

Estudio comparativo de obtención, caracterización y actividad antioxidante de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón estero y camarón de altamar.

Martínez Valeriano Ana Gabriela⁽¹⁾, Díaz Narváez Gloria Cristina⁽¹⁾, Ramírez Carrillo Rosa Elena⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Tecnología de Alimentos.

Posta Zootecnica, C.P. 20928, Jesús María, Aguascalientes. México.

Contacto: agabymv@gmail.com

RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento global de obtención de quitina y quitosano a partir de dos desechos distintos de exoesqueletos de camarón (el camarón de estero y el camarón de altamar), así como evaluar su composición en cada etapa. Las materias primas fueron proporcionadas por Mc Gourmet, una agroindustria local de comercialización de productos pesqueros. Los exoesqueletos se desinfectaron, se secaron y se molieron a polvo para someterse a procesos de desmineralización, desproteínización y desacetilación química, determinando factores de rendimiento en cada etapa. Se evaluó la calidad de los productos obtenidos determinando el grado de N-desacetilación del quitosano utilizando una técnica de valoración potenciométrica y materia insoluble. También se determinó Actividad Antioxidante Equivalente a TROLOX (TEAC) espectrofotométricamente. Y se caracterizó la composición con determinaciones de humedad por gravimetría, grasa cruda por extracción con éter de petróleo en equipo Goldfish, contenido de Nitrógeno total expresado como proteína con el método Dumas y cenizas totales con el método de Calcinación. Los resultados demuestran que los productos obtenidos son de calidad comparable al quitosano comercial y se determinó un mejor rendimiento para el proceso de camarón estero al compararlo contra el de altamar..

Palabras clave: Camarón, Quitina, Quitosano, Rendimiento global, Actividad antioxidante.

Área: Otros (subproductos).

ABSTRACT:

The purpose of this work consists in the evaluation of the overall yield of chitin and chitosan obtained from two extracts of shrimp exoskeletons (estuary and offshore shrimps). These were provided by Mc Gourmet, a local agroindustrial company for the commercialization of fishery products. The exoskeletons were disinfected, dried and grounded into powder to undergo deproteinization, demineralization and chemical deacetylation processes, while at the same time determining performance factors at each stage. The quality of the biological materials was evaluated, the degree of N-deacetylation of the chitosan was determined using a potentiometric valorization technique and insoluble matter. The Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) was also determined spectrophotometrically. The composition was characterized with the determination of humidity by gravimetry; crude fat by extraction with petroleum ether in Goldfish equipment; total Nitrogen content expressed as protein with the Dumas method; and total ash with the Calcination method. The results show that the obtained products are of comparable quality to the commercial chitosan, and a superior yield for the estuary shrimp process..

key words: Shrimp, Chitin, Chitosan, Overall yield, Deacetylation, Antioxidant activity

Area: Other (food byproducts).

INTRODUCCIÓN

Las restricciones de orden ambiental y económico en la producción de alimentos, han propiciado que se enfoque la atención a la necesidad de utilizar subproductos reciclables de orígenes animal y vegetal. A nivel mundial, la camaricultura ha estado inmersa en un controvertido debate referente a su impacto sobre los recursos naturales y el ambiente. (Bortolini Rosales, 2004)

La quitina es un polímero biodegradable muy abundante en la naturaleza, que se obtiene fundamentalmente del exoesqueleto de los crustáceos, y del que mucho se ha escrito por sus potencialidades de aplicación en la agroindustria y alimentación (E. S. Abdou, 2008) (Xia, 2003) . El uso de productos bioactivos compatibles con el medio ambiente es uno de los principales retos de la agroindustria moderna. En ese sentido, la aplicación de la

quitina y sus derivados representa una alternativa promisorio, por su naturaleza, su actividad biológica y la facilidad de obtención.

La quitina es el segundo polisacárido más abundante de la naturaleza, solo superada por la celulosa. Este biopolímero tiene una elevada tasa de regeneración natural, pues se estima que al menos 1 x 10⁹ toneladas de quitina se sintetizan y degradan cada año en la biosfera (GW., 1990). Según la fuente de obtención y el método de preparación, las características de la quitina varían. Por ello se trabaja en el perfeccionamiento de los métodos de obtención, para lograr las propiedades más convenientes para distintos usos (M., 2006). Debido a la insolubilidad de la quitina en agua, lo cual limita significativamente sus aplicaciones, en muchos casos es conveniente trabajar con algunos de sus derivados directos, en lugar del polímero original. Entre los derivados de la quitina, el más importante es la quitosano, que también puede hallarse en la naturaleza u obtenerse de forma sintética. Su característica fundamental es que sus unidades están mayormente desacetiladas, lo cual influye en sus propiedades químicas y biológicas. Constituye uno de los pocos polímeros naturales catiónicos que se conoce. Es soluble en disoluciones ácidas diluidas, y manifiesta una potente actividad antimicrobiana (Harish Prashanth KV, 2007). Ello se debe a que sus grupos amino adquieren carga positiva, lo cual también explica sus propiedades antimicrobianas (Xu J, 2007). La elevada viscosidad de las disoluciones de quitosano es otra de sus características principales y también favorece su actividad biológica, la cual depende de factores como el peso molecular promedio del polímero, el grado de acetilación y la concentración de la disolución, entre otros (Y. I. Cho, 1998). Se han establecido varios métodos para la producción de quitina a partir de sus fuentes naturales. Estos procesos involucran fundamentalmente el tratamiento con ácidos para lograr la desmineralización de los materiales y el tratamiento con álcali para separar las proteínas. (Hernández, 2004) (A Aljawish, 2015). De manera opcional, también se pueden eliminar los pigmentos y las grasas.

