

CAPITULO 1

1. GENERALIDADES

1.1. Quitosano

En la naturaleza existen varios polímeros muy importantes, ya sea por su abundancia, fácil acceso o variedad de usos. En ella se puede encontrar tanto a la celulosa como la quitina.

La quitina es el componente mayoritario del exoesqueleto de los invertebrados y de las paredes celulares de los hongos, los cuales a pesar de tener una corta vida, tienen una gran capacidad de regeneración, pudiendo producir grandes cantidades de biomasa. Constituye un precursor de un sinnúmero de derivados. Este polímero está formado por unidades de 2-acetamida-2-desoxiglucosa unidas por medio de enlaces 1,4-beta-glucosídico. Prácticamente es

insoluble en todo sistema orgánico e inorgánico. Es el segundo compuesto orgánico en abundancia en la naturaleza. Su estructura es similar a la celulosa.

El término quitosano fue determinado por Hoppe-Seyler en 1894, basándose en los estudios de Rouget en 1859 quien encontró que si la quitina es tratada con un álcali caliente genera un producto soluble en ácidos orgánicos.

El quitosano es un polímero marino derivado de la quitina, por lo que tiene una cadena más corta que la de quitina original, alrededor de 25-30 unidades menos de glucosamina. Su fórmula es beta(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa. (Fig. 1). La principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en un medio alcalino a altas temperaturas, generando una desacetilación parcial de la quitina.

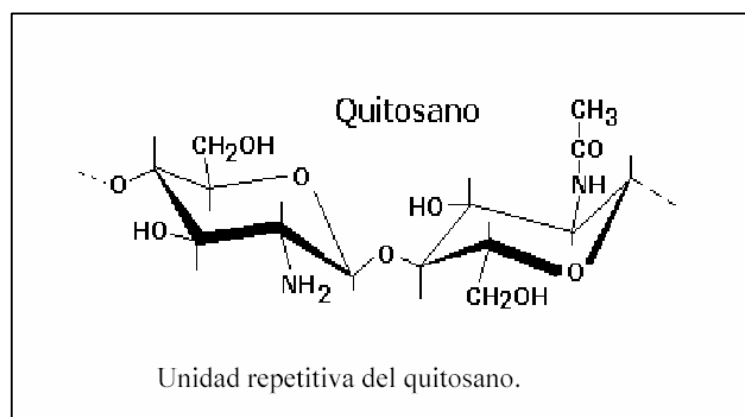


Figura 1. Estructura de quitosano
Fuente: Lárez Cristóbal, 2003

Cuando ocurre la desacetilación parcial de quitina se generan diferentes tipos de quitosano, con rangos de grados de desacetilación y diferentes pesos moleculares. El grado de desacetilación, del quitosano se halla en un rango aproximado de 70 – 95%, mientras que en el caso de la quitina es alrededor del 5 – 15%. (Shuang Chi, 2004). Por otra parte Baxter, 2004, indica que el peso molecular del quitosano tipo comercial puede variar entre 100 y 800 kDa.

1.1.1. Propiedades químicas del quitosano

Las propiedades del quitosano son muy similares a la celulosa, tanto en su estructura química como en su actividad. Debido a la presencia de grupos amino en la cadena polimérica, el quitosano es un material muy versátil. Tiene la capacidad de realizar varias modificaciones, como reacción con enzimas y obtención de películas biodegradables.

Debido a la presencia grupos amino libres tiene la propiedad de protonarse y por lo tanto ser soluble en medio ácido, aumentando así su reactividad. Su característica principal es la inocuidad a la salud humana.

Es una sustancia polimérica de origen natural y como posee la habilidad de captar los lípidos, muy importante en el ámbito de la salud. Según Shirai 2004, el quitosano es un polisacárido catiónico y se une de forma electrostática a las moléculas con carga eléctrica negativa, formándose largos polímeros, que desde el punto de vista de salud y para pérdida de peso, no pueden ser atacados por los jugos gástricos y son eliminados directamente por las heces. Como otra propiedad interesante, el chitosán es no digerible.

