

**PROPUESTA PARA EL APROVECHAMIENTO DE ESCAMAS DE PESCADO
APLICADO A LA PRODUCCIÓN DE PAPEL DE QUITOSANO POR EL MÉTODO DE
DESACETILACIÓN DE QUITINA EN MEDIO ALCALINO**

ANDREA CAROLINA FUENTES CARRILLO

Proyecto integral de grado para optar al título de

Ingeniería Química

Director

HARVEY ANDRES MILQUEZ SANABRIA

Ingeniero Químico

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BOGOTÁ, D.C

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

Nombre

Firma del presidente Jurado

Nombre

Firma del Jurado

Nombre

Firma del Jurado

Bogotá D.C., Julio de 2021

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez

Decano de la Facultad

Dr. Julio César Fuentes Arismendi

Director de Programa de Ingeniería Química

Dra. Nubia Liliana Becerra

AGRADECIMIENTOS

Tras concluir esta etapa de aprendizaje bajo las condiciones abrumantes que atraviesa el mundo entero hoy, quiero extender un profundo agradecimiento a mi familia, quienes hicieron posible que el día de hoy cumpla la meta de graduarme de la carrera de ingeniería química. Esta mención en especial para Dios y para mis padres quienes siempre fueron mi fuerza y fortaleza para superar todos los obstáculos que se presentaron.

Mi gratitud, también a la Fundación Universidad de América, a la facultad de Ingenierías y su cuerpo directivo y docente quienes con su experiencia y enseñanzas contribuyeron en la construcción de mi vida personal y profesional.

Hago presente mi afecto e infinito agradecimiento hacia cada persona que me acompañó en este camino, al grupo semillero Aprovechamiento Agroindustrial, a la ingeniera Yenny Hernández y al profesor Alexis Feneite quien desde la distancia asesoró mi trabajo.

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS	13
JUSTIFICACIÓN	14
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
1.1. Antecedentes	16
<i>1.1.1. Residuos sólidos</i>	16
<i>1.1.2. Escamas de pescado y eco-innovación</i>	16
<i>1.1.3. Celulosa, Quitina y Quitosano</i>	19
<i>1.1.4. Economía circular e innovación ecológica</i>	25
2. METODOLOGÍA	28
2.1. Estrategia de trabajo: Primer objetivo específico	28
<i>2.1.1. Recolección y acondicionamiento de la materia prima</i>	28
<i>2.1.2. Determinación de la composición proximal</i>	28
<i>2.1.3. Revisión bibliográfica y especificaciones técnicas</i>	29
2.2. Estrategia de trabajo: Segundo objetivo específico	31
<i>2.2.1. Pretratamiento de la materia prima</i>	31
<i>2.2.2. Obtención de quitosano</i>	32
2.3. Estrategia de trabajo: Tercer objetivo específico	34
<i>2.3.1. Proceso de obtención de quitosano para la muestra principal (MP)</i>	34
<i>2.3.2. Formación de la pasta de papel</i>	34
<i>2.3.3. Elaboración de la preforma de las hojas</i>	35
<i>2.3.4. Secado y prensado de las preformas</i>	36
<i>2.3.5. Retención de pigmento</i>	36
2.4. Materiales y equipos	37
2.5. Sustancias y reactivos	38
2.6. Diagrama de bloques del proceso (BFD)	39

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	40
3.1. Composición proximal	40
3.2. Obtención de quitosano	41
3.2.1. Molienda y tamizado	41
3.2.2. Elección del tamaño de las muestras	42
3.2.3. Proceso de desproteización	42
3.2.4. Proceso de desmineralización	45
3.2.5. Proceso de despigmentación	46
3.2.6. Proceso de desacetilación	47
3.3. Análisis de las muestras	50
3.3.1. Identificación de quitosano en las muestras y determinación del grado de desacetilación	50
3.3.2. Solubilidad	54
3.3.3. Determinación del rendimiento	56
3.4. Proceso de obtención de la materia prima en la muestra principal (MP)	57
3.4.1. Desproteización de la muestra MP	57
3.4.2. Desmineralización y despigmentación de la muestra MP	58
3.4.3. Desacetilación de la muestra MP	59
3.5. Resultados de la producción de papel	60
3.5.1. Prueba de retención de pigmento	64
4. CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	78

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. <i>Tipos de escamas de pescado</i>	18
Figura 2. <i>Estructura química celulosa, quitina y quitosano</i>	21
Figura 3. <i>Tamaño y forma de las muestras</i>	42
Figura 4. <i>Resultados desproteización de las muestras</i>	43
Figura 5. <i>Segunda desproteización de la muestra m₃</i>	44
Figura 6. <i>Liberación de CO₂ durante el proceso de desmineralización</i>	46
Figura 7. <i>Resultados despigmentación de las muestras</i>	47
Figura 8. <i>Resultados desacetilación de las muestras</i>	48
Figura 9. <i>Identificación de quitosano en la muestra</i>	50
Figura 10. <i>Espectro FTIR-ATR muestra 1- Quitina</i>	52
Figura 11. <i>Espectro FTIR-ATR muestra 2- Quitosano</i>	53
Figura 12. <i>Solubilidad de las muestras</i>	55
Figura 13. <i>Resultados desproteización de la muestra MP</i>	58
Figura 14. <i>Resultados desmineralización y despigmentación de la muestra MP</i>	59
Figura 15. <i>Resultados desacetilación de la muestra MP</i>	59
Figura 16. <i>Muestra 1 y 2 papel de quitosano</i>	60
Figura 17. <i>Muestra 3 papel de quitosano</i>	61
Figura 18. <i>Etiquetas ecológicas para ropa</i>	62
Figura 19. <i>Prototipo de empaques ecológicos</i>	63
Figura 20. <i>Muestra 4 papel de quitosano</i>	63
Figura 21. <i>Pastillas de escamas de pescado</i>	64
Figura 22. <i>Resultados retención de color muestra de celulosa</i>	65
Figura 23. <i>Resultados retención de color muestra 1</i>	65
Figura 24. <i>Resultados retención de color muestra 2</i>	66
Figura 25. <i>Resultados retención de color muestra 3</i>	66
Figura 26. <i>Resultados retención de color muestra 4</i>	67

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición proximal escamas de tilapia	17
Tabla 2. Análisis y métodos de caracterización proximal de la muestra	29
Tabla 3. Metodologías seleccionadas para la etapa experimental	30
Tabla 4. Tabla de equipos e instrumentos requeridos por objetivo	37
Tabla 5. Tabla de sustancias y reactivos requeridos por objetivo	38
Tabla 6. Composición proximal de escamas	40
Tabla 7. Comparación de resultados composición proximal	40
Tabla 8. Resultados del proceso de tamizado	41
Tabla 9. Resultados del proceso de desproteínización	43
Tabla 10. Resultados de la segunda desproteínización	44
Tabla 11. Resultados del proceso de desmineralización	45
Tabla 12. Resultados del proceso de desacetilación	48
Tabla 13. Resultados de quitosano obtenido	49
Tabla 14. Resultados Grado de acetilación (DA) y desacetilación (DD)	52
Tabla 15. Resultados de solubilidad de quitosano	55
Tabla 16. Datos para el cálculo de rendimiento	57

RESUMEN

El aumento en los volúmenes de residuos pesqueros en Colombia ha impulsado esta propuesta de aprovechamiento de escamas para el desarrollo de papel a partir de quitosano, escamas de pescado y papel reciclado de celulosa.

La metodología del proyecto comprende tres etapas; en la primera se determinó la composición proximal de las escamas de Tilapia para comprobar la presencia de quitina, bajo este criterio se define si la muestra es apta para continuar con la segunda fase. A continuación, se definieron siguientes variables críticas para el proceso experimental: tamaño de partícula, concentración de los reactivos, temperatura y tiempo de exposición. Durante la segunda etapa se seleccionaron y ejecutaron dos metodologías para la obtención de quitosano, reportadas en la literatura. Por otra parte, se realizaron pruebas de solubilidad en agua, etanol, ácido acético y ácido clorhídrico, también se calculó el rendimiento escama-quitosano y quitina-quitosano. Por último, se determinó el grado de desacetilación a través de espectroscopía FTIR-ATR con un valor de 84.80%, el cual se encuentra entre los rangos reportados en literatura e indica la exitosa producción de quitosano. Luego del procesamiento de las cuatro muestras de escamas y de acuerdo con los resultados obtenidos, se determinó que las escamas sin moler y ruta metodológica 2 son los parámetros más adecuados para tratamiento de la muestra principal, debido al bajo índice de degradación del polímero que presentó la muestra (m_4) y la cantidad de quitosano obtenido. La tercera etapa, consistió en someter la muestra principal a procesos de desproteínización, desmineralización, despigmentación y desacetilación de quitina, el quitosano obtenido se mezcló con matrices de celulosa reciclada y escamas parcialmente desacetiladas para la elaboración de cuatro muestras de papel cuyas propiedades de rigidez, dureza y retención de color fueron favorables.

Finalmente, se concluye que es posible producir papel a partir de quitosano y una matriz de escamas de Tilapia y celulosa reciclada, utilizando el método químico de desacetilación termoalcalina de quitina procedimiento que arrojó buenos resultados y que, además, aporta al desarrollo de nuevos materiales mediante el aprovechamiento de residuos de la industria piscícola.

Palabras clave: Aprovechamiento de escamas de Tilapia, desacetilación alcalina de quitina, obtención de quitosano, papel de quitosano.

INTRODUCCIÓN

Luego de la celulosa, la quitina es el segundo polisacárido de mayor producción natural anual en el mundo [1]. Esta se puede extraer de diferentes fuentes naturales como: caparazones de langostas, cangrejos y camarones, paredes celulares de hongos, algas, levaduras y protozoarios, en las alas de algunos insectos como escarabajos y cucarachas, incluso en las escamas de ciertos pescados [2].

Por medio de procedimientos enzimáticos o químicos [1]-[2] es posible el aislamiento de la quitina y, asimismo, la producción de su biopolímero derivado conocido como quitosana o quitosano [3], [4]. Este polímero, es la forma desacetilada de la quitina y tiene múltiples aplicaciones gracias a las modificaciones que se le pueden realizar debido a la abundante presencia de grupos amino e hidroxilo en su cadena polimérica principal. Desde la producción biofiltros de lecho fijo para la remoción de pigmentos en aguas residuales [5]-[6] hasta aplicaciones en biofarmacéutica [7], biomedicina [8] e ingeniería de tejidos [9], las propiedades fisicoquímicas de biocompatibilidad, antihemorrágicas y antimicrobianas del quitosano lo convierten en un material versátil de gran interés para muchas industrias [10].

La quitina puede encontrarse en las escamas de la Tilapia roja (*Oreochromis Spp*), un pez híbrido resultado del cruce entre especies de origen africano e israelí [11]. Posee escamas tipo ctenoides compuestas mayoritariamente por minerales, proteínas, y carbohidratos, aunque también contienen otras sustancias en pequeñas cantidades [12]-[13]. Estudios han revelado que luego de procesos de limpieza y eviscerado de peces se desecha la piel, espinas y escamas, lo que significa una pérdida total de 16% del peso total del pez [14].

Durante el primer trimestre de 2020, el Ministerio de Agricultura de Colombia, emitió el informe de cifras e indicadores del sector acuícola para el año 2019. Allí, se reporta un aumento del 213% en la producción nacional de tilapia, trucha, cachama, camarón y otras especies, pasando de 80,255 a 171,026 toneladas respecto al 2010 [15].

La Tilapia constituye el 58% de la producción anual de peces en Colombia, y durante el 2019 sólo en Cundinamarca se produjeron alrededor de 3,238 toneladas de esta especie [15], que, en su mayoría, se comercializan como filetes sin espinas, escamas ni vísceras. Residuos como la piel, se suelen vender a distintos sectores industriales para la producción de harinas de pescado, compost y/o extracción de productos de interés como el colágeno [12]-[13], no obstante, no se les ha dado mayor aprovechamiento a las escamas.

Por lo anterior, se realiza una revisión bibliográfica con el fin de identificar un sector industrial en el cual Colombia invierta altas sumas de dinero y de esta manera proponer una alternativa de aprovechamiento de escamas en este sector. Con respecto al 2020, Colombia gastó 65.9 millones de dólares en importaciones de artículos y bienes de papel y cartón [16], es por esto por lo que se plantea la posibilidad de producir un nuevo artículo de papel cuyas características permitan su aplicación en distintos campos y profesiones, sugiriendo el aprovechamiento de residuos como potencial materia prima en la fabricación de papel.

Para ello, se identificaron dos métodos de aislamiento para la quitina por vía biológico-fermentativa o química, de los cuales se seleccionó esta última la cual consiste en la desacetilación termo-alcalina ya que es el método con mejores rendimientos de quitosano obtenido según lo reportado en la literatura.

La etapa de acondicionamiento de la materia prima consistió en el lavado, filtrado y secado para remover el mal olor y material distinto a las escamas como algunas espinas y otros elementos que contaminaban la muestra. Seguido por operaciones de molienda y tamizado para la reducción del tamaño de las escamas y definiendo las condiciones clave para la extracción de quitina por desacetilación en medio alcalino, se procede con el aislamiento de las proteínas, minerales de calcio y quitina contenidas en la muestra de escamas. Luego de pruebas de solubilidad, determinación del grado de desacetilación mediante reacción de color y análisis FTIR, se compararon los resultados del quitosano obtenido con los reportados por la literatura y finalmente, se prepararon las matrices a base de celulosa y quitosano en diferentes proporciones para producir cuatro muestras distintas de papel.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Proponer una alternativa para el aprovechamiento de las escamas de pescado desechadas en la plaza de mercado Las Ferias en Bogotá, para la producción de papel de quitosano mediante desacetilación de quitina en medio alcalino.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la equivalencia estequiométrica de ácido-minerales y base- proteínas necesarios para los procesos de desmineralización y desproteínización.
- Implementar dos procedimientos experimentales reportados en la bibliografía para la extracción de quitosano.
- Producir papel de quitosano a nivel laboratorio siguiendo el procedimiento experimental con mejores resultados.

JUSTIFICACIÓN

La propuesta de producir papel reciclado con escamas de Tilapia roja y gris constituye un proyecto orientado hacia la sostenibilidad ambiental y el aprovechamiento de residuos agroindustriales, pues propone la transformación de un desecho natural de la industria pesquera a la elaboración de nuevos materiales y/o productos terminados útiles y complementarios a los que se comercializan normalmente.

Haciendo uso de nuevas materias primas y con el objeto de presentar una alternativa poco explorada en Colombia en términos de producción sustentable de papel reciclado de fuentes distintas a la celulosa y caña de azúcar, este proyecto podría significar a futuro la fundación de grupos estratégicos y nuevas relaciones sociales entre sectores industriales que puedan reincorporar e integrar subproductos a sus líneas de producción o gestionar nuevos proyectos en el contexto de la eco-innovación.

Teniendo en cuenta los grandes volúmenes de residuos de escamas generados, se ve la oportunidad para el ingeniero químico cuyo conocimiento y habilidades en áreas como innovación y desarrollo, bioquímica básica, química orgánica e inorgánica, le permite reutilizar residuos agroindustriales para extraer componentes de interés y hacerlo parte de procesos productivos como la fabricación de papel reciclado como producto complementario al papel reciclado de 100% celulosa.

Es posible explorar nuevos campos de acción en la industria colombiana de pulpa, papel y cartón, donde el ingeniero químico debe ser capaz de proponer alternativas que puedan darles valor agregado a residuos biológicos, con el fin de convertirlas en un material ambientalmente útil y de alto valor agregado en procesos productivos sostenibles.

De este modo se pretende iniciar una propuesta que a largo plazo logre satisfacer, principalmente, parte del mercado nacional de artículos de papel haciendo uso de métodos de bajo requerimiento energético e implementando desechos naturales como escamas de Tilapia roja y gris como potencial fuente natural de biopolímeros, así como también de proteínas y minerales.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Bogotá se comercializa a diario un gran volumen de productos pesqueros. En marzo de 2010 la Unidad Administrativa Especial de Servicios Públicos de Bogotá (UAESP) publicó el informe “*Programa para la Gestión de Residuos Sólidos Orgánicos en Bogotá*” en el cual se menciona entre otras cosas, que la plaza de mercado privada Las Ferias, dedicada a la comercialización de todo tipo de frutas, verduras, legumbres, flores y carnes, genera alrededor de 5,765.9 kg mensuales de residuos cárnicos no aprovechables como: escamas, orejas y pezuñas, procedentes de procesos de acondicionamiento de productos cárnicos [17]. No obstante, desde esa fecha no se registran datos precisos del porcentaje real que constituyen desechos como las escamas dentro de la cifra publicada en 2010.

De la literatura se conoce que los residuos generados en el acondicionamiento de un pez, entre 50% y 70% del peso inicial del pescado es desechado. De este valor, alrededor del 30% lo constituyen la piel, vísceras y espinas, mientras que alrededor del 5% de estos desperdicios corresponden a las escamas [18], las cuales presentan un alto contenido de proteínas, minerales y carbohidratos.

El aumento en la producción, consumo y exportación de productos marinos a nivel mundial, especialmente pescado y mariscos ha provocado que se incremente el volumen de bio residuos como exoesqueletos, escamas, vísceras, piel y espinas que resultan de procesos de acondicionamiento de los productos marinos, lo que ha generado un enorme impacto en el medio ambiente, puesto que, hasta hace algunas décadas no se había pensado en la valorización de estos residuos y su posible participación en procesos productivos industriales. Sin embargo, en los últimos años, estudiantes y académicos de todo el mundo, han desarrollado ingeniosas aplicaciones para utilizar escamas en cadenas productivas o para extraer de ellas sustancias de alto valor comercial como el colágeno.

En búsqueda de incorporar las escamas de pescado como un subproducto y no como un desecho generado de la cadena productiva de comercialización de carnes, se plantea ve la posibilidad de producir papel reciclado de quitosano a partir de las escamas de pescado.

1.1. Antecedentes

1.1.1. Residuos sólidos

La UAESP define residuo sólido como “cualquier objeto, material, sustancia o elemento sólido que se abandona, bota o rechaza, después de haber sido consumido o usado en actividades domésticas, industriales, comerciales, institucionales, de servicios e instituciones de salud y que es susceptible de aprovechamiento o transformación en un nuevo bien, con valor económico de disposición final” [19].

Como se expresa en el párrafo anterior, el origen de los residuos sólidos es amplio y esto permite su clasificación. En adición, también es posible agruparlos según propiedades fisicoquímicas como: toxicidad, inflamabilidad, explosividad, volatilidad entre otros.

Los residuos sólidos que actualmente son implementados en el sector industrial son: la piel, huesos y sebos, de los cuales se producen porcelanas, espumas para extintores de incendios, pieles, gelatinas, productos para mascotas, mangos de cuchillos e incluso aislantes eléctricos [20].

Sin embargo, el marco conceptual para este trabajo estará orientado hacia los residuos orgánicos cárnicos no aprovechables, definidos como “cualquier material o sustancia sólida o semisólida de origen orgánico e inorgánico, putrescible o no, proveniente de actividades domésticas, industriales, comerciales, institucionales, de servicios, que no ofrece ninguna posibilidad de aprovechamiento, reutilización o reincorporación en un proceso productivo. Son residuos sólidos que no tienen ningún valor comercial, requieren tratamiento y disposición final y por lo tanto generan costos de disposición” [21].

Dentro del documento emitido por la UAESP de gestión de residuos sólidos orgánicos en Bogotá, se mencionan principalmente orejas, pezuñas y escamas de pescado, estas últimas de principal interés para el desarrollo de esta propuesta.

