

MÉTODO ALTERNATIVO PARA LA DESACETILACIÓN DE LA QUITINA

Iván Cisneros Pérez¹, Caridad Curbelo², Marcos Vinicio Cobeña¹, Dolores Isabel Molina¹

^{1,2} Universidad Técnica de Manabí (UTM), Av. Universitaria y Che Guevara, FCMFQ, Portoviejo, Manabí. Ecuador, ² Universidad Politécnica José Antonio Echeverría, Cujae Calle114, entre Ciclo vía y Rotonda. Marianao. La Habana.

Resumen: En la investigación se presenta un método alternativo para la desacetilación de la quitina modificando el método químico al emplear radiaciones de ultrasonido y microondas en lugar de altas temperaturas durante la reacción. La desacetilación consistió en que a un gramo de quitina se le agregó hidróxido de sodio al 50% m/m en diferentes proporciones (10,15 y 20 ml), de manera que se produzca la reacción al exponer las muestras a diferentes dosis de radiación, con tiempos de 30, 60 y 90 minutos en ultrasonido (ASNU 42, 250W), y 4, 7, 10 minutos en microondas (Samsung C/grill, 1400W). Por tanto, se demostró que para el método realizado de la quitina el tiempo es un factor importante, es así que, los valores con mayor grado de desacetilación 87,5491 % y 84,5472 %, se obtuvieron a los de 10 y 90 min de irradiación por microondas y ultrasonido respectivamente, manteniendo su masa molecular en alrededor de 5×10^5 Da para ambos tratamientos, similar a lo reportado en la bibliografía.

Palabras Clave: Quitina, quitosano, camarón, biopolímeros.

ALTERNATIVE METHOD FOR THE DEACTIVATION OF THE QUITINE

Abstract: The research presents an alternative method for deacetylation of chitin modifying the chemical method by using ultrasound and microwave radiation instead of high temperatures during the reaction. The deacetylation consisted in that 50% m/m sodium hydroxide was added to one gram of chitin in different proportions (10.15 and 20 ml), so that the reaction occurs when the samples are exposed to different doses of radiation, with times of 30, 60 and 90 minutes in ultrasound (ASNU 42, 250W), and 4, 7, 10 minutes in the microwave (Samsung C / grill, 1400W). Therefore, it was shown that time is an important factor for the method performed in chitin, so that the values with the highest degree of deacetylation, 87.5491 % and 84.5472 %, were obtained at 10 and 90 min. of irradiation by microwaves and ultrasound respectively, maintaining its molecular mass at around 5×10^5 Da for both treatments, similar to that reported in the literature.

Key words: Chitin, chitosan, shrimp, biopolymers.

I INTRODUCCIÓN

El Ecuador es uno de los principales países exportadores de camarón fresco, congelado o en conservas a nivel mundial y cuyas exportaciones de enero a mayo del 2015 han alcanzado un acumulado de 137.331 toneladas [1]. La cantidad de residuo sólido generado en la producción camaronera es alta y muchas veces no se le da el tratamiento adecuado. Actualmente el interés de utilizar los recursos naturales de manera beneficiosa para la humanidad, ha llevado a realizar diversas investigaciones con la posibilidad de aprovechar los desechos de la industria pesquera considerados contaminantes, sin embargo, son una fuente importante para la obtención de biopolímeros de alto valor agregado como la quitina o su derivado funcional, el quitosano.

La quitina es un homo-polisacárido compuesto de unidades de 2-acetamido-2-deoxy-D- glucopiranosas (N-acetil-D-glucosamina) unidas por enlaces β -(1,4). Después de la celulosa, es el segundo suministro más grande de biopolímeros naturales y se ha encontrado en considerables cantidades en el exoesqueleto de crustáceos como los camarones, calamares, cangrejos, langostas y en menor cantidad en hongos, algas, insectos y crisálidas del gusano de seda [2].

La quitina de crustáceos se encuentra naturalmente asociada con proteínas, minerales, lípidos y pigmentos. Este biopolímero lineal es altamente insoluble en agua, lo cual limita sus aplicaciones, se disuelve rápidamente en ácidos concentrados, en algunos fluoroalcoholes y dimetil acetamida en soluciones al 5 % de cloruro de litio. Otras propiedades relevantes de este compuesto son su elevada masa molecular y su estructura porosa, favoreciendo una elevada absorción de agua [3].

