liang, S., Zhou, F., Wang, H., & Wang, Y. (2024). Chitosan-based nanoparticles for anticancer drug delivery: Recent advances and future perspectives. Molecular Cancer, 23(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02163-z>
- Arévalo, A. (2016). Fermentación láctica de la cáscara de camarón con Lactobacillus para la obtención de quitina. SlideShare. <https://es.slideshare.net/slideshow/fermentacion-lactica-de-la-cascara-de-camaron-con-l-actobacillus-para-la-obtencion-de-quitina/88658533>
- (S/f). Researchgate.net. Recuperado el 25 de abril de 2025, de https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Estructura-quimica-del-quitosano-8_fig2_235431334
- (2025, enero 7). Camarón que se desecha se pierde: la fermentación láctica como solución. RDU UNAM. https://www.revista.unam.mx/2025v26n1/camaron_que_se_desecha_se_pierde_la_fermentacion_lactica_como_solucion/

ANEXOS

7.1 Glosario técnico

- **Ácido láctico:** sustancia ácida producida por bacterias durante la fermentación. Ayuda a descomponer las partes duras (minerales) de las cáscaras de camarón.
- **°Brix:** unidad que mide cuántos azúcares hay en un líquido. Sirve para saber si las bacterias están consumiendo el azúcar durante la fermentación.
- **Cáscaras de camarón:** parte dura que queda del camarón. Contiene quitina y se usa como materia prima para hacer quitosano.
- **Desacetilación:** proceso químico que transforma la quitina en quitosano, eliminando los grupos acetilo.
- **Desmineralización:** proceso para eliminar minerales como el calcio de las cáscaras.
- **Fermentación láctica:** proceso donde bacterias transforman azúcar en ácido láctico. Esto baja el pH y ayuda a limpiar las cáscaras.
- **Inóculo:** mezcla con bacterias vivas (*Lactobacillus*) que se agregan para iniciar la fermentación.
- **pH:** número que indica que tan ácido o básico es un líquido. Es importante en la fermentación porque afecta como trabajan las bacterias,
- **Quitina:** sustancia dura que forma parte del caparazón de crustáceos como el camarón. Es la base para producir quitosano.
- **Quitosano:** polvo blanco que se obtiene de la quitina. Tiene muchos usos en medicina, agricultura y alimentos.

7.2 Imágenes del proceso experimental

Imagen 18 Cáscaras frescas

Imagen 17 Suero pasteurizado

Imagen 19 Esterilización del equipo

Imagen 20 Preparación del medio

Imagen 21 *Inoculación*

Imagen 22 *Medios de fermentación*

Imagen 23 *Cáscaras post-fermentación*

Imagen 24 *Despigmentación exitosa*

Imagen 26 *Pulverización*

Imagen 25 *Tamizado*

Imagen 27 *Comparación visual de las etapas del proceso experimental*