La eliminación de radicales libres es un mecanismo primario por el cual los antioxidantes inhiben los procesos oxidativos. (Suwalsky, 2006). Dado que la mayoría de los antioxidantes son de origen sintético y su uso se ve restringido por posibles riesgos para la salud, resulta pertinente estudiar su presencia en subproductos de productos naturales como una alternativa a los sintéticos (A. Moure, 2001). Se informa que el quitosano tiene actividad de eliminación de radicales libres, para ello, se evaluaron las propiedades antioxidantes de la quitina y quitosano valorando su capacidad de eliminación de radicales DPPH.

En la actualidad, la principal fuente de exoesqueletos proviene de los desechos de la industria camaronesa, los cuales representan millones de toneladas de basura a nivel mundial. La mayoría de estudios realizados en la obtención de quitosano han utilizado estos desperdicios industriales, provenientes de la industria pesquera (A Aljawish, 2015), sin embargo, a nuestro conocimiento, los exoesqueletos desechados en los comercios, y particularmente de los crustáceos producidos en criaderos de la agroindustria local, no han sido objeto de estudios destinados a obtener los materiales con alto valor agregado que representan la quitina y el quitosano. En consecuencia este trabajo pretende evaluar la factibilidad tecnológica que representa la obtención química del quitosano a partir de exoesqueletos de dos variedades de camarón generados en una empresa local: El camarón blanco de estero (*Penaeus vannamei*) criado en estanques y el Camarón café de alta mar (*Penaeus aztecus*) proveniente de la pesca, (Cifuentes Lemus J. L., 1997) a fin de determinar si existen diferencias en el rendimiento y calidad de ambas variedades.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Los objetos de estudio del presente trabajo fueron los exoesqueletos juveniles, con medida aproximada de 15 centímetros de "camarón marrón o café" (*Penaeus aztecus*) de altamar (C-A) proveniente de captura en costas mexicanas y de "camarón blanco o rosado" (*Penaeus vannamei*) de estero (C-E) criado en estanques regionales, ambas variedades de exoesqueletos fueron proporcionados por la empresa procesadora de productos de la pesca y acuicultura Grupo McGourmet. Los exoesqueletos conservados en hielo fueron desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio 300 ppm durante 10 min. Posteriormente fueron desecados a 60°C hasta peso constante y triturados en un mezclador Moulinex® durante aproximadamente 3 min, Se tamizaron durante 30 minutos en

tamices con apertura de luz de 425, 300, 250 y 200 mm. y se utilizaron para la extracción de quitina-quitosano aquellas fracciones de tamaño ≤ 300 μ m (MP)

Obtención de quitina/quitosano

Para la obtención de quitina-quitosano las fracciones provenientes de los tamices con tamaño ≤ 300 μ m (MP) de cada variedad de camarón (de Altamar y de Estero) se sometieron en lotes de 400 g, de cada variedad por triplicado a un tratamiento químico termoalcalino (TTA) con las siguientes etapas:

Etapas de desmineralización : Se colocaron los exoesqueleto desecados y triturados de camarón por tandas de 400 gramos en un vaso de precipitado de 3000 ml, (con una barra de agitación) adicionando muy lentamente (efervescencia) 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 (PDM) fueron llevados a sequedad a 60°C hasta peso constante, se pesaron y se sometieron a dos etapas más.

Etapas de desproteización: La cantidad de muestra desmineralizada seca (PDM) se vertió en un matraz, con una barra de agitación adicionando NaOH 3% en relación 1:6 homogenizando termo agitación a 7 rpm y 65°C. Posteriormente se realizaron enjuagues con agitación durante 10 min. y se filtraron los sólidos en una malla de tela fina y papel filtro. El obtenido (QUITINA) se llevó a sequedad a 60°C hasta peso constante. Los sólidos desecados obtenidos se pesaron y sometieron al siguiente proceso para la obtención de Quitosano.

Etapas desacetilación: Se colocó la cantidad de polvo desproteizado obtenido (Quitina) en un vaso de precipitado de 2000 ml (con una barra de agitación) adicionando muy lentamente (efervescencia) NaOH 50% y agua destilada en relación 1:6:2, homogenizando a 7 rpm y manteniendo temperatura de 85°C, durante 1 hora. Se realizó un enjuague con agitación por 10 minutos con agua destilada, se filtró en tela de manta y la torta retenida en el filtro se enjuagan por lo menos dos veces más usando agua destilada, hasta registrar un pH neutro (7 ± 0.2), el cual se monitorea con un ph-metro Hanna Instrument previamente calibrado. Los sólidos recolectados en el filtro (QUITOSANO) se distribuyeron en charolas para desecarse a 50 °C hasta peso constante.

Rendimiento

El rendimiento global (RG) del proceso se calculó utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Ec. (1)} \quad \text{RG} = \frac{(\text{RR}/\text{RT})}{100}$$

Donde, RT es la cantidad en gramos de la muestra con la que se comenzó el proceso. RR es la cantidad en gramos del producto final (polvo de exoesqueleto desmineralizado, quitina o quitosano).

Grado de N-desacetilación

El grado de N-desacetilación del quitosano se estimó utilizando un método de valoración potenciométrico con un pHmetro Hanna Instrument. Para la determinación del contenido de grupos amino del quitosano se realizó una titulación con NaOH 0.1N (HYCEL, México) midiendo el cambio de pH sobre la disolución preparada con de 1g de alguno de los quitosanos obtenidos (de C-A o C-E) en 100 ml de HCl 1M (Merck, Alemania), la adición se realizó 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 de los quitosanos; la concentración de estos se determinó utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Ec. (2)} \quad \text{NH}_2 = \frac{16.1 (y-x)}{w} f$$

Donde w es la masa en gramos de la muestra, 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

Las determinaciones se realizaron por triplicado en cada fase de ambas variedades de camarón (C-A y C-E) como: Materia prima triturada, desecada y tamizada (MP), producto desmineralizado (PDM), producto desproteínizado (QUITINA) y producto final desacetilizado (QUITOSANO), al igual que los al quitosano comercial Sigma-Adrich $\geq 75\%$ GD (Q-SA), el cual se usó como control de comparación.

