

Producción de quitosano a partir de desechos de camarón generados del procesamiento industrial

Velasco Reyes, J. F. *, Díaz Narváez, G. C., Ramírez Carrillo, R. E., y Pérez Cabrera, L. E.

^a Departamento de Tecnología de Alimentos del Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Ags. México * francovela96@hotmail.com

RESUMEN:

La utilización de los exoesqueletos de camarón ha sido planteada como fuente de materia prima para la obtención de quitina y quitosano y como una oportunidad concreta para mejorar las condiciones socioeconómicas y ambientales. La quitina posee excelentes propiedades mecánicas que permiten la formación de fibras y películas biodegradables. El objetivo del trabajo es obtener el método de obtención del quitosano con características semejantes al comercial, a partir de exoesqueletos de camarón. Los exoesqueletos se sometieron a desinfección, secado, molienda y tamizado. Se realizaron los siguientes procesos: Proceso A integrado por un proceso de desmineralización y desproteínización. Proceso B integrado por la etapa de desproteínización seguido por la etapa de desmineralización. Ambas muestras de quitina obtenidas de A y B fueron desacetiladas. Se obtuvo el grado de N-desacetilación (GD) de las muestras de quitosano obtenidas mediante el método potenciométrico para el proceso A 87.745% y B 83.881%. Se concluye que los resultados obtenidos demuestran que los quitosanos extraídos son aceptables para algunos de los parámetros de calidad determinados comparado con la muestra control (Quitosano Sigma-Aldrich $\geq 75\%$ GD)..

Palabras clave: Quitosano, Solubilidad, Obtención, Caracterización, , Biopolímero.

ABSTRACT:

The chitosan has excellent mechanical properties that allows the formation of fibers and biodegradable films. The purpose of the investigation it's obtain chitosan with similar properties of the comercial one from the shrimp waste. The exoskeleton where submitted to a disinfection, dried out, milled and sifted. The next processes where executed: Process A composed by a demineralization and deproteinization. Process B composed by a deproteinization followed by a demineralization. Both samples from process A and B where deacetylated. It was obtained the N-deacetylation (GD) value of the chitosan samples obtained by the potentiometric method with the results for process A 87.745% and B 83.881%. It's concluded that the results prove that the chitosan extracted are acceptable for some of the established quality parameters compared with the control sample (Quitosano Sigma-Aldrich $\geq 75\%$ GD)..

Keywords: Chitosan, Solubility. Obtainment, Characterization, Biopolymer.

Área: Otros

INTRODUCCIÓN

Las industrias procesadoras de mariscos presentan dentro de sus principales problemas la disposición final de los desechos generados a partir de los diversos tipos de crustáceos. Por tanto el encontrar una aplicación a estos desechos que además de resolver la disposición final de los subproductos genere ingresos económicos es una de las mejores opciones para la industria del camarón. Los subproductos generados por la industria camaronera pueden dividirse en sólidos y líquidos; entre los primeros encontramos: cefalotórax, cutícula o caparazón, vísceras y fragmentos de carne que no han sido removidos en la operación de pelado, mientras que los desechos líquidos, o efluentes, están representados por el agua de blanqueo. En general, el rendimiento de los subproductos, cuando se tiene el camarón en forma de cola con cáscara, oscila entre 35 y 45% sobre el peso total del camarón. Además el empleo de éste material contribuye a solucionar el problema medioambiental generado por la lenta degradación de estos residuos.

La quitina es el segundo polisacárido de mayor abundancia en la naturaleza, la estructura molecular del polímero posee excelentes propiedades mecánicas que permiten la formación de fibras y películas biodegradables. La principal fuente de quitina son exoesqueletos particularmente, de camarón. El quitosano es un polímero natural derivado del proceso de desacetilación de la quitina. La quitina es un biopolímero abundante en el exoesqueleto de crustáceos y moluscos, además forma parte de la estructura de la pared celular de ciertos hongos e insectos (Balanta et al, 2010). Este polímero está compuesto por aminoazúcares unidos entre sí por enlaces glicosídicos $\beta(1\rightarrow4)$

formando una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-2- desoxi-D-glucosa, algunas de las cuales se encuentran desacetiladas (Ramírez et al, 2010).

