



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS- FCA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS

PESQUEIROS – PPGCARP



Dissertação

EXTRAÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA DE ESCAMAS DE PIRARUCU

(Arapaima gigas)

DAVISON PINTO CARNEIRO

MANAUS - AMAZONAS

MAIO - 2022

DAVISON PINTO CARNEIRO

EXTRAÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA DAS ESCAMAS DE PIRARUCU
(Arapaima gigas)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros – PPGCARP, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração: Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais.

Área de Concentração: Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais

Linha de Pesquisa: Tecnologias de uso de Recursos Pesqueiros

Orientador: Prof. Dr. Adriano Teixeira de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Antônio José Inhamuns da Silva

Financiamentos: Capes (bolsa de mestrado), CNPq (processo 315713/2020-8), IFAM (Edital PADCIT) e FAPEAM (processo 01.02.016301.03380/2021-00)

MANAUS - AMAZONAS

MAIO – 2022

DAVISON PINTO CARNEIRO

**EXTRAÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA DE ESCAMAS DE
PIRARUCU (*Arapaima gigas*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração em Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros.

Aprovada em 31 de maio de 2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Adriano T. de Oliveira
Curso de Lic. em Ciências Biológicas
IFAM-CMC

Dr. Adriano Teixeira de Oliveira - Presidente Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Amazonas



Dr^a Sandriane Pizato - Membro Universidade Federal do Amazonas



Francisca das Chagas do Amaral Souza
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Mestrado em 01/01/2022
ESAB/INPA/INCT

Dr^a Francisca das Chagas do Amaral Souza - Membro Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

AGRADECIMENTOS

À Deus pela dádiva da vida, pela sabedoria, os discernimentos e compreensões para superar as adversidades da vida e por sempre estar comigo, até nos momentos mais difíceis e solitários. Obrigado Deus!

Também devo uma vida de gratidão aos meus Pais, Daniel e Edileuza Carneiro, e irmãs, Evanna e Daniela, que mesmo em meio a todas as limitações sempre deram o máximo para proporcionar o melhor ambiente familiar, com amor, afeto, felicidade, companheirismo, compreensão e apoio incondicional, além dos horizontes. Minha base e inspiração sempre. Amo vocês!

Também tenho um agradecimento mais que especial à minha esposa, Kerolayne Vale, quem sempre me encoraja a crescer intelectualmente, profissionalmente e emocionalmente, além de sempre estar comigo, compartilhando as alegrias e tristezas, o pouco e o muito, minha companheira de vida e sonhos. Você é meu porto seguro. Amo muito você, minha vida!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Adriano Teixeira de Oliveira, pela paciência, incentivo e palavras de encorajamento, tranquilidade e ajuda. Devo muito a você.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Antônio José Inhamuns da Silva, por me acolher no grupo e contribuir para minha formação profissional, durante a graduação e agora nesse mestrado, me apresentando ao intrigante universo dos biopolímeros. Sou imensamente grato por tudo.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Rocha Aride, por aceitar fazer parte dessa jornada, mesmo que por pouco tempo. Minha eterna gratidão.

Agradeço a Universidade Federal do Amazonas principalmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPG-CARP).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao amigo do Laboratório de Tecnologia do Pescado, o Técnico Carlos Calafate Ferreira, pela ajuda durante as realizações das experimentações, processamentos e análises, meu muito obrigado.

À Dra. Cristiane Gama e ao Biólogo Júlio, pelo apoio gigante que dispensaram para o desenvolvimento desse trabalho.

Não poderia esquecer meus amigos Alexandre Barai, Flávia Farias, Paula Santos, Lígia Mourão, Carlos Calafate, Tiago Cabral e Cristiane Guimarães pela convivência, alegrias, motivações e apoio durante o mestrado. Vocês ocupam um canto especial no meu coração.

Aos meus amigos Marcos Mereles, Diego Valente, do PIATAM e Moisés e Jéssica, do Departamento de Química pela ajuda nas análises estatísticas e de FTIR, respectivamente. Vocês foram fundamentais nessa história, muito obrigado.

A todos os amigos do PPG-CARP, aos quais não vou citar nomes pra não cometer o pecado de esquecer de alguém. A todos vocês meu eterno carinho.

Além de agradecimento, quero expressar também meu carinho especial à dona Ana e à Néia, que em seus ofícios diários sempre proporcionaram um ambiente apropriado para o desenvolvimento dos nossos trabalhos, além dos momentos de descontração e muitos risos diários. Sou imenso grato a Deus pela vida de vocês.

E não poderia esquecer nossa estrela do Laboratório de Tecnologia do Pescado, a MSc. Adriana Pontes Viana (*in memoriam*), pelos bons momentos de estudo e amizade. Saudade eterna, minha querida.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a construção desse trabalho. Meu muito obrigado a todos.

“Faça o teu melhor, na condição que você tem,
enquanto você não tem condições melhores,
para fazer melhor ainda!”

(MARIO SERGIO CORTELLA)

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNITOS

AIP	Aproveitamento Integral do Pescado
AOAC	Associação dos Oficiais Químicos Analíticos
$\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$	Acetona
CH_3COOH	Ácido acético
Da	Dalton
DD	Desacetylation degree
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação
FTIR	Espectroscopia na Região do infravermelho com transformada de Fourier
GD	Grau de desacetilação
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
HÁ	Hidroxiapatita
HCl	Ácido clorídrico
HCOOH	ácido fórmico
HNO_3	Ácido nítrico
IC	Índice de cristalinidade
KDa	Quilodalton
KMnO_4	Permanganato de Potássio
KOH	Hidróxido de potássio.
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NaClO	Hipoclorito de Sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
pH	Potencial Hidrogeniônico
QAPM	Quitosana de Alto Peso Molecular
QBPM	Quitosana de Baixo Peso Molecular
QMPM	Quitosana de Médio Peso Molecular
RNA	Ácido ribonucleico
SEMA	Secretária de Estado do Meio Ambiente do Amazonas

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Figura 01:	Estrutura química das unidades de repetição de quitina, 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose β (1 $\rightarrow$ 4) (a) e quitosana, 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose β (1 $\rightarrow$ 4) (b).....	30
Figura 02:	Estrutura de (a) N-acetil-glucosamina, monômeros de quitina, (b) glucosamina, monômero de quitosana e (c) glucose, monômero de celulose. adaptados de Pillai et al., 2009 e Morin-Crini et al., 2019a.....	30
Figura 03:	Estrutura de diferentes conformações de quitina. Arranjos antiparalelos e paralelos de diferentes alomorfos (conformação de domínio α , β e γ -quitina). adaptado de Annu et al., 2017 e Roy et al., 2017.....	31

CAPÍTULO II

Figura 01:	Pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>). Adaptado de Santos et al., 2006.....	60
Figura 02:	Fluxograma de extração da quitina e quitosana das escamas de pirarucu em tratamento homogêneo e heterogêneo.....	63
Figura 03:	Escamas de pirarucu em diferentes tratamentos de desmineralização. a) Escamas íntegras de pirarucu; b) Detalhes da superfície e linhas de deposição de cálcio das escamas íntegras; c) Escamas desmineralizadas com CH ₃ COOH; d) Detalhes dos pontos de cálcio presentes na superfície da escama, resultado da baixa eficiência na desmineralização por CH ₃ COOH; e) Escamas de pirarucu totalmente desmineralizadas com HCl; f) Ausência de pontos de cálcio nas escamas de pirarucu tratados com HCl. Imagens do autor.....	73
Figura 04:	Processo de desproteínização das cadeias de quitina. Adaptado de Yusharani et al., 2019.....	74
Figura 05:	Escamas desproteínizadas. a) concentrado de quitina não solúvel em solução alcalina; b) Material com baixa eficiência de desproteínização, com “torrões” de quitina insolúvel em tratamento homogêneo. Imagens do autor.....	76
Figura 06:	Cadeia de quitina e seus grupos amino e hidroxila. Adaptado de Yadav et al, 2019.....	76

Figura 07:	Escamas desproteinizadas a) quitina não solúvel por tratamento homogêneo; b) baixa eficiência de desproteinação por tratamento homogêneo, sem adição de calor. Imagens do autor.....	77
Figura 08:	Polímeros de quitina heterogênea extraídos de escamas de pirarucu. A) desproteinação, b) quitina impura granulada, c) quitina purificada granulada. Imagens do autor.....	78
Figura 09:	Rendimento da quitina extraída das escamas de pirarucu em procedimento homogêneo (T1) e heterogêneo (T2).....	78
Figura 10:	Desacetilação da quitina para quitosana. Adaptado de Yusharani et al., 2019.....	79
Figura 11:	Polímeros de quitosana homogênea extraídos de escamas de pirarucu. A) desacetilação, b) precipitação e recuperação do polímero, c) quitosana homogênea purificada granulada. Imagens do autor.....	80
Figura 12:	Polímeros de quitosana heterogênea extraídos de escamas de pirarucu. A) desacetilação, b) neutralização e recuperação do polímero, c) quitosana heterogênea purificada granulada. Imagens do autor.....	80
Figura 13:	Comparativo de rendimento da quitosana extraída das escamas de pirarucu em procedimento homogêneo (T1) e heterogêneo (T2).....	81
Figura 14:	Espectro de FTIR para a quitina das escamas de pirarucu.....	83
Figura 15:	Espectro de FTIR para a quitosana das escamas de pirarucu.....	85

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 01:	Diversidade recursos utilizados como matéria-prima na extração de polímeros carboidratos e outros. Adaptado de Campana-Filho et al., 2007; Morin-Crini et al., 2019a; Pighinelli, et al., 2019.....	35
-------------------	---	-----------

CAPÍTULO II

Tabela 01:	Composição centesimal das escamas, quitina e quitosana extraídos de resíduos de pirarucu.....	69
Tabela 02:	Parâmetros quantitativos das escamas, quitina e quitosana extraídos em procedimento homogêneo (T1) e heterogêneo (T2) de resíduos de pirarucu.....	75
Tabela 03:	Grupos funcionais da quitina das escamas de pirarucu comparados à literatura.....	83
Tabela 04:	Grupos funcionais da quitosana das escamas de pirarucu comparados à literatura.....	85

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNITOS.....	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE TABELAS	X
SUMÁRIO	XI
RESUMO.....	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
3. OBJETIVOS	21
3.1. GERAL.....	21
3.2. ESPECÍFICOS	21
4. HIPÓTESE	22
CAPITULO I	23
QUITINA E QUITOSANA: HISTÓRIA, CARACTERÍSTICAS, FONTES E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	23
RESUMO.....	24
ABSTRACT	25
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. METODOLOGIA.....	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.1. LEVANTAMENTO HISTÓRICO DA QUITINA E QUITOSANA	28
3.1.1. <i>Fases pós descoberta</i>	30
3.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS	31
3.2.1. <i>Estrutural</i>	31
3.2.2. <i>Peso Molecular da Quitosana</i>	33
3.2.3. <i>Grau de Desacetilação</i>	33
3.2.4. <i>Cristalinidade</i>	34
3.2.5. <i>Área Superficial e Tamanho da Partícula</i>	34
3.3. FONTES E MATÉRIA-PRIMA	35
3.3.1. <i>Crustáceos</i>	35
3.3.2. <i>Moluscos</i>	36
3.3.3. <i>Fungos</i>	37
3.3.4. <i>Insetos</i>	37
3.3.5. <i>Peixes</i>	38
3.4. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	39
3.4.1. <i>Extração da quitina</i>	39
3.4.2. <i>Extração da quitosana</i>	42

4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
CAPITULO II.....		55
QUITINA E QUITOSANA DAS ESCAMAS DE PIRARUCU (<i>ARAPAIMA GIGAS</i>) ...		55
RESUMO.....		56
ABSTRACT		57
1.	INTRODUÇÃO.....	58
2.	MATERIAL E MÉTODOS	60
2.1.	MATÉRIA PRIMA	60
2.2.	PREPARO DO MATERIAL	61
2.3.	EXTRAÇÃO HOMOGÊNEA (T1).....	61
2.3.1.	<i>Desmineralização</i>	61
2.3.2.	<i>Desproteínização</i>	61
2.3.3.	<i>Desacetilação</i>	62
2.4.	EXTRAÇÃO HETEROGÊNEA (T2)	62
2.4.1.	<i>Desmineralização</i>	62
2.4.2.	<i>Desproteínização</i>	62
2.4.3.	<i>Desacetilação</i>	63
2.5.	PURIFICAÇÃO E SECAGEM DOS BIOPOLÍMEROS	63
2.6.	DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO	65
2.7.	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	65
2.8.	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	65
2.9.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	65
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
3.1.	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS ESCAMAS E POLÍMEROS CARBOIDRATOS	67
3.1.1.	<i>Escamas</i>	67
3.1.2.	<i>Quitina e quitosana</i>	69
3.2.	EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DOS POLÍMEROS CARBOIDRATOS.....	70
3.2.1.	<i>Desproteínização</i>	73
3.2.2.	<i>Desacetilação</i>	78
3.3.	ESPECTROSCOPIA DOS POLÍMEROS CARBOIDRATOS.....	81
3.3.1.	<i>Quitina</i>	81
3.3.2.	<i>Quitosana</i>	83
4.	CONCLUSÃO	85
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	86

RESUMO

Os resíduos de peixe não são materiais descartáveis sem valor nutritivo, mas se mostram como excelente matéria-prima para extração de compostos diversos. As escamas de pirarucu (*Arapaima gigas*) carregam em sua composição, além dos compostos proteicos e minerais, um volume razoável de quitina e quitosana de boa qualidade que podem ser explorados para aplicação nos diversos ramos industriais, tecnológicos, médicos e outros. O objetivo deste trabalho foi extrair, determinar o rendimento e caracterizar a quitina e quitosana obtidas a partir das escamas de pirarucu. As amostras de escamação do pirarucu foram submetidas a dois tratamentos, sendo T1 extração homogênea, uma adaptação do processo com repouso das amostras por 24h em solução antes da aplicação de calor e T2 extração heterogênea, com aplicação direta das amostras em solução química sob aquecimento. A análise de Espectroscopia na Região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) mostrou assinatura das bandas relativas da quitina e quitosana. As quitinas T1 e T2 e quitosana T1 e T2 obtidos dos processos, mostraram características distintas, onde as quitinas extraídas apresentaram volumes em cerca de 1,37% ($\pm 0,30$) e 38,84% ($\pm 4,40$) para T1 e T2, respectivamente, enquanto as quitosanas apresentaram valores em cerca de 84,68% ($\pm 6,99$) e 76,66% ($\pm 5,58$) para T1 e T2, respectivamente. Também foram avaliadas a composição centesimal das escamas e dos polímeros carboidratos. As escamas, quitina e quitosana apresentaram valores médios de 20,53% ($\pm 2,23$), 11,49% ($\pm 0,59$) e 6,91% ($\pm 0,30$), para umidade e 0,07% ($\pm 0,01$), 0,05% ($\pm 0,01$), 1,08% ($\pm 0,47$) para lipídios; A proteína apresentou valores em cerca de 36,13% ($\pm 2,13$), 1,01% ($\pm 0,34$), 0,51% ($\pm 0,34$); A cinza apresentou valores estimados em 31,16% ($\pm 0,62$), 80,71% ($\pm 0,17$) e 75,76% ($\pm 0,13$). As escamas do pirarucu, apresentam-se como fonte de biomoléculas de quitina e quitosana, com grande potencial para aplicações tecnológicas.

Palavra-chave: Polímeros carboidratos, Estruturas calcificadas em peixes, N-Acetil, Subproduto de pescado.

ABSTRACT

Fish residues are not disposable materials with no nutritional value, but they prove to be an excellent raw material for the extraction of various compounds. The pirarucu (*Arapaima gigas*) scales carry in their composition, in addition to protein and mineral compounds, a reasonable volume of good quality chitin and chitosan that can be exploited for application in various industrial, technological, medical and other branches. The objective of this work was to extract, determine the yield and characterize chitin and chitosan obtained from pirarucu scales. The pirarucu scale samples were submitted to two treatments, T1 being homogeneous extraction, an adaptation of the process with the samples resting for 24 hours in solution before the application of heat, and T2 heterogeneous extraction, with direct application of the samples in chemical solution under heating. The analysis of Fourier Transform Infrared Region Spectroscopy (FTIR) showed signature of the relative bands of chitin and chitosan. The chitins T1 and T2 and chitosan T1 and T2 obtained from the processes showed distinct characteristics, where the extracted chitins presented volumes of about 1.37% (± 0.30) and 38.84% (± 4.40) for T1 and T2, respectively, while chitosans showed values around 84.68% (± 6.99) and 76.66% (± 5.58) for T1 and T2, respectively. The proximate composition of scales and carbohydrate polymers were also evaluated. The scales, chitin and chitosan presented mean values of 20.53% (± 2.23), 11.49% (± 0.59) and 6.91% (± 0.30), for moisture and 0.07% (± 0.01), 0.05% (± 0.01), 1.08% (± 0.47) for lipids; The protein showed values around 36.13% (± 2.13), 1.01% (± 0.34), 0.51% (± 0.34); Ash presented estimated values of 31.16% (± 0.62), 80.71% (± 0.17) and 75.76% (± 0.13). The pirarucu scales are a source of chitin and chitosan biomolecules, with great potential for technological applications.

Keywords: Carbohydrate polymers, Calcified structures in fish, N-Acetyl, Fish by-product.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Na produção pesqueira global é crescente a demanda por alimentos e as mudanças de hábito alimentar a procura de carne magra, saudável, com baixo valor calórico, altamente proteica, contribuindo com elevação na média do consumo per capita de pescado nos últimos anos, chegou a 20,5 kg em 2018 com acréscimo de 1,5%, na média ao ano, sendo 52% do pescado destinado a consumo humano proveniente da aquicultura (CHAMBO et al., 2018; HASSELBERG et al., 2020; FAO, 2020).