1.1.2. Escamas de pescado y eco-innovación

1.1.2.a. Definición y composición química. Las escamas son huesos tegumentarios en láminas duras, más o menos flexibles, de origen dérmico incluidas en la bolsa epidérmica de tejido conjuntivo fibrilar, que componen el exoesqueleto de los peces primitivos Ostracodermos y Placodermos [5]. Según J. Gómez y M.J. Benítez [22], la composición general de una escama de Tilapia es la siguiente: proteínas de tipo Colágeno I, minerales de calcio y una gran cantidad de agua. Además, poseen compuestos como carbohidratos, pigmentos y lípidos que se encuentran en menor cantidad y en rangos variables dependiendo de las condiciones externas y factores asociados

con el metabolismo y desarrollo de cada pez. Por su parte J. Quintero y J. Zapata [13], al determinar la composición proximal de escamas provenientes de la especie tilapia roja (*Oreochromis spp*), encontraron un alto contenido proteico y mineral. De igual manera, los resultados de composición proximal de las escamas de Tilapia del Nilo obtenidos por L. Alcalde y G. Fonseca [23], confirmaron un elevado contenido proteico. Si bien es cierto que la composición entre una especie y otra varía dependiendo a su alimentación, clima, sexo, edad y localización entre otros factores, los resultados de ambos análisis arrojaron valores cercanos entre sí, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1.

Composición proximal escamas de tilapia

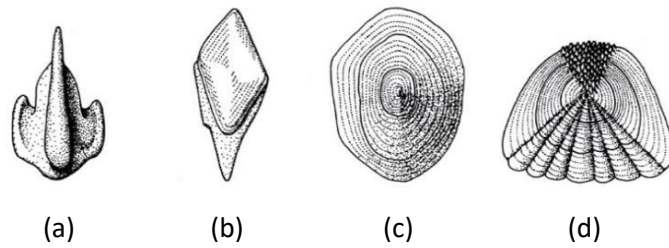
Parámetros	Escamas de Tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Escamas de Tilapia roja (<i>Oreochromis spp</i>)
% Humedad	13.08	15.18
% Cenizas	36.06	32.08
% Proteína	54.97	67.96
% Carbohidratos	9.21	-

Nota. Datos de composición proximal para dos especies de Tilapia. Tomado de: L. Boarin Alcalde y G. Graciano-Fonseca, “Proceso alcalino para la extracción de quitina y producción de quitosano a partir de escamas de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*),” 2016 [PDF]; J. Quintero y J. E. Zapata, “Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta,” 2017. [PDF]

1.1.2.b. Tipos de escamas. El desarrollo de las escamas de los peces depende de los genes, uno de ellos es el gen Sonic Hedgehog, el cual mediante la proteína (shh) de ligando involucrada en los procesos de comunicación celular permite el desarrollo de estas láminas tegumentarias [24]. La mayoría de los peces óseos poseen escamas, pero estas varían en tamaño, forma, estructura, composición y extensión, y es por este motivo que la morfología de las escamas puede ser utilizada para realizar la identificación de especies de peces [23].

Figura 1.

Tipos de escamas de pescado



Nota. Cuatro tipos de escamas de pescado. (a) Placoides, (b) ganoides, (c) Cicloides y (d) Ctenoides. Tomado de: Universidad de Hawái en Manoa, *Living Ocean, CRDG*. [En línea]. Disponible: https://manoa.hawaii.edu/exploringourfluidearth/media_colorbox/3903/media_original/en

- Placoides

Conocidas como dentículos dérmicos, estas escamas se pueden encontrar en peces cartilaginosos como tiburones y mantarrayas. En cuanto a su estructura, son parecidas a los dientes de los vertebrados pues tienen una pulpa dentaria central con vasos sanguíneos, rodeada por una capa cónica de dentina, que se encuentra en la parte superior de una placa basal rectangular que descansa en la dermis [13].

“La capa más externa está compuesta por vitrodernia, una sustancia inorgánica en gran medida similar al del esmalte dental. Las escamas placoideas no pueden crecer en tamaño, sino que se van añadiendo a medida que aumenta el tamaño del pez” [25].

- Cosmoides

Este tipo de escamas se pueden encontrar en peces de aletas carnosas o de aletas lobuladas, llamados sarcopterigios. Están compuestas de una capa de denso hueso laminar llamado isopedina, sobre la que se dispone una capa de hueso esponjoso con vasos sanguíneos. Las capas de hueso están cubiertas por una sustancia similar a la dentina llamada cosmina y un recubrimiento superficial exterior de vitrodentina [12]-[26].

- Ganoideas

Estas se pueden encontrar en los esturiones, peces espátula, pejes lagartos, amias calva y bichires. Las escamas ganoideas se derivan de escamas cosmoides y varían en que las escamas ganoideas presentan una capa de dentina y una sal inorgánica llamada ganonina [12].

- Cicloides y ctenoides

Las escamas cicloides y ctenoides se encuentran en los teleósteos, derivado de los peces con espinas óseas en sus aletas. Las escamas cicloides tienen bordes lisos, mientras que las escamas ctenoides tienen dientes diminutos en el borde posterior llamados ctenii, lo que les da una textura áspera, en forma de peine. Estas escamas casi no contienen hueso, están compuestas de una capa superficial que contiene carbonato de calcio y una capa más profunda, compuesta en su mayoría de colágeno.

A su vez, las escamas ctenoides pueden subdividirse en tres tipos:

- Escamas crenadas, donde el margen de la escama tiene muescas y proyecciones.
- Escamas espinoides, donde la escama tiene espinas que se continúan con la misma escama.
- Escamas ctenoides "verdaderas", donde las espinas en la escama son estructuras diferentes.

Las escamas cicloides y ctenoides se superponen, haciéndolas más flexibles que las escamas cosmoides y ganoides. Crecen en tamaño a través de adiciones al margen creando bandas de crecimiento estacional desigual llamados annuli [12].

1.1.3. Celulosa, Quitina y Quitosano

1.1.3.a. Definición y estructura química. La celulosa es el homopolisacárido lineal que forma la mayor parte de la biomasa terrestre, compuesto por moléculas de β -D-glucosa mediante enlaces o-glucosídicos (figura 2(a)), es un polisacárido estructural que forma parte esencial de los tejidos que les dan sostén a las plantas. Es insoluble en agua debido a su estructura fibrosa en la que se presentan puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos de cadenas yuxtapuestas de glucosa de la cadena. Su uso principal es como materia prima para la elaboración de papel y cartones, pero también se utiliza para obtener fibras, derivados de acetato y nitrato de celulosa: principios activos de la pólvora, vidrios parabrisas de carros y películas fotográficas [27]. Por su parte, la quitina es un biopolímero lineal formado por unidades repetitivas de β -N-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces glucosídicos y hace parte de los amino polisacáridos naturales (ver

figura 2b) [28]-[29]. Dentro de las propiedades químicas mencionadas en la literatura [14], se reporta que la quitina es una estructura rígida, que presenta una baja reactividad y alta insolubilidad en agua debido a los puentes de hidrógeno inter e intramoleculares que se forman en la molécula, en consecuencia su uso en diversas aplicaciones es limitado, aunque esta se vuelve soluble en ácidos inorgánicos diluidos cuando el grupo acetilamino pierde su radical acetilo, esto sucede cuando se transforma en su copolímero derivado, el quitosano [9]. Otras propiedades relevantes de este biopolímero son su alto peso molecular y su estructura porosa que favorece una elevada absorción de agua [30].

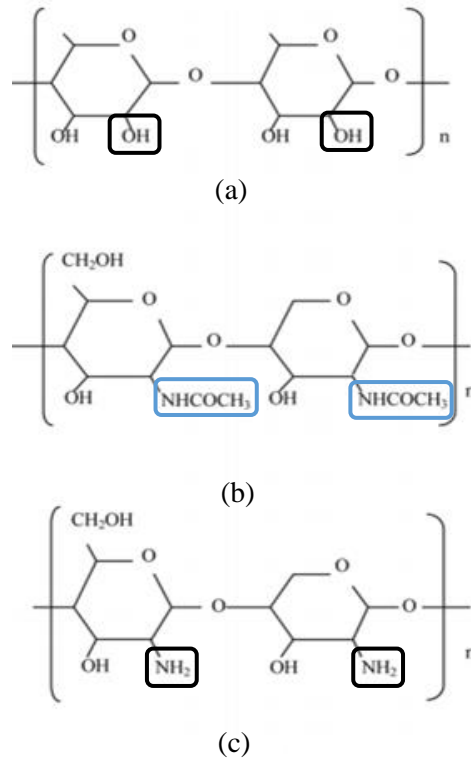
El quitosano es un copolímero de la forma parcial N-desacetilada de la quitina (figura 2(c)) que se obtiene al sustituir los grupos acetamido por grupos amino, la tratar la quitina con álcalis fuertes. Se caracteriza por ser un compuesto de baja toxicidad y cuya cadena polimérica presenta menos unidades de glucosamina en comparación con la quitina, pero posee mejores propiedades de reactividad y solubilidad [14]-[29].

Este biopolímero funcional es uno de los pocos polisacáridos catiónicos de la naturaleza y gracias al valor de pKa que ronda los 6.5 de los grupos amino que lo conforman, posee una carga positiva ligera que le permite solubilizarse en medios ácidos con pH menor a 6.5 o en soluciones neutras dependiendo del valor de desacetilación. Se ha descrito como un polímero biodegradable, no tóxico de alto peso molecular, biocompatible, semipermeable y con altas propiedades antimicrobianas y filmogénicas, de fácil aplicación y ambientalmente amigable [9]-[14].

Como se observa en la figura 2, la estructura de la celulosa y el quitosano es similar, aunque la presencia de grupos amina e hidroxilos en la cadena principal del quitosano le permite realizar ciertas modificaciones en su estructura, a diferencia de la celulosa [14]. Esto resulta conveniente para el desarrollo del proyecto ya que la celulosa como material principal en producción de papel y cartones puede ser utilizada como matriz fibrilar para el quitosano en la creación de un nuevo papel que comparta las características de ambos materiales, lo que es posible mediante la protonación de las aminas de la cadena de quitosano para estabilizar los grupos funcionales negativos de la celulosa, brindándole mayor estabilidad, rigidez y dureza al papel [31].

Figura 2.

Estructura química celulosa, quitina y quitosano



Nota. Estructura química. (a) Celulosa, (b) quitina y (c) quitosano. Tomado de: *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, A Review on the Potential Use of Chitosan-Based Delivery System in Mild Facial Cleansing Formulation*, 2015. [PDF]

1.1.3.b. Aplicaciones del quitosano. Las aplicaciones de quitosano varían según sus propiedades fisicoquímicas, su actividad antimicrobiana, su biocompatibilidad y su degradabilidad. Específicamente y debido al grado de pureza, grado de desacetilación y peso molecular, lo convierten en el próximo biomaterial de mayor interés para las industrias.

Actualmente, se comercializan productos de quitosano de alta pureza en aplicaciones médicas como implantes quirúrgicos, recubrimientos de heridas, pieles artificiales, liberación controlada de medicinas, asimismo para suplementos dietéticos y cremas medicinales.

En un rango de pureza menor, se usa en industrias de cuidado e higiene personal para la fabricación de jabones, shampoos, lociones para la piel y acondicionadores para el cabello.

Además, en la industria de alimentos se han desarrollado biopelículas como recubrimiento alimentario y comida para animales.

Con los rangos de pureza más bajos, este material es utilizado para la fabricación de insecticidas, en recubrimientos textiles, agente de floculación y tratamiento de aguas, incluso para la remoción de metales pesados y mejoramiento de suelos, como aditivo en la industria de papel y como fertilizante en industrias agrícolas [2].

1.1.3.c. Métodos para la obtención de quitosano. Actualmente existen dos métodos para la extracción de quitina y producción quitosano que son: el método químico de desacetilación en medio alcalino y el método enzimático que, a su vez, integra tratamientos fermentativos. Ambos procesos involucran la misma cantidad de etapas reactivas: desproteínización, desmineralización, desacetilación y adicionalmente, es necesaria una etapa de acondicionamiento de la materia prima para cualquier método que se seleccionado.

Pero son el agente y el medio en el cual se produce la desacetilación los factores diferenciadores, pues en el método químico se procura un medio alcalino con el uso de una base fuerte, mientras que, para los procesos enzimáticos, es necesaria una bacteria que garantice la fermentación ácido-láctica del material o en su defecto, un microorganismo que pueda producir enzimas proteolíticas que realicen la ruta fermentativa correspondiente [3].

1.1.3.c.i. Acondicionamiento de la materia prima. Como se hizo mención en el párrafo anterior, existe una etapa previa al proceso reactivo que es el acondicionamiento de la materia prima. La temperatura y tiempo de secado son intrínsecas de la materia prima y varían según el contenido de humedad, no obstante, puede hacerse un lavado con agua potable y posteriormente, un proceso de secado que puede realizarse a temperatura ambiente (23-25°C) por varios días, o si se prefiere en horno o estufa entre 40°C-80°C por alrededor de 2-12 horas [12,30,32]. Existe también una etapa de despigmentación, que consiste en la remoción de pigmentos como astaxantinas, cantaxantinas, luteína y/o β -carotenos con un disolvente que tenga afinidad con estos compuestos y que no despolimerice o desnaturalice la estructura [33]-[7]. Según la literatura es común el uso de etanol o metanol [31], cloroformo o acetona [34] e incluso, una mezcla de disolventes [35] para este proceso, pero la selección del solvente depende directamente de las consideraciones en los criterios de selección del experimentador como por ejemplo: toxicidad, tiempo de exposición, afinidad con los pigmentos y posibles procesos de recuperación posteriores del solvente.

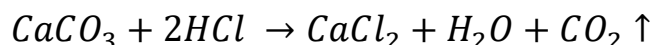
1.1.3.c.ii. Método químico. El método químico se lleva a cabo con el uso de álcalis fuertes y consta de tres etapas reactivas principales que son: desproteínización, desmineralización y desacetilación. Pero existen etapas intermedias que pueden realizarse a elección del experimentador, estas son procesos de purificación [23]-[28].

La desproteínización consiste en la hidrólisis de las proteínas que conformen la materia prima, sometiéndose a disoluciones acuosas alcalinas en concentraciones entre el 1% al 10%, a temperaturas entre los 65°C a 100°C y con un tiempo de reacción de entre 0.5 h a 72 h según lo requiera el proceso. Posteriormente, se recomienda neutralizar el material con la intención de precipitar las proteínas. Algunos de los álcalis más empleados son: NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, NaHSO₃, Na₃PO₄ o Na₂S [29].

Luego de esta primera etapa, se da la reacción de desmineralización, durante la cual se remueven minerales como el carbonato de calcio, carbonato de sodio y/o fosfatos que constituyen la materia prima. En este proceso se presenta efervescencia por la liberación de CO₂ como consecuencia de la precipitación de los minerales en sales de calcio solubles en agua, como se muestra en la ecuación 1. Este proceso se hace en medio ácido usando soluciones acuosas de ácidos como: HCl, HNO₃, HCOOH, H₂SO₄ y CH₃COOH, a temperatura ambiente y usualmente en concentraciones no mayores al 10% [29].

Ecuación 1.

Reacción de desmineralización de carbonato de calcio con ácido clorhídrico



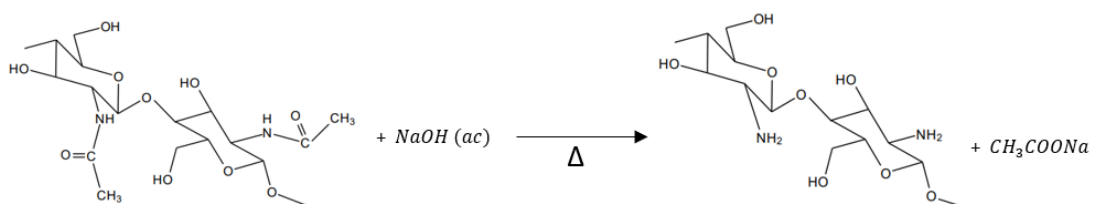
Finalmente, la última etapa es la reacción de desacetilación, la etapa clave para la formación del quitosano. La reacción de desacetilación, consiste en la hidrólisis de los grupos acetamido que se encuentran en el carbono C-2 de la quitina como se muestra en la figura 2 (b) donde se enmarca de color azul el grupo funcional acetamido unido al carbono 2 en la estructura del polímero.

Esta desacetilación se realiza en medio alcalino y las concentraciones del reactivo dependen del tipo de proceso: homogéneo o heterogéneo [29]. En el caso de la desacetilación heterogénea, la concentración de álcali es alta y ronda entre 40%-60%, a temperaturas sobre los 100°C y en presencia de agentes reductores que eviten la despolimerización del quitosano, como por ejemplo el argón atmosférico, tiofenol o borohidruro

de sodio (NaBH_4) y/o el sulfito de sodio (Na_2SO_3) [36]-[37]. Por otra parte, la desacetilación homogénea se lleva a cabo con concentraciones moderadas de álcali (alrededor del 30%), a temperaturas entre 25-40°C y por tiempos de exposición entre 12 a 24 horas [38].

Ecuación 2.

Reacción de desacetilación termo alcalina de quitina



Una anotación importante es que en compañías donde la obtención de quitosano se realiza a gran escala y con alto grado de pureza y desacetilación, es necesario implementar una etapa adicional a la desacetilación denominada etapa de purificación.

En publicaciones académicas no se suele desarrollar una etapa de purificación ya que son procesos que requieren activos financieros elevados pues involucran reactivos costosos o membranas de filtración [39] con especificaciones detalladas que permiten aislar el producto de mayor calidad apto para uso farmacéutico, alimenticio y/o biomédico.

1.1.3.c.iii. Método enzimático. Esta metodología es desarrollada bajo el concepto de “Química verde”, el cual está orientado a proponer alternativas amigables con el medio ambiente integrando procesos químicos y biológicos en el mismo sistema.

En estos procedimientos la extracción de quitosano también consta de un proceso de acondicionamiento, el cual ya ha sido descrito anteriormente y la desproteinización, desmineralización y despigmentación pueden llevarse a cabo usando extractos de enzimas, enzimas aisladas o fermentaciones biológicas (bacterias o hongos).

En cuanto a la desproteinización, esta puede realizarse por métodos enzimáticos o fermentativos, ya sea por parte de los microorganismos o la aplicación directa de enzimas proteasas, se obtiene como resultado proteínas hidrolizadas.

No obstante, la eficiencia del proceso varía de un organismo a otro o de una enzima a otra. El uso de microorganismos da pie a la producción de ácidos orgánicos que reaccionan con los minerales presentes en la materia prima y permiten su precipitación como sales hidrosolubles que luego de procesos de lavado y/o filtrado son removidas. Según la literatura, la lacto bacteria es el

microorganismo más utilizado en procesos de desmineralización por su eficiencia [36] pues en su actividad microbiana produce ácido láctico, el encargado de precipitar los minerales. Finalmente, la remoción de pigmentos como: astaxantinas y cantaxantinas también puede realizarse mediante actividad enzimática [3].

1.1.4. Economía circular e innovación ecológica

La economía circular en la actualidad se define como la estrategia de producción, consumo y gestión de residuos que permite a largo plazo la sostenibilidad ambiental, de recursos y de costos para cualquier compañía en el mundo. Este modelo procura principalmente compartir, reutilizar, reparar, renovar y también reciclar materiales y productos existentes siempre y cuando sea posible procurarles un valor añadido.

Son siete los principios que constituyen la economía circular:

1. Desincentivar la generación de residuos.
2. Crear estímulos económicos para que los materiales mantengan su valor.
3. Propiciar la recirculación de materiales a través del reúso y el reciclaje.
4. Reducir la extracción y uso de materiales vírgenes.
5. Aumentar el aprovechamiento de las capacidades energéticas de los residuos.
6. Evitar que los residuos impacten negativamente la salud humana y el medio ambiente.
7. Contribuir al uso sostenible de los recursos materiales utilizados en la producción.

En otras palabras, este sistema busca reducir el impacto de la sobreexplotación de los recursos naturales finitos a través de la reducción del consumo y desperdicio de materias primas, agua y fuentes de energía proponiendo como alternativa el aprovechamiento de los residuos en nuevos ciclos productivos o el regreso de estos a las cadenas productivas de donde fueron fabricados en un primer momento. Es así como se genera un proceso cíclico que desplaza el modelo económico actual de extraer, consumir, generar residuos y desechar.