Proteína y Nitrógeno

Se determinó mediante el análisis elemental de nitrógeno proteico siguiendo la metodología de Dumas, que se basa en la liberación de nitrógeno por pirolisis 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 el equipo Thermolab Leco FP-528, que consta de una cámara de oxígeno donde se lleva a cabo la combustión a una temperatura de 850°C , una celda de termoconductividad y un microprocesador para llevar a cabo los cálculos y controlar los parámetros operativos. A partir de los resultados de porcentaje de Nitrógeno en cada muestra fue posible calcular el porcentaje de proteína utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Ec. (3)} \quad \%Pr = \%N * F$$

Donde F es el factor asociado al tipo de proteína de estudio, en este caso $F = 6.25$ Valor asignado para proteínas en general. ¹Incluye todas las carnes y pescados (MAFF, 1975)

Extracto Etéreo

Se determinó el extracto etéreo reportado como % total de grasa por extracción continua con éter de petróleo siguiendo el método Goldfish (Método AOAC 1980, 1995) utilizando como solvente éter de petróleo.

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 triplicado.

Cenizas

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

Capacidad Antioxidante

La determinación de secuestro de radicales libres se determinó por el método indirecto de cuantificación del decaimiento de

la absorbancia de extractos, comparados con las soluciones patrón a 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 nmol de TROLOX® (análogo sintético e hidrosoluble de la vitamina E) tratadas con Difenil Picril Hidrazilo (DPPH), bajo una absorbancia de 517 nm en un espectrofotómetro (DLAB SP-UV1000) bajo condiciones de penumbra. Las muestras y reactivos para la curva patrón fueron preparados el mismo día.

Para preparar las disoluciones de las muestras se emplearon las quitinas y quitosanos extraídos de exoesqueleto de camarón de altamar y de estero (C-A y C-E) obtenidos en el laboratorio de tecnología de alimentos de la UAA, con un grado de desacetilación de 82% y 79% respectivamente y el quitosano Sigma-Adrich $\geq 75\%$ GD (Q-SA). Con los cuales se prepararon extractos metanolicos y acetonicos, para ello, se pesó 1 gramo exacto de cada muestra en una balanza analítica ADAM® dentro de un tubo de centrífuga de 20 ml con 10 ml de metanol absoluto y 10 ml de acetona al 70% (v/v) en agua destilada, los extractos se incubaron con agitación durante 1 h en la oscuridad a temperatura ambiente, se agitaron en vortex durante 15 minutos a máxima velocidad para transferir los sobrenadantes a tubos Eppendorf de 2 mL. Se centrifugaron en microcentrífuga a 4°C , a 14,000 rpm por 4 minutos, se transfirieron en tubos Eppendorf de 2 mL etiquetados para su análisis a los cuales se añadió 600

μL de DPPH 0.13 mM y se dejaron por un tiempo de reacción de 10 minutos a temperatura ambiente para determinar su absorbancia bajo 517 nm en el espectrofotómetro de luz ultravioleta. Los extractos de cada muestra se prepararon por triplicado.

La actividad depuradora de radicales DPPH como Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox® (TEAC) se calculó mediante la interpolación de la ecuación de regresión lineal de la forma $y=mx+b$ generada al graficar las concentraciones de las soluciones patrón de TROLOX® (eje "x") contra su absorbancia a 517 nm (eje "y") a fin de expresar los resultados como nmol TEAC por gramo de peso seco para cada una de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis estadístico: Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar (DS). Los datos experimentales se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) usando Microsoft Excel para determinar la diferencia significativa entre los grupos de cada variedad de estudio y sus tratamientos. Se consideró un valor de $P \leq 0.05$ como estadísticamente significativo. Y se aplicó la prueba de Tukey para determinar aquellos grupos entre los que los resultados mostraron diferencias significativas.

Rendimientos

El rendimiento porcentual se calculó con la expresión (1), obteniendo rendimientos estadísticamente diferentes entre ambas variedades durante la etapa de desmineralización, véase PDM en la Fig. (1), mientras en las etapas de desproteización y desacetilación no se observan diferencias significativas. Al calcular el del Rendimiento Global se determinó una diferencia significativa de 9% entre ambas variedades (C-A, RG: 13% y C-E RG:24%), esto se ilustra desde la materia prima (MP) al producto final (QUITOSANO) en el histograma de la Fig. (2). El mayor rendimiento en el camarón de estero se relaciona de manera directa al porcentaje de ceniza o minerales totales caracterizados para ambas variedades durante las caracterizaciones ilustradas en la Fig.(6) – B, similar a lo descrito por (H. Hernández Cocoltzi, 2009), mientras el RG superior al 20% sobre materia prima del C-E coincide con lo reportados como económicamente favorables para otros crustáceos en los estudios de (A. Barra A., 2012), por otro lado, los resultados de conversión quitina-quitosano (C-A:73%, C-E:74%) coinciden o superan los reportados en la literatura citada en este trabajo.