Químicamente el chitosán está constituido por largas moléculas de glucosamina y moléculas de N – acetil – glucosamina.

Además el quitosano tiene la propiedad de formar un gel y tiene alta capacidad de adsorción. Asimismo es biodegradable y posee poder bacteriostático, inhibiendo el crecimiento microbiano con la gran importancia de poder formar films o películas comestibles.

A continuación se presenta una tabla en la que se muestra diferentes propiedades de quitosano producido por tres casas comerciales. SSSBiotic, Dalwoo y Peakchem se dedican a la venta, entre otros productos, de quitosano para diferentes usos.

Tabla 1
Estudio Comparativo
de diferentes tipos de quitosano grado comercial

Parámetros	SSSBiotic	Dalwoo	Peakchem
Apariencia	Blanco	Polvo blanco o amarillo	Polvo amarillo
Viscosidad	5 – 20 cps	< 5 cps	
Humedad	< 10 %	<10%	4.52%
Ceniza	< 2 %	0.1%	0.91%
Metales pesados	< 2 ppm	10 ppm	20 ppm
Mesh	80	60	80
Total Plate Count	< 1 x 10 ⁴ ufc/g		1000 ufc/g
Hongos y levaduras			100 ufc/g
Salmonella	Negativo		Negativo
E. Coli	Negativo		Negativo

Elaborado por: Luis Soro G.

1.1.2. Fuentes donde se encuentra el quitosano

Como se mencionó anteriormente, el quitosano es un polisacárido producto natural derivado de la hidrólisis de la quitina. La quitina se la encuentra principalmente en las conchas de crustáceos y formando parte del exoesqueleto de los insectos, así como también en las paredes celulares de

muchos hongos, levaduras y algas. En la industria se obtiene por desacetilación parcial de la quitina, ya sea por métodos químicos o enzimáticos.

De manera particular, el quitosano se lo encuentra en el caparazón de camarones, langostinos, cangrejos y langostas.

1.1.3. Aplicaciones del quitosano

El campo de utilización del quitosano es muy variado y comprende: tratamiento de aguas, industria alimentaria, medicina, biotecnología, agricultura, cosmética, industria papelera, tecnologías de membrana, alimentos nutraceuticos (debido a la característica de solubilidad y posibilidad de obtener múltiples compuestos derivados) y en la industria textil.

Como interés especial, en el campo de alimentos y bebidas, el quitosano se lo utiliza principalmente como aditivos. Ya sean éstos espesantes (proporcionando mayor viscosidad al producto), gelificantes (debido a que precipita a un pH superior a 6), estabilizando emulsiones y como agente preservante (utilización en productos de panificación por su acción antifúngica y antibacteriana). Adicionalmente el quitosano se

utiliza como recubrimiento protector de frutas y hortalizas. Las películas de quitosano son resistentes, duraderas y flexibles incidiendo directamente en la vida útil del producto. De esta manera, estas películas minimizan la velocidad de respiración y pérdida de agua de la fruta o del vegetal.

Cuando se elaboran alimentos mínimamente procesados la acción del quitosano es importante como agente preservante frente a microorganismo como bacterias, levaduras y hongos. El uso de concentraciones mayores al 0.02% protegen al alimento frente a una posible contaminación por *Escherichia coli*. La acción antimicrobiana se realizan privando a los microorganismos de iones vitales como el cobre, bloqueando o destruyendo la membrana, filtrando constituyentes intracelulares, y formando complejos polielectrolíticos con polímeros ácidos y células de superficie. La acción antimicrobiana del quitosano es influenciada por factores intrínsecos tales como tipo de quitosano, el grado de polimerización, la composición química y las condiciones ambientales. (Baxter, 2004).

En el caso de la elaboración de alimentación animal, se utiliza el quitosano en la recuperación de proteína de desechos de ovoproductos.

1.2. Definición de la materia prima

La materia prima que se utiliza para la obtención del quitosano es la cáscara o caparazón del camarón. Este estudio utiliza la variedad *Penaeus Vannamei*, conocida también como camarón blanco, encontrado frecuentemente desde las costas de Sonora en México hasta el norte de Perú. En el Ecuador el *P. vannamei* es el que comúnmente se cultiva en nuestras camaroneras.