El quitosano constituye el derivado más importante de la quitina. El quitosano, poli [β (1-4)-2-amido-2-desoxi-D-glucopiranosas], existe en baja concentración en la quitina nativa y se produce con diferentes grados de desacetilación mediante la reacción antes mencionada. También están presentes en forma natural en algunos hongos, pero siempre en menor proporción de la quitina.

Al igual que la quitina, el quitosano no se presenta como una molécula única. Muestra variabilidad no solo en el tamaño de las cadenas, sino también, en el grado de acetilación de las mismas. Esta variabilidad obliga a usar, para estos biopolímeros, valores de masa molecular y grado de acetilación promedios.

La quitina industrialmente representa una alternativa prometedora por su naturaleza y su actividad biológica, esta puede ser aprovechada en la industria de los polímeros biodegradables para aplicaciones biomédicas,

agrícolas [4] y tratamiento de aguas [5], también para la absorción de metales, como agente antimicrobiano, como aditivo por sus propiedades gelificantes y emulsificantes, y otras aplicaciones en medicina y biotecnología, así como en productos nutracéuticos [6], [7].

El quitosano es insoluble en disolventes orgánicos puros, pero soluble en ácidos acuosos debido a la presencia de grupos amino libres, que al ser protonados generan repulsiones en la cadena promoviendo la solubilización. Algunos ácidos orgánicos como el fórmico, acético, láctico, pirúvico y ácidos oxálicos con frecuencia son usados para su disolución. Ácidos minerales como el ácido hidrocórico y nítrico también solubilizan al quitosano, sin embargo, el ácido sulfúrico no es conveniente debido a las atracciones iónicas entre la cadena producida por el anión divalente del sulfato [8].

II DESARROLLO

Obtención de quitina

La obtención de quitina se puede realizar mediante métodos químicos, biológicos y enzimáticos. Sin importar el tipo de método elegido, los procesos a realizar consisten en extraer los componentes que no sean quitina y que se encuentran presentes en la materia, por ello se han dividido las etapas de extracción en desmineralización para remover carbonato de calcio y desproteínización para la proteína, seguida en ocasiones de decoloración para pigmentos. El orden a seguir en los procesos de extracción, dependerá del origen de la materia prima, por ejemplo, cuando el material a extraer tiene gran cantidad de proteínas y material soluble recuperable, es recomendable aplicar la secuencia desproteínización-desmineralización; por su parte, cuando el material a tratar posee una estructura calcárea densa y mayor proporción de minerales, conviene la secuencia inversa, desmineralización-desproteínización, sin embargo, el tratamiento depende finalmente de quien lo ejecute.

Al existir una variedad de procedimientos químicos para la preparación de quitina, se escoge el que a juicio personal sería más eficiente y rápido, en tres fases descritas a continuación. La desmineralización generalmente se realiza con HCl medianamente concentrado a temperaturas de 0 - 100 °C y tiempos de 1 - 48 h. La desproteínización se lleva a cabo con NaOH 1 M a temperaturas entre 65 - 100 °C por 1 - 72 h y para la decoloración es utilizado etanol, acetona o peróxido de hidrógeno.

Cuando la quitina se somete a la acción de un medio alcalino muy concentrado, y a temperaturas superiores

a 60°C, se produce la reacción de desacetilación. Esta reacción consiste en la pérdida del resto acetilo de grupo amido del carbono 2, denominándose quitosano y presenta propiedades significativas, diferentes a la quitina de partida.

Uno de los mayores inconvenientes de los procesos químicos tradicionales en la producción de quitina es la generación de residuos y productos que afectan el medio ambiente. Estos inconvenientes han estimulado al desarrollo de procesos que reduzcan o eliminen el uso y generación de sustancias peligrosas. Los procesos propuestos que permiten eliminar proteínas y/o sales de los residuos de crustáceos, incluso que puedan ser reutilizados en la producción de alimentos animales y pigmentos.

Un método ecológico de desproteinización de quitina involucra el uso de microondas con una solución digestora al 1% (p/v) de aceite vegetal saponificado, 1% de dodecil sulfato de sodio (p/v) y 0.25% de carbonato de sodio (p/v) y no se han hecho intentos de evaluar la combinación presión, temperatura, radiación por microondas y ácidos orgánicos para desproteinizar y desmineralizar en una sola etapa los residuos de cefalotórax de camarón empleando ácidos orgánicos [9].