Segundo Vidal et al. (2011), a determinação do rendimento da parte comestível de pescado é de fundamental importância, depende de vários fatores que devem ser levados em consideração como equipamentos de filetagem, eficiência manual do operário, o formato e o tamanho do peixe. Não obstante, o conhecimento do processo de filetagem de pescado é de extrema importância, porque permite planificar ou idealizar a produção, melhorando a eficiência produtiva, consequentemente objetivando um aproveitamento maior do filé sem pele (CARNEIRO et al., 2004). É sabido que, na maioria das vezes, os resíduos impróprios para o consumo humano, (vísceras, escamas, pele, cabeça, esqueleto), são destinados ao descarte ou utilizados para elaboração de produtos, tais como a produção de farinha para alimentação animal e a silagem.

Os resíduos do beneficiamento da indústria mundial de pescado e aquicultura geraram 35,8 milhões de toneladas, o equivalente a pouco mais de 20% do volume de pescado produzido no mundo (FAO, 2020). Entretanto, na maioria das vezes, esses resíduos não recebem destinos corretos, sendo despejados inadequadamente em lixões urbanos, rios, córregos ou mares, causando poluição ambiental e consequentemente a contaminação da fauna e flora aquática (VIDOTTI et al., 2003; JUN et al., 2004; MOUSAVI et al., 2013; ALVES et al., 2017; FEITOSA et al., 2017).

O termo resíduo é designado às sobras de subprodutos que não possuem valor comercial após o processamento industrial. Entretanto, existem várias formas de aproveitamento desses resíduos para transformar em subprodutos de alto valor agregado (LIMA et al., 2012; AGUIAR et al., 2014; VIDAL-CAMPELLO et al., 2021). Tais resíduos são fontes de biopolímeros, tais como: proteínas, gelatina, peptídeos, pigmentos, colágeno, DNA, RNA, quitina, quitosana e outros (PENICHE et al., 2008; PHILIBERT et al., 2017). Em se tratando de quitina comercial, as principais fontes industriais são: cascas de camarão, siri, lagosta, ostra e krill, oriundos do processamento da indústria pesqueira (CAMPANA-FILHO et al., 2007; MORIN-CRINI et al., 2019a). Desses resíduos de crustáceos é possível obter quitina (20-30%), proteínas (30-40%), sais inorgânicos (principalmente carbonato de cálcio e fosfato) (30-50%) e lipídios (0-14%),

sendo as porcentagens variantes, considerando as espécies e estações de captura (PENICHE et al., 2008).

Dentre os resíduos, as escamas de peixes correspondem de 2 a 4% da quantidade total, assim em estudo realizado por Fernandes (2010), Souza e Inhamuns (2011), relatam que para o tambaqui os resíduos alcançam cerca de 45% do volume do pescado, dentre desses, as escamas correspondem a 2,6 %. Para o pirarucu, a cabeça equivale entre 12 a 13,5% as vísceras apresentaram de 5,4 a 6,0% e escamas corresponderam entre 6,6% a 9,7%, onde os resíduos totais alcançaram 30% (OLIVEIRA, 2007; BATALHA, 2017).

As escamas de pirarucu são classificadas como ganóides, muito grandes, espessas, estriadas e granuladas, composta por duas camadas, sendo que a parte externa (escura), muito dura na superfície, altamente mineralizada, reforçada com fosfato de cálcio (MEAZZA, 2019; YANG et al., 2019). Na parte interna (clara), é mais flexível, contendo grande quantidade de fibras colagenosas e outros biopolímeros que podem ser extraídos, tais como: hidroxiapatita, quitina e quitosana, que têm altos valores econômicos nos ramos industriais (ILYAS et al., 2018; YANG et al., 2019; ASHWITHA et al., 2020).

Entretanto, em busca de alternativas viáveis para agregar valor a esses resíduos, e que tenham a sua aplicabilidade, pesquisas vêm sendo realizadas para obtenção e caracterização da quitina e quitosana, um produto que possui amplas aplicações tecnológicas e aceitação no mercado. A quitosana é um polímero pseudonatural que possui uma característica que destaca dos demais polímeros devido ao seu comportamento catiônico (FIAMINGO et al., 2017; MORIN-CRINI et al., 2019a). Por conta dessa característica a quitosana possibilita diversas aplicações, processados na forma de partículas, nanopartículas, resinas, esponjas, géis/hidrogéis, filmes, fibras e nanofibras, fios microscópicos, andaimes e flocculantes, membranas, grânulos e micropartículas (DASH et al., 2011;; KUMARI & KISHOR, 2020), podendo ser administrado em procedimentos médicos, biomedicina, farmácia, cosmético, higiene e cuidados pessoais, indústria alimentar e nutrição, agricultura e agroquímica, indústrias têxteis e de papel, indústria de filmes comestíveis e embalagens, biotecnologia, química e catálise, cromatografia, indústria de bebidas e enologia, tratamento de águas e resíduos, biomedicina, farmácia, odontologia, em sistemas de liberação controlada de medicamentos e vacinas (RINAUDO, 2006; DASH et al., 2011; FIAMINGO et al., 2017; MORIN-CRINI et al., 2019a).

As informações referentes a extração da quitina e quitosana das escamas do pirarucu são escassas. Com esse estudo, espera-se criar subsídios que possam servir na pesquisa e indústria, que de posse do conhecimento gerado sobre a extração, rendimento e caracterização

de tais polímeros das escamas do pirarucu, definam-se novas tecnologias de processamento e aproveitamento racional deste subproduto, reduzindo o descarte, alavancando novos investimento e tecnologias, assim contribuindo com a economia, sustentabilidade e geração de emprego e renda.

Diante do contexto exposto, o presente estudo está dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, realizada uma breve revisão de literatura sobre a história, características, fontes e métodos de extração da quitina e quitosana. No segundo capítulo foi determinada a composição centesimal das escamas, o rendimento segundo as formas de tratamento das escamas: homogênea e heterogênea, através do método de extração químico, além da caracterização físico-química da quitina e quitosana obtidos no presente estudo.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, G. P.S.; LIMBERGER, G. M.; SILVEIRA, E. L. (2014). Alternativas tecnológicas para o aproveitamento de resíduos provenientes da industrialização de pescados. Interdisciplinar: **Revista Eletrônica da UNIVAR**, v.11, n. 1, p. 229-225. Disponível em: <https://www.academia.edu/40838127/AlternativasTenol%C3%B3gicas_Para_O_Aproveitamento_De_Res%C3%ADuos_Provenientes_Da_Industrializa%C3%A7%C3%A3o_De_Pescados>. Acesso em: 18 fev. 2021.
- ALVES, E. M. P.; SILVA, A.; SOUSA, C. L.; FIGUEIREDO, H. M.; NEVES, E. A. (2017). Aspectos higiênicos sanitários das instalações do Mercado do Ver-o-Peso e avaliação da temperatura dos peixes comercializados. **Revista Eletrônica da FAINOR**, v. 10, n. 2, p.25-43.
- ASHWITHA, A.; THAMIZHARASAN, K.; BHATT, P. (2020). Optimization of hydroxyapatite (HAp) extraction from scales of *Sardinella longiceps* and its conjugative effect with immunostimulants. **SN Applied Sciences** 2:1228. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3057-9>.
- BATALHA, O. S. (2017). Silagem ácida de resíduos de pirarucu *Arapaima gigas* (SCHINZ 1822) na alimentação de poedeiras comerciais leves. **Dissertação** em Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA. 78 p.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 3, 644-650, 2007.
- CARNEIRO, P. C. F.; MIKOS, J. D.; BENDHAK, F.; IGNACIO, S. A. (2004). Processamento do jundiá *Rhamdia quelen*: rendimento de carcaça. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, 2(3): 11-17.
- CHAMBO, A. P. S.; SOUZA, R. L. M.; VASCONCELLOS, S. R. (2011). Aproveitamento do resíduo de filetagem da tilápia do Nilo para produção de farinhas com potencial aplicação na alimentação humana. **Tese** de Doutorado Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. 80f.: il color.
- DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. (2011). Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science** 36, 981–1014. doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001
- FAO. 2020. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- FEITOSA, G. P.; SILVA, G. V. G. M.; LIMA, M. J. F.; SOUSA, G. A. M.; SILVA, I. C. M.; SOUSA, K. N. S. (2017). Boas práticas na manipulação de pescado como capacitação para manipuladores de pescado de Santarém, Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 10, n. 1, p. 16-26. <https://doi.org/10.18817/repesca.v10i2.1285>.
- FERNANDES, T, R, C.; DORIA, C, R, C.; TAVARES, J, T, B. (2010). características de carcaça e parâmetros de desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier,

- 1818) em diferentes tempos de cultivo e alimentado com rações comerciais. **Boletim do Instituto de Pesca**, [SI], v. 36, n. 1, pág. 45-52, nov. 2018. ISSN 1678-2305. Disponível em: < <https://www.pesca.agricultura.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/901> >. Data de acesso: 23 dez. 2021.
- FIAMINGO, A.; DELEZUK, J. A. M.; CORRÊA, R. C.; CAMPANA-FILHO, S. P. Obtention Processes and Main Characteristics. **in**: Dotto, G. L.; Campana-Filho, S. P.; Pinto, L. A. A. [Eds]. Chitosan Based Material and its Applications. *Frontiers in Biomaterials*, Vol. 3, 34-48. 2017.
- HASSELBERG, A. E.; AAKREA, I.; JOERI SCHOLTENSB, J.; OVERÅC, R.; KOLDINGD, J.; BANKA, M. S.; ATTERE, A.; KJELLEVOLD, M. (2020). Fish for food and nutrition security in Ghana: Challenges and opportunities. **Global Food Security**: 26. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100380>.
- JUN, S.; PARK, P.; JUNG, W. (2004). Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. **European Food Research & Technology**, v. 219, n. 1, p. 20-26. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0882-9>.
- KUMARI, S.; KISHOR, R. Chitin and chitosan: origin, properties, and applications. p. 1-33 **In**: Editor(s): Gopi, S.; Thomas, S.; Pius, A. *Handbook of Chitin and Chitosan*. Elsevier, 2020, 497p. ISBN 9780128179703, <https://doi.org/10.1016/C2018-0-03014-5>
- LIMA, M. M.; MUJICA, P. I. C.; LIMA, A. M. Caracterização química e avaliação do rendimento em filés de caranha (*Piaractus mesopotamicus*). **Braz. J. Food Technol**, IV SSA, maio 2012. P. 41-46.
- MEAZZA, K. Avaliação do beneficiamento de resíduos do pirarucu para a produção de biocompósitos a base de hidroxiapatita e fibra de colágeno. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) Faculdade de Tecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. p. 63. 2019.
- MORIN-CRINI, N.; LICHTFOUSE, E.; TORRI, G.; CRINI, G. Fundamentals and Applications of Chitosan. p. 49-124. **In** CRINI, G.; LICHTFOUSE, E. (Eds.) *Chitin and Chitosan: History, Fundamentals and Innovations*. Sustainable Agriculture Reviews 35. 2019a. 343p.
- MOUSAVI, S. L.; MOHAMMADI, G.; KHODADADI, M.; KEYSAMI, M. A. (2013). Silage production from fish waste in cannery factories of Bushehr city using mineral acid, organic acid, and biological method. **The International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v.6,p.610-616.
- OLIVEIRA, P. R. (2007). Quality of the pirarucu (*Arapaima gigas* Schinz 1822) coming from pisciculture, stored in ice, frozen and its derivatives. **Tese** de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 108 pp. (in Portuguese).
- PENICHE, C.; ARGÜELLES-MONAL, W.; GOYCOOLEA, F.M. Chitin and Chitosan: Major Sources, Properties and Applications. p. 517-542. **In**: Belgacem, Mohamed Naceur; Gandini, Alessandro. (Eds.). *Monomers, polymers and composites from renewable resources*. Elsevier, p.549 (2008).

- PHILIBERT T, LEE BH, FABIEN N (2017) Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Appl Biochem Biotechnol*. 181:1314–1337
- RINAUDO, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
- SOUZA, A. F. L. D.; INHAMUNS, A. J. (2011). Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 41(2), 289-296.
- VIDAL, JULIANA MARIA ADERALDO ET AL. Concentrado proteico de resíduos da filetagem de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. *Revista Ciência Agronômica* [online]. 2011, v. 42, n. 1 [Acessado 27 Fevereiro 2022] , pp. 92-99. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000100012>.
- VIDAL-CAMPELLO, J. M. A.; DE SOUZA LIRA, E. B.; DE MELO JUNIOR, C. A. F.; VEIGA, M. C. M.; & DE MELO COSTA, W. (2021). Curtimento de pele de peixe utilizando tanino vegetal extraído de eucalipto. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research* (BJAER), 4(1), 392-401. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n1-034>.
- VIDOTTI, R. M.; VIEGAS, E. M. M.; CARNEIRO, D. J. (2003). Composição de aminoácidos de silagem de pescado processado utilizando diferentes matérias-primas. *Ciência e tecnologia de alimentação animal*, 105 (1-4), 199-204. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00056-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00056-7).
- YANG, W.; QUAN, H.; MEYERS, M. A.; & RITCHIE, R. O. (2019). Arapaima Fish Scale: One of the Toughest Flexible Biological Materials. *Matter*. 1, 1557–1566. doi:10.1016/j.matt.2019.09.014

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Extrair e caracterizar a quitina e quitosana de escamas de pirarucu obtidos em dois procedimentos distintos de extração.

3.2. ESPECÍFICOS

1. Revisão literária: história, características, fontes e métodos de extração (Cap. 1);
2. Determinar a composição centesimal das escamas, quitina e quitosana de pirarucu (Cap. 2);
3. Determinar rendimento de extração homogêneo e heterogêneo da quitina e quitosana das escamas (Cap. 2)
4. Realizar a caracterização por infra-vermelho da quitina e quitosana, homogênea e heterogênea, das escamas (Cap. 2).

4. HIPÓTESE

H0: Não há quitina e quitosana em boa quantidade e qualidade em escamas de pirarucu para uso biotecnológico.

H1: Há quitina e quitosana em boa quantidade e qualidade em escamas de pirarucu para uso biotecnológico.

CAPITULO I**QUITINA E QUITOSANA: HISTÓRIA, CARACTERÍSTICAS, FONTES E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

Davison Pinto CARNEIRO 1*; Adriano Teixeira de OLIVEIRA 2; Antônio José INHAMUNS 3

1 (CARNEIRO, D. P.). Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: davisonpc@gmail.com

2 (OLIVEIRA, A. T.) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: adriano.oliveira@ifam.edu.br

3 (INHAMUNS, A. J.). Faculdade de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: ajinhamuns@gmail.com

* Autor correspondente: Davison Pinto Carneiro. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros – Universidade Federal do, Federal Campus Universitário, Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, CEP 69077-000, Manaus, Amazonas, Brasil. Phone: + 55 (92) 99217-8500. E-mail: davisonpc@gmail.com

RESUMO

O presente artigo tem como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre a história, características, fontes e métodos de extração da quitina e quitosana. A metodologia do presente artigo foi feita através de pesquisa bibliográfica em bases de dados nacionais e internacionais de produção literária científica, considerando os trabalhos mais relevantes ao tema e que tenham sido publicados entre 2000 a 2022, com exceção dos artigos primários de descrição dos polímeros carboidratos, nos idiomas português e inglês. Foram selecionados 367 trabalhos para compor a revisão dos seguintes tópicos: “Levantamento histórico da quitina e quitosana”, “Características gerais”, “Fontes e matéria prima” e “Métodos de extração”. A quitina foi o primeiro polissacarídeo descrito, sendo descrito no início do século XIX, três décadas antes da descoberta da celulose. As características e aplicações começaram a ser exploradas no início do século XX, contudo os estudos sobre a quitina e quitosana tiveram impulso a partir da década de 1970. Dentre as várias características positivas da quitina e quitosana, o comportamento catiônico dos polissacarídeos e as possíveis aplicações em diversos ramos, incluindo procedimentos médicos, farmacêuticos e nutricionais elevaram o patamar desses polímeros à um produto de alto padrão, com potencial de exploração e diversos recursos marinhos, de água doce e terrestres, de modo sustentável e por meio de procedimento com baixa degradação ao meio ambiente, dependendo do método de extração adotado.

Palavras chave: Biopolímeros, Fongina, Polímeros carboidratos, Recurso aquático, Recurso terrestre.

ABSTRACT

This article aims to review the literature on the history, characteristics, sources and extraction methods of chitin and chitosan. The methodology of this article was carried out through bibliographic research in national and international databases of scientific literary production, considering the most relevant works to the theme and that have been published between 2000 and 2022, with the exception of primary articles describing carbohydrate polymers, in Portuguese and English. A total of 367 works were selected to compose the review of the following topics: “Historical survey of chitin and chitosan”, “General characteristics”, “Sources and raw material” and “Extraction methods”. Chitin was the first polysaccharide described, being described in the early 19th century, three decades before the discovery of cellulose. The characteristics and applications began to be explored at the beginning of the 20th century, however, studies on chitin and chitosan had an impulse from the 1970s. Among the many positive characteristics of chitin and chitosan, the cationic behavior of these polysaccharides and possible applications in several branches, including medical, pharmaceutical and nutritional procedures, have raised the level of these polymers to a high standard product, with the potential to exploit several marine, freshwater and terrestrial resources, in a sustainable way and through a procedure with low degradation over time. environment, depending on the extraction method adopted.

