

## Hidrólisis ácida de la quitina extraída de harina de cabezas de langosta precocida

### *Acid hydrolysis of chitin extracted from flour of precooked lobster heads*

YILMA M. ESTRADA-HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, CARIDAD CURBELO-HERNÁNDEZ<sup>2</sup>, RAQUEL SILVEIRA-COFFIGNY<sup>1</sup>,  
OXALIS RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ<sup>1</sup>, LILIAN CASTILLO-LÓPEZ<sup>1</sup> Y YENISET FUMERO-ACOSTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Pesqueras. Calle 246 entre 5ta. Avenida y Mar, Reparto Barlovento, Municipio Playa, CP 19100, La Habana, Cuba, E-mail: yilma@cip.alinet.cu

<sup>2</sup>Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría. Calle 114 No. 11901 e/ Ciclovía y Rotonda, Marianao, CP 19390, La Habana, Cuba.

#### RESUMEN ABSTRACT

El exoesqueleto de cabeza de langosta precocida constituye un recurso pesquero con amplias potencialidades para la obtención de aditivos alimentarios. En Cuba a este residuo no se le da ningún uso. Como una alternativa de aprovechamiento se propone la obtención del clorhidrato de glucosamina por hidrólisis ácida de la quitina derivada del exoesqueleto de cabeza de langosta precocida a escala de laboratorio. Se efectuó el acondicionamiento de la materia prima mediante la limpieza manual, lavado, secado, trituración y molienda. Se procedió a la obtención de quitina, siguiendo el protocolo de desproteinización, blanqueo y desmineralización. Para la obtención de glucosamina se estudiaron como factores la concentración de ácido clorhídrico (3; 4 mol/L) y el tiempo de reacción: 75 y 90 min, y como variable respuesta el rendimiento. Se realizó el procesamiento estadístico mediante el programa STATGRAPHIC Centurión 15. El rendimiento de obtención de quitina fue de 85,66 % ± 1,53 y para la glucosamina de 85,52 % ± 2,92. Los mayores rendimientos de glucosamina se obtuvieron con una concentración de 4 mol/L y un tiempo de reacción de 90 min. Se comprobó la presencia de glucosamina en todas las corridas realizadas mediante el cambio de coloración del reactivo de Fehling. La transformación de este residuo contribuye al cuidado del medio ambiente, por su reutilización y la posibilidad de obtener un producto de valor agregado.

Palabras clave: cabezas de langostas precocidas, exoesqueleto, glucosamina, hidrólisis ácida, quitina.

The precooked lobster head exoskeleton is a fishery resource with great potential for obtaining food additives. In Cuba this residue is not given any use. As an alternative use, it is proposed to obtain glucosamine hydrochloride by acid hydrolysis of chitin derived from the exoskeleton of precooked lobster heads on a laboratory scale. The conditioning of the raw material was carried out by means of manual cleaning, washing, drying, crushing and grinding. Chitin was obtained, following the deproteinization, bleaching and demineralization protocol. To obtain glucosamine, the concentration of hydrochloric acid (3; 4 mol/L) and the reaction time: 75 and 90 min were studied as factors, and the yield as a response variable. Statistical processing was performed using the STATGRAPHIC Centurión 15 program. The yield for obtaining chitin was 85,66 ± 1,53 and for glucosamine, 85,52 % ± 2,92. The highest yields of glucosamine were obtained with a concentration of 4 mol/L and a reaction time of 90 min. The presence of glucosamine was verified in all the runs carried out by changing the color of Fehling's reagent. The transformation of this waste contributes to caring for the environment, due to its reuse and the possibility of obtaining a value-added product.

Keywords: precooked lobster heads, exoskeleton, glucosamine, acid hydrolysis, chitin.

## INTRODUCCIÓN

Los problemas ambientales de la sociedad se han ido incrementando a medida que los países avanzan en su desarrollo y en el implemento de nuevas tecnologías. Cada día surgen nuevas industrias que solo se preocupan en generar productos para el consumo humano, dejando a un lado la protección del hábitat (Martin, 2001).