De la mano con lo que se expresa en el párrafo anterior, la economía circular se extiende directamente hacia el campo de la ingeniería de procesos, de allí se establecen los doce principios de la ingeniería verde. Estos invitan a todos los ingenieros y demás profesionales que participan de manera directa o indirecta de cadenas productivas, a esforzarse por diseñar procesos que, en primera instancia, maximicen la eficiencia en el uso de la materia prima y minimicen el consumo de energía y materiales. Pero, adicionalmente promueve el diseño de procesos, productos y sistemas orientados hacia la producción bajo demanda más que hacia el agotamiento de las

materias primas e igualmente, sea posible reutilizar componentes tras el final de la vida útil del producto.

Es por esto por lo que productores, intermediarios e incluso los mismos consumidores se han puesto en la tarea de idear nuevas estrategias y herramientas que permitan reducir el impacto ambiental que producen toda clase de artículos cuando su vida útil finaliza, motivo por el cual bajo el concepto de “ecodiseño” se busca reducir costos de producción, optimizar la calidad y vida útil de los productos, seleccionar recursos más sostenibles o con menor consumo energético, implementar energías más limpias y minimizar los costos de gestión de los residuos y desechos. Al mismo tiempo se busca hacer frente a la normativa ambiental y atender a las peticiones de los consumidores que en la actualidad se inclinan por adquirir productos ambientalmente amigables, provenientes de procesos sostenibles y libres de crueldad animal.

A raíz de esto, en varios países alrededor del mundo se han elaborado novedosos materiales y productos cuya materia prima se ha obtenido de residuos agroindustriales mayoritariamente. Por ejemplo, en América Latina a partir de fibras y desechos de productos pesqueros, específicamente con escamas, se han ideado proyectos que en la actualidad han sido tan novedosos y llamativos que ingenieros de distintas áreas se han dado a la tarea de escalar estos proyectos que iniciaron de manera artesanal o quizá en un pequeño laboratorio, y lo han llevado a nivel industrial.

Gracias a esto, se ha podido acceder a productos alternativos, amigables con el medio ambiente e igual de útiles para la industria y para los consumidores como alternativa al uso de materiales plásticos en la industria del empaque de productos no alimenticios, etiquetas de ropa, así como en la producción de nuevos artículos de papelería cuyas aplicaciones van desde áreas como el diseño, las artes plásticas hasta el diseño arquitectónico a pequeña escala [40].

En 2011, un estudiante en el Reino Unido desarrolló varios artículos de escamas de pescado de manera artesanal y utilizando únicamente calor y presión, sin embargo, se desconocen muchos detalles sobre cómo se realizó este increíble proyecto, lo que sí se conoce es que algunos de los objetos construidos son vasos y gafas para nadar, aunque también usó las escamas como incrustaciones en muebles [38].

Un estudio en India reveló la elaboración exitosa de un compuesto de resina con escamas del pez *Labeo rohita*, las cuales fueron trituradas y utilizadas como fase de refuerzo de una resina epóxica [41]. Este material presentó características favorables como un bajo índice de porosidad, mejora en la micro dureza y la ligera disminución a la tensión y flexión si se le comparara con la resina

libre de escamas. Así mismo, se experimentó el desarrollo de láminas biodegradables usando la fibra orgánica de las escamas como matriz de la resina, proyecto que dejó a discusión el potencial de este compuesto para su implementación en ingeniería ya que sus propiedades pueden ser explotadas potencialmente y esto le permite tener una alta variedad de aplicaciones en distintas industrias.

De manera similar, pero con otro origen de la materia prima, la ingeniería tisular ha puesto sus ojos en el desarrollo de matrices sintéticas compuestas de quitosano proveniente de la pluma de calamar con fines biomédicos, entre ellos está la regeneración de tejido óseo dañado por enfermedades degenerativas como la osteoporosis, osteonecrosis o por tumores óseos.

La búsqueda de nuevos materiales en el campo de la ingeniería de tejidos permitió el desarrollo de sustancias poliméricas de origen natural, cuyas características y propiedades favorezcan la adhesión, proliferación y biocompatibilidad del quitosano. Un grupo de investigadores, resaltan en su trabajo que los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica y biológica de lo que ellos denominan “scaffolds” de quitosano-PCL, sugieren un enorme potencial para ser adicionados con dosis de alendronato para su aplicación en la ingeniería de tejido óseo [46]. Estas novedosas e ingeniosas aplicaciones del quitosano en el desarrollo de nuevas aplicaciones interdisciplinarias empiezan a llamar especial atención para quienes desean investigar, desarrollar y descubrir el potencial de productos terminados con propiedades asombrosas provenientes de buenas estrategias de aprovechamiento de residuos no aprovechados.

Los ejemplos citados en esta sección son una pequeña muestra de los avances en ingeniería en campos como la investigación y desarrollo de nuevos materiales, productos y proyectos ambientalmente sostenibles que le den un valor agregado y un correcto aprovechamiento a residuos de las industrias piscícolas, particularmente para este proyecto, las escamas de pescado, que en el pasado se consideraron “residuos” pero que en la actualidad ya hacen parte de nuevos materiales para la innovación tecnológica en una amplia variedad de procesos industriales.

Es necesario destacar que en la literatura existe un sin fin de documentos, proyectos y avances en aplicaciones de otros residuos que están siendo aprovechados industrial y/o artesanalmente muchos países alrededor del mundo, que han encontrado en los desechos una fuente potencial de generación de nuevas materias primas que podrán ser aplicadas en novedosos procesos de producción de cualquier índole o que dan pie a la integración de estos a procesos de fabricación ya existentes.

2. METODOLOGÍA

2.1. Estrategia de trabajo: Primer objetivo específico

2.1.1. Recolección y acondicionamiento de la materia prima

El primer objetivo específico está orientado a caracterizar la materia prima (escamas de pescado) mediante un análisis de composición proximal, y para dar cumplimiento a este, los propietarios de las tres pescaderías seleccionadas de la plaza recolectaron las escamas de Tilapia roja y gris en bolsas plásticas durante aproximadamente 3 semanas.

Luego, fueron recogidas y almacenadas dentro de un refrigerador doméstico marca Haceb a una temperatura aproximada de -4°C , mientras se pactó la fecha y hora de entrega de la muestra al laboratorio que se encarga de realizar las prueba, se realizó un lavado a temperatura ambiente e inicialmente, se sumergió la muestra de escamas en un recipiente plástico, el cual se llenó de agua potable y mediante una separación manual se removió la mayor parte de impurezas como piel, espinas y otros residuos que las acompañan.

Finalmente, la muestra fue secada a temperatura ambiente durante dos días, registró un peso de 600 g, fue envasada y rotulada según el número de muestra asignado.

2.1.2. Determinación de la composición proximal

La muestra de escamas de Tilapia roja y gris se envió a análisis proximal de consumo humano completo a los laboratorios de la empresa Enzipan S.A, donde se van a extraer con mayor interés los valores de proteínas, calcio y cenizas para el desarrollo del presente trabajo. Los demás análisis que hacen parte del análisis proximal completo son parte de la metodología de cálculo del laboratorio para determinar los valores de mayor relevancia ya mencionados.

En la tabla 2, se especifican los análisis y métodos empleados para la caracterización de la muestra.

Tabla 2.*Análisis y métodos de caracterización proximal de la muestra*

Análisis	Método
Calcio	UNE-EN 15505 (Digestión microondas- AA llama)
Carbohidratos totales	NTC 512-2
Cenizas	AACC 08-01
Grasa	NTC 6240
Humedad	Gravimetría
Proteínas Kjeldahl	ISO 1871

Nota. Los análisis implementados para la determinación de la composición proximal de la muestra de Tilapia gris y roja fueron propuestas por los analistas de la empresa contratada y siguen las metodologías reportadas en los métodos de la tabla.

2.1.3 Revisión bibliográfica y especificaciones técnicas

Se realiza la revisión bibliográfica para la selección de las dos metodologías con las cuales se orientarán los parámetros, condiciones y etapas reactivas que hacen parte del objetivo específico 2. Los criterios de selección de las metodologías obedecían a una fuente de materia prima similar, que para este proyecto hace referencia a escamas de pescado. También se tuvo en cuenta que ambos procedimientos se tratasen de obtención de quitosano a mediante ruta química de desacetilación en medio alcalino, así mismo, se prefirió elegir documentos con una clara descripción de la metodología y cuya fecha de publicación fuer reciente, concretamente no mayor a cinco años de antigüedad. Teniendo en cuenta estos criterios, se considera que metodologías descritas por Tri-Putri D., *et al* [42] para la obtención de quitosano a partir de las escamas del pez *Channa striata* y, la especificada por E. Gokulalakshmi [45] con la cual se extrajo quitosano de las escamas del pez *Clarias gariepinus*, son procedimientos concretos y concisos con la información necesaria y condiciones de operación replicables para la extracción de quitosano de las escamas de Tilapia.

A continuación, se recopilan las condiciones para la extracción de quitosano según los dos procedimientos metodológicos de la literatura:

Tabla 3.*Metodologías seleccionadas para la etapa experimental*

Etapas	Metodología 1 (M₁)	Metodología 2 (M₂)
Acondicionamiento	Lavar continuamente la muestra con agua potable, secar al ambiente y posteriormente reducir el tamaño de partícula hasta alcanzar un polvo fino de 50 mesh.	Recolectar, acondicionar y secar a 50°C la muestra de escamas en un horno de secado por 24 horas.
Desproteínización	Sumergir la muestra en NaOH (en concentración 4% m/v) hasta ebullición por 1 hora en una relación 1:1 m/v. Lavado con agua destilada hasta pH neutro y secado por 24 horas a 50°C.	Sumergir la muestra en NaOH (en concentración 2-4% m/v) y calentar hasta ebullición. Luego dejar enfriar por 30 minutos.
Desmineralización	Sumergir la muestra desproteínizada en HCl (en concentración 1M) en una relación con la muestra de 1:5 m/v, bajo agitación por 24 horas a 30°C.	Sumergir la muestra desproteínizada en ácido clorhídrico (al 1%) por 24 horas.
Desacetilación	Sumergir la muestra en NaOH (en concentración 50% m/v), aumentar la temperatura hasta alcanzar 100°C y contabilizar 2 horas. Filtrar la muestra resultante y lavar con agua destilada hasta pH neutro. Finalmente, secar a 120°C por 24 horas.	Sumergir la muestra en hidróxido de sodio (en concentración del 50% m/v) a 100°C por 2 horas. Lavar continuamente con NaOH al 50% y posteriormente filtrar. Finalmente secar a 110°C por 6 horas.
Purificación	No aplica	Filtrar la muestra, precipitar el quitosano con NaOH (en concentración 1N) y desmineralizar una última vez con ácido clorhídrico e hidróxido de sodio.

Nota. Las metodologías de la literatura seleccionadas fueron parcialmente modificadas para ajustar variables críticas como: Temperatura, tiempo de retención y concentración de reactivos. Tomado de: Tri-Putri D., et al. “*Synthesis and Characteristics of Chitosan from Haruan (Channa striata) Fish Scales*” Departamento de *Biomédica*, Facultad de Odontología, Universidad de Lambung, Banjarmasin, Indonesia, 2020. [PDF].; E. Gokulalakshmi, K. Ramalingam, Umasankari, and M. Vanitha, “Extraction and Characterization of Chitosan Obtained from Scales of Clarias gariepinus (Catfish),” *Biotechnol. J. Int.*, vol. 18, no. 4, pp. 1–8, 2017. [PDF].

2.2. Estrategia de trabajo: Segundo objetivo específico

2.2.1 *Pretratamiento de la materia prima*

2.2.1.a. Lavado. Para iniciar la etapa de limpieza y acondicionamiento de la materia prima, se realizó el lavado de las escamas para retirar restos de carne, espinas y materiales extraños que pudieran quedar adheridos en el proceso de descamación y eviscerado de los peces.

Este procedimiento se llevó a cabo a temperatura ambiente e inicialmente, se colocó la muestra de escamas en un recipiente plástico, el cual se llenó de agua potable y se sumergió allí repetidas veces con el fin remover la mayor parte de residuos que las acompañan. Nuevamente se repitió el proceso anterior, pero la muestra se remoja en un poco de ácido acético (concentración de 3-5 %) en 3 L de agua potable para disminuir la actividad microbiológica presente.

Finalmente, si no se ha eliminado el olor y los restos adheridos a las escamas, estas se sumergen en una solución con hipoclorito de sodio de uso doméstico por un tiempo no mayor a 10 minutos.

2.2.1.b. Secado. Una vez lavada la materia prima, se procede a una etapa de secado. El objetivo de esta etapa es retirar el exceso de agua que es absorbido y contenido en las escamas, además se realiza con el fin de someter la muestra a un posterior proceso de molienda sin que se forme una pasta por exceso de humedad. El secado se realizó a temperatura ambiente por 3 días, con ayuda de toallas absorbentes, papel periódico y un secador de cabello para agilizar el proceso, ya que la muestra recolectada es bastante grande.

2.2.1.c. Molienda. Por último, se realizó una molienda a la mitad de muestra de materia prima para reducir el tamaño de partícula con el propósito de estudiar el efecto de este sobre el proceso de obtención del quitosano y formación de papel. Según la literatura el tamaño óptimo debe estar entre los 200 a 500 micrómetros, debido a esto, la molienda se realizó en una licuadora Oster Classic con potencia de 600 Watts y capacidad de 1.25 L, en la cual se introdujeron 139 g de escamas por 26 minutos.

Más tarde, la muestra de 100 g fue colocada en un tamiz vibrador digital PINZUAR PS-34 151, con mallas cuya abertura varían entre 4.75 mm y 1 mm por 15 minutos. Cumplido el tiempo de tamizado, se pesó el contenido retenido en cada malla para determinar un aproximado del tamaño de partículas obtenidas del proceso de molienda.

2.2.2. *Obtención de quitosano*

La obtención de quitosano se desarrolló en los Laboratorios de Química de la Facultad de Ingeniería Química, Universidad de América.

Tras una revisión bibliográfica, se seleccionaron dos artículos que proponen metodologías similares en cuanto a materia prima utilizada y concentración de reactivos se refiere, y que, en adición, se ajustan a los criterios de selección que se han establecido para el correcto desarrollo del presente documento: disponibilidad de reactivos y materia prima, tiempo demandado por etapa reactiva y requerimiento energético.

Las dos metodologías seleccionadas para el proceso de obtención de quitosano (M_1 y M_2) reportadas en la literatura constan de las siguientes etapas reactivas: desproteínización, desmineralización, despigmentación y desacetilación. A elección del experimentador los métodos extractivos pueden o no involucrar la despigmentación, para este caso se realizaría el proceso de remoción de pigmentos en ambos métodos ya que el objetivo final es producir papel de quitosano cuyas características físicas sean, en la medida de lo posible, lo más similares al papel blanco de celulosa.

2.2.2.a. Proceso de desproteínización. La remoción de proteínas de colágeno se realiza en medio alcalino. En la metodología M_1 , la desproteínización se llevó a cabo sumergiendo las muestras m_1 , y m_2 en una solución de NaOH (Hidróxido de sodio) al 4% bajo la relación escama-solvente 1:1 (g/mL), a temperatura ambiente durante 12 horas. Para la metodología M_2 , las muestras m_3 y m_4 fueron remojadas en una solución de NaOH (Hidróxido de sodio) al 4% a una relación escama-solvente 1:5 (g/mL), hasta ebullición por 1 hora. Luego, las cuatro muestras se llevaron hasta pH neutro agregando agua desionizada, se filtraron, secaron a 80°C por 4 horas y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

2.2.2.b. Proceso de desmineralización. Los minerales como: carbonato de calcio y el fosfato de calcio fueron retirados mediante precipitación mediante solución acuosa de HCl (ácido clorhídrico) 1M entre 25°C- 30°C y un tiempo de residencia de 24 horas. Para las cuatro muestras se estableció la relación escama-solvente 1:5 (m/v) a 30°C, como se reporta en ambas referencias metodológicas. Pasadas las 24 horas, ambas muestras se llevaron a pH neutro con agua desionizada, se filtraron y se secaron a temperatura ambiente.

Las modificaciones en los parámetros de operación del método 2 (M_2) para las muestras m_3 y m_4 tienen como objeto el estudio del posible efecto de la agitación sobre el proceso de remoción de minerales y grado de desacetilación del quitosano.

2.2.2.c. Proceso de despigmentación. Normalmente, dependiendo de los solventes que se utilizan en las etapas de desproteínización y desmineralización no es posible remover completamente los

pigmentos que se encuentran en la materia prima. Es por esto por lo que, en esta etapa de decoloración, se realizó una búsqueda bibliográfica para la elección del solvente con mayor afinidad a los pigmentos y se encuentra que el solvente de menor costo, alta afinidad y fácil comercialización es el etanol y de acuerdo con esto se decidió sumergir las cuatro muestras (m_1 , m_2 , m_3 y m_4) en etanol al 96%, con agitación constante a 500 rpm durante 1 hora a temperatura ambiente para realizar la etapa de despigmentación.

2.2.2.d. Proceso de desacetilación. La desacetilación, para las cuatro muestras (m_1 , m_2 , m_3 y m_4) se realizó en medio alcalino con una solución de NaOH en solución al 50% durante 2 horas a una temperatura promedio entre 80°C – 85°C. Para este procedimiento se tiene en cuenta las siguientes anotaciones:

1. La relación escama-solvente 1:5 (m/v) la cual fue asignada tras realizar una revisión bibliografía adicional, ya que las dos metodologías de referencia seleccionadas no reportan este parámetro.
2. Todas las muestras deben ser lavadas y neutralizadas con agua desionizada, para posteriormente ser filtradas y secadas a una temperatura no mayor a 80°C por 10 horas.

Las condiciones originales que están descritas en las metodologías seleccionadas de la literatura, fueron modificadas ya que para esta etapa se reporta una temperatura de 120°C por 24 horas, esta variable tiene incidencia en la probabilidad de degradación del polímero teniendo en cuenta que el material tiende a descomponerse a temperaturas mayores de 80°C [44]-[45].

2.2.2.e. Análisis de las muestras. Los análisis propuestos para la caracterización de las muestras desacetiladas teniendo en cuenta procedimientos reportados en la literatura con temáticas similares al presente documento, son las siguientes:

2.2.2.e.i. Identificación de quitosano en la muestra y grado de desacetilación. Para detectar la presencia de quitosano en la muestra desacetilada de escamas, el quitosano reacciona con una solución de reactivo de Lugol al 1%, este reactivo permite que la mezcla se tiña de un color amarillo pardo.

Luego, se adicionó H_2SO_4 (Ácido sulfúrico) 1 M el cual se espera que reaccione con el quitosano y permita que éste se disuelva. El cambio de color de amarillo pardo a violeta indica la reacción positiva a la presencia de quitina. [41]

2.2.2.e.ii. Solubilidad. El método para verificar la efectividad de la desacetilación es la medición de la solubilidad. Esta se realiza introduciendo en tubos de ensayo 100 mg de muestra de quitosano

en 5 mL de diferentes solventes orgánicos e inorgánicos. Los tubos de ensayo se deben agitar y dejar en reposo durante 24 horas aproximadamente, según la existencia de precipitados o no, se determina la solubilidad parcial o total [28].

2.2.2.e.iii. Rendimiento. Los rendimientos escama-quitosano y quitina-quitosano, se calcularon pesando en una balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g, la muestra inicial de escamas para el rendimiento escamas-quitosano corresponde al valor de (RT) y después de la reacción de desacetilación (RR), se volvió a pesar la muestra [28]. Posteriormente, se realiza el cálculo del rendimiento de la siguiente manera:

Ecuación 3.