Keywords: Biopolymers, Fongina, Carbohydrate polymers, Aquatic resource, Terrestrial resource.

1. INTRODUÇÃO

Os principais polímeros comerciais utilizados na indústria são derivados de produtos à base de petróleo, extraídos por meio de procedimentos químicos aos quais não se mostram livres de quaisquer meios de agressão à natureza (MORIN-CRINI et al., 2019a). Além dos polímeros sintéticos, há também os semissintéticos e os naturais, descritos regularmente como biopolímeros, constantemente cotados em aplicações científicas e tecnológicas (CROISIER & JÉRÔME, 2013; OTHMAN, 2014).

A quitina é caracterizada como biopolímero, ou polímero natural, e assim como os polímeros semissintéticos e sintéticos, são constantemente cotados em aplicações científicas e tecnológicas (DASH et al., 2011; CROISIER & JÉRÔME, 2013; OTHMAN, 2014). A quitosana, derivado semissintético da quitina, possui diversas características atrativas para a indústria, dentre elas: ampla renovabilidade, biocompatibilidade, atoxicidade, características antimicrobianas, antifúngicas, reciclagem residual e biodegradabilidade, uma característica essencial na luta pela redução dos impactos ambientais (DASH et al., 2011).

A quitina foi o primeiro polímero natural de carboidrato identificado pela academia, descrito inicialmente em 1811 por Henry Braconnot depois de obter um composto insolúvel isolado de cogumelos (HARKIN et al., 2019). É o polissacarídeo de origem animal renovável mais abundante, e o segundo mais profuso biopolímero, sendo ligeiramente menor que a produção global da celulose.

Como a celulose nas plantas, a quitina contribui para a integridade estrutural dos crustáceos e está intimamente associado a proteínas, carbonato de cálcio, lipídios e pigmentos (PERCOT et al. 2003). Além dos crustáceos, a quitina constitui o elemento básico do exoesqueleto dos insetos e carapaça dos moluscos, sendo encontrado também na pele externa dos fungos e estruturas calcificadas dos peixes (ABDOU et al., 2008; KOVALEVA et al., 2016).

Os mercados para quitina e quitosana são Japão, EUA, Coreia, China, Canadá, Noruega, Austrália, França, Reino Unido, Polônia e Alemanha, contudo, o Japão domina tal indústria, onde desde a década de 80 o país explora esse recurso e está consideravelmente avançado em tecnologia, comercialização e uso desses biopolímeros, com uma absorção em torno de 700-800 toneladas de quitosana por ano (MORIN-CRINI et al., 2019a)

Diante do contexto, a expansão no conhecimento e exploração de biopolímeros é imprescindível para uma melhor administração dos recursos ambientais, levando em consideração o crescimento da população humana e o aumento na demanda por recursos diversos. Logo, o objetivo do presente trabalho é, por meio de uma revisão de literatura, compor

informações sobre: “Levantamento histórico da quitina e quitosana”, “Características gerais”, “Fontes e matéria prima” e “Métodos de extração”.

2. METODOLOGIA

Para a realização desta revisão de literatura, foram realizadas buscas em ferramentas de pesquisas com base de dados na literatura científica nacional e internacional, tais quais: Elsevier (<https://www.elsevier.com/>), Google Scholar (<https://scholar.google.com.br/>), Biblioteca Digital de teses e dissertações (<http://bdtd.ibict.br/vufind/>), Wiley Onlinebrary (<https://onlinelibrary.wiley.com/>), Scopus (<https://www.scopus.com/>), e periódicos capes (<https://www-periodicos-capes-gov-br>), em estudos disponíveis nos idiomas português e inglês.

Como chave de busca foram considerados os seguintes descritores e palavras-chaves em português: quitina, quitosana, escamas, peixe, desmineralização, resíduos, subprodutos, desmineralização, desproteinização, desacetilação, polímeros carboidratos, homogêneo, heterogêneo, produção pesqueira, beneficiamento, pescado, n-acetyl, grupo amina, cátion, polissacarídeos, oligossacarídeos, e os seguintes descritores e palavras-chaves em inglês: *chitin*, *chitosan*, *scales*, *fish*, *demineralization*, *residues*, *by-products*, *demineralization*, *deproteinization*, *deacetylation*, *carbohydrate polymers*, *homogeneous*, *heterogeneous*, *fisheries production*, *processing*, *fish*, *n-acetyl*, *amine group*, *cation*, *polysaccharides*, *oligosaccharides*, Sempre combinando as palavras ‘quitina’, ‘quitosana’, ‘chitin’ e ‘chitosan’ com as demais palavras chaves.

Dos artigos de retorno foram priorizados os que tenham sido publicados entre 2000 a 2022, com exceção dos artigos primários de descrição dos polímeros carboidratos. Do montante dos trabalhos encontrados nesta pesquisa, após as leituras passaram por uma análise de título e resumo para refinar os trabalhos que estavam relacionados ao tema, e foram adotados como critérios de exclusão os que não estavam ou mesmo que não continham informações relevantes para esta pesquisa, ou apresentaram duplicatas. Os dados foram processados e analisados através do software pacote Excel, 2016.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados pouco mais de 2.000 trabalhos relacionados a quitina e quitosana, contudo, 367 desses foram selecionados para compor o texto de revisão dos seguintes tópicos: “Levantamento histórico da quitina e quitosana”, “Características gerais”, “Fontes e matéria prima” e “Métodos de extração”.

3.1. LEVANTAMENTO HISTÓRICO DA QUITINA E QUITOSANA

Do fim do século XVIII (1799) até o fim do século XIX (1894) foram descobertos vários polímeros naturais, entre eles a quitina e a semissintética quitosana. Estudiosos como Charles Hatchett, Henry Braconnot, Auguste Odier, John George Children, Charles Rouget, George Ledderhose e Felix Hoppe-Seyler foram os responsáveis por decifrar as frações, mostrar as características e aperfeiçoar a extração desses compostos da natureza.

O primeiro a esbarrar em frações de quitina foi Charles Hatchett, um britânico mineralogista e químico autodidata que viveu de 1765 a 1847. A realização mais significativa de Hatchett foi a descoberta de um novo elemento químico, o Colúmbio (Nióbio) em 1802 (GRIFFITH et al. 2003; WISNIAK, 2015). Todavia, seus estudos foram além dos materiais rochosos, tendo dedicado um tempo ao estudo mineral das conchas marinhas, ossos de peixes, e ao esmalte de dentes de tubarão (HATCHETT, 1799). Durante seus experimentos com conchas marinhas, relatou a presença de um material particularmente resistente aos produtos químicos usuais. No entanto Hatchett não estava ciente de que o produto de seus experimentos se tratava de um novo composto, a quitina.

Em 1811, Henri Braconnot, botânico, químico e farmacêutico francês, após diversos estudos e experimentos com cogumelos, descobriu uma fração alcalina insolúvel por tratamento com álcalis quentes diluídos (CRINI, 2019a). Braconnot descreveu este novo produto contendo uma porcentagem substancial de nitrogênio e descobriu que o líquido continha acetato de amônia contaminado com óleo. Tal fração também produziu ácido acético por degradação com ácido sulfúrico concentrado (BRACONNOT 1811a, b, c). O francês deu o nome da fração alcalina insolúvel de “*fongina*” (fungo), ao qual ele descreveu como uma substância “d'une nature particulière” (de uma natureza particular).

Alguns anos após o anúncio de Braconnot, em 1823 Auguste Odier isolou uma fração alcalina insolúvel semelhante do élitro (asas anteriores modificadas por endurecimento em certas ordens de insetos) por tratamentos repetidos com soluções de hidróxido quente (ODIER 1823). Odier inseriu o termo “quitina”, do grego “*χιτών* ou *khitón*”, uma espécie de túnica amplamente utilizada na Grécia antiga, e descrita assim por analogia com a casca protetora dos

artrópodes (ODIER 1823; CHEVALLIER & RICHARD, 1827). Odier buscou identificar a presença de nitrogênio em suas amostras, como havia descrito Braconnot em seu artigo, no entanto não obteve êxito.

Assim como Odier, outros estudiosos como Children (1824) e Lassaigne (1843) repetiram o procedimento de extração da fração alcalina utilizando como matéria-prima os insetos (Coleóptera e Ortoptera, respectivamente) com êxito na identificação de nitrogênio por meio de análise elementar. O químico francês Anselme Payen também estudou a fongina de Braconnot, todavia ele se convenceu de que o produto encontrado se tratava de algo diferente da fongina descrita anteriormente. Curiosamente o produto estudado por Payen não era quitina, mas sim um novo polímero natural, surgindo assim a celulose (PAYEN, 1843) três décadas após o descobrimento da quitina.

Em 1875, Ledderhose, tratando conchas de lagosta com cloridrato concentrado quente, descobriu que as conchas se dissolviam nessa fração alcalina insolúvel e que, por evaporação, a solução produzia cristais característicos. Assim, em colaboração com Hoppe-Seyler, identificou o composto cristalino como um novo açúcar que contém amino, chamando-o de glicosamina/glucosamina (LEDDERHOSE 1876), onde descreveu a presença de nitrogênio. Posteriormente descobriu também a presença de ácido acético e ácidos fórmico e butírico (ácidos graxos voláteis), resultados da hidrólise da quitina. Todavia, Ledderhose não conseguiu provar que a glucosamina, como unidade repetitiva da quitina, e o ácido acético era produto direto de tal matéria prima, resultados que foram ratificados anos depois por Tiemann (1884), Winterstein (1894b), Gilson (1895) e Brach & von Fürth (1912).

Em meados do século XIX surgiu a quitosana, resultado dos estudos do fisiologista francês Charles Rouget (ROUGET, 1859). Rouget descobriu que a ebulição da quitina em uma solução concentrada de hidróxido de potássio sob refluxo a tornava solúvel em soluções diluídas de ácidos orgânicos. Rouget foi o primeiro a descrever a desacetilação da quitina, abrindo novas possibilidades para o estudo desse novo polímero e seu uso. Ele deu o nome ao produto “quitina modifiée” (quitina modificada). Hoppe-Seyler, por sua vez, tratou as carapaças de caranguejos, escorpiões e aranhas com hidróxido de potássio a 180°C e encontrou o tal “novo” produto descrito inicialmente como “quitina modificada” (HOPPE-SEYLER 1894), ao qual deu o nome de quitosana ao produto derivado da quitina, parcialmente desacetilado e solúvel em ácido.

3.1.1. Fases pós descoberta

Após esse primeiro século de descobertas, os estudos da quitina e a quitosana entraram em um período de confusão e controvérsias. Nessa fase, que se estendeu de 1894-1930, as pesquisas foram direcionadas para a exploração da quitina e quitosana no reino animal, sua determinação e química. Todavia, os resultados contraditórios obtidos nesses estudos culminaram em diversas discussões acaloradas, devido principalmente a confusão decorrente à falta de nomenclatura específica para esses polímeros, além das incertezas sobre sua forma estrutural (CRINI, 2019a).

Ainda na década de 1920 foram realizadas diversas análises estruturais com o uso de difração de raio-X, os quais se mostravam inconclusivos pois os resultados obtidos mostravam grande semelhança com os padrões estruturais da celulose, mas não comprovavam semelhança com a glucosamina, a unidade estrutural da quitina. O sucesso no uso de raio-x para diferenciação entre quitina e celulose se deu a partir de 1930, com o aperfeiçoamento das técnicas e diferenciação estrutural da glicose e glucosamina (MEYER & PANKOW, 1935; CLARK & SMITH, 1936). A partir desse ponto surge a primeira patente de produção de filmes e fibra de quitosana, depositada por George W. Rigby (RIGBY, 1936a; b; c; d; e; 1937) e a expansão do interesse na exploração e aplicação comercial das fibras naturais de quitina e quitosana, empregadas inicialmente na fabricação de papeis, no ramo têxtil, em filmes fotográficos e adesivos (CRINI, 2019a).

No período pós II guerra mundial os interesses e explorações das fibras de quitina e quitosana perderam espaço devido a precariedade das instalações de extração desses biopolímeros, além da competição acirrada com os polímeros sintéticos derivados de petróleo, que apresentaram um crescimento meteórico nessa época. Mesmo em passos mais lentos, os estudos destes biopolímeros tiveram algum progresso quanto ao seu isolamento, produção e fundamentos (WIGGLESWORTH, 1948; 1957; MEYER, 1950).

Na década de 1970 surgiram novos interesses em produtos de menor impacto ambiental, “redescobrimo” e reavivando os interesses nos biopolímeros (MUZZARELLI, 1977). A retomada nas pesquisas da quitina e quitosana foram marcadas pelos trabalhos de Muzzarelli com a inclusão de análises enzimáticas e espectroscopia no infravermelho das estruturas destes biopolímeros (MUZZARELLI, 1977; ROBERTS, 1992b). Desde então, a quitina e quitosana passaram a ser produzidas em escala industrial, registrando também numerosas patentes desde então, seguida de uma literatura científica abundante a respeito das diversas fontes e aplicações (CAMPANA-FILHO et al., 2007; OTHMAN, 2014; SOUZA et al., 2017; SUMATHI et al.,

2017). Atualmente a literatura científica aponta que existem mais de 2.000 aplicações de quitina, quitosana e seus inúmeros derivados (PHILIBERT et al. 2017).

3.2. CARACTERISTICAS GERAIS

3.2.1. Estrutural

A quitina é um homopolissacarídeo constituído por um polímero de cadeia longa, 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose unidas por ligações β (1 $\rightarrow$ 4), insolúvel em água e quando desacetilada, quer seja por tratamento com bases fortes quer seja por métodos microbiológicos, resulta na quitosana, 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose unidas por ligações β (1 $\rightarrow$ 4) (Figura 1). A quitosana é um polímero hidrofílico, obtido pela hidrólise alcalina da quitina ao qual é mais abundante nos exoesqueletos e carapaças de insetos e crustáceos (SEVERINO et al., 2014). São polímeros semelhantes à celulose, apresentando grupos amina na posição C2 em vez dos grupos hidroxilas (Figura 2). Os grupos aminas conferem à quitina e quitosana uma densidade de carga eletrostática elevada, tornando-os disponíveis para reações químicas e formações de sais (BHISE et al., 2010).

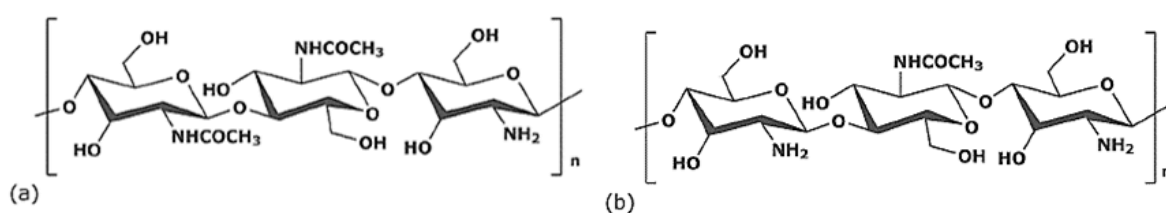


Figura 01: Estrutura química das unidades de repetição de quitina, 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose β (1 $\rightarrow$ 4) (a) e quitosana, 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose β (1 $\rightarrow$ 4) (b).

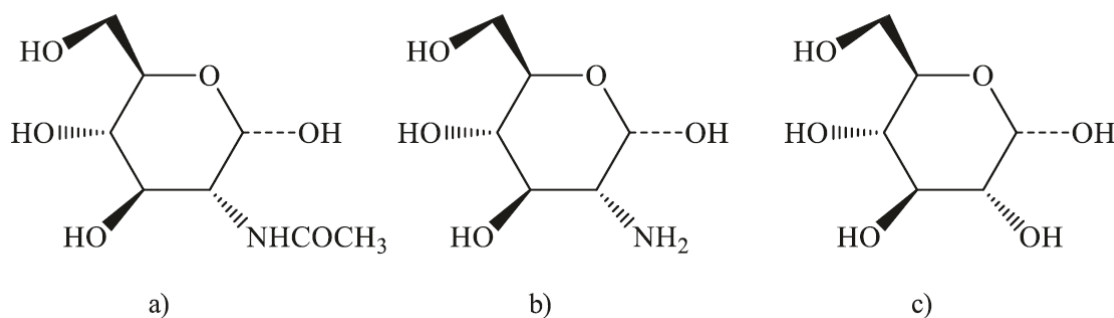


Figura 2: Estrutura de (a) N-acetil-glucosamina, monômeros de quitina, (b) glucosamina, monômero de quitosana e (c) glucose, monômero de celulose. Adaptados de Pillai et al., 2009 e Morin-Crini et al., 2019a.

As fibras de quitina associam-se umas às outras adotando uma das três organizações cristalinas polimórficas de estado sólido: α , β e γ . As formas alomórficas diferem na sua disposição da cadeia macromolecular. Por exemplo, as cadeias de α -quitina são dispostas

antiparalelas umas às outras, enquanto na β -quitina elas são paralelas. Já na γ -quitina, as cadeias estão dispostas aleatoriamente nas quais duas cadeias paralelas e uma cadeia antiparalela formam a estrutura (Figura 3) (AZUMA et al., 2015; ANNU et al., 2017; ROY et al., 2017).

