

Desacetilación termoalcalina de quitina de conchas de camarón

Zulay Mármol¹, Edixon Gutiérrez², Gisela Páez¹, José Ferrer¹
y Marisela Rincón¹

¹Laboratorio de Tecnología de Alimentos. E-mail: zmarmol@luz.ve

²Centro de Investigaciones del Agua. Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia.

Resumen

Se estudió la desacetilación de quitina de conchas de camarón, con NaOH al 50% a temperaturas de 60 y 100°C por un tiempo de 2 h. Se obtuvo quitina por remoción de proteínas y minerales presentes en las conchas con un rendimiento de 24,06%. La quitina y el quitosano se identificaron mediante espectroscopia de infrarrojo y se caracterizaron en términos de nitrógeno total, cenizas y humedad. El comportamiento reológico del quitosano se estudió midiendo su viscosidad. La comparación de los espectros infrarrojos, de las muestras procesadas, permitió confirmar que el tratamiento termoalcalino provocó la desacetilación de la quitina solamente cuando la temperatura utilizada fue de 100°C, con un rendimiento de 76,56% respecto a la quitina. Este proceso representa una alternativa tecnológica para el tratamiento de los desechos del camarón, eliminando la contaminación ambiental generada por la disposición de estos y obteniéndose un producto, el quitosano, de amplia aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica y petroquímica.

Palabras clave: Desacetilación termoalcalina, quitina, quitosano, conchas de camarón.

Termo-Alcaline Deacetylation of Chitin in Shrimp Shells

Abstract

The deacetylation of chitin obtained from shrimp shells with NaOH 50% at 60°C and 100°C for 2 h, was studied. The removal of proteins and minerals present in these shells produced chitin, with a 24.06% yield. Chitin and chitosan were identified by infrared spectroscopy and characterized in terms of total nitrogen, ash and humidity. The viscosity of chitosan was measured to study its rheological behavior. Comparison of infrared spectra of the samples, permitted the confirmation that the thermoalcaline treatment produced the deacetylation of the chitin only when the temperature was 100°C, with a yield of 76.56% with respect to chitin. This process represents a technological alternative for shrimp waste disposition, obtaining chitosan, a product of wide application in the food,

pharmaceutical, and petrochemical industry.

Key words: Thermoalkaline deacetylation, chitin, chitosan, shrimp shells.

Recibido: 25-07-2003 / Aceptado: 15-10-2004

Introducción

En Venezuela se producen anualmente miles de Toneladas métricas de crustáceos (camarones, langostinos, cangrejos, etc.), de los cuales aproximadamente el 75% del peso vivo del espécimen es desecho. Estos desechos contienen componentes extraordinariamente valiosos que pueden ser utilizados como materia prima en diversas industrias. Se calcula que entre un 20-58% del peso seco de estos desechos es quitina, un polímero de 2- acetamida-2 desoxi-glucosa [6], sustancia orgánica más abundante en la naturaleza, después de la celulosa.

El quitosano, su derivado más importante, es un biopolímero lineal formado por unidades de 2-desoxi 2-amino glucosa, obtenido de la desacetilación de ésta. Presenta una gran aplicabilidad comercial, debido a varios factores entre los que se cuentan su solubilidad en ácidos diluidos y la presencia de grupos hidroxilos y aminos libres en la cadena polimérica, lo cual le confiere una gran capacidad para atrapar iones metales pesados; no es tóxico, es biodegradable y biocompatible.

Todas estas características han permitido desarrollar numerosas aplicaciones, entre las cuales encontramos el gran espectro de propiedades terapéuticas que son aprovechadas en Europa, Asia, Australia, USA y Cuba [3]. Debido a sus características funcionales y a su inocuidad se ha utilizado en la industria de alimentos y bebidas [8, 13]; también tiene aplicaciones en el tratamiento de aguas residuales y en procesos de purificación de aguas potables [1, 20] y una de sus más prometedoras aplicaciones podría ser como plástico biodegradable [18].

En Venezuela la producción pesquera para el año 2001 se estimó en 550.000 t de las cuales unas 16.000 t fueron de camarón [15]. El procesamiento de éstos genera una cantidad considerable de desechos, sin que hasta el momento se apliquen alternativas tecnológicas para su aprovechamiento. Estos desechos pueden ser utilizados, transformándolos en productos valiosos como el quitosano, contribuyendo de esta forma a mitigar el impacto ambiental que éstos generan. En tal sentido se planteó como objetivo de esta investigación, la obtención de quitosano a partir de la desacetilación termoalkalina de la quitina de conchas de camarón.

