

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO DERIVADA DE LA QUITINA DE LANGOSTA

Nilia de la Paz¹, Mirna Fernández^{2*}, Orestes Darío López¹, Antonio Nogueira¹, Caridad M. García¹, Dania Pérez³, Jorge L. Tobella⁴, Yanet Montes de Oca¹, Dayiris Díaz¹

1) Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Avenida 26 No. 1605 e/ Puentes Grandes y Boyeros, Plaza. La Habana. Cuba.

2) Departamento de Tecnología y Control de Medicamentos, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. Calle 23 No. 21425 e/214 y 222, La Lisa. La Habana. Cuba. Correo electrónico: mirnafc@ifal.uh.cu, mirnafc@yahoo.com

3) Departamento de Química Básica, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. San Lázaro y L, Vedado. Plaza de la Revolución. La Habana. Cuba.

4) Laboratorios MEDSOL. Avenida 23 Esquina 266. Playa. La Habana. Cuba

Recibido: Febrero 2012; aceptado: Junio 2012

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados de la optimización del proceso de obtención de quitosano, derivada de quitina de langosta (*Panulirus Argus*), por desacetilación termoalcalina heterogénea, aplicando un diseño experimental factorial 3². Una velocidad de agitación de 226 r/min (escala banco) y 58 r/min (escalas piloto e industrial), temperaturas de mezcla de 80°C y reacción de 100°C/30 minutos, lavado con agua hasta neutralidad, y un tiempo de secado de 8 h a 60°C, fueron las condiciones óptimas. Se elaboraron tres lotes a escala piloto e industrial, demostrándose la factibilidad y consistencia del proceso tecnológico. La calidad del material obtenido fue evaluada utilizando las técnicas de espectroscopia infrarroja, difracción de rayos-X, análisis térmico diferencial, microscopia electrónica de barrido, absorción atómica y valoración potenciométrica. Adicionalmente, se determinaron los parámetros de cenizas, contenido de humedad, material insoluble, y calidad microbiológica. Se comprobó que el biopolímero obtenido cumple con los requerimientos como excipiente farmacéutico.

Palabras claves: quitosano, langosta, desacetilación, evaluación físico-química

ABSTRACT

In this paper, chitosan derived from lobster chitin (*Panulirus Argus*) obtained under alkaline N-deacetylation process was optimized applying a factorial design 3². A stirring speed of 226 r/min (bench scale) and 58 r/min (pilot and industrial scale), mixing temperature of 80°C and 100°C/30 minutes, washed with water until neutral, and drying time of 8 h at 60 °C were the optimal conditions. Three batches were obtained at pilot and industrial scales, demonstrating the feasibility and consistency of the technological process. The quality of the obtained chitosans was evaluated using the techniques of infrared spectroscopy, X-ray diffraction, differential thermal analysis, scanning electron microscopy, atomic absorption and potentiometric titration. Additionally, ashes, degree of deacetylation, moisture content, insoluble matter and microbiological quality were determined. The properties of the biopolymer are within acceptable limits like pharmaceutical excipient.

Keywords: chitosan, lobster, deacetylation, chemical-physical evaluation

INTRODUCCIÓN

El interés permanente de la humanidad por encontrar en los recursos naturales nuevos beneficios a favor de la nutrición y la salud, la ha llevado a indagar acerca de la posibilidad de utilizar algunos desechos de la industria pesquera, tal es el caso de los exoesqueletos de crustáceos. Estos son considerados contaminantes ambientales y sin embargo, constituyen la fuente principal de dos biopolímeros de alto valor agregado establecidos a nivel mundial: la quitina y su derivado funcional, el quitosano [1].

La quitina (del griego *tunic*, envoltura) se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza

y, después de la celulosa (materia base del papel), es el segundo polisacárido en abundancia. Sus fuentes principales son el exoesqueleto de muchos crustáceos, alas de insectos (escarabajos, cucarachas), paredes celulares de hongos, algas, etcétera. Sin embargo, la producción industrial de este biomaterial prácticamente se basa en el tratamiento de las conchas de diversos tipos de crustáceos (camarones, langostas, cangrejos y langostinos) debido a la factibilidad de encontrar estos materiales como desecho de las plantas procesadoras de estas especies [2].

El quitosano fue descubierto por *Rouget* en 1859, quien encontró que al tratar la quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtenía un producto soluble en ácidos orgánicos y la nombró “quitina modificada”. Más tarde, en 1894, *Hoppe–Seyler* fue quien la denominó “quitosano” [3].

Es un polisacárido que está presente de manera natural en las paredes celulares de algunos hongos en pequeñas concentraciones. Su principal forma de obtención es a partir de la quitina, mediante la hidrólisis, en medio alcalino muy concentrado, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas, ocurriendo la desacetilación. El quitosano constituye el derivado más importante de la quitina y presenta propiedades significativamente diferentes a ella [4, 5].

