



Universidad del Papaloapan

Campus Loma Bonita

INGENIERÍA EN ACUICULTURA

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO A PARTIR DE LA
CORAZA TEGUMENTARIA DE PEZ DIABLO (*Hypostomus plecostomus*)**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ACUICULTURA**



PRESENTA:

RAFAEL JUÁREZ LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ADOLFO AMADOR MENDOZA

LOMA BONITA, OAXACA.

2024



Universidad del Papaloapan

FECHA:	31 de Enero del 2024
ÁREA:	Vice-Rectoría Académica
OFICIO NÚMERO:	UNPA/VRA/034/2024
ASUNTO:	Autorización de Impresión de tesis.

C. RAFAEL JUÁREZ LÓPEZ
P R E S E N T E:

En base al artículo 120 del reglamento de alumnos, por medio de la presente se aprueba la impresión de la tesis titulada **“Obtención y caracterización de quitosano a partir de la coraza tegumentaria de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*)”** así como la programación del examen profesional bajo la dirección del Dr. Adolfo Amador Méndoz.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente.
terra ubérrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi jí jú

DRA. TANIA ZÚNIGA MARROQUÍN
Encargada de Despacho de Vice-Rectoría Académica.



C.c.p. Dr. Marco Antonio Anzueto Sánchez.- Jefe de Carrera de la Ing. en Acuicultura
C.c.p. L.P. Yesenia Barrientos Arenal. Jefa del Departamento de Servicios Escolares
C.c.p. Dr. Adolfo Amador Méndoz.-Director de Tesis.
C.c.p. Archivo.



Universidad del Papaloapan



Ingeniería en Acuicultura

Oficio No. JCIA/002/24

Loma Bonita, Oax., a 30 de enero de 2024

Asunto: Jurado de Examen profesional

M. E. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
Jefa del DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
PRESENTE

Mediante la presente, informo a usted que la Vicerrectoría Académica, ha designado a los siguientes profesores como sinodales del examen profesional del alumno C. **RAFAEL JUÁREZ LÓPEZ** (número de matrícula **17040085**), quien defenderá su trabajo de tesis titulado "Obtención y caracterización de quitosano a partir de la coraza tegumentaria de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*)" para obtener el título de Licenciado en Ingeniería en Acuicultura:

Dra. Martha Elena Aguilera Morales	Presidenta del Jurado
M. C. Hazaribagh García Candelaria	Secretaria del Jurado
Dr. Adolfo Amador Mendoza	Vocal del Jurado
Dr. Marco Antonio Anzueto Sánchez	Primer suplente del Jurado
M.C. Raúl Moreno de la Torre	Segundo suplente del Jurado

Sin otro asunto en particular y agradeciendo su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

Atentamente:
terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama chí jí jú



JEFATURA DE DEPARTAMENTO
INGENIERÍA EN ACUICULTURA
Dr. Marco Antonio Anzueto Sánchez
Jefe de la Carrera de Ingeniería en Acuicultura



Vo. Bo. Dra. Tania Zúñiga Marroquín
Encargada de Despacho de la
Vicerrectoría Académica

- Original. M. E. Yesenia Barrientos Arenal.- Jefa del Depto. de Servicios Escolares.
- C.c.p. Dra. Tania Zúñiga Marroquín.- Encargada de Despacho de la Vicerrectoría Académica.- Para su conocimiento.
- C.c.p. Dra. Martha Elena Aguilera Morales.- Presidenta del Jurado.- M/In.
- C.c.p. M. C. Hazaribagh García Candelaria.- Secretaria del Jurado.- M/In.
- C.c.p. Dr. Adolfo Amador Mendoza.- Vocal del Jurado.- M/In.
- C.c.p. Dr. Marco Antonio Anzueto Sánchez.- Primer suplente del Jurado.- M/In.
- C.c.p. M.C. Raúl Moreno de la Torre.- Segundo suplente del Jurado.- M/In.
- C.c.p. C. Rafael Juárez López.- Sustentante. M/In.
- C.c.p. Archivo.

Dedicatorias

Este trabajo de investigación es dedicado principalmente a Dios por permitirme cruzarme con las personas que me ayudaron a llegar hasta aquí, ayudándome a avanzar aun con miedos y dudas ya que ellos fueron un impulso y guía que a pesar de mis tropiezos me dieron la mano y el impulso para seguir adelante, también le agradezco por abrirme las puertas necesarias seguir adelante. También por haberme ayudado en mis batallas que he tenido dándome la fuerza para seguir.

A mis familiares, amigos y conocidos que me han estado apoyando y dando ánimos para avanzar, así como todas las personas que me abrieron las puertas de su corazón y expresaron sus más buenos deseos.

A mis compañeros que gracias al tiempo que pase con ellos los considero familia.

A mis maestros que tuve a lo largo de mi carrera, quienes dedicaron su esfuerzo y ayuda. A mi director de tesis, mis sinodales y jefe de carrera.

Especialmente a mi mamá – abuela materna Carmen Antonio Cortés dedico este proyecto de investigación como fruto de su apoyo incondicional y sacrificio desde mi infancia, ya que es un hecho que ha sido el principal pilar en mi vida y lo que más agradezco a Dios que haya puesto en mi vida.

A todos ellos les dedico todo mi esfuerzo, en reconocimiento a todo lo que hicieron para que yo pueda estudiar y seguir adelante en mi carrera como estudiante así también por estar en momentos difíciles y los momentos alegres ya que sin ustedes esto no habría sido posible. Espero poder enorgullecerlos.

Rafael Juárez López

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios por la vida, lo que he recibido, aquello por lo que he tenido que luchar y esforzarme, agradecido por aquellas cosas que has mandado a mi vida y las que no y sobre todo por haberme guiado a tomar las decisiones que me hicieron llegar hasta este punto en mi vida.

A mi director de tesis el Dr. Adolfo Amador Mendoza quien me ha estado apoyando y guiando, así como moviendo desde el principio de la realización de esta tesis, además de los consejos y paciencia por los atrasos que tuve en el transcurso de la tesis.

A mis asesores, la Dra. Martha Elena Aguilera Morales y la M. C. Hazaribagh García Candelaria que me han estado ayudando en la realización de esta tesis con su guía y recomendaciones para tener en forma y estructura este documento.

A todos los doctores, maestros y catedráticos que me instruyeron con sus enseñanzas durante el proceso de formación a lo largo de la carrera, espero poder honrarles en mi persona a ustedes y los conocimientos transmitidos por parte de cada uno de ustedes como profesionista.

Al Dr. Juan Pablo Alcántar Vázquez por apoyarme y dar aliento para seguir adelante en los inicios de este proyecto cuando varios seguidos me decían y preguntaban acerca de cambiar de tema porque no veían sentido seguir investigando acerca de esta especie.

Al M. C. Raúl Moreno de la Torre Morales por darme consejo acerca de realizar biometrías del pez diablo para obtener datos más precisos y detallados acerca de esta especie.

A la Ing. Rocío López Hinojosa por ayudarme, aconsejarme y guiarme en la etapa de eviscerado de la especie utilizada en esta tesis.

A C. Yael Esbeydy Valenzuela Haro por ayudarme en la etapa de determinación de proteínas de la muestra, ya que me ayudo y guio en este proceso.

A la Dra. Nelda Xanath Martínez Galero por ayudarme en la etapa de validación por medio de espectrometría infrarroja de las muestras en la Universidad del Papaloapan campus Tuxtepec, así como sus consejos.

A la maestra C. Cheryl Lynn Gad jefa del centro de idiomas de la Universidad del Papaloapan campus loma bonita, quien me ayudo en la revisión y elaboración del Abstract de este documento.

A mis compañeros y quienes considero familia Berenice Chareo Benites, José Guillermo Nieto Gómez, Julio Alberto Sánchez José, ya que con su apoyo y ayuda durante nuestro tiempo juntos pude entender cosas que no entendía con facilidad ayudándome a no quedarme atrás con los estudios, de igual manera por su compañía, consejos y amistad que en más de una ocasión me ayudaron para no rendirme en el camino, ustedes son personas que considero importantes en mi vida.

A la M. D. F. Ana Luisa Peralta Palacios por las palabras de aliento y por el apoyo en los momentos en los que tanto el estrés y los principios de la depresión estaban afectándome, a quien cuyas platicas y conversaciones me ayudaron a poder

recuperarme y seguir adelante, debido a eso le debo un agradecimiento sumamente grande y le pido a Dios que sea sumamente bendecida.

A Rosalba Guadalupe Gómez Raymundo y Jonás Manuel Jiménez Rodríguez ayudarme y aconsejarme en la obtención de quitosano por hidrólisis química, así como en la etapa de determinación de proteínas.

A la empresa Bioproductos Agrícolas de la Cuenca por otorgarme la beca de impresión de tesis, este apoyo ha sido fundamental en la culminación de mi proyecto académico para poder así obtener mi título universitario, esta ayuda no solo representa un apoyo financiero, también representa un reconocimiento al esfuerzo y dedicación que se ha invertido en mi investigación, gracias a este gesto y confianza depositada representa un impacto positivo para mi desarrollo profesional.

A la Universidad del Papaloapan y a todas aquellas personas que conocí a lo largo de este tiempo y que me apoyaron en mi desarrollo, así como la ayuda que me otorgaban comprándome comida o productos por catálogo a lo largo de estos años para poder seguir adelante.

A todas las personas y compañeros con los que conviví y tenía conversaciones ya que esos momentos me ayudaron en más de una ocasión gracias a que obtenía nuevas perspectivas y visiones diferentes del mundo acerca de lo que desconocía.

A mi madre Carmelina López Antonio y su esposo Emilio quienes me han estado apoyando con lo que han podido para seguir adelante, les agradezco sobre todo el apoyo moral tanto de ellos como el de mi hermana y hermano menor que tengo gracias a ellos.

A mi padre Moisés Juárez Martínez y su esposa mari quienes me dieron sus palabras de apoyo para seguir si era este tema el que quería como tesis, agradezco tanto su apoyo como el de mis tres hermanos menores que tengo gracias a ellos.

A mi padre – abuelo materno Lino López Hernández por las veces que pudo apoyarme en el transcurso de estos años de estudio, tanto el tiempo que tuvo para cuidarme en parte de mi infancia, así como el apoyo que actualmente me da, además de sus consejos y platicas que solemos tener.

Por último, la persona más importante a quien este texto apenas representa una parte de lo agradecido que estoy contigo, a mi señora madre – abuela materna Carmen Antonio Cortes a quien le debo lo bueno de lo que soy, sus enseñanzas, consejos, apoyo, esfuerzo y muchas cosas más, ya que gracias a ella eh podido llegar hasta aquí y espero que con esto sea visto que el esfuerzo y sacrificio que has puesto en mí no ha sido en vano, así mismo que este sea no el único si no el primero de logros que te dedico ya que tú eres la principal razón por lo que yo llegue hasta aquí, esto es por ti con todo mi ser y corazón, y espero poder hacer que veas posteriores avances y logros para que te sientas orgullosa de que tú eres la base de lo bueno que eh llegado a ser, y que eso no se te olvide y lo recuerdes cada vez que leas este documento o al menos esta parte de él, porque sin ti es seguro que no hubiera tenido la oportunidad de estar en este camino de mi vida.

A todos ustedes, mi eterno agradecimiento ya que ustedes han sido la clave de que yo haya llegado hasta aquí, espero con todo el corazón que Dios los bendiga, porque yo lo fui al poder tenerlos en mi vida.

Resumen

El pez diablo (*Hypostomus plecostomus*) es una especie exótica invasora que aprovecha los recursos de los ecosistemas. Esta especie modifica la cadena trófica, provocando migraciones de especies nativas o inducidas para el comercio. De aquí la relevancia de aprovechar la especie para la obtención de quitosano, producto que tiene aplicaciones en áreas como la alimenticia, cosmética, acuícola y pecuaria, entre otras. Además de contribuir a regular las poblaciones del pez diablo. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue la obtención y caracterización del quitosano a partir de la coraza tegumentaria del pez diablo mediante hidrólisis química, cuantificando sus propiedades fisicoquímicas (pH, color, solubilidad), obteniendo su rendimiento y validando su pureza mediante un análisis de espectros infrarrojo (FTIR). El pez diablo se capturó en la localidad de Loma Bonita, Oaxaca. La hidrólisis química de la coraza tegumentaria se realizó en cuatro etapas: una hidrólisis alcalina (0.4 M de NaOH a 25 °C durante 1 h), una hidrólisis ácida (0.6 M de HCl a 25 °C durante 3 h), una desacetilación (0.4 M de NaOH a 25 °C durante 1 h) y una despigmentación con NaClO 10 %. Como resultado se obtuvo 178.1 g de quitosano por cada kg de harina de coraza tegumentaria. Las propiedades de pureza, color y solubilidad fueron mejores en quitosano de pez diablo que las del quitosano de exoesqueleto de camarón y el de Sigma Aldrich®. Se concluye, que es viable y prometedora la obtención de quitosano a partir de la coraza tegumentaria del pez diablo, lo cual representa, no solo una fuente alterna de quitosano, sino también una contribución para reducir y controlar las poblaciones en los cuerpos de agua afectados.

Palabras clave: Pez diablo; Hidrólisis química; Quitosano

Abstract

The Devil fish, also known as *Hypostomus plecostomus*, is an invasive exotic species that disrupts the ecosystem by altering the food chain and causing migrations of native or induced species for trade. However, this species can be utilized to obtain a commercial product such as chitosan, which can also aid in regulating their population. Therefore, the aim of this study was to extract and characterize chitosan from the integumentary shell of the Devil fish using chemical hydrolysis. The physicochemical properties such as pH, color, and solubility were quantified, the yield was obtained, and the purity was validated through infrared spectrum analysis (ISA). The Devil fish was captured in Loma Bonita, Oaxaca, and the integumentary shell was subjected to four steps of chemical hydrolysis: alkaline hydrolysis (0.4 M NaOH at 25 °C for 1 h), acid hydrolysis (0.6 M HCl at 25 °C for 3 h), deacetylation (0.4 M NaOH at 25 °C for 1 h), and depigmentation with 10 % NaClO. The result was a yield of 178.1 g of chitosan per kg of integumentary shell flour. The quality of Devilfish chitosan in terms of purity, color, and solubility was found to be superior to that of chitosan from shrimp exoskeleton and Sigma Aldrich. In conclusion, the extraction of chitosan from the integumentary shell of the Devil fish is a viable and promising alternative source of chitosan that can also aid in reducing and controlling populations in affected water bodies.

Keywords: Devil fish; Chemical hydrolysis; Chitosan

ÍNDICE GENERAL

Dedicatorias	I
Agradecimientos	II
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
ÍNDICE GENERAL	VIII
ÍNDICE DE CUADROS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
ABREVIATURAS – NOMENCLATURAS	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Ubicación	3
2.1.1. Área de obtención del pez diablo	3
2.1.2. Área de trabajo	4
2.2. Biología de la especie	6
2.2.1. Taxonomía	6
2.2.2. Generalidades de la especie	7
2.2.3. Distribución y hábitat	11
2.2.4. Reproducción del pez diablo	12
2.2.5. Alimentación	12
2.3. Uso acuícola	13
2.4. Aspectos ecológicos	14
2.5. Biopolímeros, características y aplicaciones	15
2.6. La quitina	16
2.7. El quitosano	17
2.8. Procesos de obtención de quitina y quitosano	19
2.9. Métodos de determinación de calidad de biopolímeros	21

2.9.1. Contenido de proteína por el método de Kjeldahl	21
2.9.2. Método IR	22
2.10. Extracción de quitosano de escamas de peces	23
2.11. Usos del quitosano	23
2.11.1. Medicina	23
2.11.2. Cosméticos	23
2.11.3. Agricultura	24
2.11.4. Biotecnología	24
2.11.5. Como aditivo en algunos alimentos	24
2.11.6. Tratamiento de aguas residuales	24
2.12. Aplicación de quitosano en la acuicultura	25
2.12.1. Actividad antibacteriana	25
2.12.2. Actividad antioxidante	27
2.12.3. Recubrimientos bioactivos	27
2.13. Propiedades del quitosano	28
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
3.1. Problemática	29
4. JUSTIFICACIÓN	31
5. ANTECEDENTES	32
6. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	35
6.1. Hipótesis	35
6.2. Predicciones	35
7. OBJETIVOS	36
7.1. Objetivo general	36
7.2. Objetivos específicos	36
8. METODOLOGÍA	37
8.1. Estrategia general de trabajo	37
8.2. Métodos	38

8.2.1. Materia prima	38
8.2.2. Obtención de piel con placas quitinosas-hueso, secado y rendimiento	38
8.2.3. Molienda y tamizado	38
8.2.4. Obtención de quitina	39
8.2.5. Obtención de quitosano	39
8.2.6. Evaluación del quitosano	40
8.2.6.1. Determinaciones de purificación	40
8.2.6.2. Determinaciones fisicoquímicas (pH, color, solubilidad)	44
8.2.6.3. Validación	47
9. RESULTADOS Y DISCUSIONES	49
9.1. Materia prima	49
9.2. Obtención de piel con placas quitinosas-hueso, secado y rendimiento	50
9.3. Evaluación del quitosano	52
9.3.1. Purificación	52
9.3.2. Pruebas Fisicoquímicas	54
9.3.3. Validación	57
10. CONCLUSIONES	59
11. BIBLIOGRAFÍA	61
12. ANEXOS	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Pág.
1	Taxonomía del pez diablo (<i>Hypostomus plecostomus</i>)	6
2	Componentes de la canal del pez diablo con y sin gónadas.	49
3	Rendimiento de quitosano de placas quitinosas de pez diablo.	50
4	Comparativo de porcentajes de proteínas (P), desproteínización (DP), minerales (M), desmineralización (DM) y pH de la harina y quitosano del pez diablo con otras fuentes de quitosano.	53
5	Cartilla de color obtenida mediante Colorimetría CIE-LAB de la harina y el quitosano de pez diablo.	55
6	Porcentaje de disolución del quitosano de pez diablo a distintas concentraciones de ácido fórmico.	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Pág.
1	Distancia y ubicación del centro de la localidad de Loma Bonita Oaxaca hacia el río Paso de las Yeguas (vista satelital).	3
2	Vista y área aproximada de la zona de captura de la especie (vista satelital).	4
3	Distancia y ubicación de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita Oaxaca desde el ayuntamiento de la localidad de Loma Bonita Oaxaca (vista satelital).	5
4	Vista superior de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita Oaxaca (vista satelital).	5
5	Vista superior del laboratorio donde se realizó la investigación (vista satelital).	6
6	Diversos tamaños de pez diablo (<i>Hypostomus plecostomus</i>).	8
7	Anatomía del pez diablo (<i>Hypostomus plecostomus</i>).	8
8	Ubicación de la boca del pez diablo (<i>Hypostomus plecostomus</i>).	9
9	Posición de las aletas del pez diablo (<i>Hypostomus plecostomus</i>).	10
10	Estructura química de la quitina.	17
11	Estructura química del quitosano.	19
12	Proceso general de la estrategia metodológica para la obtención del quitosano.	37
13	Equipo Micro Kjeldahl de digestión.	42
14	Tabletas Kjeldahl para determinación del nitrógeno.	43
15	Destilador Rápido (Kjeldahl) - Equipo Novatech.	44
16	Medidor de pH Horiba Laquatwin B-712.	45
17	Medidor de Colorimetría CR-400.	45

18	Espectros FTIR de quitosanos, Quitosano Sigma Aldrich® (.....), Quitosano de camarón UNPA (----), Quitosano Pez Diablo (—).	58
----	--	----

ABREVIATURAS – NOMENCLATURAS

km	Kilómetros
m ²	Metros cuadrados
mg	Miligramos
g	Gramos
cm	Centímetros
L	Litros
ml	Mililitros
M	Moles
mm	Milímetros
rpm	Revoluciones por minuto
h	Hora
N	Normalidad
m/v	Masa / Volumen
p/v	Peso / Volumen
NaClO	Hipoclorito de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
HCl	Ácido clorhídrico
NH ₄ ⁺	Amonio
NH ₃	Amoniaco
pH	Potencial de hidrogeno
cP	Centipoise
FTIR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (Método IR)
Ca	Calcio
Mg	Magnesio
Zn	Zinc
Fe	Hierro
Cu	Cobre
Mn	Manganeso
cm ⁻¹	Numero / Longitud de onda
OH	Hidróxido
°C	Grados centígrados
min	Minutos
PQH	Placas quitinosas y hueso
DM	Desmineralización
DP	Desproteínización
P	Proteínas
M	Minerales
N/R	No registrado
DE	Desviación estándar

1. INTRODUCCIÓN

El quitosano es un carbohidrato que proviene de la quitina que es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa, además presenta una tasa de reposición en la biósfera que se estima duplica a la de la celulosa, por lo que constituye un importante recurso renovable (Velásquez, 2006). Las principales fuentes de extracción de quitina son los exoesqueletos que protegen como armadura a diversos animales, como insectos, crustáceos y moluscos. Los exoesqueletos de camarón contienen una alta concentración de quitina, de la cual se puede obtener quitosano mediante un proceso químico de N-desacetilación (Velásquez, 2006; Mark *et al.*, 2013; Parada *et al.*, 2004; Yurell *et al.*, 2009).