Porcentaje de rendimiento (%R)

$$\%R = \frac{RR}{RT} * 100$$

2.3. Estrategia de trabajo: Tercer objetivo específico

2.3.1. *Proceso de obtención de quitosano para la muestra principal MP*

Según los resultados obtenidos del segundo objetivo específico, se seleccionó una de las cuatro muestras con los mejores resultados en términos de color, fácil manipulación, solubilidad y tamaño de partícula y adicionalmente cantidad de quitosano producida. Una vez seleccionada la muestra se identifica la metodología con la cual se procesó para realizar nuevamente las etapas de desproteínización, desmineralización, despigmentación y desacetilación de la muestra principal obedeciendo dicha ruta metodológica.

2.3.2. *Formación de la pasta de papel*

La preparación de la pasta se realizó preparando una base de celulosa reciclada en medio neutro y paralelamente, la pasta con escamas en medio ácido, usando ácido acético. Es importante realizar la trituración de celulosa y escamas en simultáneo ya que esto facilita la uniformidad de absorción de agua en ambas fibras y disgregación de fibras lo que permite que estas puedan enlazarse mejor en la etapa final de formación de la hoja de papel.

Ambos materiales son sometidos a un proceso de trituración en una procesadora de comida y dispuestas en un recipiente plástico grande el cual contendrá agua potable, medio en el cual se dispersará el material triturado el cual deberá reposar allí durante 20 minutos. Este procedimiento se realiza para las cuatro muestras de papel según las siguientes proporciones:

- Muestra 1: Matriz con 80% de celulosa reciclada y 15% de escamas de pescado.
- Muestra 2: Matriz con 55% de celulosa reciclada y 20% de escamas de pescado.
- Muestra 3: Matriz con 30% de celulosa reciclada y 20% de escamas de pescado.
- Muestra 4: Matriz con 0% de celulosa reciclada y 49% de escamas de pescado.

2.3.3. Elaboración de la preforma de las hojas

Se realizaron tres muestras cuyas matrices están compuestas por celulosa reciclada y escamas de pescado parcialmente desacetiladas en distintas proporciones como se describe en el párrafo anterior. Por otra parte, se formó una cuarta muestra cuya matriz se compone únicamente por escamas parcialmente desacetiladas. Estas matrices fueron la base para la aplicación del quitosano obtenido de las escamas y cuyas proporciones se distribuyeron de la siguiente manera:

- Muestra 1: Matriz con 80% de celulosa reciclada, 15% de escamas de pescado y 5% de quitosano.
- Muestra 2: Matriz con 55% de celulosa reciclada, 20% de escamas de pescado y 25% de quitosano.
- Muestra 3: Matriz con 30% de celulosa reciclada, 20% de escamas de pescado y 50% de quitosano.
- Muestra 4: Matriz con 0% de celulosa, 49% escamas de pescado y 51% quitosano.

Luego del lapso de 20 minutos, se introdujo un bastidor con malla que retuvo la pulpa elaborada con las composiciones mencionadas. Se retiró la pulpa delicadamente con ayuda de una esponja y se dejó reposar sobre un lienzo de algodón para que adsorbiera el exceso de agua. Este procedimiento se repitió para la elaboración de cada una de las cuatro preformas de papel.

2.3.4. Secado y prensado de las preformas

Cuando se haya disminuyó el exceso de agua, se cambiaron nuevamente las toallas de algodón y se dejaron las muestras allí por 2 días. Luego de minimizar el contenido de agua, fue necesario someter las hojas a un proceso de prensado para que al secarse las fibras no se doble del papel y tras 5 días de secado de las hojas a temperatura ambiente y bajo prensado, se obtienen las hojas de papel. Con el fin de mantener lisas las hojas, sin curvaturas que se generan por las regiones húmedas que se secan en distintos intervalos de tiempo, las muestras de papel se sometieron una vez más a un proceso de prensado, pero esta vez es en caliente. Para ello se alisaron las muestras pasando varias veces una plancha aproximadamente a 71°C.

2.3.5. Retención de pigmento

Como análisis adicional para evaluar la aplicabilidad de las hojas elaboradas, las cuatro piezas fueron sumergidas en un recipiente que contenía tinta vegetal verde disuelta en agua. Luego de 10 minutos se retiraron del recipiente, se secaron a condiciones ambientales y se hizo un registro fotográfico. Pasadas 24 horas se volvió a hacer un registro fotográfico de las muestras para ser comparadas con las fotografías iniciales. Con el resultado de retención de color de las muestras, se realizaron los análisis correspondientes que permitieron dar respuesta a los fenómenos que se presentaron.

2.4. Materiales y equipos

A continuación, se indican los materiales y equipos requeridos para dar cumplimiento a las actividades planteadas para cada objetivo.

Tabla 4.

Tabla de equipos e instrumentos requeridos por objetivo

OBJETIVO	PROCEDIMIENTO	PASOS	EQUIPOS E INSTRUMENTOS	
1. Establecer la equivalencia estequiométrica de ácido- minerales y base-proteínas necesarios para los procesos de desmineralización y desproteínización.	ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN PROXIMAL	N/A	N/A	
Metodologías para la obtención de quitosano			M ₁	M ₂
2. Implementar dos procedimientos experimentales reportados en la bibliografía para la extracción de quitosano.	EXTRACCIÓN DE QUITINA Y QUITOSANO	Acondicionamiento de materia prima	Recipiente plástico, molino, tamiz, molde de aluminio, horno de secado, balanza analítica	
		Desproteínización	Erlenmeyer, Beaker, plancha de calentamiento, agitador, tamiz, recipiente plástico, papel indicador de pH o potenciómetro.	
		Desmineralización		
		Despigmentación		
		Desacetilación		
	CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO	Rendimiento	Balanza analítica, tubos de ensayo, gradilla, pipeta, potenciómetro, bureta de 50ml, Erlenmeyer y montaje de titulación.	
		Solubilidad	N/A	
Grado de desacetilación				
3. Producir papel de quitosano a nivel laboratorio siguiendo el procedimiento experimental con mejores resultados.	PRODUCCIÓN DE PAPEL	Formación de la pulpa	Recipiente, licuadora, toallas absorbentes.	
		Formación de la hoja	Dos bastidores (uno con rejilla), recipiente plástico.	
		Prensado	Prensa, toallas de algodón plancha de calentamiento	
		Secado		
	CARACTERIZACIÓN DEL PAPEL	Retención de pigmentos	Recipiente plástico, probeta graduada, agitador, balanza analítica	

Nota. Se relacionan los materiales y equipos requeridos para cada procedimiento realizado para dar cumplimiento a los objetivos propuestos para el presente documento. Tomado de: Taquez-Bueno L., y Vargas-Torres G., “*Obtención y evaluación del quitosano a nivel laboratorio para la depuración de aguas residuales industriales provenientes de un laboratorio cosmético,*” Tesis de pregrado. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Bogotá, Colombia, 2018. [PDF]

2.5. Sustancias y reactivos

A continuación, se indican las sustancias y reactivos utilizados para dar cumplimiento a los procesos reactivos y pruebas de caracterización para las actividades propuestas para dar cumplimiento a los objetivos.

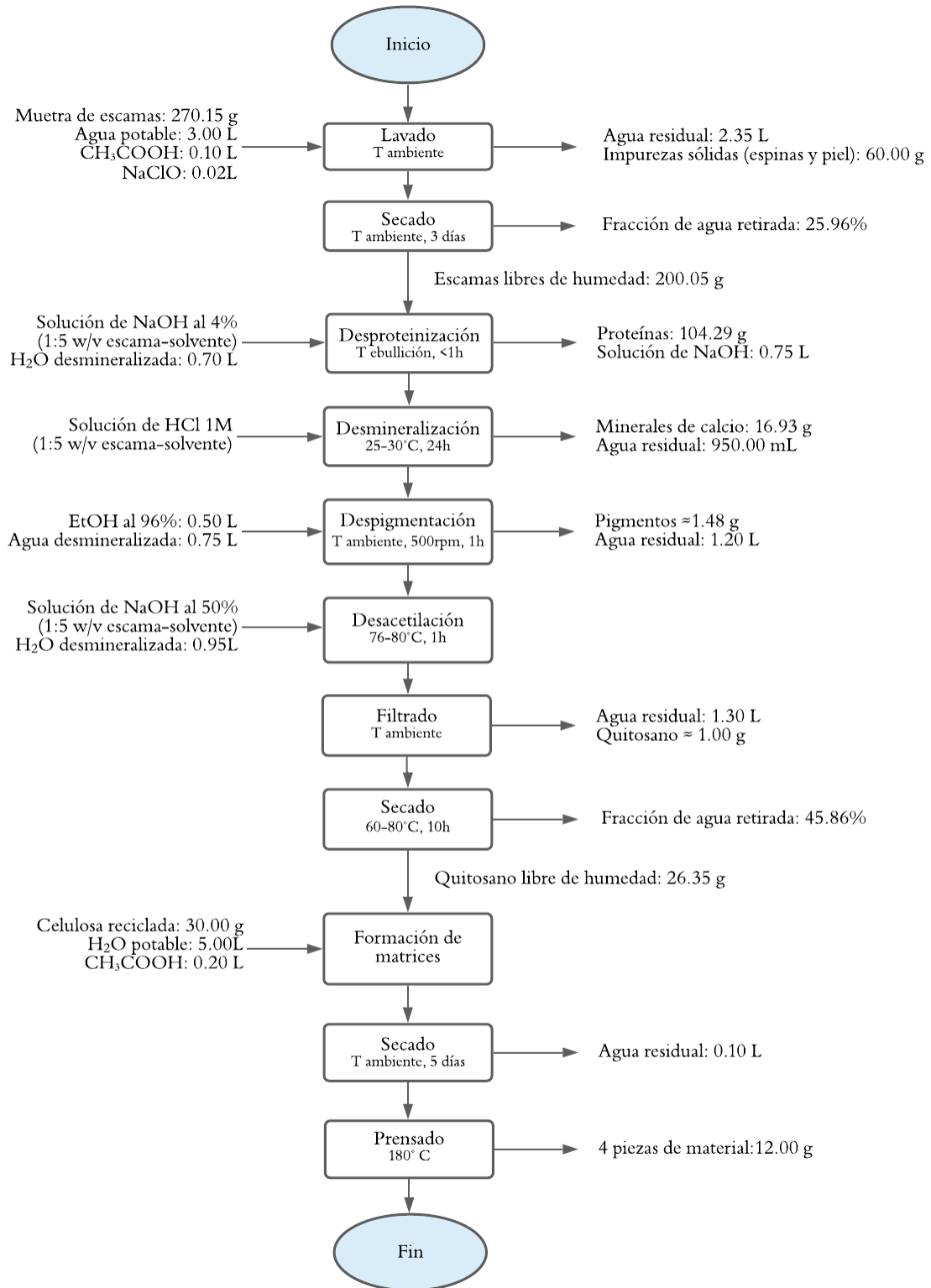
Tabla 5.

Tabla de sustancias y reactivos requeridos por objetivo

OBJETIVO	PROCEDIMIENTO	PASOS	SUSTANCIAS Y REACTIVOS	
1. Establecer la equivalencia estequiométrica de ácido- minerales y base-proteínas necesarios para los procesos de desmineralización y desproteínización.	ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN PROXIMAL	N/A	Muestra de escamas de pescado de Tilapia roja y gris	
Metodologías para la obtención de quitosano			M₁	M₂
2. Implementar dos procedimientos experimentales reportados en la bibliografía para la extracción de quitosano.	OBTENCIÓN DE QUITOSANO	Acondicionamiento de materia prima	Agua desionizada	Agua desionizada
		Desproteínización	NaOH al 4%	NaOH al 4%
		Desmineralización	HCl 1M	HCl 1 M
		Despigmentación*	Etanol grado analítico	N/A
		Desacetilación	NaOH al 50%	NaOH al 45%
	CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO	Solubilidad	Quitosano, etanol grado analítico, ácido acético, HCl 0.2M y agua destilada.	
		Presencia de quitosano	H ₂ SO ₄ 1M, Reactivo del Lugol al 1%	
3. Producir papel de quitosano a nivel laboratorio siguiendo el procedimiento experimental con mejores resultados.	PRODUCCIÓN DE PAPEL	Protonación	Ácido acético al 3%, agua destilada	
	CARACTERIZACIÓN DEL PAPEL	Retención de pigmentos	Agua potable, pigmento sintético color verde	

Nota. Se relacionan las sustancias y reactivos requeridos para cada procedimiento realizado para dar cumplimiento a los objetivos propuestos para el presente documento. D. K. T. Putri *et al.*, “Synthesis and characteristics of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) fish scales,” *Syst. Rev. Pharm.*, vol. 11, no. 4, pp. 15–20, 2020, doi: 10.31838/srp.2020.4.04.[PDF] ; E. Gokulalakshmi, K. Ramalingam, Umasankari, and M. Vanitha, “Extraction and Characterization of Chitosan Obtained from Scales of *Clarias gariepinus* (Catfish),” *Biotechnol. J. Int.*, vol. 18, no. 4, pp. 1–8, 2017, doi: 10.9734/bji/2017/27944. [PDF]

2.6. Diagrama de bloques del proceso (BFD)



3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. Composición proximal

En cumplimiento del primer objetivo, los resultados de análisis de composición proximal: humedad, cenizas, grasa, carbohidratos, proteínas y una prueba especial para la determinación de calcio en la muestra de 600 g escamas, entregados por la empresa ENZIPAN S.A, se resumieron en la siguiente tabla:

Tabla 6.

Composición proximal de escamas

Parámetros	Resultados	Unidades
Humedad	20.27	(g/100g)
Cenizas	25.78	(g/100g)
Proteína	52.13	(g/100g)
Carbohidratos	1.76	(g/100g)
Lípidos	0.06	(g/100g)
Calcio	8.707	(g/100g)

Nota. Resultados del análisis de composición proximal para la muestra de Tilapia roja y gris.

Tabla 7.

Comparación de resultados composición proximal

Parámetros	Escamas de Tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Escamas de Tilapia roja (<i>Oreochromis spp</i>)	Escamas de Tilapia gris y roja
% Humedad	13.08	15.18	20.27
% Cenizas	36.06	32.08	25.78
% Proteína	54.97	67.96	52.13
% Carbohidratos	9.21	-	1.76

Nota. Contraste de la composición proximal de tres especies de Tilapia distintas. Tomado de: L. Boarin Alcalde y G. Graciano-Fonseca, “Proceso alcalino para la extracción de quitina y producción de quitosano a partir de escamas de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*),” 2016 [PDF]; J. Quintero y J. E. Zapata, “Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta,” 2017. [PDF]

3.2. Obtención de quitosano

3.2.1. Molienda y tamizado

Luego del proceso de molienda y tamizado para una muestra de escamas de 100 g en mallas con aberturas entre 4.75 y 1 mm, se obtuvo la distribución de la muestra por cada malla, como se ilustra en la tabla 7.

Tabla 8.

Resultados del proceso de tamizado

No. Malla	Abertura (mm)	Cantidad de la muestra retenida (g)
4	4.75	4.5
5	4	27.7
6	3.35	30
8	2.38	27.6
12	1.68	5.2
16	1.19	3
18	1	2
Total (g)		100

Nota. Datos obtenidos del proceso de tamizado de escamas de Tilapia roja y gris.

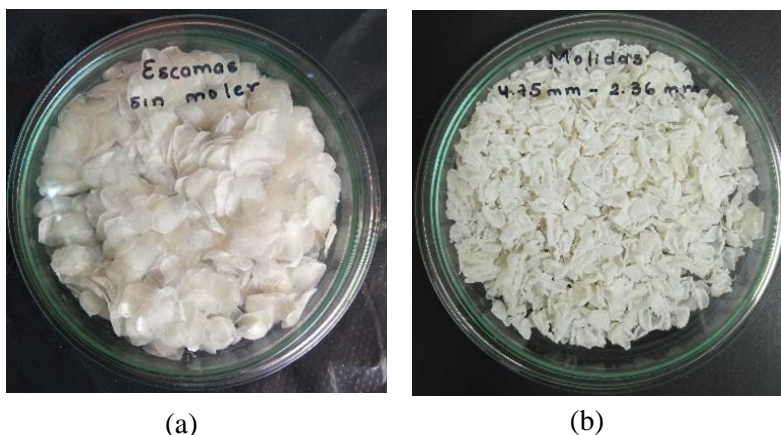
A pesar del tamaño sugerido en segunda metodología para la reducción del material hasta 50 mesh o 0.5 mm aproximadamente, la disminución de tamaño podría significar un alto riesgo de despolimerización del compuesto de interés como ocurrió con la muestra m₃ en la figura 4(c). Del mismo modo, tal reducción del tamaño de partícula en los procesos de filtrado puede producir una mayor tasa pérdida de material debido a su limitado tamaño inicial y la continua pérdida de este en etapas reactivas donde se utilizan ácidos y bases fuertes a altas temperaturas.

3.2.2. Elección del tamaño de las muestras

Teniendo en cuenta los resultados de la tabla 8, para la elección del tamaño de las muestras se eligieron las mallas 4 a 8 en donde se concentra el 89.8% de la muestra de escamas y con las cuales puede resultar más fácil la implementación de las etapas reactivas y la manipulación de las muestras. Los 89.8 g de escamas molidas se dividieron en dos partes iguales cada una de 44.9 g las cuales constituyen las muestras m_1 y m_3 . Por otra parte, la muestra de 100 g de escamas sin moler fue distribuida también en dos muestras: m_2 y m_4 cada una con peso de 44.9 g, quedando 10.2 g escamas sin moler como excedente.

Figura 3.

Tamaño y forma de las muestras



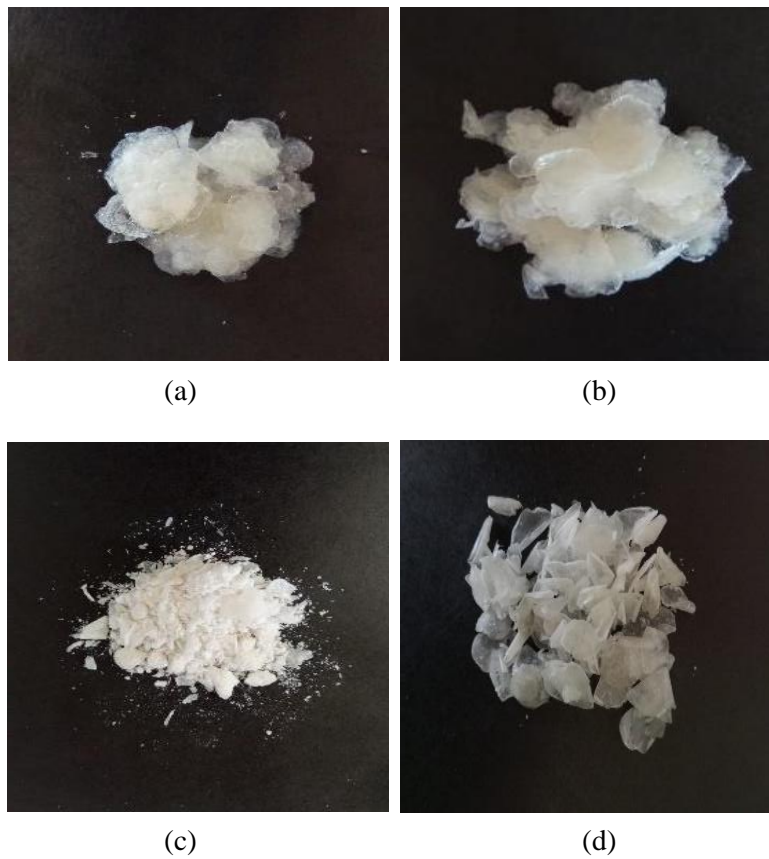
Nota. La imagen 3 (a) corresponde a la apariencia de las muestras m_2 y m_4 las cuales no fueron molidas, muestra que la figura 3(b) corresponde a la apariencia m_1 y m_3 las cuales fueron molidas.

3.2.3. Desproteización

Las muestras m_3 y m_4 correspondientes a la metodología M_2 presentaron una evidente degradación de la materia prima en comparación de las muestras m_1 y m_2 . Como se observa en la figura 4c, las condiciones de operación de M_2 contribuyeron a la completa degradación de la materia prima, haciendo de las escamas molidas (m_3) una muestra polvorosa.

