

EXTRACCIÓN DE QUITOSANOS A PARTIR DE DIFERENTES PARTES PARTES DEL EXOESQUELETO DE LANGOSTA DE RIO *Cherax quadricarinatus*

Romo Zamarrón Karla Fabiola ^{a*}, Pérez Cabrera Laura Eugenia ^a, Ramírez Carrillo Rosa Elena ^a, Díaz Estrada Ariadna Indira ^b

^a Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Tecnología de Alimentos, Av. Universidad No. 904, Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Aguascalientes, México.

*kafa_69@correo.uaa.mx

^b Instituto del Agua del Estado de Aguascalientes, Departamento de Calidad de Agua Potable, 18 de Marzo No. 98, Las Hadas, C.P. 20140, Aguascalientes, Aguascalientes, México..

RESUMEN:

En el presente trabajo se logro llevar a cabo la obtención de quitosanos, extraídos de tres partes diferentes del exoesqueleto de langosta de rio *Cherax quadricarinatus* (1) Rostro, cara y carpacio; 2) Abdomen, pleopodos y abanico; 3) quelíceros y pereopodos) con la finalidad de caracterizar y determinar cual parte del exoesqueleto presenta una calidad adecuada para su utilización como biopolímero. La obtención de los quitosanos se realizo por medio de un tratamiento termoalcalino establecido, el cual consta de una desproteinización, seguido por una desmineralización (Quitina) y termina con una desacetilación. Para determinar y evaluar la calidad de los quitosanos obtenidos se les determinaron sus rendimientos y sus propiedades fisicoquímicas (humedad, cenizas, nitrógeno y extracto etéreo), así como sus propiedades funcionales (materia insoluble, grado de N-desacetilación, capacidad de retención de agua y aceite). Con los resultados obtenidos se logro determinar que del la parte integrada por abdomen, pleopodos y abanico se puede obtener un quitosano con una mejor calidad teniendo mejores resultados en su %MI, %GD, WBC y OBC, en comparación con los otros dos quitosanos obtenidos.

ABSTRACT:

In the present study was achieved to perform obtaining chitosan, extracted from three different parts of the exoskeleton of crayfish *Cherax quadricarinatus* (1) Face and carapace; 2) Abdomen, pleopods and fan; 3) chelicerae and pereopods) in order to characterize and determine which part of the exoskeleton has a quality suitable for use as a biopolymer. The Chitosans was performed by a termoalcalino established treatment, which consists of deproteinization followed by a demineralization (chitin) and ends with a deacetylation. To determine and assess the quality of chitosans obtained were determined yields and physicochemical properties (moisture, ash, nitrogen and ether extract) and functional properties (insolubles, degree of N-deacetylation, holding capacity Water and oil). With the results obtained achievement determine which of the composed abdomen, pleopods and fan part can obtain a chitosan with better quality having better results in their MI%, % GD, WBC and OBC, compared with the other two chitosan obtained .

Palabras clave:

Langosta de rio, quitosano, caracterización

Keyword:

River lobster, chitosan, characterization

Área: Desarrollo de nuevos productos.

INTRODUCCIÓN

El interés permanente de la humanidad por encontrar en los recursos naturales nuevos beneficios a favor de la nutrición y la salud, la ha llevado a indagar acerca de la posibilidad de utilizar algunos desechos de la industria pesquera, tal es el caso de los exoesqueletos de

crustáceos. Estos son considerados contaminantes ambientales y sin embargo, constituyen la fuente principal de dos biopolímeros de alto valor agregado establecidos a nivel mundial: la quitina y su derivado funcional, el quitosano (García y Roca, 2008).