El uso de las microondas en la química inorgánica y analítica comenzó desde la década de los setenta; sin embargo, el uso en síntesis orgánica no fue explorado sino hasta la década de los ochenta. Los dos primeros artículos que mostraron la utilidad de las microondas en la síntesis de compuestos orgánicos fueron publicados en 1986. El uso de la energía de las microondas en Química se ha extendido considerablemente, con un crecimiento exponencial en el número de artículos publicados, revistas, y libros. El calentamiento por microondas, una alternativa a técnicas convencionales de calefacción, ha demostrado ser más eficaz y rápido para varias reacciones químicas, como el caso de la desacetilación de la quitina para producir quitosano [10], manteniendo su grado de polimerización manifiesto a través de su masa molecular (MM).

Se ha patentado un nuevo método de producción de quitina mediante el uso de un proceso por microondas bajo presión y/o autoclave con ácidos orgánicos, elimina sales y proteínas en una sola etapa y reduce los índices de contaminación para su aplicación en las áreas de medicina, alimentos, cosméticos y de construcción, entre otras [11].

En tanto que, la primera aplicación comercial del ultrasonido fue en 1917; desde entonces el tema se ha desarrollado y expandido a un gran número de aplicaciones. Los proyectos más importantes que envuelven esta técnica no se encuentran entre los confines de la

química, sino en tecnologías de procesamiento, ya que ha sido mejor reconocido en la industria que los ámbitos de ciencia pura. El ultrasonido de potencia representa una tecnología novedosa, la cual ha creado bastante interés debido a sus efectos promisorios en las áreas de procesamiento y conservación de alimentos; sin embargo, y aunque actualmente es considerada una tecnología emergente, el uso de la tecnología de ultrasonido no se ha promovido para la aplicación de productos comerciales [12].

Otros autores definen el ultrasonido como una forma de energía que viaja en ondas de sonido iguales o mayores a 20000 vibraciones por segundo, otra definición la realizó Mason [13], en la cual lo establece como cualquier sonido con frecuencia más allá de lo que el oído humano puede percibir (16 KHz). Las aplicaciones de las ondas ultrasónicas se dividen por lo general en dos grupos: baja y elevada intensidad. Las aplicaciones de baja intensidad son aquellas cuyo objetivo es obtener información acerca del medio de propagación sin producir ninguna modificación en su estado [14].

Se investigó la influencia del ultrasonido de alta intensidad durante la extracción de quitina del camarón. El rendimiento de quitina disminuyó con sonicación extensa, lo que se atribuyó al aumento de las concentraciones de materiales despolimerizados en el agua de lavado. La eliminación de minerales no se vio afectada por la sonicación. La aplicación de ultrasonido mejoró la eliminación de proteínas [15].

Mientras que las ventajas del uso de ondas ultrasónicas pueden mejorar la transferencia de masa por causas de cavitación que causan temperaturas y presiones extremas en el líquido donde ocurre la reacción y pueden acelerar la reacción. Este proceso se utiliza para eliminar y refinar los grupos acetilo de la quitina y aumentar el grado de desacetilación. Este método es efectivo para aumentar la calidad de la producción de quitosano [16].

Una pre-sonicación provocó cambios notables en la morfología de la quitina, sin afectar su cristalinidad global. La sonicación de la quitina pareció mejorar su homogeneidad y aumentar la superficie de las partículas, mejorando la accesibilidad de los reactivos y alcanzando una desacetilación del 95% superior a la comercial con 88% se desacetiló de forma más eficiente (hasta 95%) que la quitina comercial (hasta 88%) durante 1 hora de exposición [17].

Los derivados de la quitina. El quitosano

Por otra parte, el quitosano al igual que la quitina ha sido usada para el tratamiento de aguas residuales, se reportó su uso en la decoloración de aguas residuales y

en la remoción de metales pesados como mercurio, cadmio, plomo cobre en concentraciones de 10 a 50 ppm en aguas residuales, donde otros tratamientos no lograron removerlos. Otros derivados de quitina solubles en agua, como la hidroximetilquitina ha presentado buena actividad como floculante frente a efluentes aniónicos, [18] y en la industria textil para impartir flexibilidad y resistencia a la tensión a las fibras textiles, se ha usado también para preparar columnas de cromatografía por afinidad, para la inmovilización de enzimas y como absorbente de compuestos contaminantes [19], [20].

El Quitosano ha ganado un merecido lugar en la terapia de regeneración ósea gracias a sus características y propiedades, despertando el interés de los investigadores en estudiar sus aplicaciones [21], [22], [23].