La quitina presente en las cáscaras de camarón (α -quitina) normalmente está asociada a proteínas, minerales, lípidos y pigmentos, de tal forma que para poder acceder a la quitina primero se deben eliminar estos otros constituyentes de la cáscara del camarón (Percot *et al.*, 2003). Actualmente y con más énfasis, se sigue estudiando la manera de obtener la quitina de una manera más pura y con un menor daño a la integridad de la cadena de este biopolímero, y no es para menos este esfuerzo, ya que las numerosas aplicaciones de la quitina en las áreas de agricultura, biomedicina, alimenticia, cosmética, farmacéutica y de la elaboración del papel entre muchas otras, justifican enormemente las investigaciones al respecto (Percot *et al.*, 2003, Chaussard y Domard 2004). La fuente y el método de obtención determinan la composición de las cadenas de quitosano y su tamaño. Por este motivo, el grado de desacetilación (%GD), la solubilidad (%MI), son parámetros de obligado conocimiento para la caracterización de este polímero y para su empleo en distintas aplicaciones. El objetivo de este trabajo fue la recuperación de un producto a partir de residuos sólidos generados por la empresa procesadora de productos de la pesca y acuicultura Grupo McGourmet con el fin de obtener un quitosano aceptable con características semejantes al comercial, para ello se determinó la metodología adecuada para la obtención del quitosano mediante la desproteización, la desmineralización y la desacetilación química de los exoesqueletos en polvo y evaluar parámetros requeridos para su caracterización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de materia prima

Los exoesqueletos de camarón de estero fueron proporcionados por la empresa procesadora de productos de la pesca y acuicultura Grupo McGourmet. Los exoesqueletos fueron sanitizados con una solución de con NikonPQ (4ml por 10 litros de agua), se centrifugaron para posteriormente pasar al secado por aire caliente a 60°C hasta peso constante y se trituraron y tamizaron durante 30min y se utilizaron para la extracción de quitina-quitosano las fracciones provenientes de los tamices con apertura de luz de 425, 300, 250 y < 250mm.

Obtención de quitina/quitosano

Para la obtención de quitina-quitosano se utilizaron las fracciones provenientes de los tamices de 300, 250 y < 250mm, las cuales se sometieron a un tratamiento químico termoalcalino (TTA) con la variación en el orden de las etapas que se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Métodos utilizados para la obtención de quitosano

MÉTODO A	MÉTODO B
Demineralización	Desproteización
Desproteización	Demineralización
Desacetilación	Desacetilación

Desmineralización

Se colocó el polvo obtenido de la molienda de los exoesqueletos de camarón en una relación 1:6 de HCl 5%, se procesó a 40°C por un lapso de 2 horas con agitación constante. La cantidad de muestra se vertió en un vaso de precipitado o matraz, (con una barra de agitación) adicionando muy lentamente (efervescencia) el HCl 5% en relación 1:6 homogenizando, sometiéndola a 40°C, durante 2 horas con agitación constante a 7 rpm. Posteriormente se realizaron enjuagues durante 10 min y se filtró. Los sólidos recolectados colocaron en un recipiente, para llevarlos a sequedad a 60°C hasta peso constante. Los sólidos obtenidos se sometieron al siguiente proceso

Desproteización

Se colocan la cantidad de muestra en una relación 1:6 de NaOH 3%, se procesó a 65°C por un lapso de 2 horas con agitación constante. La cantidad de muestra se vertió en un matraz, con una barra de agitación adicionando el NaOH 3% en relación 1:6 homogenizando lo mejor posible la mezcla, sometiéndola a 65°C, durante 4 horas con agitación

constante a 7 rpm. Se realizaron enjuagues y se agito durante 10 min. y se filtró. Los sólidos recolectados en el filtro se enjuagaron, el obtenido (Quitina), se someten al siguiente proceso: Desacetilación para la obtención de Quitosano

