

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

**SOSTENIBILIDAD: OBTENCIÓN DE
QUITINA A PARTIR DE
PRODUCTOS DE DESECHO**





UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO. GRADO EN FARMACIA

SOSTENIBILIDAD: OBTENCIÓN DE QUITINA A PARTIR DE SUSTANCIAS DE DESECHO

| | |
|--------------------------------------|--|
| Nombre del Estudiante | Ignacio María Polo Galindo |
| Lugar y Fecha de Presentación | Aula de Informática 1, 19 de septiembre de 2016 |
| Departamento donde se realiza el TFG | Departamento de Química Orgánica Y Farmacéutica |
| Nombre del tutor/es | D. Manuel Bueno Martínez Dña. Inmaculada Molina Pinilla |
| Tipología de TFG realizado | Revisión Bibliográfica |

Índice

| | |
|--|-----------|
| 1. Resumen | 7 |
| 2. Introducción | 7 |
| 2.1. Definiciones | 8 |
| 2.1.1. Quitina | 8 |
| 2.1.1.1. Estructura y propiedades fisicoquímicas de la quitina | 9 |
| 2.1.2. Quitosano | 10 |
| 2.1.2.1. Estructura y propiedades fisicoquímicas del quitosano | 11 |
| 3. Objetivos | 12 |
| 4. Metodología | 12 |
| 5. Resultados y Discusión | 13 |
| 5.1. El punto de partida. Desecho de los Crustáceos | 13 |
| 5.2. Métodos de obtención de Quitina | 14 |
| 5.2.1. Método Químico | 14 |
| 5.2.1.1. Preparación de la muestra | 15 |
| 5.2.1.2. Desproteínización | 16 |
| 5.2.1.2.1. Recuperación de las proteínas | 16 |
| 5.2.1.3. Desmineralización | 17 |
| 5.2.1.4. Despigmntación y Blanqueamiento | 18 |
| 5.2.1.5. Purificación | 18 |
| 5.2.2. Método Microbiológico: Fermentación Láctica | 19 |
| 5.2.3. Métodos Enzimáticos | 20 |
| 5.3. Otros compuestos obtenidos en el proceso de extracción de quitina a partir de desechos de crustáceos | 21 |
| 5.3.1. Pigmentos | 21 |
| 5.3.1.1. Astaxantina | 22 |
| 5.3.1.2. Cantaxantina | 23 |
| 5.3.1.3. β-Caroteno | 23 |
| 5.3.2. Proteínas | 24 |
| 5.3.3. Minerales | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 5.3.4. Glucosamina | 24 |
| 5.4. Desacetilación de la Quitina: Obtención del Quitosano | 25 |
| 5.5. Aplicaciones de la quitina y sus derivados..... | 27 |
| 5.5.1. Aplicaciones alimentarias..... | 27 |
| 5.5.1.1. Actividad antioxidante | 28 |
| 5.5.1.2. Conservante de alimentos | 28 |
| 5.5.1.3. Recubrimiento de alimentos..... | 28 |
| 5.5.1.4. Fibras dietéticas..... | 29 |
| 5.5.1.5. Bebidas y Vinos..... | 29 |
| 5.5.2. Aplicaciones farmacéuticas | 29 |
| 5.5.2.1. Aplicación como excipiente | 29 |
| 5.5.2.2. Aplicación como principio activo | 30 |
| 5.5.2.2.1. Absorbente de grasa y agente reductor de colesterol | 30 |
| 5.5.2.2.2. Capacidad analgésica | 30 |
| 5.5.3. Aplicaciones en Medicina | 31 |
| 5.5.4. Aplicaciones cosméticas y dermatológicas | 31 |
| 5.5.5. Aplicaciones en la industria textil..... | 32 |
| 5.5.6. Aplicaciones en el campo de la Agricultura | 33 |
| 5.6. Importancia económica | 33 |
| 6. Conclusiones..... | 35 |
| 7. Bibliografía..... | 35 |

1. Resumen

Cada año millones de toneladas de residuos procedentes de la industria marisquera son desechados a vertederos o son tirados directamente al mar. Estos desechos suponen un problema, ya que constituyen un residuo contaminante, ya que ejercen un impacto negativo a nivel medioambiental. Desde hace varias décadas, existen estudios que demuestran que estos desechos albergan un polímero natural, la quitina, que tiene muchísimos usos en la actualidad, además de otros compuestos secundarios que se pueden obtener de su extracción.

En este trabajo se hace una valoración del estado actual de la extracción de quitina, y otros componentes, a partir de los residuos de crustáceos, en el cual se detallan los principales métodos de obtención que se llevan a cabo en la actualidad, así como las aplicaciones que tienen estos compuestos a nivel industrial.

Palabras clave: **CHITIN, CHITOSAN, WASTE CRUSTACEANS, DESACETYLATION.**

2. Introducción.

La quitina (Figura 1) y el quitosano (Figura 2) son, después de la celulosa, el segundo biopolímero natural más abundante en la naturaleza, estando presente en diferentes organismos como hongos, algas e insectos, en pequeñas cantidades, así como en exoesqueleto de crustáceos y calamares en mayores proporciones (Escobar y cols., 2014).

El procesamiento industrial de los productos marinos, especialmente los crustáceos, producen una elevada cantidad de desechos que suponen un gran problema medioambiental como consecuencia de su lenta descomposición. Se calcula que se producen anualmente entre 6 y 8 millones de toneladas de estos desechos (Kehong y cols., 2015).

Estos desechos, presentan entre un 14 y un 35% de quitina, que se encuentra asociada con un 30 o 40% de proteínas y la misma proporción en depósitos de calcio. Estos valores nos indican que la tarea de la extracción de la quitina y quitosano de estos desechos, no

solo es una solución al problema medioambiental, sino que también da apoyo a las industrias que utilizan estos compuestos como materias primas.

Entre los campos de aplicación de estos compuestos poliméricos, se encuentran el biotecnológico y el biomédico, ya que la quitina puede emplearse como material bioestable y el quitosano como material biodegradable. Estas propiedades han llevado a algunos investigadores a probar su actividad antimicrobiana en la industria alimentaria consiguiendo aumentar el tiempo de conservación de muchos alimentos, como por ejemplo en frutas y verduras mediante la aplicación de una biopelícula de quitosano. También en la industria farmacéutica se ha evaluado su biodistribución en el organismo como vehículo de fármacos y sus tiempos de retención, dando resultados positivos, lo que convierte a estos polímeros en posibles compuestos a utilizar en la búsqueda de nuevos fármacos.

En otras áreas como la ortopedia y la odontología, se ha evaluado la capacidad osteointegradora que potencializa a estos polímeros para la fabricación y evaluación de plataformas de crecimiento celular y, cirugías periodontales, al evaluarse en forma de geles e hidrogeles inyectables, como constituyente de cementos para rellenos óseos y recubrimientos bioactivos que mejoran el comportamiento de los implantes.

2.1. Definiciones.

2.1.1. Quitina.

La primera persona que aisló la quitina fue Henri Braconnot en 1811 (Hamed y cols., 2016), que después de someter a unas setas a un tratamiento alcalino, comprobó que quedaba un residuo que llamó fungina. Años más tarde, esta misma sustancia sería aislada del caparazón de los escarabajos y recibiría el nombre de quitina, del griego "*chitón*", que significa túnica o cobertura. Fue el primer polisacárido conocido.

La quitina es un polímero natural formado por unidades moleculares de N-acetil-D-glucosamina. Es un polisacárido no tóxico y biodegradable, que se caracteriza por su insolubilidad en disolventes comunes, característica que lo hace muy difícil de procesar.

Como se ha dicho anteriormente, la quitina es el segundo biopolímero lineal más abundante en la tierra después de la celulosa. Ambos son polisacáridos con estructura

semejante, se diferencian en que la quitina tiene un grupo acetamida en el Carbono-2 mientras que la celulosa tiene un grupo hidroxilo. La quitina puede ser obtenida de distintas fuentes, pero principalmente se obtiene de exoesqueletos de artrópodos y de crustáceos. Sin embargo, también producen quitina, microorganismos como los hongos y las levaduras, así como las diatomeas. Se estima que todos estos organismos son capaces de generar unos 100 millones de toneladas de quitina al año.

A nivel industrial, la principal fuente de obtención de quitina son los caparazones de los crustáceos, tales como los cangrejos y los camarones, debido a la disponibilidad de residuos procedentes de la industria alimentaria de estos productos.

La quitina a diferencia de otras formas de biopolímeros, como por ejemplo la celulosa, contiene nitrógeno. Esto hace que la quitina que sea ampliamente utilizada en diferentes industrias como punto de partida para la obtención de productos nitrogenados. Esto ocurre por ejemplo en industrias farmacéuticas, textiles, cosméticas, en industrias de tratamiento de aguas, etc., cruciales para la vida moderna.

2.1.1.1. Estructura y propiedades fisicoquímicas de la quitina.

La poli[- β -(1,4)-N-acetil-D-glucosamina], conocida como quitina, al igual que la celulosa, es un polisacárido lineal. Se produce en la naturaleza como una red cristalina de microfibrillas, presentando tres formas distintas: α -quitina, β -quitina y γ -quitina. La α -quitina es la forma más estable de las tres, y está dispuesta en hebras antiparalelas. Además, es la estructura resistente que presentan los caparazones de los crustáceos y los exoesqueletos de los insectos, así como la pared celular de hongos y levaduras. La β -quitina es menos estable y está dispuesta en cadenas paralelas, y la podemos encontrar en las fibras extracelulares de las diatomeas, así como en el esqueleto del calamar y ciertos anélidos. La γ -quitina es una forma mixta entre la α -quitina y la β -quitina, siendo la forma menos común y la podemos encontrar formando parte de los capullos de algunas especies de escarabajos.

