



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL**

GABRIELA VIANA LIMA

**OBTENÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DA COMBINAÇÃO DE
DISTINTOS SUBPRODUTOS DE CRUSTÁCEOS**

VITÓRIA
2022

GABRIELA VIANA LIMA

**OBTENÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DA COMBINAÇÃO DE
DISTINTOS SUBPRODUTOS DE CRUSTÁCEOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável, na área de saneamento ambiental e saúde pública.

Orientador: Prof. Dr. Gilson Silva Filho.

VITÓRIA
2022

GABRIELA VIANA LIMA

OBTENÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DA COMBINAÇÃO DE DISTINTOS SUBPRODUTOS DE CRUSTÁCEOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável (Modalidade Profissional) da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável na área de concentração em Sustentabilidade, Ambiente e Sociedade e linha de pesquisa em Saneamento Ambiental e Saúde Pública.

Aprovada em 25 de fevereiro 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. D.Sc. Gilson Silva Filho
Orientador – PPGES / CT / UFES

~

Prof. D.Sc. Gilton Luís Ferreira
Examinador Interno – PPGES / CT / UFES

Prof. D.Sc. Michel de Souza Passos
Examinador Externo – MULTIVIX

Em conformidade com as normas prescritas na Portaria Normativa Nº. 08/2021 – PRPPG/UFES, a assinatura do examinador externo (Prof. D.Sc. Michel de Souza Passos) foi representada neste documento pela respectiva assinatura do presidente da sessão, Prof. D.Sc. Gilson Silva Filho. Ato contínuo, o Sr. Presidente da banca examinadora atesta que, a defesa foi realizada por meio de videoconferência, ou outro suporte eletrônico a distância equivalente.

Prof. D.Sc. Gilson Silva Filho
Orientador – PPGES / CT / UFES

ASSINATURAS (2)

Documento original assinado eletronicamente, conforme MP 2200-2/2001, art. 10, § 2º, por:

GILSON SILVA FILHO

CIDADÃO

assinado em 25/02/2022 15:59:36 -03:00

MICHEL DE SOUZA PASSOS

CIDADÃO

assinado em 25/02/2022 20:16:03 -03:00



INFORMAÇÕES DO DOCUMENTO

Documento capturado em 25/02/2022 20:16:04 (HORÁRIO DE BRASÍLIA - UTC-3) por GILSON

SILVA FILHO (CIDADÃO)

Valor Legal: ORIGINAL | Natureza: DOCUMENTO NATO-DIGITAL

A disponibilidade do documento pode ser conferida pelo link: <https://e-docs.es.gov.br/d/2022-GGKRRH>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo

Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por

GILTON LUIS FERREIRA - SIAPE 3143902

Departamento de Administração - DAd/CCJE Em

08/03/2022 às 21:20

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:

<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/373406?tipoArquivo=O>

Dedico à Sede de Sabedoria, Estrela da Manhã,
Porta do Céu, Rainha da Paz:
Nossa Senhora! Mãe de Deus e Minha!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser minha força e meu sustento durante toda esta jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilson Silva Filho, pela dedicação, comprometimento e paciência.

À minha família, principalmente meu pais, por apoiar meu sonho e sempre me ajudar.

À minha avó Popa, em especial, por sempre estar ao meu lado e fazer do meu sonho o sonho dela.

Ao meu namorado e melhor amigo Hugo, por estar ao meu lado em todos os momentos e sonhar junto comigo.

À todos os meus amigos que são tão importantes em minha vida e sempre torcem por mim.

Aos professores do PPGES e demais programas a qual tive o prazer de conviver neste período, por contribuírem com minha formação.

Ao Centro Universitário São Camilo –ES, por me permitir desenvolver as atividades práticas e ser a base da minha formação.

À FAPES pelo apoio financeiro.

Aos colegas que conheci no mestrado, que foram tão importantes durante essa jornada.

Aos meus amigos e a todos que, e modo geral, contribuíram com minha formação acadêmica e pessoal e com o desenvolvimento deste trabalho.

“Na Natureza, nada se cria, nada se perde, tudo se transforma.
(LAVOISIER, 1774)

RESUMO

O destino dos resíduos sólidos orgânicos produzidos durante o beneficiamento de crustáceos é o grande desafio da indústria pesqueira. Geralmente, estes resíduos são compostos por exoesqueleto (carapaça, cabeça e apêndices) de crustáceos, e correspondem a aproximadamente 70% do peso do animal. As bioconversões dos resíduos vêm sendo uma alternativa viável de reaproveitamento, pois são compostos por proteínas, minerais, pigmentos e quitina. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante da terra, e ao ser submetido a altas temperaturas em meio alcalino transforma-se em quitosana, um copolímero de alto valor comercial. O objetivo deste estudo foi obter quitosana por meio da combinação de distintas espécies de crustáceos. Desta forma adotou-se o método químico para obtenção de quitosana seguindo as etapas de: Pré-tratamento (lavagem, secagem e moagem), desmineralização, desproteínização, despigmentação e desacetilação. Foram aplicados tratamentos com variações na concentração de HCl (1,7%, 3%, 5% e 7%) na etapa de desmineralização. Os tratamentos foram aplicados em 32 amostras, sendo estas: camarão cinza, camarão sete-barbas, caranguejo, siri e lagostas e os resíduos combinados destes crustáceos. Os resultados obtidos a partir desta metodologia foram satisfatórios pois resultaram em quitosana com graus de desacetilação (GD) superiores a 90%, podendo ser observado a influência da concentração do HCl na etapa de desmineralização e na qualidade final da quitosana. A partir deste estudo outras metodologias podem ser testadas em diferentes concentrações de ácidos e variações de tempo e temperatura. Além de, estudos que possibilitem o desenvolvimento de métodos de produção industrial de quitosana, analisando a viabilidade do desenvolvimento desta atividade no Brasil.

Palavras chaves: Quitina; Biopolímero; Quitina desacetilada; Biomateriais; Desmineralização.

ABSTRACT

The destination of organic solid waste produced during the processing of crustaceans is the great challenge of the fishing industry. Generally, these residues are composed of exoskeleton (carapace, head and appendages) of crustaceans, and correspond to approximately 70% of the animal's weight. Waste bioconversions have been a viable alternative for reuse, as they are composed of proteins, minerals, pigments and chitin. Chitin is the second most abundant polysaccharide on earth, and when subjected to high temperatures in an alkaline medium, it transforms into chitosan, a copolymer of high commercial value. The objective of this study was to obtain chitosan by combining different species of crustaceans. Thus, the chemical method was adopted to obtain chitosan following the steps of: Pre-treatment (washing, drying and grinding), demineralization, deproteinization, depigmentation and deacetylation. Treatments with variations in HCl concentration (1.7%, 3%, 5% and 7%) were applied in the demineralization step. The treatments were applied to 32 samples, namely: gray shrimp, seven-bearded shrimp, crab, crab and lobster and the combined residues of these crustaceans. The results obtained from this methodology were satisfactory as they resulted in chitosan with degrees of deacetylation (DG) greater than 90%, and the influence of the concentration of HCl in the demineralization step on the final quality of chitosan could be observed. From this study, other methodologies can be tested in different concentrations of acids and variations in time and temperature. In addition, studies that enable the development of industrial chitosan production methods, analyzing the feasibility of developing this activity in Brazil.

Keywords: Chitin; Biopolymer; deacetylated chitin; Biomaterials; Demineralization.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Anatomia externa geral de um crustáceo decápode (BARNES, 1984)..... | 16 |
| Figura 2 - Fluxograma do processamento de camarão | 20 |
| Figura 3 - Fluxograma do processamento de caranguejo e siri. | 21 |
| Figura 4 - Fluxograma do processamento da lagosta..... | 21 |
| Figura 5 - Estrutura molecular da quitina (FARIAS et al., 2016). | 24 |
| Figura 6 - Formas da quitina (ROBERTS, 1992). | 24 |
| Figura 7 - Estrutura molecular da quitosana. | 25 |
| Figura 8 - Processo de extração química de quitina e quitosana..... | 32 |
| Figura 9 - Resumo do processo de seleção do portfólio bibliográfico | 37 |
| Figura 10 - Etapas do processo de obtenção de quitosana. | 41 |
| Figura 11 - Fator de impacto de parte das revistas selecionadas..... | 45 |
| Figura 12 - Quantidade de publicações por revista. | 46 |
| Figura 13 - Relação de países que têm publicado sobre a quitosana..... | 47 |
| Figura 14 - Relação de palavras-chaves. | 48 |
| Figura 15 - Aplicações da quitosana com diferentes pesos moleculares. | 50 |
| Figura 16 - Desvantagens dos métodos químicos e enzimáticos na obtenção de quitosana | 51 |
| Figura 17 – Análise estatística das médias da desmineralização por amostra. | 55 |
| Figura 18 - Médias de redução de minerais por tratamento..... | 57 |
| Figura 19 - Análise estatística da média de proteínas por amostra. | 59 |
| Figura 20 - Quitina após o processo de despigmentação..... | 60 |
| Figura 21 - Análise estatística das médias de pigmentos. | 60 |
| Figura 22 - Médias de quitina por amostra. | 61 |
| Figura 23 - Médias de GD por tratamento. | 63 |
| Figura 24 - Média de GD por amostra. | 63 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Aplicações e produtos a partir da quitosana. | 26 |
| Quadro 2 - Relação entre os parâmetros estruturais e as propriedades da quitosana..... | 29 |
| Quadro 3 - Principais técnicas utilizadas para determinação do grau de desacetilação. | 30 |
| Quadro 4 - Reagentes utilizados na obtenção de quitosana. | 38 |
| Quadro 5 - Equipamentos e materiais utilizados na obtenção de quitosana. | 39 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Produção de crustáceos (t) da pesca extrativa no Brasil (MPA, 2014)..... | 17 |
| Tabela 2 - Produção estimada Mundial e Brasileira de crustáceos referentes ao ano de 2018 (FAO, 2020). | 18 |
| Tabela 3 - Produção estimada de quitina a partir da produção aquícola de camarão em 2020..... | 19 |
| Tabela 4 - Composição nutricional média dos resíduos de crustáceos..... | 23 |
| Tabela 5 - Fontes de quitina. | 25 |
| Tabela 6 - Concentração de HCl por tratamento..... | 39 |
| Tabela 7 - Organização das amostras. | 40 |
| Tabela 8 - Condições de reação no processo de desmineralização. | 42 |
| Tabela 9 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de desmineralização. | 52 |
| Tabela 10 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de desproteínização..... | 52 |
| Tabela 11 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de despigmentação..... | 52 |
| Tabela 12 - Tabela ANOVA para comparação das médias de quitina. | 52 |
| Tabela 13 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de desacetilação. | 53 |
| Tabela 14 - Diferença mínima significativa entre as médias. | 53 |
| Tabela 15 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de camarões (<i>Litopenaeus Vannamei</i> e <i>Xiphopenaeus kroyeri</i>) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl..... | 54 |
| Tabela 16 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de siri (<i>Callinectes sapidus</i>) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl. | 55 |
| Tabela 17 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de caranguejo (<i>Ucides cordatus</i>) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl. | 56 |
| Tabela 18 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de lagosta (<i>Palinuridae Latreille</i>) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl. | 56 |
| Tabela 19 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de crustáceos combinados após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl. | 57 |
| Tabela 20 - Percentual de conteúdo proteico no material desmineralizado. | 58 |
| Tabela 21 - Determinação do grau pureza das amostras após o processo de desacetilação. | 62 |

LISTA DE SIGLAS

1. ABCC – Associação Brasileira de Criadores de Camarões
2. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
3. CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
4. CONANA - Conselho Nacional do Meio Ambiente
5. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations
6. SOFIA - The State of World Fisheries and Aquaculture
7. GD – Grau de desacetilação

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVOS | 15 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 15 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 15 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 3.1. CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DOS CRUSTÁCEOS | 15 |
| 3.2. PRODUÇÃO DE CRUSTÁCEOS | 16 |
| 3.3. PROCESSAMENTO DE CRUSTÁCEOS | 19 |
| 3.6. QUITINA E QUITOSANA | 23 |
| 3.6.1. Propriedades e aplicações da quitosana..... | 26 |
| 3.6.2. Características físico-químicas da quitosana | 28 |
| 3.6.3. Métodos de análise da qualidade da quitosana | 29 |
| 3.6.4. Obtenção da quitosana | 31 |
| 3.6.4.1. Desmineralização..... | 32 |
| 3.6.4.2. Desproteínização..... | 33 |
| 3.6.4.3. Despigmentação | 33 |
| 3.6.4.4. Desacetilação..... | 34 |
| 3.6.5. Industrialização e comércio de quitosana..... | 34 |
| 4. METODOLOGIA | 35 |
| 4.1. MAPEAMENTO BIBLIOMÉTRICO: ESTADO DA ARTE ACERCA DA QUITOSANA..... | 35 |
| 4.2. OBTENÇÃO DE QUITOSANA | 37 |
| 4.2.1. Matéria-prima..... | 38 |
| 4.2.2. Reagentes | 38 |
| 4.2.3. Equipamentos e materiais..... | 39 |
| 4.2.4. Organização das amostras | 39 |
| 4.2.5. Procedimentos..... | 40 |
| 4.2.6. Rendimento das amostras | 43 |
| 4.2.7. Análise das amostras quanto ao grau de desacetilação | 43 |
| 4.2.8. Análise estatísticas dos dados | 44 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 44 |
| 5.1. Dados Bibliométrico | 44 |
| 5.1.1. Caracterização dos estudos contidos no portfólio bibliográfico | 48 |
| 5.2. Obtenção de quitosana | 51 |
| 5.2.1. Desmineralização | 53 |
| 5.2.3. Despigmentação..... | 59 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 5.2.4. | Desacetilação | 61 |
| 5.2.5. | Titulação potenciométrica (análise da quitosana) | 62 |
| 6. | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 64 |
| 7. | RECOMENDAÇÕES | 64 |
| 8. | REFERÊNCIAS | 65 |

1. INTRODUÇÃO

O processamento de crustáceos está entre as práticas industriais que possuem alto potencial poluidor devido ao grande volume de resíduos sólidos orgânicos produzidos, promovendo acúmulo de milhares de toneladas destes resíduos todo ano (DECKER et al., 2016). Em 2018 a produção mundial de crustáceos foi de aproximadamente 5,12 milhões de toneladas (FAO, 2020). Onde o a produção de camarão representa 45% deste total, e os outros 55% se divide em outras espécies de crustáceos como lagostas, siris e caranguejos. Durante o processamento são removidos o exoesqueleto e o cefalotórax dos crustáceos, partes indesejadas ao consumo humano (DECKER et al., 2016). Estas partes representam de 50 a 70% do peso do crustáceo, e contém componentes valiosos como quitina, proteína e pigmentos (BAJAJ; WINTER; GALLERT, 2011; WANG; LIANG; YEN, 2011). No entanto, suas quantidades dependem das condições de processamento, das espécies, das partes do corpo, das variações sazonais e da idade do indivíduo (BAJAJ; WINTER; GALLERT, 2011; FAO, 2020; WANG; LIANG; YEN, 2011).

De modo geral, os resíduos provenientes da indústria de crustáceos são destinados a lixões e aterros sanitários e, em alguns casos, até em rios e mares, os tornando em um eminente problema ambiental, como pode ser observado no município de Piúma (Litoral Sul do Espírito Santo), onde os resíduos provenientes do processamento de crustáceos são descartados direto no canal fluvial, principalmente em nas regiões estuarinas, onde se localiza o cais desembarque de pescados, e a maioria das indústria de processamento e peixarias do município (LIMA et al., 2020).

O exoesqueleto dos crustáceos é a fonte de quitina mais importante para uso comercial devido ao seu alto conteúdo (15-40%) e disponibilidade. Portanto, o reaproveitamento dos resíduos de crustáceos pode se tornar uma alternativa de geração de renda para os pescadores e comunidades pesqueiras, além de evitar um dano ambiental com o descarte incorreto do exoesqueleto (GORTARI; HOURS, 2013).

A quitina e seu derivado quitosana, obtidas do exoesqueleto dos crustáceos, apresentam propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividades antimicrobiana, antitumoral e baixa toxicidade e alergenicidade, que proporcionam grandes perspectivas para aplicações nas áreas médicas, odontológicas e

farmacêuticas, na agricultura e na indústria alimentícia e de cosméticos (ARBIA et al., 2013a; KNIDRI et al., 2018; MASUELLI; RENARD, 2017). Também é indicado para processos de tratamento e descontaminação de efluentes industriais (ALCANTARA, 2011; SINGLA; CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007).

O maior obstáculo para o aumento do uso desses biopolímeros em diversas indústrias é o custo relativamente alto de seu processo de fabricação e a geração de resíduos químicos potencialmente danosos ao meio ambiente (GORTARI; HOURS, 2013; SINI; SANTHOSH; MATHEW, 2007).