En el ámbito mundial la industria acuícola representa casi el 50 % de los productos pesqueros solo en la alimentación, ha presentado un gran crecimiento desde el 2000, llegando a una producción mundial estimada de 11.2 millones de toneladas en 2010 y esta práctica sigue en aumento habiendo superado la obtención de productos acuícolas por la pesca desde el 2007 (Tello, 2017). Diversas organizaciones del mundo han desarrollado la acuicultura desde la perspectiva de desarrollo sostenible, a nivel nacional e internacional se promueve la investigación para la recuperación, eliminación y reutilización de los residuos sólidos generados en el procesamiento de peces, ya que se estima que los residuos generados pueden llegar a ser superiores al 50 % del peso total del pez en el caso de la acuicultura (García *et al.*, 2016; Muslin *et al.*, 2012).

La acuicultura es una práctica que se encuentra en crecimiento y en consecuencia de ello se generan desechos que se pueden utilizar para obtener

quitosano como lo refieren Tello (2017), Muslin *et al.* (2012), Boarin y Graciano (2016), el quitosano puede ser extraído a partir de escamas de peces como la trucha, la tilapia, carpa, entre otras especies. Algunas investigaciones se han realizado para el aprovechamiento de las escamas con el fin de obtener biopolímeros como son la quitina y el quitosano. Las propiedades fisicoquímicas tales como el grado de desacetilación, peso molecular, el porcentaje de cenizas, contenido de humedad, el contenido de metales pesados y el porcentaje de proteínas son parámetros fundamentales para la aplicación de quitosano en las diversas áreas como alimentación, medicina, agricultura, cosmética, farmacia, tratamiento de aguas residuales, entre otras (Macea *et al.*, 2015).

El pez diablo es una especie exótica invasora de los cuerpos de agua dulceacuícolas que causa daños ambientales al consumir a su paso la biota acuática original (consumiendo huevos, algas y materiales orgánicos del sustrato de fondo) y desplazando a las especies lugareñas (Molina, 2018).

En base a todo lo anterior, el pez diablo representa una opción atractiva de explotación acuícola para la obtención del quitosano debido a la coraza tegumentaria formada por placas quitinosas (óseas) similares a escamas que cubren su cuerpo a modo de protección. Además, presenta alta disponibilidad en diversos cuerpos de agua (ídem).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Ubicación

2.1.1. Área de obtención del pez diablo

Los ejemplares de pez diablo que se utilizaron se capturaron en el río Paso de las Yeguas ubicado en la parte norte de la localidad de Loma Bonita Oaxaca donde se han reportado mayor avistamiento de esta especie (Figura 1) por medio de tarraya. Dicho río se encuentra a 4.5 km hacia el norte de la localidad de Loma Bonita Oaxaca en las coordenadas geográficas 18.143673557546272, -95.89477310174034, la zona de captura fue cerca de 120,000 m² de área aproximadamente (Figura 2), mediante pesca por tarraya a lo largo de la zona.

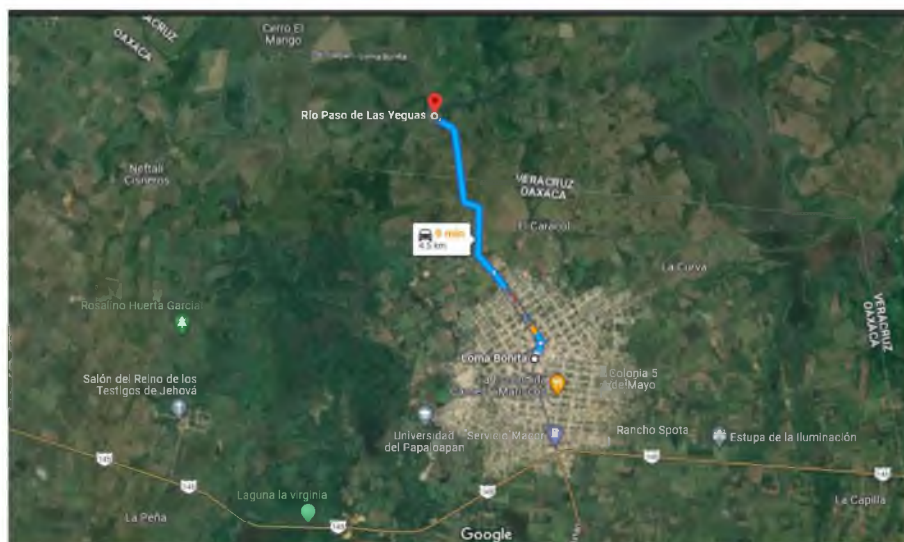


Figura 1. Distancia y ubicación del centro de la localidad de Loma Bonita Oaxaca hacia el río Paso de las Yeguas (vista satelital).

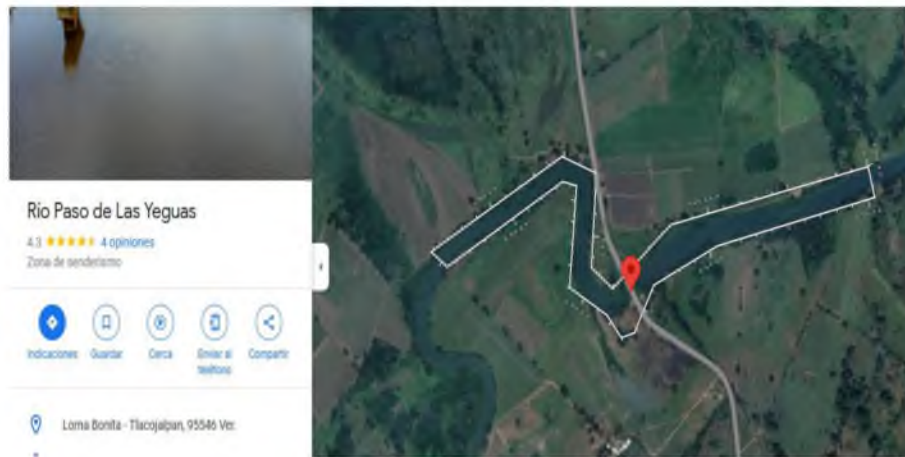


Figura 2. Vista y area aproximada de la zona de captura de la especie (vista satelital).

2.1.2. Área de trabajo

75 kg aproximadamente de pez diablo fueron capturados y transportados en hielera hacia el laboratorio químico bilógico (Figura 5) de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita ubicado en la zona suroeste del H. ayuntamiento de Loma Bonita, Oaxaca a una distancia de 2.2 km (Figura 3, Figura 4) para ser procesado y obtener la coraza tegumentaria.

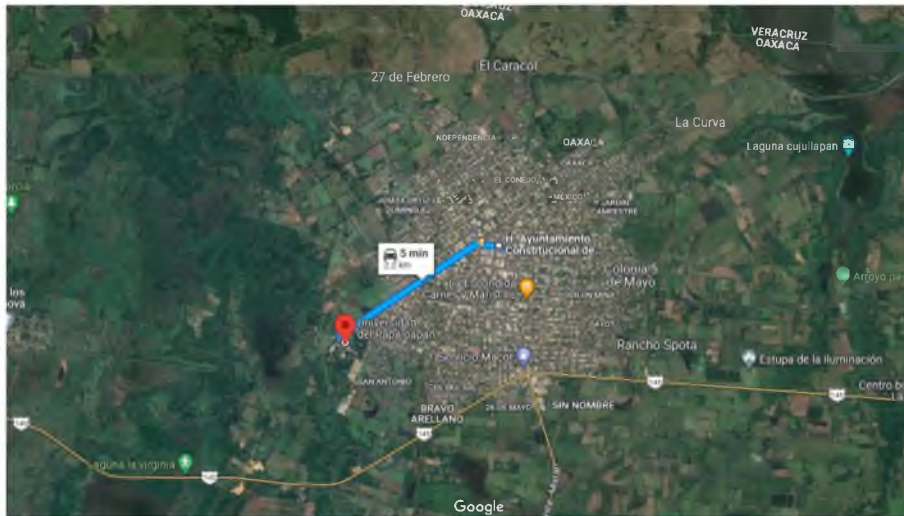


Figura 3. Distancia y ubicación de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita Oaxaca desde el ayuntamiento de la localidad de Loma Bonita Oaxaca (vista satelital).



Figura 4. Vista superior del la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita Oaxaca (vista satelital).



Figura 5. Vista superior del laboratorio donde se realizó la investigación (vista satelital).

2.2. Biología de la especie

En base a Molina (2018) la biología de la especie es la siguiente.

2.2.1. Taxonomía

El pez diablo tiene el nombre común “pleco”, también es conocido como “pez limpia peceras” o “pez limpia vidrios”, taxonómicamente se encuentra dentro del reino Animalia, filo Chordata y familia Loricariidae (Cuadro 1).

Cuadro 1. Taxonomía del pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Clase:	Actinopterygii
Subclase:	Neopterygii
Infraclase:	Teleostei
Superorden:	Ostariophysi
Orden:	Siluriformes
Superfamilia:	Loricarioidea
Familia:	Loricariidae
Subfamilia:	Hypostominae
Género:	<i>Hypostomus</i>
Especie:	<i>H. plecostomus</i>

2.2.2. Generalidades de la especie

Los peces diablo pertenecen a la familia Loricariidae, esta familia es la más grande de los siluros debido a la gran variedad y diferencias taxonómicas, los peces de esta familia están clasificados subfamilias y tribus. Las cuatro subfamilias actuales son: *Ancistrinae*, *Hipoptopomatinae*, *Hypostominae* y *Loricariinae*.

Esta especie presenta una alta tasa reproductiva, un comportamiento de anidación que junto con sus hábitos nocturnos los hacen imperceptibles, así mismo el cuidado parental que resulta en una alta supervivencia larval.

De manera oportunista, ha utilizado las lluvias y ciclones cada vez más fuertes para invadir cuencas y cuerpos de agua salada. Además de ser una especie agresiva, han demostrado resistencia al momento de salir del agua, pueden sobrevivir hasta 30 horas fuera de la corriente. Por medio de las inundaciones, se inserta en estos nuevos espacios, terminando con las especies nativas que encuentra a su paso.

Cuando está en la naturaleza, puede llegar a medir hasta 40 cm de longitud (Figura 6). Su cuerpo es aplanado en la parte dorso-ventral, mientras que el dorso está arqueado y cubierto por placas quitinosas (óseas). Las zonas de las aletas dorsal y caudal no están cubiertas de las placas quitinosas.



Figura 6. Diversos tamaños de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

La parte anterior del cuerpo es de forma triangular y acaba en un ovalo donde tiene el pedúnculo caudal. La cabeza, al igual que el eje dorso-ventral la tiene de forma aplanada (Figura 7).



Figura 7. Anatomía del pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

Su boca (Figura 8) se encuentra en la parte inferior y dispone de unos pequeños barbillones que le permiten pegarse a los vidrios de las peceras para tomar el alimento. También pueden pegarse a las rocas para succionar la comida. Su boca es de tipo succionadora y le sirve también para anclarse a rocas y troncos y no ser arrastrado cuando la corriente es alta.



Figura 8. Ubicación de la boca del pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

La primera aleta dorsal es grande como si fuera la vela de un barco. La segunda es más pequeña en comparación con la primera. Tiene una aleta caudal bastante amplia con un borde de forma cóncava, esto ayuda al pez a moverse muy rápidamente en cortas distancias para huir de posibles depredadores. La aleta anal es bastante pequeña a la vez que las pectorales y ventrales se asemejan a palas por lo desarrolladas que se encuentran (Figura 9). Las espinas las emplea para protegerse de los depredadores o incluso luchar con ejemplares de su misma

especie. La aleta dorsal puede estar constituida de 9 a 14 radios con una espina, mientras que las aletas pectorales son gruesas espinas dentadas.



Figura 9. Posición de las aletas del pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

En la cabeza presenta manchas oscuras. Dependiendo de la especie, hay algunos ejemplares que tienen una coloración oscura en todo el cuerpo, su abdomen por lo regular tiene manchas blancas de diferentes tamaños unidas formando o no un patrón. Este pez no presenta escamas, en su lugar protege su cuerpo con una coraza tegumentaria formada por filas de placas quitinosas (óseas) y espinas.

Tiene una longevidad mayor que otras especies de peces, llegando a vivir hasta 15 años.

En cuanto a su comportamiento, es un pez de hábitos nocturnos, manteniéndose escondido durante el día. Por lo general, es bastante tranquilo con

peces que no se encuentren en el fondo de los cuerpos de agua. Sin embargo, será bastante territorial con los peces que estén en el fondo y con los de su misma especie. Son capaces de respirar aire gracias a que poseen un estómago modificado permitiéndoles llegar a permanecer hasta 30 horas vivo fuera del agua. Su estómago modificado es más grande y delgado, por lo que, si el animal comienza a nadar verticalmente hacia la superficie del cuerpo de agua donde se encuentre, será capaz de respirar aire.

En la cuenca del Amazonas tiene como depredadores naturales caimanes, cocodrilos, nutrias, serpientes acuáticas, tortugas de agua dulce y peces depredadores incluyendo bagres grandes y lobina negra. Wakida y toro (2016) reportan como un posible depredador al robalo prieto (*Centropomus poeyi*) en el sureste del golfo de México.

2.2.3. Distribución y hábitat

El pez diablo pertenece a un grupo de especies nativas de la cuenca del Amazonas en Sudamérica. Se le puede encontrar en países como Costa Rica, Uruguay, Panamá, Colombia, Venezuela, Ecuador y Guyana entre otros. Esta especie se puede encontrar especialmente en el Río Orinoco de la Cuenca del Amazonas.

La especie también puede habitar lagos y pantanos y por lo general se asocia con la madera sumergida. Los sustratos pueden variar de lodo y detritus, a grava y cantos rodados a la arena.

En cuanto a su hábitat natural, prefiere los ríos y arroyos cuyas aguas tengan movimientos entre medios y rápidos. No le asustan las fuertes corrientes dado que pueden agarrarse a las rocas con su boca succionadora. También se han registrado ejemplares que viven en aguas más calmadas.

2.2.4. Reproducción del pez diablo

Alcanza la madurez sexual cuando alcanza los 30 - 40 cm de longitud en aproximadamente un año. Para el desove, estos peces cavan galerías horizontales en las paredes donde la tierra es más arcillosa y blanda depositando ahí los huevos.

Una vez que la hembra deposita los huevos es expulsada de las cavidades por el macho. En ocasiones hay agresividad por parte del macho debido a que presenta cuidado parental hasta que eclosionan las nuevas larvas.

2.2.5. Alimentación

Su alimentación es plenamente omnívora, aunque prefiere más las algas que se encuentran en superficies rocosas o de otros objetos que raspa de la superficie, así mismo de restos de comidas ocultas en el sustrato del fondo. Además, puede comer los restos de comida de otros peces, aunque se estén empezando a descomponer.

Es por la noche cuando salen de sus refugios a buscar su alimento. Se suelen apegar a pequeños troncos que se encuentran en el fondo para obtener la celulosa y alimentarse de ello para digerir mejor su alimento.

2.3. Uso acuícola

De acuerdo a Mendoza *et al.* (2007) y Limón-Hernández *et al.* (2023) el uso acuícola es el siguiente:

Como especie ornamental se ha reportado, mediante autores, ecologistas y personas que trabajan en o con estanques de peces ornamentales, el uso y la utilidad del pez diablo en sus peceras que al ser un succionador de fondo reduce la cantidad de sólidos disueltos en el fondo de las peceras generados por alimento que no fue ingerido por otras especies de peces gracias a que estos desechos se los come, reduciendo así el riesgo de generar patógenos provocado por alimento descompuesto no consumido que pueda afectar a las especies ornamentales.

Así mismo al poseer una boca de tipo succionadora reduce la aparición de limo tanto en el fondo como en las paredes del estanque, aumentando el intervalo de tiempo que se requiere hacer limpieza, reduciendo así el riesgo de generar estrés por la manipulación de su medio a otras especies de peces ornamentales presentes en el mismo estanque.

Además de los beneficios que se presenta al tener esta especie en los estanques, también se presentan indicaciones del cuidado de esta especie, como son, tipo de ambiente, tipos de alimentos que se puede proporcionar e indicaciones para que tengan una vida más prolongada, con estos datos se puede afirmar que si es posible a futuro su uso como especie de producción acuícola.

En cautiverio es bastante compatible con otras especies de peces de acuario. No les presta mucha atención a los otros peces, puesto que se mantienen en los

fondos. Si se encuentra algún ejemplar de su misma especie, se pondrá muy agresivo. Necesita espacio para nadar cómodamente. Esto muestra que esta especie presenta antecedentes de crianza, mostrando que es posible su producción como especie de interés acuícola, no solo ornamental.

2.4. Aspectos ecológicos

H. plecostomus se reporta introducido gracias a la liberación accidental de la presa infiernillo del Río Balsas en el estado de Guerrero, México donde se utilizó a esta especie para controlar el crecimiento de algas que afectaban a la presa. Se reporta que alrededor del 70 – 80 % de la pesca local comercial, ha sido reemplazado por al menos 7 especies diferentes de pez diablo, provocando pérdidas de hasta 36 millones de pesos al año, y generando desempleo de hasta 3,600 pescadores y sus familias, afectando hasta 46,000 personas. Durante la década de 1960, *H. plecostomus* se utilizó para controlar las algas en las piscinas en un zoológico en Texas. El pez se escapó posteriormente en la parte alta del Río San Antonio. Por otra parte, se reporta introducido intencionalmente para controlar los macrófitos y algas, y ahora se establecen en múltiples cuerpos de agua, también se reporta liberado por los acuaristas (Mendoza *et al.*, 2007; Molina, 2018).

Entre las especies que más se han observado en los cuerpos de agua de la cuenca del Papaloapan son *Phyostomus plecostomus*, *Pterygoplichthys pardalis* y *Pterygoplichthys disjunctivus*. Estas especies son potencialmente dañinas para los cuerpos internos de la cuenca del Papaloapan ya que pueden causar daños ecológicos o ambientales que afectarían la pesca local incrementando el costo de los peces comestibles producto de la pesca y aumenta el esfuerzo pesquero, ya que

los pescadores tienen que desplazarse hacia los cuerpos de agua más lejanos para pesca (Limón-Hernández *et al.*, 2023; Mendoza *et al.*, 2007).