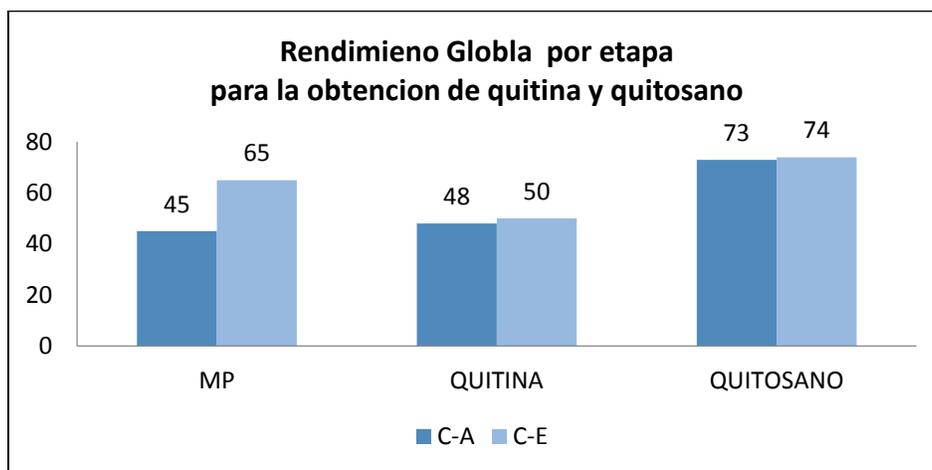


Figura 1. Grafico comparativo de los rendimientos porcentuales, entre los productos desecados obtenidos en cada etapa del TTA.

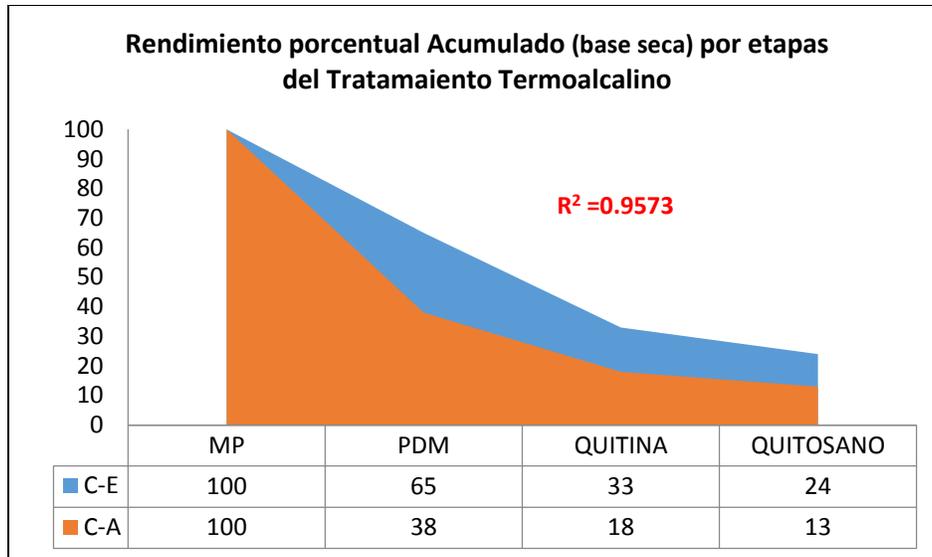


Figura 2. Histograma de rendimientos acumulados en cada etapa del TTA para la obtención de quitosano. Se observa una diferencia global significativa de 9% entre ambas variedades de camarón (C-A:13% y C-E: 24%).

Grado de N-desacetilación o concentración de grupos amino [NH_2]

Las curvas de titulación para determinar el grado de N-desacetilación del quitosano de camarón de altamar, y camarón café de altamar se ilustran gráficamente en las Fig. (3) y (4). De estas se determinaron puntos de inflexión en $X = pH\ 4 = 843\ ml\ Na\ OH\ 0.1\ N$, y $Y = pH\ 8.5 = 894\ ml\ Na\ OH\ 0.1\ N$ para el quitosano de camarón de altamar (C-A), y $X = pH\ 4.5 = 894.9\ ml\ Na\ OH\ 0.1\ N$, y $Y = pH\ 10.5 = 944.2\ ml\ NaOH\ 0.1\ N$ para el quitosano de camarón de estero (C-E), dichos datos se aplicaron a la Ec. (2) determinando un grado de desacetilación o concentración de grupos amino de 82.11% para C-A y de 79.37% para C-E.

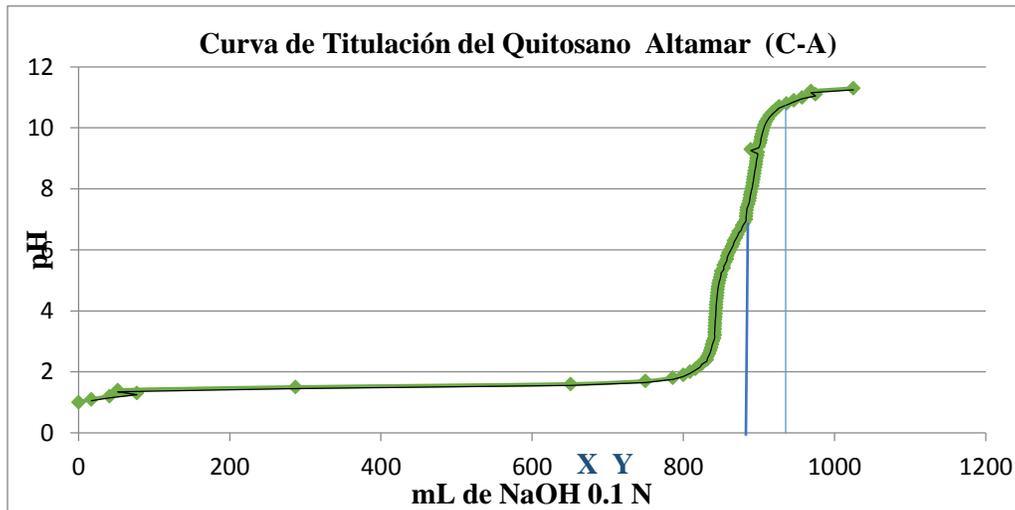


Fig. 3 Curva de Titulación del Quitosano extraído de camarón de altamar.