Diferentes métodos de obtenção de quitosana a partir de crustáceos são descritos na literatura. O método convencional amplamente utilizado é o químico (GÓMEZ-RÍOS; BARRERA-ZAPATA; RÍOS-ESTEPA, 2017; PACHAPUR et al., 2016). Este método consiste em pré-tratamento (lavagem, secagem e moagem), desmineralização com ácidos fortes, desproteínização com soluções alcalinas de hidróxido de sódio e despigmentação com hipoclorito de sódio, etanol ou água oxigenada. O produto resultante destes processos químicos é o biopolímero quitina, contendo baixíssimo conteúdo mineral, proteico e pigmentos, após estas etapas a quitina é submetida ao processo de desacetilação (DÍAZ-ROJAS et al., 2006; GORTARI; HOURS, 2013).

A desacetilação ocorre através da reação de hidrólise alcalina dos grupos acetamida (NHCOH_3) em amina (NH_2), normalmente por soluções alcalinas altamente concentradas (40-50%) de hidróxido de sódio ou potássio e em temperaturas que variam entre 80 a 100°C, por meio deste processo a quitina é convertida copolímero quitosana (DUN et al., 2019). Quando grau de desacetilação for acima de 50% pode-se identificar o material como quitosana, este torna-se solúvel em soluções aquosas ácidas e se comporta como um polieletrólito catiônico, devido à protonação dos grupos amina em presença de íons H^+ (ABREU et al., 2013; DELEZUK, 2013; RINAUDO, 2006).

Embora a quitina seja componente de distintas fontes biológicas, a obtenção laboratorial e industrial deste biomaterial, de acordo com a literatura consultada, geralmente, ocorre a partir de exoesqueletos de crustáceos, principalmente de camarão e caranguejo. No entanto, os métodos de obtenção descritos ocorrem de forma isolada, onde utilizam-se concentrações de soluções e tempos de reação específicos de acordo com cada espécie. Neste sentido, surge a questão norteadora

deste trabalho: seria possível obter quitosana com a utilização combinada de distintos crustáceos e manter o mesmo padrão da quitosana obtida isoladamente?

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Obter quitosana por meio de fontes combinadas de diferentes crustáceos com alto grau de desacetilação.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter um mapeamento Bibliométrico a respeito do estado da arte das pesquisas voltadas para as aplicações da quitosana e sua obtenção partir de fontes combinadas;
- Obter quitosana a partir da combinação de camarões, siris, caranguejos e lagostas;
- Analisar a qualidade da quitosana obtida a partir de diferentes concentrações de HCl no processo de desmineralização;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

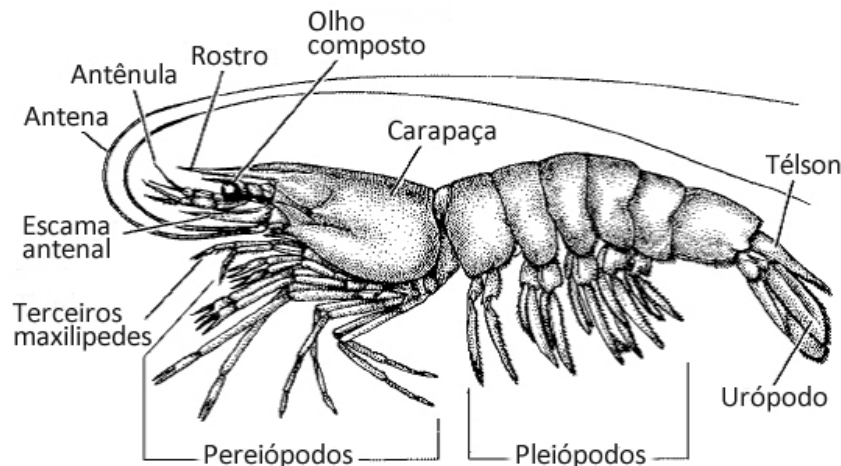
3.1. CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DOS CRUSTÁCEOS

Os artrópodes são animais que pertencem ao Filo Arthropoda, que se destaca pela presença de apêndices articulados e um exoesqueleto quitinoso, que protege o corpo do animal contra predadores e perda de água. Este grupo é muito rico em espécies, possuindo mais de um milhão de espécies descritas (BARNES et al., 2005). Os crustáceos são exemplos de artrópodes, e compreendem aproximadamente 68.000 espécies descritas a nível mundial, com 2.500 espécies registradas no Brasil, ocupando predominantemente o ambiente marinho (AMARAL e JABLONSKI, 2005). A ordem dos decápodes (camarão, caranguejo, lagostas e siris) destacam-se pelo grande número de espécies e pela alta relevância como fonte de alimento e renda (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

Em todos os decápodes, os primeiros três pares de apêndices torácicos são modificados e ligados à mastigação (maxilípedes) e os cinco restantes para a

locomoção, por isso o nome decápode. Nos decápodes nadadores, o abdômen possui apêndices com longas sedas que funcionam como órgãos natatórios. Na maioria dos casos, os sexos são separados e os gametas são expelidos pelos órgãos genitais masculinos e femininos. A fecundação, na maioria dos casos, é externa e os ovos fecundados ficam fixados no pleiopodos (Figura 1).

Figura 1 - Anatomia externa geral de um crustáceo decápode (BARNES, 1984).



A presença de um exoesqueleto nos crustáceos faz com que os indivíduos realizem mudas periódicas a fim de permitir o crescimento corporal. Esse processo também é chamado de ecdise. O exoesqueleto dos crustáceos é constituído por proteínas, sais de cálcio, pigmentos e quitina (BARNES, 1984). Devido a esta característica o exoesqueleto, que é um subproduto proveniente da indústria pesqueira, tem sido alvo de muito interesse comercial, pois seus componentes podem ser recuperados e aplicados em distintas áreas (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

3.2. PRODUÇÃO DE CRUSTÁCEOS

Segundo a edição 2020 do Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (SOFIA, 2020), divulgado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2020), o Brasil é um dos poucos países que não encaminham dados de produção (captura e aquicultura), por isso a Organização se vê obrigada a fazer estimativas sobre nossa produção desde 2014.

O último boletim oficial da pesca e aquicultura brasileira, realizado em 2011, registrou uma produção total de 1,4 milhões de toneladas de pescados, de acordo com os

dados o Estado de Santa Catarina destacou-se como o maior produtor de pescado do país com 13,6% (194.866,7 t), seguido do estado do Pará com 10,7% (153.332,3 t), o Espírito Santo esteve com uma representatividade de 1,87% (26.816,3 t) no total produzido (MPA, 2014).

Na pesca extrativa, segundo dados do Censo de 2011, a produção total de crustáceos foi de 63,1 mil toneladas (tabela 1), e as espécies mais capturadas foram o camarão-sete-barbas (*Phopenaeus kroyeri*) e Camarão-rosa (*Penaeus paulensis*), representando um total de 26,88% e 18,01%, respectivamente (MPA, 2014).

Tabela 1 - Produção de crustáceos (t) da pesca extrativa no Brasil (MPA, 2014).

| Espécie | Produção (t) | Produção (%) |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| Aratu | 94,1 | 0,15% |
| Camarão | 4.720,3 | 7,53% |
| Camarão-barba-ruça | 3.180,5 | 5,07% |
| Camarão-branco | 4.115,7 | 6,50% |
| Camarão-rosa | 10.331,2 | 16,48% |
| Camarão-santana | 963,5 | 1,54% |
| Camarão-sete-barbas | 15.417,8 | 24,60% |
| Camarão-pitu | 5.779,5 | 9,22% |
| Caranguejo-uçá | 8.607,5 | 13,73% |
| Guaiamum | 89,6 | 0,14% |
| Lagosta | 6.929,2 | 11,05% |
| Lagostim | 162,5 | 0,26% |
| Siri | 2.292,9 | 3,66% |
| Outros | 440,2 | 0,70% |
| Total | 63.124,5 | |

Fonte: O autor.

Por não haverem dados oficiais da produção pesqueira e aquícola do Brasil, a FAO estimou que a produção de crustáceos em 2018 tanto a nível mundial quanto ao nível brasileiro finalizou em 15,8 e 0,11 milhões de toneladas, respectivamente (tabela 2). Atualmente, a China destaca-se como o maior produtor de crustáceos (FAO, 2020).

Tabela 2 - Produção estimada Mundial e Brasileira de crustáceos referentes ao ano de 2018 (FAO, 2020).

| Origem | Produção | |
|--------------------|-------------|----------------|
| | Mundial (t) | Brasileira (t) |
| Pesca | 6.488.840 | 53.500 |
| Aquicultura | 9.386.536 | 62.150 |
| Total | 15.875.376 | 115.650 |

Fonte: O autor.

A produção mundial oriunda da aquicultura vem mostrando crescimento ao longo dos anos. O Oriente Médio é o principal responsável pela produção mundial de camarões cultivados, sendo representado pela China que é considerada o maior produtor de pescados do mundo (FAO, 2020). Em 2016, a produção brasileira de camarão cultivado chegou a 52.200 toneladas e superou a de países como Japão (1.381 toneladas) e Noruega (13 toneladas).

Estima-se que o país deve registrar um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura até 2025, devido aos investimentos direcionados ao setor nos últimos anos desde 2016 (FAO, 2016). Segundo dados estatísticos da atividade aquícola apresentados pela ABCC (Associação Brasileira de Criadores de Camarão) em 2019, o Brasil produziu cerca de 90 mil toneladas de crustáceos, com destaque a espécie camarão-branco do pacífico (*Litopenaeus vanammei*), que detém 95% da carcinicultura no país. Entre os estados produtores, o Ceará apresenta o maior índice e produção, sendo responsável por 65,7% do total produzido (ABCC, 2020).

De acordo com os dados mais atuais da ABCC o Brasil produziu no ano de 2020 aproximadamente 112 mil toneladas de camarão, este dado demonstra um importante avanço desta atividade aquícola no país. Em relação ao aproveitamento dos subprodutos dos crustáceos descartados a partir dessa produção, não se obtém dados oficiais, contudo, pode-se estimar a partir de estudos anteriores que 50-70% do animal é descartado após o processamento (DECKER et al., 2016), e este material descartado pode conter de 15-40% de quitina, que pode ser convertida em quitosana de alto valor agregado (Tabela 3) (SANNAN; KURITA; IWAKURA, 1975; YOUNES; RINAUDO, 2015).

Tabela 3 - Produção estimada de quitina a partir da produção aquícola de camarão em 2020.

| Dado | Percentual | Peso (mil toneladas) | Referência |
|--------------------------------------|-------------------|-----------------------------|--|
| Produção de crustáceos | - | 112 | FAO, 2020 |
| Produção estimada de resíduos | 50-70% | 56-78,4 | Decker et al., 2016 |
| Produção estimada de quitina | 15-40% | 8,4-31,36 | Sannan; Kurita; Iwakura, 1975; Younes; Rinaudo, 2015 |

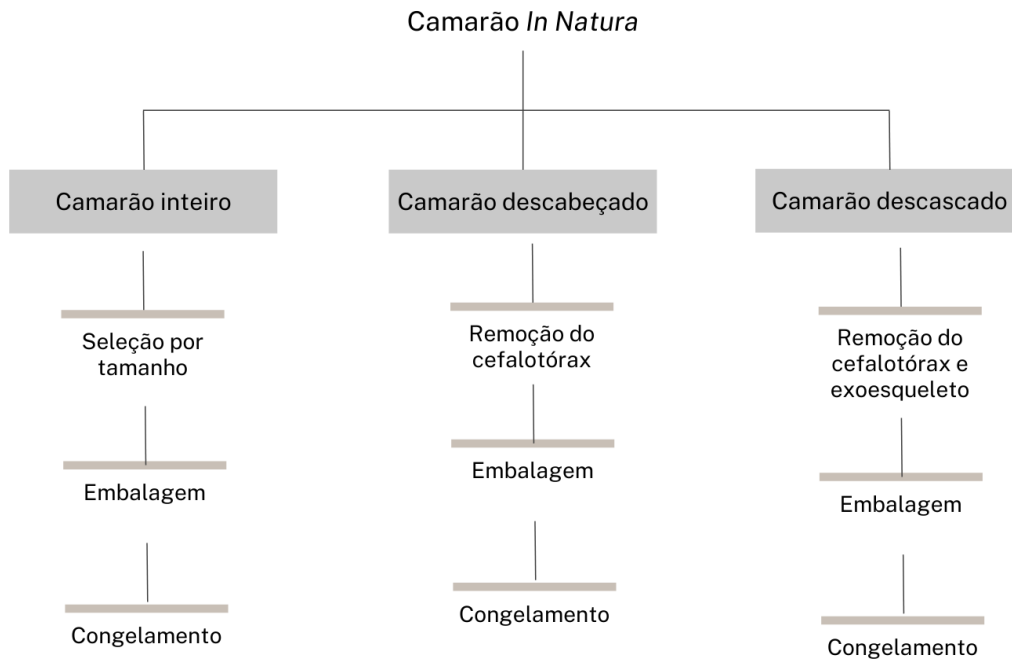
Fonte: O Autor, 2022

3.3. PROCESSAMENTO DE CRUSTÁCEOS

O processamento industrial busca, principalmente, a transformação de matéria-prima em um produto de maior aceitação comercial. Contudo, geram-se resíduos de origem não intencional com potencial risco de contaminação ambiental, principalmente quando dispostos inadequadamente (FREIRE et al., 2000; VILLEN, 2001). Na industrialização de crustáceos produz-se uma grande quantidade de resíduo rico em matéria orgânica, sendo então, considerado altamente perecível, pois grande parte do corpo dos animais (exoesqueleto) não é destinada ao consumo humano.

O camarão é o principal crustáceo processado, e este pode ser comercializado inteiro, sem cabeça ou totalmente descascado (Figura 2). Devido à exigência do consumidor, o camarão na sua maioria está sendo comercializado sem cabeça, demanda essa que promove uma quantidade crescente de resíduo, tornando a unidade de processamento um verdadeiro “lixo orgânico” (FERNANDES, 2009).

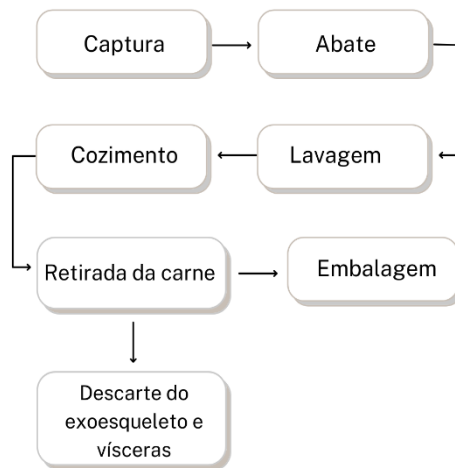
Figura 2 - Fluxograma do processamento de camarão



Fonte: Adaptado (SANTOS-JUNIOR, 2018)

O processo de beneficiamento de siris e caranguejos, realizado geralmente de forma artesanal e em estabelecimentos não licenciados (residências ou no próprio ambiente de captura) inicia com a captura dos indivíduos no manguezal (tiração) e/ou na fauna acompanhante da pesca de camarão, passando pelo cozimento com água e sal (salmoura), até a separação da carne dos animais de seu exoesqueleto (catação) (BRABO, 2009). Por fim a carne é armazenada em embalagens plásticas para a comercialização (Figura 3).

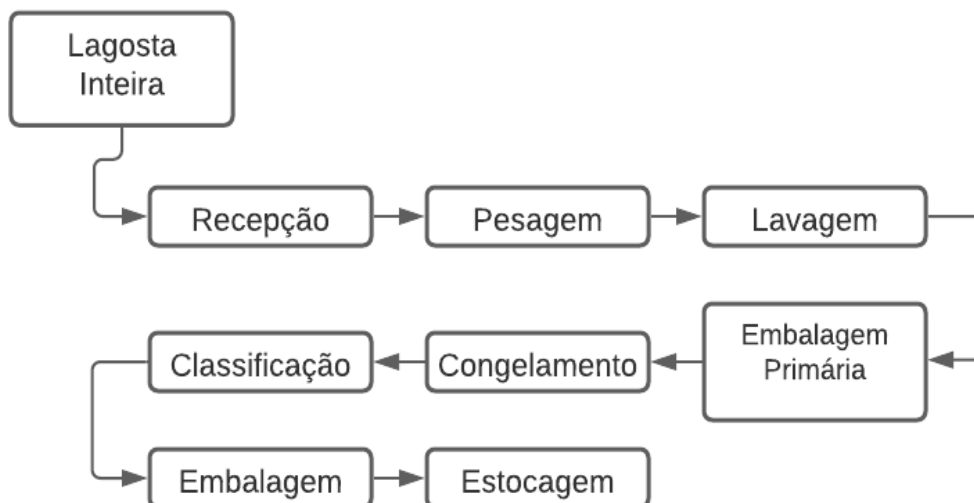
Figura 3 - Fluxograma do processamento de caranguejo e siri.



Fonte: Adaptado (BRABO, 2009).

As lagostas são importantes crustáceos, de alto valor comercial, mas o volume de produção é pouco rastreado. Em seu processo industrial não são produzidas grandes quantidades de resíduos se comparado com as espécies de camarão, caranguejo e siri, pois, em geral, a lagosta é comercializada inteira, sendo manipulada apenas para pesagem, lavagem, classificação e embalagem (Figura 4) (SILVA, 2018). Contudo, após serem consumidas em residências e/ou restaurantes descartam-se as cascas do animal, resultando no acúmulo de resíduos sólidos orgânicos que poderia ser aproveitado para a retirada da quitina e produção da quitosana.