En su aplicación como transportador de fármacos el estudio de Decker en el año 2005 demostró que si se aplicaba clorhexidina en un vehículo de Quitosano, las propiedades adhesivas del material actúan sinérgicamente con las propiedades antibacterianas de la clorhexidina potenciando el efecto antiplaca microbiana de esta [24].

En general y con el fin de optimizar las propiedades físicas, químicas y biológicas, se han incorporado biomoléculas en los andamiajes de materiales con diversas aplicaciones biomédicas, así como para activar biológicamente sus superficies (Akkouch 2008). Se pueden identificar dos tendencias en el desarrollo de materiales con características de bioactividad, bioabsorbabilidad, capaces de estimular la respuesta celular y molecular en forma controlada y que actúen como soportes temporales en la reparación de defectos óseos [25].

III MÉTODOS

Los exoesqueletos de camarón fueron lavados previamente con agua potable para eliminar la materia orgánica adherida, luego fueron secados en la estufa a 40°C durante 4 horas para molerlos hasta 250 micrómetros (mesh 60).

Para retirar la cantidad de minerales de la materia prima se optó por una relación 1:8 (p/v) del exoesqueleto de camarón con HCl al 1,5 N en un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente y sucesivos lavados con agua desmineralizada hasta obtener un pH neutro.

En el proceso alcalino de desproteínización se agitó la muestra durante 2 horas y 30 min con NaOH 1,2 N a 80°C, y se lavó con agua desmineralizada para eliminar el sobrenadante sin necesidad de obtener un pH neutro, para luego filtrar la muestra.

Una vez culminado el proceso anterior se procedió a la eliminación de pigmentos utilizando etanol al 97%

durante un período de 4 horas y con lavados cada 30 min, hasta eliminar el color naranja pardo de la quitina, para finalmente secarla a 40°C durante 24 horas [25].

Se prepararon muestras de quitina con hidróxido de sodio al 50 % a un peso constante de quitina, la desacetilación se llevó a cabo utilizando la irradiación de un microondas comercial (Samsung C/grill 1400w) [27], variando el tiempo de exposición y el volumen del álcali para determinar la relación p/v óptima.

Se sometió la quitina a irradiación con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 50% utilizando el equipo de ultrasonido (ASNU 42) con una potencia de 250W, perteneciente al laboratorio de la carrera de ingeniería mecánica de la Facultad de Ciencias Matemáticas Físicas y Químicas de la Universidad Técnica de Manabí, es decir cerca de la mitad de la potencia sugerida por la bibliografía que es de 450 W [28]. Con esto, se realizaron los ensayos variando el tiempo de exposición y el volumen del álcali, con el fin de determinar la relación p/v más idónea. Cabe indicar que para compensar la baja potencia se duplicaron los tiempos a fin de obtener los resultados esperados. Una vez irradiadas las muestras se procedió a un lavado con agua desmineralizada hasta un pH neutro, a fin de eliminar el exceso de hidróxido de sodio, que luego fueron secadas en una estufa durante 12 horas a 40°C para su posterior caracterización.

Para determinar los rangos estándares de calidad de la quitina y quitosano obtenidos mediante las variantes señaladas, se empleó un análisis proximal según métodos de la norma [29]. Con esto se determinaron los parámetros de humedad, cenizas, proteína y grasa, tanto de la materia prima inicial, como después de cada etapa de obtención de quitina y del quitosano desacetilado con asistencia, tanto de microondas como de ultrasonido.

Para proceder a caracterizar las muestras de quitosano obtenidas por la irradiación de ultrasonido y microondas, se realizó una prueba preliminar de disolución en la cual se disolvieron 0,2 mg de quitosano, que debieron solubilizarse en 5 ml de ácido acético al 0,1M.

Para la determinación del grado de desacetilación del quitosano por titulación potenciométrica, se preparó una solución de 0,5g de quitosano en 10 ml de HCl 0,3 N y se tituló con NaOH 0,1N, hasta que se percibió que la disolución del quitosano fue parcialmente insoluble. Esta lectura corresponde a la variable x de la (ecuación 1). Durante cada 2 ml de adición del álcali, se mide el pH de la solución hasta que la misma gelatinice, con los datos obtenidos de dicha lectura se construye la gráfica del pH de la solución en función de la cantidad de álcali añadido (Hidalgo C 2008).

$$\%GD = 16.1 \frac{(y-x)}{n} + (m) \quad (1)$$

donde:

- $x \rightarrow$ primer punto de inflexión
- $y \rightarrow$ segundo punto de inflexión
- $n \rightarrow$ normalidad de la solución de NaOH
- $m \rightarrow$ peso de la muestra

Posteriormente se hace una comparación de los resultados obtenidos de la experimentación, en relación a los valores establecidos del quitosano comercial.