Figura 4.

Resultado desproteinización de las muestras



Nota. Imágenes del proceso de desproteinización. (a) Muestra m₁; (b) muestra m₂; (c) muestra m₃ y (d) muestra m₄.

Tabla 9.

Resultados del proceso de desproteinización

Muestra	Peso previo a desproteinizar (g)	Peso posterior a desproteinizar (g)
m ₁	44.9	18.35
m ₂	44.9	20.08
m ₃	44.9	11.49
m ₄	44.9	16.83

Nota. Datos del peso (en gramos) en base seca de las muestras m₁, m₂, m₃ y m₄ antes y después de la etapa de desproteinización.

Debido a la notable reducción de la materia prima según los datos obtenidos de peso como se reporta en la tabla 9, es posible que se haya presentado la precipitación de las proteínas, pero también la degradación del componente de interés en las muestras m_3 y m_4 tratadas con la ruta metodológica M_2 . Por esto, se decide hacer una modificación en el procedimiento disminuyendo el tiempo de exposición a menos de 1 hora, así como también, la disminución en la temperatura.

Con estas nuevas condiciones, se replicó el procedimiento de desproteínización para estas dos muestras degradadas exponiéndolas al medio alcalino por alrededor de 45 minutos y temperatura promedio de 76°C , condiciones que resultaron favorables para las muestras m_3 y m_4 ya que presentaron una mejora en su grado de degradación, lo que se evidencia en la siguiente tabla.

Tabla 10.

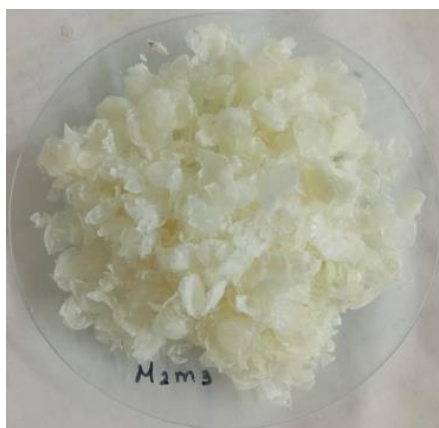
Resultados de la segunda desproteínización

Muestra	Peso desproteínización 1 (g)	Peso desproteínización 2 (g)
m_1	18.35	No aplica
m_2	20.08	No aplica
m_3	11.49	15.43
m_4	16.83	19.62

Nota. Datos del peso (en gramos) en base seca de las muestras m_3 y m_4 antes y después de la modificación en la concentración del reactivo para la etapa de desproteínización en la metodología M_2 .

Figura 5.

Segunda desproteínización de la muestra m_3



Nota. Imagen del segundo proceso de desproteínización para la muestra m_3 .

3.2.4. Desmineralización

La cantidad de ácido que se suministró por muestra según la relación escama-solvente de 1:5 (g/mL) propuesta en la metodología se calculó de la siguiente manera:

Ecuación 4.

Determinación de la cantidad de calcio en la muestra

$$g \text{ de calcio en la muestra} = \frac{g \text{ de la muestra desproteinizada} * 8.7 g}{100 g}$$

Ecuación 5.

Cálculo de HCl requerido para la desmineralización

$$mL \text{ de HCl requerido} = g \text{ de calcio en la muestra} * 5 mL$$

Haciendo uso de las ecuaciones anteriores para cada una de las cuatro muestras se construyó la tabla de datos número 10. Adicionalmente, en la tabla se adicionó el valor de peso (en gramos) de cada muestra luego de los procesos de desmineralización y secado.

Tabla 11.

Resultados del proceso de desmineralización

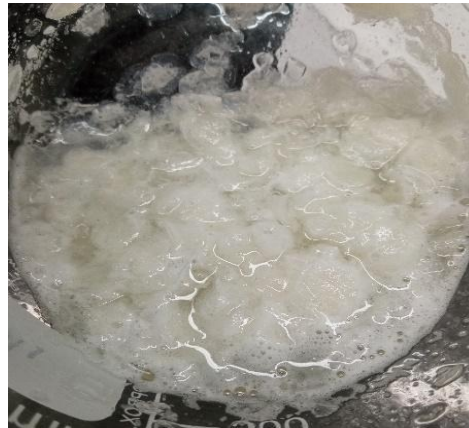
Muestra	Peso antes de desmineralizar (g)	Cantidad requerida de HCl 1M (mL)	Peso después de desmineralizar (g)
m ₁	18.35	8.00	16.13
m ₂	20.08	9.60	17.46
m ₃	15.43	6.41	12.01
m ₄	19.62	9.07	18.38

Nota. Se reportan los pesos en base húmeda entre 35-45%, de cada muestra antes y después de la remoción de minerales de calcio y despigmentación.

Como se muestra en la figura 6, durante el proceso de desmineralización se observó efervescencia en todas las muestras, este resultado concuerda con la literatura y hace constatar que se liberó CO₂ durante la precipitación de sales minerales.

Figura 6.

Liberación de CO₂ durante el proceso de desmineralización



Nota. La liberación de CO₂ en la desmineralización se fundamenta con la precipitación de sales de calcio.

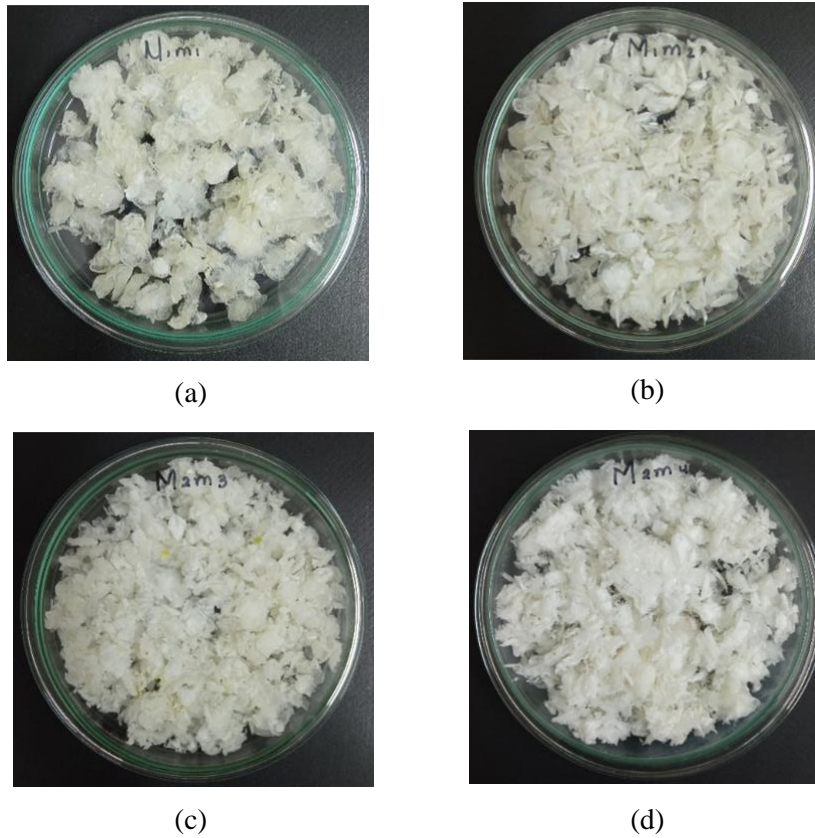
3.2.5. Despigmntación

Antes del proceso de despigmntación, las cuatro muestras ya se habían tornado ligeramente más blancas como se puede ver en la figura 6, adicionalmente, el etanol es mencionado en la literatura como uno los solventes más efectivos por su afinidad con los compuestos coloreados para este tipo de materiales. Es por esto por lo que no fue necesario sumergir las muestras por más de 2 horas en etanol para lograr la remoción de compuestos coloreados.

Las muestras m₃ y m₄ presentaron un grado de despigmntación mayor con respecto a las muestras de la metodología M₁ como se evidencia en las figuras 7(c) y 7(d).

Figura 7.

Resultados despigmentación de las muestras



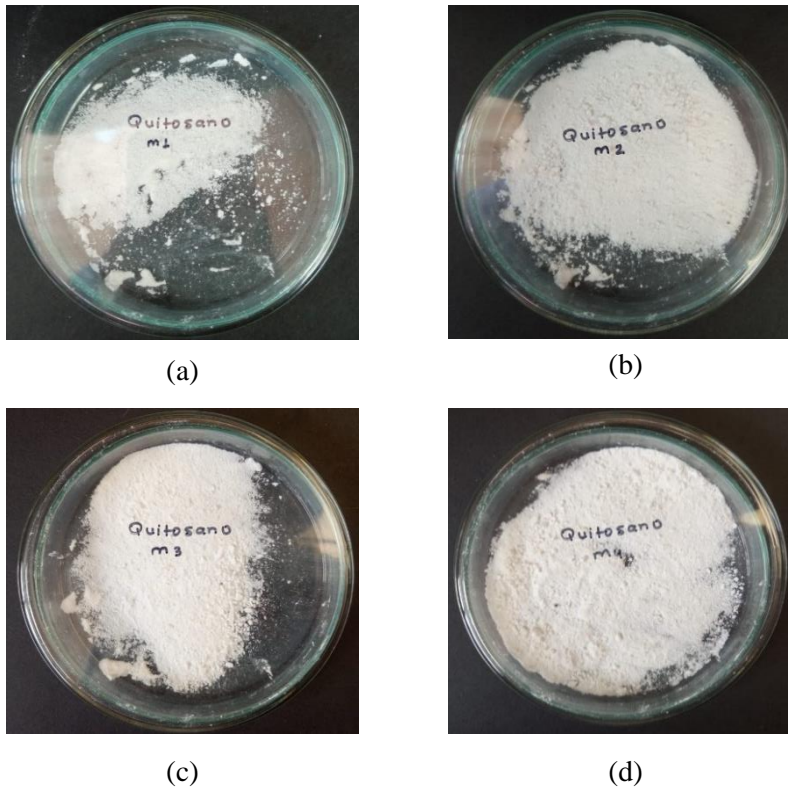
Nota. Proceso de despigmentación. (a) Muestra m_1 , (b) muestra m_2 , (c) muestra m_3 y (d) muestra m_4 .

3.2.6. Desacetilación

Del proceso de desacetilación se obtuvieron dos panoramas distintos. Por el lado de las muestras a las cuales se les aplicó la metodología M_1 , se observó nuevamente un alto índice de degradación del material en las muestras m_1 y m_3 que dio como resultado la precipitación de polvos muy finos en comparación con las muestras m_2 y m_4 de las cuales también se obtuvo material polvoroso, pero más grueso y en mayor cantidad.

Figura 8.

Resultados desacetilación de las muestras



Nota. Quitosano extraído del proceso de desacetilación termo alcalino en la (a) Muestra m₁, (b) muestra m₂, (c) muestra m₃ y (d) muestra m₄.

Tabla 12.

Resultados del proceso de desacetilación

Muestra	Peso previo a desacetilar (g)	Peso posterior a desacetilar (g)
m ₁	16.13	10.16
m ₂	19.46	14.37
m ₃	12.01	8.42
m ₄	18.38	15.33

Nota. Se reportan los pesos respectivos de cada una de ellas antes y después de la remoción de grupos acetamido. El valor de pesaje de cada muestra luego de la desacetilación obedece al peso del quitosano en base húmeda entre 30-45%.

Los valores del peso de cada muestra para cada etapa reactiva se reportan con un contenido de humedad de entre el 30-45% a pesar de que al finalizar cada proceso fueron sometidas a procesos de secado a temperaturas no mayores a 50-70°C. Según estudios cinéticos sobre la degradación térmica de la quitina reportados en la literatura [46], el rango de temperaturas que se menciona anteriormente no debe tener implicaciones en la descomposición de la cadena polimérica de la quitina, sino más bien, se contribuye a la pérdida de humedad en la muestra.

Tabla 13.

Resultados de quitosano obtenido

Muestra	Peso previo al secado (g)	Peso posterior al secado (g)
m ₁	10.16	6.10
m ₂	14.37	9.34
m ₃	8.42	5.89
m ₄	15.33	10.73

Nota. Se reportan los pesos respectivos de cada una de ellas antes y después del proceso de secado de las muestras de quitosano.

Se debe tener en consideración también, que la quitina suele presentar mayores temperaturas de descomposición en comparación con el quitosano y esto se debe principalmente al grado de cristalinidad que esta presenta según la evidencia bibliográfica de difractogramas y Análisis Térmico Diferencial (ATD) [3]-[48]. Esto quiere decir que la quitina en comparación con el quitosano presenta una mayor estabilidad térmica ya que al tener un mayor grado de cristalinidad su estructura molecular es significativamente más rígida que la del quitosano y por esto el requerimiento energético para lograr el rompimiento del compuesto es mayor [43].

Por lo anterior, el proceso de secado del compuesto desacetilado (quitosano) no debería llevarse a cabo a temperaturas mayores de 50°C y por más de 10 horas ya que podría generarse una desestabilización térmica en su cadena como consecuencia del grado de despolimerización y desacetilación, esta última relacionado con el contenido de grupos acetilo de este biopolímero luego de su tratamiento termo-alcalino.

3.3. Análisis de las muestras

3.3.1. Identificación de quitosano en la muestra y grado de desacetilación

Para detectar la presencia de quitosano en las muestras se hizo reaccionar el quitosano con una solución de reactivo de Lugol el cual hizo que la mezcla se tiñera de un color amarillo pardo. Luego, se agregó ácido sulfúrico con el cual se esperaba un cambio en la coloración de amarillo pardo a violeta, lo que indicaría un resultado positivo para quitosano, pero como se muestra en la figura 9, la valoración de quitosano en las muestras dio negativo.

Esto puede deberse por las condiciones en las que se dio la reacción, ya que en la literatura este proceso no detalla a profundidad factores externos al procedimiento (atmósfera inerte, temperatura, presión y humedad), implicaciones del grado de pureza de los reactivos o incluso la naturaleza u origen de la materia prima, ya que la prueba de color propuesta en 1989 se realizó con quitosano extraído de escorpiones.

Figura 9.

Identificación de quitosano en la muestra



Nota. Resultado negativo a la valoración de identificación de quitosano en la muestra por el método reacción de color.

Por otra parte, aunque este fenómeno también podría deberse al bajo contenido de quitosano en las muestras, este no es el caso ya que tanto en los resultados de composición proximal como en la tabla 13, se reporta la presencia del carbohidrato en las muestras.

Teniendo esto en cuenta lo anterior, la valoración de las muestras mediante la reacción de color debería arrojar un resultado positivo reflejado en el cambio de color de amarillo pardo a violeta, haciendo la consideración de que la fuente natural de la quitina no signifique un factor crítico para esta técnica. Debido al dudoso resultado obtenido por colorimetría, se propone la identificación de quitosano en la muestra mediante el método de Espectroscopía de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) en la muestra que registró mayor peso luego de la etapa de desacetilación, esta corresponde a la muestra número 4.

Este procedimiento se realizó en las instalaciones de la empresa SALUS PHARMA LABS en la ciudad de Bogotá a través del grado de desacetilación, medida que indica la cantidad total de grupos acetamido convertidos en amina al someter la muestra a los procesos de desacetilación.

La dependencia de los resultados que se pueden obtener de desacetilación por los métodos analíticos [44]-[45] y métodos de purificación [47] se han reportado en la bibliografía, esto es importante tenerlo en cuenta cuando se plantean comparaciones de los grados de acetilación y desacetilación de quitina y quitosano de diferentes fuentes. El método más referenciado en la literatura es el FTIR-AR, debido a que es relativamente rápido y no requiere la disolución de la muestra en solventes acuosos.

Este proporciona un espectro de reflexión de las bandas de los grupos orgánicos e inorgánicos de interés con una frecuencia de 550-4,000 y una resolución de 4 cm^{-1} en muestras de quitosano, específicamente [49]-[50]. Con ayuda de esta técnica, se determina la longitud de onda de los grupos hidroxilo ($A_{3450} \text{ cm}^{-1}$) y grupo amida ($A_{1655} \text{ cm}^{-1}$), para poder aplicar las siguientes ecuaciones [51]:

Ecuación 6.

Grado de desacetilación (DD)

$$\%DD = 87.8 - \left[3 \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) \right]$$

Ecuación 7.

Grado de acetilación (DA)

$$\%DA = 100 - DD$$

El grado de N-acetilación corresponde al número de unidades de glucopiranos en la cadena del polímero que presenta grupos acetyl incorporados [30]. Tomando (6) y (7) leyendo los resultados para las muestras 1 y 2, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 14.

Resultados Grado de acetilación (DA) y desacetilación (DD)

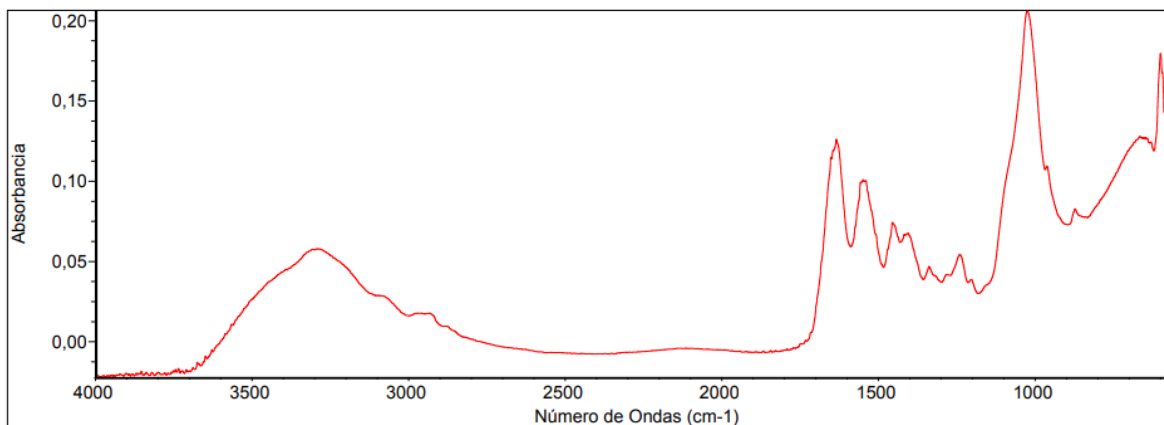
Muestra	Absorbancia en A 1665	Absorbancia en A 3450	% DA	% DD
1	0.0821	0.0389	81.47	18.53
2	0.0108	0.0108	15.2	84.80

Nota. Los valores de absorbancia en las longitudes de onda indicados son propios de las muestras que se analizan para este documento, el cambio de espectros FTIR para sustancias de distinto origen indicarán valores de absorbancia diferentes en regiones distintas del espectro.

Los resultados obtenidos de los espectros FTIR para las muestras de quitina y quitosano se presentan en las figuras 10 y 11, respectivamente.

Figura 10.

Espectro FTIR-ATR muestra 1- Quitina

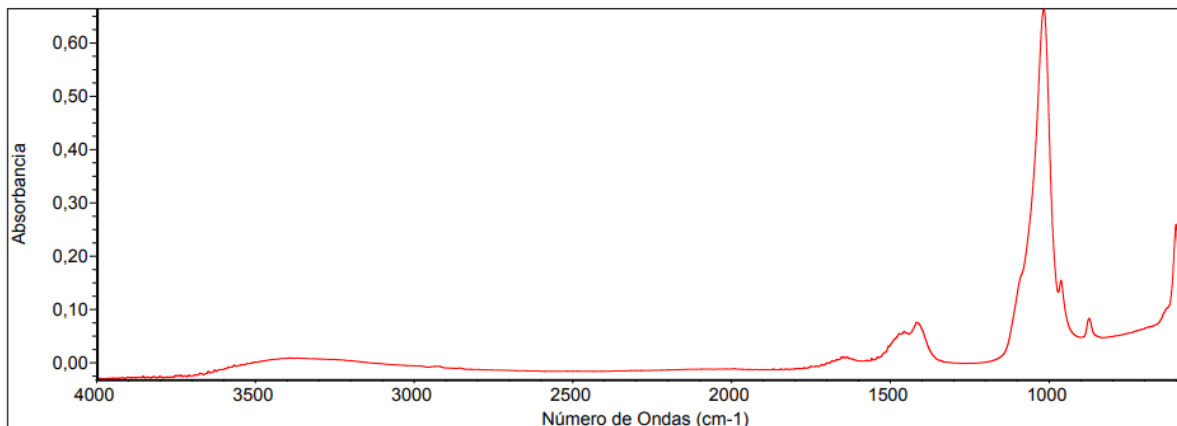


Nota. Espectro FTIR de una muestra de quitina en polvo extraída de escamas de Tilapia roja y gris luego de someterlas a procesos de desproteínización y desmineralización.