Una de las actividades socioeconómicas que se lleva a cabo en Cuba es la industria pesquera y dentro de esta se encuentra la industria langostera; la cual expulsa al medio ambiente gran cantidad de desperdicios orgánicos que constituyen contaminantes. Cada langosta representa un 85,8 % de desechos y 14,2 % de producto comestible (Trujillo, 2001).

La langosta común del Caribe (*Panulirus argus*) es una especie de crustáceo decápodo. Se distribuye desde Brasil a través del Caribe y el Golfo de México hasta Islas Bermudas y las costas de Carolina del Norte (Holthius, 1991).

En Cuba esta especie se distribuye a todo lo largo de la plataforma del archipiélago y es el principal recurso pesquero del país. En el golfo de Batabanó en el período 2014-2018 constituyó el 83 % de la captura total nacional (Subdirección de Pesquerías, 2020).

Teniendo en cuenta que la quitina se extrae de los exoesqueletos de los crustáceos, considerar la obtención de la glucosamina utilizando como materia prima los desechos de langosta, constituye una alternativa que genera beneficios económicos y disminuye el impacto ambiental de la industria pesquera (Lárez, 2006).

La glucosamina se obtiene a partir de la quitina mediante hidrólisis ácida y se utiliza principalmente en la rama de la medicina para las personas que padecen problemas en las articulaciones, debido a que cumple funciones importantes en el cuerpo humano (Ramos, 2017). También es utilizada en la industria alimentaria, como por ejemplo, en la elaboración de galletas de mantequilla tipo pastisetas. La adición de glucosamina a estas galletas interfiere positivamente en los atributos de calidad mecánica, color y sensorial (Ramos, 2017).

El objetivo del presente trabajo fue realizar la hidrólisis ácida de la quitina para la obtención de clorhidrato de glucosamina a escala de laboratorio, a partir de cabezas de langostas precocidas provenientes de la Empresa Pesquera Industrial Mayabeque.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se desarrolló en los laboratorios del Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP) y la facultad de Ingeniería Química de la Universidad Tecnológica de La Habana (Cujae). Las cabezas de langostas precocidas correspondien-

tes al proceso de descole de langosta, fueron trasladadas en un camión refrigerado desde la Unidad Empresarial de Base Pesquera Industrial Mayabeque (EPIMAY) ubicada en el municipio de Batabanó. Las cabezas de langostas se mantuvieron congeladas hasta su utilización.

## Preprocesamiento de la materia prima

Para obtener la harina de cabeza de langostas precocidas (HCLP) se realizó la selección en cuanto a la frescura de la materia prima, la limpieza manual, el lavado y el secado en una estufa a una temperatura de 50 °C por un tiempo de 5 h. Posteriormente se realizó la trituración de forma manual y la molienda en una batidora, seguido de la operación de tamizado donde se obtuvo un tamaño de partícula de 0,063 mm, un almacenamiento en bolsas plásticas en local seco, fresco y separadas del suelo hasta su utilización.

## Obtención de quitina

Para la obtención de quitina se realizaron dos corridas experimentales a partir de la HCLP. Se tomó como referencia la metodología descrita por Mackiff (2016), donde se efectuaron las siguientes etapas:

1. Desproteínización: Se realizó con el propósito de retirar la mayor cantidad de proteína existente. Con ayuda de una balanza se pesaron 100 g de HCLP en un vaso de precipitación de 500 mL y se le agregó una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) al 3 % en una relación 1:3, a una temperatura de 80 °C en un baño termostático por un tiempo de 2 h con agitación constante. Al cabo del tiempo previsto se filtró la solución con la ayuda de una bomba de vacío, utilizando un papel de filtro de tamaño de membrana de 90 mm.
2. Blanqueo: A la pasta obtenida en la desproteínización se le añadió una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 2,5 % por un período de 15 min, en una relación 1:3, a temperatura ambiente y agitación constante. Posteriormente, la solución fue filtrada con la ayuda de una bomba de vacío. Este proceso se repitió de 2 o 3 veces hasta que la pasta se decoloró lo suficiente.
3. Desmineralización: Luego de obtener la pasta decolorada, se añadió una solución de ácido clorhídrico (HCl) 1 mol/L en una relación 1:3 con agitación constante, a temperatura ambiente por 1 h. Posteriormente, la solución fue filtrada con la ayuda de una bomba de vacío, y la fase sólida obtenida fue secada en una estufa a 60 °C por 3 h.