Desacetilación

Se colocó una cantidad de muestra (Quitina) una relación 1:6:2 de NaOH 50% agua destilada, se procesó a 85°C por un lapso de 2 horas con agitación constante. La cantidad de muestra se vertió en un vaso de precipitado o matraz, (con una barra de agitación) adicionando muy lentamente (efervescencia) el NaOH 50% y el agua destilada en relación 1:6:2 homogenizando lo mejor posible la mezcla, sometiéndola a 85°C, durante 2 horas con agitación constante a 7 rpm. Se procedió a un enjuague durante 10 min y se filtra, los sólidos recolectados en el filtro se enjuagan por lo menos dos veces más. De ser posible medir pH del agua de enjuague pH 7 aprox. Se sometió a secado por aire caliente a una temperatura de 50 °C hasta peso constante.

Grado de *N*-desacetilación

El grado de *N*-desacetilación del quitosano se llevó a cabo utilizando un método potenciométrico, las mediciones se realizaron con un pHmetro Hanna Instrument. Para la determinación del contenido de grupos amino del quitosano se procede a la disolución de 1g en HCl 1M. La valoración se lleva a cabo con NaOH 0.1N midiendo el cambio de pH, la adición se realiza de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. De esta manera se obtuvieron curvas de pH vs ml de NaOH añadidos, las cuales presentan dos puntos de inflexión; la diferencia entre ellos corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano; la concentración de estos se determinó utilizando la siguiente expresión:

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

Ec. 1 Grado de *N*-desacetilación.

Donde el punto *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 el número 16.1 es un factor asociado al tipo de proteína utilizada. El porcentaje de proteína se determinó por medio del método de Dumas.

Caracterización de quitosano

Porcentaje de materia insoluble

Con la finalidad de evaluar la calidad del quitosano obtenido, se determinó el porcentaje de materia insoluble (%MI) disolviendo 0.5 g de las muestras en ácido acético (0.1 M) y ácido láctico al 85% (0.7%), ajustando a un pH de 4.2±0.2.

Nitrogeno

Se determinó mediante el análisis elemental de nitrógeno proteico siguiendo la metodología de Dumas, que se basa en la liberación de nitrógeno por pirólisis y subsiguiente combustión total, utilizando un detector de conductividad térmica. Se utilizaron los factores de conversión según protocolo para la transformación a proteína. Las determinaciones se realizaron por duplicado en las diferentes muestras.

Cenizas

Se determinó mediante la metodología, primeramente se desecaron las muestras en estufa a 105 °C y posteriormente se carbonizaron y calcinaron en una Mural (Felisa Modelo FE-340) de las muestras a 600 °C hasta peso constante. Las determinaciones se realizaron por triplicado en las diferentes muestras.

Humedad

La determinación del contenido en agua de las muestras se realizó siguiendo el método AOAC 14.003 (AOAC, 1980). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo el grado de *N*-desacetilación (GD) de las muestras de quitosano mediante el método potenciométrico para el proceso A y B. Se obtuvo una curva de pH vs ml de NaOH añadidos, la cual presenta dos puntos de inflexión; la diferencia entre ellos se corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano.