Para la determinación viscosimétrica de la masa molecular del quitosano se preparó una solución de quitosano en una mezcla de ácido acético al 0,1N y NaCl 0,2M, en proporción 1:1 v/v. Luego en el viscosímetro de Cannon-Fenske 150 Y137 (ASTM D 445) se deja fluir el líquido desde la marca de aforo superior hasta la inferior, tomando el tiempo que tarda el líquido en llenar el menisco a 25°C, esta operación se repite 3 veces en cada factor de dilución para cada muestra a caracterizar, con el fin de reducir el error experimental [30].

Para calcular la masa molecular se utiliza la ecuación de Mark-Houwink, en donde sus constantes dependen de la naturaleza del solvente y polímero a utilizar.

Se muestra a continuación las ecuaciones 2 y 3 que se utilizan para la determinación de la masa molecular:

Densidad relativa

$$\delta = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \quad (1)$$

donde:

- $\delta \rightarrow$ Densidad relativa
- $m_1 \rightarrow$ Peso del picnómetro vacío (g)
- $m_2 \rightarrow$ Peso del picnómetro con agua (g)
- $m_3 \rightarrow$ Peso del picnómetro con muestra (g)

Viscosidad relativa

$$\mu = \frac{\delta_2 * t_2}{\delta_1 * t_1} \quad (2)$$

donde:

- $\mu \rightarrow$ Viscosidad relativa.
- $\delta_1 \rightarrow$ Densidad relativa del solvente (A. acético 0,1M + NaCl 0,2M)
- $t_1 \rightarrow$ Tiempo de escurrido del solvente (A. acético 0,1M + NaCl 0,2 M).
- $\delta_2 \rightarrow$ Densidad relativa de la muestra.
- $t_2 \rightarrow$ Tiempo de escurrido de la muestra.

Una vez utilizadas estas fórmulas se grafica los datos obtenidos como $(\mu-1)/C$ en función de la concentración realizando un corte para encontrar la viscosidad intrínseca $[\eta]$, para realizar el cálculo de la masa molecular viscosimétrica para lo cual se utiliza la ecuación 4 de Mark Houwink.

$$M = e^{\frac{\ln \eta - \ln k}{\alpha}} \quad (4)$$

donde:

- M : Masa molecular
- K : 1,81E-03 (constante)
- α : 0,93 (constante)

IV RESULTADO Y DISCUSIÓN

Se prepararon muestras en proporciones (1:10, 1:15 y 1:20) de materia prima seca (g) respecto a NaOH al 50% en masa (ml). En la tabla I se muestran las solubilidades del quitosano para diferentes proporciones de NaOH a varios tiempos de exposición al ultrasonido.

Tabla I. Solubilidades del quitosano para diferentes proporciones de NaOH a varios tiempos de exposición al ultrasonido

Muestra de quitosano	Relación (p/v) (materia prima/NaOH)	Tiempo de exposición	Solubilidad
QU _{2c}	1:10	30 min	No soluble
QU _{3c}	1:15	30 min	No soluble
QU _{4c}	1:20	30 min	No soluble
QU _{1i}	1:10	60min	57,9 %
QU _{2i}	1:15	60 min	64,4%
QU _{3i}	1:20	60 min	68,3%
QU _{4i}	1:10	90 min	64,4%
QU _{5i}	1:15	90 min	72,25%
QU _{6i}	1:20	90 min	83,72%

Para estimar una comparación del grado de desacetilación del ensayo de ultrasonido se lo realizó en referencia a la relación p/v con respecto a la variación de tiempo.

Fuente: Elaboración propia

Ensayos de ultrasonido

Las diferentes muestras al ser sometidas a ultrasonido de 250 W durante tiempos de 30, 60 y 90 minutos, no mostraron

solubilidad las primeras, es decir irradiadas durante 30 minutos, lo que nos dio un indicio de que la quitina no se había desacetilado lo suficiente como para convertirse en quitosano. Al medir el grado de desacetilación se observa que aumenta con la proporción de NaOH y también con el tiempo, siendo la diferencia estadísticamente significativa con el tiempo de exposición. El óptimo aún se encuentra en valores superiores de proporción de NaOH y tiempo. En la tabla II se exponen los diferentes valores de los puntos de inflexión del potencial medido respecto al volumen de hidróxido consumido en la titulación, en las diferentes muestras tratadas por ultrasonido.