La cuenca baja del río Papaloapan mantiene condiciones que la hacen única en México producto de la heterogeneidad del ambiente por lo que se considera como una zona altamente productiva, esta heterogeneidad integra en la cuenca a sistemas de agua dulce más propensos a la invasión de peces diablo por sus hábitos dulceacuícolas, la conectividad de los cuerpos de agua de la cuenca baja en conjunto con las áreas inundables de la planicie costera permite las mejores condiciones para una rápida dispersión de los peces diablo. En conjunto estos sistemas acuáticos reciben una gran cantidad de materia orgánica de la cual los peces diablo pueden aprovechar en forma de alimento, producto de las zonas de manglar en los sistemas lagunares, así como aportes de la actividad agrícola y arrastre de otros aportes de la zona alta de la cuenca del Papaloapan (ídem).

2.5. Biopolímeros, características y aplicaciones

Los biopolímeros cuyos componentes básicos típicos son el almidón, el azúcar, aceites vegetales y celulosa, así como la lignina o caucho son polímeros biológicamente degradables. La particularidad de los polímeros naturales es su habilidad de ser degradados por enzimas que se encuentran en el organismo vivo garantizando que será degradado y metabolizado por mecanismos fisiológicos. Esta propiedad se emplea en caso de aplicaciones temporales en la cuales se requiere el cumplimiento de una función específica en un período de tiempo. La velocidad de degradación de los materiales implantados puede controlarse mediante

modificaciones químicas o entre cruzamientos de biopolímero, permitiendo el diseño con determinado grado de duración (Cabarcas, 2011; Tello, 2017).

Los biomateriales tienen ciertas ventajas que los hace idóneos para ser usados en procesos acuícolas como el tratamiento de aguas residuales. Entre las ventajas están la biocompatibilidad, baja toxicidad, biodegradabilidad, alta abundancia natural, estabilidad, alta reactividad química y elevada capacidad de adsorción (Macea *et al.*, 2015; Bautista *et al.*, 2017).

2.6. La quitina

La quitina (Figura 10) químicamente es el biopolímero de β -1,4-N-acetil glucosamina, el segundo más abundante en el ecosistema después de la celulosa y está presente en los exoesqueletos de camarones, cangrejos, langostas e insectos, además se encuentra presente en la pared celular de hongos y levaduras. Con ellos se obtiene el quitosano mediante un procedimiento químico. La quitina posee propiedades antimicrobianas y biológicas (adsorción, biodegradabilidad y antioxidante) y tiene aplicaciones en las industrias agrícola y alimentaria (Berghoff, 2011; Nieto *et al.*, 2011; Muñoz y Sagastegui, 2023).

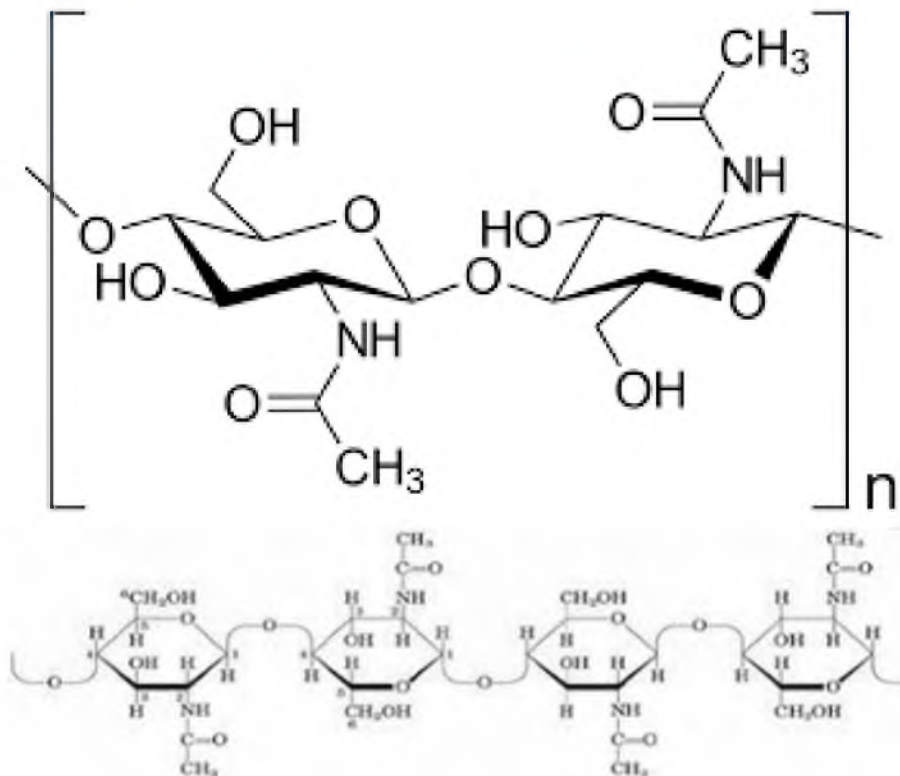


Figura 10. Estructura química de la quitina.

2.7. El quitosano

El quitosano fue descubierto por Rougel en 1859, quien encontró que al tratar la quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtenía un producto soluble en ácidos orgánicos, esta quitina modificada, como él lo llamó, se tornaba color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la quitina era de color verde. Pero no es hasta 1894 cuando Hoppe-Seyler sometió la quitina a reflujo a 180 °C en hidróxido de potasio y observó que el producto que se formaba era bastante soluble en ácido acético y clorhídrico a lo que denominó quitosano. Este se diferencia de la quitina por su capacidad de disolverse en soluciones acuosas diluidas de ácidos tales como el ácido acético (CH_3COOH) (Berghoff, 2011; Expósito, 2010).

La presencia de grupos amino en la cadena del polímero, convierte al quitosano en uno de los materiales más versátiles que se han estudiado porque puede sufrir diversas modificaciones, como la inmovilización enzimática, el injerto y la formación de películas con cualidades específicas con aplicación en las áreas de la biotecnología, biomedicina, agricultura entre otros (Del Barco, 2020).

El quitosano en la naturaleza es raro, se puede encontrar en forma natural en las paredes celulares de algunas plantas y hongos, por ejemplo, en el *Mucor rouxii* y *Choanephora cucurbitarum*, además dos diatomeas marinas, *Cyclotella cryptica* y *Thalassiosira fluviatilis* las cuales son fuente de quitosano puro que no se asocia a las proteínas (Pacheco, 2020; Rubio y Saravia 2020).

El quitosano (Figura 11) es un polisacárido procedente de la desacetilación total de la quitina y en las paredes celulares de algunas plantas y hongos. Químicamente puede tener una cadena lineal distribuida aleatoriamente de β -(1-4) D-glucosamina, N-acetil-Dglucosamida y unidades desacetiladas. Debido al grupo amino que lo compone, también atrapa metales pesados tales como insecticidas y policarborunados. Tiene un alto peso molecular. Una de las propiedades clave del quitosano es el de ser una molécula catiónica, lo que lo hace tener la capacidad de actuar como floculante, humectante y quelante (Pacheco, 2020; Del Barco, 2020).

El quitosano se comercializa en las industrias como la médica, farmacéutica, biotecnológica, cosmetóloga, alimentaria y agrícola (ídem).

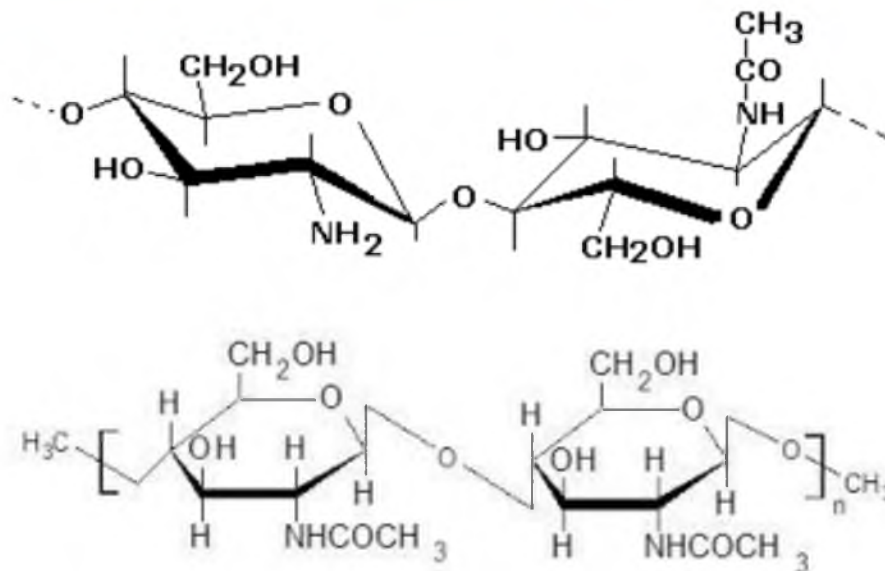


Figura 11. Estructura química del quitosano.

2.8. Procesos de obtención de quitina y quitosano

De acuerdo con Berghoff (2011), Casanova (2021), Rubio y Saravia (2020) y Del Barco (2020) mencionan que:

Existen varios métodos de obtención de la quitina que varían en función de los investigadores, sin embargo, muchos de los autores coinciden que es necesario la utilización de ácidos y bases para la obtención de la quitina.

En general los procesos de obtención de quitina se realizan mediante las siguientes operaciones consecutivas: acondicionamiento de la materia prima, la extracción de la proteína (desproteínización), la eliminación de impurezas inorgánicas (desmineralización), un proceso de desacetilación, dando como resultado el quitosano, por último, se realiza la decoloración de la quitina obtenida.

La desmineralización es un tratamiento químico que utiliza hidróxido de sodio (NaOH) al 0.4 M con una relación 1/15 (p/v) con agitación constante a temperatura ambiente a 1,000 rpm durante 1 h, este proceso se lleva a cabo para remover los minerales y metales que son ajenos a la composición química del quitosano, además de que este proceso indica la pureza del producto final obtenido generando una mejor calidad y costo en el mercado, este proceso es un indicador de calidad del producto, en este caso del biopolímero, es decir entre mayor porcentaje de desmineralización mayor purificación del biopolímero, en la actualidad se han encontrado valores entre el 86 – 95 %, esto genera una mejor calidad y costo en el mercado.

La desproteínización es un tratamiento químico que utiliza ácido clorhídrico (HCl) al 0.6 N con una relación 1/15 (p/v) con agitación constante a temperatura ambiente a 1,000 rpm durante 3 h, este proceso se lleva a cabo para remover las proteínas y materia orgánica como restos de pulpa del músculo o cualquier material ajeno al biopolímero que queremos obtener que son ajenos a la composición química del quitosano, además de que este proceso es un indicador de calidad del producto, en este caso del biopolímero, es decir entre mayor porcentaje de desproteínización, mayor purificación del biopolímero, se han encontrado valores entre el 90 – 98 %, dando una mejor calidad y costo en el mercado.

La desacetilación es el último proceso para obtención de quitosano, antes con la desproteínización y la desmineralización se obtiene como producto la quitina pura, la desacetilación utiliza nuevamente hidróxido de sodio (NaOH) al 0.4 M con una relación 1/15 (p/v) con agitación constante a temperatura ambiente a 1,000 rpm

durante 1 h, este proceso se emplea para convertir la quitina el quitosano puro, una vez obtenido este biopolímero se procede a realizar las caracterizaciones necesarias para determinar que efectivamente es quitosano lo que se obtuvo por medio de una espectrofotometría con infrarrojo, además el grado de pureza del mismo biopolímero con el método de Kjeldahl.

En este proceso se realiza una decoloración al quitosano puro obtenido para darle una mejor apariencia al producto, se lleva a cabo con una doble agitación introduciendo una porción de la muestra en NaClO en una relación 1/6 (m/v) con la ayuda de un agitador magnético durante 20 minutos y 1,000 rpm en cada blanqueado.

2.9. Métodos de determinación de calidad de biopolímeros

De acuerdo con Casanova (2021), Nieto *et al.* (2011) y Berghoff (2011) mencionan que los métodos de determinación de calidad de biopolímeros son:

2.9.1. Contenido de proteína por el método de Kjeldahl

El método de Kjeldahl, se utiliza para cuantificar la cantidad de proteína. Por diferencia entre la muestra original y la muestra final, se determina la remoción de proteínas durante el proceso de desproteínización química.

El fundamento del método Kjeldhal es la descomposición de la muestra en un medio sulfúrico caliente, en presencia de un agente reductor catalizador ya sea mercurio, cobre o selenio, también suele adicionarse una sal neutra para aumentar el punto de ebullición de la disolución de ácido sulfúrico, para aumentar la temperatura favoreciendo la descomposición. El tratamiento transforma el nitrógeno

de la muestra en NH_4^+ . La posterior adición de una base fuerte libera el NH_3 , que es arrastrado hasta un frasco colector por destilación en corriente de vapor. El frasco colector contiene un volumen medido de una disolución estándar de ácido, de forma que una fracción de ácido es neutralizada por el NH_3 . Al finalizar la destilación se procede a valorar el ácido no consumido con una disolución de base patrón. El volumen de disolución básica consumido hasta llegar al punto de equivalencia permite conocer la cantidad de NH_3 , y de esta forma la cantidad de nitrógeno en la muestra que puede transformarse en contenido proteico en función del tipo de muestra ya que la mayoría de las proteínas contienen aproximadamente el mismo porcentaje de nitrógeno.

2.9.2. Método IR

El método IR se utiliza para la detección de las moléculas presentes en el material de la muestra final obtenida, esto con la finalidad de reconocer los grupos funcionales presentes en el quitosano.

Esta espectroscopia se fundamenta en la absorción de la Radiación IR por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se dé una transición vibracional de la molécula. Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja. Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión.

2.10. Extracción de quitosano de escamas de peces

Las fuentes naturales como el agua nos producen distintos elementos, y uno de ellos son los biopolímeros encontrados muchas veces en los crustáceos además de ello pueden ser encontrarlos en las escamas de los peces del río y del mar como los reportados por Zaku *et al.* (2011), Boarin y Graciano (2016) y García *et al.* (2016) en sus artículos donde mencionan el proceso de obtención de quitina y quitosano de escamas de pescado. Las escamas del pescado tienen muchas propiedades y una de ellas se utiliza como coagulantes que ayudan en los procesos de tratamiento de aguas, las proteínas de este elemento hacen que su valor sea aún más elevado y es poseedor de una propiedad que permite eliminar grandes cantidades de iones metálicos presentes en los cuerpos de agua (Rubio y Saravia, 2020).

2.11. Usos del quitosano

De acuerdo a Casanova (2021), Pacheco (2020), Rubio y Saravia (2020), Matos (2020) y Del Barco (2020) los usos del quitosano son los siguientes:

2.11.1. Medicina

- Fabricación de gasas y vendajes tratados con quitosano.
- Ungüentos para aliviar quemadura.

2.11.2. Cosméticos

- Elaboración de píldoras para adelgazar llamadas comúnmente “atrapa-grasas” aplicación más amplia de quitosano.

- Se utiliza como activo de uso antibacterial en jabón, cremas de afeitar, shampoo y pasta dental.
- Por sus usos en forma de películas el quitosano se utiliza como gel hidratante para la piel.

2.11.3. Agricultura

- Recubrimiento de semillas con láminas de quitosano para su conservación en el periodo de almacenamiento.
- Fabricación de fertilizantes.
- Sirve como fungicida para la etapa de brote de la planta.

2.11.4. Biotecnología

El quitosano es parte de la inmovilización de enzimas en lechos para bio-reactores, en bio-sensores, separación de proteína, inmovilización celular, recubrimiento celular y producción de proteínas de una sola célula.

2.11.5. Como aditivo en algunos alimentos

Sus cualidades como gelificante, espesante y emulsificante son utilizadas para el mejoramiento de texturas, estabilizadores de color, para evitar la precipitación del vinagre, como aditivo nutricional y alimentación animal.

2.11.6. Tratamiento de aguas residuales

Debido a que posee la propiedad de unirse a los metales tiene afinidad tanto mayor o menor y variabilidad en función al pH, fuerza iónica y presencia de otros

metales. Esta propiedad es utilizada en varias tecnologías que hacen uso de membranas de gel, la ultrafiltración con complejos de quitosano, nano filtración, coagulación, vaporización y osmosis inversa para quitar la contaminación de aguas residuales.

2.12. Aplicación de quitosano en la Acuicultura

De acuerdo con Casanova (2021), Pacheco (2020), Rubio y Saravia (2020), Del Barco (2020) y Vásquez *et al.* (2011) mencionan que:

El quitosano ha atraído una gran consideración por su no toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad. Por esta razón se ha utilizado para estabilizar los productos a base de productos del mar. Posee múltiples características, como las propiedades antibacterianas y antioxidantes, la capacidad de formar películas y recubrimientos comestibles, el tratamiento de efluentes de la industria de alimentos marinos, propiedades de gelificación mejoradas, capacidades de micro y nano-transportadores para bioactivos compuestos, alimentos funcionales y compuestos para acuicultura y mariscos.

2.12.1. Actividad antibacteriana

El primer estudio que informó sobre las propiedades antibacterianas fue realizado por Allan y Hardwiger en 1979. Informaron que el quitosano mostró una amplia gama de actividades y una alta tasa de inactivación contra las bacterias Grampositivas y Gramnegativas. Sin embargo, aunque se han publicado varios estudios en esta área, el mecanismo exacto de la actividad antimicrobiana del quitosano sigue siendo ambiguo.

Se han propuesto seis mecanismos principales en la literatura, interacciones entre los grupos de quitosanamina cargados positivamente y las membranas de células microbianas con carga negativa, lo que lleva a la filtración de proteínas y otros componentes intracelulares; la activación de varios procesos de defensa en el tejido huésped por la molécula de quitosano, que actúa como un agente de unión al agua e inhibe varias enzimas mediante el bloqueo de sus centros activos; la acción del quitosano como agente quelante, selectivamente ligando metales y luego inhibiendo la producción de toxinas y el crecimiento microbiano. La formación, generalmente mediante quitosano de alto peso molecular, de una capa polimérica impermeable en la superficie de la célula, lo que altera la capacidad de la célula y bloquea la entrada de nutrientes en la célula; la penetración de principalmente quitosano de bajo peso molecular en el citosol del microorganismo para unir al ADN, lo que resulta en una interferencia con la síntesis de ARNm y proteínas, y la adsorción y floculación de sustancias electro-negativas en la célula por el quitosano, perturbando las actividades fisiológicas de los microorganismos, causando su muerte. Sin embargo, es muy importante tomar en cuenta que el quitosano es soluble solo en medios ácidos por lo que el efecto del pH en los microorganismos debe considerarse junto con el efecto del quitosano. Por lo tanto, el efecto sinérgico del quitosano / pH en conjunto es probablemente la explicación más evidente del efecto antimicrobiano del quitosano.

A pesar de ser un hidrocoloide el quitosano tiene propiedades atípicas ya que el quitosano posee carga positiva y por lo general la mayoría de los hidrocoloides presentan pH negativo cuando están en sistemas biológicos o son neutros. Su

actividad es antibacteriana y antifúngica que también es bactericida o bacteriostática esto depende de las cepas y de las características del quitosano. El requerimiento mínimo para detener el crecimiento microbiano cambia de forma significativa para los distintos cultivos bacterianos. En lo que se refiere a las características antifúngicas, se ha evidenciado que el quitosano disminuye el crecimiento de muchos hongos menos los *Zygomycetes*, pues estos son propios del quitosano contenido en sus paredes celulares.