En cada una de las etapas descritas anteriormente después de la filtración se realizó el lavado de la torta sólida con agua destilada, para eliminar el resto de los reactivos

químicos utilizados. Además, fue pesada la torta sólida obtenida para determinar el rendimiento.

### Obtención de glucosamina

Se realizaron ocho corridas empleando 10 g de quitina en cada una para un total de 80 g. El procedimiento que se empleó para la obtención de glucosamina fue el descrito en la patente US 6486307 "Preparación de clorhidrato de glucosamina" (Gandhi, 2002). Las etapas del procedimiento se enumeran a continuación:

1. Precalentamiento del ácido clorhídrico con una concentración de 3 y 4 mol/L en un Erlenmeyer de 100 mL hasta una temperatura aproximada de 65 °C.
2. Hidrólisis ácida de la quitina: En el Erlenmeyer de 100 mL con el HCl previamente calentado se adicionaron lenta-

mente 10 g de quitina y se continuó el calentamiento hasta llegar a 95 °C; a partir de este momento se comienza a cuantificar el tiempo de reacción, la relación sólido/líquido fue de 1:3; este proceso se realizó en un sistema a reflujo durante un tiempo de 75 y 90 min.

3. Filtración: Esta operación se realizó con la ayuda de una bomba de vacío, utilizando un papel de filtro de tamaño de membrana de 90 mm. Se lavó dos veces con el filtrado y se descartó el hidrolizado.
4. Secado y envasado: El producto obtenido se colocó en una estufa a 50 °C durante 4 h, y de esta forma se obtuvo el clorhidrato de glucosamina como producto final, que fue almacenado en cornis plásticos de 50 mL e identificado para su posterior caracterización.

Los rendimientos de quitina y glucosamina para cada experimento se determinaron mediante la siguiente expresión:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Masa quitina obtenida (g)}}{\text{Masa de harina de cabeza de langosta (g)}} \times 100$$

### Comprobación de la presencia química de azúcar reductor con el reactivo de Fehling en la glucosamina obtenida

A continuación se presentan los pasos para realizar dicha comprobación:

1. Se pesaron 0,5 g de la glucosamina obtenida y se trasvasaron en un tubo de ensayo.
2. Se agregaron 5 mL de la solución A (sulfato cúprico cristalizado y agua destilada) y 5 mL de la solución B (sal de Seignette, hidróxido de aluminio y agua); estas dos soluciones conforman el reactivo de Fehling.
3. Se introdujo el tubo de ensayo en el baño de agua a 70 °C aproximadamente para dar comienzo a la reacción que identifica la presencia de azúcares.

4. Finalmente, se observó cambio de coloración, lo que indicó que hay presencia de azúcares cuando ocurre un cambio de color del medio de azul a rojo ladrillo (Fehling, 1848).

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATGRAPHICS Centurión 15, a través del cual se comprobó si las variables independientes tiempo y concentración de ácido clorhídrico tienen influencia significativa en la cantidad de glucosamina obtenida. En la tabla 1 se muestran las características del diseño experimental.

Tabla 1. Condiciones del diseño estadístico

Factores	Niveles	Notación	Variable de respuesta
Concentración de ácido clorhídrico (mol/L)	3; 4	A	Rendimiento de glucosamina (%)
Tiempo (min)	75; 90	B	

Se empleó un diseño factorial 2<sup>2</sup> con el propósito de conocer las mejores condiciones que garantizaran los mayores rendimientos en la obtención de glucosamina. Fueron estudiados dos factores a dos niveles, dando como resultado cuatro corridas experimentales. Se realizaron réplicas en todos los puntos experimentales de forma aleatoria para un total de ocho experimentos. Al finalizar cada corrida se realizó la prueba cualitativa con el reactivo de Fehling para comprobar la presencia de glucosamina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Obtención de quitina