1.2.1. Morfología del camarón

El camarón es el nombre común de diferentes crustáceos decápodos pertenecientes a la familia de los peneidos (*Penaeidae*). Posee un cuerpo alargado y cilíndrico, aplanado en los lados, más ancho en la parte superior que en la inferior.

Como se puede observar en la Figura 2, un camarón pendido no tiene esqueleto pero sí un recubrimiento quitinoso, delgado y flexible en todo el cuerpo (caparazón) dividido en tres partes:

cefalotórax, abdomen y cola, con cabeza y ojos salientes de gran tamaño. Su color es de un gris claro cuando está crudo que cambia a naranja a la cocción.

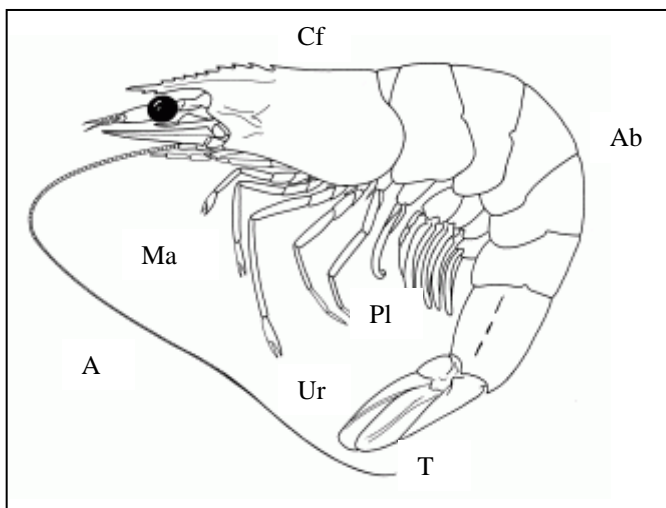


Figura 2. Morfología del Camarón. A: antena; Ab: abdomen; Cf: cefalotórax; Ma: maxilipedio; Pl: pleópodos; T: telson; Ur: urópodos
Fuente: FAO/SIDP Species Identification Sheets

La especie se cría en grandes estanques de por lo menos un metro de profundidad. Son fertilizados con urea o se añaden directamente concentrados suplementarios, pero con frecuencia se utilizan ambas técnicas.

La materia prima que se utiliza es el exoesqueleto del camarón, la cual constituye actualmente un desecho para algunas empresas camaroneras. Esto representa la porción no comestible del mismo y no exportable, dependiendo el mercado

a donde se dirija. Existen mercados que prefieren el camarón entero, otros sin cabeza, pelado y desvenado, o una mejor presentación que significa un valor agregado como brochetas y mariposas.

En el Libro Blanco del Camarón, edición 1989, se establece que de cada 100 libras de camarón, se obtienen entre 65 y 70 libras de cola. Es decir que el porcentaje de desperdicios constituye el 30 y el 35%.

1.2.2. Composición química de la materia prima

El caparazón o materia prima está constituido por: quitina, proteína, pigmentos y cenizas con un alto porcentaje de calcio, seguido de magnesio y fósforo. En la Tabla 2 se muestra el porcentaje de los componentes básicos del caparazón.

Tabla 2**Composición química del exoesqueleto**

Componente	Porcentaje
Quitina	17 – 32
Proteína	17 – 42
Pigmentos	1 – 14
Cenizas	41 - 46

Fuente: Shari Rene Baxter, 2004.

Elaborado por: Luis Soro G

1.2.3. Variables de deterioro de la materia prima

Debido a que es un producto perecible, sufre cambios que se acentúan con el pasar del tiempo. Estos se los puede clasificar en tres tipos: físicos, químicos y microbiológicos y dependen de la presentación del camarón. Si el camarón se encuentra fresco es importantísimo verificar el olor, color, textura blanda, consistencia firme al tacto. Debe ser libre de olores y colores característicos de descomposición, entre ellas verdosa, amarillenta, puntos negros o decoloraciones. Cuando el color amarillo se encuentra en la superficie, es un indicio que el mal manipuleo origina una leve deshidratación del producto. Con respecto a la textura debe estar libre de sustancias extrañas,

estructura pastosa o blanda del músculo, desprendimiento de sustancias viscosas así como ojos manchados y opacos.