Metodología

Materia prima

Se utilizaron 60 Kg. de conchas de camarón de cultivo (*Penaeus vannamei*), obtenidas de una planta procesadora de camarones, ubicada en el municipio San Francisco del estado Zulia, las cuales se dividieron en 3 partes iguales, realizando todas las experiencias por triplicado.

Preparación de quitina

Las conchas de camarón lavadas con agua corriente se secaron a 32°C en una estufa marca GCA/Precisión Scientific, Modelo 2; luego se pasaron por un molino marca Thomas Scientific, Modelo 4 y se clasificaron con tamices de mallas de 20 a 70 mesh (0,85-0,21 mm) [[14](#), [20](#)].

El tratamiento químico para la obtención de quitina se llevó a cabo en dos etapas a saber: 1) Desmineralización, en el cual las conchas de camarón fueron tratadas con una solución de ácido clorhídrico 0,6 N mezclado en una relación líquido-sólido 11:1 durante tres horas a 28°C y 2) Desproteínización, donde las muestras provenientes de la desmineralización se trataron con una solución de hidróxido al 1% durante 24 horas a 28 ° C. El residuo obtenido (quitina) fue lavado con agua destilada y secado a 32°C [[20](#)], para ser desacetilado.

Desacetilación. La quitina obtenida se sometió al proceso de desacetilación por mezclado en una relación 1:4 con NaOH 50% p/v [[17](#)] a temperaturas de 60°C y 100°C por 2 h. El residuo así obtenido se lavó hasta neutralidad con agua destilada. El producto se secó a 32°C.

Identificación de quitina y quitosano. La quitina y el quitosano fueron identificados mediante espectroscopia infrarroja para lo cual se prepararon pastillas con una mezcla de 200 mg de Bromuro de potasio por cada mg de muestra [[9](#), [10](#)], utilizando un espectrómetro Perkin Elmer, modelo 1600. Los espectros obtenidos se compararon con el de una muestra patrón Sigma Chemical Co.

Caracterización

La quitina y el quitosano fueron caracterizados en términos de:

Quitina. El porcentaje de quitina en base seca se determinó gravimétricamente después

de la desmineralización y desproteinización de las conchas de camarón [6].

Humedad. Para determinar el contenido de humedad se empleó la técnica propuesta por la AOAC [2].

Cenizas. Se determinó gravimétricamente, luego de incinerar la muestra a 550°C para volatilizar todo el material orgánico [2].

Nitrógeno total. El contenido de nitrógeno se determinó por el método de Kjeldahl [2].

Viscosidad. La viscosidad de la muestra obtenida fue medida con un viscosímetro Brookfield serie LV, usando un vástago N° 1 y un rango de agitación de 0,6 a 60 rpm, sobre una solución de quitosano 0,5% en ácido acético 0,5% [4, 11].

Resultados y Discusión

La quitina de conchas de camarón presentó un porcentaje de Nitrógeno de 5,55; 6,16% de humedad, 0,37% de cenizas y un rendimiento de 24,06% respecto a la concha molida. La FIG. 1 muestra los espectros infrarrojos (IR) realizados a las muestras de quitina patrón (Sigma Chemical Co.) y de quitina preparada de conchas de camarón. En el análisis de estos IR se pueden identificar los grupos funcionales amida y carbonilo. Las vibraciones de estiramiento del grupo N-H tienen dos frecuencias moderadamente intensas. En los espectros de muestras sólidas, estas bandas se observan cerca de 3350 y 3180 cm^{-1} debido al enlazamiento de hidrógeno; la frecuencia del carbonilo se observa en una banda intensa en la región de 1650 cm^{-1} cuando se examina en estado sólido [5, 16] lo que confirma que el producto obtenido luego de la desmineralización y desproteinización es quitina.