Su nombre químico es poli $[\beta\text{-(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranos}]$, al igual que la quitina, el quitosano no se presenta como una molécula única, sus moléculas pueden variar en los valores de masa molecular y grados de desacetilación promedio o grupos aminos libres, lo cual determina la calidad y el uso de estos polímeros [6].

Debido a las propiedades funcionales y físico-químicas del quitosano, se ha podido identificar una enorme cantidad de aplicaciones que abarcan áreas tan variadas como: alimentación, medicina, agricultura, cosmética, farmacia, entre otras [2, 7]. Se han reportado [8, 9] diversos métodos físico-químicos para su obtención y caracterización. Sin embargo, su aplicación está limitada principalmente debido a la variación en su composición química, grado de desacetilación, tamaño de la cadena polimérica y purificación. La fuente de quitina y los incontrolados procesos de desacetilación son los principales factores que afectan las propiedades finales del quitosano [8].

El objetivo del trabajo es optimizar el proceso de obtención de quitosano a partir de quitina de langosta (*Panulirus Argus*) a escala de banco, piloto e industrial aplicando para ello un diseño factorial 3^2 . Con el empleo de las técnicas de espectroscópica infrarroja, difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido (SEM), absorción atómica y valoración potenciométrica, fue posible evaluar la calidad del quitosano obtenida en las diferentes escalas. El porcentaje de cenizas, humedad, materia insoluble y pureza microbiológica también fueron determinadas para verificar su calidad farmacéutica.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales

La quitina, obtenida a partir de exoesqueletos de langosta (*Panulirus Argus*) [10] y suministrada por el *Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (Cuba)*. El resto de los reactivos y disoluciones fueron de calidad analítica.

2.2. Optimización del proceso de obtención de quitosano. En un reactor de acero inoxidable de 3,5 L, a escala de banco, se añadió la quitina al hidróxido de sodio 45% (m/v) con calentamiento y agitación a 226 r/min, como resultado de los cálculos del desescalado.

Un diseño factorial (3^2) con dos factores de estudio y tres niveles de variación, fue utilizado para optimizar la reacción de desacetilación termoalcalina heterogénea.

Los factores de estudio fueron las temperaturas (X_1) de mezcla de la quitina con el hidróxido de sodio 45% (m/v) y la de reacción (X_2), según *Hidalgo et al.* [9]. En las Tablas 1 y 2 se muestran los niveles estudiados y la matriz experimental del diseño, respectivamente. El grado de desacetilación se consideró como variable respuesta para definir las condiciones óptimas de obtención del quitosano.

Tabla 1. Factores y niveles usados para el estudio de la reacción de desacetilación.

<i>Factores</i>	<i>Niveles de variación (°C)</i>		
	<i>Nivel bajo (-1)</i>	<i>Nivel medio (0)</i>	<i>Nivel alto (+1)</i>
Temperatura de mezcla (X_1)	30	55	80
Temperatura de reacción (X_2)	80	90	100

Tabla 2. Matriz experimental del diseño.

<i>Ensayo tecnológico</i>	<i>Orden aleatorio</i>	X_1	X_2
1	7	-1	-1
2	3	-1	0
3	1	-1	+1
4	2	0	-1
5	9	0	0
6	4	0	+1
7	5	+1	-1
8	8	+1	0
9	6	+1	+1

Todos los resultados fueron analizados estadísticamente (software *Statgraphics Plus* versión

5.1 (1994 – 2001) y *Statgraphics Centurion XV* versión 15.2.05 *StatPoint Inc.*) a través del análisis de varianza, diagramas de *Pareto* y los gráficos de superficie de respuesta.

Posterior a la reacción de desacetilación, se filtró y lavó con agua hasta pH neutro. Al sólido se le agregaron 500 mL de etanol al 96%, se lavó, filtró y secó en un horno con circulación, *Electric Drying Oven Model 101–2*, a 60°C durante 8 horas.

El mejor ensayo tecnológico, resultado del diseño experimental, se escaló a nivel piloto e industrial empleándose un reactor tipo tanque agitado manteniendo igual consumo de potencia por unidad de volumen. En la Tabla 3 se muestran las características de los reactores utilizados en las diferentes escalas.

Tabla 3. Características de los reactores.

<i>Parámetro</i>	<i>Unidad</i>	<i>Banco</i>	<i>Piloto</i>	<i>Industrial</i>
Volumen del reactor (V)	L	3,50	50,00	250,00
Diámetro del impelente (d)	m	0,05	0,25	0,25
Diámetro del reactor (D)	m	0,22	0,60	0,60
Altura del líquido	m	0,10	0,55	2,75
Relación d/D	–	0,23	0,41	2,05
Velocidad de agitación	r/min	226,00	58,00	58,00
Quitina	kg	0,35	5,00	25,00
Hidróxido de sodio 45% m/v	L	3,50	50,00	250,00

Finalmente, el rendimiento del proceso, en las diferentes escalas, fue obtenido utilizando la siguiente expresión:

$$R = \frac{RR}{RT} \times 100 \quad (1)$$

donde RT es la cantidad de quitina (g) y RR la cantidad de quitosano (g). Se compararon los rendimientos obtenidos a escala de banco, piloto e industrial utilizando el procedimiento de las menores diferencias significativas de *Fisher* (LSD) y la comparación múltiple de rango.