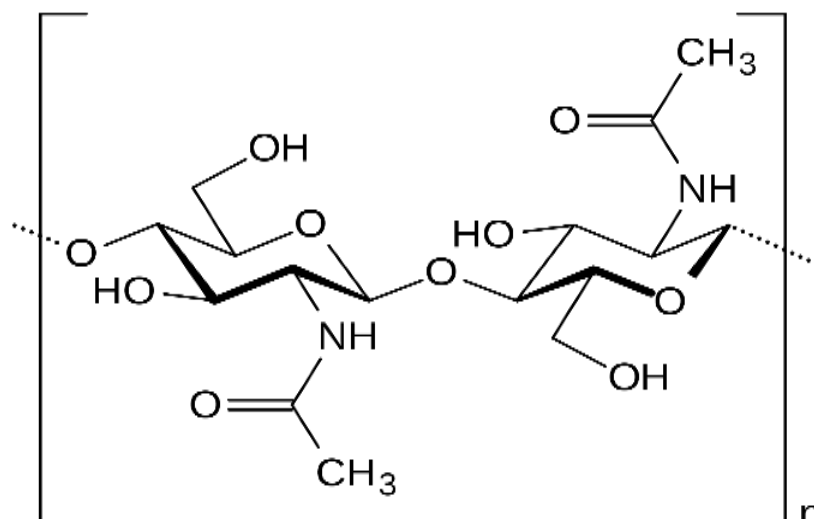


Figura 1: Quitina

La quitina es un compuesto nitrogenado, que en su estado puro es blanco o amarillento, inodoro e insípido, presentando una excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad. Es altamente hidrófoba, de ahí su insolubilidad en agua, e incluso en la mayoría de disolventes orgánicos. Esta insolubilidad se piensa que es debida a las fuerzas intermoleculares producidas por puentes de hidrogeno, que hacen que la quitina sea un material tan rígido.

2.1.2. Quitosano.

El quitosano es el compuesto obtenido de la desacetilación parcial de la quitina, dejando libre el grupo amino del carbono-2 (Expósito, 2010). Prácticamente se obtiene en su totalidad mediante este método, que consiste en la eliminación del grupo acetilo que contiene la función amino de la quitina. El quitosano, a diferencia de la quitina, es un compuesto soluble en agua. Su solubilidad depende del grado de desacetilación que presente. Esta característica hace que sea más fácil trabajar con él que con la quitina, siendo ampliamente utilizado en diferentes ámbitos, como el farmacéutico, médico, alimentario, agrícola, etc.

2.1.2.1. Estructura y propiedades fisicoquímicas del quitosano.

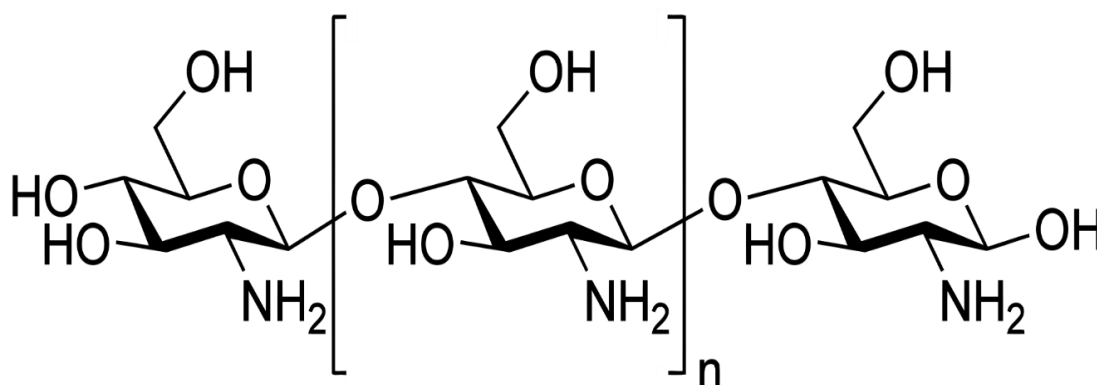


Figura 2: Quitosano

El polisacárido quitosano es un copolímero lineal formado por D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, unidos por enlaces β-(1,4)-glucosídicos. Este biopolímero se considera como policatiónico, no tóxico, biocompatible y biodegradable. El grado de desacetilación se define generalmente como el cociente entre D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, aumentando a medida que la quitina va convirtiéndose en quitosano. Cuando el porcentaje de D-glucosamina supera al porcentaje de N-acetil-D-glucosamina el compuesto se denominará quitosano.

Es un polímero soluble en agua debido a la formación de cargas positivas en las funciones amino. Esta solubilidad depende de la cantidad grupos amino que se encuentren libres y sean susceptibles a la protonación, aspecto que se encuentra relacionado con el grado de desacetilación que presente el quitosano (Sánchez y cols., 2007). Esta característica lo hace apropiado para una amplia gama de aplicaciones en campos como, alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos, etc. Así mismo, este biopolímero puede interactuar con moléculas aniónicas. También es importante destacar que el quitosano es insoluble en soluciones acuosas de pH neutro y alcalino, mientras que es soluble en soluciones acuosas ácidas, como soluciones de ácido acético, fórmico, málico, etc.

3. Objetivos

El objetivo de este trabajo es conocer la forma en la que se pueden aprovechar los desechos de las industrias marisqueras, para la obtención de quitina y diferentes compuestos derivados de su extracción. También se realiza una revisión de las diferentes técnicas utilizadas para llevar a cabo este proceso y de las aplicaciones que se le pueden dar a los compuestos obtenidos, principalmente la quitina y sus derivados. Otro de los puntos a desarrollar en esta revisión bibliográfica, es la desacetilación de la quitina para su transformación en otro biopolímero con muchísimas aplicaciones distintas, el quitosano.

4. Metodología

La metodología empleada en esta revisión bibliográfica se ha basado en la búsqueda de la bibliografía recogida en el punto siete de este trabajo, en bases de datos científicas tales como **SciFinder, Scopus, ScienceDirect, Researchgate o Web of Science**.

Una vez obtenidos los documentos de las publicaciones, ya sea habiéndose descargado la publicación o consultándola de manera electrónica, se ha revisado su contenido, extrayendo la información más relevante de ellos, a veces comparando la misma entre distintos autores y detallando las diferencias encontradas por cada uno.

Para la realizar la búsqueda en estas bases de datos, se han utilizado las palabras claves indicadas en el apartado de resumen. En cada una de las búsquedas, ha aparecido alguna de estas palabras, aunque dependiendo del apartado que se estaba redactando, esta palabra clave ha ido acompañada de otras relacionadas con cada sección en particular. Por ejemplo, a la hora de la búsqueda bibliográfica del apartado de métodos biológico de obtención de quitina, las palabras a utilizar han sido: **Chitin biological obtention waste crustaceans**.

Después de seleccionar y estudiar la información procedente de estas fuentes, se ha llevado a cabo la redacción de cada apartado, intentando realizar una interpretación lo más fielmente posible de la información publicada por los autores, y reflejando en cada apartado la cita de dicha referencia bibliográfica.

5. Resultados y Discusión

5.1. El punto de partida. Desecho de los Crustáceos

Como se indica en párrafos anteriores, la quitina se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, sin embargo, el exoesqueleto de los crustáceos, como los cangrejos y camarones, son la fuente más accesible, ya que se encuentran disponibles como desechos de la industria marisquera. Se estima que la producción anual de quitina a partir de crustáceos marinos es de unas 2.200 toneladas.

Dependiendo de la especie de crustáceo, el porcentaje de quitina varía entre el 2 y el 12% del peso total. Su exoesqueleto, que es realmente lo que se utiliza, presenta entre el 14 y el 35% de α -quitina, y entre un 30 y un 40% de proteínas que conforman el tejido conectivo, y la misma proporción de carbonato de calcio como componentes principales, y como minoritarios, presenta pigmentos y otras sales metálicas. El contenido en minerales depende del ciclo reproductivo y edad del crustáceo, presentando las especies más ancianas un exoesqueleto más calcificado y con menor cantidad de quitina. La presencia de lípidos, generalmente es debido a la presencia de residuos de músculos y vísceras. En la siguiente tabla (Tabla 1) podemos ver los distintos porcentajes en proteínas, cenizas, lípidos y quitina, de algunas de las especies de crustáceos más utilizadas en la obtención de quitina:

| Fuente de Quitina | Proteínas | Quitina | Ceniza | Lípidos | |
|-------------------|-----------------------------------|---------|--------|---------|------|
| Cangrejo | <i>Collinectes sapidus</i> | 25.1 | 13.5 | 58.3 | 2.1 |
| | <i>Chionoecetes opilio</i> | 29.2 | 26.6 | 40.6 | 1.3 |
| | <i>Paralithodes camtschaticus</i> | 22 | 31 | 46 | 1.0 |
| Camarón | <i>Pandalus borealis</i> | 41.9 | 17.0 | 34.2 | 5.2 |
| | <i>Cragon cragon</i> | 40.6 | 17.8 | 27.5 | 9.9 |
| | <i>Penaeus monodon</i> | 47.4 | 40.4 | 23.0 | 1.3 |
| Langosta | <i>Procambarus clarkii</i> | 29.8 | 13.2 | 46.6 | 5.6 |
| Krill | <i>Euphausia superba</i> | 41.0 | 24.0 | 23.0 | 11.6 |
| Gamba | | 61.6 | 33.0 | 29.4 | 1.4 |

Tabla 1: Composición química en porcentaje v/v en base seca del exoesqueleto de crustáceos (Colina y cols., 2014).

El exoesqueleto de los crustáceos es una capa no celular, que es secretada por la epidermis, que se encuentra formando una estructura de varios niveles. En el nivel molecular, está la quitina, presentando una alineación antiparalela de estructuras altamente cristalinas. En el siguiente nivel se encuentran moléculas de quitina ligadas en la periferia a proteínas globulares, formando estrechas unidades llamadas nanofibrillas.