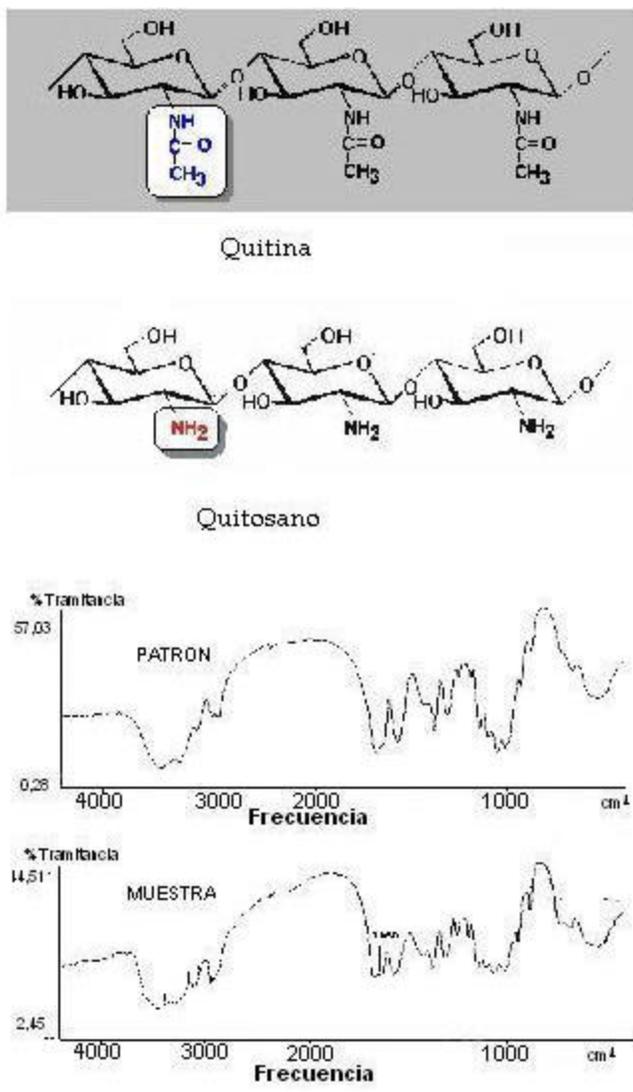


Figura 1. Espectros infrarrojos de la quitina patrón (Sigma Ch. Co.) y la quitina preparada de conchas de camarón.

La FIG. 2 muestra los espectros Infrarrojos (IR) realizados a las muestras de quitosano patrón (Sigma Chemical Co.) y de quitina tratada a 60°C, observándose que no hay correspondencia entre éstos. Si adicionalmente se compara el espectro de esta muestra de quitina con los de la FIG. 1 se observa que son iguales, lo que indica que bajo estas condiciones la quitina no fue desacetilada y por consiguiente, no se produjo quitosano.

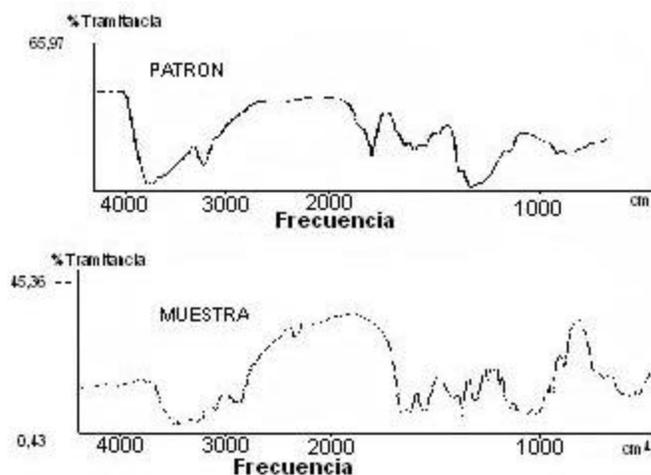


Figura 2. Espectros infrarrojos del quitosano patrón (Sigma Ch. Co.,) y la quitina tratada a 60°C.

Los espectros Infrarrojos del quitosano patrón (Sigma Chemical Co.) y del quitosano obtenido a 100°C se muestran en la FIG. 3, observándose bandas de intensidad media correspondientes a vibraciones de estiramiento del NH ubicadas en la región de 3500-3400 cm^{-1} y la banda de absorción de intensidad media a fuerte relativas a vibraciones de deformación del grupo amino a una frecuencia entre 1650-1580 cm^{-1} . Bandas de absorción de intensidad media a débil para el enlace C-N de las aminas alifáticas primarias aparecen en la región de 1250 a 1020 cm^{-1} [16]. Se distingue además la presencia de impurezas que pueden corresponderse al grupo carbonilo, lo cual es indicativo de que el quitosano obtenido no está completamente desacetilado. Esto coincide con lo reportado por Moore y col. [10] quienes indican que la desacetilación varía con las condiciones usadas, ya que el término quitosano cubre un amplio rango de polímeros relacionados que varía con el contenido de grupos aminos libres.