2.3. Evaluación del quitosano.

2.3.1. Espectroscopia infrarroja (IR). Se utilizó la técnica de KBr para el registro de los espectros en la región de 450 – 4.000 cm^{-1} . El espectro infrarrojo fue obtenido en un espectrómetro (FT/IR–460 *Spectrometer Nirvis, Bühler, Suiza*).

2.3.2. Difracción de rayos-X. El difractograma del polvo de quitosano se obtuvo con radiación de $\text{CuK}\alpha$ (1,54 Å) empleando un difractómetro de rayos-X D8 *Advance Bruker AXS GMBH, Karlsruhe, Alemania*. El intervalo angular fue desde 5 a 40° con incrementos de 0,2° y el tiempo de medición fue de 3 segundos/incremento.

2.3.3. Análisis térmico diferencial (DSC). Para la obtención del termograma se procedió según lo descrito por *Hidalgo et al.* [9].

2.3.4. Microscopia electrónica de barrido (SEM). El ensayo se llevó a cabo empleando un microscopio electrónico de barrido (*Zeiss, DSM 962, Alemania*), recubriendo la muestra con platino y empleando un aumento apropiado.

2.3.5. Determinación de microelementos. El contenido de calcio, cobre, cinc, hierro, cadmio, plomo, manganeso, cobalto y magnesio se determinó por espectrometría de absorción atómica utilizando una lámpara de cátodo hueco del elemento. La determinación de sodio y potasio se realizó en modo emisión. Se empleó el método de los mínimos cuadrados lineales para la calibración. El equipo utilizado fue el modelo *Avanta P* de la firma *GBC, Australia*. Se pesó $500 \pm 0,9$ mg de la muestra, se disolvió con ácido nítrico, utilizando un baño de arena con temperatura controlada hasta obtener sales húmedas, se disolvió con agua destilada y se llevó a 10 mL. Se realizaron las diluciones necesarias hasta añadir cloruro de lantano para la determinación de calcio, magnesio, sodio y potasio. Se realizaron cinco réplicas.

2.3.6. Valoración potenciométrica. El grado de N-desacetilación de las variantes de quitosano obtenidas a escala de banco, piloto e industrial fue determinado empleando un método potenciométrico. Las mediciones se realizaron con un valorador (*Mettler Toledo, Suiza*). El procedimiento básicamente consistió en disolver el quitosano con un exceso de HCl $0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. La solución de quitosano se valoró con una solución de NaOH $0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, valorada previamente con biftalato de potasio como patrón primario.

La valoración se llevó a cabo midiendo el cambio de pH cada 2 mL de base añadida. La adición se realizó de forma lenta y con agitación continua para homogeneizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. De esta manera, se obtuvo una curva de pH en función del volumen de NaOH añadido, la cual presenta dos puntos de inflexión; la diferencia entre ellos se corresponde con la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino libres del quitosano. La concentración de éstos se determinó utilizando la siguiente expresión [8, 11]:

$$\% \text{NH}_2 = \frac{16,1(y - x)}{m} f \quad (2)$$

donde y es el punto de inflexión mayor (mL), x el punto de inflexión menor (mL), f la molaridad de la solución de NaOH (mol/L), m la masa de la muestra (g), y 16,1 el valor del miliequivalente entre el ácido clorhídrico y el quitosano.

Los cálculos se realizaron sobre la base de tres réplicas. Para evaluar la reproducibilidad de la tecnología diseñada, se compararon estadísticamente los valores del grado de N–desacetilación de los quitosanos obtenidos a escala de banco, piloto e industrial.

2.3.7. Determinación del porcentaje de cenizas. Se incineraron 2 g de muestra a la llama hasta total carbonización y desaparición de humos blancos. Seguidamente se incineró en mufla (*Carbolite, Inglaterra*) a 750–800°C durante 6 horas. El proceso final de enfriamiento se realizó en un desecador y se pesó el crisol, repitiéndose sucesivamente esta operación hasta peso constante. Los cálculos se expresaron sobre la base de tres réplicas. Criterio de aceptación: $\leq 1,0\%$ [12].

2.3.8. Determinación del porcentaje de humedad. Se pesaron 2 g de muestra en una balanza analítica (*Sartorius TE 214S, Alemania*), colocándolos en una estufa (*Memmet, Alemania*) a 105°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron sobre la base de tres réplicas. Criterio de aceptación: $\leq 10\%$ [12].

2.3.9. Determinación del porcentaje de materia insoluble. Se determinó disolviendo el quitosano 1,0% (p/v) en una solución de ácido acético al 1%, filtrándola con papel de filtro grado 610. El papel con el residuo fue secado a 105°C, hasta peso constante [13]. Los cálculos se realizaron sobre la base de tres réplicas. Criterio de aceptación: $\leq 0,5\%$ [12].