Estas nanofibrillas de quitina-proteína, se encuentran agrupadas en racimos, que a su vez forman capas planas horizontales y paralelas de fibrillas que cambian de dirección de un plano a otro en continua rotación. Este complejo termina formando una red que agrupa a la quitina y la proteína con minerales de carbonato cálcico y lípidos. También contiene diferentes compuestos como luteína, β -carotenos, etc. La siguiente imagen (Figura 3) muestra una representación de las nanofibrillas de quitina-proteína:

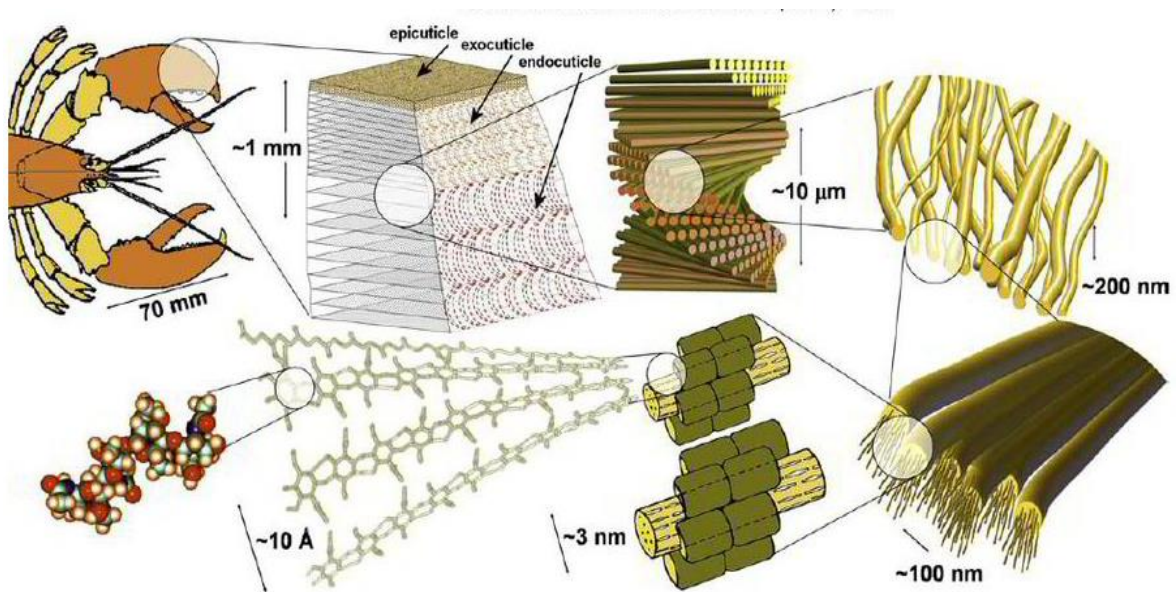


Figura 3: Nanofibrillas

5.2. Métodos de obtención de Quitina

5.2.1. Método Químico

Este método es llamado también Método Tradicional, ya que ha sido el método más utilizado para la extracción de quitina, además de que fue el primero que se utilizó. Consiste en tratar el material de partida (desechos de los crustáceos) con diferentes

reactivos químicos, de forma sucesiva, para finalmente obtener la quitina (Figura 4). Las etapas de desproteinización y desmineralización pueden intercambiarse el orden.

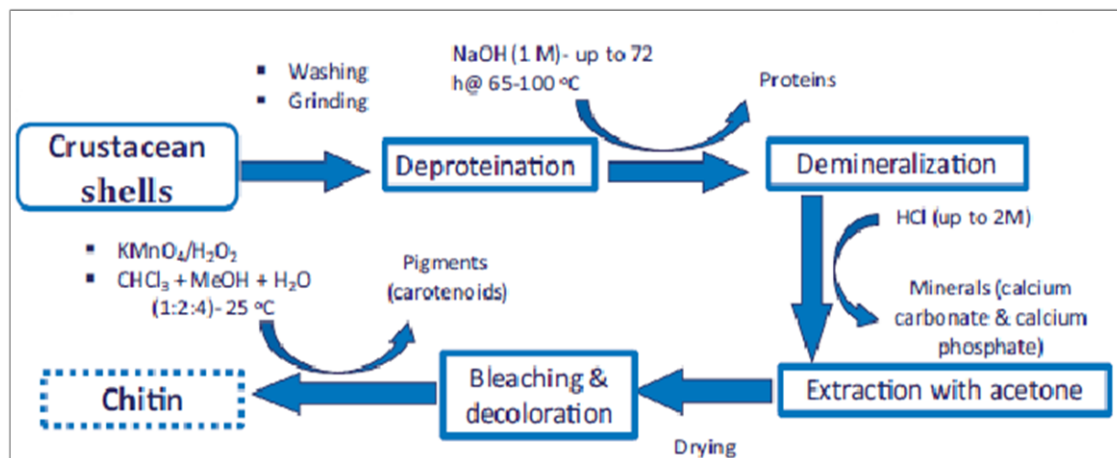


Figura 4: Esquema de extracción mediante el Método Químico

Debido a la complejidad estructural que presentan los crustáceos, donde la quitina se encuentra formando parte de otras estructuras, es necesario la utilización de tratamientos químicos agresivos para poder extraerla del resto de compuestos. A continuación, se detallan los pasos a seguir para la extracción de la quitina mediante el método químico:

5.2.1.1. Preparación de la muestra

Lo primero que debemos hacer es lavar los residuos de los crustáceos, con el fin de quitar la mayor cantidad de restos orgánicos y sustancias que no sean el propio exoesqueleto. Posteriormente se procederá a lavar la muestra con NaOH muy diluido, para eliminar restos de lípidos que puedan quedar. El siguiente paso es el de introducir la muestra en una estufa seca, a unos 100°C durante 3 horas. En este punto, se calculará el Porcentaje de Humedad (Figura 5) que presenta la muestra, sabiendo el peso inicial de la misma y el peso después de sacarla de la estufa (Escorcía y cols., 2009).

$$\%H = \frac{\text{masa seca (g)}}{\text{masa húmeda (g)}} \times 100$$

Figura 5: Fórmula para calcular el porcentaje de Humedad.

Una vez enfriada la muestra, se procede a su trituración, hasta obtener un polvo fino rosado, que se tamizará para conseguir un tamaño uniforme de la muestra.

5.2.1.2. Desproteínización

El contenido en proteínas que presenta la muestra, deriva principalmente del tejido esquelético del crustáceo, y en menor medida de restos del tejido muscular.

Para la etapa de desproteínización pueden utilizarse diferentes reactivos, variaciones en el tiempo e incluso diferentes concentraciones de reactivos, con el fin de poder extraer de la muestra las proteínas existentes. Entre las distintas técnicas que pueden emplearse destacan:

- Hidróxido de Sodio (NaOH) al 4% (1M) a 100°C durante 4 horas (Yamaguchi y cols., 2003) y (Kaur y cols., 2015).
- Hidróxido de Sodio (NaOH) al 3% a 70°C durante 5 horas (Tomihata y cols., 1997).

Existen otras técnicas usadas por otros autores, en la que se utilizan diferentes reactivos, como por ejemplo el uso de ácido acético al 2% durante 50 minutos a 120°C (Tomihata y cols., 1997) o una solución de ácido acético al 0,3M y acetato de sodio al 0,2M a 25°C y tiempos mayores (Vongchan y cols., 2003), pero que han mostrado menor efectividad en el proceso de desproteínización de la muestra.

Después de este proceso, el residuo sólido compuesto por los desechos de los crustáceos desproteínizados y que se han separado de la fracción líquida por filtración, se lavan varias veces con abundante agua, y se procede al secado de los mismos a temperatura ambiente durante 24h. La fracción líquida obtenida y que contiene las proteínas extraídas, es recuperada y almacenada, para poder someterla posteriormente a un proceso de recuperación, donde obtendremos las proteínas por precipitación.

Hay que tener en cuenta que, si se somete la muestra a altas concentraciones de álcali y de temperatura, se podría producir la desacetilación y degradación de la quitina, lo que conllevaría a tener que desechar toda la muestra y tener que empezar de nuevo la extracción con una nueva muestra, por lo que hay que estimar las precauciones a la hora de llevar a cabo este proceso.

5.2.1.2.1. Recuperación de las proteínas

Es interesante la recuperación de las proteínas extraídas de la muestra, ya que pueden ser aprovechadas por algunas industrias como materia prima. Para llevar a cabo el

proceso, se parte de las soluciones acuosas obtenidas en el proceso de desproteinización. Estas soluciones, se tratan con ácido clorhídrico (HCl) concentrado, hasta producir la precipitación de las proteínas, que sucede al alcanzar su punto isoeléctrico, aproximadamente a un pH entre 3,5 y 4,5. Posteriormente, la mezcla obtenida es filtrada, secada y almacenada (Escorcía y cols. 2009).

5.2.1.3. Desmineralización

La desmineralización de la muestra consiste en la eliminación de las sales orgánicas presentes en la muestra, principalmente el carbonato de calcio (CaCO_3). Esta etapa se suele realizar por tratamiento con ácidos, usando entre otros, HCl, HNO_3 , H_2SO_4 , CH_3COOH y HCOOH (No y cols., 1998) y (Percot y cols., 2003). Entre estos ácidos, el preferido para la desmineralización de las muestras de crustáceos es el HCl en disoluciones de hasta el 10% a temperatura ambiente bajo agitación constante. Sin embargo, la extracción con este ácido fuerte puede tener consecuencias negativas, ya que puede perjudicar a las propiedades físico-químicas de la quitina que se obtendrá al final del proceso, ya que puede producirse la despolimerización del compuesto o incluso su desacetilación. Aun así, es el reactivo más utilizado para la desmineralización, prevaleciendo los beneficios de su uso ante los inconvenientes, ya que es el más efectivo y rápido, permitiendo la eliminación de casi el 100% de las sales minerales.

Un tratamiento alternativo para disminuir la degradación de la quitina, puede ser el uso del agente complejante EDTA (ácido etilendiaminotetracético) (Argüelles y cols., 1990), aunque su eficacia es menor, por lo que no suele usarse.

Una vez procesada la muestra en esta etapa, se procede al filtrado y posterior lavado con abundante agua. Una vez obtenido la fracción sólida, que corresponde a los desechos de los crustáceos desmineralizados, se procede al secado a temperatura ambiente durante 24h.