2.12.2. Actividad antioxidante

Durante mucho tiempo, debido a la creciente demanda de los mariscos por los productos alimenticios, carentes de antioxidantes sintéticos, el quitosano ha estado desarrollando agentes antioxidantes en los pescados y mariscos. Se investigó la actividad antioxidante de los quitosanos de diferentes viscosidades a 360, 50 y 14 cP en la carne de arenque cocinada y triturada. Entre las muestras analizadas, 14 cP de quitosano fue el más eficaz para prevenir la oxidación de los lípidos.

2.12.3. Recubrimientos bioactivos

Las películas de quitosano, al igual que muchas otras películas basadas en polisacáridos, tienden a exponer la resistencia a la difusión de la grasa y la permeabilidad selectiva del gas. Sin embargo, sufren una seria deficiencia en términos de resistencia a la transmisión de agua y vapor de agua. Este comportamiento se debe principalmente al carácter fuertemente hidrófilo de estos biopolímeros, una propiedad que conduce a una alta interacción con las moléculas

de agua. Por esta razón, la combinación de polímeros o el uso de biocompuestos y sistemas de múltiples capas son enfoques potenciales para preparar recubrimientos o películas bioactivas a base de quitosano con características deseables.

2.13. Propiedades del quitosano

De acuerdo con Pacheco (2020), Rubio y Saravia (2020) y Del Barco (2020) mencionan que:

El quitosano es un carbohidrato que posee una leve carga positiva en su grupo amino y esto le permite solubilidad en medios ácidos o en soluciones neutras, su propiedad bio-adhesiva puede ligarse a las superficies que están cargadas negativamente como a membranas mucosas. Gracias a esta propiedad física el quitosano puede servir de transporte de principios activos polares por medio de las superficies epiteliales puede ser biodegradable y bio-compatible.

Un 50 % de los grupos acetilos se pierde en el proceso de destilación de la quitina hasta convertirse en quitosano, lo cual le da mayor solubilidad en ciertas sustancias. El quitosano también posee propiedades químicas como: grado de acetilación, peso molecular y viscosidad, solubilidad y bio-degradabilidad.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1. Problemática

El pez diablo (*Hypostomus plecostomus*) es considerado como especie invasora perfecta, ya que representa un problema ambiental y económico al invadir cuerpos de agua del país y también a nivel mundial. Se reporta introducido por escape o liberación de instituciones con fines de investigación, escape accidental, acuarios comerciales y personas comunes con acuarios. Dependiendo del cuerpo de agua donde se capture la especie puede contener plomo, generando incertidumbre para su aprovechamiento como alimento. Por otra parte, este pez puede ser portador de plagas propias o de otros cuerpos de agua. Así también representa un riesgo al turismo porque se camuflajan con el piso y accidentalmente los llegan a pisar en sus espinas de la aleta dorsal (Mendoza *et al.*, 2007).

Esta especie presenta una reproducción precoz y una alta tasa reproductiva. En grandes cardúmenes ingieren los huevos y/o larvas de las especies nativas o introducidas de importancia económica disminuyendo sus poblaciones y teniendo un fuerte impacto en las economías pesqueras y la vegetación acuática (ídem).

Por otra parte, dañan las redes de los pescadores durante la pesca. Y como no son útiles comercialmente entonces son sacrificados y arrojados a la orilla de los cuerpos de agua que con acción de las bacterias y el sol provocan su descomposición y por ende contaminación.

Por lo anterior, en este trabajo se propone el aprovechamiento del pez diablo como una fuente de quitosano a partir de su coraza tegumentaria conformada por

placas quitinosas (óseas) ya que a la fecha no se tiene registro de la obtención de este polímero de este pez. A la vez esta propuesta puede ser un medio de control de la diseminación de la especie ya que no se reportan controles efectivos, especialmente para los diversos cuerpos de agua en la localidad de Loma Bonita Oaxaca.

4. JUSTIFICACIÓN

El pez diablo al poseer un cuerpo con placas quitinosas puede ser aprovechado para la extracción de quitosano y ser fuente del polímero el cual tiene diversas aplicaciones (médica, alimentaria, industrial, entre varias otras). Así también puede ser fuente de empleo por su pesca o captura y procesamiento de los peces.

Mediante el uso para la especie se puede llegar a reducir la población del pez diablo, al obtener un motivo para cazarlo se puede evitar que prolifere a la velocidad que suele hacerlo debido a que esta especie una gran reproducción y casi ningún depredador natural en el país.

Los pescadores locales reportan que los cuerpos de agua del municipio de Loma Bonita, Oaxaca están infestados de pez diablo, lo cual no permite reproducción de las especies endémicas o las introducidas de interés comercial afectando la pesca y su economía al no poder vender peces comestibles. El aprovechamiento del pez diablo para la obtención de un biopolímero puede contribuir como un medio de control, mejorando la pesca local y la economía.

5. ANTECEDENTES

El quitosano es un polímero derivado de la quitina, subproducto de la industria pesquera; es un hidrocoloide cuyas propiedades físicas y químicas dependen fuertemente del grado de desacetilación. Es un polisacárido catiónico y su importancia reside en sus aplicaciones dado las propiedades antimicrobianas y formadores de películas que posee. (Muzzarelli, 1990; Tello, 2017).

Se estudiaron muestras de quitosano derivados de la quitina de la langosta (Yurell *et al.*, 2009). Dos secciones del exoesqueleto del camarón (*Litopenaeus vannamei*) cefalotórax y abdomen, procedente de mar y cultivados en viveros (Esmieu, 2015). El camarón procedente de marisquerías y centros de acopio de la ciudad de Ambato obtuvo rendimientos mayores al 50 %.

Un estudio indica que la aplicación de un agente reductor en el proceso de obtención del quitosano actúa como agente protector en contra de la oxidación y la degradación de la cadena polimérica, reduciendo el aldehído polisacárido en un grupo aditol, el cual mejora considerablemente la pureza del quitosano (Lalaleo, 2010).

Zaku *et al.* (2011), extrajeron exitosamente quitina de las escamas de carpa común y se caracterizaron sus propiedades funcionales. Los datos estructurales de la quitina se determinaron por FTIR. Las zonas cristalinas y su morfología las de sus superficies se estudiaron mediante rayos X en polvo, difracción y microscopía electrónica de barrido. El análisis proximal determinó un contenido de humedad de 2.12 %, 1.56 % de cenizas y 4.18 % de nitrógeno. La cantidad de Ca, Mg, Zn, Fe,

Cu y Mn presente en la quitina fue de 26.84, 50.49, 21.80, 12.68, 0.22 y 1.17 (mg/Kg), obtenida por espectroscopia de absorción atómica, respectivamente.

Muslin *et al.* (2012), obtuvieron quitina de las escamas de carpa (*Labeo rohita*) obteniendo un rendimiento de 22.36 % con el cual se obtuvo el quitosano mediante desacetilación. El peso molecular del quitosano obtenido mediante viscosimétero fue de 1.01×10^5 g/mol. Fue insoluble en agua, pero soluble en solución ácida por debajo de pH 6. El rendimiento del proceso fue de 7.72 %. El quitosano puede derivarse en un momento dado a carboximetil quitosano mediante ácido alcalino y ácido monocloro acético.

Boarin y Graciano (2016), mencionan que el quitosano es un biopolímero de amplia aplicación debido a sus características y no toxicidad presentando actividad antimicrobiana y cicatrizante. Actualmente se utiliza como emulsificante, quelante de metales, biopelícula comestible y reductor de grasas. La variación del grado de desacetilación de este polímero ofrece diferentes propiedades funcionales. Se obtiene principalmente de crustáceos, pero las escamas de pescado son también fuente principal de este producto, proceso descuidado hasta ahora. El objetivo de este estudio fue desarrollar un método para la extracción de la quitina y desacetilación de quitosano a partir de las escamas de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Esta caracterización mostró que el quitosano fue completamente purificado. El espectro infrarrojo de la quitina presentó una ancha banda característica en la región de 3500 cm^{-1} , debido a vibraciones de estiramiento axial del grupo OH que ha sido completamente purificado, que desapareció en el espectro de la quitina. Sin embargo, se observó una nueva banda a 1640 cm^{-1} causada por

la deformación de NH_2 que predominó sobre la banda 1655 cm^{-1} , asociada al carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) que tiende a disminuir y al aumento del grado de desacetilación del quitosano. Todas las bandas observadas fueron similares a las descritas en la literatura. Aunque los rendimientos fueron menores que los promedios reportados generalmente para crustáceos, ellos se pueden mejorar para obtener mayores rendimientos y desacetilación.

Tello (2017), menciona que el mejor método de obtención de quitosano a partir de escamas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es el heterogéneo, cuyos parámetros del proceso son: en el proceso de despigmentación, para obtener la quitina con una solución de NaClO al 4.5 % (p/v), con una relación de masa sobre volumen de 1/10 (g/ml), a 18°C durante 2.5 h, con un rendimiento del 27.94 %; en el proceso de desproteínización con NaOH al 10 % a 18°C , en 3 h, para la desmineralización se trabajó con HCl al 0.5 N, a 18°C , en 3 h. Para el proceso de desacetilación de la quitina se trabajó con una solución de NaOH al 40 % (p/v), en una relación de 1/10 (g/ml), por 4 h, a 80°C , el proceso tuvo un rendimiento del 38.81 %. El rendimiento global que se obtuvo desde la materia prima pesada hasta el final del proceso químico fue de 7.794 % de rendimiento.

6. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

6.1. Hipótesis

La piel del pez diablo (*Hypostomus plecostomus*) posee una coraza tegumentaria conformada por placas quitinosas comparables a los exoesqueletos de los crustáceos de donde normalmente se obtiene el quitosano, por ello es posible que se pueda extraer quitosano a partir de las placas quitinosas en un rendimiento similar o mayor al quitosano de grado comercial Sigma Aldrich®.

6.2. Predicción

- Se espera que las propiedades (pureza, color, solubilidad) del quitosano obtenido de placas quitinosas de pez diablo sean similares o mejores que el quitosano obtenido de exoesqueletos de camarón en la UNPA y quitosano comercial Sigma Aldrich®.
- Se espera dar un aprovechamiento acuícola a la especie *H. plecostomus* que representa una amenaza para los ecosistemas y la actividad pesquera. Además, el aprovechamiento es prometedor para mejorar la economía al darse un uso a esa especie y poder comercializar los productos derivados.
- Se espera contar con una fuente alterna para la producción de quitosano.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

Obtener y caracterizar quitosano a partir de corazas tegumentarias del pez diablo (*Hypostomus plecostomus*) mediante hidrolisis química.

7.2. Objetivos específico

- Obtener quitosano mediante hidrolisis química (desmineralización, desproteinización, desacetilación y despigmentación) a partir de pez diablo y determinar su purificación (% de desmineralización y % de desproteinización).
- Cuantificar las propiedades fisicoquímicas (pH, color, solubilidad) quitosano obtenido a partir de la coraza tegumentaria del pez diablo.
- Medir rendimiento del quitosano.
- Validar el quitosano mediante un análisis de espectros infrarrojo (FTIR).

8. METODOLOGÍA

8.1. Estrategia general de trabajo

En la Figura 12 se resume el proceso en general de la estrategia metodológica para el cumplimiento del objetivo general de este trabajo.

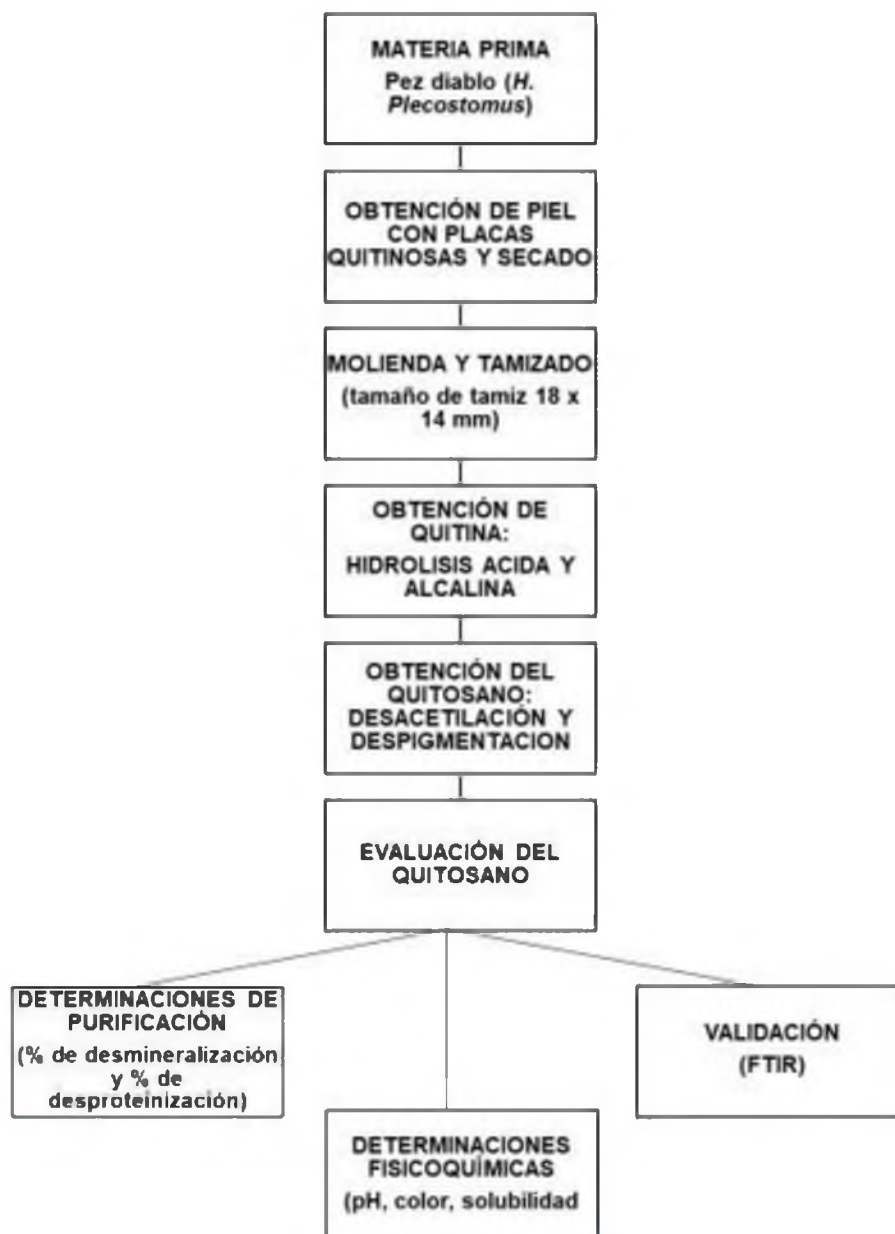


Figura 12. Proceso general de la estrategia metodológica para la obtención del quitosano.

8.2. Métodos

Este trabajo es de tipo exploratorio para determinar si el pez diablo es susceptible de aprovechamiento para la obtención de quitosano.

8.2.1. Materia prima

Se adquirió el pez diablo con los pescadores del mercado municipal de Loma Bonita, Oaxaca, una tarima de alrededor de 75 kg.

8.2.2. Obtención de piel con placas quitinosas-hueso, secado y rendimiento

De estos ejemplares se extrajo las corazas tegumentarias y los huesos. Antes del eviscerado los peces diablo fueron lavados con agua corriente y cepillo para remover los sustratos y basura adheridas, enseguida se desmembraron para obtener la piel quitinosa y también el esqueleto. Posteriormente se secaron al sol durante tres días en dos etapas: en la primera se colgaron sujetando las muestras desde la cabeza de la especie durante 3 horas para reducir el agua presente de la etapa de lavado, en la segunda etapa se colocaron las muestras sobre láminas de metal y se pusieron a secar bajo el sol hasta que las muestras estuvieron secas.

8.2.3. Molienda y tamizado

Una vez secas se trituró en una licuadora industrial hasta su pulverización. Enseguida este polvo se pasó por una malla mosquitera (18 x 14 mm cada agujero) el cual se utilizó para realizar el proceso de hidrólisis.

8.2.4. Obtención de quitina

La obtención de quitina y quitosano se obtuvo de acuerdo al procedimiento de Cira *et al.* (2002).

Hidrólisis Ácida (Desmineralización)

Por cada 150 g de molido o harina de pez diablo se utilizó 2.250 L de solución acuosa de NaOH 0.4 M, es decir, a una relación 1/15 (p/v) y agitación magnética a 700 rpm durante 1 h a una temperatura de 25 °C. La muestra sólida resultante se enjuagó de 15 a 20 veces con agua corriente con la ayuda de filtros de cafetera hasta la neutralidad eliminando el exceso de NaOH y utilizando un medidor de pH Horiba Laquatwin B-712.

Hidrólisis Alcalina (Desproteínización)

A la muestra desmineralizada se añadieron 2.250 L de una solución de HCl 0.6 N en una relación 1/15 (p/v) con respecto al peso de la muestra original y agitación magnética a 700 rpm durante 3 h a una temperatura de 25 °C. Pasadas las 3 h la muestra resultante se enjuagó usando filtros de cafetera de 15 a 20 veces con agua corriente hasta la neutralidad eliminando el exceso de HCl y midiendo el pH con un medidor Horiba Laquatwin B-712. El resultado fue quitina pura.

8.2.5. Obtención de quitosano

Desacetilación

La muestra desmineralizada y desproteínizada fue tratada con 2.250 L de una solución acuosa de NaOH 0.4 M, a una relación 1/15 (p/v) con respecto al peso

de la muestra original y agitación magnética constante de 700 rpm durante 1 h a una temperatura de 25 °C. Posteriormente, con ayuda de filtros de cafetera se enjuagó de 15 a 20 veces con agua corriente para eliminar el exceso de NaOH hasta la neutralidad obteniendo de esta forma quitosano puro.

Despigmentación

Este tratamiento es utilizado para darle mejor apariencia al quitosano, se llevó a cabo mediante un blanqueado utilizando 900 ml de una solución de NaClO al 10 %, es decir, una relación 1/6 (p/v) con respecto al peso de la muestra original y agitación magnética constante de 700 rpm a temperatura ambiente durante 25 min. Posteriormente, se enjuagaron 15 a 20 veces con agua corriente hasta llegar a neutralidad y se secaron a 35 °C durante 24 h con la ayuda de un horno de secado marca ECOSHEL quedando así el quitosano puro y blanqueado.

8.2.6. Evaluación del quitosano

8.2.6.1. Determinaciones de purificación

Determinación de porcentaje de minerales

Se obtuvieron cenizas por triplicado de muestras de harina del pez diablo y muestras de quitosano obtenido, mediante incineración, siguiendo la técnica de Bautista y Hernández (2021) y Aguilar y Bustamante (2019). Se eliminó la humedad de 6 crisoles colocándolos en una mufla durante 6 horas a 500 °C. Transcurrido el tiempo se dejaron enfriar y una vez que bajó la temperatura a 40°C se pasaron a un desecador para terminar de enfriar. Después, en cada crisol se colocó una muestra de 2 g y se procedió a quemar con ayuda de pinzas y un mechero de bunsen hasta

su combustión completa. Enseguida se incineraron en la mufla durante 6 h a 500 °C. Luego, se procedió a calcular el porcentaje de cenizas por diferencia de peso utilizando la fórmula siguiente:

$$\%C = \left(\frac{M_f - M_i}{M} \right) * 100$$

Donde %C= Porcentaje de ceniza, M_f = Peso del crisol + muestra destruida (g), M_i= Peso del crisol (g) y M= Peso de la muestra antes de destruirla.