2.3.10. Determinación de la pureza microbiológica. Se realizó el conteo microbiológico para la evaluación de la pureza microbiológica del quitosano obtenida, según lo descrito en la USP 33 [14], para medicamentos no estériles.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de las condiciones del proceso de obtención de quitosano, y sus efectos sobre el grado de N–desacetilación, mostró los resultados que aparecen en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados del diseño de experimentos.

<i>Ensayo Tecnológico</i>	<i>Temperatura de mezcla (°C)</i>	<i>Temperatura de reacción (°C)</i>	<i>Grado de N–desacetilación (%)</i>
1	30	100	70,43 \pm 1,13
2	55	80	66,62 \pm 0,16
3	30	90	67,70 \pm 0,30
4	55	100	72,71 \pm 0,49
5	80	80	64,45 \pm 0,20
6	80	100	76,81 \pm 0,21
7	30	80	62,12 \pm 0,40
8	80	90	68,50 \pm 0,35
9	55	90	69,71 \pm 0,38

En la Figura 1, se muestra el análisis de varianza, el diagrama de *Pareto* y el gráfico de superficie de respuesta.

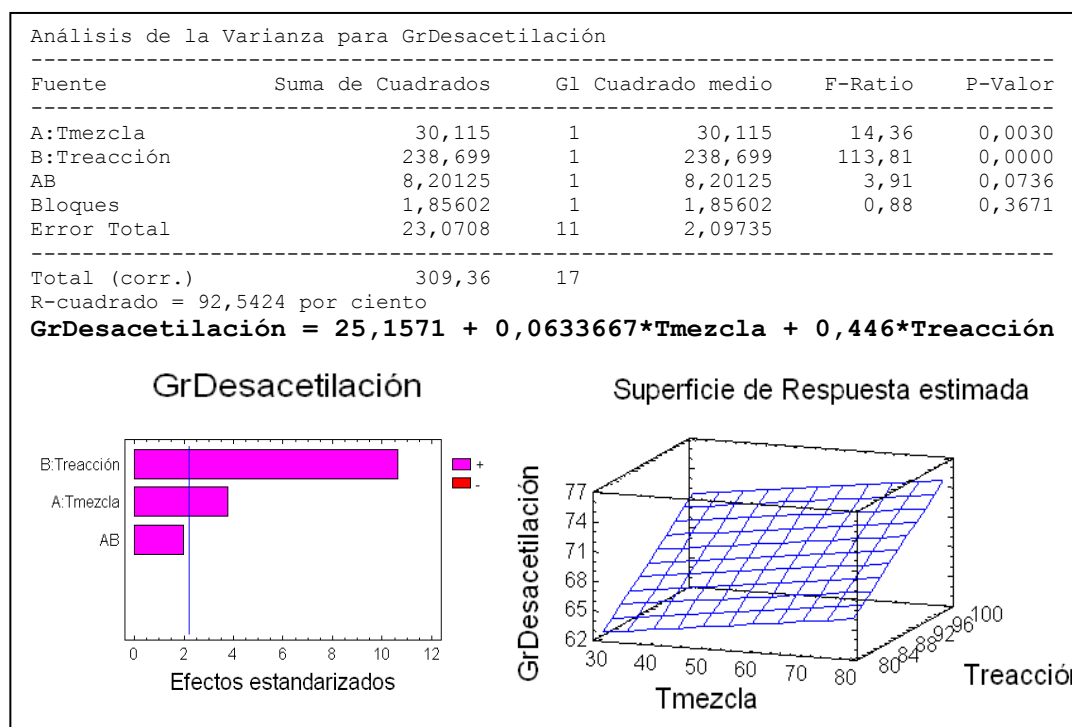


Figura 1. Análisis del grado de N-desacetilación para la optimización del proceso tecnológico

Teniendo en cuenta el análisis de varianza y diagrama de *Pareto*, se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el grado de desacetilación del quitosano, siendo en este caso positiva, lo cual se evidencia a través de los valores de $p < 0,05$. Además, se aprecia que no existe interacción entre las temperaturas de mezcla y la de reacción.

A partir del gráfico de superficie respuesta fue seleccionado el mejor ensayo tecnológico correspondiente con el nivel alto para cada uno de los factores estudiados, obteniendo quitosanos con el mayor grado de N-desacetilación (76,81%). Generalmente, los quitosanos comerciales presentan un porcentaje de desacetilación mínimo de 60% [2]. Los procedimientos usuales de desacetilación termoalcalina de la quitina permiten lograr productos desacetilados en un 75–85%. La obtención de quitosanos, solubles en ácidos diluidos (generalmente con más del 70% de grado de desacetilación) constituye, por lo tanto, un criterio de la calidad del proceso de obtención de los quitosanos estudiados.

