

UTILIZACIÓN DE RESIDUOS DE CÁSCARA DE CAMARÓN PARA LA OBTENCIÓN DE QUITINA BLANQUEADA: PROPUESTA DE UNA METODOLOGÍA A BASE DE TRATAMIENTOS ALCALINO-ÁCIDO Y OZONO

Carlos Manuel Hernández-Núñez¹, Wendy Elizabeth Varo-Argüello², Nayeli Leyva-Reyes², Carlos Alberto Ramírez-Barragán³, Ezequiel Delgado-Fornué³, Jesús Angel Andrade-Ortega³

¹ Licenciatura en Ingeniería Química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, Marcelino García Barragán y Calzada olímpica CP 44430, Guadalajara, Jalisco, México. ² Licenciatura en Biología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Autopista Guadalajara-Nogales Km. 15.5, predio “las Agujas” Nextipac CP 45110, Zapopan, Jalisco, México. ³ Centro de Investigación en Biomateriales, Departamento de Madera, Celulosa y Papel, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Autopista Guadalajara-Nogales Km. 15.5, Apartado postal 52-93 CP 45020, Zapopan, Jalisco, México. e-mail: aandrade@dmcyp.cucei.udg.mx

Introducción

Actualmente en el área de la ciencia de los biomateriales, los científicos se han enfocado al estudio de la quitina por su potencial de aplicaciones.

La quitina es un biopolímero que se encuentra presente en el exoesqueleto de artrópodos como: langostas, cangrejos y camarón; insectos y también se encuentra en la pared celular de las diatomeas, y otras algas, y hongos; este material por si mismo no es tóxico y es relativamente fácil de degradar, por lo que su aplicación es ambientalmente aceptable (Crin G. 2005).

La quitina es el segundo biopolímero de mayor importancia en nuestro planeta (sólo después de la celulosa); es un polisacárido que contiene grupos funcionales acetamidas, cuando a la quitina se le eliminan esos grupos mediante el proceso denominado desacetilación se obtiene la quitosana, el cual sigue siendo un biopolímero con una distribución regular de grupos amino.

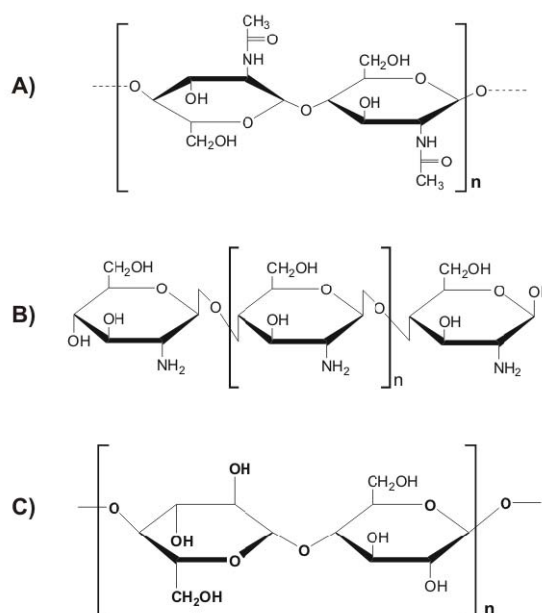


Figura 1. Estructuras químicas de: (A) Quitina, (B) Quitosana, (C) Celulosa.

La quitina presente en las cáscaras de camarón (α -quitina) normalmente esta 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).

Los sistemas para obtener la quitina de la cáscara de camarón se han estudiado por mucho tiempo y a pesar de ello, aún no existe un método estandarizado a nivel industrial para obtener este biopolímero de una manera más homogénea y de determinado nivel de pureza. Los tratamientos que se han comprobado son eficientes para eliminar la mayoría de los componentes indeseables se basan en tratamientos alcalinos para eliminar las proteínas y tratamientos ácidos para eliminar los metales; puede iniciarse el proceso con uno u otro de los tratamientos, sin embargo, la secuencia más benéfica es aquella en la que se inicia con una desproteínización ya que esto permite aprovechar las proteínas que se disuelven en la solución alcalina. Adicionalmente se requiere de un tratamiento para despigmentar o blanquear la quitina cruda, para ello se recurre a blanqueo con hipoclorito de sodio o extracción con acetona; y por si fuera poco, en cada etapa del proceso se compromete la integridad del polímero de quitina (Hong et al. 2003, Chaussard and Domard 2004, Ming-Tsung et al. 2009).