Desde el punto de vista microbiológico es muy importante que el producto esté libre de bacterias coliformes, y de putrefacción como pseudomonas. El efecto de la temperatura de almacenamiento es un factor muy importante, en el rango de 0 a 25°C, la actividad microbiana es relativamente más importante, y los cambios en la temperatura tienen mayor impacto en el crecimiento microbiano que en la actividad enzimática. (Fig. 3)

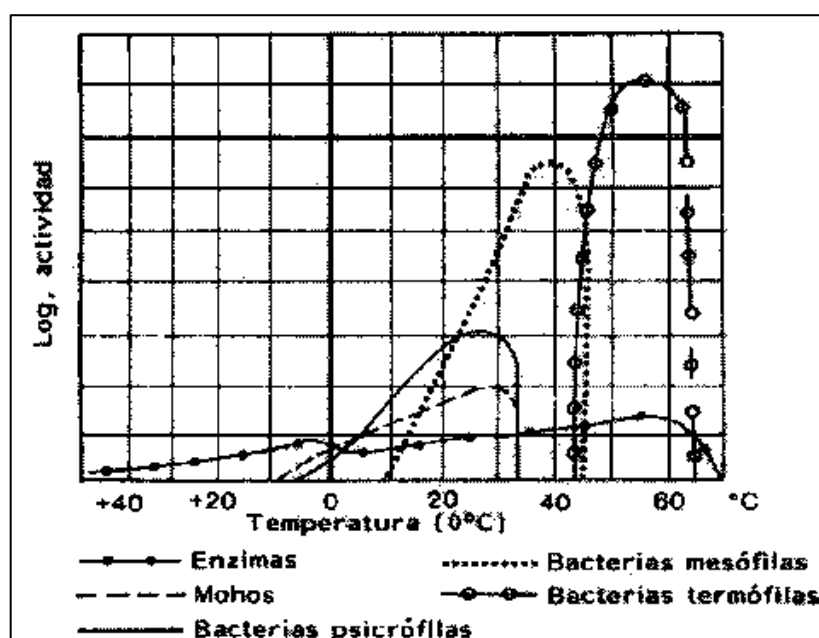


Figura 3: Actividad enzimática relativa y velocidad de crecimiento bacteriano en función a la temperatura

Fuente: <http://www.fao.org>

La actividad microbiana es responsable por el deterioro de la mayoría de los productos pesqueros frescos. Por lo tanto, la duración en almacén de los alimentos se extiende marcadamente cuando los productos son almacenados a bajas temperaturas. En países industrializados es una práctica común almacenar el pescado fresco y mariscos en general, en hielo (a 0 °C).

A los crustáceos casi siempre se le da una precocción y algunas veces se acidifican, se tratan con salmuera, se blanquean, o bien se les aplica alguna combinación de estos procesos. Debido a la mala manipulación del crustáceo en el momento de cosecha, procesamiento y empaque, se generan productos de baja calidad. Es por esto que la importancia de higiene en la manipulación debe mantenerse en un área de trabajo de completa asepsia.

1.3. Emulsiones

Cuando un sistema contiene dos líquidos inmiscibles, uno disperso en el otro, se lo conoce como emulsiones. Aquella fase que contiene pequeñas gotas se la conoce como dispersa, mientras que las gotas

disueltas representan la fase continua. La emulsión se caracteriza por ser un sistema termodinámicamente inestable que ocurre por la fragmentación de las gotas de una fase en otra que poseen entre 0.1 y 50 μm . La clasificación básica de las emulsiones es la siguiente:

- Aceite en agua (o/w)
- Agua en aceite (w/o)

En el caso de la elaboración de alimentos, un sistema aceite en agua se presenta en mayonesas, leches, cremas, sopas, salsas y aderezos. En el caso contrario, emulsiones del tipo agua en aceite se encuentran margarina y mantequilla. (McClements, 1999).