Figura 4 - Fluxograma do processamento da lagosta.



Fonte: Adaptado (SILVA, 2018).

3.4. SUBPRODUTOS DE CRUSTÁCEOS

Segundo Kanamaru et al. (2013), transformar os materiais descartáveis e poluentes em subprodutos com valor agregado é a base para o desenvolvimento sustentável. Logo, reduzir o uso inconsciente de matéria-prima para evitar desperdícios e promover a reciclagem dos resíduos são condições essenciais para a garantia de processos mais econômicos e com menor impacto ambiental (KANAMARU et al., 2013).

Em muitos casos os exoesqueletos dos crustáceos são descartados em áreas adjacentes às instalações industriais, que gradualmente vai gerando sérios problemas de poluição ambiental (GÓMEZ-RÍOS; BARRERA-ZAPATA; RÍOS-ESTEPA, 2017). Estes descartes apresentam grande concentração de material orgânico, e quando há o lançamento em quantidade deste tipo de material, por ser oxidável, as bactérias aeróbias, para estabilizarem o material orgânico presente, passam a utilizar o oxigênio disponível no meio aquático, reduzindo sua concentração na água, podendo, com isso, provocar a morte por asfixia de peixes e outros animais aeróbios (VILARINHO et al., 2017).

Segundo a NBR 10.004 (ABNT, 1987), os resíduos de pescados, incluindo o grupo dos crustáceos, são classificados como: Perigosos (apresentam propriedades físicas, químicas ou infectocontagiosas, que oferecem risco à saúde pública e ao meio ambiente) e Não Inertes (possuem propriedades como combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água, como resíduos de pescado não contaminados). Geralmente, os resíduos Não Inertes são os que apresentam maior potencial para implantação de tecnologias de reaproveitamento nas agroindústrias (KANAMARU et al., 2013)

A Resolução nº 313 de 29 de outubro de 2002, publicada pelo CONAMA, dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais, e tem como finalidade fomentar a política de gestão dos resíduos, de modo a considerar que todo resíduo sólido industrial gerado pela indústria seja objeto específico de controle, fazendo parte do processo de licenciamento ambiental dos empreendimentos (BRASIL, 2002).

A partir dos crustáceos obtêm-se vários subprodutos, como a quitina e a quitosana, rações, farinhas, fertilizantes ou adubos orgânicos, produtos químicos e, ainda, o

aproveitamento de produtos funcionais, óleo rico em ômega 3 (DIAS et al., 2013; PIRES et al., 2015).

3.5. COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DOS SUBPRODUTOS DE CRUSTÁCEOS

Em geral os resíduos descartados na indústria de processamento de crustáceos são compostos por 20-40% de proteínas, 20-50% de carbonato de cálcio (cinzas) e 15-40% de quitina. Em menor quantidade também se podem extrair pigmentos carotenoides e enzimas (KURITA, 2006; NUÑEZ GÓMEZ, 2014; SHAHIDI; SYNOWIECKI, 1991). A composição média de resíduos de crustáceos está apresentada na tabela 4 com base nos estudos realizados por distintos autores.

Tabela 4 - Composição nutricional média dos resíduos de crustáceos

| Resíduo | Cinzas (%) | Proteínas (%) | Quitina (%) | Referências |
|-----------------|--------------|---------------|--------------|--|
| Camarão marinho | 31 – 36 | 35 – 45 | 15- 40 | Younes et al., 2014; Shi e Gauri, 2006 |
| Siri | 43 – 47 | 9 - 10 | 9 – 12 | Moura et al., 2006; Oduor-Odote et al., 2005 |
| Caranguejo | 60 – 75 | 10 – 15 | 14- 25 | Oliveira e Nunes, 2011; Campana-Filho, 2007 |
| Lagosta | 40 - 55 | 27 - 32 | 20-30 | Sayari et al., 2016; Campana-Filho, 2007 |
| Média | 43,5 - 53,25 | 14,5 - 25,5 | 14,5 – 21,75 | Autora, 2022 |

Fonte: O autor, 2022

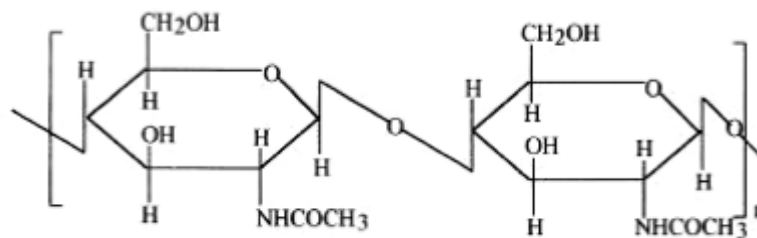
3.6. QUITINA E QUITOSANA

Por definição, os biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina e outras (BRITO et al., 2011; NIAOUNAKIS, 2013).

A quitina (β - (1 \rightarrow 4) - N-acetil-D-glucosamina) é um polissacarídeo natural de grande importância, foi obtida pela primeira em 1811 por Braconnot enquanto trabalhava com fungos (KNORR, 1991 apud SILVEIRA, 2013). Posteriormente, a presença de quitina foi identificada na carapaça do caranguejo, de onde surgiu a hipótese que o biopolímero seria um componente básico presente no exoesqueleto dos artrópodes, sendo esta, comprovada em estudos seguintes. É o segundo biopolímero mais

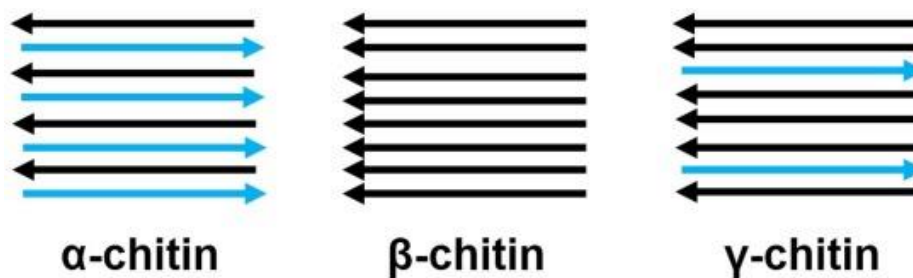
abundante da terra, perdendo apenas para a celulose. Ela está presente no exoesqueleto dos artrópodes como um dos principais constituintes, e na parede celular de alguns fungos (SANNAN; KURITA; IWAKURA, 1975). Este polissacarídeo de cadeia linear é formado por unidades de N-acetil-D-Glucosamina, que se interligam por ligações glicosídicas (Figura 5). É um material atóxico, biodegradável e insolúvel em água e em muitos solventes orgânicos (RINAUDO, 2006; MOURA et al., 2007).

Figura 5 - Estrutura molecular da quitina (FARIAS et al., 2016).



A quitina pode ser encontrada em diferentes formas cristalinas como a α -quitina; a β -quitina e a γ -quitina de acordo com os alinhamentos antiparalelo, paralelo e alternado das cadeias de polímero (Figura 6). A α -quitina é geralmente obtida a partir de exoesqueletos de crustáceos, especialmente de camarões e caranguejos; A β -quitina pode ser isolada de lulas; A γ -quitina é obtida de fungos e leveduras (ROBERTS, 1992).

Figura 6 - Formas da quitina (ROBERTS, 1992).



Diferentes organismos apresentam distintas quantidades de quitina e isso pode estar relacionado com a própria constituição biológica dos organismos, assim como, o habitat e sazonalidade dos ecossistemas dos quais ocorrem (Tabela 5). Contudo, as principais fontes comerciais de quitina são as cascas de caranguejo e camarão (YOUNES; RINAUDO, 2015).

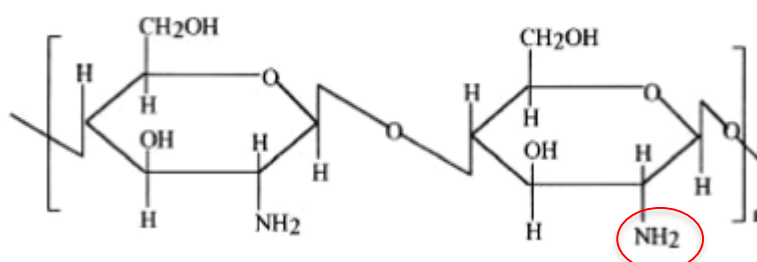
Tabela 5 - Fontes de quitina.

| Fonte | Quitina (%) |
|------------|-------------|
| Camarão | 30-40 |
| Caranguejo | 15-30 |
| Krill | 20-30 |

Fonte: Modificado de Kurita, 2006.

O principal derivado da quitina é o copolímero quitosana (N-glucosamina), obtida a partir da hidrólise alcalina da quitina, processo denominado como desacetilação (ARASUKUMAR et al., 2019). Após o processo, a cadeia estrutural da quitina passa a ter um número maior de grupos amina, caracterizando-se como quitosana (Figura 7). A solubilização ocorre por protonação da função Amina (NH_2) na posição C-2 do D- unidade de repetição de glucosamina, em que o polissacarídeo é convertido em polieletrólito em meio ácido. A quitosana é solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (FERREIRA, 2017; KURITA, 2006; PAULO et al., 2007).

Figura 7 - Estrutura molecular da quitosana.



Fonte: FARIAS et al., 2016

A matéria-prima quitosana é comercializada em forma de pó, e caracteriza-se considerando seus aspectos físicos (tamanho das partículas, solubilidade, densidade e viscosidade), químicas (massa molar, pH, grau de desacetilação, índice de cristalinidade, valor de retenção de água, níveis de metais pesados e proteínas) e biológicos (biocompatibilidade, apirogenicidade, citotoxicidade) (BESSA-JUNIOR; GONÇALVES, 2013; LORENA O. et al., 2017).

3.6.1. Propriedades e aplicações da quitosana

A quitosana é o único polissacarídeo catiônico que ocorre naturalmente e apresenta propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividades antimicrobianas, antitumoral, não toxicidade e é solúvel em meio ácido devido à presença de grupos aminos livres não protonados (GUPTA et al., 2020). Tais propriedades proporcionam grandes perspectivas para aplicações em distintas áreas, como: áreas médicas, odontológicas e farmacêuticas, na agricultura e na indústria alimentícia e de cosméticos (Quadro 1) (ARASUKUMAR et al., 2019; ARNAUD et al., 2017; CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007).

Quadro 1 - Aplicações e produtos a partir da quitosana.

| Setor | Atuação/Ação |
|-----------------------|---|
| Indústria | Estabilizantes de gorduras em preparações de alimentos; Estabilizante de aromas; Meio de troca iônica; |
| Cosméticos | Encapsulação de fragrâncias, pigmentos e ingredientes ativos. Loções e cremes protetores; Umectantes Produtos dentários; Agentes cicatrizantes; Xampus e condicionadores; |
| Saúde/Nutrição | Agente absorvedor de gorduras; Redução de colesterol LDL; Regeneração de ferimentos; Auxiliar no controle da pressão arterial; Regenerador de estrutura óssea; Redução do nível de ácido úrico; Promoção da perda de peso; Auxilia na redução do colesterol LDL; Bactericida/antiviral Inibe a formação de placas dentárias; Aumenta a absorção de cálcio Membranas artificiais; |
| Agroindústria | Adsorvente na remoção de metais pesados; Proteção bactericida de sementes; Estabilizante de frutas e verduras perecíveis; Conservantes; Coagulante na clarificação de bebidas; Estimulante do sistema imunológico de plantas. |
| Biotecnologia | Suporte de imobilização de enzimas e células microbianas; Biofilmes curativos; |

| | |
|------------------|--|
| | Hidrogel; Fibra para controle de hemorragia; Regeneração tecidual. |
| Ambiental | Tratamento de água; Tratamento de efluentes industriais; Remoção de metais pesados, ácidos e corantes em Efluentes da indústria têxtil. Adsorvente na remoção de hidrocarbonetos; |

Fonte: Adaptado (CAMPANA- FILHO et al., 2007; DIAS et al., 2013; SOBRAL, 2018; SHARIATINIA E JALALI, 2018; AKYUZ et al., 2018).

A quitosana também possui capacidade para interagir com substâncias lipídicas, corantes, proteínas, íons metálicos e defensivos agrícolas, indicando aplicação potencial nos processos de tratamento e descontaminação de efluentes industriais (CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007).

A quitosana possui característica não alergênica, atóxica, muco adesiva e também possui capacidade de acelerar a proliferação celular e protege os genes da degradação pelas nucleases, o que favorece a sua utilização na bioengenharia tecidual (H. ROLIM et al., 2018).

Na indústria de alimentos a quitosana tem importante aplicação devido a suas propriedades físico-químicas como transparência, estabilidade térmica, hidrofobicidade, antioxidante e adsorção de óleos, sendo utilizada em suplementos alimentares (AKYUZ et al., 2018). Nos Estados Unidos, Alemanha e Japão é relatado a utilização do biopolímero como agente conservante em macarrão, molho de soja, sardinha, entre outros (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008).

Assis et al. (2008) encontraram resultados positivos para a bioconversão do resíduo de crustáceos para a produção de um biofilme semipermeável, biodigestível, biocompatível, biodegradável, e com características protetoras de ação fungicida e bactericida, que pode ser utilizado como uma alternativa rentável e promissora em sistemas de conservação de alimentos. Rao et al. (2011) obtiveram resultados para clarificação de infusão de chá verde. Utilizam três diferentes métodos (ultrafiltração, sílica gel e quitosana). Os resultados encontrados pelos autores indicaram que a sílica gel e a quitosana podem ser utilizadas para clarificar esse tipo de bebida.

Outros estudos trabalham a aplicação da quitosana na substituição de polímeros não-biodegradáveis, como copos, pratos, talheres e canudos descartáveis (COSTA; LUCENA; SANTOS, 2019).

Devido suas características e propriedades únicas, a quitosana é o polímero catiônico com o maior número de aplicações, e a pesquisas por novas áreas de aplicação tem aumentado exponencialmente (SHARIATINIA; JALALI, 2018).

3.6.2. Características físico-químicas da quitosana

O grau de desacetilação (GD) é caracterizado pela porcentagem de grupos NH_2 livres apresentado pelo biopolímero quitosana, e esta característica tem grande efeito nas propriedades da quitosana e por tanto, em suas possíveis aplicações (BEZERRA, 2016; RINAUDO, 2006). Azevedo et al. (2015) destaca os principais fatores que afetam a eficiência da desacetilação e as características da quitosana obtida, sendo estes:

- Temperatura e tempo de reação;
- Concentração da solução de álcali e adição de diluente (álcoois de cadeia curta e cetonas são empregadas);
- Razão quitina/álcali;
- Tamanho das partículas de quitina;
- Atmosfera da reação e presença de agentes que evitem a despolimerização.

Quando o grau de desacetilação da quitina é $>70\%$ considera-se uma quitosana solúvel em ácido diluído e se comporta como um polieletrólito catiônico, onde se classifica como uma quitosana aplicável para distintas finalidades (ABREU et al., 2013). Quando o GD fica entre 70-90%, a quitosana está dentro dos padrões para dispositivos médicos (LISBOA, 2012).

O método convencional de desacetilação, mais empregado em laboratórios de pesquisa, é aquele no qual a desacetilação da quitina ocorre por meio de suspensão de solução aquosa de hidróxido de sódio, sendo que a temperatura, a concentração e o tempo da reação são variáveis, de acordo com o procedimento adotado (AZEVEDO et al., 2007).

Quando aplicadas na indústria de alimentos e/ou áreas médicas, análises como, pureza (teor de cinzas), umidade, conteúdo de metais pesados, endotoxinas e proteínas são obrigatórios (TORRES et al., 2005). Análises de caracterizações respondem à qualidade do processo de transformação de quitina em quitosana (desacetilação) e de acordo com o GD a quitosana poderá apresentar características como, solubilidade, cristalinidade, viscosidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (Quadro 2) (DASH et al., 2011).

Quadro 2 - Relação entre os parâmetros estruturais e as propriedades da quitosana.

| Propriedade | Característica Estrutural |
|--------------------|----------------------------------|
| Solubilidade | ↑GD* |
| Cristalinidade | ↓GD |
| Biodegradabilidade | ↓GD ↓ Peso molecular |
| Viscosidade | ↑GD |
| Biocompatibilidade | ↑GD |

*↑ - Diretamente proporcional a direção; ↓ - Inversamente proporcional a direção

*GD: Grau de desacetilação

Fonte: DASH, 2011.

O pleno uso da quitosana na indústria alimentícia é dificultado, pois a mesma apresenta características diferentes do ponto de vista físico-químico. No Brasil, as quitosanas disponíveis são de procedências diversas e apresentam diferentes graus de pureza, pois não seguem um procedimento de produção padrão. Tal fato dificulta a utilização desta quitosana (ASSIS; LEONI; DE NOVAES, 2007).

3.6.3. Métodos de análise da qualidade da quitosana

A qualidade da quitosana é caracterizada através do grau de desacetilação, devido a influência deste nas propriedades físico-químicas do biomaterial. Este parâmetro é determinado por métodos convencionais como titulação potenciométrica ou alcalina, estes métodos oferecem a vantagem de serem realizados com instrumentos

comumente disponíveis em laboratórios e a desvantagem é o tempo logo de reação experimental (WANG; LIANG; YEN, 2011).