La fracción acuosa obtenida en esta etapa es rica en calcio, por lo que se almacena para su extracción y posterior uso. Para determinar el grado de desmineralización, se evalúa la concentración de calcio en esta solución, por ejemplo, mediante Espectrometría de Absorción Atómica.

5.2.1.4. Despigmentación y Blanqueamiento

Este proceso no es necesario para la obtención de quitina, ya que la quitina con los pigmentos que se pretenden eliminar en esta etapa, presenta las mismas características que la quitina blanquecina, color que presenta en estado puro. Por lo que la decoloración se realiza dependiendo del uso posterior que se le vaya a dar a la quitina obtenida.

La coloración presente en los restos de crustáceos se debe principalmente a la presencia de pigmentos tales como la astaxantina, la cantaxantina, el astaceno, la luteína y el β -caroteno, compuestos de naturaleza lipídica. Ya que los tratamientos anteriores no son capaces de eliminar estos pigmentos, se tienen que extraer con otros compuestos. Los más utilizados son: acetona, cloroformo, éter, etanol, triclorometano, acetato de etilo o una mezcla de los anteriores, todos a temperatura ambiente (Colina y cols., 2014).

También se pueden emplear agentes oxidantes tradicionales, como el agua oxigenada H_2O_2 (del 0,5 al 3%) y el NaOCl (al 0,3%), aunque hay que tener en cuenta que estos reactivos pueden atacar a los grupos amino libres y producir modificaciones en el polímero.

En especies de crustáceos con el exoesqueleto muy coloreado, se puede utilizar de forma exitosa tratamientos con mezclas de acetona y NaOCl a temperatura ambiente (Nieto y cols., 1991).

5.2.1.5. Purificación

Este paso tiene como finalidad obtener una quitina que esté completamente libre de residuos minerales, proteínicos, etc., resultando una quitina totalmente pura, por lo que se llevará a cabo solo dependiendo de la utilidad que se le vaya a dar a la quitina obtenida. Consiste en la inmersión de la quitina ya despigmentada en una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración de entre 3-3,5%, a una temperatura de 100°C y durante 1 hora. Seguidamente, se filtra, se lava y se seca durante 30 minutos a 80°C.

Una vez finalizada esta etapa, se puede decir que hemos obtenido la quitina 100% pura.

5.2.2. Método Microbiológico: Fermentación Láctica

Los métodos biológicos para obtener quitina de residuos de crustáceos, son una alternativa a los métodos químicos muy interesante, ya que, para llevarlos a cabo, no es necesario el uso de grandes cantidades de sustancias químicas corrosivas a altas temperaturas, así como tampoco grandes cantidades de agua y de energía, ni los correspondientes residuos que esto proporciona.

Este proceso es muy ventajoso además, por el hecho de que permite la obtención de proteínas y pigmentos con un alto valor comercial, mayor que por el método químico (Goycoolea y cols., 2004). Las proteínas obtenidas tienen un alto valor nutricional, por lo que pueden usarse para la alimentación animal.

La fermentación de desechos de crustáceos usando bacterias productoras de ácido láctico, produce una fracción sólida que contiene la quitina cruda y una fracción líquida rica en proteínas, minerales y pigmentos.

En general, la materia prima se mezcla con azúcares fermentables, tales como glucosa, lactosa, suero de leche, sacarosa, etc., que favorecen el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, que suelen ser del género *Lactobacillus*, un género de bacterias grampositivas no esporuladas, generalmente anaerobias y fermentadoras de lactosa y otros azúcares (Marcia y cols., 2011), las cuales suelen añadirse en el paso de inoculación. El inóculo se prepara mediante la siembra del microorganismo en el medio (suele utilizarse el medio *Caldo APT*, medio de cultivo para usado para el crecimiento de bacterias productoras de ácido láctico), y su posterior incubación durante 24 horas a 30°C hasta obtener una densidad óptica de 2 a 540 nm (Cira y cols., 2002). Estas bacterias, producen ácidos (principalmente el láctico), que provocan un descenso del pH, impidiendo el crecimiento de otros microorganismos que puedan provocar la descomposición de la muestra. El ácido láctico reacciona con el carbonato de calcio presente en los desechos de crustáceos y se produce lactato de calcio, el cual va precipitando y se puede ir separando para su posterior uso (Pacheco, 2010). A la vez que se va produciendo el ácido láctico, también se producen enzimas proteolíticas, que junto con esos ácidos que empiezan a estar presente en el medio y con ayuda de la temperatura, llevan a cabo el proceso de desproteinización de los desechos de crustáceos. Que la producción de ácido láctico por parte de las bacterias sea eficiente, depende de: La cantidad del inóculo, de la fuente de

carbono, del pH inicial, así como del tiempo y temperatura de la fermentación. A continuación (Tabla 2), se detallan fuentes de carbono utilizadas y tiempo de fermentación necesario para la obtención de quitina de algunas especies:

| Microorganismo | Fuente de Desecho | Tiempo | Fuente de Carbono (FC) | Eficiencia (%) | |
|---|------------------------------|--------|-----------------------------------|------------------|-------------------|
| | | | | D _{MIN} | D _{PROT} |
| <i>L. paracei</i> A3 | <i>Nephrops norvegicus</i> | 48h | Glucosa | 61 | 77.5 |
| <i>Lactobacillus</i> | <i>Camarón</i> | 28h | Glucosa | 90 | 86 |
| <i>L. paracei</i> A3 | <i>Procambarus clarkii</i> | 72h | Dextrosa | 97.2 | 94 |
| <i>L. pentosus</i> 4023 | <i>Procambarus clarkii</i> | 30h | Suero de Leche | 90.1 | 81.5 |
| <i>Lactobacillus spp.</i> B2 | <i>Peneaus sp.</i> | 120h | Sacarosa, Lactosa, Suero de Leche | 8.6 | 85 |
| <i>S. faecium</i> M74, <i>L. plantarum</i> , <i>P. acidilactici</i> | <i>Nephrops norvegicus</i> | 144h | Glucosa | 93.8 | NM |
| <i>L. salvarius</i> , <i>P. acidilactici</i> | <i>Gamba</i> | 120h | Glucosa | 68.2 | - |
| <i>L. plantarum</i> | <i>Camarón</i> | 18h | Glucosa | 88 | 83 |
| <i>L. paracasei</i> | <i>Cangrejo</i> | 120h | Glucosa | 81 | NM |
| <i>B. licheniformis</i> | <i>Penaeus monodon</i> | 48h | Glucosa | 99 | 98.8 |
| <i>P. acidolactici</i> | <i>Camarón</i> | 24-72h | Glucosa | 97.9 | 72.5 |
| <i>B. supfillis</i> | <i>Metapenaeu s. dopsoni</i> | 380h | Sacarosa | 72 | 84 |
| <i>P. aeruginosa</i> | <i>Cangrejo</i> | 144h | Glucosa | 92 | 63 |

D_{MIN}= Porcentaje de desmineralización D_{PROT}= Porcentaje de desproteización.

Tabla 2: Principales microorganismos utilizados en la extracción de quitina por métodos microbiológicos, así como los porcentajes de desmineralización y desproteización obtenidos (Pacheco, 2010).

5.2.3. Métodos Enzimáticos

Otro de los métodos para la obtención de quitina a partir de desechos de crustáceos, es mediante el uso de proteasas, que se presenta como una alternativa a los métodos descritos anteriormente. Esta técnica no consigue una desmineralización de la muestra,

por lo que al final del proceso, necesitaríamos realizar un tratamiento con un ácido fuerte para poder eliminar los minerales de ella (Duan y cols., 2012).

Las proteasas son uno de los grupos más importantes de enzimas producidas comercialmente ya que tienen muchos usos en diferentes campos como la fotografía, la industria alimentaria, se usan como detergentes, etc. Entre las proteasas comerciales que se pueden utilizar para la extracción de quitina destacan la papaína, la tripsina, la pepsina y la alcalasa.

Utilizando este método, la proteína la recuperamos en forma de hidrolizados, que pueden ser útiles en numerosas aplicaciones, como, por ejemplo, saborizante de alimentos procesados, y también puede ser añadido a las bases de alimentos que se utilizan en la acuicultura. Además, también pueden ser fuente de péptidos biológicos activos con potenciales aplicaciones farmacéuticas, así como estimulantes de crecimiento de animales.

Aunque este método no es capaz de eliminar el 100% de proteínas, el contenido residual que pueda quedar, es eliminado fácilmente en la fase de desacetilación de la quitina para obtener el quitosano.

Hay que tener en cuenta, que este proceso es muy sensible a las condiciones de temperatura y pH, por lo que imprescindible que estas condiciones se ajusten a cada tipo de enzima para lograr el mayor rendimiento posible, y siempre hay que mantener la agitación durante todo el proceso, para lograr una desproteización homogénea.

5.3. Otros compuestos obtenidos en el proceso de extracción de quitina a partir de desechos de crustáceos

A parte de la quitina y su posterior transformación en quitosano, del proceso de extracción, podemos obtener otros productos secundarios. Dentro de estos productos, los que mayor interés presentan son los siguientes: Pigmentos (como la astaxantina y el β -caroteno entre otros), glucosamina, proteínas y minerales.

5.3.1. Pigmentos

Los pigmentos presentes en los crustáceos, responsables de su color característico, lo conforman un conjunto de compuestos de naturaleza lipídica, que son extraídos de los

desechos de los crustáceos con la ayuda de algún disolvente, como, por ejemplo, acetona, triclorometano, etanol, etc. Una vez extraídos, hay que volver a realizar distintas purificaciones para poder separar cada uno de ellos.

Entre estos pigmentos, que pertenecen a la familia de los carotenoides, destacan: la astaxantina, la cantaxantina, el astaceno, la luteína y el β -caroteno. Los carotenoides, desempeñan papeles antioxidantes en la protección del organismo frente a radicales libres, por lo que su consumo está altamente recomendado, para evitar la aparición de distintas enfermedades y el envejecimiento prematuro. A continuación, se detallan algunos de estos pigmentos.