La quitina (β -1,4-poli- *N*-acetil- *D*-glucosamina) es el segundo polímero más común después de la celulosa en la naturaleza, existente en las conchas de los crustáceos como cangrejos, camarones, langosta y la cutícula de los insectos. El quitosano (poli- β -1,4-2-amino-2-desoxi- β - *D*-glucopiranoza) se deriva por desacetilación de la quitina (No y Meyers, 1989). Debido a su biodegradabilidad, biocompatibilidad, propiedades tóxicas, la cicatrización de heridas y la actividad hemostática, el quitosano ha recibido una mayor atención como uno de los materiales poliméricos renovables prometedores para varias aplicaciones (Yen *et al.*, 2009). Es comúnmente usado en distintos sectores, en especial la alimentación, química, biotecnología, agricultura, veterinaria, cosmética, la medicina, la odontología, la protección del medio ambiente, textil, fabricación de papel y embalaje (Seo *et al.*, 2007). Varios métodos han sido reportados para la obtención de quitosano a partir de la quitina. El procedimiento importante para la obtención de quitosano se basa en la desacetilación alcalina de la quitina con una fuerte solución alcalina a alta temperatura (Castelli *et al.*, 1996).

El quitosano se produce comercialmente a partir de crustáceos en general, pero en ningún estudio hasta la fecha se ha reportado que se aprovechen los residuos de langosta de río *Cherax quadricarinatus*, por lo que el objetivo principal de esta investigación es la obtención de quitosanos a partir de las diferentes partes de langosta de río (*Cherax quadricarinatus*) que es cultivado en la granja experimental del Instituto del Agua del Estado de Aguascalientes, ubicada en la localidad de Valladolid, municipio de Jesús María del estado de Aguascalientes. Así como la determinación de sus propiedades funcionales y análisis fisicoquímicos, con la única finalidad de determinar de qué parte del exoesqueleto se puede extraer este biopolímero con una mejor calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Especímenes vivos de *Cherax quadricarinatus*, en edad adulta, fueron producidos en la granja de reproducción y cultivo, enseguida fueron sacrificados por congelación para su posterior procesamiento. Después de 48 h se evisceraron y se separó la fracción comestible de la no comestible y los exoesqueletos se separaron en tres partes: 1) Rostro, cara y carpacio; 2) Abdomen, pleopodos y abanico; 3) quelícero y pereopodos, para someterlos a deshidratación por convección de aire a 60 °C por 24 h. Una vez secas las diferentes partes de los exoesqueletos, fueron molidas y tamizadas durante 30 min.

Obtención de quitosanos: Para la obtención de quitina-quitosano se utilizaron las fracciones provenientes de los tamices con apertura de luz ≤ 300 μ m, las cuales se sometieron a un tratamiento termoalcalino (TT) que consta de tres fases: 1) Desproteización: en la cual se suspendieron las muestras en NaOH 2 M a 65 °C por 2 h en agitación constante, se filtraron y se secaron a 60 °C hasta peso cte.; 2) Desmineralización: las muestras ya desproteizadas se suspendieron en HCl 1.8 M a 40 °C por 1 h en agitación constante, se filtraron y se secaron a 60 °C hasta peso cte. (Quitina); y 3) Desacetilación: las quitinas obtenidas se suspendieron en

NaOH 11 M a 100 °C por 2 h, se filtraron y se sometieron a un secado a 50 °C hasta peso constante. A partir de aquí se obtuvieron tres tipos de quitosano: 1) Quitosano de rostro, cara y carpacio (Q1); 2) Quitosano de abdomen, pleopodos y abanico (Q2); 3) Quitosano de quelícero y pereopodos (Q3).

Rendimiento: Se evaluó el rendimiento en las diferentes fases de obtención de quitosano, desde que se tuvieron los especímenes vivos, eviscerado, secado, molienda y tamizado, separación de 1) rostro, cara y carpacio; 2) abdomen, pleopodos y abanico; 3) quelícero y pereopodos, obtención quitosano, por medio de gravimetría; los rendimientos mencionados se calcularon mediante su adaptación a la siguiente expresión:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100\% \dots \quad (1)$$

Caracterización fisicoquímica: Se llevo a cabo la medición de las características fisicoquímicas de los quitosanos obtenidos de las diferentes partes de los exoesqueletos de langosta de río *Cherax quadricarinatus*, mediante la determinación de el contenido de humedad, cenizas, nitrógeno y extracto etéreo de acuerdo con la AOAC, 2007.