Además existen sistemas denominados como múltiples emulsiones, que se caracterizan por ser del tipo (w/o/w) y (o/w/o). Un ejemplo de una emulsión tipo agua en aceite en agua consiste en gotas de agua dispersas dentro de grandes gotas de aceite, que a su vez están dispersas en una fase continua acuosa.

Debido a la gran cantidad de energía libre que existe en la interfase de ambos líquidos, las emulsiones tienden a desestabilizarse ya sean por diferentes procesos físico – químicos, que incluyen separación gravitacional, (volumen de cremado y sedimentación), floculación y coalescencia. (Fig. 4).

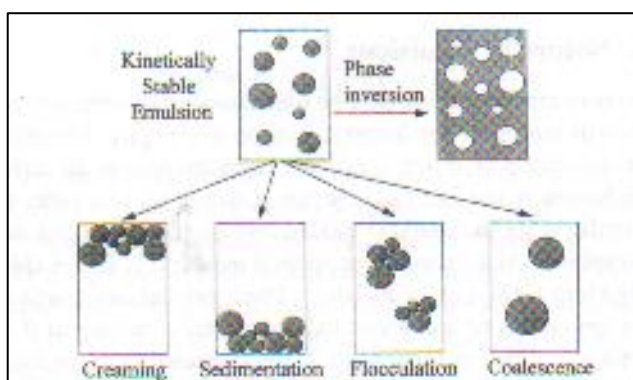


Figura 4: Mecanismos de desestabilización de emulsiones
Fuente: McClements, 1999.

La separación gravitacional consiste en que por medio de la fuerza de gravedad se realiza la separación de las fases. La sedimentación ocurre mediante un movimiento descendente de las gotas que posean una mayor densidad con respecto al líquido en el cual están inmersas. El volumen de cremado, o cremado simplemente, se caracteriza por la migración de las gotas hacia la superficie debido a la menor densidad en relación al líquido.

La floculación como mecanismo de desestabilización de emulsiones, consiste en que los glóbulos de grasa realizan un movimiento como un conjunto y no de manera individual. La floculación no implica la ruptura de la película interfacial que rodea a las gotas, por consiguiente no implica una variación en el tamaño original. El motivo

principal por cual se genera la floculación es porque existe una carga electrostática inadecuada de la superficie del glóbulo.

Por último la coalescencia consiste en el rompimiento total de la interfase de tal manera que se genera un reordenamiento de las gotas y el área interfacial se ve completamente reducida. (Fenema, 1996).

Una excelente manera de alcanzar una estabilización de la emulsión es mediante la fijación por adsorción de las moléculas en la interfaz entre la fase dispersa y la continua. Esto se logra con los emulsionantes o también llamados emulgentes que mediante una disminución de la tensión superficial, las el contacto entre las dos fases se hace mas estrecho y estable. (McClements, 2005).

De acuerdo con el libro de aditivos alimentarios de Multon, una clasificación sencilla de los emulsionantes es la siguiente:

A. Naturales

Iónicos

Sales biliares

Fosfolípidos

Proteínas

Gomas

No iónicos

Colesterol

Saponinas

Gomas

B. Sintéticos

Iónicos

Sales de ácidos grasos

Estearoil – 2 – lactilato de sodio

No iónicos

Esteres de glicerol

Esteres de poliglicerol

Esteres de propilenglicol

Esteres de la sacarosa

Esteres de ácidos grasos de sorbitana

Las interacciones electrostáticas ocurren cuando existen sustancias que tengan cargas eléctricas, ya sea iones y moléculas dipolares.

McClements, 1999 indica que las interacciones electrostáticas poseen un papel muy importante en la determinación de la estructura molecular de algunos polímeros. En el caso de las proteínas, los aminoácidos tienen la capacidad de ionizarse algunos con cargas positivas y otros con cargas negativas. Ejemplos de aminoácidos cargados positivamente son arginina, lisina, prolina, histidina y los del

grupo amino. Caso contrario corresponde al ácido glutámico y aspártico y aquellos aminoácidos pertenecientes al grupo carboxílico (ácidos).