Es importante hacer notar que el quitosano comercial que se ofrece en el mercado presenta un porcentaje de desacetilación a partir del 60%, por lo cual, los resultados obtenidos (C-A, 82% GD y C-E, 79% GD) además de ser de calidad aceptable, son similares a los reportados para las muestras de quitosano de media (MMW, 81.4%, GD) y alta masa molecular (HMW, 79%, GD) de la marca Sigma-Adrich $\geq 75\%$ GD (Q-SA) en los estudio realizados por (De la Paz N., 2012) (H. Hernández Cocoltzi, 2009) y (C. Hidalgo, 2009), esta similitud plantea

que la diferencia de GD entre los quitosanos obtenidos está determinada por la masa molecular de los mismos y no solo la composición natural de sus fuentes de origen.

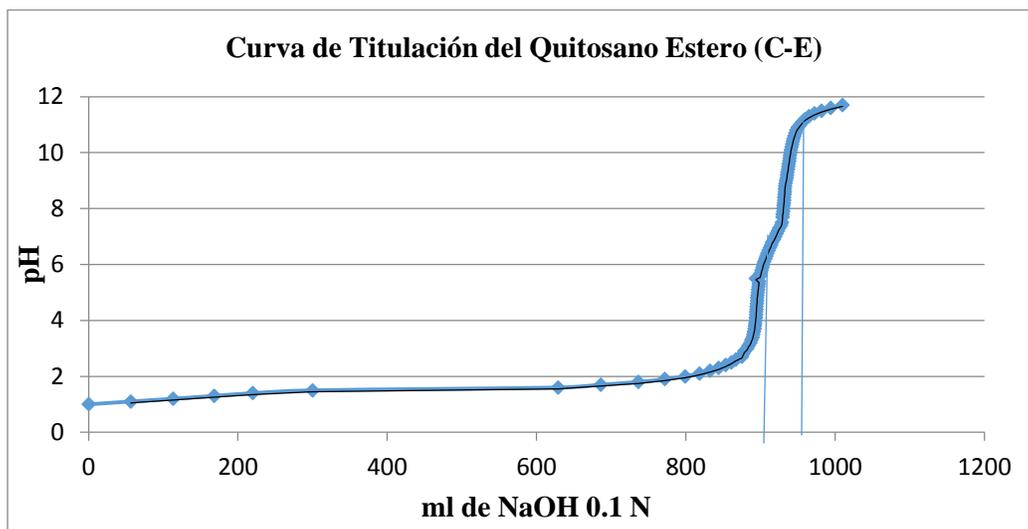


Fig. 4 Curva de Titulación del Quitosano extraído de camarón de estero.

Caracterización de los quitosanos obtenidos

Las quitinas y quitosanos obtenidos de ambas variedades de camarón "camarón marrón o café" (*Penaeus aztecus*) de altamar (C-A) proveniente de captura en costas mexicanas y de "camarón blanco o rosado" (*Penaeus vannamei*) de estero (C-E) mostraron notorias diferencias sensoriales en apariencia de color y aroma, ya que los productos de camarón de altamar presentaron un color ligeramente rosado con ligero aroma, y sabor al marisco, mientras los productos obtenidos del camarón de estero carecieron de color, sabor y aroma, mostrando verdadera similitud a los productos comerciales. La presencia de diferencias organolépticas se debe principalmente a que ninguna de las variedades se sometió algún proceso de despigmentación, con lo que podría uniformizarse más la apariencia entre ambos grupos.

El grado de N-desacetilación mayor del 70%, y los contenidos de cenizas superiores al de las muestras comerciales, e influenciado por la presencia de impurezas de tipo mineral (calcio) más característico del exoesqueleto de camarón que corroboran lo planteado por (C. Hidalgo, 2009).

La mayor humedad en el quitosano de camarón de estero puede deberse a una menor masa molecular del polímero, ya que con mayor cantidad de grupos hidrofílicos libres, como los grupos hidroxilos, aminos y aldehído al final de la cadena polimérica (Gocho, 2000) lo que aumenta la higroscopicidad de los polímeros tras la desacetilación y explican el aumento de capacidad de absorción de agua como humedad, tras desecar los quitosanos.

La concentración de material insoluble es inferior a la de las muestras comerciales, debido al significativo contenido de proteína superior al producto comercial, que incluso pudiese referirle valores gelificantes y nutricionales superiores.



Figura 5. Apariencia de los terrones desecados de quitosanos obtenidos en el laboratorio de tecnología de alimentos de la UAA. De izquierda a derecha quitosano de camarón de altamar (C-A) y de camarón de estero (C-E).

Tabla 1. Grado de desacetilación, composición porcentual y material insoluble determinada de los quitosanos obtenido en el laboratorio de tecnología de alimentos de la UAA y el quitosano comercial Sigma-Adrich.

Muestra de Quitosano	Grado de desacetilación	Nitrógeno %	Proteína %	Grasa %	Ceniza %	Humedad %	*Fibra y CHO'S %	Materia Insoluble %
C-A	82% GD	5.55	34.67	0.45	24	3	37.88	0.94
C-E	79% GD	5.96	37.16	0.28	14	14	34.56	0.33
Q-SA	≥75% GD	3.70	28.13	0.32	37	7	27.55	1.31

*Fibra y Carbohidratos totales: 100- (Proteína + Materia Grasa + Ceniza +Humedad).