En la Figura 2, se presenta el análisis estadístico realizado con los resultados del grado de desacetilación de los quitosanos obtenidos a escala de banco, piloto e industrial.

Método:	95.0 porcentaje	LSD	
	Frec.	Media	Grupos
INDUSTRIAL	3	77.3333	X
BANCO	3	78.1167	X
PILOTO	3	81.9033	X
Contraste			Diferencia
BANCO - PILOTO			-3.7866
BANCO - INDUSTRIAL			0.7833
PILOTO - INDUSTRIAL			4.57

* indica una diferencia significativa.

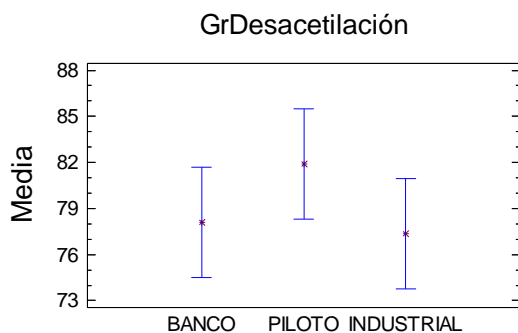


Figura 2. Análisis del grado de N-desacetilación del quitosano en las diferentes escalas.

Como se observa no existen diferencias significativas entre los valores del grado de N-desacetilación de los quitosanos obtenidas a escala de banco, piloto e industrial, comprobándose la reproducibilidad de la reacción de desacetilación termoalcalina de la quitina en las condiciones óptimas establecidas. En la Figura 3 puede observarse la consistencia del proceso tecnológico a través del cálculo del rendimiento. El valor promedio para la escala de banco fue de 57,7, 59,5 para el nivel piloto y 54% para el industrial, que según *Hernández et al.* [2] se considera una transformación sintética eficiente, no existiendo diferencias significativas entre las medias para un nivel de confianza de 95.0%.

Espectroscopia IR. La Figura 4 muestra los espectros de absorción correspondientes al biopolímero obtenido a escala de banco, piloto e industrial. Se exhiben las bandas de los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosano, evidenciándose la aparición a 1.637 cm^{-1} de la banda del grupo amino, así como las correspondientes a los grupos OH y N-H a 3.433 cm^{-1} y 2.915 cm^{-1} , respectivamente. Además, se aprecian las bandas del grupo C-H a 2.855 cm^{-1} , grupo piranósico a 1.077 cm^{-1} y grupo C-O-C a 1028 cm^{-1} . Este comportamiento se corresponde con lo planteado por *Hidalgo et al.* [9]; *Nieto* [15] y *Fernández et al.* [16].

El análisis mediante IR mostró similitud en los espectros para cada una de las muestras, confirmando con estos resultados que el escalado no afectó la identidad del producto, pues

independientemente de la etapa de escalado, se mantienen las bandas de los grupos funcionales más importantes, demostrándose así que la quitina se transformó en una nueva materia prima: quitosano.

Método:	95.0	porcentaje	LSD
		Frec.	Media

INDUSTRIAL	3		54.0
BANCO	3		57.7333
PILOTO	3		59.5667

Contraste			Diferencia

BANCO - PILOTO			-1.83333
BANCO - INDUSTRIAL			3.73333
PILOTO - INDUSTRIAL			5.56667

* indica una

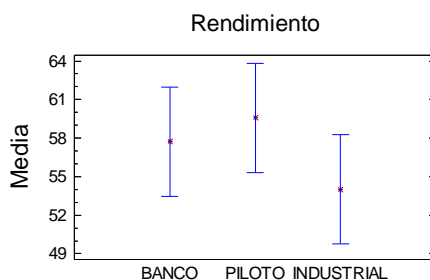


Figura 3. Análisis del rendimiento en las diferentes escalas

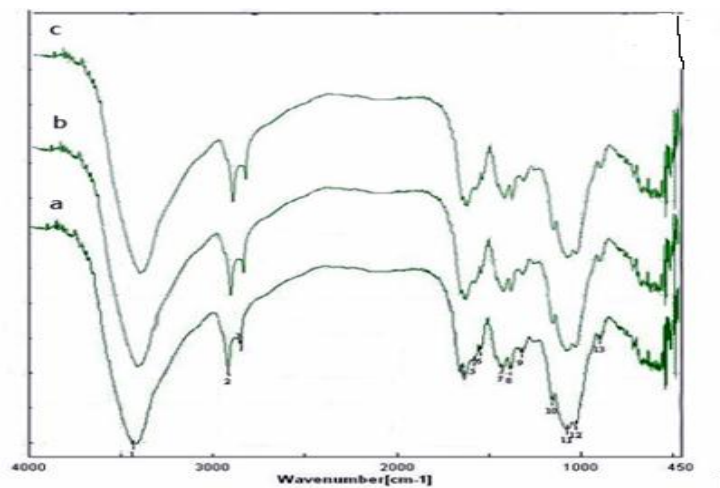


Figura 4. Espectro de absorción del quitosano cubano (a: banco, b: piloto, y c: industrial)