Por su parte algunos los polisacáridos, también poseen grupos ionizables en su estructura, como sulfatos y fosfatos.

Cuando se trabaja con polímeros, las interacciones electrostáticas se vuelven muy sensibles con respecto al pH del medio acuoso y de la concentración.

Cuando un biopolímero contiene grupos que contengan la misma carga, éste tiende a adoptar una configuración extendida ocasionando un distanciamiento entre las cargas y disminuye la repulsión electrostática. Caso contrario, cuando el biopolímero contiene cargas opuestas, tanto positivas como negativas, opta por replegarse y formar una estructura muy compacta de tal manera que maximiza la atracción entre las cargas. (McClements, 1999).

1.3.1. Estabilidad de las emulsiones

Un papel muy importante en las emulsiones de grado alimenticio es el que protagonizan las proteínas y los polisacáridos debido a que ayudan a la estabilidad de la emulsión. Estos biopolímeros pueden

actuar ya sea por separado o mezcladas entre sí. Las interacciones entre proteínas y polisacáridos son afectadas por fuerzas de atracción y repulsión, que varían de acuerdo a la estructura del biopolímero y condiciones ambientales. En el caso de emulsiones aceite en agua, las proteínas, como caseína o suero de leche, ejercen su poder de emulsión debido a la formación de una capa interfacial con propiedades elásticas y por medio de una repulsión estérica, se evita la floculación y coalescencia. (Turgeon, 2004)

Al trabajar con polisacáridos como emulsionantes, en el caso del quitosano, la estabilidad se genera por medio de un efecto de gelatinización o aumento de viscosidad en la fase continua. Es importante destacar que los polisacáridos son generalmente aniónicos, es decir están cargados negativamente. Ejemplos de polisacáridos que actúen mediante el efecto de gelatinización son diferentes gomas como xanthan, carragenina, alginato, carboximetilcelulosa, pectina, entre otros. Otro mecanismo por el cual se estabilizan las emulsiones es mediante una adsorción interfacial como lo realiza la goma guar y arábica. (Turgeon, 2004).

McClements, 2005 indica que muchas investigaciones han demostrado una técnica que crea una membrana interfacial alrededor

de las gotas de aceite compuesta por muchas capas del emulsionantes o de los polielectrolitos.

El quitosano como emulsionante es un polisacárido catiónico que posee zonas hidrofílicas ricas en glucosamina y zonas hidrofóbicas ricas en N – acetil – glucosamina. (Turgeon, 2004). El quitosano puede actuar en una combinación ya sea con proteínas o polisacáridos. El estudio de Laplante, et al 2004, revela que por la naturaleza catiónica del quitosano, opuesta a la aniónica de algunos polisacáridos, favorecen a la interacción entre proteínas y polisacáridos y estabiliza la coadsorción con el suero de leche. En el presente estudio se analizará el quitosano como emulsionante en un sistema aceite en agua, sin la necesidad e combinarse con proteínas.

Otros estudios que indican que el quitosano puede actuar como un útil emulsionante en un sistema múltiple w/o/w. En este caso, la emulsión se realiza por medio de un proceso doble. En la emulsión primaria w/o, se utiliza un emulsionante hidrofóbico, mientras que para la segunda emulsión o/w, se requiere de un emulsionante hidrofílico. (Agulló, 2001).

El quitosano es un material versátil que puede generar este tipo de emulsiones sin añadir ningún surfactante. El motivo por el cual el quitosano se lo puede utilizar en ambos sistemas de emulsión es por la composición química, en la cual presenta moléculas con diferente grado de desacetilación. Cuando las moléculas presentan un alto grado de desacetilación corresponde a emulsiones del tipo aceite en agua (o/w). Por el contrario, aquellas moléculas en las que el grado de desacetilación es mucho menor son más favorables para emulsiones tipo agua en aceite (w/o).