Tabla 2. Porcentaje de nitrógeno, proteína, extracto etéreo, ceniza y humedad de la materia prima y productos desecados obtenidos en cada etapa del tratamiento químico termo alcalino (TTA).

Variedad de camarón	Etapa	Nitrógeno %	Proteína %	Grasa %	Ceniza %	Humedad %
C-A	M.P.	8.13	50.81	0.42	23	11
	PDM	10.19	63.67	0.57	15	5
	Quitina	5.28	34.66	0.45	23	3
	Quitosano	5.55	34.67	0.28	24	14
C-E	M.P.	7.73	48.30	0.27	19	16
	PDM	9.45	59.05	0.57	35	4
	Quitina	5.77	37.16	0.28	15	14
	Quitosano	5.95	37.16	0.15	14	7

M.P. = Materia prima triturada y desecada ; PDM = producto desmineralizado.

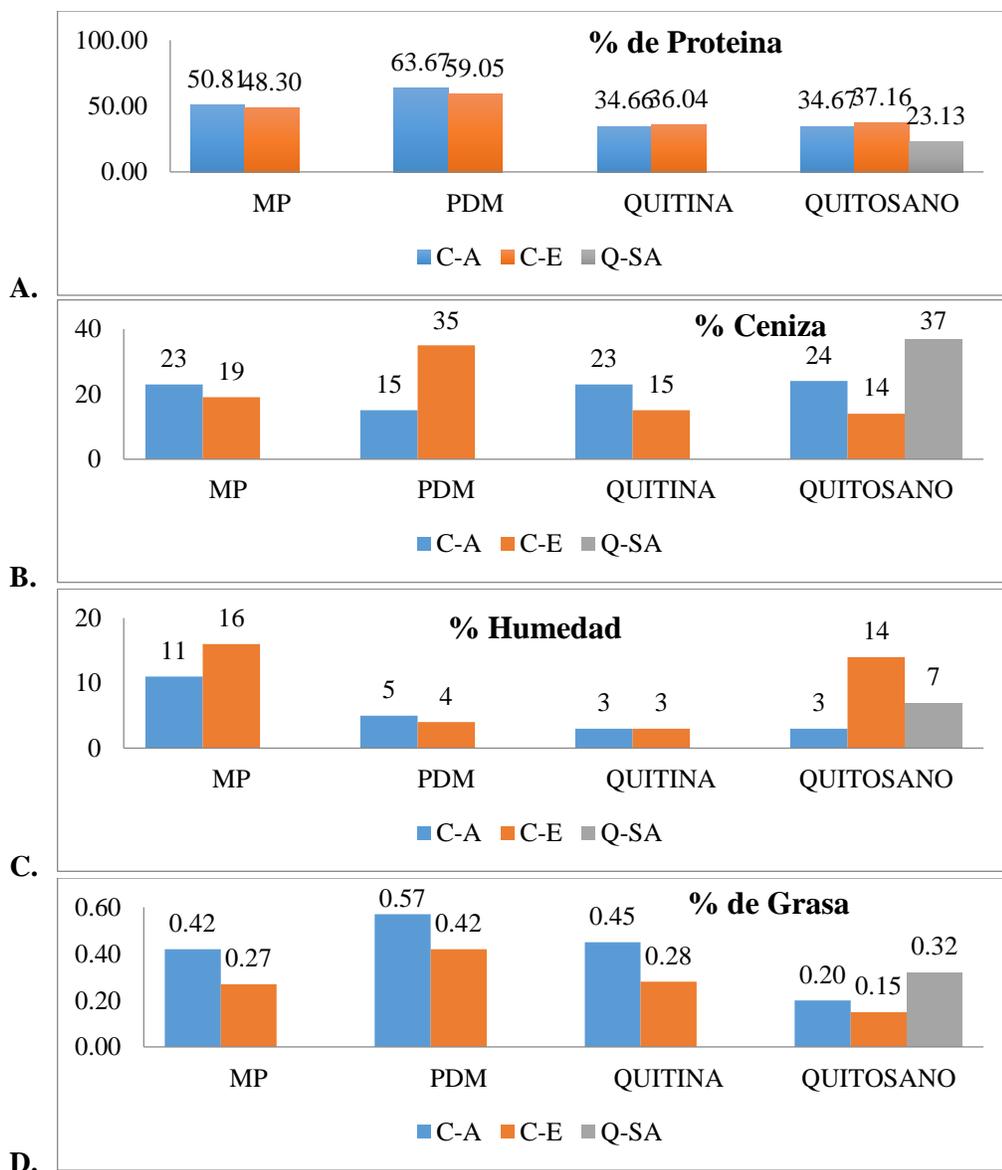


Figura 6. Las gráficas ilustran la composición proximal en: A. porcentaje de proteína, B. Porcentaje de Ceniza, C. Porcentaje de Humedad y D. Porcentaje de Grasa. Para los exoesqueletos (MP) de camarón alta mar (C-A) y camarón de estero (C-E) durante las etapas del tratamiento termo alcalino (TTA), así como el quitosano comercial de marca Sigma-Adrich (Q-SA).