El porcentaje de minerales totales (%Mt) fue considerado directamente proporcional al %C. Con el promedio de cada una de las muestras se calcularon los porcentajes de desmineralización a través de la siguiente fórmula:

$$\%Mt = (\%C_1 + \%C_2 + \dots + \%C_n) / n$$

Donde %Mt= Porcentaje de minerales totales, %C= Porcentaje de ceniza, n= Numero de muestra.

Para obtener el porcentaje de desmineralización:

$$\%DM = 100 - \%Mt$$

El resultado determino cuantos minerales fueron eliminados de la muestra original mediante el proceso químico.

Determinación de porcentaje de proteínas

Se utilizó el método Kjeldahl (método AOAC 984.13 protein crude) para la determinación de proteínas en el quitosano y la harina de pez diablo como lo refiere

Hernández *et al.* (2009) y Millones y José (2020). El método Kjeldahl se basa en una digestión, seguida de una destilación y termina con una titulación.

Para la digestión, se pesó en un vidrio de reloj 0.1 g de muestra y se introdujo en un matraz micro Kjeldahl de 30 ml. Por otra parte, una tableta Kjeldahl (Figura 14) se trituró con la ayuda de un mortero para pesar 0.5 g la cual se añadió al matraz micro Kjeldahl que contenía la muestra. Enseguida se añadieron 3 ml de ácido sulfúrico concentrado y se colocó en el equipo Micro Kjeldahl a nivel 4 durante 30 min y a nivel 5 durante hora y media (Figura 13).

La digestión se realizó por triplicado para cada muestra.



Figura 13. Equipo Micro Kjeldahl de digestión.



Figura 14. Tabletas Kjeldahl para determinación del nitrógeno.

En la destilación se convierte el sulfato de amonio a amoniaco mediante un exceso de hidróxido de sodio el cual se recibe en una solución de ácido bórico formándose borato de amonio.

Se utilizó un Destilador Rápido (Kjeldahl) - Equipo Novatech (Figura 15).

Se utilizó una solución de NaOH al 50 % para formar el sulfato de amonio en amoniaco, una solución de ácido bórico al 5 % que sirvió como captador que recibió el amoniaco para formar borato de amonio, agua destilada, y un indicador shiro tashiro formado por azul de metileno y rojo de metilo que viró a verde intenso a rosa claro o transparente durante la titulación con HCl. Para mayores detalles ver Anexo 1.



Figura 15. Destilador Rápido (Kjeldahl) - Equipo Novatech.

El porcentaje de proteínas (%Pr) se determinó con la siguiente ecuación:

$$\%Pr = \frac{(14.01)(N)(V)(100)(F)}{m(1000)} \dots\dots\dots \text{Formula 1}$$

Dónde: N = Normalidad del HCl, V = Vol. de HCl usado para titular la muestra en ml – Vol. de HCl usado para titular el blanco en ml, 14.01 = Peso atómico del Nitrógeno, m = Peso de la muestra en gramos y F = 6.25 (factor de conversión para proteínas en general).

8.2.6.2. Determinaciones fisicoquímicas (pH, color, solubilidad)

Determinación de pH

En muestras por triplicado de harina de pez diablo y quitosano extraído, se midió el pH con un medidor Horiba Laquatwin B-712 (Figura 16). Se utilizó 1 g de muestra en 10 ml de agua destilada con agitación magnética a temperatura

ambiente. La medición se realizó hasta que la muestra estuvo lo más diluida posible reposada durante 3 h.



Figura 16. Medidor de pH Horiba Laquatwin B-712.

Colorimetría

El color de muestras por triplicado de la harina de pez diablo y quitosano fue determinado utilizando un Medidor de Colorimetría CR-400 (Figura 17) de acuerdo a la metodología seguida por Bezzerides *et al.* (2007), Porrás-Barrientos *et al.* (2015) y Riou y Christidé (2010).



Figura 17. Medidor de Colorimetría CR-400.

Con el medidor se midió el color en 3 regiones denominadas L*, a*, b*. por cada región se obtuvo un valor, cuyo promedio correspondió a las coordenadas exactas que indicaban un color en una cartilla de colores. Para determinar el color exacto también se utilizó la ayuda de la página <https://www.nixsensor.com/free-color-converter/>.

Determinación de solubilidad

La prueba de solubilidad se utilizó ácido fórmico en las siguientes diluciones 0.05 %, 0.10 %, 5 %, 10 %, 20 % y 50 %. Se pesó 0.5 g de quitosano de pez diablo y se le adicionaron 5 ml de ácido fórmico a una proporción 1/10 (p/v) por muestra de cada dilución. Posteriormente se colocaron a agitación magnética constante durante 48 horas a 70 °C y 500 rpm. Luego, con la ayuda de filtros de cafetera previamente pesados, se vertió el contenido de cada muestra, y los filtros con el filtrado se introdujeron al horno de secado marca ECOSHEL a 110 °C durante 1 h, concluido el tiempo se dejaron enfriar y se pesaron. Se procedió a determinar el porcentaje de disolución como lo indica Macea *et al.* (2015) con la siguiente formula:

$$\%S = \left(\frac{PI - PF}{PI} \right) * 100$$

Donde: %S= porcentaje de disolución, PI= peso de la muestra antes de diluir y
PF= peso de la muestra que no se diluyo.

8.2.6.3. Validación

La validación de quitosano se obtuvo de acuerdo al procedimiento de Martínez *et al.* (2019).

Rendimiento global

Se determinó el porcentaje del rendimiento global (RG) del proceso a partir de la harina de quitosano hasta la obtención del quitosano con la siguiente fórmula:

$$RG = \frac{RR}{RT} * 100$$

Donde: RT = Cantidad en gramos de la muestra con la que se comenzó el proceso químico y RR = Cantidad en gramos del producto final (quitosano).

Espectro infrarrojo IR

El espectro infrarrojo indica que grupos funcionales corresponden a quitosano, por lo que se comparó la muestra de quitosano obtenido de placas quitinosas de pez diablo con quitosano comercial Sigma Aldrich® y quitosano de exoesqueleto de camarón UNPA. La caracterización se realizó mediante espectroscopia infrarrojo en la región de 500 - 4000 cm⁻¹. Se realizó una determinación potenciométrica para obtener el grado de N-desacetilación. Se preparo una solución con 0.05 g de quitosano y 0.5 ml de una solución de NaOH en una relación 1/10 (p/v) la cual fue valorada en el infrarrojo (TFIR). Se obtuvo una curva de pH vs ml de NaOH, la cual presentó dos puntos de inflexión, la diferencia entre ellos se correspondió a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos

amino del quitosano, la concentración de éstos se determinó utilizando la siguiente expresión:

$$\%NH_2 = \frac{16.1 (x*y)}{w} f$$

Donde

y = es el punto de inflexión mayor, x = corresponde al punto de inflexión menor, ambos expresados como volúmenes, f = es la molaridad de la solución de NaOH, w = es la masa en gramos de la muestra y 16.1 es el factor asociado al tipo de proteína.

9. RESULTADOS Y DISCUSIONES

9.1. Materia prima

Se trabajaron 23.133 kg de peces frescos, de los cuales se obtuvo 13.471 kg de piel con hueso que fue procesada para la obtención del quitosano. En el Cuadro 2 se resume el rendimiento por longitud, peso húmedo, vísceras, músculo y piel con hueso de peces con y sin gónada. Para mayores detalles ver Anexo 2.

Se puede observar una desviación estándar menor en los ejemplares con gónada y mayor en los ejemplares sin gónada, esto puede deberse a que los ejemplares con gónada utilizan parte de su nutrición a la energía requerida para el desarrollo de huevos, lo que le da una alta tasa de reproducción.

Cuadro 2. Componentes de la canal del pez diablo con y sin gónadas.

Ejemplar	Longitud (cm)	Peso húmedo (g)	Vísceras (g)	Gónada (g)	Músculo (g)	Piel con hueso (g)
Con gónada						
Total	-----	13,553	2,091	1,072	2,983	7,407
Promedio	30.50 ± 2.72	199.31 ± 54.86	30.75 ± 13.06	15.76 ± 7.91	43.87 ± 14.24	108.93 ± 34.42
Sin gónada						
Total	-----	9,580	1,198	N/A	2,318	6,064
Promedio	31.79 ± 3.11	212.89 ± 69.71	26.62 ± 14.52	N/A	51.51 ± 18.37	134.76 ± 47.59

Actualmente no hay registros de datos de rendimiento de la especie por componentes anatómicos como esta expresado en este trabajo, por lo que este trabajo es una primera contribución y un referente de rendimiento en fresco de placas quitinosas con hueso para procesar quitosano.

De acuerdo a los datos obtenidos el pez diablo se puede utilizar indistintamente del sexo, ya que se trata de reducir la población de una especie invasora que se encuentra afectando los cuerpos de agua, cadenas tróficas y las especies nativas. Para considerara a esta especie para la explotación industrial o masiva, habrá que realizar estudios de población del cuerpo de agua que vaya a ser el proveedor de la materia prima cercano al centro de explotación. En un momento dado si es necesario la especie puede ser producida mediante las técnicas y tecnologías que existen de acuicultura (reversión sexual, tipo se sistemas de producción, tecnologías alimentarias, sistemas de producción, entre otras).

9.2. Obtención de piel con placas quitinosas-hueso, secado y rendimiento

De 13.471 kg de piel con placas quitinosas y hueso (PQH) se obtuvo una muestra de 300 g de harina de PQH de la cual se obtuvieron 53.4201 g de quitosano, lo que represento un rendimiento de 17.81 % (Cuadro 3). Lo que representa que por cada kg de harina de pez diablo se obtienen 178.1 g de quitosano puro. El rendimiento pudo haber sido mayor si los filtros hubieran sido más grandes y reforzados. Los que se utilizaron no fueron los óptimos ya que hubo perdida de la muestra durante el proceso de lavado, que implicó una perdida aproximada de 3 – 4 %.

Cuadro 3. Rendimiento de quitosano de placas quitinosas de pez diablo.

RR	RT	%R
53.4201	300	17.8067

RR: gramos de muestra del producto final (quitosano), RT: gramos de muestra antes del proceso químico, %R: rendimiento general

A la fecha no existen reportes de rendimiento de quitosano a partir de las placas quitinosas de pez diablo por lo que se comparan con el rendimiento de escamas de otros peces y camarón.

Muslin *et al.* (2012) reportan que el rendimiento del quitosano de escamas de carpa (*Labeo rohita*) fue de 7.72 %. Tello (2017) menciona un rendimiento de quitosano de escamas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) por cada proceso, en la despigmentación de 27.94 %, en la desproteización 92.98 %, en la desmineralización 77.71 % y en la desacetilación 38.81 %. En total de todo el proceso 7.79 %. Boarin y Graciano (2016) refieren un rendimiento de quitosano a partir de escamas de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) de 1.87 % en total y por proceso de obtención de quitina 20 %, de quitosano 24 %, de quitosano purificado 39 %.

Paz *et al.* (2012) reportan que del quitosano obtenido de camarón y *Aspergillus niger*, obtuvieron un rendimiento de 15.4 % y 10.4 % respectivamente. Mármol *et al.* (2004) reportan un rendimiento de quitosano a partir de exoesqueleto de camarón de 18.42 % y por proceso de obtención de quitina 24.06 % y por proceso de obtención de quitosano 76.56 %.

De acuerdo a la literatura científica arriba mencionada, el rendimiento del quitosano obtenido a partir de placas quitinosas del pez diablo fue más de dos veces mayor respecto a las escamas de otros peces y con un rendimiento similar a partir de exoesqueleto de camarón.

9.3. Evaluación del quitosano

9.3.1. Purificación

En el Cuadro 4 se comparan el porcentaje de harina y quitosano del pez diablo con otras fuentes de quitosano en base a la desproteínización y desmineralización. Como se aprecia, la harina tuvo 53 % de proteínas (P) y cuando se procesó a quitosano desproteínandolo pasó a 8.04 %, de tal manera que, hubo una desproteínización (DP) del 91.96 %. Respecto a los minerales (M) la harina del pez diablo presentó 41.47 % y pasado el proceso químico de obtención de quitosano presentó 1.52 %, lo que representó un 98.48 % de desmineralización (DM). Los valores de DP y DM, respectivamente comparados con el quitosano. El %DP del quitosano del pez diablo (91.96) resultó significativamente menor que el quitosano de camarón UNPA (97.28) y el quitosano Sigma Aldrich® (95.46). El %DM fue mayor en el quitosano del pez diablo (98.48) que el quitosano de camarón UNPA (93.33) y el quitosano Sigma Aldrich® (80.00). Los valores se mostraron en un rango de pH de 4 – 3.

Las variables que indican la calidad o pureza del biopolímero (quitosano) son % desmineralización, % desproteínización, % desacetilación e índice de despigmentación. Si el quitosano que se encuentran en un intervalo entre 89 % y 95 % es considerado de alta pureza (Gorgieva *et al.*, 2021; Akram *et al.*, 2023; Brandão *et al.*, 2023).

Cabe mencionar que durante el proceso de despigmentación del quitosano del pez diablo se requería el uso directo de NaClO, sin embargo, al utilizarlo así las

muestras se diluían en su totalidad, por lo que se optó probar distintos porcentajes de concentración. Así se determinó que el NaClO 10 % era el óptimo para la despigmentación.

Comparativamente, el quitosano de pez diablo presentó una mayor disolución en NaClO 10 % respecto al quitosano de camarón UNPA durante el proceso de despigmentación, el cual ni al 100 % de concentración lo disolvió, indicando una mayor pureza en el quitosano del pez diablo. Cabe mencionar que el color blanquecino grisáceo del quitosano obtenido del pez diablo pasó a un color similar al del NaClO, es decir, amarillento después de la despigmentación.

Una desventaja del método utilizado para la obtención de quitosano fue el uso de alrededor de 32 – 37 L de agua por cada 300 g de harina de pez diablo debido a que se tiene que alcanzar la neutralidad del pH.

Cuadro 4. Comparativo de porcentajes de proteínas (P), desproteínización (DP), minerales (M), desmineralización (DM) y pH de la harina y quitosano del pez diablo con otras fuentes de quitosano.

Tipo de muestra	%P	%DP	%M	%DM	pH
Harina de pez diablo	53.0046	-----	41.4724	-----	6.53
Quitosano de pez diablo	4.2606	91.96	1.5161	98.48	4.40
Quitosano de camarón UNPA	N/R	97.28	N/R	93.33	3.40
Quitosano Sigma Aldrich®	N/R	95.46	N/R	80.00	3.00

Los porcentajes obtenidos de desproteínización y desmineralización obtenidos muestran que el quitosano de pez diablo obtenido, comparándolo con el quitosano de grado comercial Sigma Aldrich®, presenta una gran calidad y pureza eficientes superando el 90 % de pureza.

En el Anexo 3 y 4, se muestran las mediciones obtenidas con las que se determinaron las variables de respuesta (cenizas y desmineralización, proteínas y desproteización) aplicando las fórmulas correspondientes establecidas.

9.3.2. Pruebas Fisicoquímicas

pH

Como se observa en el Cuadro 4, en promedio el pH de la harina de pez diablo de la que se partió para la obtención del quitosano fue 6.5, una vez que se transformó en quitosano se redujo a 4.4. Comparando con el quitosano de camarón UNPA con 3.4 y el quitosano comercial Sigma Aldrich® con 3.0 fue mayor en una unidad.

El valor de pH de quitosano de pez diablo se encuentran dentro del rango reportado por Pacheco *et al.* (2009), Martínez *et al.* (2020), Martínez *et al.* (2019), entre 4 y 5 en camarón de alta mar, el cual lo refiere como un quitosano de calidad en base a su pH y menciona que constituye un componente de las características químicas del mismo.

El quitosano es insoluble en disolventes orgánicos puros, pero soluble en ácidos acuosos debido a la presencia de grupos amino libres que al ser protonados generan repulsiones en la cadena promoviendo la solubilización. En este caso el ácido fórmico promovió su disolución cargándolo positivamente en solución ácida debido a la presencia de aminas primarias en la molécula protonada del quitosano. Al adquirir carga positiva la amina, el quitosano aumenta su capacidad hidrofílica y pasa a ser soluble en soluciones ácidas diluidas formando sales. El quitosano se

solubiliza, cuando más del 50 % de los grupos aminos son protonados (Tello, 2017 en Rinaudo, 2006).

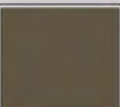

Mojica (2020), menciona que la actividad antimicrobiana del quitosano se consigue cuando este biopolímero está en un medio ácido a un pH menor a 6.3.

Color

En el Cuadro 5 se muestra la cartilla de color obtenida en la harina de pez diablo y su derivado, el quitosano. De acuerdo a los valores obtenidos en las distintas zonas (L^* , a^* , b^*) resultó un color “gris oscuro” al que correspondió el número #605442 en la harina de pez diablo. Y para el quitosano resultó un color “dorado oscuro” al que correspondió el número #8B7547.

Debido a que este trabajo es el primero en la obtención de quitosano a partir de las placas quitinosas del pez diablo, el numero resultante implica la referencia para subsecuentes evaluaciones de color mediante el método de Colorimetría CIE-LAB.

Cuadro 5. Cartilla de color obtenida mediante Colorimetría CIE-LAB de la harina y el quitosano de pez diablo.

Tipo de muestra	#COLOR	COLORIMETRIA			CC
		L^*	a^*	b^*	
Pez diablo sin tratamiento	#605442	36.522	2.9889	12.200	
Quitosano de pez diablo	#8B7547	50.500	4.4667	28.388	

(L^* , a^* , b^*): Valores en las distintas zonas con el Medidor de Colorimetría CR-400, CC: Cartilla de color obtenida.

En el Anexo 5 se presentan los valores de colorimetría obtenidos en las muestras por triplicado de la harina del pez diablo y su derivado, el quitosano.

El quitosano obtenido no tuvo la apariencia deseada, se esperaba un color en la escala de grises a blanco como la del quitosano comercial Sigma Aldrich® que fuera más atractivo a la vista.

Solubilidad

A pesar de que Tello (2017), reporta que el quitosano de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es altamente soluble en ácido acético glacial al 10 %, ácido acético al 10 %, y ligeramente soluble en ácido láctico, cítrico y oxálico al 10 % e insoluble en agua, ácido sulfúrico y n-butanol, fue un acierto haber probado un ácido orgánico como el fórmico en este trabajo. Como se puede observar en el Cuadro 6, el quitosano de pez diablo obtuvo una solubilidad alta a partir de la concentración de ácido fórmico 10 % hasta 50 %. Por lo, que se determinó que al 10 % es la óptima para la disolución. Los filtros de las concentraciones 0.5 %, 0.1 % y 5 % presentaron algunas partículas de quitosano, y en las concentraciones 10 %, 20 % y 50 % no se observaron sólo quedó como una especie de gelatina. La razón por la que se decidió realizar esta medición fue debido a que durante el proceso de blanqueado la metodología especificaba que se tenía que realizar con NaClO puro, sin embargo, a los pocos minutos de haber realizado el blanqueado, la muestra se había disuelto completamente, esto indicó que el quitosano de pez diablo presentaba una alta solubilidad.

Cuadro 6. Porcentaje de disolución del quitosano de pez diablo a distintas concentraciones de ácido fórmico.

Conc.	Ácido fórmico					
	0.05 %	0.10 %	5 %	10 %	20 %	50 %
PI	0.528	0.528	0.501	0.500	0.500	0.500
PF	0.214	0.118	0.119	0.039	0.036	0.035
%S	59.470	77.652	76.248	92.267	92.800	93.000

Conc: Concepto; PI: peso de la muestra antes de diluir (g); PF: peso de la muestra que no se diluyó (g); %S: Porcentaje de solubilidad.

En el Anexo 6 se muestran todos los datos obtenidos durante la determinación de la solubilidad en el quitosano del pez diablo a las distintas concentraciones de ácido fórmico y las variables consideradas.