O grau de desacetilação influencia diretamente nas propriedades físico-químicas, biológica e mecânica da quitosana, e descreve a proporção da transformação de quitina em quitosana e é expressa, geralmente, como uma porcentagem molar de amino em relação ao total de acetamida (AZEVEDO et al., 2007).

Quando o material atinge 60% de grau de desacetilação ele já pode ser considerado quitosana e não mais quitina. Este grau de desacetilação pode ser controlado durante um processo de hidrólise alcalina da quitina, através de uma combinação de tempo de exposição, concentração e temperatura (FOSTER et al., 2015).

Os métodos para a qualificação e determinação do grau de desacetilação da quitosana são utilizados, alguns deles representados no quadro 3. Para este estudo adotou-se o método de titulação potenciométrica:

Quadro 3 - Principais técnicas utilizadas para determinação do grau de desacetilação.

| Método | Referência |
|---|---------------------------|
| Espectroscopia no Infravermelho (IV) | Brugnerotto et al., 2001. |
| Espectroscopia de Dicroísmo Circular | Domard, 1997. |
| Espectroscopia no Ultravioleta (UV) | Tane et al., 1998. |
| Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | Zhang et al., 2005. |
| Titulação Potenciométrica Linear (TPL) | Belázs e Sipos, 2007. |
| Teste com Ninidrina | Curotto e Aros, 1993. |
| Determinação Enzimática | Nanjo et al., 1991. |
| Análise Elementar | Gupta e Jubrail, 2006. |
| Cromatografia Gasosa (CG) | Aiba, 1986. |
| Titulação ácido-base | Baxter et al., 1992. |

Fonte: HUSSIAN et al., 2013.

3.6.4. Obtenção da quitosana

A literatura existente aborda principalmente a preparação de quitosana a partir de fontes marinhas. Em geral, as metodologias publicadas podem ser categorizadas em dois tipos: quitosana extraída dos resíduos de crustáceos, convencionalmente, por meio de métodos químicos, e, alternativamente, através de métodos biológicos (PACHAPUR et al., 2016; TRUNG et al., 2020; KOU; PETERS; MUCALO, 2021; PAKIZEH; MORADI; GHASSEMI, 2021). Os métodos químicos são amplamente utilizados para a produção comercial de quitosana devido à sua alta eficiência, curto tempo de produção e baixo custo (YOUNES; RINAUDO, 2015), como desvantagem este método oferece um risco ambiental devido ao alto volume de resíduo químico gerado durante o processo (KOU; PETERS; MUCALO, 2021).

Os métodos químicos de preparação quitosana incluem principalmente quatro estágios de reação (Figura 8): a desmineralização, onde a grande maioria das pesquisas recentes utiliza HCl (ácido clorídrico) em concentrações de até 10% (c/v) para remover o conteúdo mineral da casca; a desproteínização, um processo que remove a proteína e outros componentes orgânicos através da reação com solução alcalina aquecida e/ou temperatura ambiente, na maioria dos estudos utiliza-se NaOH (hidróxido de sódio) nas reações; a despigmentação que consiste na remoção dos pigmentos carotenoides, utilizando como solventes, em geral, o etanol e acetona, submetidos ao refluxo em *soxhlet*, e a desacetilação, sendo este a conversão de quitina em quitosana usando solução alcalina normalmente aquecida, por exemplo, solução NaOH ou NaBH₄ (Borohidreto de sódio), dentre os reagentes citados para a desacetilação, o NaOH é o mais indicado em termos econômicos. Apesar do preço mais elevado o Borohidreto apresenta resultados satisfatórios na desacetilação da quitina (ARBIA et al., 2013b; EL KNIDRI et al., 2019; GORTARI; HOURS, 2013; KOU; PETERS; MUCALO, 2021; NO; MEYERS, 1995; TRUNG et al., 2020).

Alguns estudos incluem também as etapas de pré-tratamento para remoção das impurezas, secagem e redução das partículas, e pós-tratamentos, como as técnicas de purificação, com intuito de aumentar a qualidade do produto final (BAJAJ; WINTER; GALLERT, 2011; PAKIZEH; MORADI; GHASSEMI, 2021)

Figura 8 - Processo de extração química de quitina e quitosana.



Fonte: O autor, 2022.

3.6.4.1. Desmineralização

Um dos fatores que determinam a boa a quitina é o baixo teor de minerais (TOLAIMATE et al., 2003). Portanto, para obter a quitina dos resíduos dos crustáceos, os minerais devem ser removidos como um primeiro estágio (SAYARI et al., 2016).

A desmineralização é realizada em meio ácido e geralmente utiliza-se HCl, HNO₃, H₂SO₄, CH₃COOH e HCOOH (SHAHIDI; SYNOWIECKI, 1991; SYNOWIECKI; AL-KHATEEB, 2003). Entre esses reagentes, o mais utilizado é o ácido clorídrico diluído. A desmineralização envolve, principalmente, a decomposição de carbonato de cálcio nos sais solúveis em meio ácido, conforme apresentado na equação (MAHAN; MYERS, 1997; RUSSELL, 1994):



Os tratamentos de desmineralização são frequentemente empíricos e variam de acordo com a composição do exoesqueleto, tempo de extração, temperatura,

tamanho das partículas, concentração do ácido e razão soluto/solvente (SAGHEER et al., 2009; TOLAIMATE et al., 2003).

3.6.4.2. Desproteínização

A etapa de desproteínização requer atenção devido à ruptura das ligações químicas entre a quitina e as proteínas, o que pode comprometer a qualidade do produto final (ARANCIBIA et al., 2015). A remoção completa de proteínas é especialmente importante para aplicações nas áreas médicas e alimentar, já que uma porcentagem da população humana é alérgica a frutos do mar, sendo o principal responsável pelas reações alérgicas, o componente proteico (EL KNIDRI et al., 2018).

Uma ampla gama de substâncias químicas foi testada como reagente de desproteínização incluindo NaOH (Hidróxido de Sódio), Na₂CO₃ (Carbonato de Sódio), NaHCO₃ (Bicarbonato de Sódio), KOH (Hidróxido de Potássio), K₂CO₃ (Carbonato de Potássio), Ca (OH)₂ (Hidróxido de Cálcio), Na₂SO₃ (Sulfito de Sódio), NaHSO₃ (Bissulfito de Sódio), Ca HSO₃ (Bissulfito de Cálcio) e Na₃PO₄ (Fosfato trissódio) (EL KNIDRI et al., 2018; YOUNES; RINAUDO, 2015). O NaOH é o reagente mais utilizado e é aplicado em concentrações que variam de 0,125 a 5,0 M, em temperaturas variadas (até 160 ° C) e duração do tratamento que variam de alguns minutos a alguns dias (EL KNIDRI et al., 2018). Além da desproteínização, o uso de NaOH invariavelmente resulta em desacetilação parcial da quitina e hidrólise do biopolímero diminuindo seu peso molecular (PAKIZEH; MORADI; GHASSEMI, 2021).

3.6.4.3. Despimentação

A remoção dos pigmentos é realizada por extração com solventes, sendo que etanol e acetona são os mais utilizados, ou por branqueamento, com KMnO₄ (Permanganato de Potássio), NaOCl (Hipoclorito de Sódio) ou H₂O₂ (Peróxido de Hidrogênio). Para aproveitamento de astaxantina, pigmento mais abundante nos exoesqueletos de crustáceos, na indústria alimentícia é necessário a utilização de solvente (etanol ou acetona) no processo de extração (KOU; PETERS; MUCALO, 2021; TRUNG et al., 2020).

3.6.4.4. Desacetilação

A reação de desacetilação da quitina para sua conversão em quitosana através da remoção do grupo acetila (SYNOWIECKI; AL-KHATEEB, 2003). O tratamento ocorre principalmente por hidrólise alcalina em altas temperaturas, pois o tratamento alcalino melhora a solubilidade da quitina devido a ruptura da cadeia principal e destruição da estrutura cristalina (SANNAN; KURITA; IWAKURA, 1975). O NaOH (Hidróxido de Sódio), KOH (Hidróxido de Potássio) e o NaBH₄ (Borohidreto de Sódio) em concentrações que varia de 40-50% são os reagentes comumente empregados (EL KNIDRI et al., 2018).

A desacetilação é obtida por meio de metodologias heterogêneas e homogêneas (HE et al., 2016; YOUNES; RINAUDO, 2015). Os métodos heterogêneos utilizam soluções de NaOH ou KOH 40-50% (peso/volume) com um tempo de reação de 1-12 horas em temperaturas próximas a 100°C, e produzem quitosana insolúvel e com alto grau de desacetilação (85-99%) (YOUNES; RINAUDO, 2015). Em contrapartida, o método homogêneo, ao utilizar altas concentrações de NaOH, produz quitosana solúvel em água na forma de amina livre em temperatura ambiente (KOU; PETERS; MUCALO, 2021). Na indústria, a metodologia heterogênea é preferida por devido a facilidade de separar o produto insolúvel da quitosana.

3.6.5. Industrialização e comércio de quitosana

Muitos países têm mostrado interesses na quitosana e estão desenvolvendo pesquisas e produção deste biopolímero, mas a maior massa de produção e consumo ainda está ligada aos Estados Unidos e Japão. A produção comercial está concentrada também na Polônia, Índia, Noruega e Austrália (NEGI; VERMA; SINGH, 2021).

A quitosana é obtida a partir do exoesqueleto “casca” dos crustáceos que são descartadas pela indústria pesqueira. Para produzir 1 kg de quitosana desacetilada a 70%, a partir de cascas de camarão, seguindo o método químico, são necessários aproximadamente 6,3 kg de HCl e 1,8 kg de NaOH, além de água de processo e água de resfriamento. Outros itens importantes para estimar o custo de produção incluem o transporte (que varia dependendo do local de origem da matéria-prima), mão de obra e gastos de energia (CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007). Estima-

se que apenas 1% dos resíduos de crustáceos no mundo é utilizado para a produção de quitina e quitosana (GORTARI; HOURS, 2013; DECKER et al., 2016).

O preço de comercialização da quitosana varia de acordo com o grau de pureza, processo de extração, fabricantes, matéria-prima entre outras características adequadas para aplicações de alto valor técnico agregado. O preço a granel da quitosana encontra-se entre \$ 10,00 a \$ 1.000,00 dólares por quilograma. A quitosana utilizada na área médica é de alto valor agregado, sendo vendidas até \$ 25.000,00 dólares por quilograma (SOUSA, 2019). A produção de camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) em 2020 (112 mil toneladas de camarão), se reutilizado os resíduos (50-70%) poderiam movimentar entre \$ 8,4 milhões e \$ 7,9 bilhões de dólares.

O valor do tamanho do mercado global de quitosana era de 1,7 bilhão de dólares em 2019, e estima-se em 4,7 bilhões de dólares em 2027, pelo site Allied Market Research, sendo que o camarão é e será a principal fonte (NEGI; VERMA; SINGH, 2021). O menor teor de minerais nas cascas dos camarões é a razão da melhor solubilidade da quitosana sintetizada em comparação aos demais crustáceos. Além disso, o alto teor de cinzas reduz a viscosidade e a média massa molecular (KUMARI; RATH, 2014).

O preço mundial para comercialização em pequenas quantidades é de R\$ 8,49/g para quitosana com baixo peso molecular, R\$ 8,91/g para quitosana de médio peso molecular e R\$ 11,81/g para quitosana de alto peso molecular (catálogo online da Sigma-Aldrich, consulta em julho de 2020).

4. METODOLOGIA

4.1. MAPEAMENTO BIBLIOMÉTRICO: ESTADO DA ARTE ACERCA DA QUITOSANA

A metodologia foi baseada em um processo sistematizado de seleção de referências bibliográficas denominado ProKnow-C, objetivando aprimorar a qualidade do embasamento teórico (VILELA, 2012). De acordo com Ensslin et al. (2012) esta metodologia se mostra como uma ferramenta valiosa para a construção de conhecimento em determinado campo de pesquisa, proporcionando um processo de

busca estruturado, rigoroso e que minimiza o uso de aleatoriedade e subjetividade no processo de revisão bibliográfica. Ela se baseia na aplicação sequencial de filtros de acordo com a sua relevância científica através de critérios definidos.

O processo inicial adotado para a busca do material e seleção do portfólio bibliográfico seguiu cinco etapas:

1. Definição das palavras-chaves;
2. Definição do banco de dados;
3. Verificação da adequabilidade das palavras-chaves e leitura superficial de alguns artigos;
4. Exclusão de artigos repetidos;
5. Leitura de títulos para alinhamento com o tema da pesquisa.

A partir da definição dos eixos de pesquisa, foram definidas as palavras-chaves utilizadas nos mecanismos de busca, a fim de se obter artigos correspondentes ao tema da pesquisa. As palavras-chaves foram utilizadas combinadas. As bases foram selecionadas e utilizadas para realizar as buscas pelas referências relacionadas com o tema.

As palavras-chaves utilizadas foram “*chitosan AND crustacean*”, aplicadas nas bases *Scopus* e *Web Of Science*.

Com a combinação das palavras-chaves foram encontrados inicialmente 596 artigos na base *Scopus* e 463 na base *Web Of Science*. Após a aplicação de filtros (recorte temporal, tipo de artigo e idioma), esses valores reduziram para 196 e 212 referências na *Scopus* e *Web Of Science*, respectivamente.

Os resultados obtidos nas bases foram exportados para o *Endnote*, um software gerenciador de referências para auxiliar na manipulação e organização das informações.

Após estas etapas iniciou-se a filtragem detalhada das referências, cujo objetivo foi de verificar a relevância dos artigos com base nos critérios para manutenção do banco de artigos. Levou-se em consideração o fator de impacto das revistas. Nesta análise pode ser realizada a partida do JCR (*Incites Journal Citation Reports*), onde obteve-se os dados necessários para a classificação.

Após esta etapa, foi dado início na leitura dos resumos para verificar o real alinhamento dos artigos com o tema da pesquisa, adotou-se critérios para inclusão do material:

- Recorte temporal: Últimos 5 anos (2017-2021);
- Artigos de alto fator de impacto;
- Artigos que tratam a respeito da quitosana obtida a partir de crustáceos;
- Artigos que abordam métodos de obtenção da quitosana;
- Artigos sobre a aplicações da quitosana;
- Artigos sobre a análise de qualidade da quitosana.

Estes critérios pré-estabelecidos para manutenção do banco de dados possibilitou um mapeamento através de mapa de redes, sendo uma técnica importante para demonstrar as lacunas de conhecimento envolvendo um tema de pesquisa, os números de publicações, períodos de ocorrências e os grupos de pesquisas que possuem maiores interações entre si (VILELA, 2012).

Após a seleção dos artigos (Figura 9) montou-se o portfólio bibliográfico desta pesquisa, sendo este agrupado e organizado por meio de planilha no Excel e no programa Endnote. Do total de 1059 trabalhos identificados, 596 artigos foram localizados na base Scopus e 463 na base Web Of Science. Posterior a leitura de títulos e resumos foram selecionados 55 documentos, que tratam de fontes alternativas de quitosana, suas aplicações, métodos de obtenção e caracterização.

Figura 9 - Resumo do processo de seleção do portfólio bibliográfico



Fonte: O autor, 2022

4.2. OBTENÇÃO DE QUITOSANA

Inicialmente, foram investigados os efeitos da concentração da solução de HCl na etapa de desmineralização nos resíduos de crustáceos para remoção do conteúdo inorgânico presente, solução de NaOH na etapa de desproteínização do

remanescente desmineralizado para remoção do conteúdo orgânico e desacetilação da quitina, solução de NaClO para remoção dos pigmentos e ácido acético e hidróxido de amônio para purificação do produto final. A parametrização adequada de cada uma dessas etapas é fundamental no estabelecimento de metodologias que empregam de modo mais eficiente possível a variável concentração de reagente. Serão apresentados a seguir e discutidos os resultados das caracterizações do processo de isolamento de quitina e quitosana.

4.2.1. Matéria-prima

Os subprodutos de crustáceos utilizados na pesquisa foram obtidos com pescadores e indústrias de processamento de pescado do município de Piúma (ES), sendo estes: exoesqueleto de camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), camarão cinza (*Litopenaeus Vannamei*), lagostas (*Palinurus japonicus*), caranguejos (*Ucides cordatus*) e siris (*Callinectes sapidus*).