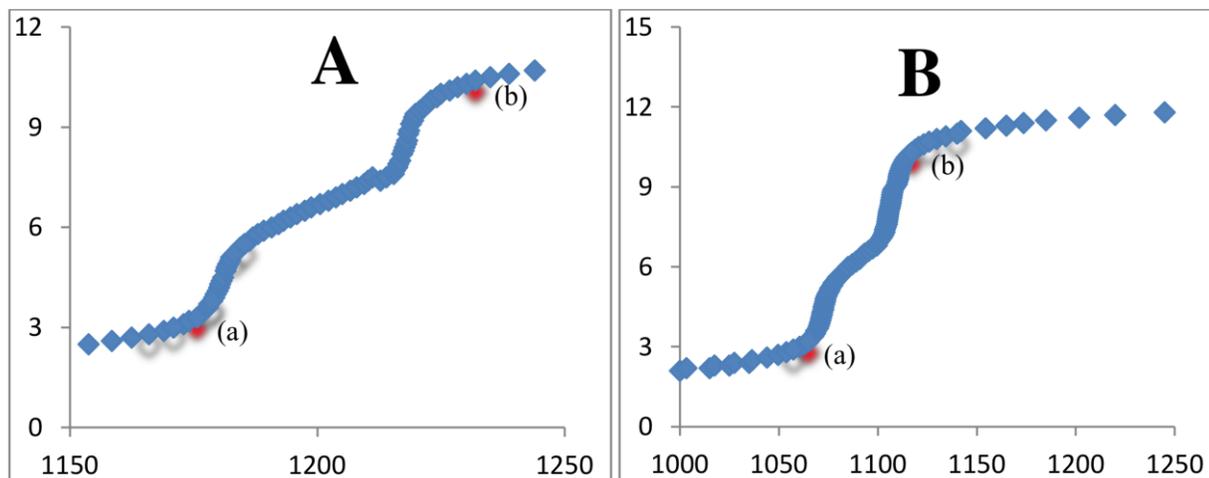


Figura 1. Curva de titulación para el cálculo de grado de *N*-desacetilación

En la Figura 1 se observa el grado de *N*-desacetilación (GD) de las muestras de quitosano A 87.745% y B 83.881% comparado con nuestro control $\geq 75\%$, generalmente el quitosano comercial (QC) presenta un porcentaje mínimo de 60%, esto nos habla de la calidad del proceso de obtención.

Tabla 2. Caracterización química de quitosano por diferentes métodos de obtención

DETERMINACIÓN	MÉTODO A	MÉTODO B	QC
Nitrógeno	6.81	7.41	7.15
Humedad	6.64	6.58	12.5
Materia insoluble	9.18	8.25	0.34

En la Tabla 2 se muestra la determinación de nitrógeno sin diferencias significativas entre ellas y el comercial, obteniendo para A 6.81% y para B 7.41% comparado con el comercial 7.15%, se empleó la técnica Dumas en un analizador de Nitrógeno/ Proteína LECO FP-528. Para la determinación de humedad se pesó aproximadamente 3 g de muestra y se secaron durante 24 h a 60°C hasta alcanzar peso constante, calculando el porcentaje por diferencia de pesos. El contenido de humedad es menor que el del comercial 11.69-13.67% obteniéndose para A 6.64% y B 6.58% esto debido a procesos fisicoquímicos durante la etapa de obtención.

Mientras que para la determinación de la materia insoluble se disolvieron 0.5 g de quitosano en una solución de Ácido Láctico al 0.5% se agitó y se filtró. El papel filtro con los residuos se pusieron a secar a peso constante y se calculó el porcentaje por diferencia de pesos, obteniendo para el proceso B 8.25% menor que él A 9.18%, sin embargo aún lejana al valor comercial (0.34%), este resultado puede justificarse debido a la presencia de material inorgánico.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en la caracterización del producto final nos muestran un producto con características aceptables de los parámetros de calidad determinados comparados con los del quitosano comercial (Sigma- Aldrich $\geq 75\%$ GD). Por otra parte se logro con el objetivo de obtener un producto de valor agregado con la generación de los residuos sólidos de la industria.

BIBLIOGRAFÍA

- Balanta, D., Grande, C., & Zuluaga, F. (2010). Extracción, Identificación y Caracterización de Quitosano del Micelio de *Aspergillus Niger* y sus Aplicaciones como Material Bioadsorbente en el Tratamiento de Aguas. *Revista Iberoamericana De Polímeros*, 11(5), 297-298.
- Chaussard, G., & Domard, A. (2004). New Aspects of the Extraction of Chitin from Squid Pens. *Biomacromolecules*, 5(2), 559-564. <http://dx.doi.org/10.1021/bm034401t>
- Percot, A., Viton, C., & Domard, A. (2003). Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells. *Biomacromolecules*, 4(1), 12-18. <http://dx.doi.org/10.1021/bm025602k>
- Ramírez, M., Rodríguez, A., Alfonso, J., Azocar, J., Vázquez, Y., Hernández, L., & Peniche, C. (2010). Composición química y elementos trazas en subproductos de exoesqueletos de langosta *Panulirus argus* con posible uso agrícola. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 41(2), 99-104.