Porcentaje de materia insoluble (%MI): con la finalidad de evaluar la cantidad de sales insolubles u algún contaminante en los quitosano obtenidos (Q1, Q2 y Q3), se determinó el porcentaje de materia insoluble (%MI) disolviendo 0.5 g de los quitosanos en ácido láctico al 85% (0.7%), ajustando a un pH de 4.2 ± 0.2 , los cuales se mantuvieron en agitación constante durante 24 h. Por otro lado se mantuvieron filtros Whatman (20-25 mm) a peso cte., para posteriormente filtrar las muestras disueltas y de esta manera determinar el %MI por gravimetría.

Grado de N-desacetilación: este parámetro define el grado de pureza del quitosano obtenido y fue evaluado mediante técnica potenciométrica, al disolver 1 g de cada uno de los quitosanos (Q1, Q2 y Q3) por separado en 100 mL de HCl 1 N, en agitación constante. La valoración se llevó a cabo mediante adición constante de NaOH 0.1 N y medición de cambios de pH (Hanna Instrument, HI9812-5, México), con respecto a la cantidad añadida de NaOH. Dicha adición fue lenta para homogeneizar la solución y evitar errores de lectura debido a la posible precipitación del biopolímero. De ésta manera se obtuvieron curvas de pH vs. mL de NaOH añadidos, las cuales presentan dos puntos de inflexión; la diferencia entre ellos correspondió a la cantidad de base requerida para protonar los grupos amino del quitosano. La concentración de ambos se determinó con la siguiente ecuación:

$$NH_2 = \frac{16.1(y - x)}{w} f \dots (2)$$

Donde: y, punto de inflexión mayor; x, punto de inflexión menor; ambos expresados como volúmen; f, molaridad de la solución de NaOH; w, la masa de la muestra en g y; 16.1, factor asociado al tipo de proteína utilizada. Para ésta prueba se utilizó quitosano.

Capacidad de unión de agua (WBC) y aceite (OBC): se midieron usando un método modificado de Wang y Kinsella (1976), para ello se pesaron 0.5 g de cada uno de los quitosanos

obtenidos por duplicado, para ser humectados con 10 mL de agua, se mezclaron en un vortice durante 1 min y se dejaron reposar durante 30 min a temperatura ambiente, cada 10 min se agitaron por 5 s, para posteriormente ser colocados en centrifugación a 3200 rpm durante 25 min, transcurrido el tiempo se decanto el sobrenadante y se peso la muestra humectada, en el caso del aceite se realizo el mismo proceso. Y se calcularon de la siguiente manera:

$$WBC \text{ u } OBC = \frac{\text{muestra humectada}}{\text{peso inicial}} (100) \dots (3)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento: De las especímenes recibidos de langosta de rio solo el 35.38% fue una fracción comestible, es decir que el resto es contenido visceral (3.57%) y exoesqueleto (61.04%), valores similares son indicados para desechos de diferentes crustáceos con un contenido de entre 60 a 80% (Parada *et al.*, 2004), el uso de estos desechos para la obtención de quitosano, aporta de forma directa un método de control de la contaminación ambiental. Del 61.04% de los exoesqueletos que fueron sometidos a procesamiento para la obtención de los quitosanos, se logro determinar el rendimiento de la obtención de los mismos desde que los exoesqueletos estaban en húmedo los cuales fueron de: 6.51% para Q1, 7.29% en Q2 y 2.34% para Q3, asi como el rendimiento después del tamizado utilizado hasta la obtención de los quitosanos que fueron de: 32.56% para Q1, 32.88% en Q2 y 13.60%, de esta manera, se demostró las diferentes partes de los exoesqueletos tiene un efecto importante sobre el rendimiento de los quitosanos obtenidos.

Caracterización fisicoquímica: Los resultados obtenidos de la determinación de todos los parámetros correspondientes a la caracterización fisicoquímica que son porcentajes de humedad, ceniza, nitrógeno y extracto etéreo de los quitosanos obtenidos, se muestran en la Tabla I. El contenido de humedad fue similar para los quitosanos Q1 y Q2 ($5.35 \pm 0.5\%$), mientras que para Q3 el contenido de humedad es mayor en $\sim 3\%$, esto podría deberse a la gran cantidad de materia orgánica que contienen estas partes de los exoesqueletos. El resultado correspondiente al porcentaje de ceniza de los quitosanos está influenciado por la presencia de impurezas de tipo mineral, como el calcio, contenido en sales de CaCO_3 o incluso la presencia de contaminantes metálicos. En la Tabla I se aprecia que el valor obtenido experimentalmente es superior para el quitosano Q3 en un $\sim 7\%$ con respecto a los Q1 y Q2 que tiene un significativo menor contenido de cenizas. El resultado depende, en gran medida, del origen, propiedades y condiciones de obtención del quitosano.