Tabla II. Grado de desacetilación en el tratamiento por ultrasonido

Muestras	x	y	w	f	% Grado de desacetilación
QU ₁	18	36	0,5	0,1	37,9%
QU ₂	42	54	0,3	0,1	64,4%
QU ₃	52	66	0,33	0,1	68,3%
QU ₄	42	54	0,3	0,1	64,4%
QU ₅	38	56	0,4	0,1	72,2%
QU ₆	38	64	0,5	0,1	83,72%

Fuente: Elaboración propia en base a los datos experimentales

En cuanto a su masa molecular, como se esperaba, el efecto es inverso, es decir a mayor tiempo y proporción de NaOH se observa mayor degradación de las macromoléculas y por ello sus masas moleculares son menores. En la tabla III se presentan las masas moleculares de las diferentes muestras y sus réplicas, en el tratamiento por ultrasonido.

Tabla III. Masas moleculares por ultrasonido

Ultrasonido	Principal	Réplicas
QU ₁	5,6*10 ³	5,63*10 ³
QU ₂	5,31*10 ³	5,50*10 ³
QU ₃	5,5*10 ³	5,52*10 ³
QU ₄	5,43*10 ³	5,44*10 ³
QU ₅	5,41*10 ³	5,42*10 ³
QU ₆	5,4*10 ³	5,4*10 ³

Fuente: Elaboración propia en base a los datos experimentales

Ensayos de microondas

Las diferentes muestras al ser sometidas a ultrasonido de 1400 W durante tiempos de 4, 7 y 10 minutos, nuevamente dio un indicio de que la quitina no se había desacetilado lo suficiente como para convertirse en quitosano. En la tabla IV se muestran las solubilidades del quitosano para diferentes proporciones de NaOH a varios tiempos de exposición tratado con microonda.

Tabla IV. Solubilidades del quitosano para diferentes proporciones de NaOH a varios tiempos de exposición tratado con microonda.

Muestra de quitosano	Relación materia prima/ NaOH (g%)	Tiempo de exposición	Solubilidad
QM ₁	1:10	4 min	No soluble
QM ₂	1:15	4 min	No soluble
QM ₃	1:20	4min	No soluble
QM ₄	1:10	7 min	64,4%
QM ₅	1:15	7 min	65,8%
QM ₆	1:20	7 min	70,3%
QM ₇	1:10	10 min	67,08%
QM ₈	1:15	10 min	72,2%
QM ₉	1:20	10 min	83,72%

Para estimar una comparación del grado de desacetilación del método del microondas se hizo referencia a la relación p/v con respecto a la variación de tiempo.

Fuente: Elaboración propia

Al medir el grado de desacetilación se observa que aumenta con la proporción de NaOH y también con el tiempo, siendo la diferencia estadísticamente significativa con el tiempo de exposición. El óptimo también, igual que con ultrasonido, se encuentra en valores superiores de proporción de NaOH y de tiempo. En la tabla V se exponen los diferentes valores de los puntos de inflexión del potencial medido respecto al volumen de hidróxido consumido en la titulación, en las diferentes muestras tratadas con microonda.

Tabla V. Grado de desacetilación en el tratamiento por microonda

Muestras	x	y	w	f	% Grado de desacetilación
QM ₁	38	38	0,5	0,1	64,4%
QM ₂	36	34	0,43	0,1	66,08%
QM ₃	42	42	0,45	0,1	70,3%
QM ₄	42	60	0,42	0,1	68,8%
QM ₅	38	58	0,49	0,1	72,2%
QM ₆	28	54	0,5	0,1	83,72%

Fuente: Elaboración propia en base a los datos experimentales

De la misma forma, en cuanto a su masa molecular, como se esperaba, el efecto es inverso, es decir a mayor tiempo y proporción de NaOH se observa mayor degradación de las macromoléculas y por ello sus masas moleculares son algo menores. En la tabla 6 se presentan las masas moleculares de las diferentes muestras y sus réplicas, en el tratamiento con microonda.