A literatura atual define que a α -quitina é o alomorfo mais abundante, onde as lâminas de quitina, com lâminas bidimensionais de cristais de α -quitina formam fibras de quitina antiparalelas em associação com proteínas. α -quitina está presente nos cálices de hidrozoários, cascas de ovos de nematódeos e rotíferos, rádulas de moluscos e cutícula dos artrópodes, além da matriz extracelular fibrosa das esponjas (MUZZARELLI, 1999; MOUSSIAN, 2019). Já as β -quitinas são ligadas a compostos tridimensionais de coacervados complexos de proteínas, com fibras de β -quitinas em configurações paralelas, constituindo estruturas flexíveis, embora resistentes, como bicos de lula, gládios ou plumas de lulas, conchas de braquiópodes e moluscos, osso de choco e pogonophora tubulares (anelídeos) (MUZZARELLI, 1999; JANG et al., 2004; CAMPANA-FILHO et al., 2007; ANNU et al., 2017). Vários estudos foram publicados com respeito às caracterizações detalhadas das formas α e β -quitina. No entanto, no que diz respeito à γ -quitina, apesar de sua detecção em vários organismos (RUDALL & KENCHINGTON, 1973; KUMIRSKA et al., 2010; RAMÍREZ-WONG et al., 2016), muito pouco se sabe sobre sua distribuição natural e estrutura. Até então sabe-se que as cadeias são dispostas aleatoriamente nas quais duas cadeias paralelas e uma cadeia antiparalela formam a estrutura (Figura 3) (AZUMA et al., 2015; ANNU et al., 2017).

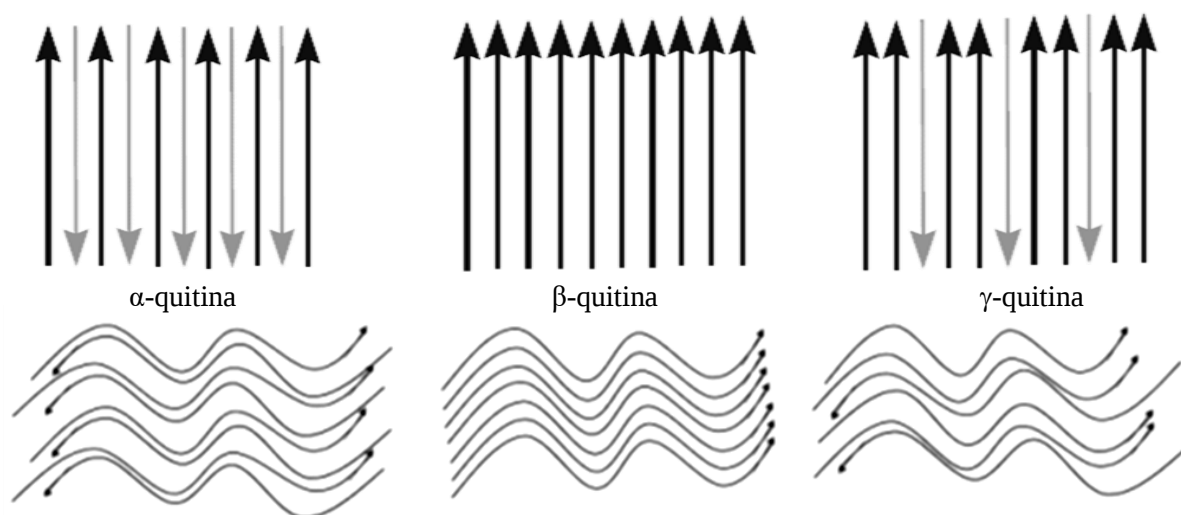


Figura 3: Estrutura de diferentes conformações de quitina. Arranjos antiparalelos e paralelos de diferentes alomorfos (conformação de domínio α , β e γ -quitina). Adaptado de Annu et al., 2017 e Roy et al., 2017

3.2.2. Peso Molecular da Quitosana

O peso molecular da quitosana está diretamente associada ao número de unidades monoméricas do biopolímero (RINAUDO, 2006; HARISH PRASHANTH & THARANATHAN, 2007), e isso influencia espontaneamente nas propriedades físico-químicas. A quitosana pode ser classificada em: Quitosana de Baixo Peso Molecular (QBPM), Quitosana de Médio Peso Molecular (QMPM) e Quitosana de Alto Peso Molecular (QAPM) (HARISH PRASHANTH & THARANATHAN, 2007). Em geral, o peso molecular da quitosana varia de 20 a 1200 kDa (KiloDalton; 1Da = 1g/mol) (RAVI KUMAR, 2000; RINAUDO, 2006).

A QBPM e QAPM mostram efeitos diferentes em suas propriedades físico-químicas. Logo, qualquer alteração no peso molecular é fundamental, pois afeta a viscosidade, hidrofiliabilidade, teor de umidade, propriedades térmicas e estabilidade, refletindo diretamente no objetivo da aplicação da quitosana (RAVI KUMAR, 2000). O peso molecular da quitosana pode ser alterado, aplicando técnicas de despolimerização, onde a partir de polímeros QAPM se obtém polímeros QBPM, num processo irreversível (HARISH PRASHANTH & THARANATHAN, 2007). Além disso, o grau de desacetilação diminui o peso molecular da quitosana (SYNOWIECKI et al., 2004).

As cadeias poliméricas de QBPM possuem menor interação com o ácido sulfúrico quente e, portanto, menor grau de hidrólise em comparação com as QAPM. Além disso, a QBPM tem capacidade de penetrar na célula bacteriana, inibindo assim a transcrição do RNA levando à morte da célula (KLAYKRUYAT et al., 2010; ISLAM et al., 2016). Por outro lado, a QAPM é considerada mais estável, sofrendo baixas alterações de viscosidade, hidrofiliabilidade, teor de umidade e propriedades térmicas.

3.2.3. Grau de Desacetilação

Assim como o peso molecular, o grau de desacetilação (GD) afeta as propriedades e aplicações da quitosana. Isto é, o aumento do GD leva a um aumento nos grupos amino livres na cadeia polimérica da quitosana. Consequentemente, a solubilidade da quitosana e o caráter policatiónico são aumentados (PILLAI et al., 2009). O GD é a relação entre os monômeros de quitina (2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranoose) e monômeros de quitosana (2-amino-2-desoxi-D-glucopiranoose). A quitina é um polímero de alto grau de acetilação. Logo, quando o grau de desacetilação da quitina atinge cerca de 50% ela se transforma no seu polímero derivado solúvel em meio ácido aquoso, a quitosana (RAVI KUMAR, 2000; RINAUDO, 2006; HARISH PRASHANTH & THARANATHAN, 2007).

3.2.4. Cristalinidade

A cristalinidade é uma característica da quitosana que representa a razão entre as frações cristalina e amorfa do biopolímero. Esta característica é quantificada como índice de cristalinidade (IC) (AZEVEDO et al., 2007; RINAUDO, 2006). O grau de cristalinidade afeta as propriedades mecânicas e químicas, pois são as regiões cristalinas que conferem resistência à fibra, enquanto a extensão em que as porções reativas são acessíveis à reação química é determinada pela quantidade de material amorfo.

No estado sólido, a quitosana é um biopolímero semicristalino e pode apresentar polimorfismo (SHUKLA et al., 2013). A célula unitária da quitosana é ortorrômbica e contém duas cadeias antiparalelas sem moléculas de água (AZEVEDO et al., 2007). A cristalinidade da quitosana depende da fonte e dos procedimentos de preparação. A cristalinidade é máxima para quitina (0% desacetilada) e quitosana totalmente desacetilada (100%). Quitosanas comerciais são polímeros semicristalinos e o IC é uma função do GD (CRINI & BADOT, 2008). A quantificação de IC é importante uma vez que esta característica afeta as propriedades de intumescimento, porosidade, hidratação e propriedades de sorção da quitosana (RINAUDO, 2006; CRINI & BADOT, 2008). O IC pode ser encontrado a partir da relação entre os picos característicos de difração de raios-X (KUMIRSKA et al, 2010).

Thakhiew et al. (2013) estudaram como as propriedades físicas e mecânicas dos filmes de quitosana são afetadas pelos diferentes métodos de secagem. Eles usaram secagem com ar quente e secagem com RNA. Os autores descobriram que o vapor superaquecido de baixa pressão fornecia filmes com IC menor (3-5%) do que os filmes obtidos em ar quente (10-16%). Consequentemente, o grau de absorção foi de 48-100% em vapor superaquecido de baixa pressão e 75-100% em ar quente.

3.2.5. Área Superficial e Tamanho da Partícula

A área de superfície e o tamanho das partículas são características importantes da quitosana. Essas características são dependentes da fonte e do processo de obtenção, estando relacionadas à porosidade, volume dos poros e distribuição do tamanho dos poros da partícula de quitosana (CRINI & BADOT, 2008). Quanto menor a granulometria da quitosana, mais nobre e mais ampla são suas aplicações (PICCIN et al., 2011; DOTTO et al., 2012). A área de superfície e o tamanho de partícula são fundamentais para aplicações como adsorção e imobilização de enzimas, uma vez que nesses campos muitos locais acessíveis e uma estrutura porosa são necessários (MENDES et al., 2011; PICCIN et al., 2011). Uma vez que a quitosana é naturalmente um material não poroso, algumas modificações são realizadas para aumentar

sua área de superfície (MIRMOHSENI et al., 2012; ESQUERDO et al., 2014). O tamanho das partículas pode ser obtido por microscopia eletrônica de varredura (MEV), teste de peneiramento ou, usando um analisador de partículas (CRINI & BADOT, 2008; PICCIN et al., 2011; DOTTO & PINTO, 2011).

Dotto et al. (2012) compararam a quitina e a quitosana como adsorventes para o corante amarelo Tartrazina. Eles concluíram que a quitosana era um adsorvente melhor do que a quitina devido ao seu maior grau de desacetilação e maior área de superfície, volume de poro e raio médio de poro.

3.3. FONTES E MATÉRIA-PRIMA

No universo dos biopolímeros, a quitina é o polímero mais produzido por invertebrados, aquáticos e terrestres, sendo sintetizada e degradada a cada ano na biosfera um volume próximo de 10 gigatoneladas (1×10^{13} kg) (MUZZARELLI, 1999; DHILON et al., 2013). Os artrópodes de água doce produzem uma parcela considerável de quitina, na ordem de $2,6 \times 10^{10}$ toneladas (CAUCHIE, 2002). Essa enorme quantidade de quitina forneceria matéria-prima suficiente, se procedimentos comerciais fossem desenvolvidos para extração de polímeros comercialmente competentes. Habitualmente, os resíduos de frutos do mar são queimados, aterrados, despejados no mar ou deixados para decomposição (XU et al. 2013)

Esse polissacarídeo é amplamente distribuído no reino animal, protista e fungi, constituindo um importante recurso renovável, compondo categoricamente as carapaças e cutículas dos crustáceos e moluscos, o exoesqueleto dos insetos, e presente na parede celular dos fungos (CAMPANA-FILHO et al., 2007), além das escamas e trato intestinal dos peixes (ZAKU et al., 2011; SUMATHI et al., 2017; NAKASHIMA et al., 2018). Uma amplitude maior de recursos utilizados como matéria prima na extração de quitina e quitosana pode ser observado na Tabela 1.

3.3.1. Crustáceos

Resíduos de camarão e caranguejo são as principais fontes da produção industrial de quitosana (CAMPANA-FILHO et al., 2007; MENDES, et al., 2011). A quitosana é obtida a partir da α -quitina, que é um componente do exoesqueleto desses crustáceos, que por sua vez são resíduos das indústrias de frutos do mar. Estima-se que a produção anual global de resíduos de frutos do mar é de cerca de $5,1 \times 10^6$ toneladas métricas (SHAHIDI et al., 1999). Cerca de 45% dos frutos do mar processados consistem em camarão, cujos resíduos são compostos por exoesqueleto e cefalotórax. Esse volume residual representa 50-70% do peso do pescado,

composto não somente de quitina, mas de outros componentes valiosos, como proteína e pigmentos (GORTARI & HOURS, 2013). O conteúdo de quitina nos exoesqueletos secos varia de 5% a 42%, dependendo da espécie de crustáceo (CAMPANA-FILHO et al., 2007). Nouri et al. (2016) usaram resíduos de camarão do Golfo Pérsico para produzir quitosana e obtiveram um bom produto com grau de desacetilação de 89% e peso molecular de 806 Da. Yen et al. (2009) prepararam quitosana a partir de cascas de caranguejo, obtendo um biopolímero com grau de desacetilação superior a 80% e peso molecular de cerca de 500 kDa. Em suma, a quitosana obtida a partir de resíduos de camarões e caranguejos é muito atrativa, pois essas fontes são disponíveis, renováveis e têm custo zero (DOTTO & PINTO, 2011). Além disso, é uma forma alternativa de gerenciamento adequado de resíduos sólidos nas indústrias de pescado.

Tabela 01: Diversidade recursos utilizados como matéria-prima na extração de polímeros carboidratos e outros. Adaptado de Campana-Filho et al., 2007; Morin-Crini et al., 2019a; Pighinelli, et al., 2019.

Crustáceos	Insetos	Moluscos	Fungos	Peixes
Caranguejo	Barata	Conchas de moluscos	<i>Aspergillus niger</i>	Carpa horu (<i>Labeo rohita</i>) ¹
Camarão do Alasca	Bicho-da-seda	Conchas de ostras	<i>Lactarius vellereus</i> (cogumelo)	Tilápia vermelha (<i>Oreochromis sp.</i>) ²
Camarão marinho	Besouro	Gládio de lulas	<i>Mucor rouxii</i>	Catla (<i>Catla catla</i>) ³
Camarão de água doce	Mosca doméstica		<i>Penicillium chrysogenum</i>	Luciano-do-golfo (<i>Lutjanus campechanus</i>) ⁴
Lagostas	Mosca soldado negra		<i>Penicillium notatum</i>	Peixe-papagaio (<i>Chlorurus sordidus</i>) ⁵
Zooplankton de mares frios	Minhoca		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) ⁶
	Gafanhoto			Carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>) ⁷
	Besouro-de-Maio			
	Borboleta			
	Aranha			
	Cladóceras			

(1) Srivastav et al., 2018; (2) Garcia-gomez et al., 2019; (3) Durairaj et al., 2018; (4) Takarina e Fanani, 2017; (5) Rumengan et al., 2017; (6) Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca, 2016 ;(7) Zaku et al., 2011.

3.3.2. Moluscos

Os moluscos são outra fonte de quitosana em escala de laboratório. Espécies como *Sepia kobeensis*, *Sepia spp.*, *Loligo lessoniana* e *Loligo formosana* têm sido utilizadas para este propósito (RAMASAMY et al., 2014; SAGHEER et al., 2009). Ramasamy et al. (2014)

prepararam quitosana a partir de cuttlebone (também conhecido como osso do choco, ou simplesmente choco) de *S. kobeensis* e obteve um produto com grau de desacetilação de 85,55%, peso molecular de 322,04 kDa e boas propriedades antioxidantes. Sagheer et al. (2009) prepararam quitosana de chocos, obtendo α -quitina (de crustáceos) e β -quitina (de chocos). Durante o processo, eles descobriram que a reação de desacetilação era mais rápida quando a β -quitina (de choco) era usada. Em geral, a preparação de quitosana a partir de moluscos é adequada. Um exemplo é o gladius de lula, no qual a quitina consiste em cerca de 35% do peso seco (CHANDUMPAI et al., 2004). O processo de desacetilação também é facilitado porque a quitina está na forma β é mais reativa (RAMASAMY et al., 2014).

3.3.3. Fungos

A quitosana também pode ser preparada a partir de fungos (quitosana fúngica), uma vez que seu precursor, a quitina, é um componente característico dos grupos taxonômicos Zygo-, Asco-, Basidio- e Deuteromycetos (MUZZARELLI et al., 2012), obtido por meio de processo fermentativo. Vendruscolo & Ninow (2014) prepararam quitosana de *Gongronella butleri* usando bagaço de maçã como substrato para fermentação. Tayel et al. (2014) obtiveram quitosana de *Aspergillus brasiliensis* e demonstraram que o biopolímero pode ser usado como biopreservativo para carne picada. Dhillon et al. (2013) estudaram a preparação de quitosana a partir de micélio de resíduos de fungos como co-produto durante a fermentação do ácido cítrico. Eles concluíram que a co-extração de quitosana do micélio de resíduos de fungos resultante da produção de ácido cítrico é uma alternativa ecologicamente correta à quitosana derivada de resíduos de conchas marinhas. A produção de quitosana fúngica é justificada pela alta produção mundial de cogumelos (MUZZARELLI et al., 2012) e alto teor de quitina nas paredes das células fúngicas (até 50% da biomassa seca) (DHILLON et al., 2013).

3.3.4. Insetos

Os insetos são uma fonte alternativa de quitosana, mas até recentemente apenas estudos em escala de laboratório eram realizados. Kaya et al. (2014) obtiveram quitosana do besouro da batata do Colorado (adulto e larva). Eles descobriram que o conteúdo de quitina em peso seco dos besouros e larvas adultos era de 20% e 7%, respectivamente. Além disso, a quitina produziu rendimentos de quitosana de 72% nos besouros adultos e 67% nas larvas. A quitosana de besouros apresentou peso molecular em torno de 2.600 kDa. Liu et al. (2012) também obtiveram quitosana de besouros. Outros insetos usados para produzir quitosana são moscas varejeiras (SONG et al., 2013), crisálidas de bicho-da-seda (PAULINO et al., 2006) e moscas domésticas (AI et al., 2012). O uso de insetos para a obtenção de quitosana é baseado em sua

biodiversidade, já que representam 95% do reino animal. Além disso, as cutículas dos insetos apresentam níveis mais baixos de material inorgânico em comparação com as cascas dos crustáceos, o que torna seu tratamento de desmineralização mais conveniente (LIU et al., 2012). Outra vantagem é o controle de insetos em áreas agrícolas.