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 elaboración del papel entre muchas otras, justifican enormemente las investigaciones al respecto (Percot et al. 2003, Chaussard and Domard 2004).

De hecho, nuestro grupo de investigación ya ha encontrado la manera de obtener quitina cruda sin blanquear con una alta eficiencia en la remoción de cadmio de sistemas acuosos (Leyva et al. 2008).

Para conseguir quitina más pura algunos investigadores han implementado el uso de fuertes agentes oxidantes como el ozono en combinación con radiación ultrasónica para eliminar los pigmentos de la quitina en soluciones acuosas, sin mucho éxito (Yue et al. 2008)

La pureza del material puede ser cuantificada en función del grado de acetilación que este material presenta, es decir que a mayor grado de acetilación mayor será la pureza de la quitina.

Objetivo

El objetivo del presente trabajo es una propuesta de nuestro grupo de investigación para implementar una metodología congruente con el tipo de material a obtener, es decir, una metodología ecológicamente compatible (minimizar el contenido de reactivos contaminantes, disminuir el uso de etapas con temperatura y reducir la cantidad de agua involucrada en el proceso) que nos permita extraer los máximos beneficios de la cáscara de camarón, como lo es el aprovechamiento de la proteína y la obtención quitina de relativa alta pureza incorporando a los ya conocidos tratamientos alcalinos y ácidos, un tratamiento a base de ozono.

Las ventajas del uso del ozono es que es una etapa a temperatura ambiente, que no involucra agua en el sistema de reacción, que no requiere de la etapa de lavado después de tratamiento ácido y previo a la ozonificación, los tiempos de reacción son relativamente muy cortos (sólo unos minutos) y que el producto de degradación del ozono es oxígeno.

Materiales y Métodos

La cáscara de camarón se recolecto de locales comerciales dedicados a la venta de mariscos.

Los reactivos empelados fueron: NaOH marca JalmeK®, ácido clorhídrico marca J.T. Baker®, Acetona marca Analitika®; todos ellos grado reactivo, los cuales se usaron tal cual desde su envase para elaborar las soluciones de trabajo.

La producción de ozono se realizo haciendo pasar una corriente de oxígeno (industrial) primero por una columna de desecado y luego a un equipo ozonizador marca Fischer modelo OZT-35; la producción de ozono fue cuantificada por titulación del yodo libre producido al absorberse el flujo de gas en una solución de yoduro de potasio al 2% conteniendo ácido acético glacial.

La cuantificación de cenizas se realizó por termogravimetría, calcinando el material en una mufla a 850°C por 4 hrs.

Para la realización de los análisis de FTIR se utilizó un espectrofotómetro FT-IR Perkin Elmer Spectrum GX con aditamento ATR horizontal con cristal de diamante. Las muestras se secaron en estufa de vacío a 60 °C por 24 horas antes de realizar los estudios. Los espectros se obtuvieron en el rango de longitud de onda de 700 a 4000 cm⁻¹.

Para la determinación del grado de acetilación se utilizó el método propuesto por Mohammad (2008), el cual se recomienda para muestras cuyo grado

de acetilación sea mayor a 20 (quitina). El método se basa en la relación de las bandas de transmitancia de los espectros FTIR A1655/A3450 mediante la ecuación:

$$DA = (A1655/A3450) \times 115$$

Donde DA es el grado de acetilación en porcentaje, A1655/A3450 es la relación entre las áreas de las bandas que corresponden a las señales en el espectro de infrarrojo a 1655 y 3450 cm⁻¹ respectivamente.

Para obtener la quitina en el laboratorio se siguió el esquema que se presenta en la figura 2. Es importante señalar que en este caso la metodología y el trabajo sólo abarcan hasta el punto de obtener la quitina cruda blanqueada.

Se partió de la cáscara de camarón, la cual se seco al sol por espacio de 4 hrs. Posteriormente se molió en un molino marca Willey a tamaño de malla 60.

Después se realizó el tratamiento de desproteínización a las siguientes condiciones: se empleó una solución de NaOH preparada en el laboratorio a una concentración 1 molar para tratar la cáscara de camarón molida a una consistencia de 4.8% por espacio de 24 horas con agitación constante durante ese periodo de tiempo; al término de las 24 horas el material se drena, se separa el líquido alcalino que ahora contiene proteínas, el material sólido se lava con agua desionizada hasta bajar el pH a 8.0.