Difracción de rayos-X. La Figura 5, muestra el difractograma del lote industrial. Se observa un máximo de difracción más intenso, aproximadamente a 20° (2θ), que el observado alrededor de 10° (2θ). La forma hidratada del quitosano presenta dos reflexiones, a 10° y aproximadamente a 20° , la forma anhidra exhibe un pico en 2θ cerca de 15° [6]. Tras el análisis del difractograma obtenido, se puede apreciar que la muestra de quitosano presenta fase cristalina y amorfa, lo cual coincide con lo reportado por *Hidalgo et al.* [9] y *Prashant et al.* [17]. Al igual que en la quitina, las moléculas de quitosano en estado sólido están organizadas en regiones cristalinas, y coexisten con regiones

amorphas, por lo que se demuestra la estabilidad de la estructura del biopolímero como resultado del tratamiento de desacetilación heterogénea termoalcalina escalado. Resultados similares fueron obtenidos a escala de banco y piloto.

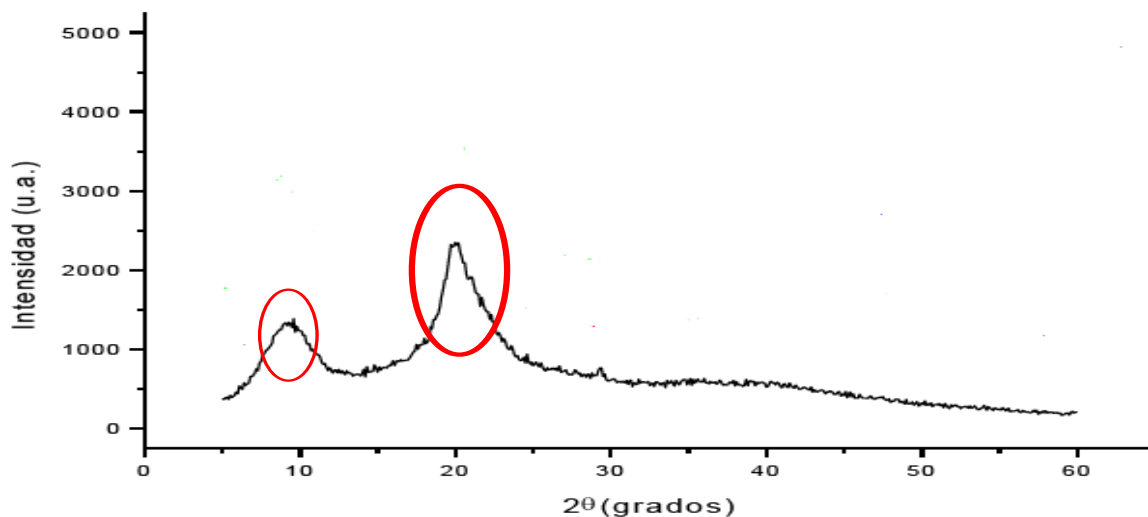


Figura 5. Diffractograma de rayos-X del quitosano.

Análisis térmico diferencial (DSC). La Figura 6 muestra el comportamiento térmico del lote industrial, característico de la estructura polimérica del quitosano, corroborándose lo reportado por *Hidalgo et al.* [9]. Resultados similares fueron obtenidos a escala de banco y piloto.

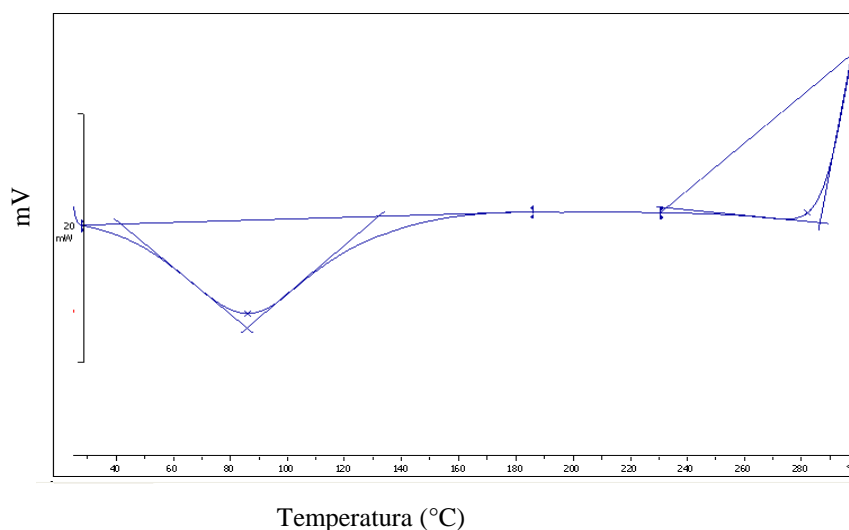


Figura 6. Termograma del quitosano.

Microscopia electrónica de barrido (SEM). La micrografía de microscopia electrónica de barrido (SEM) de las partículas se muestra en la Figura 7. El quitosano derivada de la quitina de langosta presenta forma irregular y tamaño heterogéneo, observándose partículas asimétricas.