El primer espectro revela la presencia de grupos OH alrededor de la banda amplia que según la literatura debería encontrarse entre 3500-3200 cm-1 y que para este caso se halla en 3450 cm-1 con un valor de absorbancia de 0.0389, significativamente mayor que en la muestra de quitosano donde el valor de absorbancia de este grupo en la misma banda es de 0.0108 casi 4 veces menor.

Figura 11.

Espectro FTIR-ATR muestra 2 - Quitosano



Nota. Espectro FTIR de una muestra de quitosano en polvo obtenido del proceso de desacetilación de quitina proveniente de Tilapia roja y gris.

También aparece la tensión del grupo N-H entre las bandas 3400 y 3200 cm^{-1} con una apariencia visiblemente menos amplia que la del enlace O-H. Específicamente en la banda 3295.59 cm^{-1} , la cual en el espectro del quitosano no se evidencia, ya que este es el resultado del proceso de desacetilación acorde con lo reportado en la literatura [48]. Mientras que en la banda 2931.38 cm^{-1} se evidencia la vibración de tensión del enlace C-H, resultado que concuerda con el rango de longitudes de onda para esta región y grupo funcional en particular [49].

Por otra parte, se aprecia una banda que corresponde a una amida I entre los 1700-1600 cm^{-1} , específicamente en 1665 cm^{-1} en ambos espectros, pero se encuentra en menor proporción en la muestra de quitosano que en la de quitina, como se reporta en la tabla 14 con un valor de absorbancia de 0.0108 para el quitosano, este representa la octava parte de lo obtenido para la quitina conforme con lo planteado por Brugnerotto *et al* [52] y Peniche [53].

El grado de desacetilación en muestras de quitosano puede determinarse mediante el FTIR-ATR con el debilitamiento de enlaces N-H representados entre las bandas 3500-3200 cm^{-1} , en las bandas de amidas secundarias entre 1565-1520 cm^{-1} y según la banda que se asocia con el enlace C=O de la amida primaria que suele encontrarse entre 1830-1650 cm^{-1} que generalmente intensa y puede notarse fácilmente.

Cuando la quitina se sumerge en soluciones fuertemente termo alcalinas, sus grupos acetilo en los grupos amida del carbono-2 se hidrolizan en el medio lo que da lugar a la formación de grupos

amino en esta posición, este proceso convierte la quitina en quitosano [54]. La banda de absorción del grupo amida I puede ser la más indicada, por sobre otras bandas mencionadas en el párrafo anterior, para determinar el grado de desacetilación de una muestra de quitosano, tal como se reporta en la literatura las bandas de los grupos amida (I o II) se correlacionan con bandas de referencia como los grupos OH y CH₃ como banda de corrección del grosor del cristal que se utiliza para análisis de FTIR-ATR [49].

Otro aspecto por analizar según resultados revelados en la literatura es que la quitina se puede encontrar en la naturaleza en tres formas cristalinas diferentes; α , β , y γ según su arreglo molecular [3]-[50]. Esto tiene una gran influencia en las propiedades fisicoquímicas de la materia prima, temperatura de degradación y, además significa que las condiciones de operación en los procesos de extracción de quitina y obtención de quitosano pueden no ser los mismos para las tres conformaciones. Pero adicionalmente, el arreglo molecular de la quitina condiciona la determinación de los grados de acetilación y desacetilación de las muestras ya que en los espectros FTIR-ATR las bandas de las amidas primarias y secundarias son distintas; en α -quitinas la amida I produce dos bandas divididas nítidas identificables alrededor de longitudes de onda entre 1660-1620 cm⁻¹, mientras que la conformación β solo presenta una banda alrededor de 1640 cm⁻¹ debido a la vibración de tensión de los enlaces de hidrógeno entre las moléculas [55]. Aunque existe información limitada sobre el espectro infrarrojo de la γ -quitina, M. Kaya *et al* [56] compara los espectros de las tres conformaciones y plantea la hipótesis que para este último arreglo molecular la banda de amida I se presenta parcialmente dividida.

Por lo anterior, se cree que la quitina extraída de las escamas de Tilapia roja y gris es buena fuente de producción de β -quitina ya que las bandas correspondientes a la amida I registradas en el espectro no se encuentran parcial o totalmente divididas en dos bandas distintas.

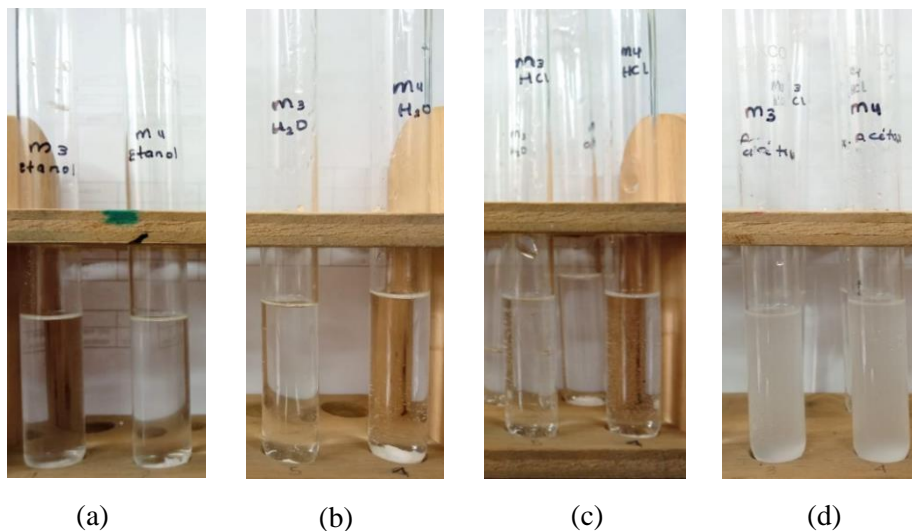
3.3.2. Solubilidad

Como se puede observar en la figura 10 la solubilidad del quitosano es variable según el tipo de solvente con el que se mezcle; para el caso del etanol (a) y agua (b) cuyo pH es neutro el quitosano es insoluble, es por esto por lo que se genera un precipitado de quitosano sin disolver el fondo de los tubos de ensayo, mientras que en ácidos orgánicos como el ácido acético (d) e inorgánicos para el caso de ácido clorhídrico (c), el quitosano logra disolverse parcial y completamente, respectivamente.

La razón por la cual se aprecia turbidez en el ensayo (d) se atribuye posiblemente factores críticos como lo son: la sobresaturación por exceso quitosano en la solución agua-ácido acético, contaminación de la solución ácida que no permite alcanzar la concentración indicada para la completa disolución del material o por el grado de desacetilación de la muestra de quitosano.

Figura 12.

Solubilidad de las muestras



Nota. Resultado de la prueba de solubilidad para las muestras en distintos solventes: (a) etanol, (b) agua, (c) ácido clorhídrico y (d) ácido acético.

Tabla 15.

Resultados de solubilidad de quitosano

Pruebas de solubilidad		
Prueba	Solvente	Solubilidad
a	Etanol	Insoluble
b	Agua destilada	Insoluble
c	Ácido clorhídrico 0.1 M	Soluble
d	Ácido acético 0.2 M	Parcialmente soluble

Nota. Se reporta la solubilidad del quitosano en cuatro solventes (orgánicos e inorgánicos) en concentraciones especificadas para los ácidos.

El comportamiento de la solubilidad del quitosano en los distintos solventes ácidos se fundamenta según la literatura, en la presencia y cantidad de los grupos aminos en su cadena principal los cuales se ionizan con los iones hidronio (H_3O) de las soluciones ácidas lo que le otorga la propiedad de protonarse convirtiéndolo en un polielectrolito catiónico soluble. De allí las aminas ionizadas no son capaces de enlazarse con los ácidos por lo que no se forman puentes de hidrógeno, esto genera el incremento en la flexibilidad de la cadena polimérica facilitando que el quitosano se convierta en un fluido cuando haga parte de los iones disueltos de la solución [28]-[46].

En relación con lo anterior, es importante agregar que la capacidad de disociación del quitosano en ácidos tiene una relación directamente proporcional al grado de desacetilación de la muestra, resultado que se presentó en la sección anterior mediante un análisis FTIR-ATR fue posible determinar el grado de desacetilación del quitosano obtenido, el cual obedeció a un valor de 84.80%.

El ensayo de solubilidad del quitosano también nos permite considerar una transformación efectiva de la quitina en quitosano, ya que se sabe por la literatura que la quitina además de ser insoluble en agua, a condiciones normales no es capaz de disociarse en disolventes orgánicos o soluciones alcalinas o ácidas, a diferencia del quitosano y su alta solubilidad en soluciones ácidas, tal como se muestra en la figura 12.

3.3.3. Determinación del rendimiento

La determinación del rendimiento escamas-quitosano para la muestra 4 (m_4) y la muestra principal (MP) se calcularon con la ecuación 3. En la tabla 16, se recopilan los datos necesarios para realizar el cálculo del rendimiento escama-quitosano en la muestra m_4 y la muestra principal.

De acuerdo con los resultados, se evidencia que el rendimiento global (escama-quitosano) es bajo en comparación con los rendimientos alcanzados por otros autores para otras materias primas como caparazones de crustáceos y camarones, residuos en donde se ha comprobado que el contenido de quitina en la especie Tilapia suele ser del 9% a diferencia del contenido en escamas de pescado, como se estableció en la sección 3.1 en la tabla 6, donde el carbohidrato (quitina) representa alrededor del 1% de una muestra de 100 g de escamas. A pesar de esto, el rendimiento escama-quitosano arrojó resultados cercanos de 13.16% y 13.17% para la muestra con mejores resultados de la primera etapa de experimentación (m_4) y la muestra principal (MP) para la elaboración del papel.

Tabla 16.*Datos para el cálculo de rendimiento*

Ítem	Muestra 4 (m₄)	Muestra principal (MP)
Muestra original de escamas (g)	44.90	200.05
Proteínas extraídas (g)	25.28	104.29
Minerales y pigmentos removidos (g)	4.11	18.31
Muestra sin desacetilar (g)	10.73	47.80
Muestra desacetilada (g)	5.91	26.35
Rendimiento escama-quitosano (%)	13.16	13.17

Nota. Los datos de humedad, proteínas, minerales y pigmentos permiten el cálculo del peso de la muestra antes de la desacetilación, lo que en la ecuación 3 se denomina como RT, mientras que el valor del peso del quitosano obtenido luego de la desacetilación se refiere al término RR.

3.4. Proceso de obtención del quitosano muestra principal (MP)

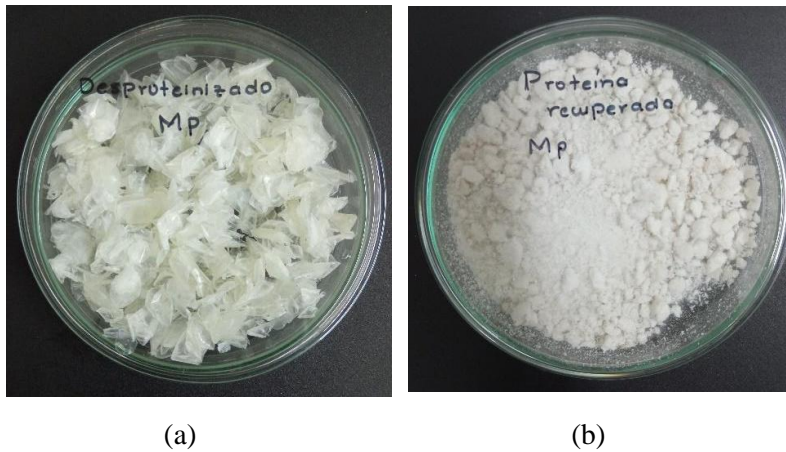
El proceso de obtención de quitosano de la muestra principal (MP), se llevó a cabo con 200.05 g de escamas sin moler y con ciertas modificaciones de la metodología M₂ en los tiempos de exposición, secado y temperatura teniendo en cuenta las diferencias en cuanto a cantidades y proporciones con respecto a las primeras muestras.

3.4.1. Desproteínización de la muestra MP

El proceso de desproteínización fue exitoso, las escamas no presentaron un índice elevado de degradación y adicionalmente, se recuperaron 40.54 g de proteínas precipitadas como se muestra en la figura 13 (b).

Figura 13.

Resultados desproteinización de la muestra MP



Nota. (a) la desproteinización con NaOH de la muestra principal de escamas (MP) y (b) la proteína recuperada por precipitación, filtración y secado de la muestra MP.

3.4.2. Desmineralización y despigmentación de la muestra MP

El proceso de desmineralización y despigmentación siguiendo las especificaciones de la metodología M₂ arrojó buenos resultados. Se presentó efervescencia en la muestra por la precipitación de las sales de calcio con ácido clorhídrico dando lugar al desprendimiento de CO₂ como se indica en la ecuación 1 en la que se muestra que, además de la producción de este gas también se forman moléculas de agua, lo que hace que el medio reduzca pH hacia la neutralidad. Esto se corroboró pasadas las 24 horas de este procedimiento, cuando se introdujo una tira de papel indicador el cual al secarse indicó un valor de pH entre 6-7.

La muestra pesó 26.92 g y luego fue sometida a un proceso corto de secado por 4 horas a una temperatura de 70°C para retirar la mayor cantidad de agua y etanol del material escamoso.

Figura 14.

Resultados desmineralización y despigmentación de la muestra MP



(a)

(b)

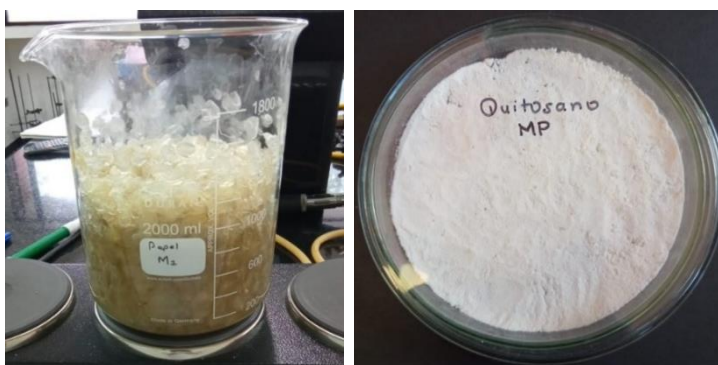
Nota. En (a) se confirma la precipitación de minerales con la generación de CO_2 , (b) el proceso de despigmentación con etanol aclara el tono amarillo de la muestra con respecto al proceso previo.

3.4.3. Desacetilación de la muestra MP

Durante el proceso de desacetilación no se presentó ningún evento distinto a los reportados en la sección 3.2.6. La muestra final pesó 28.16 g, compuesta principalmente por quitosano.

Figura 15.

Resultados desacetilación de la muestra MP



(a)

(b)

Nota. En (a) se documenta el proceso de desacetilación termo alcalino en la muestra MP, y en (b) es la evidencia fotográfica del exitoso proceso de obtención de quitosano luego de la desacetilación de la muestra principal.

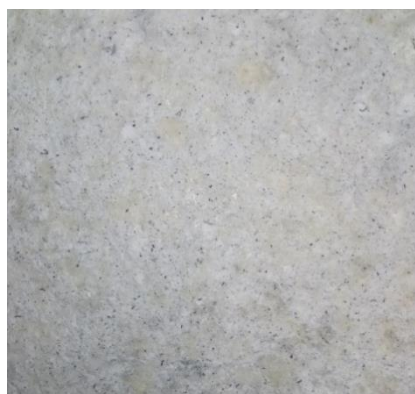
3.5. Resultados de la producción de papel

En el proceso de elaboración de papel fue necesario formar matrices con celulosa reciclada y escamas parcialmente desacetiladas para adicionar quitosano en proporciones del 5%, 25%, 50% y 51% respectivamente. Debido a las propiedades fisicoquímicas que construyen al quitosano, este no es capaz de formar una estructura lo suficientemente fibrilar y flexible para formar hojas de papel que en términos de funcionalidad sean cercanamente similares a las hojas de celulosa que normalmente se utilizan para imprimir o para fabricar cuadernos y agendas.

Si bien las hojas de papel obtenidas no son cien por ciento quitosano y aún no están listas para ser puestas a prueba como papel de impresión, estas presentan propiedades ventajosas de absorción y retención de tintas debido a las porosidades que se forman en la hoja debido a las irregularidades en la morfología de las piezas que puede explicarse por la no uniformidad de secado de los componentes de la matriz e igualmente por las propiedades fisicoquímicas inherentes al quitosano y su grado de desacetilación.

Figura 16.

Muestra 1 y 2 papel de quitosano



(a)



(b)

Nota. La muestra de papel (a) se elaboró con una matriz de 80% celulosa, 15% escamas y 5%-quitosano; la (b) se elaboró con una matriz de 55% celulosa, 20% escamas y 25%-quitosano.

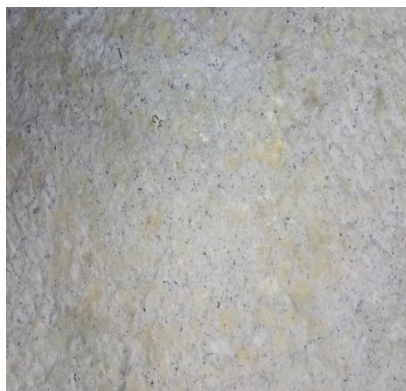
Las principales características de las piezas fabricadas son: un peso de 3 g cada una, dimensiones de 10 cm x 10 cm luego de procesos de perfilación para darles un aspecto completamente cuadrado. En cuanto a sus propiedades estas son ligeramente flexibles pero a la vez más rígidas en comparación con las hojas comunes de celulosa, y, estas características de flexibilidad y rigidez

varían dependiendo del porcentaje de quitosano que se haya agregado a cada matriz, así como también, se ve afectada su porosidad, color y retención de pigmentos.

Paralelamente, la pieza cuyo contenido de quitosano es del 50%, presenta un alto grado de similitud con el material de cartón con el que se comercializan huevos en Colombia. A pesar de que estos recipientes tradicionales están compuestos en un 70% papel periódico - 30% de otros papeles, las propiedades observadas del material de quitosano elaborado podrían permitirle a este la posibilidad ser considerado un material alternativo para la elaboración de recipientes para el transporte de alimentos, ya que con posteriores estudios podría determinarse el potencial de esta pieza para absorber energía causada por impactos durante el proceso de transporte de estos alimentos y también podría protegerlos de ciertas partículas ambientales, ya que el quitosano presenta propiedades antimicrobianas y antifúngicas.

Figura 17.

Muestra 3 papel de quitosano



Nota. La muestra de papel se elaboró con una matriz de 30% celulosa, 20% escamas y 50% quitosano.

Es así, como al disminuir el porcentaje de quitosano en las matrices del papel se obtienen hojas más flexibles y uniformes, menos porosas y con características similares al papel celulosa para usos artísticos y de oficina. Pero aumentar el contenido de quitosano, se forman piezas gruesas, rígidas y con un uso potencial como materiales sustitutos al plástico en la producción de envases para alimentos y etiquetas de ropa (ver figuras 18 y 19) e incluso como piezas para diseños de maquetas en arquitectura, gracias su firmeza y dureza.