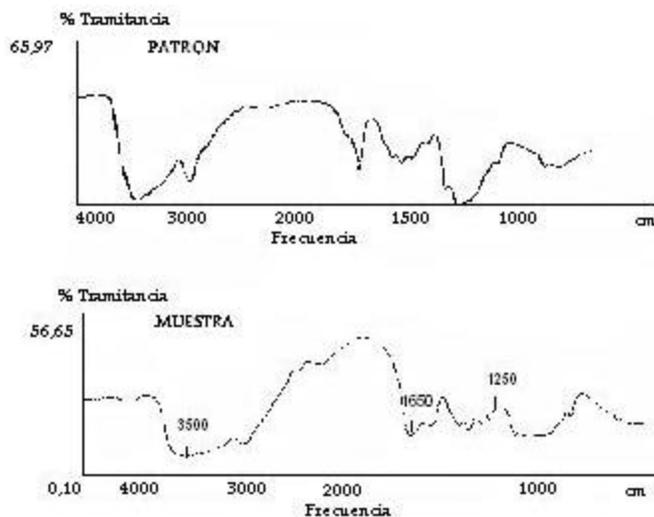


Figura 3. Espectros infrarrojo del quitosano patrón (Sigma Ch. Co.) y la quitina tratada a 100 °C.

En la TABLA 1 se presentan las propiedades del quitosano obtenido por desacetilación termoalcalina de la quitina con hidróxido de sodio al 50% a 100 °C y con un rendimiento de 76,56%. Ohtakara y col. [11], reportan iguales valores de cenizas (0,08%), diferentes valores de viscosidad (480 cps) y contenido de humedad (4,75%), para quitosano preparado por fusión de quitina con hidróxido de sodio al 50%, aunque pueden considerarse dentro del mismo rango. Los valores reportados por Bough y col. [4] para quitosano preparado a temperaturas entre 145-150 °C, empleando atmósferas de nitrógeno, muestran discrepancias en cuanto al contenido de cenizas (0,62-0,75%), porcentaje de nitrógeno (7,74-7,88) y valores de viscosidad entre 311-5110 cps. Estas diferencias en las características del quitosano pueden atribuirse a la especie de crustáceos y al método de obtención utilizados [7, 12]; sin embargo, el quitosano obtenido se encuentra dentro del rango de los valores reportados.

TABLA 1. Características del quitosano.

Parámetros	Quitosano obtenido	Quitosano comercial
Humedad, %	6,74	10,46
Cenizas, %	0,08	0,07
Viscosidad, cp	521	445
Nitrógeno, %	6,84	7,17

Conclusiones

La desacetilación termoalcalina de la quitina obtenida de conchas de camarón se produjo parcialmente a 100 °C con un rendimiento de 76,56% de quitosano. La caracterización determinó que el contenido de humedad, cenizas y nitrógeno, así como su viscosidad, están dentro de los rangos reportados.

La espectroscopia de infrarrojo realizada a las muestras de quitosano preparado a 100 °C permitió su identificación.

La quitina tratada con Hidróxido de Sodio al 50% a 60 °C no fue desacetilada, esto fue confirmado a través de la espectroscopia de infrarrojo realizada a las muestras.

Agradecimiento

Al Consejo de Desarrollo Científico y humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de esta investigación.