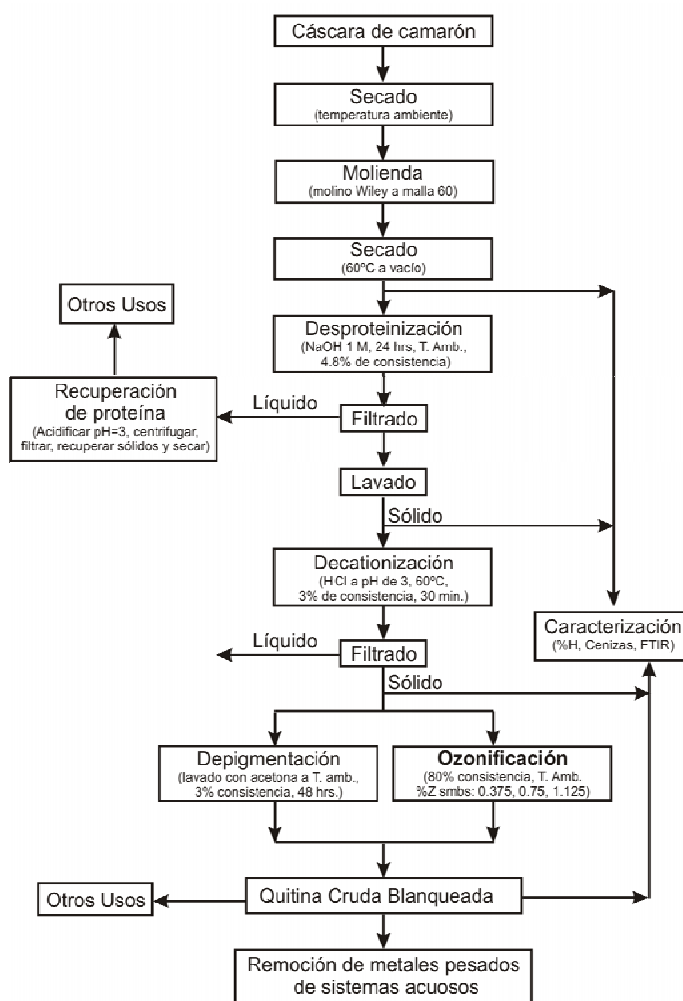


Figura 2. Diagrama general de trabajo para la obtención de quitina en el laboratorio.

El líquido alcalino proveniente de la desproteínización es tratado con HCl hasta un pH de 3 para precipitar las proteínas, las cuales se separan por

decantación y drenado y se separan para posteriores análisis, con vistas a emplearlas en otras áreas de interés.

El material proveniente de la desproteínización se somete ahora a un tratamiento de decationización; para ello se trata el material con una solución de agua destilada y HCl, la consistencia del sistema es del 3%; se tiene mucho cuidado de que el pH de esta solución en contacto con el material sea de 3; todo este sistema se introduce a un baño maría de temperatura controlada, la cual se fija en 60°C; se mantiene agitación mecánica constante durante los 30 minutos que dura el tratamiento. Al final del tiempo requerido, el sistema se desmonta, el material se drena, el líquido se descarta y se conserva el material sólido que en este punto ya es considerado quitina cruda sin blanquear. El material NO SE LAVA, se deja secar a temperatura ambiente por espacio de 48 horas.

La quitina cruda sin blanquear (el material obtenido de los tratamientos de desproteínización y decationización) se separa en cuatro lotes y se someten a dos diferentes tratamientos de blanqueo o despigmentación:

Con acetona.- Se colocaron 5g (base seca) de material desproteínizado y desmineralizado más 150 ml de acetona y se mantuvo en agitación magnética por 24 horas. Después se filtró y la solución se separó para cuantificar los pigmentos extraídos. El material sólido se colocó en un vaso de precipitado y se le agregaron 150 ml de acetona y se mantuvo en agitación magnética por 24 horas más. Finalmente se filtró y el material sólido se secó primero a temperatura ambiente por 8 horas y luego en estufa de vacío a 60 grados por 24 horas.

Con ozono.- Un lote de 5 g de material casi completamente seco (20% de humedad) se introduce en un balón con aletillas laterales de vidrio el cual se monta en un rotavapor adaptado como cámara de ozonización acoplado al equipo de producción de ozono. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, el tiempo de reacción depende de la carga de ozono que se desea aplicar y esto a su vez esta determinado por la cantidad de ozono que genera el equipo por minuto. (aproximadamente 0.035 gr de ozono/minuto).