5.3.1.1. Astaxantina

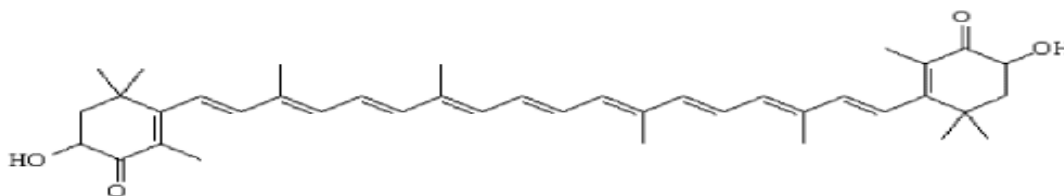


Figura 6: Astaxantina

Este carotenoide es el más común en los animales. Es el máximo responsable del color rosado de ciertos pescados como el salmón, y de los crustáceos. A veces se encuentra unido a proteínas, que enmascaran su color, pero cuando estos son cocinados y las proteínas se desnaturalizan, aparece el color característico que proporciona la astaxantina (Figura 7). Este pigmento también es utilizado por la industria cosmética como colorante natural.



Figura 7: A la izquierda un bogavante crudo y a la derecha el mismo bogavante ya cocido, donde podemos ver como la astaxantina se ha liberado del complejo de proteínas (Gajardo y cols., 2011).

5.3.1.2. Cantaxantina

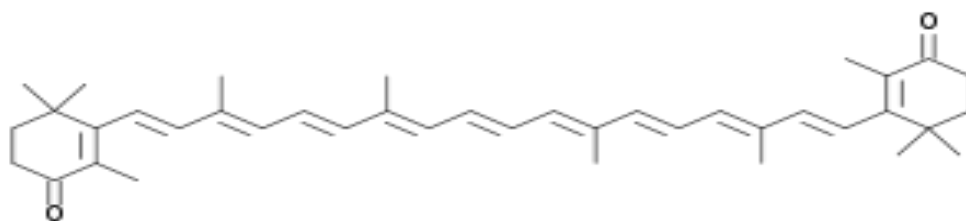
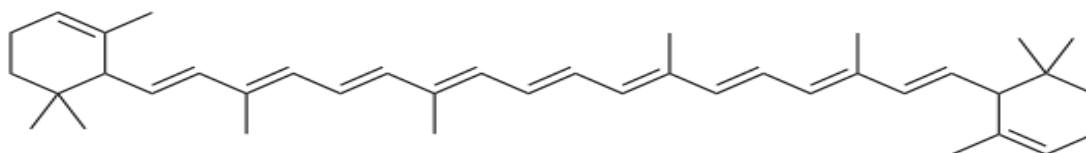


Figura 8: Cantaxantina

Aislada por primera vez de una seta, la *Cantharellus cinnabarinus*. Es un caroteno que se encuentra principalmente, asociada a otros carotenoides, como pigmentos en los crustáceos y en la carne de salmón.

Este carotenoide se utilizaba principalmente como aditivo en los piensos destinados a los salmónidos, que van a dar color a su carne y en gallinas y pollos, para dar color también a su carne y a la yema de los huevos. Otro uso que tenía este caroteno, es como bronceador químico de la piel. Actualmente no se usa, debido a que existen estudios que demuestran sus efectos nocivos.

5.3.1.3. β -CarotenoFigura 9: β -caroteno

Fue el primer carotenoide que se purificó, en 1831, en forma cristalina a partir de zanahorias. Es muy abundante en los vegetales e incluso en animales, por lo que, aunque su valor vitamínico sea solo de un 15% del valor del ácido retinoico (vitamina A), es una fuente fundamental de esta vitamina para muchas personas.

Este compuesto es muy utilizado en la industria como colorante alimentario, sobre todo en la coloración de bebidas refrescantes. Debido a su insolubilidad en agua, se utiliza en polvo extremadamente fino.

Hoy en día, este producto es obtenido por síntesis química o por cultivo de *Dunaliella salina*, un alga microscópica que prolifera en aguas con concentraciones muy elevadas de sal.

5.3.2. Proteínas

Las proteínas son obtenidas de los crustáceos en el proceso de desproteínización de los desechos. Estas proteínas dependiendo del proceso de obtención que se realice, presentan distinto valor nutricional, pero en todos ellos se obtienen proteínas de alto valor. Esto hace que puedan ser usadas como bases para la alimentación animal, como constituyente de piensos. Presentan una alta proporción de aminoácidos esenciales, destacando el ácido glutámico y el aspártico. El porcentaje de proteínas obtenido de los desechos de crustáceos, oscila entre el 30 y el 40% dependiendo de la especie utilizada.

5.3.3. Minerales

Los minerales se extraen de los desechos de los crustáceos en el proceso de desmineralización. Estos desechos presentan entre un 30 y 40% de minerales en su composición, principalmente sales de calcio, en forma de cloruro, carbonato, acetato y lactato.

Estas sales se pueden utilizar en el sector alimenticio, e incluso se pueden usar en el campo farmacéutico, ya que tienen propiedades que previenen el crecimiento de hongos y levaduras, convirtiéndolo en un conservante natural.

El lactato de calcio también se puede utilizar como suplemento alimenticio, debido a su alta absorción intestinal, para personas con déficit de calcio, ayudando a mantener las estructuras óseas del organismo y los dientes.

5.3.4. Glucosamina

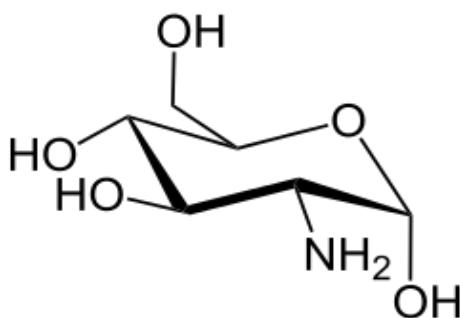


Figura 10: Glucosamina

La glucosamina es un amino-azúcar que actúa como precursor en la glicosilación de las proteínas y los lípidos. Los suplementos de glucosamina se obtienen a partir de la

quitina, y se utiliza principalmente en el campo de la medicina porque cumple funciones importantes en el cuerpo humano como, por ejemplo, participar en la desintoxicación y protección contra la inflamación del hígado, y para el tratamiento de la osteoartritis.

Aparte del uso anterior, la glucosamina también es utilizada en las industrias alimentaria, farmacéutica, textil, agrícola, cosmética, papelera y biotecnológica.

La glucosamina se obtiene a partir de la hidrólisis de la quitina, eliminándole el grupo acetilo a la molécula de N-acetil-D-glucosamina (Figura: 11).

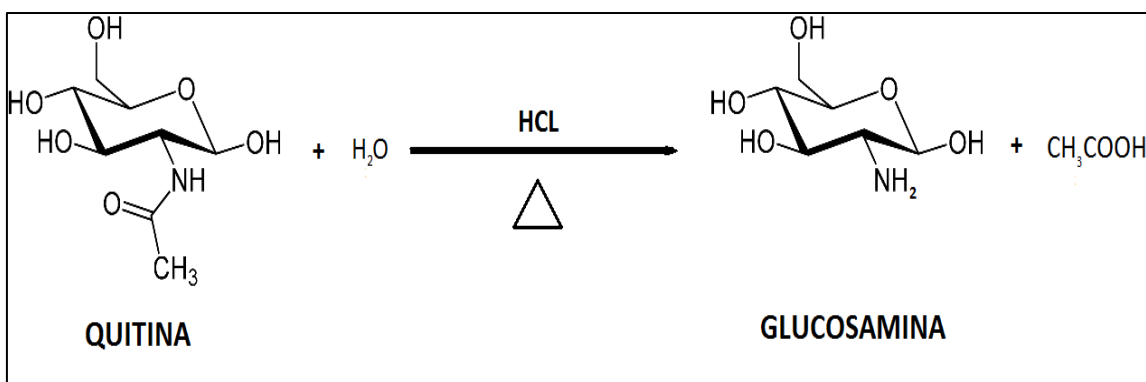


Figura 11: Hidrolisis de la quitina para obtener glucosamina.

5.4. Desacetilación de la Quitina: Obtención del Quitosano

La desacetilación de la quitina (Figura 12), se lleva a cabo normalmente por la hidrólisis de los grupos acetamida. Esta hidrólisis se produce introduciendo la quitina obtenida de los residuos de los crustáceos en un medio fuertemente alcalino y aplicando altas temperaturas. Normalmente este proceso se realiza en fase heterogénea, empleando soluciones concentradas de NaOH o KOH (entre un 30 y un 50%) y temperaturas superiores a 100°C, en una atmósfera preferiblemente inerte o en presencia de sustancias reductoras, como por ejemplo NaBH₄ o Na₂SO₃, para así evitar que se produzca la despolimerización del compuesto (Colina y cols., 2014). Las condiciones de la reacción dependerán de diferentes factores, como por ejemplo el material de partida o el grado de desacetilación que deseemos obtener. Sin embargo, con un solo tratamiento en medio alcalino, la desacetilación máxima que se puede alcanzar es menor del 75-85%. El aumentar el tiempo de la reacción, se corre el riesgo de que se produzca la degradación del polímero (Argúelles y cols., 1993).