3.3.5. Peixes

Na última década os resíduos do beneficiamento industrial pesqueiro sofreram um ressignificado no que se refere a material de descarte, passando de produto descartável de baixo valor nutricional para matéria prima de coprodutos de alto valor agregado. A quitina é um dos produtos de alto valor agregado possível de extração das estruturas calcificadas em peixes, em especial das escamas, pois as moléculas de quitina estão associadas ao colágeno e aos minerais estruturais (KUMARI et al., 2015; BOARIN-ALCALDE & GRACIANO-FONSECA, 2016; GARCÍA GÓMEZ et al., 2019). Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016) obtiveram um percentual de produção considerável de quitina e quitosana das escamas de Tilápia (*O. niloticus*), cerca de 24% e 39%, respectivamente. Uma outra espécie de peixe amplamente explorada na extração de quitina e quitosana é a Carpa comum (*Labeo Rohita*). As porcentagens de quitina e quitosana obtido das escamas de Carpa comum são em média 22,5% e 7,5%, respectivamente (MUSLIM et al., 2013; SUMATHI et al., 2017; SRIVASTAV et al., 2018).

A quitosana, biopolímero derivado mais reativo da quitina, é cotado com ampla atuação industrial e tecnológica. Nesse sentido Sumathi et al. (2017) testaram os efeitos positivos da ação antioxidante e germinativa da quitosana. Já nas experimentações antimicrobiológicas os resultados não foram conclusivos para a quitosana obtida. Durairaj et al. (2018) extraíram quitosana das escamas de Catla (Carpa) (*Labeo catla*) e obtiveram resultados positivos no efeito larvicida da quitosana em larvas de *Culex* sp. e *Anopheles* sp. Srivastav et al. (2018) testaram positivamente a absorção de umidade e gordura com amostras de quitosana. Nakashima et al. (2018) fizeram um estudo da microbiota intestinal em uma ampla faixa do reino animal, e comprovaram a existência de uma camada basal de barreira quitinosa que protege o epitélio intestinal das ações da flora intestinal. Os pesquisadores sugerem a existência dessa barreira quitinosa desde o ancestral comum dos anélidas e artrópodes, passando pelos tunicados, peixes e chegando até a base dos mamíferos, onde a barreira quitinosa é substituída pela camada mucosa de proteção do epitélio intestinal.

3.4. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Durante décadas, a quitina tem sido estudada com o objetivo de otimizar seus métodos de produção de biomateriais e compreender melhor suas propriedades e potencial biomaterial. Atualmente, existem diversos métodos de obtenção na literatura, sendo os processos biológicos, com a utilização de microrganismos e enzimas, químicos, por irradiação de micro-ondas, e até mesmo uma combinação destes para se obter um processo ainda mais eficiente. Independentemente do processo adotado, o objetivo é o mesmo: eliminar proteínas, minerais, lipídios e pigmentos até que apenas o material de interesse seja obtido. Hoje, o método mais comum na produção industrial é o método químico, devido sua produtividade e praticidade. (EL KNIDRI et al., 2016; MAO et al. 2017; PIGHINELLI et al., 2019).

Durante a extração dos biopolímeros é possível adotar dois procedimentos distintos, descritos como Processo homogêneo ou Processo heterogêneo de extração. No procedimento homogêneo são obtidos biopolímeros com concentrações moderadas de álcali, processados à temperatura ambiente, em período mais longo, onde a quitina e a quitosana obtidas não apresentam dispersão da composição da cadeia, resultando num material mais estável. Por outro lado, a quitina e quitosana obtidas pelo processo heterogêneo mostra variação em termos de grau de acetilação de suas cadeias e distribuição. Todavia, neste método são empregadas altas temperaturas e uma elevada concentração de álcalis que possibilita a execução do processo em menor tempo (KURITA, 2006; MORIN-CRINI et al., 2019a). Ainda assim, todas os métodos de extração da quitina e quitosana possuem seus pontos positivos e negativos além de relativa acessibilidade e praticidade.

3.4.1. Extração da quitina

Processo químico

Atualmente o método mais utilizado tanto na produção industrial quanto laboratorial, sendo também o mais citado na literatura. No processo químico é fundamental a execução de duas etapas para a obtenção da quitina, sendo estas a desproteínização e desmineralização. A ordem dessas etapas em um processo pode ser alterada de acordo com a finalidade e os produtos químicos usados. Além dessas duas etapas principais, a produção pode receber uma etapa de despigmentação, desodorização ou desengorduramento, dependendo da matéria-prima utilizada.

Primeiramente, a matéria-prima recebe um tratamento preliminar para remoção de impurezas e resíduos orgânicos grosseiros. Nesta fase, os banhos são realizados com água

mineral ou destilada e às vezes é aplicado hipoclorito de sódio. O uso da temperatura é eventualmente empregado para acelerar o processo de limpeza. Na sequência, o material passa por secagem para seguir a etapa de moagem, onde proporcionará uma melhor reação com as etapas subsequentes. Todos os tipos de pré-tratamento são adotados de acordo com a necessidade e condição dos resíduos utilizados, bem como as espécies da matéria-prima selecionada.

A desproteínização é a eliminação do conteúdo proteico presente na matéria-prima. Para isso, são utilizadas soluções alcalinas, por exemplo, Hidróxido de sódio (NaOH) e Hidróxido de potássio (KOH). O mais utilizado e adotado para produção industrial é a solução de NaOH. Uma grande variação nos aspectos de produção é encontrada na literatura. Gortari & Hours (2013) mostram que temperaturas em média 95°C são utilizadas na desproteínização para quitina comercial, mas também indica que nesta faixa pode causar a despolimerização do material e alterar algumas características como a viscosidade.

A desmineralização envolve a remoção do enchimento inorgânico (carbonato de cálcio e fosfato de cálcio) da matéria-prima. Para tal, utilizam-se ácidos inorgânicos, como Ácido clorídrico (HCl), Ácido nítrico (HNO₃) e Ácido sulfúrico (H₂SO₄), e ácidos orgânicos fortes, por exemplo: ácido fórmico (HCOOH) e ácido acético (CH₃COOH). O ácido mais utilizado na produção da quitina comercial é o HCl, devido a sua alta eficiência na remoção dos minerais presentes. Nessa etapa é facultativo o uso de temperatura elevada, ainda que este reduza o tempo de processo, mas pode causar a perda ou alteração de algumas características desejáveis ao biopolímero.

A coloração é um forte indicador da presença de impurezas no material. Para isso, a etapa de despigmentação é realizada com Acetona (CH₃(CO)CH₃), Hipoclorito de Sódio (NaClO), Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) ou Permanganato de Potássio (KMnO₄).

Processo biológico

O processo biotecnológico é a combinação do processo químico com o uso de métodos biológicos, com aplicação de microrganismos ao sistema. Essa técnica mostra-se favorável em comparação ao processo químico tradicional, neste último sendo utilizadas grandes quantidades de insumos químicos altamente reativos, que podem afetar a qualidade final do material, além do grave efluente gerado no processo. Os métodos que envolvem as vias biológicas também mostraram ser mais assertivos ao atingir estados de maior pureza da quitina, com perda de peso

molecular consideravelmente menor do que o processo químico convencional. Os processos químicos ainda se mostram mais eficientes industrialmente por levar um menor tempo de processamento em comparação ao método biotecnológico. No entanto, este método apresenta uma nova visão sustentável e novo parâmetro de qualidade, oferecendo um biomaterial mais adequado para as áreas da saúde.

A desmineralização pode ser realizada com microrganismos, como mostra Mao et al. (2013), onde foram depositadas junto as amostras culturas microbianas e uma fonte de açúcar, este último servindo como fonte de nutrientes necessários. Como resultado desse processo de fermentação, surgem a produção de ácidos orgânicos que reagem com os minerais e os transformam em sais e precipitam. No final do processo, o precipitado pode ser removido com procedimento de lavagem simples. Segundo Aranday-García et al. (2017), o ácido láctico, proveniente da atividade das lactobactérias, proporciona melhores resultados e maior eficiência na desmineralização. A inoculação ocorre de acordo com cada espécie tratada em meio de cultura com os nutrientes necessários. Este meio é basicamente composto por açúcares e gorduras; aminoácidos; fontes de cálcio, ferro e magnésio; entre outros compostos específicos. O ágar, meio de cultura comercial, é o mais utilizado por apresentar composição balanceada, como o MRS (Man Rogosa Sharpe).

Para a eliminação de proteínas, processos fermentativos e enzimáticos podem ser aplicados. Durante a fermentação, enzimas digestivas e microbianas são produzidas e consomem matéria orgânica. Enzimas hidrolíticas (proteases) são muito eficientes na desproteínização e podem resultar na produção de proteínas hidrolisadas como subproduto de alto valor agregado (PACHAPUR et al., 2015). As proteases de bactérias lacto-bacterianas são as mais comumente usadas. Carotenóides são pigmentos encontrados em lipídios presentes em crustáceos e podem ser isolados a partir da fermentação e da atividade enzimática. A astaxantina pertence a esses carotenóides presentes e tem grande valor comercial na área alimentar. As principais desvantagens dos processos que envolvem microrganismos são o tempo de liberação para a fermentação e o alto custo de algumas enzimas. Hamed et al. (2016) mostram como majoritariamente o processo biológico é insuficiente, exigindo a aplicação de ácidos e soluções alcalinas para confirmação da reação. Contudo, o processo biológico apresenta melhor rendimento de desproteínização, consequentemente obtendo um material de qualidade significativamente superior devido à baixa perda de peso molecular.

Processo de irradiação de micro-ondas

Apesar da a tecnologia de irradiação de micro-ondas surgir durante a segunda guerra mundial, sua aplicação na extração de quitina e quitosana foi difundida a partir da década de 90, inicialmente sendo aplicada na etapa final de extração de quitosana, a desacetilação. Recentemente essa técnica recebeu um upgrade de aplicabilidade, sendo adotado nas etapas de desmineralização e Desproteínização da extração de quitina (SUN et al., 2006; CALDEIRA-BRANT, 2008; EL KNIDRI et al. 2016), culminando em resultados similares satisfatórios em comparação ao método de extração convencional, tendo ainda como bônus a redução drástica do tempo de processamento comparada com a mesma.

El Knidri et al. (2016) foram os pioneiros na aplicação de micro-ondas no processo de extração da quitina e sua desacetilação, a obtenção da quitosana. Os autores mostram que além da possibilidade de aquisição de quitosana com alto grau de desacetilação, o tempo de processamento desses polímeros pode ser reduzido em até 1/16 em comparação ao tempo gasto no procedimento convencional.

3.4.2. Extração da quitosana

Processo Químico

Assim como na extração da quitina, o método convencional de desacetilação é o mais difundido, tanto na produção industrial quanto laboratorial. A quitosana é obtida por meio de hidrólise alcalina dos grupos de acetamida da quitina purificada, usando soluções álcalis fortes, em geral o hidróxido de sódio na concentração de 40% - 80% (v/v) (KURITA, 2006; TAKARINA & FANANI, 2017).

Soon et al. (2018) extraíram quitina e quitosana de amostras de *Tenébrio gigante* (*Zophobas morio*), onde a quitina foi extraída em diferentes concentrações de álcalis (0,5M – 2,0M de NaOH) e os isolados foram tratados com 50% de NaOH em banho-maria a 90 °C por 30 h. Os autores mostraram que o rendimento da quitina de *Z. morio* foi inversamente proporcional à concentração de álcalis aplicados nas amostras. Entretanto, o maior grau de desacetilação e as melhores características da quitosana foram obtidas de amostras processadas em concentrações mais fortes de álcalis.

Kumari & Rath (2014) aplicaram o processo homogêneo em escamas de *Carpa horu* (*Labeo rohita*) para extração de quitina e quitosana. As amostras foram Desproteínizadas com 2M de NaOH por 36h a temperatura ambiente e a desacetilação deste foi concluída com solução de 50% de NaOH por 2h a 80°C em banho-maria. Os autores declaram que as fontes de matéria-

prima mais convenientes para a preparação de quitosana são as escamas de peixes e que os polímeros obtidos apresentam características satisfatórias e desejáveis para aplicação na indústria.

As desvantagens mais significativas desse método se expressam na hidrólise descontrolada do biopolímero, que ocorre de forma espontânea, após o tratamento com álcali concentrado e alta temperatura. Struszyk (2000) demonstrou que a desacetilação da quitosana de crustáceo resultou em uma diminuição drástica no peso molecular com o aumento da temperatura e do tempo de reação durante a desacetilação. A redução do peso molecular da quitosana pode chegar até 86% quando comparado ao peso molecular de outros substratos utilizados.

O processo termoquímico de desacetilação desesterifica as ligações N-acetil. Esta etapa de extração/conversão pode ser combinada com o uso de atmosfera de N₂ (Diazoto ou Dinitrogênio) ou na presença de um eliminador de oxigênio para evitar a despolimerização e prevenir a degradação da cadeia (MORIN-CRINI et al. 2019a). Le Dunge (1994) e Younes e Rinaudo (2015) verificaram que o uso de bloqueadores de oxigênio e agentes redutores, como tiofenol e borohidreto de sódio (NaBH₄), pode limitar a degradação do polímero, em consequência houve o aumento dos custos do processo e da quantidade de resíduos químicos perigosos.

Processo Biológico/Enzimático

Em resposta os problemas enfrentados pelo processo termoquímico de desacetilação, se desenvolve o processo biológico-enzimático de desacetilação de biopolímeros. Devido à natureza ecológica desse método, ele atrai um interesse significativo, pois é possível o controle do processo, sem degradação descontrolada da cadeia polimérica, além da obtenção de produtos com propriedades físico-químicas desejadas e nenhum impacto negativo ao meio ambiente. Mesmo assim, os métodos convencionais de produção de quitina e quitosana ainda são os mais utilizados comercialmente devido ao seu curto tempo de extração e alta eficiência do processo.

O uso de enzimas evita a desacetilação irregular e a redução do peso molecular causada pelo tratamento com ácido e álcali. A quitina-desacetilase produzida por *Colletotrichum lindemuthianum* e *Aspergillus nidulans* é a mais adequada para potenciais aplicações biotecnológicas, pois não é inibida pelo acetato, que é um produto da desacetilação (YOUNES & RINAUDO, 2015).

Rass-Hansen et al. (2007) utilizaram quitina desacetilase isolada de *Colletotrichum lindemuthianum* para desacetilação de substratos de quitina pré-tratados, extraídos por fermentação líquida utilizando mistura de microrganismos, composto pelas cepas de *Lactobacillus salvarius*, *Enterococcus faecium* e *Pedococcus acidilactici*. De acordo com os pesquisadores, a principal desvantagem do método enzimático é que as preparações enzimáticas não são capazes de desacetilar de forma eficiente substratos de quitina nativa. Somente após um pré-tratamento é que foi possível a enzima desacetilar a quitosana em até 97%. Pareek et al. (2013) corroboram que a eficiência da desacetilação enzimática é estritamente dependente do método de pré-tratamento do substrato, dependendo da forma de preparação do substrato, onde obtiveram um grau de desacetilação do produto na faixa de 62 a 79%.

Processo de irradiação micro-ondas

A extração assistida por irradiação de micro-ondas surge como resposta ao longo processo de extração da quitosana de modo convencional, que pode levar horas e até dias, consumindo muito tempo e energia. O método não substitui a extração convencional deste biopolímero, mas deve ser utilizado em conjunto. Por isso, a extração por irradiação de micro-ondas se mostra um método complementar na extração de biopolímeros, respondendo muito bem ao aperfeiçoamento do processo, sendo mais rápido, eficiente e amigo do meio ambiente (EL KNIDRI et al., 2016). Geralmente, a técnica de micro-ondas pode ser muito útil para sintetizar boas propriedades funcionais da quitosana com química rápida e verde (MAHDY SAMAR et al., 2013). Esse método pode ser aplicado a qualquer tipo de química, tornando-se uma técnica inevitável para a síntese acelerada de compostos tanto orgânicos quanto inorgânicos.

Mahdy Samar et al. (2013) após extração de quitina de resíduos de camarão por meio do método convencional, aplicaram a tecnologia de irradiação de micro-ondas no processo para extração da quitosana, especificamente na etapa de desacetilação da quitina. Os autores identificaram uma relação inversamente proporcional entre a granulometria da quitina processada e o grau de desacetilação, extração da quitosana.