La masa de quitina obtenida en cada una de las corridas experimentales y el rendimiento correspondiente, expresado con respecto a la masa de harina inicial se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de rendimiento de quitina obtenida

Corridas	Masa de HCLP (g)	Masa de quitina (g)	Rendimiento(%)	Promedio
1	100	84,58	84,58	85,66 ± 1,53
2	150	130,12	86,74	

Según se observa, el rendimiento de obtención de quitina osciló entre 84,58-86,74 %, lo cual depende de la masa de harina de partida. Fue necesario utilizar diferentes cantidades, para garantizar disponer de la cantidad de quitina suficiente para su transformación en glucosamina. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Martínez (2019), que oscilan entre 48-50 %. En el estudio realizado por Martínez se trabajó con camarón estero y de alta mar; es posible que

la diferencia entre sus resultados y los del presente estudio esté asociada al tipo de especie marina empleada en cada estudio.

### Obtención de glucosamina

Los rendimientos de glucosamina obtenidos en las ocho corridas experimentales se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de rendimiento de glucosamina obtenida por hidrólisis ácida

Corridas	Concentración HCL (mol/L)	Tiempo (min)	Masa de glucosamina (g)	Rendimiento (%)
1	3	90	8,5449	85,449
2	4	90	9,0125	90,125
3	3	75	8,2483	82,483
4	4	75	8,5985	85,985
5	4	90	8,8253	88,253
6	3	90	8,5449	85,449
7	3	75	8,0246	80,246
8	4	75	8,3214	83,214

Los mayores rendimientos se obtuvieron utilizando una concentración de 4 mol/L y un tiempo de reacción de 90 min. Estos valores son superiores a los reportados por Barriga (2016), donde el rendimiento fue de 85 % trabajando con una concentración de 6 mol/L y un tiempo de reacción 120 min. En la presente investigación se reduce la concentración del ácido y el tiempo de reacción, logrando con esto que el proceso sea más económico sin afectar la calidad final del producto de interés.

### Detección química de la glucosamina

Se comprobó la presencia de glucosamina en todas las corridas realizadas, ya que al reaccionar con el reactivo de

Fehling se produjo un color rojo ladrillo, indicando que ocurrió la oxidación del grupo carbonilo a grupo carboxilo en medio alcalino. Esta prueba positiva a la presencia del monosacárido dependió de las concentraciones de ácido clorhídrico y el tiempo de reacción con el que se trabajó en cada una de las muestras analizadas. El resultado se corresponde con el obtenido por Mackiff (2016), en la cual se trabajó con una concentración entre 2-3 mol/L y un tiempo de reacción entre 6-12 h, garantizando la formación de glucosamina por el cambio de coloración al realizar la valoración con el reactivo de Fehling. En la tabla 4 se reportan los resultados obtenidos del procesamiento estadístico.

Tabla 4. Análisis de varianza para el rendimiento total de glucosamina obtenida

Factor	Valor-P
A: Concentración HCl	0,0103
B: tiempo	0,0055
AB	0,7289

Teniendo en cuenta los resultados anteriores se pudo apreciar que variables como el tiempo de reacción y la concentración de HCl, son estadísticamente significativos sobre el rendimiento de glucosamina para un 95 % de confianza, ya que  $p < 0,05$ . La interacción concentración/tiempo no resultó ser estadísticamente significativa para un 95 % de confianza, por ser  $p > 0,05$ .

La figura 1 muestra la superficie de respuesta del diseño de experimento realizado. Donde se comprobó que los dos factores estudiados tuvieron un efecto positivo sobre el rendimiento de glucosamina.