Paralelo a las muestras de papel presentadas hasta el momento, en la figura 20 se aprecia una pieza completamente distinta a las anteriores en términos de sus características físicas, así como también en sus propiedades. Este material tiene una tonalidad visiblemente amarillenta a comparación de las otras tres muestras, además, al tacto presenta una dureza y densidad significativamente mayor, es altamente quebradiza y presenta un aspecto similar a las pastillas de escamas de pescado que desarrollaron en 2018 como producto alternativo al plástico, como se muestra en la figura 21. La razón por la que ciertas propiedades de ese material difieran tanto en comparación con las otras es debido a que la cuarta pieza se elaboró con una matriz que difiere a las de las primeras piezas, pues esta última está compuesta únicamente con escamas parcialmente desacetiladas y quitosano.

Figura 18.

Etiquetas ecológicas para ropa



Nota. Producto propuesto elaborado con escamas de pescado como alternativa de etiquetas plásticas. Tomado de: D. Cruz Fabián y A. Oliveri Rivera, *Desarrollo de un producto elaborado con escamas de pescado como alternativa al uso de materiales plásticos*, Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, México, Querétaro, 2018. [PDF]

Figura 19.

Prototipo de empaques ecológicos



Nota. Producto propuesto elaborado con escamas de pescado como alternativa de envases plásticos. Tomado de: D. Cruz Fabián y A. Oliveri Rivera, *Desarrollo de un producto elaborado con escamas de pescado como alternativa al uso de materiales plásticos*, Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, México, Querétaro, 2018. [PDF]

Figura 20.

Muestra 4 papel de quitosano



Nota. La pieza 4 se elaboró con una matriz compuesta por 49% escamas y 51% quitosano. En (a) se observa el aspecto de la pieza de quitosano mientras que en (b) se observa la muestra con un acercamiento que revela de manera más detallada como es la apariencia de esta.

Figura 21.

Pastillas de escama de pescado



Nota. Pastillas de escama de pescado. Tomado de: D. Cruz Fabián y A. Oliveri Rivera, *Desarrollo de un producto elaborado con escamas de pescado como alternativa al uso de materiales plásticos*, Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, México, Querétaro, 2018. [PDF]

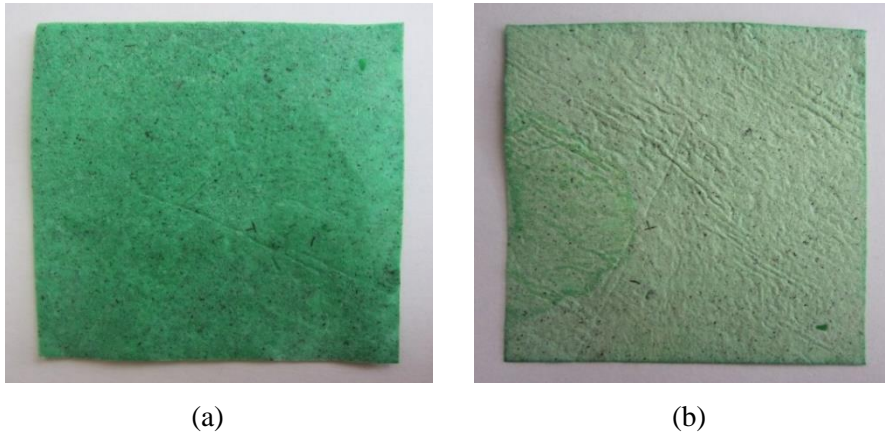
3.5.1. Prueba de retención de pigmento

Se sumergieron en tinta verde fragmentos de las cuatro muestras de papel obtenidas en la sección anterior y adicionalmente, fue necesario realizar una muestra de papel reciclado de celulosa para comparar los resultados de la prueba de retención de pigmento.

Durante la realización de esta prueba se evidencia que la velocidad de adsorción de la tinta en las muestras es casi que inmediata, al cabo de 5 minutos, aproximadamente, todas las muestras se encontraban completamente coloreadas con un tono verde. Algo por resaltar es que, aunque las piezas que contenían escamas y celulosa en su matriz presentan un color visiblemente más vibrante sobre todo en las zonas donde se encuentran las escamas, su coloración no fue homogénea en comparación con la muestra de sólo celulosa, la cual sí presenta una coloración uniforme pero su tonalidad es notoriamente más opaca que el resto de las muestras.

Figura 22.

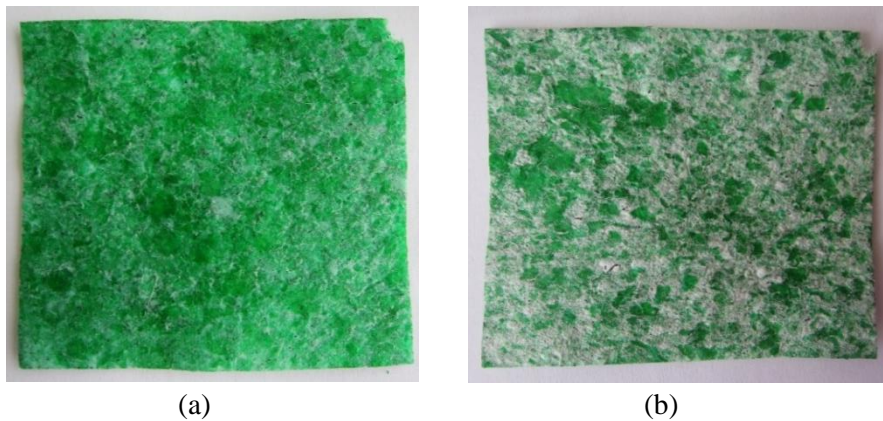
Resultados retención de color muestra de celulosa



Nota. La muestra de papel está compuesta por celulosa reciclada al 100%. En (a) se presenta el resultado de retención de color luego de 5 minutos de exposición a la tinta, en (b) se observa el cambio en la intensidad de color luego de 24 horas.

Figura 23.

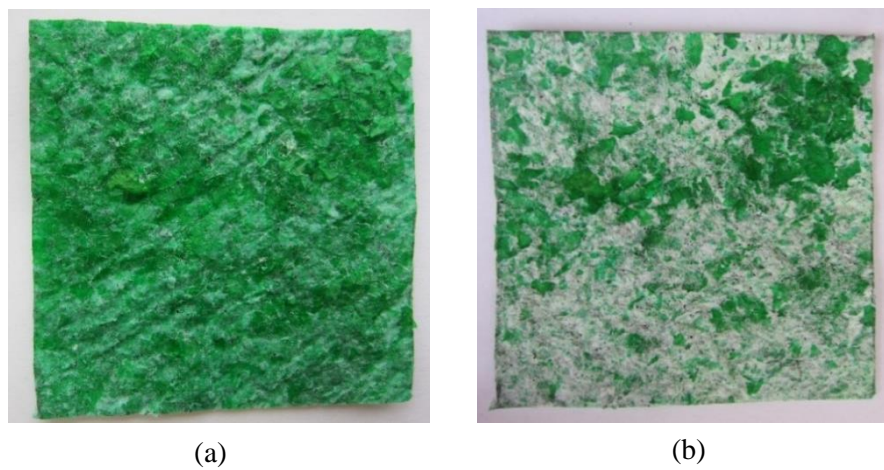
Resultados retención de color muestra 1



Nota. La muestra de papel está compuesta por una matriz de 80% celulosa, 15% escamas y 5%-quitosano. En (a) se presenta el resultado de retención de color luego de 5 minutos de exposición a la tinta, en (b) se observa el cambio en la intensidad de color luego de 24 horas.

Figura 24.

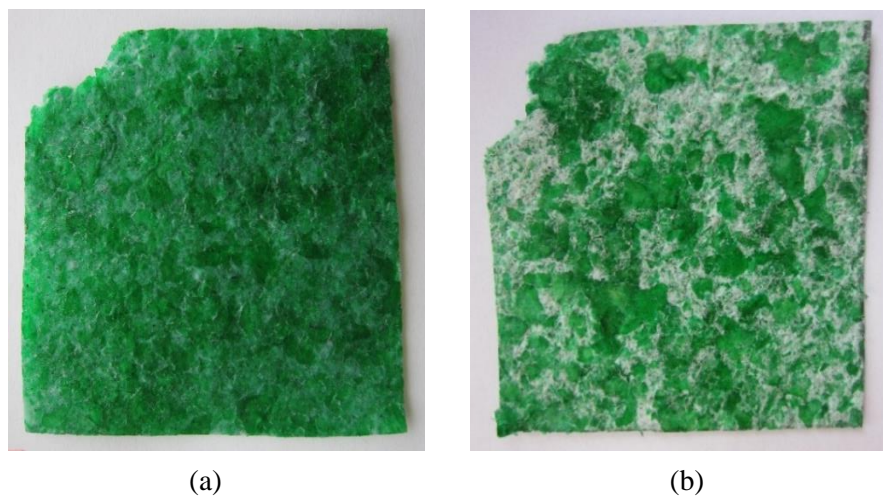
Resultados retención de color muestra 2



Nota. La muestra de papel está compuesta por una matriz de 55% celulosa, 20% escamas y 25% -quitosano. En (a) se presenta el resultado de retención de color luego de 5 minutos de exposición a la tinta, en (b) se observa el cambio en la intensidad de color luego de 24 horas.

Figura 25.

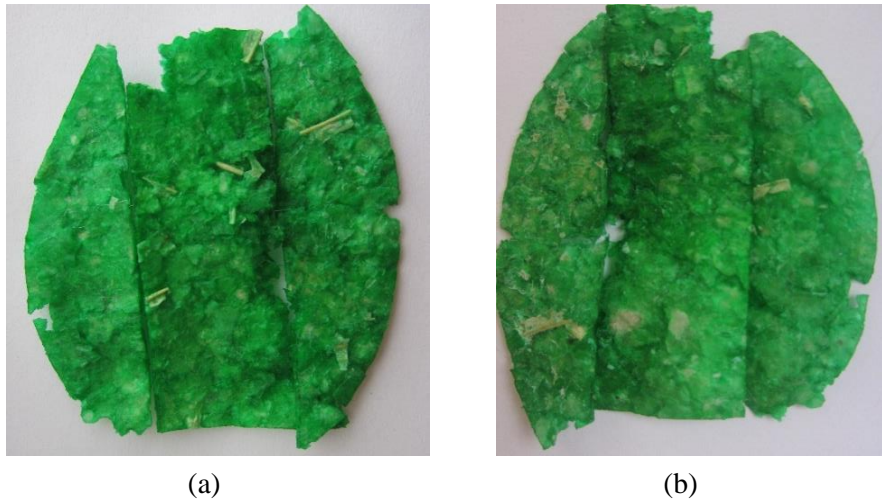
Resultados de retención de color muestra 3



Nota. La muestra de papel está compuesta por una matriz de 30% celulosa, 20% escamas y 50% quitosano. En (a) se presenta el resultado de retención de color luego de 5 minutos de exposición a la tinta, en (b) se observa el cambio en la intensidad de color luego de 24 horas.

Figura 26.

Resultados de retención de color muestra 4



Nota. La muestra está compuesta por 49% escamas y 51% quitosano. No se presenta ningún cambio en la coloración de las muestras (a) y (b) con el paso del tiempo.

Como se puede observar en las imágenes anteriores, la prueba de retención de pigmentos en las muestras se ve afectada por la proporción de componentes en las matrices de papel, esto quiere decir que las piezas con mayor cantidad de escamas y quitosano presentan una retención superior del pigmento y una coloración más brillante e intensa en las zonas donde se concentran estos dos materiales, como se evidencia en la figura 23 (b) comparada con la 25 (b).

Lo anterior se debe a la presencia de escamas y quitosano, los cuales actúan como materiales bio adsorbentes de intercambio iónico [5] lo que les permite la retención de partículas coloreadas y la protección de estas a la degradación, esto se puede comprobar con las figuras 23 (b), 24 (b) y 25 (b), en aquellas regiones donde se encuentran acumuladas las escamas de pescado el pigmento color verde se preserva brillante y vibrante luego de 24 horas, mientras que en las zonas de celulosa se pierde la intensidad del pigmento. Algo similar ocurre con la muestra de papel en la figura 22 (b) en la cual no se presenta la retención efectiva del pigmento luego del tiempo indicado y en cambio, se observa una tonalidad verde opaca y desgastada.

Paralelamente, en la pieza de la figura 26, no se observó cambio alguno en la coloración del material al cabo de las 24 horas, ya que su matriz se compone de quitosano y escamas. Tal como se mencionó en secciones anteriores la presencia y cantidad de los grupos aminos en la cadena principal de quitosano, le permiten protonarse convirtiéndolo en un polication, lo que hace posible

que este material se enlace con sustancias cargadas negativamente como los colorantes sin degradarlos [9].

Por otra parte, la razón por la cual las regiones de celulosa reciclada no son capaces de retener el color por sí mismas se debe a que fibras como la celulosa, algodón y lino no pueden formar enlaces iónicos debido a que en su estructura no poseen grupos ácidos ni básicos que lo permitan, en lugar de estos, dichas fibras se componen por una gran cantidad de grupos hidroxilo los cuales pueden formar puentes de hidrógeno con los pigmentos que tiñen la fibra directamente. Ahora bien, la debilidad de este tipo de enlaces moleculares genera la pérdida del color en las fibras con el paso del tiempo o con lavados sucesivos por lo que es necesario el uso de una sustancia llamada “mordente”, la cual se une mediante enlaces covalentes con el colorante y con los grupos hidroxilos de la fibra para poder fijar el color de manera permanente [57].

4. CONCLUSIONES

Tomando en consideración las equivalencias estequiométricas más frecuentes reportadas en la bibliografía y los análisis de composición proximal para la muestra de escamas de Tilapia roja y gris que se utilizaron para este proyecto, se evaluaron dos relaciones de desproteínización: 1:1 m/v y 1:5 m/v, mientras que para el proceso de desmineralización una gran parte de la documentación que sí reporta las equivalencias concuerda con la relación minerales-ácido de 1:5 m/v.

A partir de los resultados generados para los procesos de desproteínización y desmineralización en muestras con escamas molidas y sin moler, se concluye que para el caso de las proteínas la mejor equivalencia es de 1:1 m/v ya que las muestras tratadas bajo esta equivalencia reportaron aproximadamente 25.05 g de proteínas extraídas, lo que significa un rendimiento de extracción de 91.13%. Por otra parte, con la única relación seleccionada de equivalencia estequiométrica de 1:5 m/v para minerales se retiraron en promedio 4.00 g de minerales con un rendimiento de extracción del 94.89%.

Junto con las equivalencias estequiométricas, el factor de tamaño de partícula resultó ser crucial para el producto resultante de las primeras dos etapas del proceso, en los que las muestras de escamas molidas m_1 y m_3 presentaron una pérdida de peso mayor en comparación con las muestras sin moler m_2 y m_4 . Se determinó que lo ocurrido pudo deberse a la generación de desgarres en las fibras de las escamas durante el proceso de molienda, provocando una mayor exposición del material con el solvente en el medio.

Se implementaron dos metodologías químicas de desacetilación de quitina en medio alcalino para la obtención de quitosano, cuya principal diferencia radica en las temperaturas y tiempos de retención y secado, así como la implementación de etapas adicionales de purificación o despigmentación, como se reporta en la tabla 3.

De conformidad con las metodologías implementadas y los resultados obtenidos se puede concluir que la metodología 2 (M_2) resultó ser la más adecuada para la obtención de quitosano a partir de escamas de Tilapia sin moler, generando 5.91 g de quitosano en comparación con la metodología 1 (M_1) de la cual se obtuvieron 4.97 g. Con los análisis FTIR-ATR realizados a la muestra de quitosano obtenido, se determinó su grado de desacetilación de 84.80%, valor que concuerda con los rangos reportados en la literatura para una desacetilación media del material, el cual es apto para aplicaciones en industria textil, creación de nuevos materiales y tratamiento de aguas.

Se logró la producción de papel de quitosano implementando la metodología 2 (M₂) y elaborando matrices de celulosa y escamas parcialmente desacetiladas las cuales permitieron el desarrollo de tres hojas de papel con diferentes propiedades. Adicionalmente, fue posible desarrollar un material completamente diferente a las muestras de papel y cuyas características permiten impulsar esta investigación hacia el mejoramiento y desarrollo de este nuevo material que ha sido el resultado del correcto aprovechamiento de las escamas de pescado.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. Wu and J. C. Meredith, "Assembly of chitin nanofibers into porous biomimetic structures via freeze drying," *ACS Macro Lett.*, vol. 3, no. 2, pp. 185–190, 2014, doi: 10.1021/mz400543f.
- [2] J. N. Kuniyoshi, "La quitosana la molécula destacada," *Rev. Química PUCP*, vol. 26, pp. 1–2, 2012, [PDF]. Disponible: <http://revistas.pucp.edu.pe/quimica>.
- [3] L. Pighinelli, "Methods of Chitin Production a Short Review," *Am. J. Biomed. Sci. Res.*, vol. 3, no. 4, pp. 307–314, 2019, doi: 10.34297/ajbsr.2019.03.000682.
- [4] D. A. G. Rios, "Technical and Economic Feasibility Analysis of a Plant," Tesis de doctorado, Universidad de Antioquia, Facultad de Ingeniería Química, Medellín, Colombia. pp. 1–174, 2015.
- [5] R. Bonilla et al., "Remoción de pigmentos de efluentes a través de un biofiltro de gravedad de lecho fijo de exoesqueletos de especies marinas", Universidad Tecnológica de Panamá, Centro Regional de Veraguas. [En Línea]. Disponible: <https://studylib.es/doc/6378046/remoci>, Acceso: Junio 16 de 2021.
- [6] S. M. Fijul Kabir, T. Ur Rashid, and I. I. Negulescu, "Gelation of textile dye solution treated with fish scales," *Gels*, vol. 5, no. 3, pp. 1–9, 2019, doi: 10.3390/gels5030037.
- [7] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: Properties and applications," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 31, no. 7, pp. 603–632, 2006, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001.
- [8] I. Younes and M. Rinaudo, "Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications," *Mar. Drugs*, vol. 13, no. 3, pp. 1133–1174, 2015, doi: 10.3390/md13031133.
- [9] Z. Mármol, G. Páez, M. Rincón, K. Araujo, and C. Aiello, "Chitin and Chitosan friendly polymer. A review of their applications," *Rev. Tecnocientífica URU*, no. August 2016, pp. 53–58, 2011.
- [10] "Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro," *Av. en Química*, vol. 1, no. 2, pp. 15–21, 2006.