Referencias Bibliográficas

- [1] ACOSTA, N.; ARANAZ, I.; HERAS, A. (2000). Chitin and Chitosan in Wastewater Treatment. **Primer Simposium Latinoamericano de Quitina y Quitosano**. Nov. 20-24. La Habana. Cuba. p. 482.
- [2] A.O.A.C. **Official Methods of Analysis**. (1990). 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia.
- [3] BENAVIDES, M. (2000). Aplicaciones Terapéuticas de la Quitina Quitosano. **Primer Simposium Latinoamericano de Quitina y Quitosano**. Nov. 20-24. La Habana. Cuba. p. 456.
- [4] BOUGH, W.; SALTER, W.; PERKINS, B. (1978). Influence of Manufacturing Variables on the Characteristics and Effectiveness of Chitosan Products. I. Chemical Composition, Viscosity and Molecular-Weight Distribution of Chitosan Products. **Biotechnology and Bioengineering**. Vol. XX. 1931-1943.
- [5] CARDENAS T., G.; SANZANA L., J.; INOCCENTINI M., L. (2002) Síntesis and characterization of Chitosan-PHB Blends. **Bol. Soc. Chil. Quim**. Online, vol. 47, N° 4 (Citado 21 de noviembre, 529-535. Disponible en la world Wide Web: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-164420022000400025&Ing=es&nrm=iso.ISSN 0356-1644.
- [6] CARROAD, P.; TOM, R. (1978). Bioconversion of Shellfish Chitin Wastes: Process Conception and Selection of Microorganisms. **Journal of Food Science**. Vol. 43. 1158-1161.
- [7] GALED, G.; MARTINEZ, A.; GARCIA, C.; HERAS, A. (2000). Relationship between Physicochemical Characteristics and Functional Properties of Different Chitosans. **Primer Simposium Latinoamericano de Quitina y Quitosano**. Nov.20-24.La Habana. Cuba. p. 440
- [8] KNORR, D. (1991). "Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing waste Management". **Food Technology**. p 114-22.
- [9] McKAY, G.; BLAIR, H.; GRANT, S. (1987). Desorption of Cooper from a Copper-

- Chitosan Complex. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** 40. 63-74.
- [10] MOORE, G.K; ROBERTS, G. A. F. (1980). Determination of degree of N-acetylation of chitosan. **Int. J. Biol. Macromol.** 2. 115-116.
- [11] OHTAKARA, A.; IZUME, M; MITSUTOMI, M. (1988). Action of Microbial Chitinases on Chitosan with Different Degrees of Deacetylation. **Agric. Biol. Chem.** 52 (12). 3181-3182.
- [12] PEDRONI, V.; GSCHAIDER, M.; SCHULZ, P. (2000). Análisis de la estructura de Quitosanos de producción propia. **Primer Simposium Latinoamericano de Quitina y Quitosano.** Nov. 20-24. La Habana. Cuba. p. 459.
- [13] RODRÍGUEZ, M; CENTURIÓN, M; AGULLO, E. (2000) Interacción Quitosano-Levadura en alimentos cocidos. **Primer Simposium Latinoamericano de Quitina y Quitosano.**
- [14] ROMO, C.R.; ANDERSON, C.G. (1979). Determination of Optimum Parameters for Protein isolation from Kill (*Eufrasia Superba*) Waste Products. **Journal of Food Science.** (55) 1425-1429.
- [15] SERVICIO AUTÓNOMO DE RECURSOS PESQUEROS Y ACUÍCOLAS. Producción Pesquera crecerá entre 8% y 10%. **El Nacional.** 2001. Marzo 11: Sec E/7.
- [16] SILVERSTEIN, R. M.; CLAYTON BASSLER, G.; MORRILL, TERENCE (1991). **Spectrometric identification of organic compounds.** p. 97-165).
- [17] SURYANARAYANA S.V.; YASHODHA, K. P.; MATTENDRAKAR, N.; PUTTARAJAPPA, P. (1987). Deacetylation of Chitin at Low Temperature by a Novel Álcali Impregnation Technique. **Indian Journal of Technology.** 25. 194-196.
- [18] VITELA, N. (2002). Camarón que se duerme, se aprovecha. (Documento en línea). Disponible: <http://www.reforma.com/universitarios/Articulo/223017/> (consulta: 2003, abril 2).
- [19] FENG-CHIN, WU; RU-LING, TSENG; RUEY-SHIN, JUANG (2001). Kinetic Modeling of Liquid-Phase Adsorption of Reactive Dyes and metal ions on chitosan. **Wat. Res.** 35 (3) 613-8.
- [20] YOUNG, M.; BELL, R.; CARROAD, P. (1985). Kinetics of Chitinase Production II.

RelationShip between Bacterial Growth, Chitin Hydrolysis and Enzyme Syntesis.

Biotechnology and Bioengineering. Vol. XXVII. 776-780.