4.2.2. Reagentes

Os reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho estão relacionados no quadro 4:

Quadro 4 - Reagentes utilizados na obtenção de quitosana.

| Reagente | Fórmula química |
|--|----------------------|
| Ácido Clorídrico P.A (1,7%, 3%, 5% e 7% v/v) | HCl |
| Hidróxido de Sódio P.A (15% e 45% m/v) | NaOH |
| Hipoclorito de Sódio (15% v/v) | NaClO |
| Hidróxido de amônio (concentrado) | NH ₄ OH |
| Ácido acético 1% | CH ₃ COOH |

4.2.3. Equipamentos e materiais

Quadro 5 - Equipamentos e materiais utilizados na obtenção de quitosana.

| Equipamentos | Materiais |
|---|---|
| - Agitador magnético com aquecimento (Fisatom 752A) | - Erlenmeyers de 250, 500 e 1000 mL |
| - Fita indicadores de pH (MERK 109535) | - Béqueres de 100 mL, 1000 mL |
| - Balança analítica (ATX 224) e semi analítica (Marte - AD3300) | - Tubos de ensaio com rosca (25 mL) |
| - Liquidificador doméstico (Philips Walita – RI2113) | - Cronômetro (Casio - A159WA-N1DF) |
| - Peneira granulométrica 75 µm (200 mesh) | - Pipetas volumétricas de 2, 10 e 25 mL |
| - Estufa de esterilização e secagem (EL402/412) | - Castiçais de vidro 150 ml |

4.2.4. Organização das amostras

Foram preparadas 8 (oito) amostras, para cada uma destas foram aplicados 4 (quatro) tratamentos com variações na concentração de HCl (1,7%, 3%, 5% e 7% v/v) na etapa de desmineralização (Tabela 6), em esquema fatorial (8x4) = 32 tratamentos e para cada tratamento foram realizados 2 (duas) repetições.

Tabela 6 - Concentração de HCl por tratamento.

| Tratamento | Concentração de HCl |
|-------------------|----------------------------|
| A | 1,7% |
| B | 3% |
| C | 5% |
| D | 7% |

As amostras 6, 7 e 8 consistiram em combinações dos distintos crustáceos: camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), camarão cinza (*Litopenaeus Vannamei*), lagostas (*Palinurus japonicus*), caranguejos (*Ucides cordatus*) e siris (*Callinectes*

sapidus). As proporções foram estabelecidas com base na composição mineral das espécies (Tabela 7).

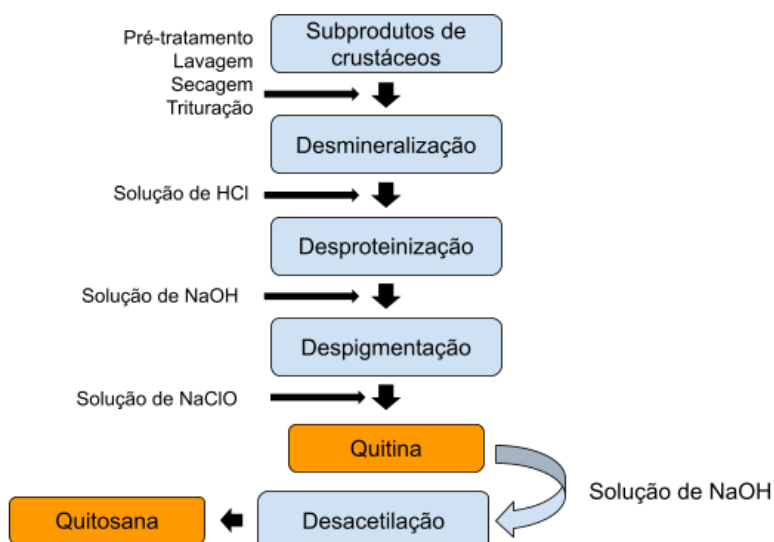
Tabela 7 - Organização das amostras.

| Amostra | Descrição | Quantidade |
|----------------|--|-------------------|
| 1 | Camarão cinza | 10g |
| 2 | Camarão sete-barbas | 10g |
| 3 | Caranguejo | 10g |
| 4 | Siri | 10g |
| 5 | Lagosta | 10g |
| 6 | Camarão (40%), siri (20%), caranguejo (20%) e lagosta (20%). | 25g |
| 7 | Camarão (10%), siri (30%), caranguejo (30%) e lagosta (30%) | 25g |
| 8 | Camarão (20%), siri (20%), caranguejo (20%) e lagosta (40%) | 25g |

4.2.5. Procedimentos

Para obtenção da quitosana o material seguiu as etapas de pré-tratamento, secagem, desmineralização, desproteínização, despigmentação e desacetilação, seguindo o método proposto por Moura et al., 2006 e Rodrigues et al., 2019 (Figura 10):

Figura 10 - Etapas do processo de obtenção de quitosana.



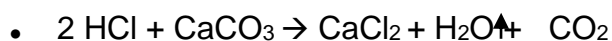
Fonte: O autor, 2022

- **Pré-tratamento:**

Inicialmente, os subprodutos foram manualmente lavados e processados. Uma quantidade de 1,2 kg de cascas de cada espécie, após o processo de lavagem, o material foi submetido a secagem em estufa de secagem sem ventilação (EL402/412) por 12 horas a temperatura de 60°C. O material seco foi mecanicamente moído em liquidificador doméstico e peneirado em peneira com malha de abertura de 75 µm (200 mesh) para obtenção de um sólido com granulometria uniforme.

- **Desmineralização:**

A desmineralização deve ser a primeira etapa do processo de obtenção da quitosana, pois o processo tem maior rendimento quando comparado a desproteíntização e despigmntação. O processo de desmineralização ocorre quando o ácido entra em contato com o carbonato de cálcio, conforme apresentado na equação:



O processo de remoção das cinzas foi realizado utilizando amostras em diferentes concentrações de solução de HCl, o tempo de reação e a temperatura foram fixados para todas as amostras (tabela 8).

Tabela 8 - Condições de reação no processo de desmineralização.

| Tratamento | Concentração de HCl | Tempo de reação | Temperatura |
|------------|---------------------|-----------------|-------------|
| A | 1,7% | 2 horas | 25°C |
| B | 3% | 2 horas | 25°C |
| C | 5% | 2 horas | 25°C |
| D | 7% | 2 horas | 25°C |

- **Desproteíntização:**

Posterior à obtenção do material desmineralizado, adicionou-se à 150 ml solução de NaOH 15% m/v. O material desmineralizado foi mantido em agitação por 2 horas em uma temperatura de 60°C. Após, a mistura foi lavada em água destilada até a neutralidade da água de lavagem (pH=7). Em seguida, o material desproteíntizado foi levado a estufa de secagem a 60°C por 12 horas.

- **Despigmentação:**

O material desproteíntizado foi adicionado à solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 15%. A mistura foi mantida a temperatura ambiente e sob agitação mecânica constante por 15 minutos. Após, a mistura foi lavada em água destilada até a neutralidade da água de lavagem (pH=7). Em seguida, o material despigmentado (quitina) foi levado a estufa de secagem a 60°C por 12 horas em seus respectivos recipientes.

- **Desacetilação da quitina:**

Após a despigmentação o material é considerado como quitina, que por um processo de desacetilação é convertido em quitosana. Nesta etapa o material foi submetido a 150 ml de solução alcalina (NaOH 45% m/v) por 4 horas em uma temperatura de 60°C. Após o processo de exposição em solução alcalina, o material foi lavado em água destilada até a neutralidade da água de lavagem (pH=7). Em seguida, o material foi levado a estufa de secagem a 60°C por 12 horas.

- **Purificação da quitosana:**

O material obtido após a desacetilação da quitina foi dissolvido em ácido acético diluído na proporção de 2:50 (2g de quitosana em 50mL de ácido acético 1%) mantido em agitação por 24 horas. Após este período a solução foi filtrada através de

membrana de porosidade 5 µm. Em seguida foi adicionado NH₄OH (Hidróxido de Amônio) concentrado para a cristalização da amostra. A solução foi mantida por 24 horas na capela para a precipitação dos cristais de quitosana. O precipitado foi lavado com água deionizada até a neutralidade. As amostras purificadas foram secas em temperatura ambiente e armazenadas.

4.2.6. Rendimento das amostras

O rendimento global e das etapas individuais do processo de obtenção da quitina a partir das cascas dos crustáceos foi calculado levando-se em conta a massa inicial da matéria-prima processada e a quantidade da quitina obtida.

O rendimento das amostras foi identificado a partir da determinação da massa final obtida após cada etapa do processo de obtenção de quitosana.

Para os rendimentos em cada procedimento foi aplicado a equação 1:

$$R = (PF/PI) * 100 \quad (1)$$

Sendo:

R = rendimento (%)

PF = peso final do material processado (g)

PI = peso inicial da amostra (g)

Os dados foram analisados e organizados por meio de gráficos e tabelas no programa Excel da Microsoft.

4.2.7. Análise das amostras quanto ao grau de desacetilação

A qualidade das amostras foi avaliada por meio de titulação potenciométrica com o objetivo de determinar o grau de desacetilação da quitosana (SANTOS et al., 2011). As amostras foram dissolvidas em 20 mL de solução padronizada (para todas as amostras) de HCl 0,10 mol/L e diluídas com 10 mL de água deionizada. Em seguida sob agitação constante titulou-se a solução de quitosana com solução padronizada de NaOH 0,01 mol/L, obtendo-se a curva de pH. Os valores encontrados foram lançados na equação 2 (BROUSSIGNAC, 1972).

(2)

$$GD\% = \frac{\varphi}{\frac{M - 161\varphi}{204} + \varphi} \times 100$$

Em que:

$$\varphi = \frac{N_A V_A - N_B V_B}{1000};$$

N_A e N_B = [HCl] e [NaOH] em mol/L, respectivamente;

V_A e V_B = Volume de HCl e NaOH no ponto final em mL, respectivamente;

M = Massa da amostra em gramas;

161 = MM do monômero 2-amino-2-desoxi-D-glicose em g/mol;

204 = MM do monômero 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose em g/mol;

4.2.8. Análise estatísticas dos dados

Após a coleta dos dados experimentais, utilizou-se o software Statistica 7.0 (STATSOFT, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7) para organizar e realizar as análises estatísticas do experimento. Usou-se a ferramenta de Análise de Variância (ANOVA), para se comparar as médias entre os tratamentos em busca de diferenças significativas (MONTGOMERY, 2008). Nos casos em que os resultados da ANOVA foram significativos, aplicou-se o teste de Tukey na busca de evidenciar as diferenças entre as médias (WALPOLE et al., 2009). Para ambos os testes foi adotado 5% de significância. A análise, classificação e organização dos dados obtidos no teste Tukey foi realizada através do software GraphPad 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

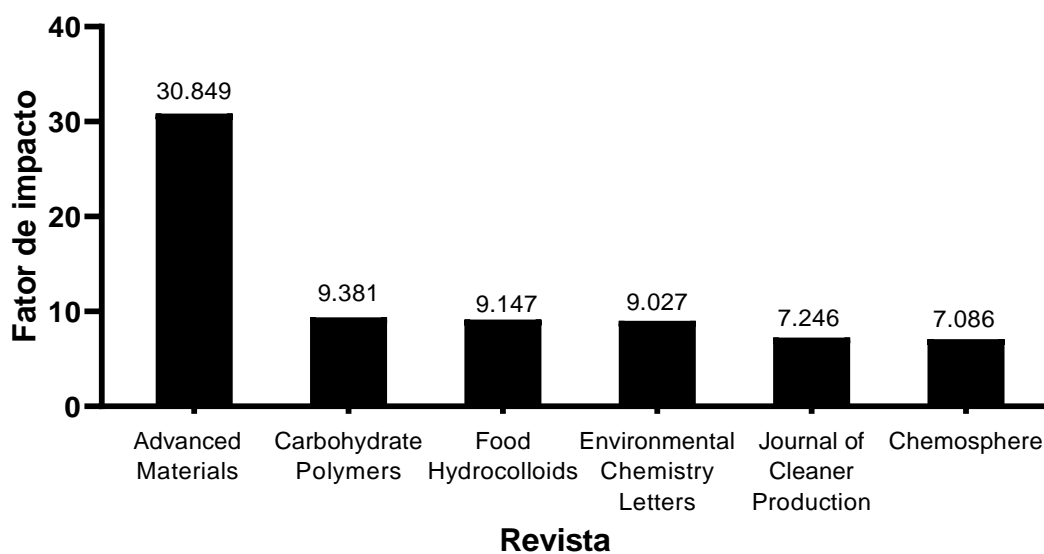
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Dados Bibliométricos

Com relação aos documentos do banco de artigos, foram consideradas publicações de 33 revistas diferentes, todas no idioma inglês, com fator de impacto JCR (Journal Citation Reports) variando entre 0,320 a 30,849. Este fator é a principal métrica que qualifica as publicações científicas com base nas citações que ela recebe (SANTOS, 2011).

As revistas com maior destaque são identificadas na figura 11, sendo estas classificadas com peso A1.

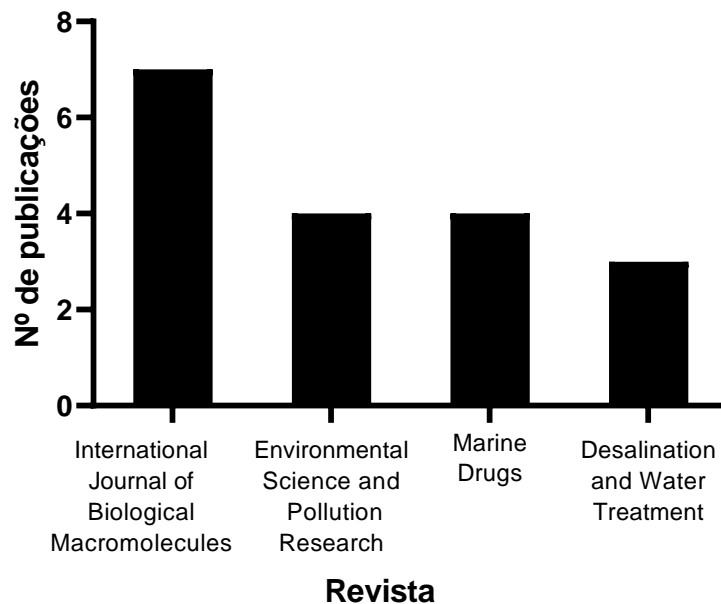
Figura 11 - Fator de impacto de parte das revistas selecionadas.



Fonte: O autor, 2022.

Em relação às revistas, nota-se que a *International Journal of Biological Macromolecules* (figura 12) destaca-se com o maior número de publicações, esta, é classificada como B1 no Qualis CAPES (Engenharias I) com fator de impacto 6,953, e está voltada às pesquisas sobre aspectos químicos e biológicos de todas as macromoléculas naturais.

Figura 12 - Quantidade de publicações por revista.



Fonte: O autor, 2022.

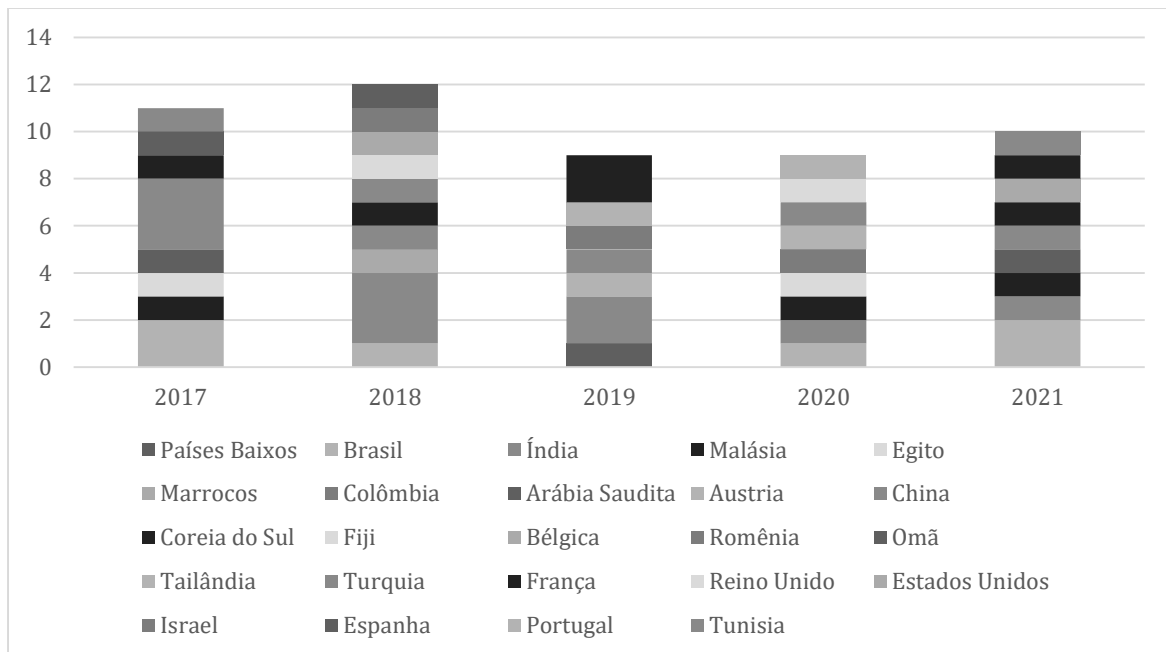
A *Environmental Science and Pollution Research*, classificada como A1 no Qualis CAPES (Engenharias I) e fator de impacto 4,223, publica trabalhos em todas as áreas de Ciência Ambiental e temas relacionados com ênfase em compostos químicos. Desta forma, explica-se a relação direta com o tema da pesquisa, envolvendo assuntos relacionados ao biopolímero quitosana em seus métodos de extração (CADANO et al., 2021; JABEUR et al., 2022; SU et al., 2019) e aplicações na aquicultura (ABBAS, 2021; ZANDINELO et al., 2018) áreas médicas e farmacêutica (SALAH et al., 2015; ZHANG et al., 2014; ZHAO et al., 2018), alimentícia (PORTO, 2019), tratamento de efluentes (ADNAN et al., 2017; JAIN et al., 2020) e agricultura (IRITI et al., 2015; PAL et al., 2021).