9.3.3. Validación

Espectro infrarrojo (FTIR)

Se realizó un análisis por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (Figura 18), para identificar los grupos funcionales pertenecientes al quitosano de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*) comparándolo con quitosano de camarón UNPA y quitosano comercial Sigma Aldrich®. En base al espectro infrarrojo IR de Callejas (2000) (Anexo 7), se observaron bandas típicas de absorción en una longitud de onda entre 3433 y 3255 cm^{-1} correspondientes al estiramiento del grupo hidroxilo (O-H), estos picos sufren un estiramiento característico de una amina secundaria (N-H). En la región de la longitud de onda comprendida entre 3097 a 2914 cm^{-1} se observaron dos bandas de absorción moderada correspondientes a las vibraciones de tensión, propias de grupos metilo (C-H). Así mismo, en los picos 1622 a 1634 cm^{-1} muestran bandas de absorción de intensidad moderada correspondiente al estiramiento propio de una amida primaria

del grupo carbonilo (C=O). El espectro color azul, correspondiente al quitosano comercial (Sigma Aldrich® México) presentó diferencias con el del quitosano de pez diablo (línea roja) y el de camarón UNPA (línea punteada negra) debido a que estos dos últimos presentaron una mayor pureza.

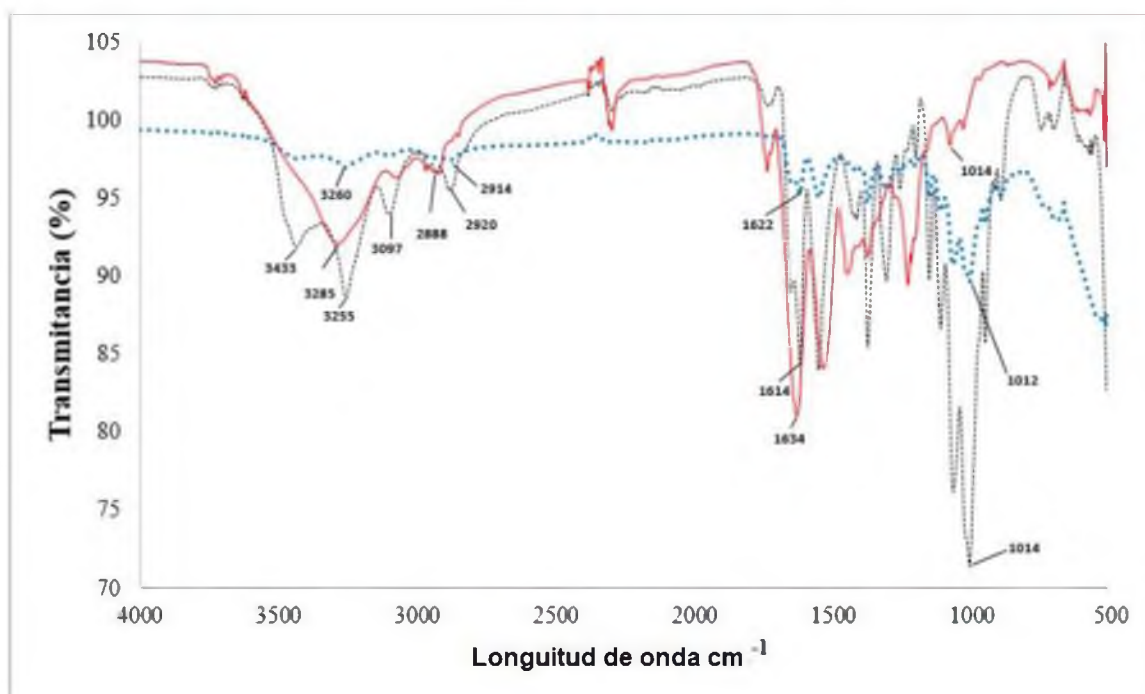


Figura 18. Espectros FTIR de quitosanos, Quitosano Sigma Aldrich® (.....), Quitosano de camarón UNPA (.....), Quitosano Pez Diablo (_____).

Comparando el quitosano de escamas de pescado (Boarin y Graciano, 2016; Tello, 2017) y el quitosano de exoesqueleto de camarón (Hernández *et al.*, 2009; Tafur y Quevedo, 2014; Molina *et al.*, 2017), tuvieron un comportamiento similar al obtenido del pez diablo. Y el quitosano de grado comercial Sigma Aldrich® presentó una diferencia en la longitud de onda debido su menor grado de pureza.

10. CONCLUSIONES

1. La hipótesis se comprobó satisfactoriamente, el rendimiento de quitosano a partir de placas quitinosas de pez diablo tuvo un rendimiento mayor al de escamas de peces como la carpa y la trucha arcoíris, no así respecto al rendimiento con exoesqueleto de camarón posiblemente por un mal manejo que se dio durante la experimentación.

2. Las propiedades pureza y solubilidad del quitosano del pez diablo respecto al quitosano de exoesqueleto de camarón y grado comercial Sigma Aldrich® tuvieron diferencias notables a favor del quitosano del pez diablo, excepto en la desproteínización que fue menor y el color el cual no fue tan claro como se esperaba y esto habrá que mejorarlo en estudios posteriores.

3. El pez diablo es una especie prometedora como una fuente alterna de obtención de quitosano por lo que se estaría aprovechando y con ello disminuir las poblaciones de esta especie, así como la amenaza para los ecosistemas y la actividad pesquera.

4. En esta investigación se obtuvo el quitosano mediante la hidrólisis química en forma exploratoria y por ser un procedimiento rápido, sencillo y común, sin embargo, se recomienda probar otras técnicas menos contaminantes dado el éxito de este trabajo, abre la puerta para la obtención de quitosano a través de otras tecnologías y técnicas menos contaminantes que representen beneficio en la localidad, así como en el ambiente y la investigación.

5. La perspectiva a futuro de esta especie como fuente alterna de quitosano reducirá las poblaciones de pez diablo en los cuerpos de agua hasta el punto que

se puedan introducir otras especies para la repoblación del cuerpo de agua para recuperar nuevamente su autonomía.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar Huillca, A. I., y Bustamante Flores, P. G. (2019). Determinación de la proteína y grasa de tres tipos de hongos comestibles: champiñón (*Agaricus bisporus*), pleurotus (*Pleurotus ostreatus*) y shiitake (*Lentinus edodes*), 20 pp. Disponible en: <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/2566>
2. Akram, N., Shahzadi, I., Zia, K. M., Saeed, M., Ali, A., Al-Salahi, R., Abuelizz, H.A. y Verpoort, F. (2023). Fabrication and *in vitro* biological assay of thermo-mechanically tuned chitosan reinforced polyurethane composites. *Molecules*, 28(20): 7218 pp. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28207218>
3. AOAC. Association of official analytical chemist (2005). *Methods of analysis* (15th ed.). Washington, D.C. AOAC 33, 749, 2005. Moisture in flour, AOAC 7,132, 2005. Ash of flour, AOAC, 37,924 Acidity (Titrable) of fruit product, AOAC 43, 689, 2005. Microchemical determination of nitrogen.
4. Bautista Baños, S., Ventura Aguilar, R. I., Correa Pacheco, Z., y Corona Rangel, M. L. (2017). Quitosano: un polisacárido antimicrobiano versátil para frutas y hortalizas en postcosecha una revisión. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 23(2): 103-122 pp. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.11.030>.
5. Bautista, J. I., y Hernández, J. J. A. (2021). Determinación del carbono orgánico por el método químico y por calcinación. *Ingeniería y Región*, 26: 20-28 pp. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/358655904_Determinacion_del_carbono_organico_por_el_metodo_quimico_y_por_calcinacion

6. Berghoff, C. F. (2011). Desarrollo y caracterización de matrices compuestas quitosano/polímero sintético para regeneración de tejido óseo (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata), 229 pp. DOI: <https://doi.org/10.35537/10915/2769>
7. Bezzerides, A. L., McGraw, K. J., Parker, R. S., y Hussein, J. (2007). Elytra color as a signal of chemical defense in the asian ladybird beetle *Harmonia axyridis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61: 1401-1408 pp. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/227322504_Elytra_color_as_a_signal_of_chemical_defense_in_the_Asian_ladybird_beetle_Harmonia_axyridis
8. Boarin Alcalde, L., y Graciano Fonseca, G. (2016). Alkali process for chitin extraction and chitosan production from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4): 683-688 pp. DOI: <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-3>
9. Brandão, A. T., Costa, R., State, S., Potorac, P., Dias, C., Vázquez, J. A., Valcarcel, J., Silva, A.F., Enachescu, M. y Pereira, C. M. (2023). Chitins from seafood waste as sustainable porous carbon precursors for the development of eco-friendly supercapacitors. *Materials*, 16(6): 2332 pp. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma16062332>
10. Cabarcas Lorduy, M., y Marimón Bolívar, W. (2011). Diseño de un proceso económico y competitivo para la extracción de quitina y producción de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón (Doctoral dissertation, Universidad de Cartagena), 74 pp. DOI: <http://dx.doi.org/10.57799/11227/8563>
11. Callejas, F. R. (2000). Tablas de espectroscopía infrarroja. Departamento de Física y Química, UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México): México

City, México, 14 pp. Disponible en:

https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/54325392/TablasIR_24985-libre.pdf?1504461900=yresponse-content-disposition=inline%3B+filename%3DTablas_de_Espectroscopia_Infrarroja.pdf&Expires=1705777915&Signature=O8wZZOlgEODF04-2ISrp4sMIJExqA~5iWkRyLhww~liy6ZxuHgC0Q6zEyC5JEGGzlhUgs6UFb1KSLG6Tk8qsg5FMbvzz11oxSVj7YUxQzLSNis1GMt0cVTekVTFWJxkASaa9yESWqSh~hZ~mHs9runCMcCe4aRT2jD3DbcGXZt7xjyFDVkfSWbqZrmuV7fHjGstryQT5MohFsdSzNJPocqoggzXcQ3Qh8nrCB8v0rDAcR5fscPmEWbttng5iZ5~68HChn2XdRD4CYXBmySFB9Gyych88GaTHWgeCNces9GowBe1mYiot759AYx~8QpuGBATwIxgYLAEWUMM3E0BVyg__yKey-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

12. Casanova Erazo, M. A. (2021). Efecto del quitosano en dieta sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) (Bachelor's thesis, Quevedo-Ecuador), 85 pp. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6161>
13. Cira, L. A., Huerta, S., y Shirai, K. (2002). Fermentación láctica de cabezas de camarón (*Penaeus sp*) en un reactor de fermentación sólida. Revista mexicana de ingeniería química, 1(1-2): 45-48 pp. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62010206>
14. Del Barco Ibarra, K. (2020). Inclusión del quitosano en la alimentación de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) (Bachelor's thesis, Quevedo-Ecuador), 88 pp. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/5083>

15. Esmieu De León, E. E. (2015). Evaluación del contenido extractable de quitina obtenida a partir de dos secciones del exoesqueleto del camarón (*Litopenaeus vannamei*) cefalotórax y abdomen, procedente de mar y cultivado en viveros y comparación con el contenido de carbonato de calcio y carbonato de magnesio (Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala), 154 pp. Disponible en: <https://repositoriosidca.csuca.org/Record/RepoUSAC1976/Description>
16. Expósito Harris, R. (2010). Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos, 174 pp. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14352/47426>
17. García Gómez, A. G., Romero Ramos, R., y Castro Salazar, H. T. (2016). Aprovechamiento de las escamas de la industria acuícola en el departamento del huila, colombia. producción+ limpia, 11(2): 102-110 pp. Disponible en: <http://revistas.unilasallista.edu.co/index.php/pl/article/view/1243>
18. Gorgieva, S., Osmić, A., Hribernik, S., Božič, M., Svete, J., Hacker, V., Wolf, S. y Genorio, B. (2021). Efficient chitosan/nitrogen-doped reduced graphene oxide composite membranes for direct alkaline ethanol fuel cells. International journal of molecular sciences, 22(4): 1740 pp. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22041740>
19. Hernández Cocoletzi, H., Águila Almanza, E., Flores Agustin, O., Viveros Nava, E. L., y Ramos Cassellis, E. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. Superficies y vacío, 22(3): 57-60 pp. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-35212009000300012yscript=sci_abstractytIng=pt

-
-
20. Lalaleo Córdova, L. P. (2010). Desarrollo de un método para la obtención de quitosano a partir de caparazones de camarón (*Penaeus vannamei*), utilizando un agente reductor químico (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica), 144 pp. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1093>
21. Limón-Hernández, L. E., de Lourdes Jiménez-Badillo, M., y Meiners-Mandujano, C. (2023). El pez diablo, una especie exótica invasora en la mira de la cuenca del río Papaloapan, 9-13 pp. Disponible en: <http://remcid.utgz.edu.mx/Archivos/Vol2/Articulo%202.1-2.pdf>
22. Macea, R. B., De Hoyos, C. F., Montes, Y. G., Fuentes, E. M., y Ruiz, J. I. R. (2015). Síntesis y propiedades de filmes basados en quitosano/lactosuero. *Polímeros*, 25: 58-69 pp. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-1428.1558>
23. Mark, H. F. (2013). *Encyclopedia of polymer science and technology, concise*. John Wiley y Sons, 1462 pp. Disponible en: [https://books.google.es/books?hl=es&lr=yid=Vfh1AQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=25.%09Mark,+H.+F.+\(2013\).+Encyclopedia+of+polymer+science+and+technology,+concise.+John+Wiley+%26+Sons.+yots=5G4R2MXoC1&sig=OiSH9SKvW6W3Rt1yRFQL1Qpj1Gw#v=onepage&qyf=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=yid=Vfh1AQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=25.%09Mark,+H.+F.+(2013).+Encyclopedia+of+polymer+science+and+technology,+concise.+John+Wiley+%26+Sons.+yots=5G4R2MXoC1&sig=OiSH9SKvW6W3Rt1yRFQL1Qpj1Gw#v=onepage&qyf=false)
24. Mármol, Z., Gutiérrez, E., Páez, G., Ferrer, J., y Rincón, M. (2004). Desacetilación termoalcalina de quitina de conchas de camarón. *Multiciencias*, 4(2): 3pp. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/904/90440203.pdf>
25. Martínez, A. G., Díaz, G. C., y Ramírez, R. L. (2019). Estudio comparativo de obtención, caracterización y actividad antioxidante de quitosano a partir de
-
-

- exoesqueletos de camarón estero y camarón de altamar. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 4(1): 1002-1013 pp. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/10/143.pdf>
26. Martínez-Macías, K. J., Segura-Castruita, M. Á., Orozco-Vidal, J. A., Hernández-Ordaz, G., y Frías-Ramírez, J. E. (2020). Capacidad quelatante del quitosano sobre el arsénico soluble en dos fluvisoles de una zona árida de México. Terra Latinoamericana, 38(2): 267-273 pp. DOI: <http://orcid.org/0000-0002-4745-7652>
27. Matos, C. A. (2020). Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos, 33 pp. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6907>
28. Mendoza, R., Contreras, S., Ramírez, C., Koleff, P., Álvarez, P., y Aguilar, V. (2007). Los peces diablo. Biodiversitas, 70: 1-5 pp. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265362591_los_Peces_diablo
29. Millones, A., y Jose, J. (2020). Validación del método AOAC 990.03 (Dumas) armonizado a kjeldahl en el análisis de proteína en harina de pescado, 117 pp. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12893/8771>
30. Mojica López, K. N. (2020). Producción de nanopartículas a partir de la cáscara del camarón para la remoción de *Escherichia coli*, 52 pp. Disponible en: <http://hdl.handle.net/1992/44635>
31. Molina García, S. I. (2018). Análisis de los ácidos grasos del pez diablo como potencial biocombustible, 134 pp. Disponible en: <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/2964>

-
-
32. Molina Zerpa, J. A., Colina Rincón, M., Rincón, D., y Vargas Colina, J. A. (2017). Efecto del uso de quitosano en el mejoramiento del cultivo del arroz (*Gryza sativa* L. variedad sd20a). *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 8(2): 151-165 pp. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.2041>
33. Muñoz Reyes, D. M., y Sagastegui García, M. M. (2023). Efecto de la quitina cruda sobre la estabilidad del alimento preparado y la digestibilidad aparente de materia seca, proteína y quitina en adultos de *Cryphiops caementarius*, 45 pp. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/4366>
34. Muslin, T., Habibur, M. Ara, H., y Azizur R. (2012). Chitosan and carboxymethyl chitosan from fish scales of *Labeo rohita*. *Dhaka Univ. J. Sci*, 61(1): 145-148 pp. DOI:10.3329/dujs.v61i1.15116
35. Muzzarelli, R., Tarsi, R., Filippini, O., Giovanetti, E., Biagini, G., y Varaldo, P. E. (1990). Antimicrobial properties of n-carboxybutyl chitosan. *antimicrobial agents and chemotherapy*, 34(10): 2019-2023 pp. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.34.10.2019>
36. Nieto Orellana, C. R., y Orellana Ulloa, V. P. (2011). Aplicación del quitosano como promotor de floculación para disminuir la carga contaminante (Bachelor's thesis), 132 pp. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/1510>
37. Pacheco Morales, G. K. (2020). Efecto del quitosano en dieta sobre la repuesta productiva y hepatológica de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) (Bachelor's thesis, Quevedo-Ecuador), 92 pp. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/5084>
-
-

38. Pacheco-Aguilar, R., Leyva-Soto, P., Carvallo-Ruiz, G., García-Carreño, L. F., y Márquez-Ríos, E. (2009). Efecto de la concentración de quitosano y pH sobre la remoción de sólidos en agua de cola de la industria sardinera. *Interciencia*, 34(4): 274-279 pp. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33911575009.pdf>
39. Parada, L., Crespín, G., Miranda, R., y Katime, I. (2004). Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Revista iberoamericana de polímeros*, 5(1): 1-16 pp. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Issa-Katime/publication/28077373_Caracterizacion_de_quitosano_por_viscosimetria_capilar_y_valoracion_potenciometrica/links/0c9605240c26be0cff000000/Caracterizacion-de-quitosano-por-viscosimetria-capilar-y-valoracion-potenciometrica.pdf
40. Paz, J., Galvis, R. D., Agudelo, A. C., y Vargas, R. A. (2012). Caracterización de quitina y quitosano obtenidos a partir de residuos de camarón y micelio de *Aspergillus niger*. *Acta Agronómica*, 61(5): 81-82 pp. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1699/169959497038.pdf>
41. Porras-Barrientos, L. D., González-Hurtado, M. I., Ochoa-González, O. A., Sotelo-Díaz, L. I., Camelo-Méndez, G. A., y Quintanilla-Carvajal, M. X. (2015). Análisis colorimétrico de imágenes como factor de evaluación de la calidad de rebanadas de jamón de cerdo durante almacenamiento. *Revista mexicana de ingeniería química*, 14(2): 243-252 pp. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-27382015000200002yscript=sci_abstractytlng=pt

-
-
42. Riou, M., y Christidès, J. P. (2010). Cryptic color change in a crab spider (*Misumena vatia*): identification and quantification of precursors and ommochrome pigments by HPLC. *Journal of chemical ecology*, 36: 412-423 pp. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/41911179_Cryptic_Color_Change_in_a_Crab_Spider_Misumena_vatia_Identification_and_Quantification_of_Precursors_and_Ommochrome_Pigments_by_HPLC
43. Rubio Dávila, D., y Saravia Rodas, J. A. (2020). Optimización en la remoción de turbidez mediante prueba de jarras empleando Quitosano a partir de las escamas del *Trachurus murphyi*, 15 pp. Disponible en: <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/3191>
44. Tafur Bravo, L. K., y Quevedo Salas, R. K. (2014). Alternativa para el tratamiento de aguas residuales cromadas con quitosano extraído del exoesqueleto de camarón, 122 pp. Disponible en: <https://repository.ut.edu.co/handle/001/1250>
45. Tello Palma, E. (2017). Evaluación del quitosano obtenido a partir de escamas de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) por métodos químicos y biológico, 299 pp. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/4425>
46. Vásquez Lara, J. L., y Vidal López, M. B. (2011). Caracterización y alternativa de uso de una película biodegradable de quitosano a partir de la extracción de quitina de langostino (*Pleuroncodes planipes*) para la industria de alimentos, 174 pp. Disponible en: [https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2099/1/Caracterizaci%C3%B3n_y_alternativa_de_uso_de_una_pel%C3%ADcula_biodegradable_de_quitosano_a_partir_de_la_extracci](https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2099/1/Caracterizaci%C3%B3n_y_alternativa_de_uso_de_una_pel%C3%ADcula_biodegradable_de_quitosano_a_partir_de_la_extracci%C3%B3n_de_quitina_de_langostino_Pleuroncodes_planipes)
-
-

-
- %C3%B3n_de_quitina_de_langostino_%28pleuroncodes_planipes%29_para_la_industria_de_alimentos.pdf
47. Velásquez, C. L. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en química*, 1(2): 15-21 pp. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93310204>
48. Wakida-Kusunoki, A. T., y Toro-Ramírez, A. (2016). El robalo prieto (*Centropomus poeyi*), nuevo depredador del pez diablo (*Pterygoplichthys pardalis*). *Hidrobiológica*, 26(1): 147-149 pp. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttextpid=S0188-88972016000100147
49. Yurell, J. C. L., Fernández, G., Paneque, A. A., Nieto, O. M., Fernández, M., y Hidalgo, C. (2009). Estudio de quitosanos cubanos derivados de la quitina de la langosta. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 10(1): 11-27 pp. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3694949>
50. Zaku, S. G., Emmanuel, S. A., Aguzue, O. C., y Thomas, S. A. (2011). Extraction and characterization of chitin; a functional biopolymer obtained from scales of common carp fish (*Cyprinus carpio L.*): A lesser known source. *Afr J Food Sci*, 5(8); 478-483 pp. Disponible en: https://academicjournals.org/article/article1379764550_Zaku%20et%20al.pdf

12. ANEXOS

Anexo 1. Determinación del porcentaje de proteínas.