Sagheer et al. (2009) utilizaram resíduos de Sépia na extração de β -quitina e posteriormente aplicaram duas técnicas de desacetilação, sendo elas o método termoquímico convencional de hidrólise da quitina e o uso de irradiação de micro-ondas para conversão da quitina em quitosana. Mesmo obtendo resultados satisfatórios em ambos os processos de

desacetilação, os autores identificaram que as amostras de quitosana obtidas com o uso de irradiação de micro-ondas apresentaram maior peso molecular, em comparação às amostras obtidas pelo método convencional.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa revisão permitiu explicar sobre as características da quitina e quitosana, esclarecer sobre as fontes principais e alternativas de obtenção desses polímeros, além de esclarecer sobre algumas das técnicas e métodos utilizados para extração da quitina e quitosana. Portanto, consideram-se importantes os resultados encontrados sobre aproveitamento de resíduos de pescados para a extração e obtenção dos polímeros carboidratos e seus derivados, além de mostrar caminhos para sanar a questão ambiental, reaproveitando da melhor maneira os resíduos gerados na indústria pesqueira mundial. Todavia, outros recursos terrestres de fito e zoo se mostram excelentes fontes de biopolímeros. Sendo assim, constatou-se que nas últimas décadas as pesquisas envolvendo as biomoléculas/biopolímeros em geral, demonstram constante crescimento, podendo se tornar fonte de renda para empresas e indústrias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, E. S.; NAGY, K. S. A.; & ELSABEE, M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99(5), 1359–1367. (2008). doi:10.1016/j.biortech.2007.01.051
- AI, H.; WANG, F.; XIA, Y.; CHEN, X.; & LEI, C. (2012). Antioxidant, antifungal and antiviral activities of chitosan from the larvae of housefly, *Musca domestica* L. *Food Chemistry*, 132(1), 493–498. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.033
- ANNU, S. H.; IKRAM, S. Chitin and Chitosan: History, Composition and Properties. p. 3-24; In: AHMED, S.; IKRAM, S. (eds.) Chitosan: derivatives, composites and applications. Scrivener Publishing LLC. 2017. 498p.
- ARANDAY-GARCÍA, R.; ROMÁN GUERRERO, A.; IFUKU, S.; & SHIRAI, K. (2017). Successive inoculation of *Lactobacillus brevis* and *Rhizopus oligosporus* on shrimp wastes for recovery of chitin and added-value products. *Process Biochemistry*, 58, 17–24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2017.04.036>
- AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. (2007). Chitin and chitosan: Applications as biomaterials. *Ver Elet Mat Proc* 2007; 2(3): 27-34.
- AZUMA, K.; IZUMI, R.; OSAKI, T.; IFUKU, S.; MORIMOTO, M.; SAIMOTO, H.; MINAMI, S.; OKAMOTO, Y. (2015). Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: Old and new materials. *Journal of Functional Biomaterials*, 6(1), 104–142.
- BHISE, K. S.; DHUMAL, R. S.; SHAILESH, B.; PARADKAR, A. R.; KADAM, S. S. - AAPS *PharmSciTech*.; 11, p.226, 2010. PMID:20131020. PMCID:2850499. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-010-9379-y>
- BOARIN-ALCALDE, LIDIA; GRACIANO-FONSECA, GUSTAVO. (2016). Alkali process for chitin extraction and chitosan production from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*; 44(4): 683-688, 2016 <http://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-3>
- BRACH. H; VON FÜRTH, O. The chemical constitution of chitin. *Biochem Z* 38:468–491 (1912).
- BRACONNOT, H. (1811a) Sur la nature des champignons. In: Recueil de Mémoires concernant la chimie et les arts qui en dépendent et spécialement la pharmacie. 31 juillet 1811. Librairie des Ecoles Impériales Polytechnique et des Ponts et Chaussées, Paris. KLOSTERMANN, J (ed) Annales de Chimie, tome soixante-dix-neuf, pp 265–304
- BRACONNOT, H. (1811b) Des recherches analytiques sur la nature des champignons. In: recueil de Mémoires concernant la chimie et les arts qui en dépendent et spécialement la pharmacie. 31 octobre 1811. Librairie des Ecoles Impériales Polytechnique et des Ponts et Chaussées, Paris. KLOSTERMANN J (ed) Annales de Chimie, tome soixante-dix-neuf, pp 272–292

- BRACONNOT H (1811c) De la fongine, ou analyse des champignons. Journal de Physique, de Chimie, d'Histoire Naturelle et des Arts. Paris: chez Courcier, Imprimeur-Libraire pour les mathématiques, tome LXXIII, pp 130–135.
- CALDEIRA-BRANT, A. J. Preparação e caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(N-vinil-2-pirrolidona). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP. 2008. 170p.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. Quim. Nova, Vol. 30, No. 3, 644-650, 2007.
- CAUCHIE, H. M. (2002) Chitin production by arthropods in the hydrosphere. *Hydrobiologia* 470:63–96
- CHANDUMPAI, A.; SINGHPIBULPORN, N.; FAROONGSARNG, D.; SORNPRASIT, P. (2004). Preparation and physico-chemical characterization of chitin and chitosan from the pens of the squid species, *Loligo lessoniana* and *Loligo formosana*. *Carbohydrate Polymers*, 58(4), 467–474. doi:10.1016/j.carbpol.2004.08.015
- CHEVALLIER, A.; RICHARD, A. Dictionnaire des drogues simples et composées, vol. 2, Paris, Béchet, 1827.
- CHILDREN, J. G. (1824) Memoir on the chemical composition of the corneous parts of insects; by Augustus Odier. Translated from the original French, with some additional remarks and experiments. In. Bell, T.; Children, J. G.; Sowerby, J. D. C.; Sowerby, G. B. (eds) London, Zool J, volume 1, n° I, march, 1824, article XV, pp 104–115.
- CLARK, G. L.; SMITH, A. F. X-ray diffraction studies of chitin, chitosan and derivatives. *J Phys Chem*, 40:863–879, 1936. <https://doi.org/10.1021/j150376a001>
- CRINI, G. Historical Landmarks in the Discovery of Chitin. p. 01-48. In CRINI, G.; LICHTFOUSE, E. (Eds.) Chitin and Chitosan: History, Fundamentals and Innovations. Sustainable Agriculture Reviews 35. 2019a. 343p.
- CRINI, G; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature. Prog Polym Sci 2008; 33: 399-447. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.11.001>
- CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, v. 49, p. 780–792, 2013. /dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009
- DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 36 (2011) 981–1014. doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001
- DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S. K.; VERMA, M. (2013). Green synthesis approach: extraction of chitosan from fungus mycelium. *Crit Rev Biotechnol*, 33:379–403. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.717217>

- DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. (2011). Adsorption of food dyes onto chitosan: Optimization process and kinetic. *Carbohydr Polym*; 84: 231-8. [http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.028]
- DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L.; PINTO, L. A. (2012). Kinetics and mechanism of tartrazine adsorption onto chitin and chitosan. *Ind Eng Chem Eng*; 51: 6862-8. <http://dx.doi.org/10.1021/ie2030757>
- DURAIRAJ, B.; SANTHI, R.; HEMALATHA, A. (2018). Isolation of chitosan from fish scales of Catla catla and synthesis, characterization and screening for larvicidal potential of chitosan-based silver nanoparticles. *Drug Invention Today*. 10(8). 1357-1362.
- EL KNIDRI, H.; EL KHALFAOUI, R.; LAAJEB, A.; ADDAOU, A.; & LAHSINI, A. (2016). Eco-friendly extraction and characterization of chitin and chitosan from the shrimp shell waste via microwave irradiation. *Process Safety and Environmental Protection*, 104, 395–405. doi:10.1016/j.psep.2016.09.020
- ESQUERDO, V. M.; CADAVAL-JR, T. R.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. (2014). Chitosan scaffold as an alternative adsorbent for the removal of hazardous food dyes from aqueous solutions. *J Colloid Interface Sci* 2014; 424: 7-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2014.02.028> [PMID: 24767491]
- GARCÍA-GÓMEZ, A. G.; QUINTERO, M. C.; CASTRO SALAZAR, H. T. (2019). Extraction and characterization of chitin scales from red tilapia (*Oreochromis sp.*) from Huila, Colombia by chemical methods. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 18 (34) p. 71-81 • ISSN (en línea): 2248-4094.
- GILSON, E. Das chitin und die membranen der pilzzellen. *Ber Dtsch Chem Ges* 28:821–822, 1895. <https://doi.org/10.1002/cber.189502801185>
- GORTARI, M. C.; HOURS, R. A. (2013). Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: A mini-review. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(3). <http://doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-10>
- GRIFFITH, W. P.; MORRIS, P. J. T. Charles Hatchett FRS(1765-1847), chemist and discoverer of niobium. *Notes and Records of the Royal Society of London*, 57, 299-316. 2003.
- HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; & REGENSTEIN, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 40–50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.007>
- HARISH PRASHANTH, K. V.; & THARANATHAN, R. N. (2007). Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential—an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 18(3), 117–131. doi:10.1016/j.tifs.2006.10.022
- HARKIN, C; MEHLMER, N; WOORTMAN, D. V.; BRÜCK, T. B.; BRÜCK, W. M. Nutritional and Additive Uses of Chitin and Chitosan in the Food Industry. p.1-44 in: Crini, Grégorio; Lichtfouse, Eric. (Eds) Chitin and Chitosan: Applications in Food, Agriculture, Pharmacy, Medicine and Wastewater Treatment. Sustainable Agriculture Reviews 36. p. 432. 2019. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16581-9>

- HATCHETT, C. (1799) Experiments and observations on shell and bone. **In:** Bowyer W and Nichols J (eds) Philosophical transactions of the Royal Society of London. Royal Society, London, June 13, 1799, volume 89, article XVIII, pp 315–334.
- HOPPE-SEYLER, F. Ueber chitin and cellulose. *Ber Dtsch Chem Ges*, 27:3329–3331, 1894.
- ISLAM, S.; BHUIYAN, M.A.R.; ISLAM, M.N. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. *J. Polym. Environ.*; 1–13, 2016.
- JANG, M. K.; KONG, B. G.; JEONG, Y. I.; LEE, C. H.; & NAH, J. W. (2004). Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42(14), 3423–3432.
- KAYA, M.; BARAN, T.; ERDOĞAN, S.; MENTEŞ, A.; AŞAN ÖZÜSAĞLAM, M.; ÇAKMAK, Y. S. (2014). Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). *Materials Science and Engineering: C*, 45, 72–81. doi:10.1016/j.msec.2014.09.004
- KLAYKRUAYAT, B.; SIRALERTMUKUL, K.; SRIKULKIT, K. (2010). Chemical Modification of Chitosan with Cationic Hyperbranched Dendritic Polyamidoamine and Its Antimicrobial Activity on Cotton Fabric. *Carbohydr. Polym.*; 80, 197–207
- KOVALEVA, E.; PESTOV, A.; STEPANOVA, D.; MOLOCHNIKOV, L. Characterization of Chitin and its Complexes Extracted from Natural Raw Sources. *AIP Conference Proceedings*, v. 1772, p. 050007. 2016. doi:10.1063/1.4964577
- KUMARI, S.; & RATH, P. K. (2014). Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (Labeo rohita) Fish Scales. *Procedia Materials Science*, 6, 482–489. doi:10.1016/j.mspro.2014.07.062
- KUMARI, S.; RATH, P.; SRI HARI KUMAR, A.; TIWARI, T. N. (2015). Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. *Environmental Technology & Innovation*, 3, 77–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eti.2015.01.002>
- KUMIRSKA, J.; CZERWICKA, M.; KACZYŃSKI, Z.; BYCHOWSKA, A.; BRZOZOWSKI, K.; THÖMING, J.; & STEPNOWSKI, P. (2010). Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Mar Drugs*, 8(5), 1567–1636.
- KURITA, K. (2006). Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Marine Biotechnology*, 8(3), 203–226. <http://dx.doi.org/10.1007/s10126-005-0097-5>
- LASSAIGNE, I. L. (1843) Sur les tissus tégumentaires des insectes de différents ordres. *Compte Rendus des Séances de l'Académie des Sciences* 16:1087–1089
- LE DUNG, P.; MILAS, M.; RINAUDO, M.; & DESBRIÈRES, J. (1994). Water soluble derivatives obtained by controlled chemical modifications of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 24(3), 209–214. doi:10.1016/0144-8617(94)90132-5
- LEDDEHROSE, G. Über salzsäures glycosamin. *Ber Dtsch Chem Ges* 9:1200–1201, 1876.

- LIU, S.; SUN, J.; YU, L.; ZHANG, C.; BI, J.; ZHU, F.; QU, M.; JIANG, C.; YANG, Q. (2012). Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. **Molecules**, 17(4), 4604–4611. doi:10.3390/molecules17044604
- MAHDY SAMAR, M.; EL-KALYOUBI, M. H.; KHALAF, M. M.; & ABD EL-RAZIK, M. M. (2013). Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. **Annals of Agricultural Sciences**, 58(1), 33–41. doi:10.1016/j.aosas.2013.01.006
- MAO, X; GUO, N; SUN, J; XUE, C. (2017). Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143, 814–823. <http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.042>
- MAO, X; ZHANG, J; KAN, F; GAO, Y; LAN, J; ZHANG, X; HU, Z; LI, Y; LIN, H. (2013) Antioxidant Production and Chitin Recovery from Shrimp Head Fermentation with *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Biotechnology* 22(4): 1023-1032. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0179-5>
- MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; ,CASTRO, H. F.;, GIORDANO, R. L. (2011) Application of chitosan as support for immobilization of enzymes of industrial interest. **Quim Nova**; 34: 831-40.
- MEYER, K. H. (1950) Chitin and other polysaccharides containing amino sugars. In: *Natural and synthetic high polymers*, 2nd edn, chapter F, part VI. Interscience Publishers, Inc.; New York, pp 448–455.
- MEYER, K. H.; PANKOW G. W. Sur la constitution et la structure de la chitine. **Helv Chim Acta** 18:589–598, 1935. M
- MIRMOHSENI, A.; SEYED-DORRAJI, M. S.; FIGOLI, A.; TASSELLI, F. (2012) Chitosan hollow fibers as effective biosorbent toward dye: preparation and modeling. **Bioresour Technol**; 121: 212-20. [http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.067] [PMID: 22858488]
- MORIN-CRINI, N.; LICHTFOUSE, E.; TORRI, G.; CRINI, G. Fundamentals and Applications of Chitosan. p. 49-124. In CRINI, G.; LICHTFOUSE, E. (Eds.) *Chitin and Chitosan: History, Fundamentals and Innovations*. Sustainable Agriculture Reviews 35. 2019a. 343p.
- MUSLIM, T.; RAHMAN, M. H.; BEGUM, HO. A.; & RAHMAN, M. A. (2013). Chitosan and Carboxymethyl Chitosan from Fish Scales of *Labeo rohita*. **Dhaka University Journal of Science**, 61(1). doi:10.3329/dujs.v61i1.15116
- MUZZARELLI, R. A. A. (1977) *Chitin*. Pergamon Press Ltd.; Oxford. ISBN: 9780080203676
- MUZZARELLI, R. A. A. Native, industrial and fossil chitins. Pag. 1-6. In: Jollès, P.; & Muzzarelli, R. A. A. (Eds) *Chitin and Chitinases*. Basel: Birkhäuser Verlag. 1999.
- MUZZARELLI, R. A. A.; BOUDRANT, J.; MEYER, D.; MANNO, N.; DEMARCHIS, M.; & PAOLETTI, M. G. (2012). Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of

- the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 995–1012. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.063>
- NAKASHIMA, K; KIMURA, S; OGAWA, Y; WATANABE, S; SOMA, S; KANEKO, T; YAMADA, L; SAWADA, H; TUNG, C.H; LU, T.M; YU, J. K; VILLAR-BRIONES, A; KIKUCHI, S; SATOH, N. (2018). Chitin-based barrier immunity and its loss predated mucus-colonization by indigenous gut microbiota. *Nat. Commun.* 9, 3402 <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-05884-0>
- NOURI, M.; KHODAIYAN, F.; RAZAVI, S. H.; & MOUSAVI, M. (2016). Improvement of chitosan production from Persian Gulf shrimp waste by response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 59, 50–58. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.08.027
- ODIER, M. A. Mémoire sur la composition chimique des parties cornées des insectes. *Mémoire de la Société d'Histoire Naturelle* 1:29–42, 1823.
- OTHMAN, S. H. Bio-nanocomposite materials for food packaging applications: Types of biopolymer and nano-sized filler. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, v. 2, p. 296 – 303. 2014. doi: 10.1016/j.aaspro.2014.11.042
- PACHAPUR, V. L.; GUEMIZA, K.; ROUISSI, T.; SARMA, S. J.; & BRAR, S. K. (2015). Novel biological and chemical methods of chitin extraction from crustacean waste using saline water. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(8), 2331–2339. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.4821>
- PAREEK, N.; VIVEKANAND, V.; AGARWAL, P.; SAROJ, S.; & SINGH, R. P. (2013). Bioconversion to chitosan: A two stage process employing chitin deacetylase from *Penicillium oxalicum* SAEM-51. *Carbohydrate Polymers*, 96(2), 417–425. doi:10.1016/j.carbpol.2013.04.005
- PAULINO, A. T.; MINASSE, F. A. S.; GUILHERME, M. R.; REIS, A. V.; MUNIZ, E. C.; NOZAKI, J. (2006). Novel adsorbent based on silkworm chrysalides for removal of heavy metals from wastewaters. *Journal of Colloid and Interface Science*, 301(2), 479–487. doi:10.1016/j.jcis.2006.05.032
- PAYEN, A. Propriétés distinctives entre les membranes végétales et les enveloppes des insectes et des crustacés. *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences*, 17:227–231, 1843.
- PERCOT, A.; VITON, C.; & DOMARD, A. Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells. *Biomacromolecules*, 4(1), 12–18. (2003). doi:10.1021/bm025602k
- PHILIBERT T, LEE BH, FABIEN N (2017) Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Appl Biochem Biotechnol.* 181:1314–1337
- PICCIN, J. S.; DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L.; PINTO, L. A. (2011). Kinetics and mechanism of the food dye FD&C red 40 adsorption onto chitosan. *J Chem Eng Data*; 56: 3759-65. <http://dx.doi.org/10.1021/je200388s>
- PIGHINELLI, L; BROQUÁ, J; ZANIN, B.G; FLACH, A. M; MALLMANN, C; TABORDA, F. G. D; MACHADO, L. E. L; ALVES, S. M. L; SILVA, M. M; DIAS, R. J. S. P. (2019)

- Methods of Chitin Production a Short Review. *Am J Biomed Sci & Res.* 3(4). AJBSR.MS.ID.000682. <http://doi.org/10.34297/AJBSR.2019.03.000682>
- PILLAI, C. K.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Prog Polym Sci*; 34: 641-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>
- RAMASAMY, P.; SUBHAPRADHA, N.; SHANMUGAM, V. AND SHANMUGAM, A. (2014). Extraction, characterization and antioxidant property of chitosan from cuttlebone *Sepia kobsiensis* (Hoyle 1885). *International journal of biological macromolecules*, 64: 202-212. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.12.008
- RAMÍREZ-WONG, D.; RAMÍREZ-CARDONA, M.; SÁNCHEZ-LEIJA, R.; RUGERIO, A.; MAURICIO-SÁNCHEZ, R.; HERNÁNDEZ-LANDAVÉ, M.; PROKHOROV, E. (2016). Sustainable-solvent-induced polymorphism in chitin films. *Green Chemistry*, 18(15), 4303–4311.
- RASS-HANSEN, J.; FALSIG, H.; JØRGENSEN, B.; & CHRISTENSEN, C. H. (2007). Bioethanol: fuel or feedstock? *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 82(4), 329–333. doi:10.1002/jctb.1665
- RAVI KUMAR, M. N. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *React Funct Polym*; 46: 1-27. [[http://dx.doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)]
- RIGBY, G.W. (1936a) Carbohydrate derivatives and process of making the same. US Patent 2,033,787
- RIGBY, G.W. (1936b) Substantially undegraded deacetylated chitin and process for producing the same. US Patent 2:040,879
- RIGBY, G.W. (1936c) Process for the preparation of films and filaments and products thereof. US Patent 2,040,880
- RIGBY, G.W. (1936d) Emulsion. US Patent 2,047,225
- RIGBY, G.W. (1936e) Chemical process and chemical compounds derived therefrom. US Patent 2,047,226
- RIGBY, G.W. (1937) Chemical products and process of preparing the same. US Patent 2,072,771
- RINAUDO, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
- ROBERTS, G. A. F. Chemical behavior of chitin and chitosan. pp 203–273, In: ROBERTS, G. A. F. *Chitin chemistry*. Palgrave, London, 1992b. 350p. https://doi.org/10.1007/978-1-1349-11545-7_5
- ROUGET, C. (1859). Des substances amylicées dans les tissus des animaux, spécialement les articles (chitine). *C. R. Hebdomadaire Séances Acad Sci*, 48:792–795, 1859.