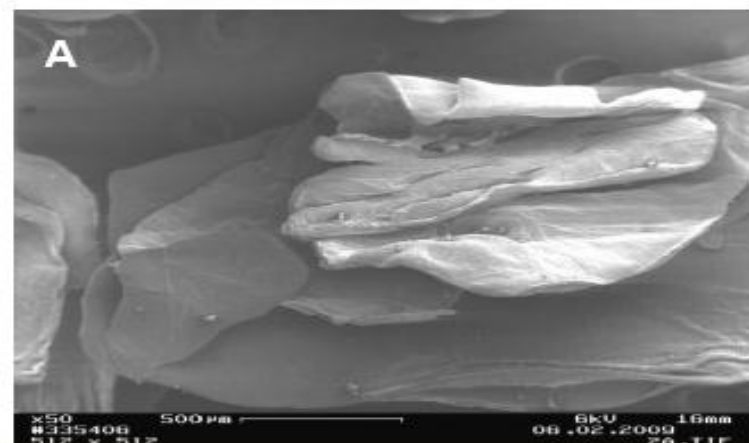


Figura 7. Fotomicrografía electrónica de barrido del quitosano

Resultados de la cuantificación de microelementos. En la Tabla 5 se muestran los resultados de la determinación de microelementos por espectrometría de absorción atómica, de los quitosanos obtenidos a escala de banco, piloto e industrial, evidenciándose que el calcio es el elemento mayoritario, resultados acordes con lo obtenido por *Hidalgo et al.* [9]. Las cantidades de los iones metálicos estuvieron en los rangos aceptados para uso farmacéutico, según la USP 33 [14], pudiéndose afirmar que el quitosano obtenida por esta vía tiene calidad farmacéutica.

Tabla 5. Valores del contenido de microelementos.

<i>Metal</i>	<i>Concentración (µg/g)</i>		
	<i>Banco</i>	<i>Piloto</i>	<i>Industrial</i>
Mg	67,81	62,12	62,40
Ca	395,59	384,54	332,45
Na	106,14	111,89	134,87
K	<1,00	<1,00	<1,00
Zn	8,47	8,73	8,00
Fe	<1,00	<1,00	<1,00
Mn	<0,50	<0,50	<0,50
Cu	1,93	2,05	3,10
Pb	<0,50	<0,50	<0,50
Cd	<0,10	<0,10	<0,10
Co	<0,50	<0,50	<0,50

Resultados del grado de N–desacetilación, porcentaje de cenizas, humedad y material insoluble. El escalado del proceso de obtención de quitosano, y sus efectos sobre el grado de N–desacetilación, porcentaje de cenizas, contenido de humedad y material insoluble, mostró los resultados que aparecen en la Tabla 6. En la misma se incluyen valores reportados para muestras

comerciales de quitosano de alta (HMW) y media masa molecular (MMW) (Aldrich, USA).

Tabla 6. Grado de N–desacetilación, porcentaje de cenizas, humedad y material insoluble del quitosano obtenido en diferentes escalas y de muestras comerciales

<i>Muestra</i>	<i>Grado de N–desacetilación (%)</i>	<i>Cenizas (%)</i>	<i>Humedad (%)</i>	<i>Material insoluble (%)</i>
Quitosano (escala banco)	76,85 ± 0,30	0,73 ± 0,01	7,50 ± 0,20	0,98 ± 0,01
Quitosano (escala piloto)	88,21 ± 0,02	0,80 ± 0,02	9,20 ± 0,05	1,05 ± 0,01
Quitosano (escala industrial)	79,90 ± 0,03	0,68 ± 0,08	6,80 ± 0,40	0,97 ± 0,02
HMW	79,00*	0,48*	11,69*	0,34*
MMW	81,40*	0,61*	13,67*	0,94*

* Datos del proveedor

El grado de N–desacetilación de las muestras de quitosano a escala de banco, piloto e industrial fue mayor del 70%, mientras que el contenido de cenizas fue superior al de las muestras comerciales, corroborándose lo planteado por *Hidalgo et al.* [9]. Estos valores están influenciados por la presencia de impurezas de tipo mineral (calcio), resultados acordes con el contenido calcáreo característico del exoesqueleto de la langosta. Además del origen, depende también de las propiedades y condiciones de obtención del quitosano, debido a la relación directa que existe entre la concentración de la disolución de NaOH y su viscosidad, facilitando en mayor o menor medida la retención de impurezas. No obstante, el valor obtenido es menor del 1%, límite establecido para este parámetro en las especificaciones de calidad de las muestras comerciales HMW y MMW [12], evidenciándose su calidad farmacéutica.