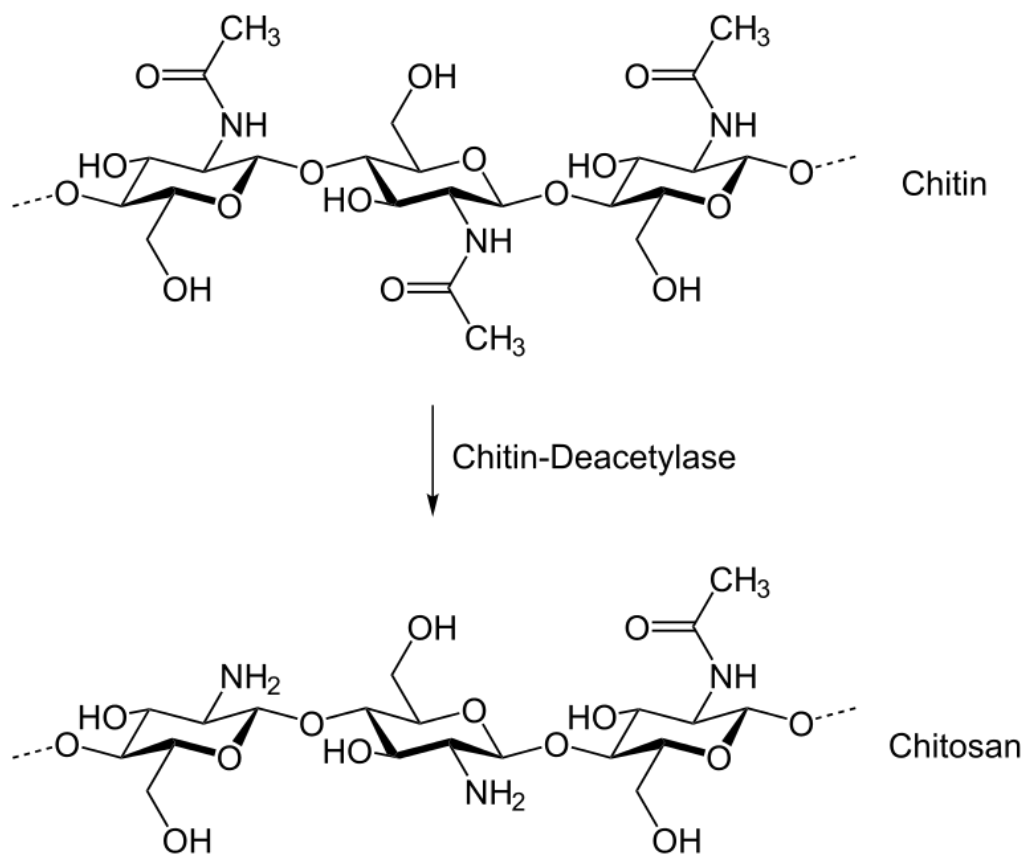


Figura 12: Esquema de la desacetilación de la quitina.

La quitina es un polímero semicristalino, de manera que cuando se realiza la desacetilación en fase heterogénea, la reacción tiene lugar principalmente sobre las regiones amorfas del polímero. Sin embargo, la reacción en condiciones homogéneas, permiten que se produzca la desacetilación de forma más uniforme. Ésta reacción se lleva a cabo sobre *álcali quitina*, en vez de quitina tal y como hemos obtenido de los crustáceos. Ésta *álcali quitina* se obtiene aplicándole tratamientos de congelación-descongelación a una solución alcalina de quitina, hasta conseguir una solución acuosa de quitina en hidróxido de sodio. Con este tratamiento se consigue que la quitina se disuelva por completo, ya que presenta mucha dificultad para solubilizarse. Las condiciones de este tipo de desacetilación son entre 25-40°C por tiempos de 12 a 24 horas en una concentración de álcali de alrededor el 30% (Nieto y cols., 1992).

Algunos estudios demuestran que mientras el quitosano obtenido por el proceso heterogéneo presenta polidispersidad en cuanto al grado de desacetilación de las

cadena, las obtenidas por la vía homogénea tienen todas la misma composición (Peniche y cols., 1993).

La N-desacetilación de la quitina, también puede llevarse a cabo mediante un método alternativo a través de la acción de enzimas. Este procedimiento presenta la ventaja respecto al método químico anterior de obtener el quitosano con propiedades físicas y químicas uniformes, lo que le confiere características imprescindibles para sus posteriores aplicaciones en algunos campos, tales como la biomedicina. Las enzimas involucradas en este proceso son las quitinas desacetilasas, clasificadas por la Comisión de Enzima (EC) como hidrolasas 3.5.1.4, y que tienen la función de catalizar la conversión de quitina en quitosano mediante la desacetilación de los residuos N-Acetil-D-glucosamina (Castañeda y cols., 2011).

Sin embargo, este método no presenta la misma eficiencia que los métodos químicos, aun siendo la actividad de la enzima alta sólo se consigue una desacetilación de aproximadamente el 50%, por la alta cristalinidad del sustrato natural. Debido a esta cristalinidad, solo los grupos acetilo externos de la quitina son accesibles a la enzima y por lo tanto modificados, de ahí que el grado de desacetilación no sea muy alto.

Una de las soluciones que están siendo estudiadas para aumentar el éxito de este método, es intentar disminuir la cristalinidad de la quitina, haciéndola más accesible a la enzima, a través de un pretratamiento. Por ejemplo, se ha probado el calentamiento y tratamiento con ultrasonido, pero no han logrado mejorar el grado de desacetilación. Otro de los pretratamientos estudiados, ha sido el de *la explosión de vapor limitado*, que consiste en un calentamiento hasta los 120°C de la quitina a alta presión, seguida de una liberación brusca y repentina de la presión, y también el pretratamiento químico con ácidos fuertes (Hernández y cols., 2008).

5.5. Aplicaciones de la quitina y sus derivados

5.5.1. Aplicaciones alimentarias

La quitina y sus derivados presentan una amplia gama de propiedades biológicas, entre los que destacan los efectos antioxidantes y antimicrobianos, así como otras muchas

propiedades que pueden ser utilizadas en la industria alimentaria para mejorar la calidad de sus productos, el tiempo de conservación, o incluso la seguridad alimentaria de los alimentos (Hamed y cols., 2016).

5.5.1.1. Actividad antioxidante

Las especies reactivas de oxígeno, tales como el H_2O_2 , los radicales hidroxilo y superóxido, conducen a un estrés oxidativo celular que está relacionado con diversas patologías, como el cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares, envejecimiento prematuro, la artritis reumatoide o la inflamación. Según diversos estudios, se ha demostrado que la quitina se encuentra dentro de los compuestos denominados antioxidantes, comparando su efectividad a la de otros compuestos bien conocidos como las vitaminas C y E (Park y cols., 2014). Por lo tanto, el uso de la quitina como ingrediente en la producción de alimentos sería efectivo para la prevención de enfermedades relacionadas con la edad y para evitar el estrés oxidativo.

5.5.1.2. Conservante de alimentos

En la industria alimentaria se puede usar como conservante el quitosano, ya que presenta actividad antimicrobiana y protege a los alimentos de su deterioro. Su actividad está relacionada con las cargas positivas que presenta este compuesto, que interactúan con las cargas negativas de la pared celular bacteriana impidiendo el intercambio de sustancias entre las bacterias y el medio, provocando su muerte (koushab y cols., 2010). El uso de quitosano en la conservación de alimentos, al inhibir la proliferación de microorganismos, evita la descomposición rápida del mismo y por tanto la aparición de olores y sabores no adecuados, manteniendo una buena apariencia durante más tiempo.

5.5.1.3. Recubrimiento de alimentos

Gracias a sus propiedades antimicrobianas, el quitosano también se utiliza para el recubrimiento activo de alimentos. La técnica consiste en recubrir alimentos con una biopelícula de quitosano comestible, que permite el almacenamiento a largo plazo, previniendo el ataque de microorganismos. Se ha demostrado que el uso de estas biopelículas en alimentos como verduras, frutas, granos de cereales e incluso el pescado, retardan la invasión microbiana ayudando a mantener la calidad sensorial y nutricional

de los alimentos (Sinha y cols., 2014). En otras ocasiones, estas biopelículas de quitosano también pueden contener otros compuestos como, por ejemplo, proteínas, antibióticos, fungicidas, ácidos orgánicos, etc., que tienen también como finalidad el aumentar el periodo de conservación de los alimentos tratados con quitosano.

5.5.1.4. Fibras dietéticas

El quitosano y los quito-oligosacáridos se pueden utilizar como fuente de fibra dietética (Xia y cols., 2011), ya que se consideran como alimentos funcionales debido a su no digestibilidad por las enzimas intestinales, lo que le permite su uso como prebióticos, que estimulan a las bacterias de la microbiota gastrointestinal.

5.5.1.5. Bebidas y Vinos

El quitosano se utiliza como material absorbente de intercambio de iones, para clarificación de zumos ultrafiltrados, y también se utiliza para evitar las coloraciones no deseadas producidas por la oxidación de compuestos propios de los zumos.

El cuanto a la producción de vino blanco, el quitosano es utilizado para la eliminación de compuestos fenólicos, tales como catequinas, flavinas, etc., responsables de las alteraciones de bronceado y la maderización, siendo fundamental esta eliminación para la estabilización del vino.

5.5.2. Aplicaciones farmacéuticas

5.5.2.1. Aplicación como excipiente

La quitina, el quitosano y sus derivados, debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad, se consideran polímeros de gran valor para encapsular activos farmacéuticos, protegerlos de la degradación o incluso para permitir su liberación prolongada durante un periodo de tiempo largo (Dash y cols., 2011).

El quitosano tiene varias aplicaciones en la industria farmacéutica como excipiente. Uno de ellos es su uso como promotor para la absorción de fármacos, debido a que produce un efecto positivo sobre la liberación de fármacos a través de los epitelios, gracias a su propiedad mucoadhesiva y a la capacidad para abrir las uniones estrechas entre las células epiteliales, facilitando el transporte de las moléculas de fármaco a través del

epitelio (Issa y cols., 2005). Otro de los usos del quitosano en esta industria, es como agente floculante para clarificar soluciones.

En cuanto a la quitina, es utilizada de forma microcristalina (Figura 13) como diluyente en la formulación de comprimidos, teniendo unas propiedades similares a las de la celulosa, aparte de ser también un buen desintegrante (Daraghmeh y cols., 2011).



Figura 13: Quitina microcristalina

5.5.2.2. Aplicación como principio activo

5.5.2.2.1. Absorbente de grasa y agente reductor de colesterol

El quitosano impide que la grasa procedente de la ingesta de alimentos y los ácidos biliares sean absorbidos, por lo que facilita su eliminación. Además, disminuye el colesterol LDL y los triglicéridos, y aumenta el colesterol HDL (Hayes, 2011).