É importante ressaltar que, por se tratar de um tema com um crescimento exponencial nos últimos anos, principalmente estudos voltados a aplicação da quitosana em áreas farmacêuticas, médicas, industriais, tratamento de resíduos, agricultura, alimentos, etc., justifica o uso de revistas classificadas como Qualis A2 e B1, tendo em vista que se limita, ainda, o número de publicação em Qualis A1 (Engenharias 1), porém com grande ascensão na quantidade de publicação nos últimos anos.

A figura 13 demonstra que a quitosana tem sido alvo de pesquisas em vários países, com características sociais, culturais, econômicas e ambientais distintas uns dos

outros. Contudo, apesar de muitos países mostrar interesse na quitosana desenvolverem estudos relacionados, principalmente, aos métodos de extração e aplicações, a maior massa de produção e consumo é direcionada aos Estados Unidos e Japão (NEGI; VERMA; SINGH, 2021).

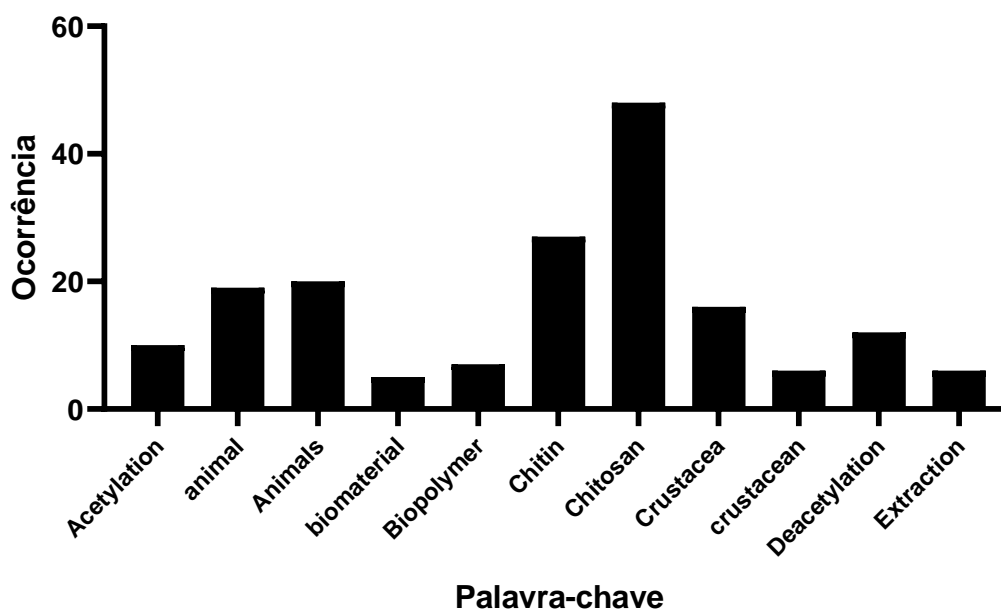
Figura 13 - Relação de países que têm publicado sobre a quitosana.



Fonte: O autor

Outro fator importante a se observar são as palavras chaves utilizadas nos artigos. Naturalmente o temos que direcionou a coleta de dados, “*chitosan*” (quitosana) foi o mais recorrente com 48 artigos, seguido de “*chitin*” (quitina) e “*chemistry*” (química) (Figura 14).

Figura 14 - Relação de palavras-chaves.



Fonte: O autor, 2022.

5.1.1. Caracterização dos estudos contidos no portfólio bibliográfico

Com base nos critérios de inclusão e exclusão, os estudos atuais selecionados para conter o portfólio bibliográfico caracterizam-se por tratarem principalmente de fontes de quitina/quitosana, métodos de obtenção e as aplicações.

- **Fontes de quitosana**

De acordo com a literatura consultada, a produção comercial de quitina tem como fonte principal espécies marinhas, como caranguejos e camarões (PAKIZEH; MORADI; GHASSEMI, 2021), outras espécies de crustáceos como lagosta e lagostim têm sido utilizadas (ARASUKUMAR et al., 2019; SAYARI et al., 2016; TRUNG et al., 2020).

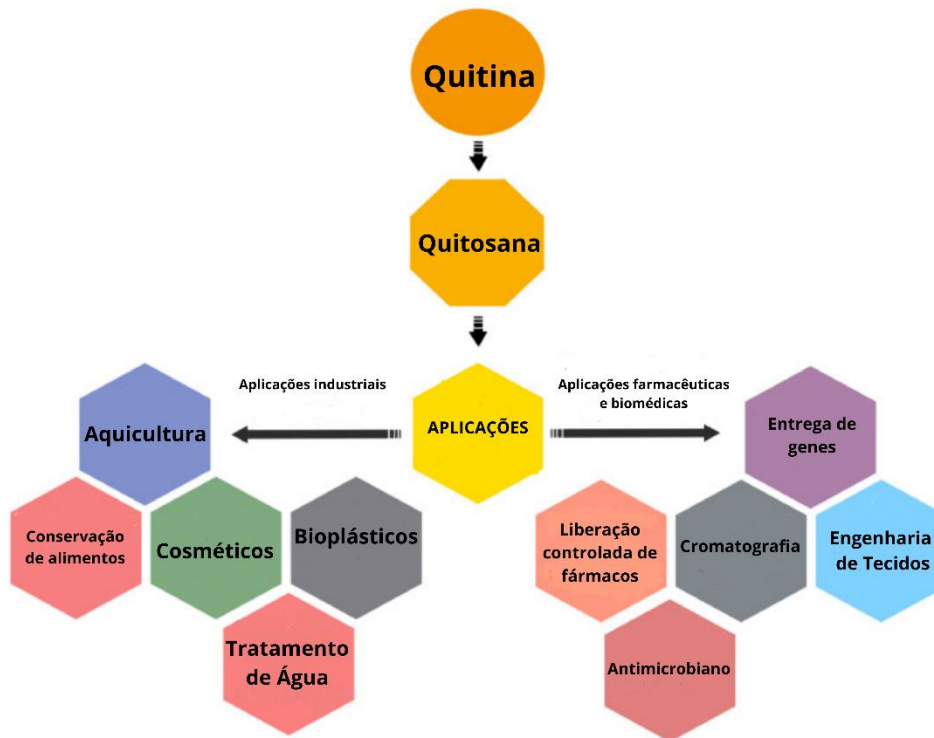
Fontes alternativas também são utilizadas, como algumas espécies de fungos pertencentes a classe *Zigomicetos*, estes são conhecidos por conter quitosana como um componente importante de suas paredes celulares. Junto com os fungos, certas espécies de bactérias também são conhecidas como fonte de quitosana por conter a enzima quitina desacetilase (BROEK; BOERIU; STEVENS, 2020). Os insetos também têm sido estudados como uma fonte promissora de quitina. Os resultados das

pesquisas mostram que o conteúdo de quitina de várias espécies de insetos é de até 40% da camada externa. Recentemente, vários grupos de pesquisa ilustraram o considerável potencial dos insetos como matéria-prima para a quitina e a quitosana (MA et al., 2022; ZAINOL ABIDIN et al., 2020).

- **Aplicações da quitosana**

O principal derivado da quitina é o copolímero quitosana, esta possui propriedades distintas a quitina e têm sido altamente desejadas para aplicações específicas relacionadas às indústrias biomédicas e farmacêutica, engenharia de tecidos, agricultura, tratamento de água e efluentes, cosméticos e afins (Figura 15). Ao longo dos anos, as pesquisas destacam propriedades extraordinárias da quitosana, o que a torna uma valiosa especialidade química. Não é tóxica, é biocompatível e possui atividades antimicrobianas, anticâncer e imunomoduladoras (PANDIT et al., 2020). Estudos também comprovam a utilidade da quitosana em diversas áreas como liberação controlada de drogas (LI et al., 2018), terapia gênica (CHUAN et al., 2019), além disso, suas propriedades adsorventes também tenham sido utilizadas para remoção de impurezas da água em estações de tratamento (QUESADA et al., 2020). A quitosana também tem sido empregada na indústria de alimentos e bebidas como espessante e agente conservador e modificador de textura (ROCHA; COIMBRA; NUNES, 2017; TIAN; LIU, 2020).

Figura 15 - Aplicações da quitosana com diferentes pesos moleculares.

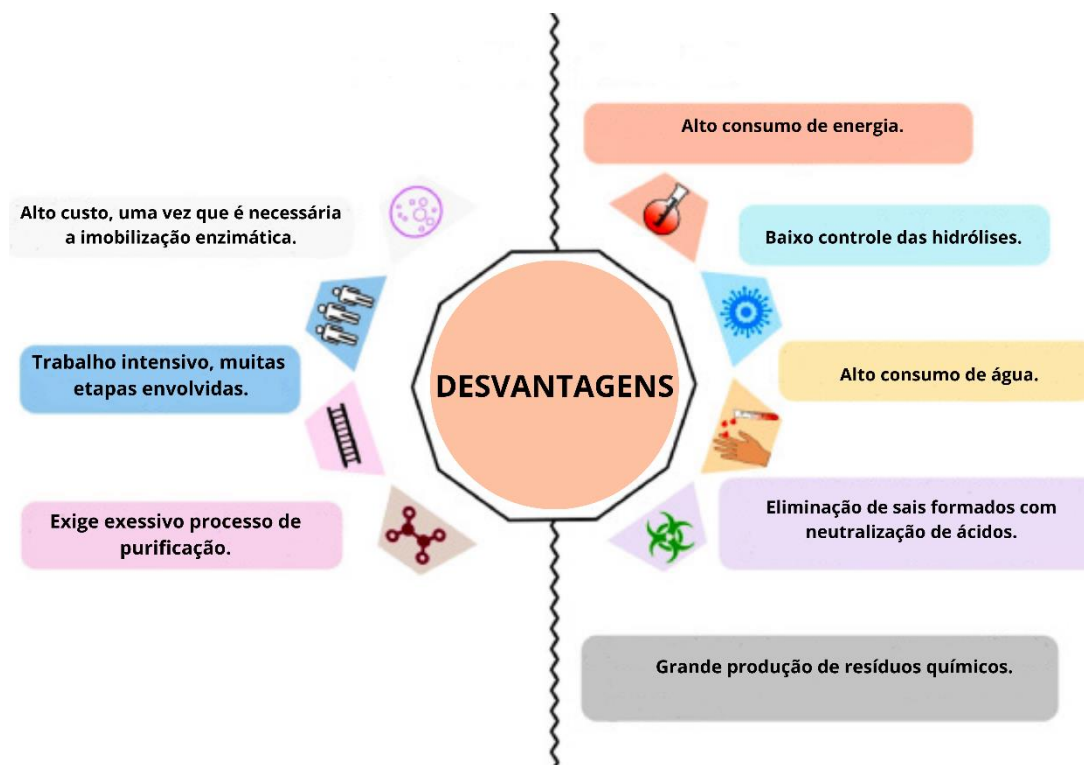


É interessante notar que as propriedades da quitosana variam de acordo com seu peso molecular e seu grau de desacetilação (MORIN-CRINI et al., 2019). Portanto, é muito importante desenvolver tecnologias de extração que faça com que a quitina sofra o mínimo de degradação para não comprometer a qualidade da quitosana, sendo então, o principal objetivo das pesquisas que vem sendo desenvolvidas, controlar o peso molecular da quitosana para que possam fornecer polímeros personalizados para aplicações específicas.

- **Processos de obtenção de quitosana**

A literatura existente aborda principalmente a obtenção de quitosana a partir de fontes marinhas. Em geral, as metodologias publicadas são categorizadas em dois tipos: métodos químicos e métodos biológicos ou enzimáticos.

Figura 16 - Desvantagens dos métodos químicos e enzimáticos na obtenção de quitosana



Nos últimos anos, o processo de extração biológica tem recebido grande atenção. É relatado que a quitina pode ser produzida biologicamente pela fermentação de ácido láctico (LAF) de resíduos de camarão. A técnica LAF usada em conjunto com outras técnicas mostrou ser uma estratégia biológica eficiente para evitar a despolimerização excessiva e a perda de cristalinidade durante a produção de quitosana, abrindo novos usos potenciais para este material (DUN et al., 2019; MARTÍN-LÓPEZ et al., 2020; NGUYEN et al., 2020; PACHAPUR et al., 2016).

5.2. Obtenção de quitosana

Nos últimos anos, têm-se buscado novas alternativas para obtenção de quitosana, de modo que o produto final seja de qualidade e o processo até chegar nele seja sustentável. Esta preocupação deve-se ao alto consumo de energia e água, e o uso de produtos químicos alcalinos e ácidos, que se não tratados e descartados corretamente podem ser prejudiciais ao meio ambiente (KAUR; DHILLON, 2015). As limitações dos métodos químicos tradicionais impulsionaram a exploração de novos métodos.

Os valores obtidos em cada processo na obtenção de quitosana foram aplicados no Statistica e foi gerado uma tabela de ANOVA (Tabelas 9 a 13).

Tabela 9 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de desmineralização.

| DESMINERALIZAÇÃO | | | | | |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| | SS | GL | MS | F | p |
| AMOSTRA | 14,1760 | 7 | 2,0250 | 101,26 | 0,000000 |
| CONCENTRAÇÃO | 54,1250 | 3 | 18,0420 | 902,08 | 0,000000 |
| INTERAÇÃO | 13,3220 | 21 | 0,6340 | 31,72 | 0,000000 |
| Error | 0,6400 | 32 | 0,0200 | | |

Fonte: O Autor, 2022.

Tabela 10 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de desproteínização.

| DESPROTEINIZAÇÃO | | | | | |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| | SS | GL | MS | F | p |
| AMOSTRA | 26,1743 | 7 | 3,7392 | 186,96 | 0,000000 |
| CONCENTRAÇÃO | 6,4677 | 3 | 2,1559 | 107,79 | 0,000000 |
| AMOSTRA X CONCENTRAÇÃO | 5,2419 | 21 | 0,2496 | 12,48 | 0,000000 |
| Error | 0,6400 | 32 | 0,0200 | | |

Fonte: O Autor, 2022.

Tabela 11 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de despigmentação.

| | SS | GL | MS | F | p |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| AMOSTRA | 0,443575 | 7 | 0,063368 | 316,84 | 0,000000 |
| CONCENTRAÇÃO | 0,111675 | 3 | 0,037225 | 186,13 | 0,000000 |
| AMOSTRA X CONCENTRAÇÃO | 0,689725 | 21 | 0,032844 | 164,22 | 0,000000 |
| Error | 0,006400 | 32 | 0,000200 | | |

Fonte: O Autor, 2022.

Tabela 12 - Tabela ANOVA para comparação das médias de quitina.

| | SS | GL | MS | F | p |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| AMOSTRA | 5,2544 | 7 | 0,7506 | 37,53 | 0,000000 |
| CONCENTRAÇÃO | 23,5519 | 3 | 7,8506 | 392,53 | 0,000000 |
| AMOSTRA X CONCENTRAÇÃO | 12,0331 | 21 | 0,5730 | 28,65 | 0,000000 |
| Error | 0,6400 | 32 | 0,0200 | | |

Fonte: O Autor, 2022.

Tabela 13 - Tabela ANOVA para as variáveis amostra e concentração da etapa de desacetilação.

| | SS | GL | MS | F | p |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| AMOSTRA | 50904,3 | 7 | 7272,0 | 363602 | 0,00 |
| CONCENTRAÇÃO | 5486,7 | 3 | 1828,9 | 91445 | 0,00 |
| AMOSTRA X CONCENTRAÇÃO | 47386,1 | 21 | 2256,5 | 112824 | 0,00 |
| Error | 0,6 | 32 | 0,02 | | |

Fonte: O Autor, 2022.

Para todas as etapas, a ANOVA resultou em um valor de $p < 0,05$, evidenciando que ao menos um tratamento se diferencia dos demais. Para detalhar quais médias são significativamente semelhantes e/ou diferentes, o resultado da ANOVA foi aplicado no teste de Tukey, afim de se obter a diferença mínima significativa (DMS) entre as etapas do processo de obtenção de quitosana (Tabela 14).

Tabela 14 - Diferença mínima significativa entre as médias.

| ETAPAS | DMS |
|-------------------------|------------|
| Desmineralização | 0,2036 |
| Desproteínização | 0,2036 |
| Despigmentação | 0,0204 |
| Quitina | 0,2036 |
| Desacetilação | 0,2036 |

Fonte: O Autor, 2022.

A partir dos valores de DMS pode-se classificar as médias obtidas das amostras e tratamentos quanto ao grau de semelhança, como pode ser observado abaixo.

5.2.1. Desmineralização

Optou-se por 4 (quatro) tratamentos (A, B, C e D) com concentrações de ácidos diferentes pois existe diferença entre a porcentagem de minerais do exoesqueleto, essa diferença está relacionada a espécie e a sazonalidade, e durante o processo de extração, a concentração da solução influencia diretamente na taxa de redução de minerais.