Con la eliminación de grupos acetilo, como resultado de la desacetilación termoalcalina de la quitina, la cantidad de grupos aminos libres en la cadena polimérica aumentan, por lo tanto es de esperar una mayor capacidad de absorción de agua en el quitosano, en la que se distinguen tres sitios de humedad predominantes (grupos hidroxilos libres de las cadenas, grupos aminos y el final de la cadena polimérica, compuesta por un grupo hidroxilo ó aldehído), además de su estructura porosa con regiones cristalinas y amorfas que facilitan la absorción del agua en su superficie [9,18]. Las condiciones de secado a escala de banco, piloto e industrial permitieron obtener un producto con una pérdida por desecación menor del 10% [12]. Dadas sus características estructurales e higroscopicidad después de secada, es importante almacenarla en recipientes cerrados y protegidos de la humedad.

La concentración de material insoluble es superior a la de las muestras comerciales, resultado que coincide con lo reportado por *Hidalgo et al.* [9]. Tomando en consideración la presencia de material inorgánico se puede justificar este resultado, así como la composición de microelementos de los quitosanos obtenidos y el origen del material de partida.

Evaluación microbiológica. El conteo de bacterias arrojó un valor de 40 UFC/g para el lote elaborado a escala de banco y 23 UFC/g para el piloto e industrial, mientras que el conteo de hongos resultó menor de 10 UFC/g con ausencia de microorganismos patógenos para los quitosanos obtenidas en las tres escalas. Por lo que, se satisfacen los límites establecidos por la USP 33 [14] para materias primas no estériles de uso farmacéutico.

CONCLUSIONES

Se optimizó un proceso tecnológico para la obtención de quitosano, a partir de quitina de langosta, demostrándose mediante un diseño experimental la influencia que sobre el proceso tenían la temperatura de mezcla y reacción. Una velocidad de agitación de 226 r/min (escala banco) y 58 r/min (escala piloto e industrial), temperatura de mezcla de 80°C y reacción de 100°C, lavado con agua hasta neutralidad, y un tiempo de secado de 8 horas a 60°C, fueron las condiciones óptimas del proceso para la obtención del quitosano. Se demostró la homogeneidad de las propiedades en los lotes a escala de banco, piloto e industrial, así como la consistencia y factibilidad del proceso tecnológico establecido.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] García T, Roca JM, *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial*, **11**, 24–32 (2008)
- [2] Hernández H, Águila E, Flores O, Viveros EL, Ramos E, *Superficies y Vacío*, **22**(3), 57 (2009)
- [3] Singla AK, Chawla M, *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**, 1047–1067 (2001)
- [4] Kurita K “Chemical modifications of chitin and chitosan” en Muzzarelli C, Jeuniaux GW, *Chitin in Nature and Technology*. New York (USA): Gooday Eds., 1986, p. 287–293.
- [5] Roberts GAF “Structure of chitin and chitosan” en *Chitin Chemistry*. New York (USA): Macmillan Press, 1992, p. 1–100.
- [6] Peniche CC. *Estudios sobre Quitina y Quitosana*, Tesis Doctoral. Habana, Cuba. Facultad de Química, Universidad de la Habana, 2006.
- [7] Lárez C, *Avances en Química*, **1**(2), 15 (2006)
- [8] Parada L, Crespín G, Miranda R, Katime I, *Rev. Latinoam. Polím.*, **5**, 1 (2004)
- [9] Hidalgo C, Fernández M, Nieto OM, Paneque AA, Fernández G, Llopiz JC, *Rev. Iberoam. Polim.*, **10**, 11 (2009)
- [10] Henriques RD, Nieto OM “Método para la obtención de quitina suficientemente pura”. Patente Cubana No. 20760 (1980)
- [11] Hidalgo C, Suarez Y, Fernández M, *Ars. Pharm.*, **49**(3), 245 (2008)
- [12] Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, “Chitosan” en “Handbook of Pharmaceutical Excipients”. Sexta Edición. Pharmaceutical Press, Italia. 2009. Versión electrónica
- [13] Argüelles W, Heras Caballero A, Acosta N, Galed G, Gallardo A, Miralles B “Caracterización de quitina y quitosano” en “*Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones*”. Pastor de Abram A. (editor) Programa CYTED, CIAD y Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú,

Agosto 2004, p. 195–197.

[14] USP 33–NF 28. United States Pharmacopoeia 33. US Pharmacopoeia Convention, Inc. Washington DC. P: 254, 636, 716, (2010)

[15] Nieto OM “*Quitina. Su estudio y utilización como fármaco acelerador de La cicatrización*”. Tesis Doctoral. IFAL, Universidad de la Habana, Cuba 1993.

[16] Fernández M, Heinämäki J, Räsänen M, Maunu SL, Karjalainen M, Nieto OM, Iraizoz A, Yliruusi J, *Carbohydr. Polym.*, **58**, 401 (2004)

[17] Prashanth KVH, Kittur FS, Tharanathan RN, *Carbohydr. Polym.*, **50**, 27 (2002)

[18] Gocho H, Shimizub H, Taniokac A, Chouc TJ, Nakajimal T, *Carbohydr. Polym.*, **41**, 87 (2001)