Tabla I. Caracterización fisicoquímico de los quitosano obtenidos [1) Quitosano de rostro, cara y carpacio (Q1); 2) Quitosano de abdomen, pleopodos y abanico (Q2); 3) Quitosano de quelícero y pereopodos (Q3)]

Muestras	Humedad (%)	Cenizas (%)	Nitrógeno (%)	Extracto etéreo (%)
Q1	5.353	58.768	2.730	0.438
Q2	5.791	63.221	3.480	0.591
Q3	8.310	70.068	4.210	0.516

En cuanto al porcentaje de nitrógeno contenido en los quitosanos obtenidos se puede ver que las diferencias son significativas dependiendo de que parte del exoesqueleto se obtuvo el quitosano, se puede ver que para Q1 el contenido es menor en tanto que para Q2 es 1% mayor y para Q3 es un 2% mayor aproximadamente. En cuanto al contenido de extracto etéreo se puede ver que el factor parte del exoesqueleto no afecta el contenido de grasa en los quitosanos obtenidos.

Porcentaje de materia insoluble (% MI): La transformación de la quitina en quitosano modifica sustancialmente sus propiedades, de modo que éste es fácilmente soluble en soluciones acuosas de la mayor parte de los ácidos orgánicos e inorgánicos (pH < 6.5).

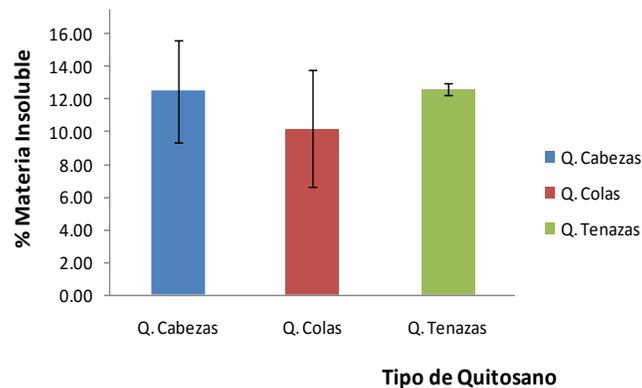


Figura 1. Porcentaje de materia insoluble de los quitosanos obtenidos (1) Quitosano de rostro, cara y carpacio (Q1); 2) Quitosano de abdomen, pleopodos y abanico (Q2); 3) Quitosano de quelícero y pereopodos (Q3)).

El porcentaje de materia insoluble (MI%) se puede ver expresado en la Figura 1, donde es significativamente mayor para Q3 (12.61%), mientras que el quitosano obtenido a partir del abdomen, pleopodos y abanico tuvo un menor %MI (10.21%). Cabe destacar que el %MI de los quitosanos de langostino obtenidos es similar entre ellos los cuales. La concentración de material insoluble es superior a los valores reportados en bibliografía (0.3-1.0%).

Grado de N-desacetilación: el contenido de grupos amino en las muestras de quitosano se determinó por titulación potenciométrica. Con esto se obtuvieron las curvas con dos puntos de inflexión (x) y (y), se calculó el grado de desacetilación en base a la Ecuación 2. El %GD de los quitosanos obtenidos a partir de las diferentes partes de los exoesqueletos (Tabla 3), es significativamente comparable con respecto a la %GD del quitosano comercial que es de un 89.27±0.79% (Romo *et al.* 2014). En la Tabla III se puede ver que el grado de desacetilación del quitosano de tenazas es mayor incluso que el comercial. Los factores que afectan el grado del N-desacetilación incluyen: concentración del álcali, tratamiento previo, tamaño de partícula.