Após a etapa de desmineralização notou-se uma redução considerável na massa final da amostra. As amostras dos camarões (*Litopenaeus Vannamei* e *Xiphopenaeus kroyeri*) tiveram uma redução de 33,20% e 31,72%, respectivamente, ao serem submetidas a solução de HCl a 1,7% (A). Na medida que a concentração da solução foi aumentando, os teores de minerais eliminados aumentaram também (tabela 15), isto indica que as condições empregas no tratamento A e B de ambas as espécies não foram suficientes para remoção de todo conteúdo inorgânico. A taxa de redução obtida nestes experimentos enquadra-se com os valores obtidos por outros estudos que obtiveram resultados variando entre 24,12% e 49,48% (SYNOWIECKI; AL-KHATEEB, 2003).

Tabela 15 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de camarões (*Litopenaeus Vannamei* e *Xiphopenaeus kroyeri*) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl.

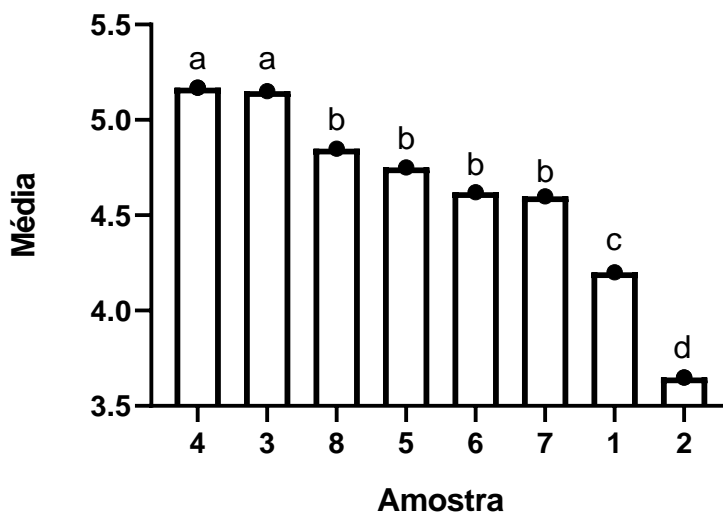
| Amostra | Concentração (HCl) | Minerais |
|--|--------------------|----------|
| Amostra 1 (<i>Litopenaeus Vannamei</i>) | A | 33,20% |
| | B | 41,00% |
| | C | 43,90% |
| | D | 45,50% |
| Amostra 2 (<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>) | A | 31,72% |
| | B | 35,34% |
| | C | 37,41% |
| | D | 38,45% |

Fonte: O Autor, 2022.

A partir dos dados da tabela 15, pode-se notar que para as amostras 1 e 2 houve pouca variação no percentual de redução de minerais obtida no tratamento B, C e D. Com esse resultado poderíamos concluir a não necessidade de utilizar altas concentrações de ácido para as amostras de camarão, sendo que as concentrações menores são suficientes. Contudo, ao realizar a análise estatística, observa-se que as amostras 1 e 2 correspondentes aos subprodutos de camarão, possui uma diferença significativa entre as demais amostras, e essa diferença pode estar relacionada com o tempo de exposição e a concentração de ácido extrapolados para estes crustáceos, visto que a quantidade de minerais é menor em relação aos outros crustáceos utilizados. O processo pode ter ocasionado a degradação química das

amostras, comprometendo a qualidade final da quitosana obtida (MORIN-CRINI et al., 2019) (Figura 17).

Figura 17 – Análise estatística das médias da desmineralização por amostra.



Fonte: O Autor, 2022.

A partir da tabela 16, observa-se que a desmineralização reduziu significativamente o teor de minerais da carapaça do siri (*Callinectes sapidus*) após o tratamento D, com um intervalo de redução considerável da amostra desmineralizada.

Tabela 16 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de siri (*Callinectes sapidus*) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl.

| Amostra | Concentração (HCl) | Minerais |
|---|--------------------|----------|
| Amostra 3 (<i>Callinectes sapidus</i>) | A | 38,40% |
| | B | 49,70% |
| | C | 44,60% |
| | D | 68,80% |

Fonte: O Autor, 2022.

No processo de desmineralização do caranguejo (*Ucides cordatus*) (tabela 17) pode-se observar que os experimentos desenvolvidos no tratamento A e B não obtiveram um bom resultado quanto ao percentual de redução da massa mineral, sendo observado no tratamento C e D um aumento no percentual de minerais removidos. Os dados encontrados nas amostras desmineralizadas em C e D aproximam-se de

outros estudos, que obtiveram uma redução de 52-78% de minerais (HUANG et al., 2020; SAGHEER et al., 2009; SHAHIDI; SYNOWIECKI, 1991).

Tabela 17 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de caranguejo (*Ucides cordatus*) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl.

| Amostra | Concentração (HCl) | Minerais |
|---|--------------------|----------|
| Amostra 4 (<i>Ucides cordatus</i>) | A | 33,40% |
| | B | 46,60% |
| | C | 54,30% |
| | D | 77,20% |

Fonte: O Autor, 2022.

O subproduto de lagosta (*Palinuridae Latreille*) submetido ao processo de desmineralização em C e D 50,10% e 66,90%, respectivamente, da massa inicial (tabela 18), apresentando vantagem em relação as demais concentrações empregadas, os resultados ficaram acima do encontrado por Trung et al., (2020), 31,6%. Contudo, o resultado obtido nos tratamentos A e B aproximam-se do estudo citado. Outros autores publicaram resultados em que o teor de minerais encontrados no exoesqueleto da lagosta esteve entre 54,7% e 63,3% (AHN; LEE, 1992; NO; MEYERS, 1995).

Tabela 18 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de lagosta (*Palinuridae Latreille*) após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl.

| Amostra | Concentração (HCl) | Minerais |
|---|--------------------|----------|
| Amostra 5 (<i>Palinuridae Latreille</i>) | A | 35,00% |
| | B | 34,10% |
| | C | 50,10% |
| | D | 66,90% |

Fonte: O Autor, 2022.

O tratamento empregado nas amostras de crustáceos combinados demonstrou uma variação semelhante entre as amostras, podendo ser observado na tabela 19. A maior redução de massa mineral ocorreu na amostra 8 no tratamento D.

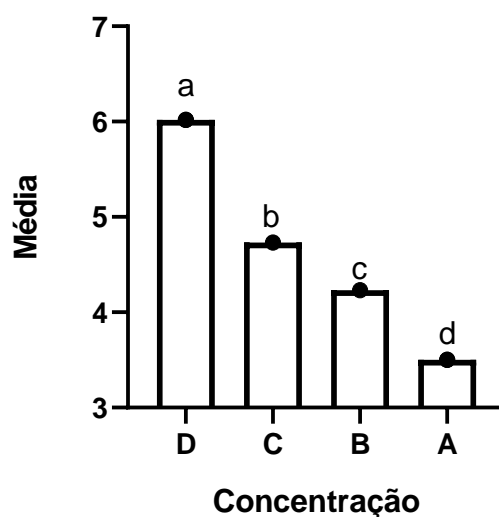
Tabela 19 - Determinação do teor de minerais do exoesqueleto de crustáceos combinados após o processo de desmineralização sob diferentes concentrações de HCl.

| Amostra | Concentração (HCl) | Minerais |
|-----------|--------------------|----------|
| Amostra 6 | A | 36,68% |
| | B | 43,24% |
| | C | 42,60% |
| | D | 58,20% |
| Amostra 7 | A | 32,48% |
| | B | 40,40% |
| | C | 46,44% |
| | D | 61,76% |
| Amostra 8 | A | 31,60% |
| | B | 40,92% |
| | C | 52,48% |
| | D | 65,28% |

Fonte: O Autor, 2022.

Ao analisar as médias das amostras 3 a 8 (siri, caranguejo, lagosta e combinados) podemos concluir através do percentual de redução de cada tratamento que houve uma diferença significativa do tratamento D em relação aos demais. Essa informação é confirmada através da análise estatística dos dados e apresentada na Figura 18.

Figura 18 - Médias de redução de minerais por tratamento.



Fonte: O Autor, 2022.

5.2.2. Desproteínização

Estudos anteriores descobriram que a concentração de álcali, a temperatura da reação e as espécies marinhas utilizadas são as principais variáveis a serem consideradas ao buscar a otimização da desproteínização (NO; MEYERS, 1995). Este processo ocorre com a utilização de meio básico para reagir com as macromoléculas orgânicas sob condições de aquecimento. Em tais condições, ocorre a fragmentação da cadeia de proteínas, permitindo a separação do conteúdo proteico do sólido remanescente rico em material polimérico. O tratamento químico é usado para promover a destruição das ligações químicas covalentes entre os complexos quitina-proteína (NAKAGAWA et al., 2015). As condições racionais do processo de desproteínização devem ser moderadas para evitar a ocorrência dos grupos acetamida presentes na quitina e também sua despolimerização (CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007).

A partir dos dados obtidos após a análise das amostras, observou-se variações nas composições proteicas de cada amostra, como pode ser observado na tabela 20. Oliveira e Nunes (2011) encontram valores semelhantes ao ensaio C da amostra 3, a partir de exoesqueleto de caranguejo, com percentual de 13,20% de proteínas. Outros estudos também obtiveram resultados próximos a este experimento, como 21,9% de conteúdo proteico em lagostas e 40,6% em camarões (SYNOWIECKI; AL-KHATEEB, 2003).

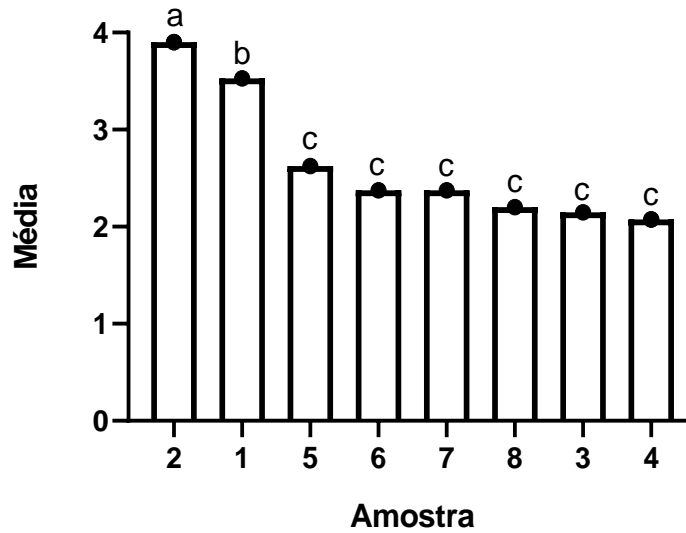
Tabela 20 - Percentual de conteúdo proteico no material desmineralizado.

| Amostra\Tratamento | Conteúdo proteico | | | |
|--------------------|-------------------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | D |
| Amostra 1 | 36,20% | 26,90% | 24,70% | 21,70% |
| Amostra 2 | 29,31% | 29,83% | 29,48% | 27,76% |
| Amostra 3 | 29,20% | 24,10% | 11,40% | 16,00% |
| Amostra 4 | 24,10% | 22,10% | 16,90% | 13,20% |
| Amostra 5 | 32,50% | 28,80% | 24,80% | 14,40% |
| Amostra 6 | 22,92% | 24,64% | 23,44% | 19,60% |
| Amostra 7 | 24,92% | 22,64% | 21,80% | 21,08% |
| Amostra 8 | 22,72% | 22,56% | 19,80% | 18,20% |

Fonte: O Autor, 2022.

Ao realizar a análise estatística das médias observou-se que a amplitude entre as amostras 1 e 2 foi pouco significativa entre si e muito significativa em relação as demais, essa diferença pode estar associada ao subproduto utilizado nas amostras, visto que estas eram compostas principalmente pelo cefalotórax dos camarões, parte rica em conteúdo proteico (BAJAJ; WINTER; GALLERT, 2011).

Figura 19 - Análise estatística da média de proteínas por amostra.



Fonte: O Autor, 2022.

5.2.3. Despigmentação

O exoesqueleto da maioria dos crustáceos é constituído também de pigmentos carotenoides (SIRVAS-CORNEJO; PEROCHENA-ESCALANTE, 2020). A presença dos grupos hidroxila (OH) e carbonila (C = O) em cada anel ionona explica algumas das características de astaxantina, tal como a capacidade de ser esterificado, uma natureza mais polar e alta capacidade antioxidante (LIU; OSAWA, 2007).

As técnicas convencionais de recuperação de pigmentos comumente utilizam solventes orgânicos, como o etanol, acetona, hexano, isopropanol e metanol através do processo de refluxo (Soxlet) (DE CAMPOS et al., 2008; LAU; GAN; NG, 2010). As maiores desvantagens da extração em Soxlet é o longo período necessário para a extração, a grande quantidade de solvente utilizada e o alto consumo de água e energia, o que representa prejuízo econômico e um problema ambiental. Além disso, a técnica é limitada pelo tamanho do extrator e sua difícil automação (CASTRO;

PRIEGO-CAPOTE, 2010). Por tal limitação, optou-se pelo método de extração utilizando NaClO (Hipoclorito de Sódio) a 15% v/v, volume diferente de outros autores que utilizaram 0,36% e 1% em processos que duraram de 8 horas a 30 horas (LINHARES, 2019).

Observou-se que após o contato das amostras com a solução, as mesmas apresentaram uma coloração mais esbranquiçada, comprovando a remoção dessa fração orgânica conforme pode ser observada na figura 17.

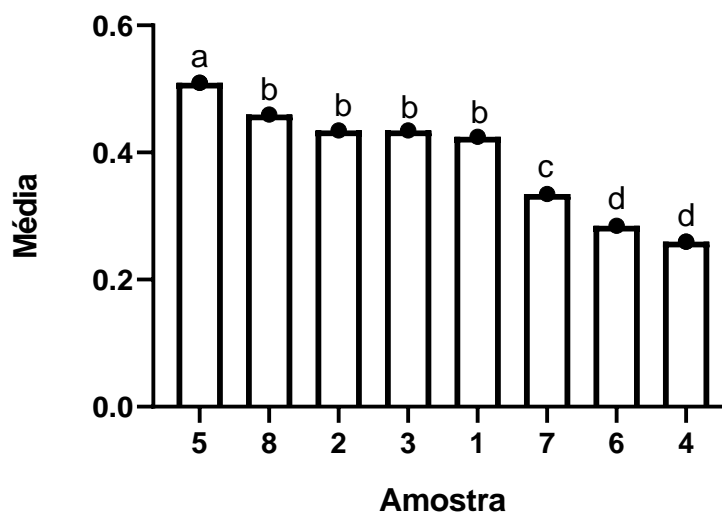
Figura 20 - Quitina após o processo de despigmentação.



Fonte: O Autor, 2022.

A partir da análise estatística das médias após o processo de despigmentação (Figura 21), observa-se uma semelhança entre as amostras 1, 2, 3, 5, e 8. Esta amplitude aumenta quando comparadas com as amostras 4, 6 e 7, que se assemelham. Com esses dados podemos concluir a eficiência do processo de despigmentação.

Figura 21 - Análise estatística das médias de pigmentos.

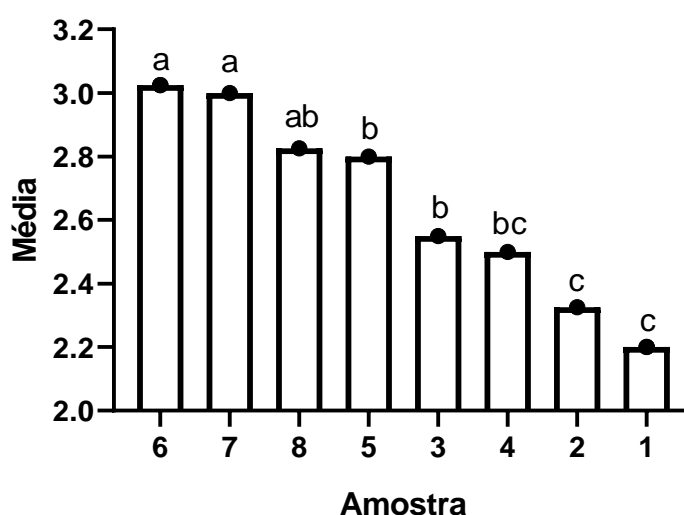


Fonte: O Autor, 2022.

5.2.4. Desacetilação

Após o processo de despigmentação obteve-se a quitina, ao analisar os dados estatísticos observa-se que as amostras 6 e 7 alcançaram as maiores médias tendo pouca diferença significativa entre elas. As amostras 5 e 8 também tiveram médias semelhantes, assim como as amostras 3 e 4. As menores médias foram representadas pelas amostras 1 e 2, podendo este fato estar associado ao déficit do processo de desmineralização (Figura 22).

Figura 22 - Médias de quitina por amostra.



Fonte: O Autor, 2022.

O rendimento da quitina e quitosana variaram de acordo com o indivíduo. Outros estudos relataram que o rendimento de quitina obtidos a partir de exoesqueletos de siri, lagosta e camarão foram de 11,73%, 15,7% e 28%, respectivamente (DEMIR et al, 2016; STRUSZCZYK; PETER, 2005). Tais valores aproximam-se dos resultados obtidos neste experimento.