Capacidad antioxidante

La Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox® (TEAC) de cada uno de los polímeros (QUITINAS y QUITOSANOS) fueron obtenidas usando la ecuación de regresión lineal de la forma $y=mx+b$ ilustrada en la Fig. (7) donde la disminución en la absorbancia se toma como una medida para la actividad de eliminación de radicales, la cual se obtuvo al graficar las concentraciones de las soluciones patrón de TROLOX® (eje "x") contra sus absorbancias promedio a 517 nm (eje "y"). Las absorbancias promedio de los extractos individuales de los polímeros con DPPH bajo 517 nm de luz U-V se interpolaron con la ecuación de calibración para calcular la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox® (TEAC) en expresados en la Tab. (3) y la Fig. (8). A partir de estos resultados, se determinaron valores similares de 32, 29 y 30 nmol eq. Trolox/gr de quitosano para C-A, C-E y Q-SA respectivamente. Es decir:

Se encontró que el quitosano de camarón de altamar (C-A) tiene mayor capacidad antioxidante en comparación con el quitosano de camarón de estero (C-E) y el quitosano comercial Adrich (Q-SA), mientras los valores para estos dos últimos son muy similares. Esto puede estar correlacionado con compuestos carotenoides y antocianinas como la astaxantina causante del color rojo de la mayoría de los crustáceos (Dall, 1955) la cual es más característica de la variedad de Camarón café de alta mar (*Penaeus aztecus*) y no se extrajo de la quitina ni el quitosano analizados.

Los quitosanos exhibieron una alta actividad antioxidante frente a DPPH, lo cual concuerda con lo descrito por (Cahit Demetgül, 2018) y (Trang & Huynh Nguyen, 2015) por lo cual, los resultados obtenidos sugieren que los quitosanos podrían aplicarse como donantes de protones y podrían reaccionar con radicales libres para convertirlos en productos más estables y terminar con la reacción en cadena de los radicales libres.

Al comparar la TEAC entre las quitinas y quitosanos de las dos variedades de camarón estudiadas no encontramos diferencias entre los grupos de camarón de altamar, mientras si hubo un ligero decremento para el quitosano de camarón de estero respecto a su quitina, tal diferencia coincide con lo evaluado por (T. Si Trung, 2015) quienes señalan que se incrementará su actividad antioxidante como consecuencia de la disminución de su masa molar, en este caso durante el proceso de desacetilación, comportamiento también informado por (Moreno-Vásquez, 2017).

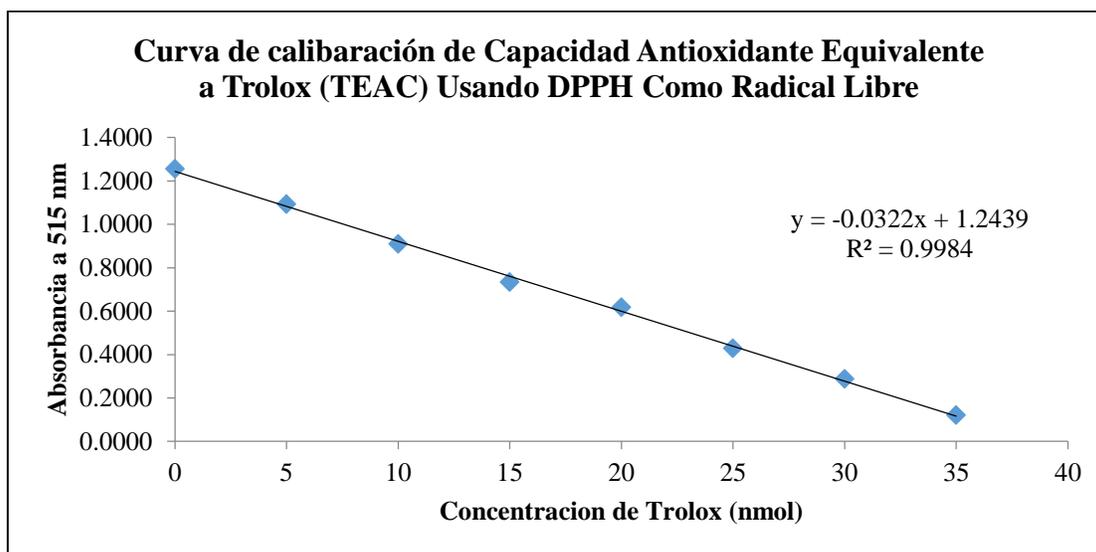


Figura 7. Curva de calibración con ecuación lineal para la actividad antioxidante de soluciones patrón a 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 nmol de TROLOX® tratadas con DPPH, bajo una absorbancia de 517 nm.

Tabla 3. Concentración de los extractos, absorbancia y Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox® (TEAC) de los polímeros (QUITINA y QUITOSANO) obtenidos de camarón de altamar (C-A), camarón de estero (C-E) y quitosano comercial de marca Sigma-Adrich (Q-SA).

Muestra	Polímero	Concentración del extracto g/μL	Absorbancia a 517 nm	TEAC nmol eq. Trolox
C-A	Quitina	0.00005	0.22	32.15
	QUITOSANO	0.00005	0.22	31.99
C-E	Quitina	0.00005	0.34	28.10
	QUITOSANO	0.00005	0.32	29.00
Q-SA	QUITOSANO	0.00005	0.29	29.74

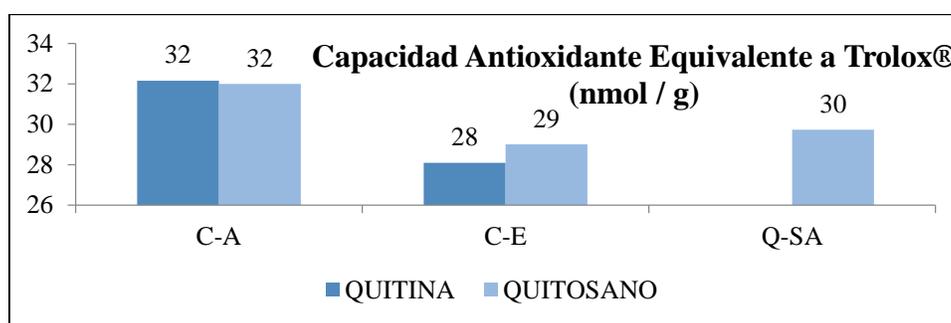


Figura 8. Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox® (TEAC) de los polímeros (QUITINA y QUITOSANO) obtenidos de camarón de altamar (C-A), camarón de estero (C-E) y quitosano comercial de marca Sigma-Adrich (Q-SA).