- SAGHEER, F. A. A., AL-SUGHAYER, M. A., MUSLIM, S., & ELSABEE, M. Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 410–419. doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.032
- SOON, C. Y.; TEE, Y. B.; TAN, C. H.; ROSNITA, A. T.; KHALINA, A. (2018). Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from Zophobas morio larvae in varying sodium hydroxide concentration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 135–142. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138
- SOUZA, K.V.; LOPES, E.D.O.; BARTIKO, D.; VIDAL, C.D.S.; SOUZA, J.B. Use of biopolymer in pulp and paper industry wastewater treatment by advanced oxidative process. *Sci. For.* 2017, 45, 363–372.
- SRIVASTAV, A.; MISHRA, S. S.; DEBNATH, S.; DATTA, D. (2018). Extraction And Characterization Of Chitosan From Waste Scales Of Labeo Rohita", *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 5(6) 540-544, Available at : <http://www.jetir.org/papers/JETIRC006096.pdf>
- STRUSZCYK, M. H. (2000). Herstellung von Chitosan und einige Anwendungen. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/252779927_Herstellung_von_Chitosan_und_einige_Anwendungen (acesso: 01 de dezembro de 2021).
- SUMATHI, N.; VIGNESH, R.; MADHUSUDHANAN, J. (2017) Extraction, characterization and applications of Chitosan from fish scales. *International Journal of Modern Trends in Engineering and Research (IJMTER)* Volume 04, Issue 4, [April– 2017] ISSN (Online):2349–9745; ISSN (Print):2393-8161.
- SUN, T.; ZHOU, D.; XIE, J.; & MAO, F. (2006). Preparation of chitosan oligomers and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 225(3-4), 451–456. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-006-0439-1>
- SYNOWIECKI, J.; SIKORSKI, Z. E.; NACZK, M. (2004). The activity of immobilized enzymes on different krill chitin preparations. *Biotechnol Bioeng*; 23: 2211-5. [<http://dx.doi.org/10.1002/bit.260231005>]
- TAKARINA, N. D.; & FANANI, A. A. (2017). Characterization of chitin and chitosan synthesized from red snapper (Lutjanus sp.) scale's waste. doi:10.1063/1.4991212
- TAYEL, A. A.; IBRAHIM, S. I. A.; AL-SAMAN, M. A.; MOUSSA, S. H. (2014). Production of fungal chitosan from date wastes and its application as a biopreservative for minced meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 471–475. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.07>
- THAKHIEW, W.; DEVAHASTIN, S.; SOPONRONNARIT, S. (2013). Physical and mechanical properties of chitosan films as affected by drying methods and addition of antimicrobial agent. *J. Food. Eng.*; 119: 140-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.020>
- TIEMANN, F. Einiges über den abbau von salzsaurem glucosamin. *Ber Dtsch Chem Ges* 17:241–251 (1884). <https://doi.org/10.1002/cber.18840170174>

- VENDRUSCOLO, F.; & NINOW, J. L. (2014). Apple pomace as a substrate for fungal chitosan production in an airlift bioreactor. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(4), 338–342. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.05.001>
- WIGGLESWORTH, V. B. (1948) The insect cuticle. *Biol Rev* 23:408–451. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1948.tb00566.x>
- WIGGLESWORTH, V. B. (1957) The physiology of insect cuticle. *Annual Rev Entomol* 2:37–54. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.02.010157.000345>
- WINTERSTEIN, E. Zur kenntniss der in den membrane der pilze enthaltenen bestandtheile. Z. Physiol Chem Hoppe-Seyler's, 19:521–562, 1894b.
- WISNIAK, JAIME. Charles Hatchett: The discoverer of niobium. *Educación Química*. 26(4), 346-355. 2015. DOI: 10.1016/j.eq.2015.07.004
- XU, Y.; BAJAJ, M.; SCHNEIDER, R.; GRAGE, S. L.; ULRICH, A. S.; WINTER, J.; & GALLERT, C. (2013). Transformation of the matrix structure of shrimp shells during bacterial deproteinization and demineralization. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 90. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2859-12-90>
- YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. (2009). Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 75(1), 15–21. doi:10.1016/j.carbpol.2008.06.006
- YOUNES I, RINAUDO M (2015) Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Mar Drugs* 13:1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
- ZAKU, S. G.; EMMANUEL, S. A.; AGUZUE, O. C.; THOMAS, S. A. (2011). Extraction and characterization of chitin; a functional biopolymer obtained from scales of common carp fish (*Cyprinus carpio* L.): A lesser known source, *African journal of food science*, 5(8), p. 478-483.

CAPITULO II

QUITINA E QUITOSANA DAS ESCAMAS DE PIRARUCU (*Arapaima gigas*)

Davison Pinto CARNEIRO 1*; Adriano Teixeira de OLIVEIRA 2; Antônio José INHAMUNS 3

1 (CARNEIRO, D. P.). Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: davisonpc@gmail.com

2 (OLIVEIRA, A. T.) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: adriano.oliveira@ifam.edu.br

3 (INHAMUNS, A. J.). Faculdade de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: ajinhamuns@gmail.com

* Autor correspondente: Davison Pinto Carneiro. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros – Universidade Federal do, Federal Campus Universitário, Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, CEP 69077-000, Manaus, Amazonas, Brasil. Phone: + 55 (92) 99217-8500. E-mail: davisonpc@gmail.com

RESUMO

Os resíduos de peixe não são materiais descartáveis sem valor nutritivo, mas se mostram como excelente matéria-prima para extração de compostos diversos. As escamas de pirarucu (*Arapaima gigas*) carregam em sua composição, além dos compostos proteicos e minerais, um volume razoável de quitina e quitosana de boa qualidade que podem ser explorados para aplicação nos diversos ramos industriais, tecnológicos, médicos e outros. O objetivo deste trabalho foi extrair, determinar o rendimento e caracterizar a quitina e quitosana obtidas a partir das escamas de pirarucu. As amostras de escamação do pirarucu foram submetidas a dois tratamentos, sendo T1 extração homogênea, uma adaptação do processo com repouso das amostras por 24h em solução antes da aplicação de calor e T2 extração heterogênea, com aplicação direta das amostras em solução química sob aquecimento. A análise de Espectroscopia na Região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) mostrou assinatura das bandas relativas da quitina e quitosana. As quitinas T1 e T2 e quitosana T1 e T2 obtidos dos processos, mostraram características distintas, onde as quitinas extraídas apresentaram volumes em cerca de 1,37% ($\pm 0,30$) e 38,84% ($\pm 4,40$) para T1 e T2, respectivamente, enquanto as quitosanas apresentaram valores em cerca de 84,68% ($\pm 6,99$) e 76,66% ($\pm 5,58$) para T1 e T2, respectivamente. Também foram avaliadas a composição centesimal das escamas e dos polímeros carboidratos. As escamas, quitina e quitosana apresentaram valores médios de 20,53% ($\pm 2,23$), 11,49% ($\pm 0,59$) e 6,91% ($\pm 0,30$), para umidade e 0,07% ($\pm 0,01$), 0,05% ($\pm 0,01$), 1,08% ($\pm 0,47$) para lipídios; A proteína apresentou valores em cerca de 36,13% ($\pm 2,13$), 1,01% ($\pm 0,34$), 0,51% ($\pm 0,34$); A cinza apresentou valores estimados em 31,16% ($\pm 0,62$), 80,71% ($\pm 0,17$) e 75,76% ($\pm 0,13$). As escamas do pirarucu, apresentam-se como fonte de biomoléculas de quitina e quitosana, com grande potencial para aplicações tecnológicas.

Palavra-chave: Recurso pesqueiro, resíduos de beneficiamento, peixes amazônicos; biopolímeros; polímeros carboidratos.

ABSTRACT

Fish residues are not disposable materials with no nutritional value, but they prove to be an excellent raw material for the extraction of various compounds. The pirarucu (*Arapaima gigas*) scales carry in their composition, in addition to protein and mineral compounds, a reasonable volume of good quality chitin and chitosan that can be exploited for application in various industrial, technological, medical and other branches. The objective of this work was to extract, determine the yield and characterize chitin and chitosan obtained from pirarucu scales. The pirarucu scale samples were submitted to two treatments, T1 being homogeneous extraction, an adaptation of the process with the samples resting for 24 hours in solution before the application of heat, and T2 heterogeneous extraction, with direct application of the samples in chemical solution under heating. The analysis of Fourier Transform Infrared Region Spectroscopy (FTIR) showed signature of the relative bands of chitin and chitosan. The chitins T1 and T2 and chitosan T1 and T2 obtained from the processes showed distinct characteristics, where the extracted chitins presented volumes of about 1.37% (± 0.30) and 38.84% (± 4.40) for T1 and T2, respectively, while chitosans showed values around 84.68% (± 6.99) and 76.66% (± 5.58) for T1 and T2, respectively. The proximate composition of scales and carbohydrate polymers were also evaluated. The scales, chitin and chitosan presented mean values of 20.53% (± 2.23), 11.49% (± 0.59) and 6.91% (± 0.30), for moisture and 0.07% (± 0.01), 0.05% (± 0.01), 1.08% (± 0.47) for lipids; The protein showed values around 36.13% (± 2.13), 1.01% (± 0.34), 0.51% (± 0.34); Ash presented estimated values of 31.16% (± 0.62), 80.71% (± 0.17) and 75.76% (± 0.13). The pirarucu scales are a source of chitin and chitosan biomolecules, with great potential for technological applications.

Keywords: Fishing resource, processing residues, amazonian fish; biopolymers; carbohydrate polymers.

1. INTRODUÇÃO

A indústria pesqueira Brasileira tem uma representatividade de 38% do volume produzido de peixes nativos, sendo representado pelo tambaqui, pacu, surubim, matrinxã e o gigante da Amazônia, o pirarucu (PeixeBR, 2020). Apesar de apresentar o maior consumo per capita de peixe da região, o Amazonas apresenta-se como o 5º maior produtor de espécies nativas, com um volume de 21.000t produzidos, destacando a presença do tambaqui (*Colossoma macropomum*), Matrinxã (*Brycon amazonicus*) e do Pirarucu (*Arapaima gigas*) (PeixeBR, 2022). A bacia amazônica, apesar de não ter uma produção pesqueira embasada em atividade costeira de pescada, integra a lista das 7 bacias hidrográficas fluviais com maior contribuição para a pesca em águas continentais, compondo os 50 % do total de peixes capturados no interior do planeta (FAO, 2020).

Na Amazônia, o Pirarucu é o peixe com grande potencial para reaproveitamento de resíduos pesqueiros, uma vez que há um desperdício acentuado dos resíduos durante o seu beneficiamento e comércio, que inclui pele, cabeça, vísceras, nadadeiras, escamas e carcaça, (FREITAS-JÚNIOR et al., 2012) que podem ser convertidos em subprodutos com maior valor agregado. O aproveitamento adequado nas operações de processamento industriais pode reduzir o problema da poluição ambiental, diminuir os custos dos insumos e, até mesmo, da matéria-prima em questão. Geralmente, o resíduo seco das escamas equivale de 2 a 4% do peso do animal (GHALY et al., 2013).

Em 2016 o pirarucu registrou um volume nacional produzido em piscicultura de 8,6 mil toneladas e de pouco mais de 8.7 mil toneladas de extração de águas interiores (FAO, 2017). No Amazonas, a pesca extrativa em áreas de manejo e acordos de pesca do estado, rendeu pouco mais de 1,7 mil toneladas de pirarucu, correspondente à safra 2017-2018 (AMAZONAS, 2018), direcionados ao abastecimento de frigoríficos e feiras do médio rio Solimões-Amazonas e capital Manaus.

A cadeia de produção da aquicultura e pesca atendem expansivamente à demanda da indústria de alimentos. Entretanto, ainda que seja produzido alimento de considerável valor nutricional e agregado, negligencia-se o grande volume de resíduos sólidos e líquidos gerados durante o beneficiamento desses (LIMA et al., 2012). Em virtude do ônus ecológico e econômico gerado pelo não aproveitamento e descarte irregular dos resíduos do beneficiamento, faz-se necessário o aproveitamento integral do pescado (AIP), onde a fração residual, que chega a compor 70% do volume processado, tem potencial como matéria prima para a produção de insumos e produtos para outros segmentos industriais, inclusive os de maior

valor agregado (LIMA et al., 2012; AL KHAWLI et al., 2019; AFREEN & UCAK, 2020; FAO, 2020).

Nas últimas duas décadas, o incentivo ao aproveitamento sustentável dos recursos naturais promoveu o aprimoramento dos procedimentos tecnológicos aplicados ao processamento dos resíduos de pescado, explorando fontes significativas de biopolímeros diversos (AL KHAWLI et al., 2019). A grande quantidade de subprodutos de processamento envolve desafios ambientais e técnicos significativos, devido à sua alta carga microbiana e enzimática e sua suscetibilidade à degradação rápida, a menos que sejam processados ou armazenados adequadamente. Portanto, a coleta e o tratamento oportuno desses subprodutos são cruciais para seu processamento posterior.

Os subprodutos são derivados dos resíduos gerados, conforme a espécie processada, e os tipos e quantidades de resíduos gerados na industrialização dependerão da espécie e do processamento empregado. Por exemplo, a produção de peixe inteiro eviscerado, eviscerado e descabeçado, filé, dentre outras. Todos esses cortes específicos geram resíduos, e a quantidade relaciona-se ao rendimento de carcaça dos peixes, que varia em função do tipo de processamento, da espécie de peixe, do tamanho do peixe e etc. (VIDOTTI & GONÇALVES, 2006). Todo esse material residual serve de matéria-prima para produção de outros coprodutos de alto valor agregado, extraídos de processados de cabeça (que representam 9% a 12% do peso total do peixe), vísceras (12% a 18%), pele (1% a 3%), ossos (9% a 15%) e escamas (cerca de 5% a 9%) compondo uma parcela que pode alcançar 70 % do volume de peixe processado (SOUZA & INHAMUNS, 2011; GHALY, 2013; OLIVEIRA et al., 2017a, 2017b).

Os subprodutos de peixes podem servir a uma ampla gama de finalidades. Cabeças, carcaça, aparas de filé e pele podem ser usados diretamente como alimento ou transformados em embutidos de peixe, patês, bolos, salgadinhos, gelatinas, sopas, molhos e outros produtos para consumo humano. Ossos pequenos de peixes, com uma quantidade mínima de carne, são consumidos como aperitivos em alguns países. Os subprodutos também são usados na produção de rações (não apenas na forma de farinha e óleo de peixe), biocombustíveis e biogás, produtos dietéticos (quitosana), produtos farmacêuticos (óleos ômega-3), pigmentos naturais, cosméticos, alternativas ao plástico, e constituintes em outros processos industriais (FAO, 2020).

Entre os diferentes tipos de tecidos duros que podem ser encontrados na natureza, as escamas dos peixes provavelmente receberam menos atenção do que qualquer um deles, apesar de suas características marcantes. Representadas por uma pequena parcela dos resíduos totais,

as escamas são classificadas como sem valor nutricional (VIDOTTI & GONÇALVES, 2006), e seu destino costuma ser os aterros com os demais resíduos, ou as indústrias de farinha, para a fabricação de rações, apesar de ser um resíduo biodisponível. No entanto, a investigação de seu potencial como nova matéria-prima para a produção de quitosana merece destaque, principalmente por ser uma alternativa aos biopolímeros derivados de frutos do mar, onde apresentam certa reação alérgica em algumas pessoas (BOARIN-ALCALDE & GRACIANO-FONSECA, 2016).