5.5.2.2.2. Capacidad analgésica

Algunos estudios han relevado que la aplicación de preparados con quitina y quitosano en su composición causan un alivio significativo del dolor en pacientes que presentan heridas abiertas, como quemaduras, úlceras, zonas de injerto de piel, etc. Según estudios realizados en animales, parece ser que el efecto analgésico producido por el quitosano es debido a la absorción de protones liberados en el lugar de la inflamación por sus grupos amino, mientras que el efecto analgésico producido por la quitina es debido a la absorción de bradiquinina, péptido fisiológico relacionado con el mecanismo del dolor (Okamoto y cols., 2002).

5.5.3. Aplicaciones en Medicina

La quitina y el quitosano en diferentes formas (hidrogeles, membranas, nanofibras, perlas, nanopartículas, etc.) se utilizan en distintas aplicaciones tales como la curación de heridas, ingeniería de tejidos, lentes de contacto etc. Una de las aplicaciones que se llevan a cabo con éxito, es el uso de estos compuestos para la regeneración de tejidos dañados, como por ejemplo huesos, cartílagos, nervios.

La cicatrización de heridas es otra de las aplicaciones que tiene la quitina y sus derivados, ya que, al tener efecto antimicrobiano, impide la colonización de la misma y que esta tarde más en cicatrizar o que la cicatrización no sea uniforme. En estos casos lo que se aplica es un apósito fabricado con el propio derivado de la quitina (en este caso el quitosano), que actúa como una matriz artificial de la piel, promoviendo la rápida regeneración dérmica. Esto es muy efectivo en pacientes con quemaduras. Una vez el quitosano ha ejercido su función, es degradado por enzimas endógenas, y gracias a esto, evitamos el inconveniente de que cuando los apósitos convencionales son retirados, se arrastra con ellos la piel regenerada.

La quitina y sus derivados poseen propiedades muy interesantes, como biocompatibilidad inmunológica, claridad óptica, transparencia, permeabilidad gaseosa, capacidad de humectación, estabilidad mecánica, y flexibilidad, que hacen que sean compuestos totalmente indicados para la fabricación de lentes de contacto (Thomas y cols., 2013). Además, debido a que el quitosano presenta funciones reparadoras y antimicrobianas, lo hacen aún más útil para la fabricación de lentes de contacto para pacientes con lesiones oculares.

También se ha estudiado con éxito el uso de estos compuestos en hilos de sutura quirúrgica, prótesis dentales, distintos tipos de vendajes, membranas de hemodiálisis y transporte de agentes anticancerígenos (Larez, 2003).

5.5.4. Aplicaciones cosméticas y dermatológicas

La quitina utiliza como soporte activo de muchos productos cosméticos, proporcionando a éstos mayor capacidad de penetración a través de las capas epiteliales. Otro de sus usos, es como potenciador de la actividad de los antioxidantes, lo que lo hace útil para prevenir los efectos nocivos de la exposición al sol.

Lo que más se utiliza en el apartado cosmético como soporte activo de distintos compuestos, son las nanofibrillas de quitina, ya que presentan una cadena principal similar al ácido hialurónico (Figura 14), lo que significa que después de su función, son fácilmente metabolizables por enzimas endógenas (Morganti, 2009).

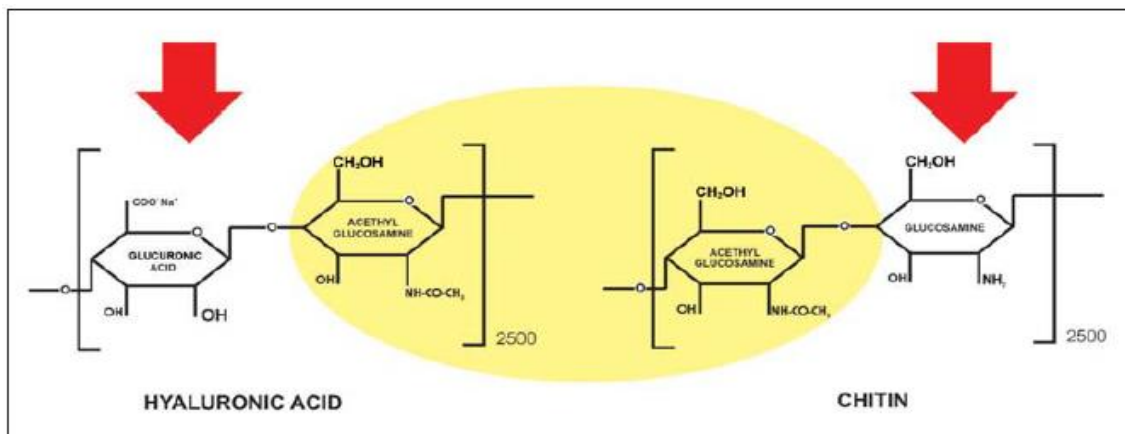


Figura 14: Comparación entre las moléculas de quitina y ácido hialurónico.

Los compuestos derivados de la quitina también se pueden añadir a productos cosméticos, como agentes hidratantes, emulsificantes, emolientes, espesantes, formadores de películas.

5.5.5. Aplicaciones en la industria textil

Debido a su solubilidad en agua y su bioadhesividad, junto con su biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja toxicidad y actividad antimicrobiana, el quitosano se usa en la industria textil como antimicrobiano (Mourya y cols., 2010). Esto impide el crecimiento de bacterias y hongos en prendas textiles, para evitar que éstas pierdan resistencia mecánica y adquieran olores desagradables, que no solo pueden aparecer en la prenda, sino que puede pasar al portador.

Debido a su capacidad antialérgica, y gracias a la capacidad antimicrobiana descrita anteriormente, estos compuestos también son usados para la fabricación de prendas textiles para individuos con piel sensible, como ocurre con ancianos y bebés.

Otro de los usos dentro de la industria textil, es su uso como floculante y agente quelante para la eliminación de compuestos (colorantes, disolventes, etc.) y metales pesados de los residuos acuosos producidos por estas industrias.

5.5.6. Aplicaciones en el campo de la Agricultura

Normalmente, los plaguicidas químicos utilizados para combatir las plagas de los cultivos, son altamente tóxicos, además de que son propensos a producir resistencias. Por ello, debido a las propiedades protectoras que proporciona la quitina, el quitosano y sus derivados a las plantas, estos compuestos son cada vez más utilizados por los agricultores para la protección de sus cultivos frente a hongos, virus, enfermedades bacterianas y nematodos (Ramírez y cols., 2010).

En particular, el quitosano se utiliza como agente para recubrir las semillas, con la finalidad de controlar las plagas y de mejorar la defensa de la planta contra microorganismos.

5.6. Importancia económica

A nivel mundial, se generan anualmente entre 6 y 8 millones de toneladas de residuos procedentes de la industria marisquera, de los cuales aproximadamente 1,5 millones de toneladas proceden de los países del sureste asiático. En los países desarrollados, estos residuos son destinados a vertederos o directamente al mar, lo cual puede resultar costoso, como por ejemplo en Australia, que esto tiene un coste de unos 150\$ por tonelada. Si estos residuos en vez de ser desechados, fueran vendidos a industrias que los utilicen como materia prima, podrían alcanzar un valor de unos 100-120\$ por tonelada.

Como ya se ha comentado, dentro de los productos que se pueden obtener de estos residuos, encontramos las proteínas, que presentan una buena calidad ya que contienen todos los aminoácidos esenciales e incluso su valor nutritivo es bastante bueno, comparable al de la harina de soja. El problema que se nos presenta con las proteínas es que los métodos más utilizados para la extracción de quitina, principal uso de los desechos de los crustáceos, las destruyen o su recuperación es demasiado costosa. Por ello, están surgiendo nuevas técnicas de extracción, ya explicadas anteriormente, como la fermentación láctica, que si facilita la recuperación de esta proteína con mayor facilidad y calidad. Esto es un gran beneficio, ya que, por ejemplo, solo con poder recuperar las proteínas procedentes de los residuos correspondientes al sudeste

asiático, para la alimentación animal, se llegaría a un valor de mercado de más de 100 millones de dólares anuales.

Otro de los productos que se obtienen de estos residuos, son los minerales, y entre ellos el carbonato cálcico, que como ya hemos visto, tiene numerosas aplicaciones. En la actualidad, la mayor parte del carbonato de calcio se obtiene de fuentes geológicas, como por ejemplo la caliza. Estas fuentes son muy abundantes, pero presentan el problema de que pueden contener metales pesados. Por ello, el carbonato de calcio obtenido de los residuos de los crustáceos, está más indicado para el uso humano, por ejemplo, en la industria farmacéutica. El precio que tiene el carbonato de calcio en el mercado es de unos 60-66\$ por tonelada en partícula gruesa (usado en construcción, tratamientos de suelo, etc.), mientras que en partículas ultrafinas, puede llegar a valer hasta 14.000\$ la tonelada. Haciendo los cálculos según el porcentaje de este compuesto que presentan los residuos de los crustáceos, procedentes solo del sudeste asiático, podríamos decir que el valor de mercado ascendería hasta aproximadamente 45 millones de dólares anuales, en partículas gruesas.

En cuanto a la quitina y sus derivados, conociendo las diferentes aplicaciones que pueden tener, su valor potencial en el mercado es muchísimo mayor que el de los anteriores compuestos. Además, el presentar nitrógeno en su estructura, hace que su valor aun sea más alto. Para la producción de nitrógeno a nivel industrial, se necesita una gran cantidad de combustibles fósiles y un alto consumo de energía. Debido a esto, existen en la actualidad estudios para obtener nitrógeno y productos nitrogenados a partir de la quitina obtenido de los desechos de los crustáceos, lo que haría más sostenible su producción. Uno de estos compuestos es la etanolamina (ETA), que tiene un gran mercado a nivel mundial (alrededor de 2 millones de toneladas anuales). La quitina puede ser un buen producto de partida para la obtención de ETA, ya que dispone en su estructura de carbono, nitrógeno y oxígeno, y solo se necesitaría un paso para obtenerlo, en vez de seis pasos que conlleva su síntesis química, pero esto hasta ahora solo se ha conseguido a pequeña escala en el laboratorio (Chen y cols., 2014).