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones experimentales usadas en el trabajo, se logró demostrar una extracción eficiente de quitinas y quitosanos como productos de valor agregado a partir de desechos agroindustriales de dos variedades de camarón: el café de altamar y el de estero. Los productos obtenidos de ambas variedades fueron de buena calidad y presentan actividad antioxidante que podría ser útil para una amplia gama de aplicaciones. Las estructuras y las propiedades fisicoquímicas de la quitina y el quitosano dependen tanto de las fuentes como de las condiciones de producción y se comprobó que existen diferencias significativas entre las dos variedades de camarón utilizadas en este estudio: Los productos obtenidos del camarón de estero mostraron mejores características sensoriales, además de un mayor rendimiento global a partir de los exoesqueletos triturados y desecados, lo cual parece estar directamente relacionado con la composición mineral de cada especie de estudio, por otro lado, no se encontró diferencia significativa en el rendimiento de conversión quitina –quitosano para ambas variedades de camarón. Los porcentajes de desacetilación de ambos quitosanos fueron altos y muy similares a los comerciales de media y alta masa molecular de la marca Sigma-Adrich (USA). Se logró caracterizar la composición de los productos, determinando así un elevado porcentaje de proteína superior al de las muestras comerciales en las dos variedades, mientras la composición proximal y materia insoluble demuestran que su pureza es aceptable para uso alimentario. Este estudio subraya la oportunidad de desarrollar subproductos con actividad biológica y valor agregado para la agroindustria local.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Laura Eugenia Pérez Cabrera por dirigir y asesorar este trabajo de investigación.

Este trabajo fue apoyado por el programa PIAL17-01, la U.A.A. y el INAGUA.

BIBLIOGRAFÍA

- A. Aljawish, I. C. (2015). Enzymatic synthesis of chitosan derivatives and their potential applications. . *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic* 2015 v.112 , 26-27,35-37.
- A. Barra A., S. R. (2012). OBTENCIÓN DE QUITOSANO. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 8.
- A. Moure, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources . *Food Chemistry*, 72, 145,157.
- AOAC. (1975). *Official Methods of Analysis. 13th ed.* Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Bortolini Rosales, e. a. (2004). La camaronicultura en México. *Ciencias* 76, octubre-diciembre,, 58.
- C. Hidalgo, M. F. (2009). Estudio de los quitosanos cubanos derivados de la quitina de la langosta. *Revista Iberoamericana de Polímeros. Vol 10*, 28-31, 40.
- Cahit Demetgül, N. B. (2018). Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. *Carbohydrate Polymers, Volume 181*, 812-817.
- Cifuentes Lemus J. L., T.-G. P. (1997). TOMO X: PESQUERÍAS. En "El OCEANO Y SUS RECURSOS"(La Ciencia para Todos), 2a edición. México: FONDO DE CULTURA ECONOMICA. Consultado el la web el 10 de abril de 2018 en: http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/087/htm/sec_6.htm
- De la Paz N., F. M. (2012). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO. DERIVADA DE LA QUITINA DE LANGOSTA. *Revista Iberoamericana de Polímeros. Vol. 13 (3)*, 213-216.
- E. S. Abdou, K. S. (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology, vol. 99*, 5.
- Gocho, H. S. (2000). Effect of polymer chain end on sorption isotherm of water by chitosan . *Carbohydrate Polymers*, 87–90.
- GW., G. (1990). The ecology of chitin degradation. . *Adv Micro Ecol* , 11:387-419.
- H. Hernández Cocoltzi, E. Á. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, 57-70.
- Harish Prashanth KV, T. R. (2007). Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. . *Trends Food Sci Technol*, 18(3):117-31.
- Hernández, I. (2004). LA QUITOSANA: UN PRODUCTO BIOACTIVO DE DIVERSAS APLICACIONES. *Cultivos Tropicales, vol. 25, núm. 3*, pp. 97-98.
- K Divya, V. S. (2018). Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. *International Journal of Biological Macromolecules. Vol. 114, 15*, 572-577.
- M., R. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. . *Prog Polym Sci* , 31(7):603-32.
- MAFF. (1975).
- Moreno-Vásquez, V.-B. P.-J.-E.-V. (2017). Functionalization of chitosan by a free radical reaction: Characterization, antioxidant and antibacterial potential. *Carbohydrate Polymers, Vol.155*, 117-127.
- Suwalsky, A. &. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. . *Atenea (Concepc.) n.494 Concepción*, 161-172.
- T. Si Trung, H. B. (2015). Physicochemical properties and antioxidant activity of chitin and chitosan prepared from Pacific white shrimp waste. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*.
- Trang , S. T., & Huynh Nguyen, D. B. (2015). Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Chitin and Chitosan Prepared from Pacific White Shrimp Waste. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 1-6.
- Xia, W. S. (2003). Physiological activities of chitosan and its application in functional foods. *International Journal of Food Science & Technology, vol. 3, no. 1*, 77–81.
- Xu J, Z. X. (2007). Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. . *Pest Biochem Physiol*, 87(3):220-8.
- Y. I. Cho, H. K. (1998). Physico-chemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 46, no. 9.*, 3839–3843.