- [11] M. A. Gómez-Ponce, K. Granados-Flores, C. Padilla, M. López-Hernández, and G. Núñez-Nogueira, “Edad y crecimiento del híbrido de tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (Perciformes: Cichlidae) en la represa ‘Zimapán’ hidalgo, México,” *Rev. Biol. Trop.*, vol. 59, no. 2, pp. 761–770, 2011, doi: 10.15517/rbt.v0i0.3138.
- [12] C. Ramos, “Obtención y caracterización de colágeno a partir de las escamas de pescados rojo y pardo,” Tesis de pregrado. Universidad central del Ecuador, 2018.
- [13] J. Quintero and J. E. Zapata, “Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis* spp) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta,” *Inf. Tecnol.*, vol. 28, no. 1, pp. 109–120, 2017, doi: 10.4067/S0718-07642017000100011.
- [14] A. Martínez. “Propiedades estructurales y fungistáticas de biopelículas de quitosano obtenido de ensilados desecho de camarón”, Tesis de maestría, Universidad de Sonora, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Hermosillo, Sonora, 2009. [En línea] Disponible: [Biblioteca Digital - Universidad de Sonora \(uson.mx\)](http://biblioteca.digitalex.uson.mx), Acceso: Febrero 20 de 2021.
- [15] “Dirección de cadenas pecuarias, pesqueras y acuícolas”, *Gobierno Nacional- Ministerio de agricultura*, Colombia, 2020, [Dispositivas de Power point]. Disponible: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Acuicultura/Documentos/2020-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf>, Acceso: Junio 11 de 2021.
- [16] "Colombia's paper goods imports", *oec.world*, 2020. Disponible: <https://oec.world/en/profile/country/col/?flowSelector1=flow1>, Acceso: Agosto 28 de 2020
- [17] UAESP, “Programa para la Gestión de Residuos Sólidos Orgánicos para la Ciudad de Bogotá D.C.,” Programa para la Gestión Residuos Sólidos Orgánicos, vol. 2, pp. 1–322, 2010, [Online]. Disponible: www.uaesp.gov.co, Acceso: Agosto 28 de 2020
- [18] C. Flores, " Extracción de colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de Rennina", Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de ciencias pecuarias, Riobamba, Ecuador, 2017. [PDF]

- [19] Unidad Administrativa Especial de Servicios Públicos, “No Title,” *Glosario/ Residuo sólido*. <http://www.uaesp.gov.co/transparencia/informacion-interes/glosario/residuo-sólido-o-desecho> , Acceso: Abril 14 de 2021.
- [20] C. Hansen y H. Ockerman, *Industrialización de subproductos de origen animal*. Editorial ACRIBIA S.A., 1994.
- [21] Unidad Administrativa Especial de Servicios Públicos, “No Title,” *Glosario/ Residuo sólido no aprovechable*. <https://www.uaesp.gov.co/transparencia/informacion-interes/glosario/residuo-sólido-no-aprovechable> , Acceso: Abril 14 de 2021.
- [22] J. Gómez y M.J. Benítez, “Evaluar el posible uso de la escama de cachama (*Piaractus brachyomus*) y tilapia (*Oreochromis s.p.*) como desecho de la producción piscícola en la producción de nutrición animal y como enmienda en suelos de la región,” Facultad de ciencias agropecuarias y recursos naturales, 2011. [PDF]
- [23] L. Boarin-Alcalde and G. Graciano-Fonseca, “Proceso alcalino para la extracción de quitina y producción de quitosano a partir de escamas de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*),” *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, vol. 44, no. 4, pp. 683–688, 2016, doi: 10.3856/vol44-issue4-fulltext-3.
- [24] J. Y. Sire and M. A. Akimenko, “Scale development in fish: A review, with description of sonic hedgehog (shh) expression in the zebrafish (*Danio rerio*),” *Int. J. Dev. Biol.*, vol. 48, no. 2–3, pp. 233–247, 2004, doi: 10.1387/ijdb.15272389.
- [25] A. M. Monnot M., Babin P., Poleo G., Andre M., Laforest L., Ballagny C., Epidermal expression of Apolipoprotein E gene during fin and scale development and fin regeneration in zebrafish. 1999.
- [26] Pérez, Z. Ana, and G. Moreno, “Modelos adaptativos en Zoología (Manual de prácticas) 2. Tamaño, forma y alometría,” *Reduca (Biología)*, vol. 2, no. 2, pp. 20–30, 2009.
- [27] R. B. Stoffel, “Fraccionamiento de aserrín de pino destinado a una biorrefinería forestal,” Tesis de maestría. Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ingeniería, Argentina, Río de la Plata, 2016. [PDF]

- [28] L. Taquez y G. Vargas, “Obtención y evaluación del quitosano a nivel laboratorio para la depuración de aguas residuales industriales provenientes de un laboratorio cosmético,” Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, 2018.
- [29] M. Colina *et al.*, “Evaluación de los procesos para la obtención química de quitina y quitosano a partir de desechos de cangrejos escala piloto e industrial,” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 15, no. 1, pp. 21–43, 2014, [Online]. Available: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4554249&info=resumen&idioma=SPA>.
- [30] D. Escobar Sierra, C. Ossa Orozco, and W. Alexander Ospina, “Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparzones de crustáceos,” *Sci. Tech.*, vol. 18, no. 1, pp. 260–266, 2013, doi: 10.22517/23447214.7555.
- [31] A. Chávez, M. Colina, and A. Valbuena, “Obtención y caracterización de papel de quitosano,” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 13(2), p. 12, 2012.
- [32] H. EL Knidri, J. Dahmani, A. Addaou, A. Laajeb, and A. Lahsini, “Rapid and efficient extraction of chitin and chitosan for scale-up production: Effect of process parameters on deacetylation degree and molecular weight,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 139, pp. 1092–1102, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.079.
- [33] D. A. G. Rios, “Technical and Economic Feasibility Analysis of a Plant,” pp. 1–174, 2015.
- [34] J. Giraldo, “Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano,” *Univ. Concepc.*, no. MAY, 2015, doi: 10.13140/RG.2.1.3350.9287.
- [35] W. A. y C. P. G. Agüero, “Estudio de la cristalinidad de la quitosana,” *Rev. Cuba. Química*, vol. 5, p. 25, 1989.
- [36] W. A. C Peniche-Covas, LW Alvarez, “The adsorption of mercuric ions by chitosan,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 46, no. 7, pp. 1147–1150, 1992.
- [37] W. Argüelles-Monal y C. Peniche-Covas, “Preparation and characterization of a mercaptan derivative of chitosan for the removal of mercury from brines,” *Die Angew. Makromol. Chemie*, vol. 207, no. 1, pp. 1–8, 1993, doi: 10.1002/apmc.1993.052070101.

- [38] J. Nieto y C. Peniche, "Preparation and characterization of a chitosan–Fe(III) complex," *Carbohydr. Polym.*, vol. 12, p. 221, 1992.
- [39] S. Kumari and P. K. Rath, "Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (Labeo rohita) Fish Scales," *Procedia Mater. Sci.*, vol. 6, no. Icmpec, pp. 482–489, 2014, doi: 10.1016/j.mspro.2014.07.062.
- [40] D. Fabián, "Desarrollo de un producto elaborado con escamas de pescado como alternativa al uso de materiales plásticos", Ri-ng.uaq.mx, 2021. [En línea]. Disponible: <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1069>, Acceso: Abril de 2021.
- [41] M. Shibata, J. Fujigasaki, M. Enjoji, A. Shibita, N. Teramoto and S. Ifuku, "Amino acid-cured bio-based epoxy resins and their biocomposites with chitin- and chitosan-nanofibers", *European Polymer Journal*, vol. 98, pp. 216-225, 2018. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.11.024>, Acceso: Mayo 28 de 2021.
- [42] D. Tri-Putri *et al.*, "Synthesis and characteristics of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) fish scales," *Syst. Rev. Pharm.*, vol. 11, no. 4, pp. 15–20, 2020, doi: 10.31838/srp.2020.4.04.
- [43] E. Gokulalakshmi, K. Ramalingam, Umasankari, and M. Vanitha, "Extraction and Characterization of Chitosan Obtained from Scales of *Clarias gariepinus* (Catfish)," *Biotechnol. J. Int.*, vol. 18, no. 4, pp. 1–8, 2017. [PDF].
- [44] S. M. Carballo, "Slap 2010 estudio cinético de la degradación térmica de quitina y quitosano de camarón de la especie 'heterocarpus vicarius' empleando la técnica termogravimétrica", *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 11, no. 7, pp. 558–573, 2010.
- [45] L. Benavides, M. Sibaja, J. Vega, M. Camacho y S. Madrigal. "Estudio cinético de la degradación térmica de quitina y quitosano de camarón de la especie "heterocarpus vicarius" empleando la técnica termogravimétrica en modo dinámico". *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 11, 558-573, 2010.
- [46] C. F. Berghoff, "Desarrollo y caracterización de matrices compuestas quitosano/polímero sintético para regeneración de tejido óseo," pp. 1–229, 2011.

- [47] Baxter, A., Dillon, M., Taylor, K. D. A., & Roberts, G. A. F. "Improved method for i.r. determination of the degree of N-acetylation of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*", 14,166–169, 1992.
- [48] J. Quintas y R. López, "Estudio de factibilidad económica para la instalación de una planta productora de papel reciclado", Tesis de pregrado. Instituto Politécnico Nacional, México D.F, 2010. [En línea]. Disponible: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8398/A7.1835.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, Acceso: Mayo 25 de 2021.
- [49] Khan, T. A. (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan: The influence of analytical methods. *Journal of Pharmaceutics and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 205–212.
- [50] P. Mondragón, "Análisis de los espectros infrarrojo", 2020. [En línea]. Disponible: <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/743>, Acceso: Mayo 19 de 2021.
- [51] M. F. Cervera *et al.*, "Solid-state characterization of chitosans derived from lobster chitin," *Carbohydr. Polym.*, vol. 58, no. 4, pp. 401–408, 2004, doi: 10.1016/j.carbpol.2004.08.017.
- [52] J. Brugnerotto, J. Lizardib, F. Goycoolea, W. Argüelles and J. Desbrières. "An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization". *Polymer*, 42, 3569-3580, 2001.
- [53] C. Peniche. "Estudios sobre quitina y quitosana". Ph.D. Disertación, Universidad de la Habana, La HabanaCuba, 2006, 89p. ISSN 0122-1701. 2013.
- [54] Sabnis, S., & Block, L. H. (1997). Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of N-deacetylation of chitosan. *Polymer Bulletin*, 39, 67–71.
- [55] J. Monter *et al.*, "Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de quitina y quitosano de *Brachystola magna* (Girard)," *Rev. Mex. Ing. Quim.*, vol. 15, no. 3, pp. 749–761, 2016.
- [56] M. Kaya *et al.*, "On chemistry of γ -chitin," *Carbohydr. Polym.*, vol. 176, no. August, pp. 177–186, 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.08.076.

- [57] "Química Orgánica Industrial", Eii.uva.es, 2021. [En línea]. Disponible: <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-11.php>, Acceso: Junio 16 de 2021.
- [58] K. Azuma, S. Ifuku, T. Osaki, Y. Okamoto, and S. Minami, "Preparation and biomedical applications of chitin and chitosan nanofibers," *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 10, no. 10, pp. 2891–2920, 2014, doi: 10.1166/jbn.2014.1882.
- [59] Universidad de Hawái en Manoa, "Living Ocean", CRDG.[En línea]. Disponible: https://manoa.hawaii.edu/exploringourfluidearth/media_colorbox/3903/media_original/en
- [60] T. Mahmud, A. Abdul-Aziz y R. Muda. "A Review on the Potential Use of Chitosan-Based Delivery System in Mild Facial Cleansing Formulation, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials", 64:8, 432-437, 2015, doi: 10.1080/00914037.2014. [En línea]. Disponible: https://www.researchgate.net/publication/270648812_A_Review_on_the_Potential_Use_of_Chitosan-Based_Delivery_System_in_Mild_Facial_Cleansing_Formulation, Acceso: Junio 9 de 2021.
- [61] D. Cruz Fabián y A. Oliveri Rivera. "Desarrollo de un producto elaborado con escamas de pescado como alternativa al uso de materiales plásticos", Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, México, Querétaro, 2018. [PDF]

ANEXOS

ANEXO 1

RECOMENDACIONES

El presente documento deja a disposición del semillero de investigación GPS de la Fundación Universidad de América, el desarrollo de futuros estudios que permitan enriquecer esta propuesta. En ese orden de ideas se recomienda la investigación sobre el grado de cristalinidad del quitosano obtenido, factor que repercute en la identificación del tipo de quitina extraída de las escamas de Tilapia y las propiedades de formación de fibras más resistentes del biopolímero, quitosano.

De igual manera, se recomienda la experimentación para determinar el peso molecular tanto de la quitina como del quitosano producido, así como también la construcción de las curvas típicas termogravimétricas (TG) para comprender la relación en la pérdida de peso de la muestra en función del aumento de la temperatura. De allí, se pueden modificar parámetros de operación como la temperatura y concentración de reactivos, de forma más precisa para el tratamiento de esta muestra en específico, lo que podría significar una mejora en la calidad y propiedades del producto final.

Adicionalmente, se sugiere ampliar el estudio de retención de pigmento del quitosano con el diagnóstico de parámetros cinéticos y termodinámicos del material para la aplicación del método de isothermas de adsorción de Langmuir y Freundlich para la determinación de la capacidad de adsorción del material.

Finalmente, se recomienda realizar pruebas de flexión, tensión y dureza de las hojas de papel y del material alternativo al plástico obtenido para poder comparar los resultados con las propiedades de materiales estándar que se comercializan en el mundo y de esta manera, continuar con la mejora de los materiales producidos en este proyecto para que puedan llegar a ser competitivos en el mercado de pulpa, papel y cartón.

ANEXO 2.
RESULTADOS – COMPOSICIÓN PROXIMAL



Tecnología al Servicio de la Industria Alimentaria
INFORME DE ENSAYOS

Muestra No.:	A32605	Informe No.:	I-30274-00-FQ-21
Cliente:	ANDREA CAROLINA FUENTES	Fecha de recepción:	2021-02-09
	CARRILLO		
Dirección:	Calle 146 C # 77-19	Fecha de análisis:	2021-02-09/2021-02-24
Producto:	Escamas de pescado	Tomado por:	Cliente
Fecha de Fab.:	No reporta	Fecha de Venc.:	No reporta
ID Muestra Cliente:	Id S-2594-21-1	Condi. Muestra:	Muestra en buenas condiciones

RESULTADOS

ENSAYO	RESULTADO	UND	METODO
Humedad	20.27	(g/100 g)	Gravimetria
Proteina kjeldahl	52.13	(g/100 g)	ISO 1871
Grasa	0.06	(g/100 g)	NTC 6240
Cenizas	25.78	(g/100 g)	AACC 08-01
Carbohidratos Totales	1.76	(g/100 g)	NTC 512-2
Aporte Calorico	216	(Kcal/100g)	NTC 512-2
Calcio	8707.85	(mg/100g)	UNE-EN 15505(Digestion microondas-AA llama)

REFERENTE NORMATIVO:

OBSERVACION:

Realizado por: 2021021

Revisado por: 2003021

Aprobado por:

Farledys Nisperuza A.

PQ07127 FARLEIDYS NISPERUZA
DIRECTORA TECNICA

FECHA DE INFORME:

LOS RESULTADOS SE APLICAN A LA MUESTRA COMO SE RECIBIO Y SON VALIDOS UNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA, SI LA MUESTRA ES TOMADA POR EL LABORATORIO (SEGUN PDT 90-73 TOMA DE LA MUESTRA) LA INFORMACION DEL MUESTREO ES ENTREGADA POR EL CLIENTE BAJO SU RESPONSABILIDAD. LOS INFORMES NO PODRAN SER REPRODUCIDOS SIN AUTORIZACION DEL LABORATORIO EXCEPTO CUANDO SON REPRODUCIDOS EN SU TOTALIDAD.

FIN DEL INFORME

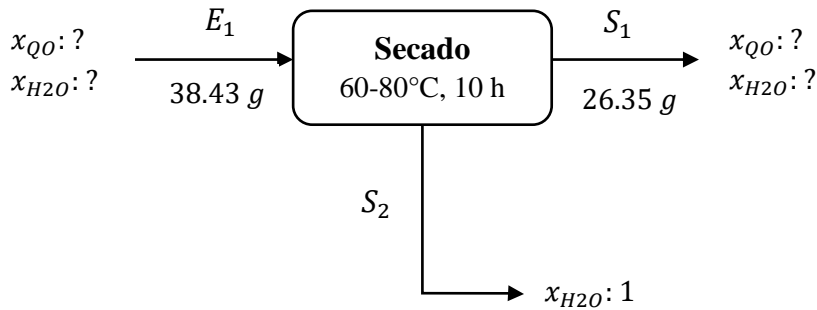
FOR 90-118
Version 06
Fecha de emision: 2020-10-06

Código de plantilla: 16

Pagina 1/1

Kra 53 No. 68-52 PBX 7425390. fax: 7550003 Bogota DC.
www.enzipan.com.co E-Mail:laboratorio@enzipan.com.co - info@enzipan.com.co

ANEXO 3.
EJEMPLO – BALANCE DE MATERIA



Balance de masa para un proceso de secado

Con el fin de ejemplificar los balances de masa representados mediante un diagrama de bloques de proceso (BFD) en la *sección 2.6* del presente documento, a continuación, se presenta el procedimiento de balance de masa para la etapa de secado del material desacetilado. Etapa cuyo objetivo es la remoción de la mayor cantidad de humedad de la muestra para la obtención final del biopolímero que servirá de materia prima para la elaboración del papel.

Ecuación general de balance de materia

Entrada + Generación - Salida - Consumo = Acumulación (1):

Suposiciones para el balance de materia

Para el desarrollo de los balances se hicieron las siguientes consideraciones:

1. Estado estacionario
2. Proceso discontinuo
3. Proceso no reactivo

Determinación de los Grados de Libertad (GL)

GL = Incógnitas – Ecuaciones de balance – datos adicionales

GL = 4-2-1

GL = 1

Planteamiento de las ecuaciones de balance

1. Balance global

$$E_1 = S_1 + S_2 \quad (2)$$

2. Balances por componente

Quitosano

$$X_{QO^{E_1}} * E_1 = X_{QO^{S_1}} * S_1 \quad (3)$$

Agua

$$X_{H_2O^{E_1}} * E_1 = X_{H_2O^{S_1}} * S_1 + X_{H_2O^{S_2}} * S_2 \quad (4)$$

Resolviendo para (4),

$$X_{H_2O^{E_1}} * 38.43 \text{ g} = X_{H_2O^{S_1}} * 26.35 \text{ g} + 1 * S_2 \quad (5)$$

Despejando S_2 en (2),

$$S_2 = E_1 - S_1 \quad (6)$$

Reemplazando (6) en (5),

$$X_{H_2O^{E_1}} * 38.43 \text{ g} = X_{H_2O^{S_1}} * 26.35 \text{ g} + 1 * (E_1 - S_1)$$

$$X_{H_2O^{E_1}} * 38.43 \text{ g} = X_{H_2O^{S_1}} * 26.35 \text{ g} + 1 * (38.43 \text{ g} - 26.35 \text{ g})$$

$$X_{H_2O^{E_1}} * 38.43 \text{ g} = X_{H_2O^{S_1}} * 26.35 \text{ g} + 1 * 12.08 \text{ g}$$

$$X_{H_2O^{E_1}} * 38.43 \text{ g} = X_{H_2O^{S_1}} * 26.35 \text{ g} + 12.08 \text{ g} \quad (7)$$

Como se expone en la *sección 3.2.6* del presente documento, el peso de cada muestra luego de la desacetilación se reporta como peso de quitosano en base húmeda cuyo contenido de agua estimado es de 30-45%. Con esta información, se designa un valor comprendido entre este rango para la variable $X_{H_2O^{E1}}$, correspondiente a 0.45.

$$0.45 * 38.43 \text{ g} = X_{H_2O^{S1}} * 26.35 \text{ g} + 12.08 \text{ g} \quad (8)$$

Resolviendo para $X_{H_2O^{S1}}$,

$$X_{H_2O^{S1}} = \frac{(0.45 * 38.43 \text{ g}) - 12.08 \text{ g}}{26.35 \text{ g}}$$

$$X_{H_2O^{S1}} = 0.20$$

Teniendo en cuenta la restricción por composición para (3):

$$\sum_{i=1}^c x_i = 1$$

Entonces:

$$X_{QO^{S1}} = 1 - X_{H_2O^{S1}} \quad (9)$$

Finalmente resolviendo para (3),

$$X_{QO^{E1}} * 38.43 \text{ g} = (1 - X_{H_2O^{S1}}) * 26.35 \text{ g}$$

$$X_{QO^{E1}} * 38.43 \text{ g} = (1 - 0.20) * 26.35 \text{ g}$$

$$X_{QO^{E1}} = \frac{(1 - 0.20) * 26.35 \text{ g}}{38.43 \text{ g}}$$

$$X_{QO^{E1}} = 0.55$$

Tabla resumen balance de materia para un proceso se secado

Corriente E_1	38.43 g
Corriente S_1	26.35
Corriente S_2	12.08 g
$X_{QO}^{E_1}$	0.55
$X_{QO}^{S_1}$	0.80
$X_{H_2O}^{E_1}$	0.45
$X_{H_2O}^{S_1}$	0.20
$X_{H_2O}^{S_2}$	1.00