Tabla III. Grado de desacetilación expresado en porcentaje

Muestra	Grado de desacetilación (%)
Q1	80.52
Q2	91.08
Q3	82.45

El grado de desacetilación es probablemente el parámetro más importante de estos polisacáridos y determina de forma importante sus características funcionales. Para obtener un producto soluble, este debe tener un grado de desacetilación entre 80 y 89% o mayor.

Capacidad de unión de agua (WBC) y aceite (OBC): la capacidad de unión de agua (WBC) y la capacidad de unión de grasa (FBC) de los quitosanos extraídos se determinaron y los resultados se muestran en la Figura 2. Donde podemos observar que la WBC de los quitosanos obtenidos oscila entre un 3.75 y 5.59%, siendo mayor para Q3 que proviene de quelíceros y pereopodos de los exoesqueletos y teniendo resultados similares entre Q1 y Q2 con un 3.75 y 3.79% respectivamente.

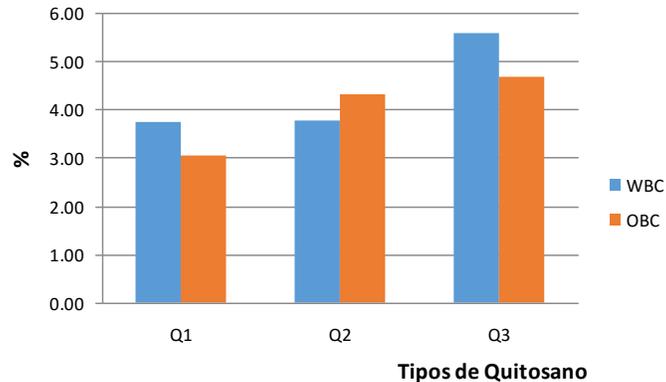


Figura 2. Capacidad de unión de agua y aceite de los quitosanos obtenidos de las diferentes partes de los exoesqueletos de langosta de río *Cherax quadricarinatus*.

En cuanto a la OBC de los quitosanos obtenidos esta varío entre un 3.07 y 4.70%, de igual manera siendo mayor para Q3 que proviene de quelíceros y pereopodos de los exoesqueletos y teniendo resultados similares entre Q1 y Q2 con un 3.07 y 4.35% respectivamente. En general los valores de WBC y OBC valores similares fueron obtenidos por Mahdy *et al.* 2013 que fueron de un 3,14 a 5,35% y 2.17 a 4.3%, respectivamente.

CONCLUSIONES

Se logró determinar que la separación por partes de los exoesqueletos de langosta de río *Cherax quadricarinatus*, puede ser funcional en la obtención de un quitosano con una mayor pureza y mejor calidad, a pesar de que en sus características fisicoquímicas no existieron diferencias notorias entre los quitosanos Q1, Q2 y Q3, en la determinación de sus propiedades funcionales tales como %MI, %GD, WBC y OBC, se puede observar que el Q2 es el que tiene un mayor grado de pureza esto puede ser debido a que estas partes de los exoesqueletos tienen menor contenido de materia orgánica dándonos así una mejor calidad en el biopolímero obtenido.

BIBLIOGRAFÍA

Castelli, A., Bergamasco, L., Beltrame, PL, Focher, B., 1996. Algunas ideas sobre la cinética de desacetilación alcalina no convencional de la quitina. En: (Eds.) Domard, A., Jeuniaux, C., Muzzarelli,

- García T, Roca JM. 2008. *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial* 11: 24–32.
- Healy, M., Green, A., & Healy, A. 2003. Bioprocessing of marine crustacean shell waste. *Acta Biotechnology*, 23(2–3): 151–160.
- Mahdy M. Samar, M.H. El-Kalyoubi, M.M. Khalaf, M.M. Abd El-Razik. 2013. Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. *Annals of Agricultural Science*, 58(1): 33–41.
- No, H.K., Lee, K.S., Meyers, S.P., 2000. Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. *J. Food Sci.* 65: 1134–1137.
- Seo, S., King, J. M., & Prinyawiwatkul, W. 2007. Simultaneous depolymerisation and decolorization of chitosan by ozone treatment. *Journal of Food Science*, 72(9): 522–526.
- Yen, M.-T., Yang, J.-H., & Mau, J.-L. 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 75: 15–21.