Tabla VI. Masas moleculares por microonda

Microondas	Principal	Réplicas
QM ₁	5,5*10 ³	5,31*10 ³
QM ₂	5,48*10 ³	5,48*10 ³
QM ₃	5,42*10 ³	5,42*10 ³
QM ₄	5,31*10 ³	5,33*10 ³
QM ₅	5,27*10 ³	5,29*10 ³
QM ₆	5,2*10 ³	5,2*10 ³

Fuente: Elaboración propia en base a los datos experimentales

Al comparar con el quitosano comercial se observa que tanto con el tratamiento por ultrasonido como por microondas son mejores ya que se obtienen grados de desacetilación mayores con menor destrucción de las cadenas poliméricas. En la tabla 7 se exponen los valores del grado de desacetilación del quitosano comercial para su comparación con las muestras sometidas a los tratamientos alternativos.

Tabla VII. Valores del grado de desacetilación del quitosano comercial

Muestra	x	y	w	f	% Grado de desacetilación
Quitosano comercial	24	38	0,332	0,1	67,89%

Fuente: Elaboración propia en base a los datos experimentales

V CONCLUSIONES

Se ha demostrado que para la obtención de quitosano el tiempo es un factor importante en el grado de desacetilación del mismo, es así que, los valores con mayor grado de desacetilación están en los de 10 y 90 min con un 87,5491% y 84,5472% por radiación de microondas y ultrasonido respectivamente, mientras que en el método tradicional se requiere de mayor tiempo entre 4-6 horas para la preparación de quitosano con un mismo o menor grado de desacetilación. Cabe indicar que sin embargo esto no indica que se haya logrado alcanzar el óptimo.

La tecnología de microondas y ultrasonido han permitido una reducción muy favorable del tiempo, respecto a los procedimientos tradicionales. Con ello, los resultados nos muestran que la irradiación con microondas en primer lugar y con ultrasonido en segundo lugar, son alternativas más eficientes en cuanto a ahorro de energía, y una manera más rentable de ejecución del proceso. Hay que considerar que el suministro de energía en el método alternativo con respecto al tradicional es función directa del tiempo requerido para el proceso.

El método químico tradicional para la obtención de quitosano genera un impacto negativo en el ambiente y en la salud de las personas debido a las sustancias tóxicas utilizadas como el HCl y de manera especial el NaOH que se encuentra muy concentrado (50%), por lo tanto al momento de combinar el método químico con los métodos alternativos o debido a la recuperación de

álcali, se estima que el impacto es mínimo.

Cabe indicar que el equipo con el que se realizó el estudio de los efectos de la irradiación por microondas es de tipo heterogéneo, los rendimientos pueden ser mayores al utilizar microondas de laboratorio homogéneo. Sin embargo, para aplicaciones industriales apenas se disponen de equipos comerciales caseros con capacidades limitadas. Los tiempos reducidos de tratamientos pueden resultar atractivos.

VI REFERENCIAS

- [1].BCE, Rendición de cuentas 2015. Memorando Nro. BCE-SGG-2016-0034-M, 2015. https://www.bce.fin.ec/images/rendicion_cuentas/BCE-SGG-2016-0034-M-Equipo-responsable.pdf.
- [2].Duarte De Hollanda, H. and Netto F. M. Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry and Toxicology*. 71: 2006, pp. 298-303.
- [3].Miguel Á Ramírez, Aida T Rodríguez, Luis Alfonso, Carlos Peniche. La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación. *Agrícola Biotecnología Aplicada* 2010; Vol.27, No.4.
- [4].Spiegel, Y., Cohn, E., Chet, I. Use of chitin for controlling plant parasitic nematodes. Part I., *Plant and Soil*, 1986, 95, pp. 87-95; b) Spiegel, Y., Cohn, E., Chet, I. Use of chitin for controlling plant parasitic nematodes. Part II. Mode of action., *Ibid.*, 1987, 98, pp. 37-345; c) Spiegel, Y., Cohn, E., Chet, I., Golper, S. Sharon, E., Use of chitin for controlling plant parasitic nematodes. Part III. Influence of temperature and nematicidal effect, mineralization and microbial population buildup. *Ibid.*, 1988, 109, pp. 251-256.
- [5]. Fornaro, E., Uso de quitina y/o sus derivados en el saneamiento de suelos y fluidos contaminados, Pat. Eur. 0962492, 08 de diciembre de 1999.
- [6].Bannawach Bio-Line Co., Ltd. Tailandia. Consulta Junio de 2007 <http://www.bioline.co.th>.
- [7].Hirano, S., Itakura, C., Seino, H., Akiyama, Y., Nonaka, I., Kanbara, N., Kawakami, T. Chitosan as an ingredient for domestic animal feeds. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, 38, 1214-1217.
- [8].Domard A. Propiedades fisicoquímicas de los materiales quitinosos. *ChemInform Volumen* 31, Número 13.<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/chin.200013284>.
- [9].Al Sagheer, F. A. Et. Al. "Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf". *Carbohydrate polymers*. Vol.77, 2009,

pp. 410-419.