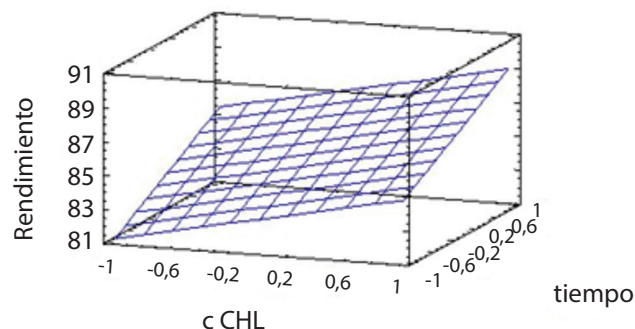


Fig. 1. Superficie de respuesta para la obtención de glucosamina.

Los mayores valores de rendimiento de glucosamina se obtienen en los niveles máximos de cada factor, es decir, con una concentración de HCl a 4 mol/L y un tiempo de reacción de 90 min. Este resultado es similar al obtenido por Barriga (2016), donde se obtuvieron mejores rendimientos cuando se trabajó a mayor concentración de HCl y tiempo de reacción.

El modelo matemático que permite predecir el rendimiento de glucosamina en el intervalo de los factores estudiados es el siguiente:

$$R = 85,151 + 1,744 (c \text{ HCl}) + 2,169 t$$

Donde:

R: Rendimiento (%);

c HCl: concentración de HCl (mol/L);

t: tiempo (min).

El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) es de 96,9 % y el coeficiente Durbin Watson (DW) es de 2,361, lo que significa que no existió correlación entre los residuos. Por lo tanto, el modelo matemático se consideró satisfactorio.

## CONCLUSIONES

1. El rendimiento promedio de la glucosamina obtenida a partir de la hidrólisis ácida de la quitina fue 89,19 %.
2. Las mejores condiciones de operación para la hidrólisis ácida de la quitina obtenida de cabeza e langosta precocida fueron: concentración de HCl de 4 mol/L y un tiempo de reacción de 90 min.
3. La reacción de Fehling positiva constató la presencia de glucosamina.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación pudo llevarse a cabo gracias a la creación del proyecto P131 LH 001262 "Evaluación del potencial y caracterización de descartes generados del procesamiento de crustáceos y moluscos en la industria pesquera".

## REFERENCIAS

- Barriga, K. (2016). Obtención de glucosamina por hidrólisis ácida a partir de quitina derivada de la cáscara de camarón. Consultado en <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6885>, 10 de abril de 2019.
- Fehling, H. (1848). Epónimos científicos. Consultado en <https://blog.uchceu.es/eponimos-cientificos/reactivo-de-fehling/>, 4 de julio de 2018.
- Gandhi, N., Laidler, J. K. (2002). Preparación del clorhidrato de glucosamina. Patente US 6486307 B1, pp. 1-6.
- Holthius, L. B. (1991). FAO species catalogue. Marine lobsters of the world: an annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries known to date. *FAO Fish Synop*, 13, 125-292.

- Lárez, C. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Revista Avances en Química*, 1(2), 15-21, ISSN: 1856-5301.
- Mackiff, C. (2016). Aprovechamiento de los desechos del camarón para la extracción de glucosamina mediante hidrólisis ácida. Consultado en <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/12720>, 20 de abril de 2019.
- Martin, J. (2001). An updated classification of the recent crustacean. Natural History Museum of Los Angeles County, No. 39, 124 pp., ISSN 1-891276-27-1.
- Martínez, A. G., Díaz, G. C. & Ramírez, R. E. (2019). Estudio comparativo de obtención, caracterización y actividad antioxidante de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón estero y camarón de altamar. *Rev. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 1002-1013.
- Ramos-Puebla, S. et al. (2017). Efecto en la calidad galletas de mantequilla tipo pastissetas por la adición de glucosamina. *Rev. Investigación y Desarrollo en Ciencias y Tecnología de Alimentos*, 2, 428-433.
- Subdirección de Pesquerías (2020). Análisis de las capturas de langosta hasta noviembre 2020. Informe del Centro de Investigaciones Pesqueras al MINAL, diciembre, 2020.
- Trujillo, Z. (2001). Alternativas tecnológicas para el procesamiento industrial de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* cultivada en Cuba. Consultado en <http://hdl.handle.net/1834/1549>, 15 de mayo de 2019.