Para preparar la solución de NaOH al 50 % se pesaron con una balanza gramera 500 g de lentejas de NaOH en un vaso de precipitado de 1 L, posteriormente se suministraron 800 ml de agua destilada y se procedió a disolver con la ayuda de una parrilla con agitación magnética y un agitador magnético para más rápido (esta acción liberara calor debido a la interacción del NaOH y el agua destilada), una vez disuelto el NaOH se vertió en un matraz volumétrico de 1 L y se aforo con agua destilada para obtener el NaOH al 50 %.

La solución de ácido bórico (H_3BO_3) al 5 % se pesó con una balanza granataria 25 g de ácido bórico (H_3BO_3) en un vaso de precipitado de 500 ml, posteriormente se suministraron 300 ml de agua destilada y se procedió a disolver con la ayuda de una parrilla con agitación magnética y un agitador magnético para más rápido, una vez disuelto el ácido bórico (H_3BO_3) se vertió en un matraz volumétrico de 500 ml y se aforo con agua destilada para obtener el ácido bórico (H_3BO_3) al 5 %.

Se conecto el destilador a la toma de corriente, se conectó el enfriador a la llave del agua y se llenó la cúpula con el calentador a $\frac{3}{4}$ partes de agua común.

Para empezar la destilación primero con la ayuda de una probeta graduada se midieron 10 ml de agua destilada, de esos 10 ml una parte se vertió en el matraz micro Kjeldahl con la muestra para diluirla un poco y se procedió a verter todo el contenido en el destilador y se abrió la llave de paso para que la muestra entre en

el destilador, el resto de agua contenida en la probeta se usará para realizar 2 enjuagues en el matraz micro Kjeldahl y todo eso se suministró al destilador, esto se realizó para evitar que quedará muestra en el matraz micro Kjeldahl y se cerró la llave de paso del destilador.

Para la titulación se necesitó una bureta de titulación de 25 ml, soporte universal, pinzas para bureta doble tipo mariposa, hoja blanca.

Los reactivos utilizados en este proceso fueron el HCl al 0.017 N para realizar la titulación.

Para empezar, se armó el soporte universal se le colocan las pinzas para bureta doble tipo mariposa junto con la bureta de titulación de 25 ml.

Después a la bureta se le adiciono el HCl al 0.017 N midiendo los 25 ml, justo entonces se colocó el matraz Erlenmeyer con borato de amonio e indicador justo debajo de la bureta, y debajo del matraz se colocó la hoja en blanco (esto para observar más fácilmente el momento en que el indicador cambia de color y no excederse con el HCl).

Anexo 2. Componentes por ejemplar de la canal del pez diablo con y sin gónadas

Con gónadas.						
Ejemplar	Longitud (cm)	Peso húmedo (g)	Viseras (g)	Gónada (g)	Musculo (g)	Piel con hueso (g)
1	30.5	235	47	18	29	141
2	30.4	232	59	4	50	119
3	30.4	236	40	17	51	128
4	31.3	255	49	19	61	126
5	30	205	32	25	51	97
6	29.9	257	47	23	69	118
7	29.7	210	40	17	47	106
8	33.2	266	70	8	57	131
9	31.3	265	60	25	49	131

10	33.5	330	56	31	78	165
11	27.9	186	32	20	40	94
12	27.3	165	24	16	38	87
13	36.8	378	62	42	86	188
14	31.5	223	39	22	47	115
15	28.4	194	32	23	36	103
16	30	174	23	5	38	108
17	30.4	212	23	16	67	106
18	31.8	227	39	7	48	133
19	33	231	35	3	51	142
20	27.5	161	29	4	28	100
21	31.2	251	39	28	55	129
22	27.4	151	28	4	65	54
23	29	187	27	5	50	105
24	37.1	322	58	20	43	201
25	28.9	181	24	20	32	105
26	29	158	23	9	48	78
27	28.7	164	28	12	46	78
28	29.3	174	27	15	43	89
29	31.3	204	29	18	54	103
30	32.1	269	30	20	35	184
31	32.4	229	27	20	28	154
32	31.5	136	19	9	51	57
33	33.8	197	29	21	34	113
34	27.9	189	29	10	27	123
35	31.4	230	24	25	59	122
36	28.9	181	37	18	67	59
37	36.7	343	53	29	33	228
38	31.2	200	26	12	71	91
39	29.6	175	27	12	29	107
40	30	178	17	20	37	104
41	34.9	257	34	27	56	140
42	20.8	169	17	13	41	98
43	30.1	176	21	17	42	96
44	30.4	169	21	21	39	88
45	22.3	62	9	1	16	36
46	29.7	159	21	17	25	96
47	29.3	145	23	8	27	87
48	28.3	148	19	19	28	82
49	29.6	170	23	17	42	88
50	33.5	219	32	15	52	120
51	30.5	170	31	16	42	81
52	29.7	179	23	21	42	93

53	29.3	136	21	7	31	77
54	29.5	154	18	21	34	81
55	31.3	157	13	7	43	94
56	29.8	153	14	14	33	92
57	34.1	244	42	18	55	129
58	30.5	140	14	2	34	90
59	28.9	164	28	13	32	91
60	31.6	192	21	27	44	100
61	32.5	178	26	5	34	113
62	31.4	182	23	20	42	97
63	30.7	204	26	17	25	136
64	28.5	119	12	8	18	81
65	29.1	153	27	16	23	87
66	35.6	265	35	12	61	157
67	31.9	205	39	12	41	113
68	27.8	123	19	9	53	42
Total		13553	2091	1072	2983	7407
Promedio ± DE	30.497 ± 2.72	199.309 ± 54.86	30.75 ± 13.06	15.765 ± 7.91	43.868 ± 14.24	108.926 ± 34.42

Sin gónada					
Ejemplar	Longitud (cm)	Peso húmedo (g)	Viseras (g)	Musculo (g)	Piel con hueso (g)
1	37.5	320	36	65	219
2	32.8	276	31	64	181
3	33.4	232	31	51	150
4	36.4	331	34	91	206
5	31.4	280	64	74	142
6	35.5	308	30	77	201
7	32.6	249	30	68	151
8	30.1	227	26	74	127
9	33.8	253	27	63	163
10	30.5	197	44	34	119
11	31.6	224	25	52	147
12	31.2	225	25	57	143
13	32.8	241	29	67	145
14	29.5	163	17	44	102
15	26.9	130	16	32	82
16	27.1	133	15	27	91
17	34.6	274	28	65	181
18	32.5	248	42	47	159
19	30.2	214	34	48	132
20	34.2	242	23	48	171

21	35.5	287	29	41	217
22	28.3	150	23	34	93
23	37.3	400	83	40	277
24	28.4	133	13	67	53
25	31.4	185	14	37	134
26	33.5	256	38	56	162
27	32.4	209	23	75	111
28	30.9	185	20	33	132
29	34.2	198	16	53	129
30	24.1	79	7	19	53
31	36.1	270	24	78	168
32	33.5	279	49	77	153
33	33.3	278	50	72	156
34	35	240	17	66	157
35	27.2	127	14	38	75
36	33.6	200	15	58	127
37	29.8	123	17	19	87
38	32.1	170	27	40	103
39	30.6	156	11	45	100
40	27.6	93	13	24	56
41	33.5	195	18	49	128
42	28.2	157	25	36	96
43	31.4	145	15	32	98
44	25.5	85	10	18	57
45	32.5	213	20	63	130
Total		9580	1198	2318	6064
Promedio ± DE	31.789 ± 3.11	212.889 ± 69.71	26.622 ± 14.52	51.511 ± 18.37	134.756 ± 47.59

Anexo 3. Porcentajes de cenizas y desmineralización obtenidos de quitosano de pez diablo (Q) y muestra sin tratar de pez diablo (MST)

Medición del porcentaje de ceniza						
M	PC	PM	C+C	%C	%TPM	%D
Q1	39.842	2.000	39.870	1.4000	1.5161	98.4839
Q2	43.794	2.000	43.825	1.5500		
Q3	39.773	2.002	39.805	1.5984		
MST1	41.981	2.002	42.820	41.9081	41.4724	0.0000
MST2	39.248	2.000	40.079	41.5500		
MST3	40.449	2.002	41.269	40.9590		

M: Muestra, C: Peso crisol, M: Peso muestra, C+C: Peso crisol + ceniza, %C: % de ceniza, %TPM: % Total por muestra, %D: % Desmineralización.

Anexo 4. Porcentajes de proteínas y desproteínización obtenidos de quitosano de pez diablo (Q) y muestra sin tratar de pez diablo (MST)

Medición del porcentaje de proteína										
Datos						Formula 1				
M	V1	V2	N	meqN	m	NT	PP	FC	PT	D
	ml	ml		g	g	%	%	%	%	%
Q1	5.4	0	0.017	0.01401	0.1	1.2861	8.0382	6.25	4.2606	91.9617
Q2	5.3	0	0.017	0.01401	0.1	1.2623	7.8894	6.25		
Q3	5.5	0	0.017	0.01401	0.1	1.3099	8.1871	6.25		
MST1	35.5	0	0.017	0.01401	0.1	8.4551	52.8439	6.25	53.0046	0
MST2	35.8	0	0.017	0.01401	0.1	8.5265	53.2905	6.25		
MST3	35.6	0	0.017	0.01401	0.1	8.4788	52.9928	6.25		

M: Muestra. V1: Volumen HCl gastado al titular muestra, V2: Volumen HCl gastado al titular blanco, N: Normalidad HCl estandarizado, meqN: Miliequivalentes de nitrógeno, m: Peso de la muestra, NT: Nitrógeno total, PP: proteína presente, FC: Factor de conversión, PT: proteína total, D: Desproteínización.

Anexo 5. Datos obtenidos del Medidor de Colorimetría CR-400 en la muestra de pez diablo sin tratamiento y quitosano de pez diablo

Quitosano						
MUESTRA 1					MEDIA	
	Standar	Simple 1	Simple 2	Simple 3	Standar	Simple
L*	60	45.9	47.6	49.1	60.00	47.53
a*	4.9	4	4	4.1	4.90	4.03
b*	35.6	25.8	26	26.4	35.60	26.07
ΔL^*	-14.1	dark	dark	dark	-14.10	dark
Δa^*	-0.9	greenish	greenish	greenish	-0.90	greenish
Δb^*	-9.8	bluish	bluish	bluish	-9.80	bluish
ΔE^*	17.1	fail	fail	fail	17.10	fail
MUESTRA 2					MEDIA	
	Standar	Simple 1	Simple 2	Simple 3	Standar	Simple
L*	60	46.6	45.9	46.6	60.00	46.37
a*	4.9	3.7	3.6	4.3	4.90	3.87
b*	35.6	25.6	25.8	25.7	35.60	25.70
ΔL^*	-13.4	dark	dark	dark	-13.40	dark
Δa^*	-1.2	greenish	greenish	greenish	-1.20	greenish
Δb^*	-10	bluish	bluish	bluish	-10.00	bluish
ΔE^*	16.7	fail	fail	fail	16.70	fail

MUESTRA 3					MEDIA	
	Standar	Simple 1	Simple 2	Simple 3	Standar	Simple
L*	60	57.5	57.6	57.7	60.00	57.60
a*	4.9	5.6	5.5	5.4	4.90	5.50
b*	35.6	33.3	33.4	33.5	35.60	33.40
ΔL^*	-2.5	dark	dark	dark	-2.50	dark
Δa^*	0.7	greenish	greenish	greenish	0.70	greenish
Δb^*	-2.3	bluish	bluish	bluish	-2.30	bluish
ΔE^*	3.4	fail	fail	fail	3.40	fail

Promedio de las 3 muestras	
Standar	Simple
60.0000	50.5000
4.9000	4.4667
35.6000	28.3889
-10.0000	dark
-0.4667	greenish
-7.3667	bluish
12.4000	fail

Pez diablo						
MUESTRA 1					MEDIA	
	Standar	Simple 1	Simple 2	Simple 3	Standar	Simple
L*	76	33.6	33.5	33.2	76.00	33.43
a*	1.6	2.3	2.6	2.5	1.60	2.47
b*	-1.4	9.3	9.1	8.4	-1.40	8.93
ΔL^*	0	dark	dark	dark	0.00	dark
Δa^*	0	greenish	greenish	greenish	0.00	greenish
Δb^*	0.2	bluish	bluish	bluish	0.20	bluish
ΔE^*	0.2	fail	fail	fail	0.20	fail

MUESTRA 2					MEDIA	
	Standar	Simple 1	Simple 2	Simple 3	Standar	Simple
L*	76	38.2	38.3	38.6	76.00	38.37
a*	1.6	3.4	3	3.7	1.60	3.37
b*	-1.4	14.3	14.4	14.7	-1.40	14.47
ΔL^*	-13.4	dark	dark	dark	-13.40	dark
Δa^*	-1.2	greenish	greenish	greenish	-1.20	greenish
Δb^*	-10	bluish	bluish	bluish	-10.00	bluish
ΔE^*	16.7	fail	fail	fail	16.70	fail

MUESTRA 3					MEDIA	
	Standar	Simple 1	Simple 2	Simple 3	Standar	Simple
L*	76	38.3	37	38	76.00	37.77
a*	1.6	3	3	3.4	1.60	3.13
b*	-1.4	13.4	13	13.2	-1.40	13.20
ΔL^*	-2.5	dark	dark	dark	-2.50	dark
Δa^*	0.7	greenish	greenish	greenish	0.70	greenish
Δb^*	-2.3	bluish	bluish	bluish	-2.30	bluish
ΔE^*	3.4	fail	fail	fail	3.40	fail

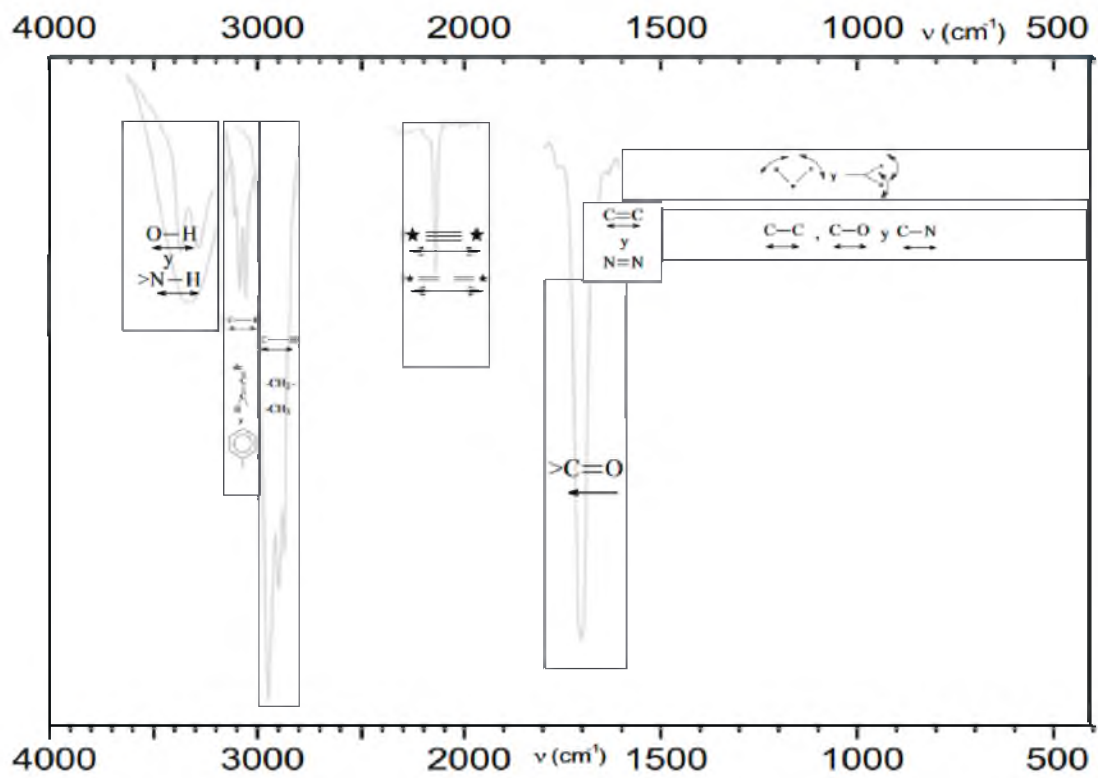
Promedio de las 3 muestras	
Standar	Simple
76.0000	36.5222
1.6000	2.9889
-1.4000	12.2000
-5.3000	dark
-0.1667	greenish
-4.0333	bluish
6.7667	fail

Anexo 6. Cuadro de porcentaje de disolución presente en diferentes concentraciones de ácido fórmico

Ácido fórmico						
C A	0.05 %	0.10 %	5 %	10 %	20 %	50 %
DIS	52.800	52.800	50.100	50.000	50.000	50.000
MT	0.528	0.528	0.501	0.500	0.500	0.500
F	0.462	0.462	0.642	1.224	1.520	1.518
MDS	0.676	0.580	0.761	1.262	1.556	1.553
MTD	0.214	0.118	0.119	0.039	0.036	0.035
PI	0.528	0.528	0.501	0.500	0.500	0.500
PF	0.214	0.118	0.119	0.039	0.036	0.035
%S	59.470	77.652	76.248	92.267	92.800	93.000
T	48	48	48	48	48	48
RPM	500	500	500	500	500	500
°C	70	70	70	70	70	70

MTA: Muestra, DIS: Mililitros de disolución, MT: Peso de la muestra (g), F: Peso del papel filtro (g), MDS: Peso después de la disolución (g), MTD: Peso muestra no disuelta (g), PI: Peso inicial [MT] (g), PF: Peso final [MTD] (g), %S: % Solubilidad, T: Tiempo de agitación (hrs), RPM: Revoluciones por minuto, °C: Grados centígrados en la termobalanza.