- [10].Liu, L. L. Rapid N-phthaloylation of chitosan by microwave irradiation. *Carbohydr. Polym.*, 2004., pp. 97-100.
- [11].Esquivel Juan Carlos Contreras, Garcia Cecilia Balvantin, Peña Ángel Uriel Valdez Dávila Claudia Patricia Flores. Obtención de quitina de residuos de camarón por microondas y/o autoclavado en combinación con ácidos orgánicos en una sola etapa Coyotefoods Biopolymer And Biotechnology SrlmiEl Camaron Dorado S.A. De C.V. Priority date 2009-01-14.
- [12].Knorr D. M., Z. V. Applications and potential of ultrasonic in food processing. *Food Science & Technol*, 2004, pp. 261-266.
- [13].Mason, T. Chemistry `with` ultrasound. Published for the society of Chemical Industry by Elsevier Applied Science, 2000, pp. 123-132.
- [14]. Fiamingo, A. (2016). Extensively deacetylated high molecular weight chitosan from the multistep ultrasound-assisted deacetylation of beta-chitin, 2016, pp. 79-85.
- [15].Gunnar Thor Kjartansson, Extraction and functional properties of ultrasonicated chitin and chitosan from crustacean byproducts. (2008 January 1,). Doctoral Dissertations Available from Proquest. Paper AAI3315535, 2008.
- [16].Siti Nurshuhada Mat Yusof. El efecto de la onda ultrasónica en el grado de desacetilación de la quitina en la producción de quitosano, 2008. https://books.google.com.ec/books/about/The_Effect_of_Ultrasonic_Wave_on_the_Deg.html?id=EGmtAQAACAAJ&redir_esc=y.
- [17].Barreto Cardoso M., Signin R., Campana-Filho S. P., on the sonication of chitin: effects on its structure and morphology and influence on its deacetylation. Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo, Caixa Postal 780, 13560-970 - São Carlos/SP – Brasil, *Polymer Bulletin* 47, 2001, pp. 183-190.
- [18].Peniche., C. Estudios sobre quitina y quitosana. Universidad de la Habana, La Habana Cuba, 2006, p.89.
- [19].Rinaudo, M. "Chitin and chitosan: Properties and applications". . *Progress in Polymer Science* , 2006, pp. 603-632.
- [20].Kumar, R., A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional polymers*, 46, 1, 2000, pp. 1-27.
- [21].Bartold M, Xiao Y, Lynsgstaadas S, Paine M, Snead M. Principles and Applications of Cell Delivery Systems for Periodontal Regeneration. *Periodontology*; 2006. 41: pp. 123-135.
- [22].Fatimi, A., Comportement rhéologique de biomatériaux pour l'ingénierie ostéoarticulaire et dentaire: matrices extracellulaires synthétiques et suspensions phosphocalciques., *IRBM*, Vol. 30, No 3, 2009, pp. 139 -140.
- [23].Fernández, E. Obtención y caracterización de nuevos cementos óseos de fosfatos de calcio en el sistema $\text{CaHPO}_4\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, tesis presentada a la Universidad Politécnica de Cataluña, para optar el grado de Doctor en Ciencias de los Materiales. 1995
- [24].Decker E, Von Ohlec C, Weiger R, Wiech I, Brex M. A Synergistic Chlorhexidine/Chitosan Combination for improved antiplaque strategies". *Journal of periodontal research*; 2005, 40: pp. 373-377.
- [25].Yoshida, M., Langer, R., Lendlein, A., Lahann, J., From Advanced Biomedical Coatings to Multi-Functionalized Biomaterials., *Polymer Reviews*, Vol. 46, No 4, 2006, pp. 347- 375.
- [26].Banchón C., Inmovilización de papaína en soprte de quitosano. Obtenido de Universidad de