Teniendo en cuenta todos los usos que puede tener la quitina, si es de buena calidad, puede llegar a valer unos 200\$ el kilo. El inconveniente del mercado de la quitina, es que aún no está muy extendido su uso, se estima que su consumo mundial es de unas 10.000

toneladas al año. Esto hace que todavía existan pocas plantas que se dediquen a la extracción de quitina a partir de desechos de crustáceos.

6. Conclusiones

La principal conclusión que puede sacar de esta revisión es que, a pesar de ser un tema novedoso, del cual no se conoce mucho en Europa, es un tema bastante importante y que, aunque ahora no haya muchas empresas que lleven a cabo el proceso de la utilización de estos residuos, en un futuro cercano estas técnicas conseguirán desarrollarse para hacer de esto un negocio con bastantes expectativas positivas.

Conseguir esto, nos llevaría a solucionar la problemática de la contaminación medioambiental que producen estos desechos, y además, con el beneficio de que los productos obtenidos son completamente aprovechables.

En la actualidad, las técnicas que existen para llevar a cabo la extracción de la quitina, no son todas lo suficientemente efectivas y sostenibles, ya que por ejemplo la obtención por el método químico, genera residuos que no son fácilmente eliminables. Sin embargo, las técnicas biológicas de extracción, como la fermentación láctica, tienen un futuro más prometedor.

7. Bibliografía

- Argüelles M, Gárciga C, Peniche W. Study of the stoichiometric polyelectrolyte complex between chitosan and carboxymethyl cellulose. *Polymer Bull.* 1990; 23: 307.
- Argüelles W, Peniche C. Preparation and characterization of a mercaptan derivative of chitosan for the removal of mercury from brines. *Macromolecular: Materials and Engineering.* 1993; 20(1): 1-8.
- Castañeda C, De la Fuente N, Pacheco R, Ortiz T, Barboza J. Potencial de los quitoooligosacáridos generados de quitina y quitosano. *Acta Universitaria de la Universidad de Guanajuato.* 2011; 21(3): 14-23.

- Chen X, Yan N. Novel Catalytic Systems to Convert Chitin and Lignin into Valuable Chemicals. *Catalysis Surveys From Asia*. 2014; 18(4): 164-176.
- Cira LA, Huerta S, Shirai K. Fermentación de las Cabezas de Camarón en un Reactor de Fermentación Sólida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 2002; 1: 45-48.
- Colina M, Ayala A, Rincón D, Molina J, Medina J, Yunciarte R. Evaluación de los procesos para la obtención química de Quitina y Quitosano a partir de productos de desechos de cangrejos, escala piloto e industrial. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2014; 15(1): 21-43.
- Daraghmeh N, Chowdhry B, Leharne S, Al Omari M, Badwan A. Chapter 2: Chitin. *Profiles of Drug Substances Excipients and Related Methodology*. 2011: 36-102.
- Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E. Chitosan: A versatile semi-synthetic Polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*. 2011; 36: 981-1014.
- Duan S, Li L, Zhuang Z, Wu W, Hong S, Zhou J. Improved production of chitin from shrimp waste by fermentation with epiphytic lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*. 2012; 89: 1283-1288.
- Escobar DM, Ossa CP, Quintana MA, Ospina WA. Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos. *Scientia y Technia*, Año 2014; 18(1): 260-266.
- Escorcía D, Hernández D, Sánchez M, Benavente M. Diseño y Montaje de una planta piloto para la extracción de Quitina y Proteínas. *Revista Científica Nexo*. 2009; 22(2): 44-55.
- Expósito R. Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas; 2010.

- Gajardo S, Benites J, López J, Burgos N, Caro C, Rojas M. Astaxantina: antioxidante de origen natural con variadas aplicaciones en cosmética. *BIOFARBO*. 2011; 19(2): 6-12.
- Goycoolea F, Agullo E, Mato R. Fuentes y Procesos en: Quitina y Quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 2004; 3: 109-130.
- Hamed I, Ozogul F, Regenstein JM. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2006; 48: 40-50.
- Hayes M. Chitin, Chitosan and their Derivatives from Marine Rest Raw Materials: Potential: Food and Pharmaceutical Applications. *Marine Bioactive Compounds: Chapter 4*. 2011; 108-128.
- Hernández CM, Varo WE, Leyva N, Ramírez CA, Andrade J. Utilización de residuos de cáscara de camarón para la obtención de quitina blanqueada: propuesta de una metodología en base de tratamientos alcalino-base y ozono. *Avances de la Investigación Científica en CUBCA, Universidad de Guadalajara*. 2008; 659-666.
- Issa M, Köping-Höggard M, Artursson P. Chitosan and the mucosal delivery of biotechnology drugs. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2005; 2(1): 1-6.
- Kaur S, Dhillon GS. Recent trends in biological extraction of chitin from marine Shell wastes: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2015; 35(1); 44-61.
- Kehong J, Press X. Don't waste seafood waste. *Nature*. 2015; 524: 155-157.
- Koushab F, Yamabhai M. Chitin Research Revisited. *Marine Drugs*. 2010; 8: 1988-2012.
- Larez C. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de Polimeros*. 2003; 4(2): 91-109.
- Marcia E, Malespín J, Sánchez M, Benavente M. Estudio de la fermentación láctica para la extracción de quitina a partir de desechos de crustáceos. *Revista Científica Nexo*. 2011; 24(1): 33-42.

- Matienzo L, Winnacker S. Dry Processes for Surface Modification of a Biopolymer: Chitosan. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2002; 287: 871-880.
- Morganti P. Chitin Nanofibrils in Skin Treatment. *Journal of Applied Cosmetology*. 2009; 27: 251-270.
- Mourya V, Inamdar N, Tiwarib A. Carboxymethyl chitosan and its application. *Advanced Materials letters*. 2010; 1(1): 11-33.
- Neith Pacheco López. Extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosano: caracterización y aplicación. *Food and Nutrition*. Université Claude Bernard, Lyon; Universidad Autónoma Metropolitana, 2010.
- Nieto JM, Peniche C, Del Bosque J. Preparation and characterization of a chitosan-Fe(III) complex. *Carbohydrate Polymers*. 1992; 18(3): 221-224.
- Nieto JM, Peniche C, Padrón G. Characterization of chitosan by pyrolysis-mass spectrometry, thermal analysis and differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta*. 1991; 176: 63.
- No HK, Hur EY. Control of foam formation by antifoam during mineralization of crustacean Shell in preparation of chitin. *J Agric Food Chem*. 1998; 46: 3844-3846.
- Okamoto Y, Kawakami K, Miyatake K, Morimoto M, Shigemasa Y, Minami S. Analgesic Effects of Chitin and Chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 2002; 49: 249-252.
- Park HJ, Byun Y, Kin Y, Whiteside W, Bae H. Processes and Application for Edible Coating and Film Materials from Agropolymers. *Innovations in Food Packaging (Second Edition)*. 2014; 257-275.
- Peniche C, Argüelles W, San Román J. A kinetic study of thermal degradation of chitosan and mercaptan derivative of chitosan. *Polymer Degradation and Stability*. 1993; 39: 21-28.

- Percot A, Viton C, Domard A. Characteriation of shrimp Shell deproteinization. *Biomacromolecules*. 2003; 4: 1380-1385.
- Ramírez MA, Rodríguez A, Alfonso L, Peniche C. Chitin and its derivates as biopolymers with potential agricultural applications. *Biotecnologia Aplicada*. 2010; 27: 270-276.
- Sánchez A, Sibaja M, Vega-Baudrit J, Madrigal S. Síntesis y Caracterización de Hidrogeles de Quitosano Obtenido a partir del Camarón Langostino (*Pleuroncodes planipes*) con Potenciales Aplicaciones Biomedicas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2007; 8(4): 241-267.
- Sinha S, Chand S, Tripathi P. Microbial degradation of chitin waste for production of chitosanase and Food related bioactive compounds. *Prikl Biokhim Mikrobiol*. 2014; 50(2): 147-155.
- Thomas D, Thomas S. Chemical Modification of Chitosan and Its Biomedical Application. *Biopolymer Nanocomposites: Chapter 3*. 2013; 33-51.
- Tomihata K, Ikada Y. In vitro and in vivo degradation of films of chitin and its deacetylated devivatives. *Biomaterials*. 1997; 18: 567-575.
- Vongchan P, Sajmsang W, Subyen D, Kongtawelert P. Anticugulant activities of the chitosan polysulfate synthesized from marine crab by semi-heterogeneous conditions. *Sciense Asia*. 2003; 29: 115-120.
- Xia W, Liu P, Zhang J, Chen J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. *Food Hydrocolloids*. 2011; 25: 170-179.
- Yamaguchi I, Itoh S, Suzuki M, Sakane M, Osaka A. The chitosam prepared from crab tendon characterization and mechanical properties. *Biomaterials*. 2003; 24: 2031-2036.
- Zubiria J, De las Salas A. Análisis de los métodos para extracción de quitina de los residuos de camarón según parámetros económicos y ambientales. *Revista Ciencia e Ingeniería*. 2014; 1(2).

SOSTENIBILIDAD: OBTENCIÓN DE QUITINA A PARTIR DE PRODUCTOS DE DESECHO

El consumo de crustáceos genera unos desechos que son considerados como contaminantes y que están constituidos por sus vísceras y su exoesqueleto. El uso de los desechos por parte de las industrias, consigue que se controle dicha contaminación ambiental. Estos desechos se aprovechan para la obtención de la quitina, un biopolímero de gran importancia, y a partir de ella, su principal derivado, el quitosano.



Ignacio M^a Polo Galindo