Anexo 7. Regiones básicas de un espectro infrarrojo IR (Callejas, 2000).



ANEXOS DE IMÁGENES

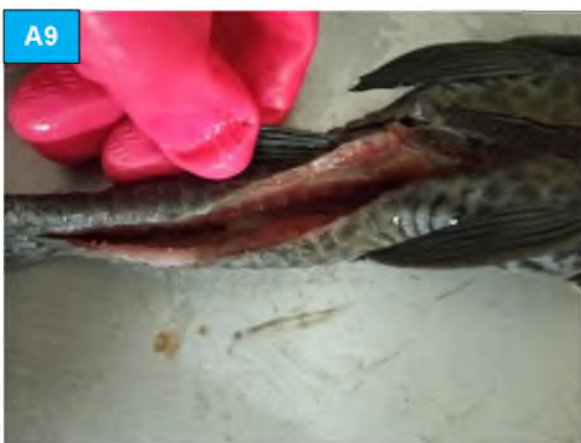
Etapa de medición, peso y eviscerado (2da prueba)



Pez diablo fresco (A1, A2)

Pesado de pez diablo (A3)

Medición de pez diablo (A4)



Etapa de eviscerado de pez diablo (A5, A6, A7, A8, A9)

Inicio del eviscerado desde la parte blanda del pez diablo (A5)

Gónada de pez diablo (A10)



Pez diablo y musculatura extraída (A11)

Pez diablo eviscerado y lavado (A12, A13, A14)

Etapa de secado al sol (A15)



Pez diablo antes de secar (A16)

Pez diablo seco (A17)

Etapa de pesado y adición de disoluciones (1ra prueba)



Pez diablo molido (B1)

Pesado de la muestra seca tamizada de pez diablo (B2)



Pesado de reactivos para las disoluciones (B3)

Adición de harina de pez diablo en matraz contenedor (B4, B5)

Adición de disolución para iniciar la obtención de quitosano por el método químico (B6, B7)



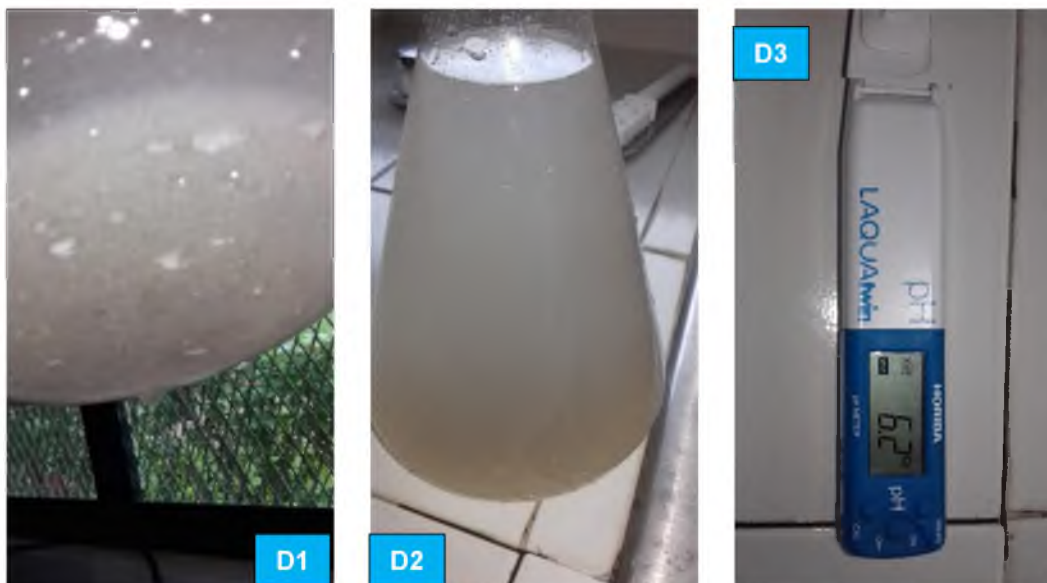
Etapa de desmineralización (1ra prueba)



Muestra desmineralizada después de 10 enjuagues (C1, C2)

Muestra desmineralizada después de 17 enjuagues (C3)

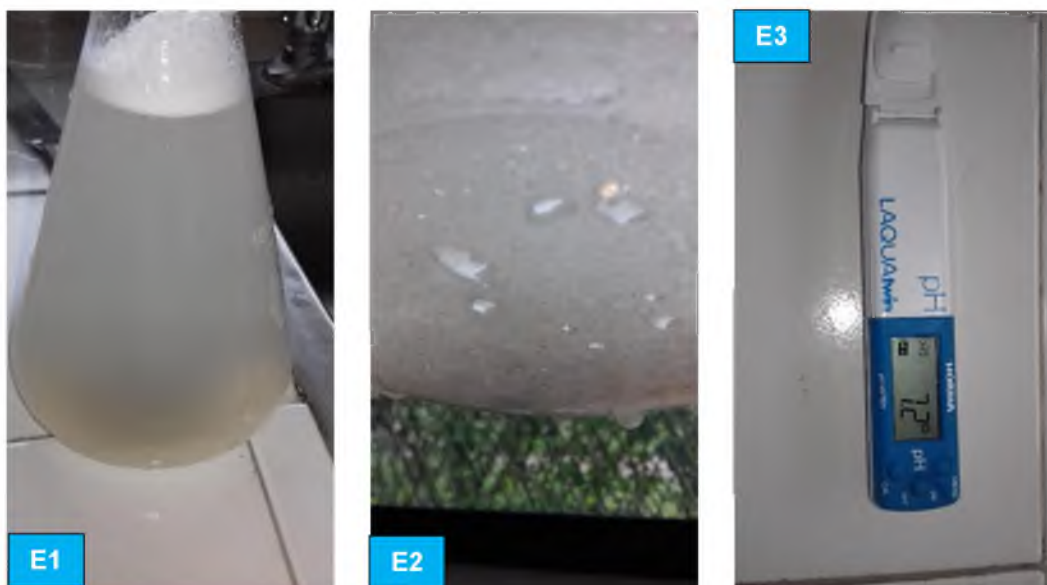
Etapa de desproteínización (1ra prueba)



Muestra desproteínizada después de 10 enjuagues (D1, D2)

Nivel de pH después del enjuague 13 (D3)

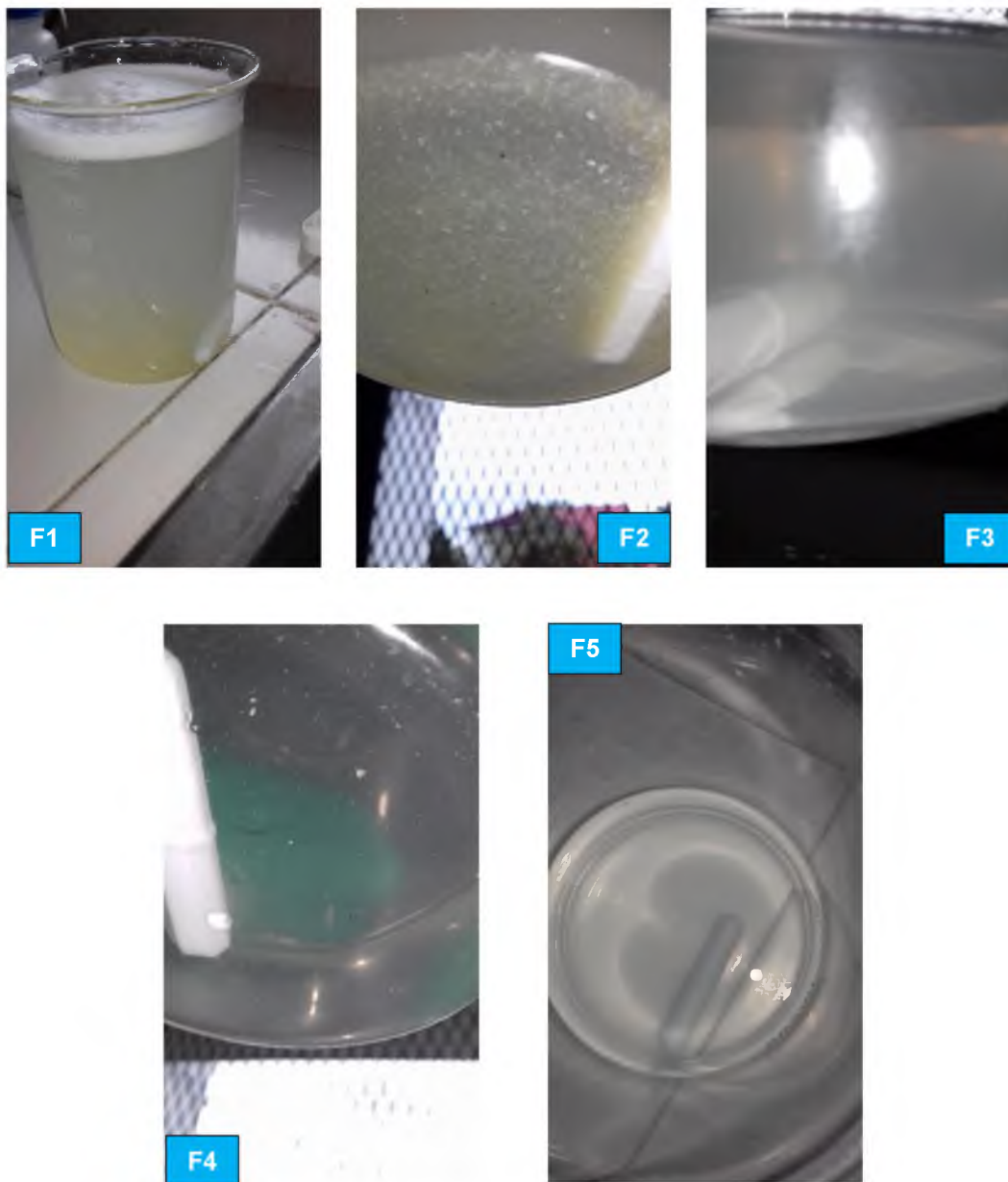
Etapa de desacetilación (1ra prueba)



Muestra desacetilada después de 14 enjuagues (E1, E2)

Nivel de pH después del enjuague 19 (E3)

Etapa de despigmentación (1ra prueba)



Muestra de pez diablo después de 3 minutos en NaCl al 100 % (F1, F2)

Muestra de pez diablo después de 7 minutos en NaCl al 100 % (F3, F4, F5)

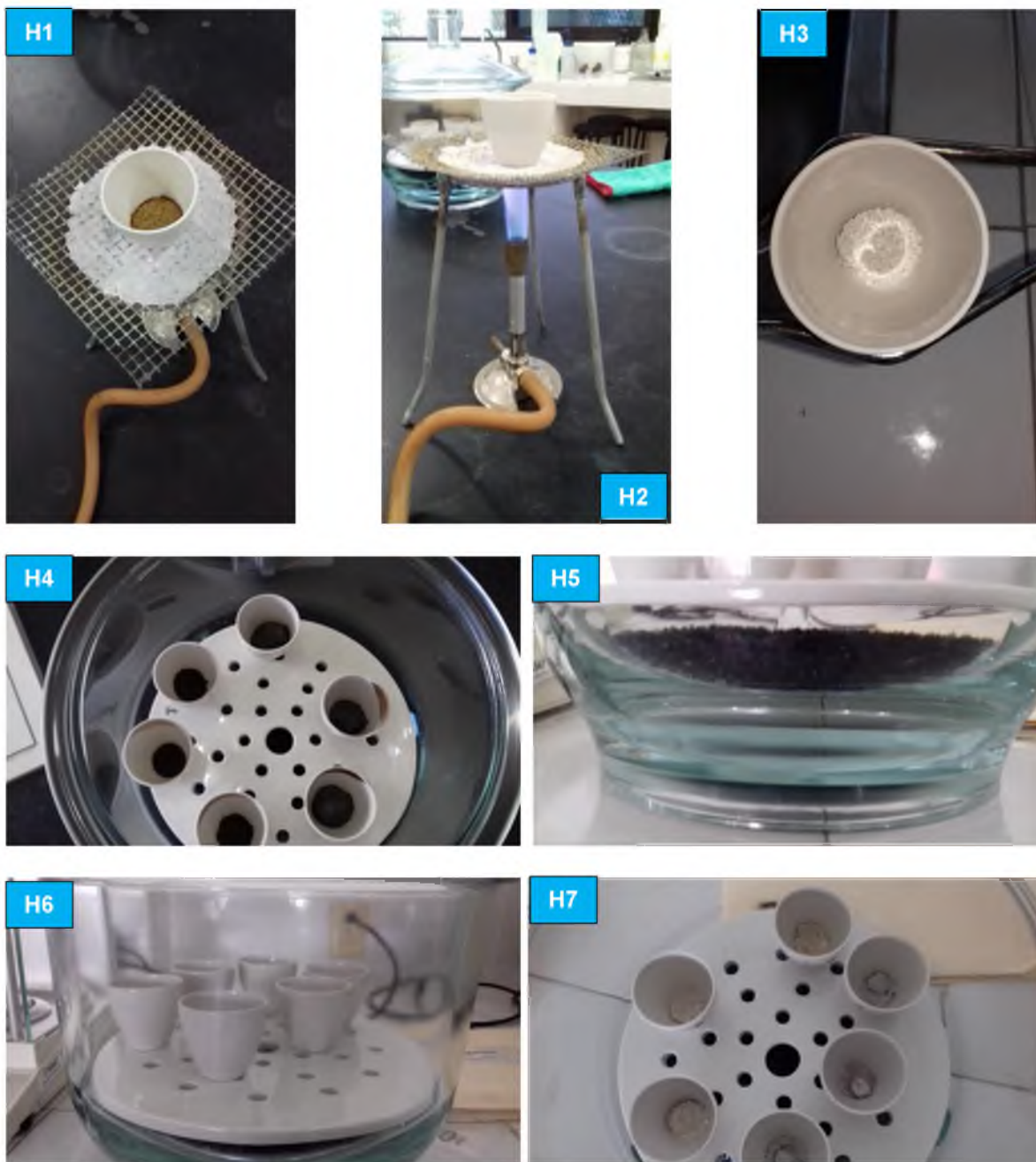
Etapa de secado (2da prueba)



Muestra húmeda de quitosano de pez diablo (G1)

Secado de quitosano del pez diablo en horno de secado ECOSHEL a 90 °C durante 3 h (G2, G3, G4)

Etapa de la determinación de purificación (2da prueba)



Calcinación de quitosano por medio del mechero de bunsen (H1, H2)

Quitosano y harina de pez diablo calcinada (H4)

Silica gel activada (H5)

Quitosano y harina de pez diablo después de salir de la mufla (H3, H6, H7)

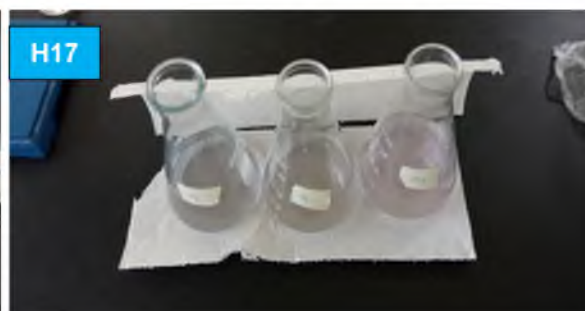


Silica gel antes de activarla (H8)

Digestión de quitosano y harina de pez diablo (H9, H10, H11)

Quitosano y harina de pez diablo digerido (H12)

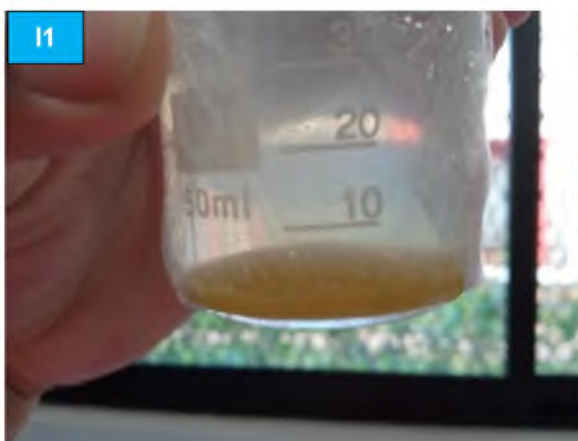
Destilación de las muestras digeridas (H13)

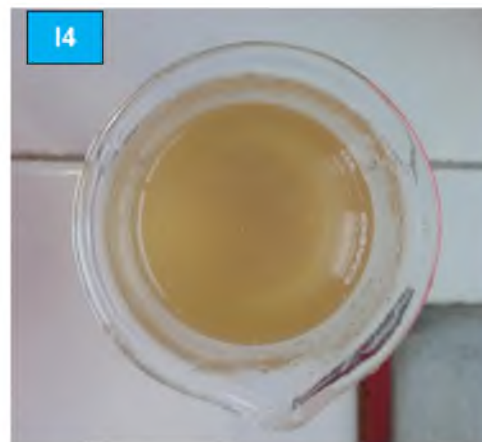
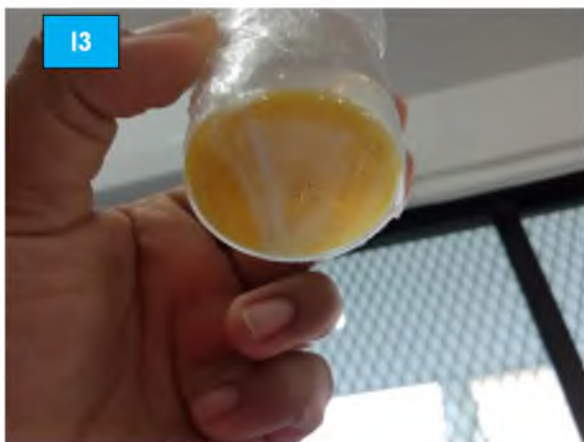


Titulación de las muestras destiladas (H14)

Quitosano y harina de pez diablo después de la titulación (H15, H16, H17)

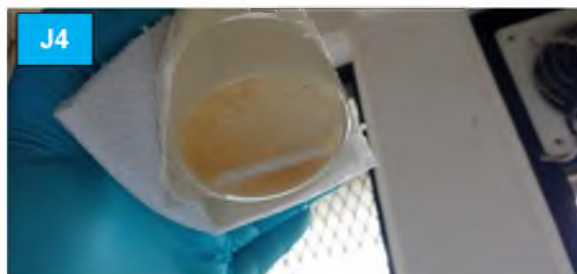
Prueba de pH (2da prueba)





Quitosano suministrado y agitado en agua destilada (I1, I2, I3, I4)

Etapa de solubilidad (2da prueba)



Quitosano de pez diablo a diferentes concentraciones de ácido fórmico con agitación (J1, J2)

Muestra de quitosano con ácido fórmico al 0.5 % (J3, J4)



Muestra de quitosano con ácido fórmico al 1 % (J5, J6)

Pesado de papel filtro para las muestras de quitosano (J7, J8)

Filtrado de las muestras de quitosano de pez diablo a diferentes concentraciones de ácido fórmico (J9, J10)

Quitosano filtrado y secado a concentraciones de 0.5, 1, 5 % de ácido fórmico (J11)

Triplicado de quitosano con ácido fórmico al 10 % filtrado y secado (J12)