Se emplearon cargas de ozono de 0.375%, 0.75% y 1.125% sobre base de material seco (lo que corresponde a tiempos de reacción de 66 segundos, 132 segundos y 198 segundos respectivamente). Al finalizar el tiempo de reacción el material se retira del matraz y se lava con 100 ml de agua destilada, dejando agitar por espacio de 10 minutos.

El material blanqueado se denomina ahora quitina cruda blanqueada.

Resultados y Discusión

Contenido de cenizas.- La calcinación de la cáscara de camarón arrojó un contenido de cenizas del 23%, mientras que las cenizas después de la decaionización fue del 11%; esto es: se tiene una remoción de cerca del 50% del contenido de cationes previo a la etapa de ozono.

Obtención de los espectros FTIR y Determinación de grado de acetilación.- La figura 3 contiene los espectros de infrarrojo que se obtuvieron del material de acuerdo a lo comentado en la parte metodológica después de cada etapa del proceso; aquí se comparan los espectros y se calculan los grados de acetilación.

Conforme se avanza en el proceso de obtención de quitina se observa como paulatinamente la banda de 3450 nm se reduce cada vez más; dado que el valor de esta banda se encuentra en el denominador de la ecuación mencionada anteriormente, es un indicativo de que el grado de acetilación deber ir en aumento.

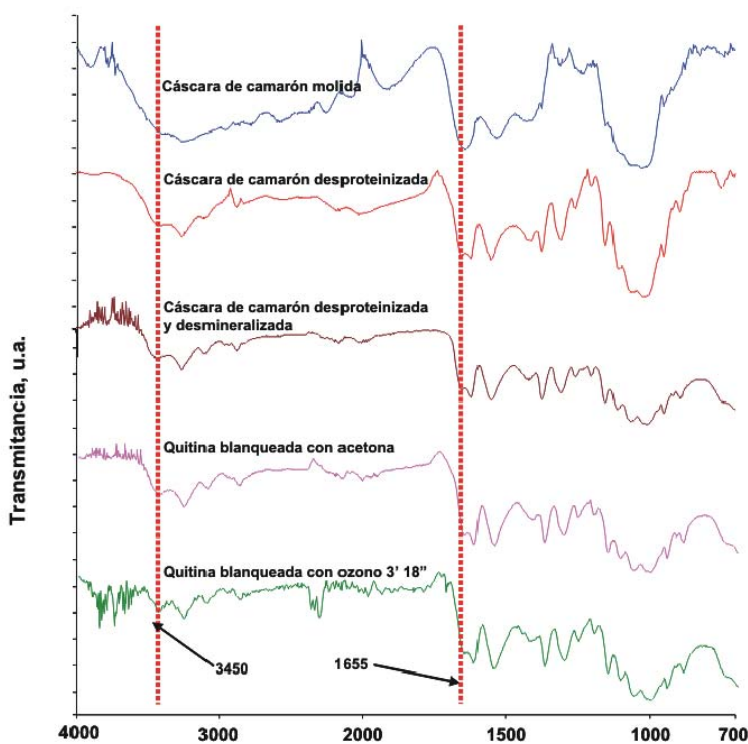


Figura 3. Espectros FTIR de la cáscara de camarón con diferentes etapas del método propuesto.

Efecto de la carga de ozono sobre el grado de acetilación.- La figura 4 muestra los espectros FTIR del material tratado a diferentes cargas de ozono, se aprecia que la banda de 3450 nm se reduce conforme se incrementa la carga de ozono, así mismo la banda a 1655 nm se comporta de manera inversa, es decir se alarga ligeramente; lo que indica que a una mayor carga de ozono se aumenta la pureza de la quitina.