Ao serem submetidos ao processo de desacetilação a massa das amostras teve uma redução de 15-25%. Ressalta-se que o conteúdo da quitina no exoesqueleto dos crustáceos pode ser maior, uma vez que nos resíduos também continham proteínas e dessa forma, acaba reduzindo a quantidade final de polímero mensurada.

5.2.5. Titulação potenciométrica (análise da quitosana)

Após a purificação da quitosana realizou-se a titulação potenciométrica em todas as amostras para avaliação do processo de desacetilação. A tabela 21 mostra os resultados da titulação potenciométrica expressos através do grau de desacetilação para todas as amostras realizadas durante essa etapa.

O grau de desacetilação afeta as propriedades físicas e químicas, como reatividade, solubilidade, biodegradabilidade e por consequência suas aplicações (CAMPANA FILHO; SIGNINI; CARDOSO, 2007).

Tabela 21 - Determinação do grau pureza das amostras após o processo de desacetilação.

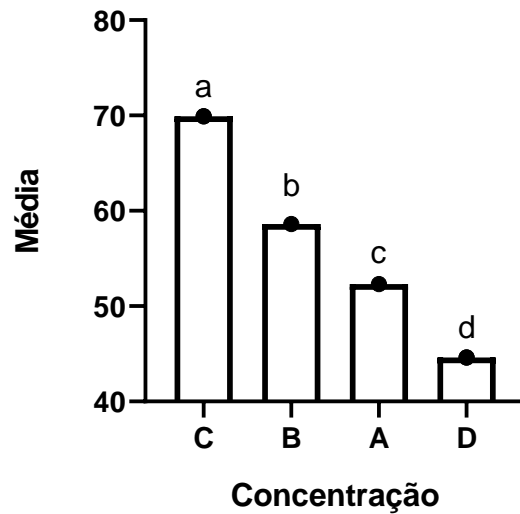
| | A | B | C | D |
|-----------|----------|----------|----------|----------|
| Amostra 1 | ** | 52,34 | 42,06 | 69,18 |
| Amostra 2 | ** | ** | ** | ** |
| Amostra 3 | 99,32 | 95,89 | 82,21 | ** |
| Amostra 4 | 66,36 | 59,56 | 78,38 | ** |
| Amostra 5 | 71,85 | 71,17 | 71,70 | ** |
| Amostra 6 | 96,76 | 92,45 | 93,56 | 94,98 |
| Amostra 7 | ** | ** | 99,35 | 96,97 |
| Amostra 8 | 83,50 | 96,76 | 91,15 | 94,92 |

** Amostras perdidas durante o processo.

Grande parte das amostras obtiveram grau de desacetilação acima de 70%, sendo este um resultado satisfatório, pois de acordo com Bressa-Junior e Gonçalves (2013) a quitosana utilizada para fins comerciais possui, geralmente, grau de desacetilação variando de 70 a 95%.

Com base nos resultados obtidos através da titulação potenciométrica, observa-se que houveram variações significantes no grau de desacetilação. Com base na análise estatística por tratamento, as maiores médias foram resultantes do tratamento C (Figura 23). Esse resultado mostra que, em geral, a quitosana obtida a partir de 5% de ácido na desmineralização, obteve o maior grau de desacetilação (≈70%). Os tratamentos A e B ficaram entre 52,3% e 58,6%, e a menor média foi obtida no tratamento D (menos de 50%).

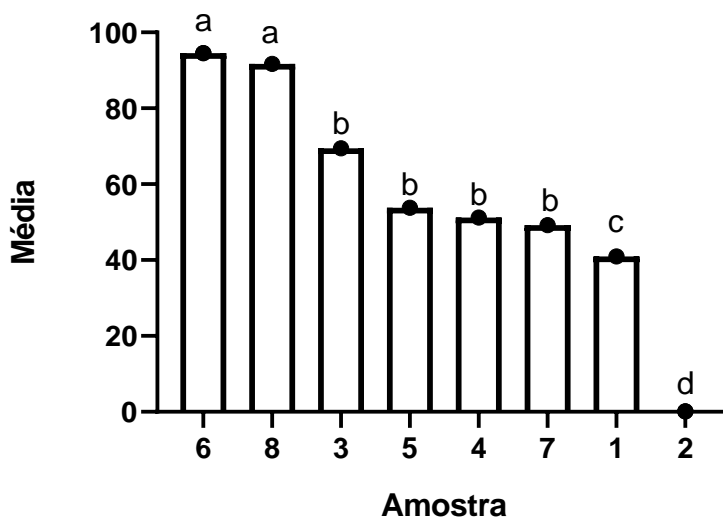
Figura 23 - Médias de GD por tratamento.



Fonte: O Autor, 2022.

Na análise realizada a partir das médias de amostras (Figura 24), nota-se uma diferença significativa das amostras 7 e 8 (GD \neq 95%) em relação as demais amostras (GD \neq 40%-69%). A média da amostra 2 encontra-se zerada devido a sua degradação durante o processo de desacetilação, esta degradação pode ter sido ocasionada pela temperatura, tempo de exposição na solução alcalina e altas concentrações.

Figura 24 - Média de GD por amostra.



Fonte: O Autor, 2022.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A partir dos métodos aplicados concluímos que é possível alcançar ótimos resultados na obtenção de quitosana a partir de distintos crustáceos combinados.
- Ainda é escasso ou ausente os dados de pesquisas de obtenção de quitosana a partir de fontes combinadas de crustáceos.
- Foi possível concluir que a remoção dos compostos inorgânicos, realizada através da etapa de desmineralização, utilizando concentrações diferentes de ácido clorídrico produziu resultados diferentes, de acordo com a espécie empregada; ressaltamos a importância desta etapa na qualidade da quitosana obtida ao final do processo.
- A etapa de desproteínização não é suficiente para remoção de todas as impurezas existentes na fração rica em quitina, sendo necessária a exposição dessa à solução de hipoclorito de sódio para retirada dos pigmentos;
- O processo de despigmentação foi satisfatório, visto que a partir do método adotado houve economia de água e energia.
- As condições empregadas para a desacetilação deve ser revisada afim de se obter um método otimizado para cada espécie. Torna-se importante a análise da composição química das amostras de quitina antes de iniciar o processo de desacetilação.

7. RECOMENDAÇÕES

Recomendamos que os futuros trabalhos analisem diferentes concentrações de reagentes, assim como a variação do tempo e temperatura para cada etapa. E avaliem viabilidade de uma produção industrial de quitosana no Brasil, dada a disponibilidade de matéria-prima no país e a valorização comercial da quitosana.

8. REFERÊNCIAS

ABREU, F. O. M. da S. et al. Propriedades e Características da Quitosana Obtida a Partir do Exoesqueleto de Caranguejo-Uçá Utilizando Radiação de Micro-Ondas. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 23, n. 5, p. 630–635, 2013.

AHN, C.-B.; LEE, E.-H. Utilization of chitin prepared from the shellfish crust 1. Functional properties of chitin, chitosan, and microcrystalline chitin. **Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 25, n. 1, p. 45–50, 1992.

AKYUZ, L. et al. Supplementing Capsaicin with Chitosan-Based Films Enhanced the Anti-Quorum Sensing, Antimicrobial, Antioxidant, Transparency, Elasticity and Hydrophobicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 438–446, ago. 2018.

ARANCIBIA, M. Y. et al. Development of Active Films of Chitosan Isolated by Mild Extraction with Added Protein Concentrate from Shrimp Waste. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 91–99, jan. 2015.

ARASUKUMAR, B. et al. Chemical Composition, Structural Features, Surface Morphology and Bioactivities of Chitosan Derivatives from Lobster (*Thenus Unimaculatus*) Shells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 1237–1245, ago. 2019.

ARNAUD, T. M. S. et al. Produção, propriedades e aplicações da quitosana na agricultura e em alimentos. In: RESENDE, R. R. **Biotecnol. Apl. À AgroIndústria - Vol 4**. 1. ed. [S.I.]: Editora Blucher, 2017. p. 503–528. Disponível em: <<http://openaccess.blucher.com.br/article-details/producao-propriedades-e-aplicacoes-da-quitosana-na-agricultura-e-em-alimentos-20265>>. Acesso em: 26 maio 2021.

ASSIS, O. B.; LEONI, A. M.; DE NOVAES, A. P. Avaliação do efeito cicatrizante da quitosana por aplicação tópica em ratos. **Embrapa Instrumentação-Documentos (INFOTECA-E)**, 2007.

AZEVEDO, Vvc. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista eletrônica de Materiais e processos**, v. 2, n. 3, p. 27–34, 2007.

BAJAJ, M.; WINTER, J.; GALLERT, C. Effect of Deproteination and Deacetylation Conditions on Viscosity of Chitin and Chitosan Extracted from Crangon Crangon Shrimp Waste. **Biochemical Engineering Journal**, v. 56, n. 1–2, p. 51–62, set. 2011.

BEZERRA, A. M. **Prospecção quantitativa e qualitativa de uma nova fonte renovável de quitosana**. 2016. Doutorado em Tecnologia Químico-Farmacêutica–Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016. Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9135/tde-25022016-111721/>>. Acesso em: 26 maio 2021.

BROEK, L. A. M. van den; BOERIU, C. G.; STEVENS, C. V. **Chitin and Chitosan**. Hoboken, New Jersey: Wiley, 2020. (Wiley series in renewable resources).

CAMPANA FILHO, S. P.; SIGNINI, R.; CARDOSO, M. B. Propriedades e Aplicações de Quitosana. **Revista Processos Químicos**, v. 1, n. 2, p. 9–20, 2 jul. 2007.

CHUAN, D. et al. Chitosan for gene delivery: Methods for improvement and applications. **Advances in colloid and interface science**, v. 268, p. 25–38, 2019.

DASH, M. et al. Chitosan—A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, ago. 2011.

DECKER, A. T. et al. Impactos ambientais dos resíduos de pescado. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 2, n. 1, p. 1, 4 jul. 2016.

DUN, Y. et al. Simultaneous Fermentation and Hydrolysis to Extract Chitin from Crayfish Shell Waste. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 123, p. 420–426, fev. 2019.

EL KNIDRI, H. et al. Extraction, Chemical Modification and Characterization of Chitin and Chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181–1189, dez. 2018.

FAI, A. E. C.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista iberoamericana de polímeros**, v. 9, n. 5, p. 435–451, 2008.

FOSTER, L. J. R. et al. Chitosan as a biomaterial: Influence of degree of deacetylation on its physiochemical, material and biological properties. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135153, 2015.

GÓMEZ-RÍOS, D.; BARRERA-ZAPATA, R.; RÍOS-ESTEPA, R. Comparison of Process Technologies for Chitosan Production from Shrimp Shell Waste: A Techno-Economic Approach Using Aspen Plus ®. **Food and Bioproducts Processing**, v. 103, p. 49–57, maio 2017.

GUPTA, M. et al. Amphiphilic Block Copolymer: A Smart Option for Bioactives Delivery. **Adv. Ave. Dev. Nov. Carr. Bioact. Biol. Agents**. [S.l.]: Elsevier, 2020. p. 451–479. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128196663000158>>. Acesso em: 11 dez. 2021.

H. ROLIM, A. E. et al. Chitosan Scaffolds - Physico -Chemical and Biological Properties for Bone Repair. **Revista Virtual de Química**, p. 211–228, 2018.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial Applications of Crustacean By-Products (Chitin, Chitosan, and Chitooligosaccharides): A Review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40–50, fev. 2016.

HE, X. et al. The Production of Fully Deacetylated Chitosan by Compression Method. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 42, n. 1, p. 75–81, mar. 2016.

HUANG, L. et al. Preparation and Characterization of Chitosan from Crab Shell (*Portunus Trituberculatus*) by NaOH/Urea Solution Freeze-Thaw Pretreatment Procedure. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 147, p. 931–936, mar. 2020.

KAUR, S.; DHILLON, G. S. Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. **Critical reviews in biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 44–61, 2015.

KOU, S. (Gabriel); PETERS, L. M.; MUCALO, M. R. Chitosan: A Review of Sources and Preparation Methods. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 85–94, fev. 2021.

KUMARI, S.; RATH, P. K. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (*Labeo Rohit*) Fish Scales. **Procedia Materials Science**, v. 6, p. 482–489, 2014.

LI, J. et al. Chitosan-based nanomaterials for drug delivery. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2661, 2018.

MA, J. et al. Terrestrial Insects as a Promising Source of Chitosan and Recent Developments in Its Application for Various Industries. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131407, mar. 2022.

MARTÍN-LÓPEZ, H. et al. Structural and Physicochemical Characterization of Chitosan Obtained by UAE and its Effect on the Growth Inhibition of *Pythium ultimum*. **Agriculture**, v. 10, n. 10, p. 464, 2020.

MORIN-CRINI, N. et al. Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 4, p. 1667–1692, 2019.

NEGI, H.; VERMA, P.; SINGH, R. K. A Comprehensive Review on the Applications of Functionalized Chitosan in Petroleum Industry. **Carbohydrate Polymers**, v. 266, p. 118125, ago. 2021.

NGUYEN, T. T. et al. Highly Efficient Recovery of Nutritional Proteins from Australian Rock Lobster Heads (*Jasus Edwardsii*) by Integrating Ultrasonic Extraction and Chitosan Co-Precipitation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 60, p. 102308, mar. 2020.

NO, H. K.; MEYERS, S. P. Preparation and Characterization of Chitin and Chitosan—A Review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 4, n. 2, p. 27–52, 3 out. 1995.

PACHAPUR, V. L. et al. Novel Biological and Chemical Methods of Chitin Extraction from Crustacean Waste Using Saline Water: Novel Biological and Chemical Methods of Chitin Extraction. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 8, p. 2331–2339, ago. 2016.

PAKIZEH, M.; MORADI, A.; GHASSEMI, T. Chemical Extraction and Modification of Chitin and Chitosan from Shrimp Shells. **European Polymer Journal**, v. 159, p. 110709, out. 2021.

PANDIT, A. et al. Mechanistic insights into controlled depolymerization of Chitosan using H-Mordenite. **Carbohydrate polymers**, v. 230, p. 115600, 2020.

QUESADA, H. B. et al. Chitosan, alginate and other macromolecules as activated carbon immobilizing agents: a review on composite adsorbents for the removal of water contaminants. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2020.

RINAUDO, M. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603–632, jul. 2006.

ROBERTS, G. A. **Chitin chemistry**. [S.l.]: Macmillan International Higher Education, 1992.

ROCHA, M. A. M.; COIMBRA, M. A.; NUNES, C. Applications of chitosan and their derivatives in beverages: A critical review. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 61–69, 2017.

SAGHEER, F. A. A. et al. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Marine Sources in Arabian Gulf. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 410–419, jun. 2009.

SANNAN, T.; KURITA, K.; IWAKURA, Y. Studies on chitin, 1. Solubility change by alkaline treatment and film casting. **Die Makromolekulare Chemie**, v. 176, n. 4, p. 1191–1195, abr. 1975.

SAYARI, N. et al. Chitin and Chitosan from the Norway Lobster By-Products: Antimicrobial and Anti-Proliferative Activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 163–171, jun. 2016.

SHAHIDI, F.; SYNOWIECKI, J. Isolation and Characterization of Nutrients and Value-Added Products from Snow Crab (*Chionoecetes Opilio*) and Shrimp (*Pandalus Borealis*) Processing Discards. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 8, p. 1527–1532, ago. 1991.

SHARIATINIA, Z.; JALALI, A. M. Chitosan-Based Hydrogels: Preparation, Properties and Applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 194–220, ago. 2018.

SIRVAS-CORNEJO, S.; PEROCHENA-ESCALANTE, E. Biotechnological recovery of chitin from crustacean waste. **Revista Peruana de Biología**, v. 27, n. 1, p. 095–102, 4 mar. 2020.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N. A. Production, Properties, and Some New Applications of Chitin and Its Derivatives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 2, p. 145–171, mar. 2003.

TIAN, B.; LIU, Y. Chitosan-based biomaterials: From discovery to food application. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 31, n. 11, p. 2408–2421, 2020.

TOLAIMATE, A. et al. Contribution to the Preparation of Chitins and Chitosans with Controlled Physico-Chemical Properties. **Polymer**, v. 44, n. 26, p. 7939–7952, dez. 2003.

TORRES, M. A. et al. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros**, v. 15, p. 306–312, 2005.

TRUNG, T. S. et al. Improved Method for Production of Chitin and Chitosan from Shrimp Shells. **Carbohydrate Research**, v. 489, p. 107913, mar. 2020.

WANG, S.-L.; LIANG, T.-W.; YEN, Y.-H. Bioconversion of Chitin-Containing Wastes for the Production of Enzymes and Bioactive Materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 2, p. 732–742, mar. 2011.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133–1174, 2 mar. 2015.

ZAINOL ABIDIN, N. A. et al. The Potential of Insects as Alternative Sources of Chitin: An Overview on the Chemical Method of Extraction from Various Sources. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 4978, 15 jul. 2020.