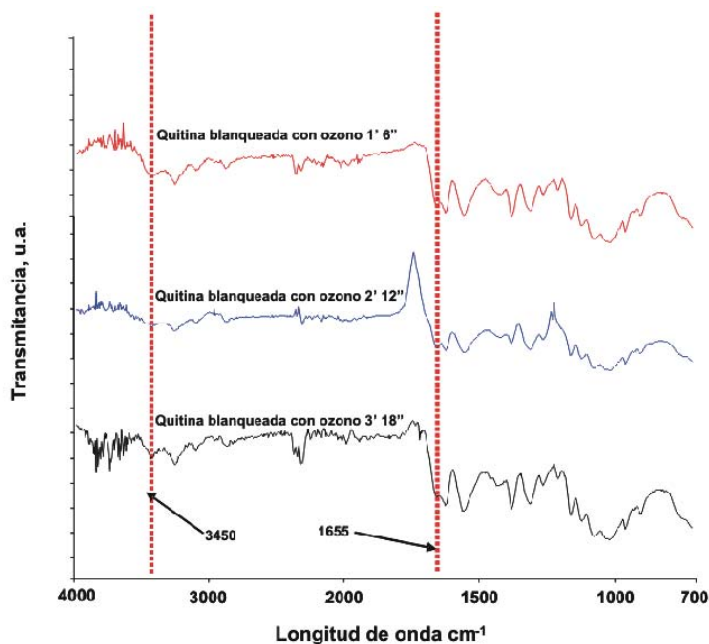


Figura 4. Espectros FTIR de la cáscara de camarón con diferentes cargas de ozono.

Probablemente, la mejor forma de visualizar el incremento en el grado de acetilación es mediante la construcción de un cuadro en donde se muestre el valor de este parámetro que es el que se obtiene mediante la ecuación citada en la parte metodológica de este trabajo.

De tal forma, el cuadro 1 es entonces el resumen de los valores mencionados y mediante el cual se explica en forma clara el comportamiento del material en función de su pureza en cada etapa del tratamiento propuesto.

De un análisis del cuadro 1, se puede deducir que el tratamiento con acetona, si bien despigmenta la quitina, no contribuye a una depuración del material.

Por el contrario, los tratamientos rápidos del ozono nos permiten obtener una quitina con un grado de acetilación de entre 70 y hasta 88%, es decir un material más puro.

Conclusiones

Se ha demostrado que la metodología propuesta a base de tratamientos alcalino-ácidos y ozono nos permite obtener quitina más pura con grados de acetilación hasta de 88%.

Cuadro 1. Valores calculados de grado de acetilación a partir de los espectros FTIR.

Tratamiento	DA, %
Cáscara de camarón	42.31
Cáscara de camarón desproteïnizada	47.45
Cáscara de camarón desproteïnizada y desmineralizada	55.89
Quitina blanqueada con acetona	55.28
Quitina blanqueada con ozono (0.375%)	69.13
Quitina blanqueada con ozono (0.75%)	84.17
Quitina blanqueada con ozono (1.125%)	87.87

Un tratamiento convencional de despigmentación con acetona, cumple muy bien su función de decolorar el material, sin embargo, este tratamiento no contribuye a depurar la quitina.

La etapa de ozono representa grandes ventajas como: que es una etapa a temperatura ambiente, que no involucra agua en el sistema de reacción, que no requiere de la etapa de lavado después de tratamiento ácido y previo a la ozonificación, los tiempos de reacción son relativamente muy cortos (sólo unos minutos) y que el producto de degradación del ozono es oxígeno.

Pruebas de viscosidad que se planean realizar en el futuro demostrarán si la efectividad del ozono para depurar a la quitina compromete la integridad de la cadena de este biopolímero.

Bibliografía

- Crini, G.** 2005. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. *Prog. Polym. Sci.* **30**: 38–70.
- Percot, Aline, Christophe Voton & Alain Domard.** 2003. Optimization of chitin extraction from shrimp shells. *Biomacromolecules* **4**: 12-18.
- Hong, K.N., Samuel P. Meyers & Keun S. Lee.** 1989. Isolation and caracterizacion oc chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **37**: 575-579.
- Chaussard, G. & Alain Domard.** 2004. New Aspects of the Extraction of Chitin from Squid Pens. *Biomacromolecules* **5**: 559-564.
- Ming-Tsung, Y., Joan-Hwa Yang & Jeng-Leun Mau.** 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers* **75**: 15-21.
- Leyva Reyes, Nayeli; Páez Michel, Adreissa Lizette; Hernández Núñez, Carlos Manuel; Ramírez Barragán, Carlos Alberto; Regla Vázquez, Higinio; Delgado Fornué, Ezequiel; Andrade Ortega, Jesús Angel.** 2008. Remoción de cadmio en sistemas acuosos con bipolímeros –quitina cruda- residuales: Estudio comparativo con adsorbentes comerciales (carbón activado, zeolita y quitosana). *La Ingeniería Química en México Vol. 8 Ingeniería de materiales*: 22- 30.
- Yue, Wu, Pingjia yao, Yuanan Wei & Haitao Mo.** 2008. Synergetic effect of ozone and ultrasonic radiation on degradation of chitosan. *Polymer Degradation and Stability* **93**: 1814-1821.