O processo de extração de quitina e quitosana dos resíduos sólidos de pirarucu surge como alternativa viável ao uso, beneficiamento e valorização dos dejetos sólidos do processamento industrial pesqueiro, em especial para as estruturas calcificadas como escamas, que em geral são utilizados em escala irrisória como matéria-prima em artesanatos regionais ou como na maioria dos casos são simplesmente descartados como resíduos, sem valor nutricional ou valor agregado. Neste estudo, a extração de quitina e quitosana é preliminar na avaliação dos recursos pesqueiros amazônicos como potencial matéria-prima para extração de biopolímeros de alto valor agregado, objetivando avaliar os meios de extração de quitina e quitosana das escamas de pirarucu, em dois processos distintos, com potencial para aplicações em fórmulas farmacêuticos, médicas, agrícolas, industriárias dentre outros, onde o processo de extração é baseada na hidrólise convencional em solução ácida e alcalina forte via desmineralização, desproteinização e desacetilação das escamas de pirarucu em procedimento homogêneo ou heterogêneo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA PRIMA

A matéria-prima para extração da quitina e quitosana foi obtida de espécimes de pirarucu (Figura 1) coletados no porto de desembarque pesqueiro da Panair, em Manaus-AM, por meio dos barcos de pesca oriundos de áreas de manejo de recursos hídricos e acordos de pesca do município de Fonte Boa, região do médio rio Solimões-Amazonas. Os procedimentos de extração e análise foram conduzidos no Laboratório de Tecnologia do Pescado, lotado na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas (FCA-UFAM) em Manaus, Amazonas, Brasil.



Figura 1: Pirarucu (*Arapaima gigas*). Adaptado de Santos et al., 2006.

2.2. PREPARO DO MATERIAL

As escamas foram inicialmente separadas manual e unitariamente das mantas de pele de pirarucu, e encaminhadas em seguidas para lavagem e retirada dos resíduos e traços de pele fixados. Após limpeza, uma fração dessas escamas foi encaminhada para análises físico-químicas e o restante direcionado para secagem em estufa de circulação forçada a uma temperatura de 90° C com permanência de 12h, e posteriormente encaminhadas ao processo de extração dos biopolímeros.

2.3. EXTRAÇÃO HOMOGÊNEA (T1)

Foram aplicados dois tratamentos como processo na extração da quitina e quitosana. O primeiro foi uma adaptação da extração Homogênea (T1) (Figura 2), usando uma versão simplificada da metodologia utilizada por Abdou et al. (2008) e Kumari & Rath (2014), consistindo no repouso das amostras em soluções alcalinas, por cerca de 24h a temperatura ambiente, antes de ser aplicada alta temperatura no tratamento.

2.3.1. Desmineralização

A extração da quitina foi iniciada com a desmineralização das escamas. O processo foi realizado com solução de ácido clorídrico PA (HCl) na proporção de soluto/solvente de 10,8% [1,3 MOL], com razão de solução/amostra de 14mL:1g (v/p), à temperatura ambiente por 12h. No fim, o solido restante foi lavado até à neutralidade sob água corrente e depois seco à temperatura ambiente.

2.3.2. Desproteínização

O material desmineralizado e seco foi encaminhado para a extração das proteínas colagenosas e não-colagenosas. O processo foi realizado com solução de Hidróxido de sódio PA (NaOH) na proporção soluto/solvente de 0,52 % [1,3 MOL], com razão de solução/amostra

de 12mL:1g (v/p), inicialmente à temperatura ambiente por 24h, e posteriormente adotado aquecimento da solução à 90°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), sob agitação intermitente por 3h. O material sólido decantado foi recuperado da solução e neutralizado em água destilada, até a estabilização do pH em cerca de 7,0 ($\pm 0,1$). Em seguida o material desproteínizado foi recuperado e posto em estufa de circulação forçada, a uma temperatura de 90° C por cerca de 12h. Por fim, as amostras foram moídas a fim de obter a quitina em pó.

2.3.3. Desacetilação

As amostras de quitina foram imersas em solução de NaOH PA na proporção de 70% [17,5 MOL], com razão de solução/amostra de 14mL:1g (v/p) à temperatura ambiente por 24h. Em seguida a solução foi posta em banho-maria a temperatura de 90°C (± 2), por 6h, com agitação intermitente. A neutralização das amostras foi feita com adição de ácido acético até obtenção de pH 7,0 ($\pm 0,1$). Em seguida o material desacetilado foi recuperado e posto em estufa de circulação forçada a uma temperatura de 90° C por cerca de 12h. Por fim, as amostras foram moídas a fim de obter a quitosana em pó.

2.4. EXTRAÇÃO HETEROGÊNEA (T2)

O segundo tratamento foi a extração Heterogênea (T2) (Figura 2), uma adaptação da metodologia utilizada por Kandile et al. (2018), onde desconsiderou-se o período de repouso das amostras, aplicando-se diretamente o tratamento químico aquecido na extração da quitina e quitosana.

2.4.1. Desmineralização

A extração da quitina foi iniciada com a desmineralizadas das escamas. O processo foi realizado com solução de Ácido clorídrico PA (HCl) na proporção de soluto/solvente de 10,8% [1,3 MOL], com razão de solução/amostra de 14mL:1g (v/p), à temperatura ambiente por 12h. No fim, o sólido restante foi lavado até à neutralidade sob água corrente e depois seco à temperatura ambiente.

2.4.2. Desproteínização

O processo foi realizado com solução de Hidróxido de sódio PA (NaOH) na proporção soluto/solvente de 0,52 % [1,3 MOL], com razão de solução/amostra de 12mL:1g (v/p) a temperatura de 90°C (± 2) sob agitação intermitente por 6h. Para neutralização da amostra foi utilizado ácido acético (CH₃COOH) na solução até a estabilização do pH em cerca de 7,0 ($\pm 0,1$). Em seguida o material desproteínizado foi recuperado e posto em estufa de circulação

forçada a uma temperatura de 90° C por cerca de 12h. Por fim, as amostras foram moídas a fim de obter a quitina em pó.

2.4.3. Desacetilação

As amostras de quitina foram imersas em solução de NaOH PA na proporção de 70% [17,5 MOL], com razão de solução/amostra de 14mL:1g (v/p) à temperatura de 90°C (± 2), por 18h, com agitação intermitente. A neutralização das amostras foi feita com adição de ácido acético até obtenção de pH 7,0 ($\pm 0,1$). Em seguida o material desacetilado foi recuperado e posto em estufa de circulação forçada a uma temperatura de 90° C por cerca de 12h. Por fim, as amostras foram moídas a fim de obter a quitosana em pó.

2.5. PURIFICAÇÃO E SECAGEM DOS BIOPOLÍMEROS

Para obtenção de amostras mais purificadas, os polímeros foram submetidos a lavagens com água destilada e solubilizadas em solução de Ácido Acético (CH_3COOH) 1% (v/v), com razão de solução/amostra de 10mL:1g (v/p) sob agitação, a temperatura ambiente por 24 horas. Então, estas soluções foram recuperadas e neutralizadas com hidróxido de sódio [1,3 MOL] até alcançar o pH neutro (7,0). Por fim, as amostras foram lavadas com água destilada e secas em estufa de circulação forçada a 50°C por 24 horas.

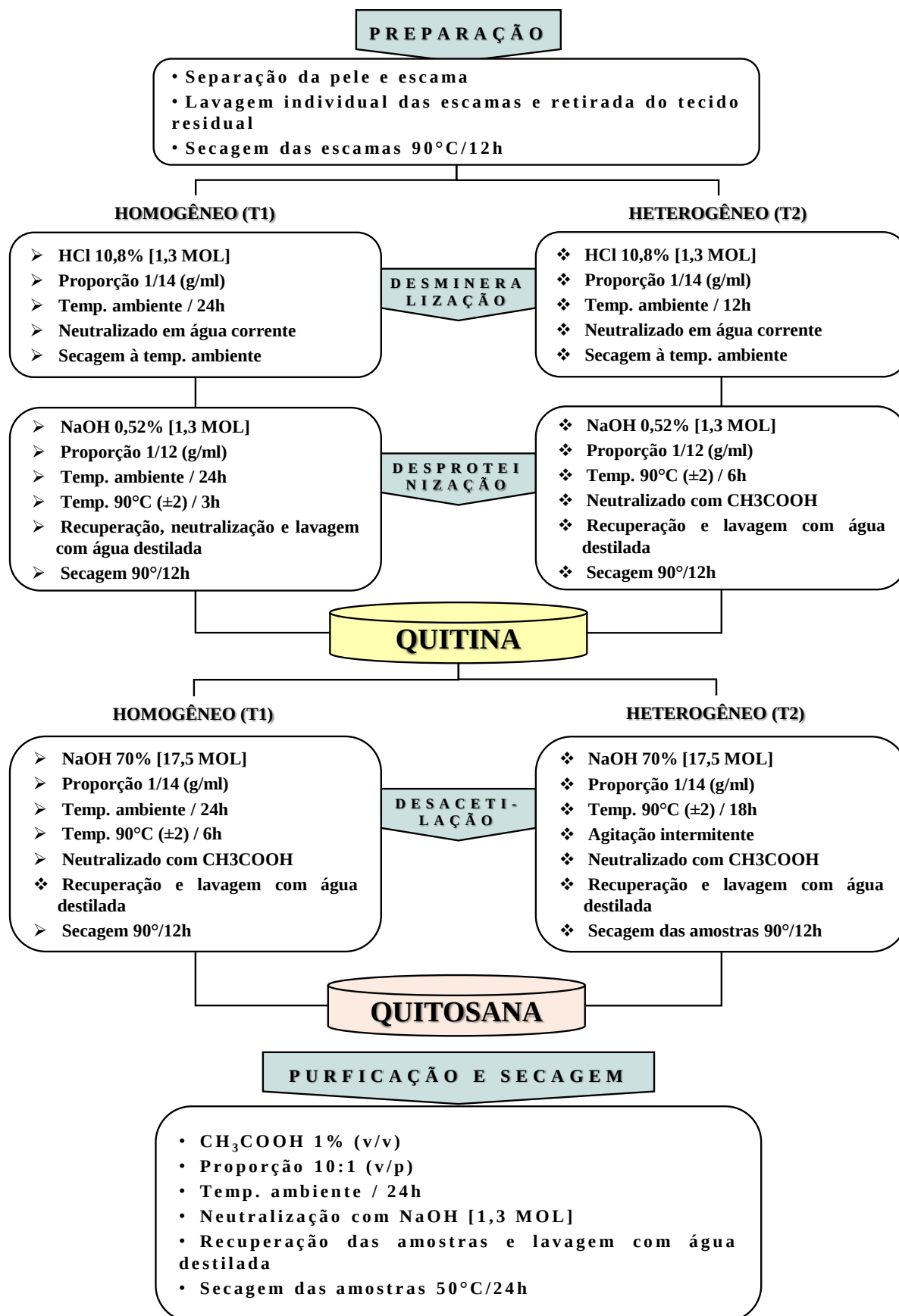


Figura 2: Fluxograma de extração da quitina e quitosana das escamas de pirarucu em tratamento homogêneo e heterogêneo.

2.6. DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO

O rendimento de quitina e quitosana a partir de escamas de pirarucu foram calculados levando-se em conta o peso das escamas e a quantidade de quitina e quitosana obtidas. O cálculo do rendimento foi realizado a partir equação, adaptado de Alfaro (2008).

$$\text{Rendimento (\%)} = (M/M_0) \times 100$$

Onde:

M = peso seco do produto (quitina / quitosana);

M₀ = peso da amostra seca usada (escamas).

2.7. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para as análises da composição centesimal das escamas, quitina e quitosana foram realizadas seguindo os procedimentos descritos pela A.O.A.C. (1995) e as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008), para Umidade, Cinza, Lipídios, Proteína e Carboidratos.

2.8. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Para caracterização da quitina e quitosana obtidas a partir dos subprodutos da escamação do pirarucu, foi realizada a análise de Espectroscopia na Região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), empregando a técnica de Reflectância Total Atenuada (ATR). Foram identificados os grupos funcionais dos polímeros carboidratos presentes nas amostras das escamas do pirarucu, em espectrômetro Agilent, modelo Cary 660, equipamento de espectrofotometria no infravermelho, com uma média de dezesseis varreduras em uma faixa espectral de 4000 a 500 cm⁻¹, em placas de titânio, em uma resolução de 2 cm⁻¹, comparados com um espectro de fundo coletado da célula vazia limpa, com inserção direta das amostras no equipamento de análise, sem a necessidade de preparo prévio para leitura.

2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar se existe diferença na determinação do rendimento da quitina e quitosana nos diferentes tratamentos, homogêneo (T1) e heterogêneo (T2), foi realizado teste t de Student. Os dados foram analisados quanto aos pressupostos paramétricos de normalidade e homogeneidade de variância, através do teste Shapiro-wilk e Levene, respectivamente. Todas

as análises estatísticas foram realizadas no Software R Statistical (R Core Team, 2021), considerando $\alpha=0,05$ estatisticamente significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS ESCAMAS E POLÍMEROS CARBOIDRATOS

Foram determinadas a composição centesimal de escamas, quitina e quitosana das amostras do pirarucu, onde os resultados são representados na Tabela 1. Badolato et al. (1994) e Goes et al. (2016) afirmaram que a análise de composição físico-química em peixes pode variar consideravelmente, principalmente quando se leva em consideração a sazonalidade, habito alimentar, espécies, sexo e habitat, nos quais os percentuais representativos são compostos por umidade, cinza, lipídios, proteína e carboidratos.

3.1.1. Escamas

Torres *et al.* (2008); Bezerra *et al.* (2018) e Yang *et al.* (2014; 2019) descrevem as escamas de pirarucu como estruturas compostas em camadas laminares estruturais, formadas por nanocristais de carbonato de cálcio, fibras de colágeno e polímeros carboidratos, dispostas paralelas e perpendicularmente em diferentes orientações estruturais.

As escamas não estão isentas do teor de umidade, e este por sua vez possui uma elevada importância, pois está diretamente relacionada à conservação e armazenamento, principalmente em função dos processos microbiológicos, como o aparecimento ou desenvolvimento de agentes bacterianas (Larsen et al., 2011; Brito et al., 2019). Contudo, o percentual médio de umidade observado nas amostras de escamas do pirarucu foi de 20,53% enquanto que os teores de lipídios totais ficaram em 0,07%, ou seja, uma quantidade de água significativa presente nas amostras, levando em consideração as características minerais das escamas da espécie. Contudo, o resultado encontrado no presente estudo para umidade das escamas ficou ligeiramente acima, ao passo que teores de lipídios totais foram inferiores aos resultados descritos por Martins et al. (2015), quando estudaram a composição centesimal das escamas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), onde observaram valores para umidade e lipídios em 14% e 0,33%, respectivamente.

Ashwitha et al. (2020) afirmaram que as escamas ganóides possuem alta concentração de cálcio, fosfato e hidroxiapatita, corroborando com o elevado volume de cinza encontrada neste estudo, em cerca de 31,16% (Tabela 1). Mesmo sendo um valor relativamente alto de cinza nas escamas de pirarucu, tal valor se mostrou ligeiramente inferior aos valores encontrados por Torres et al. (2008) ao estudar as estruturas laminadas e nanocompósitos das escamas de pirarucu, onde descreveram valores médio de cinza entre 39% a 45%. Vivian (2013) também relatou valores elevados de cinza na composição centesimal das escamas de tilápia do

Nilo (*Oreochromis niloticus*), com valor médio de 44,51%. Moraes (2010) e Meazza (2019) reforçam a ideia de um elevado volume de minerais nas escamas, onde esse último autor apresenta uma análise de percentual elementar, composta de cálcio (23,45%), fosfato (15,68%), sódio (0,84%) e magnésio (0,82%), o que confirma a elevada carga mineral presente nas escamas de pirarucu.

Tabela 01: Composição centesimal das escamas, quitina e quitosana extraídos de resíduos de pirarucu.

Parâmetros (%)	Escamas	Quitina	Quitosana
Umidade ⁽¹⁾	20,53 ($\pm 2,23$)	11,49 ($\pm 0,59$)	6,91 ($\pm 0,30$)
Proteína ⁽¹⁾	36,13 ($\pm 2,13$)	1,01 ($\pm 0,34$)	0,51 ($\pm 0,34$)
Lipídios ⁽¹⁾	0,07 ($\pm 0,01$)	0,05 ($\pm 0,01$)	1,08 ($\pm 0,47$)
Cinza ⁽¹⁾	31,16 ($\pm 0,62$)	80,71 ($\pm 0,17$)	75,76 ($\pm 0,13$)
Carboidratos totais ⁽¹⁾	12,11 ($\pm 3,36$)	6,74 ($\pm 0,74$)	15,74 ($\pm 0,35$)
FCU	1,26	1,13	1,07

⁽¹⁾ Média (desvio padrão), n=3. FCU: Fator de correção de umidade.

A proteína bruta encontrada nas escamas de pirarucu foi de 36,13% (Tabela 1). Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016) encontraram valores relativamente elevados de proteína e cinza nas escamas de Tilápia-do-nilo, com porcentagem em cerca de 54,25% e 36,06%, respectivamente. Muyonga et al. (2004) relataram valores de proteína bruta em peles com escamas de Perca-do-nilo (*Lates niloticus*) jovens e adultos de 20,3% e 21,3%, respectivamente. Vivian (2013) apresentou valores de proteína bruta das escamas de tilápia-do-nilo, em cerca de 49,06%. A autora defende que o fato de os valores de proteína nas escamas terem sido elevados, quando comparado a outros autores, se deve por ocorrer uma relação entre a umidade e a proteína bruta, cuja umidade da escama é baixa e a proteína é alta, ocorrendo o inverso na pele no animal. Contudo, supõe-se que o volume de proteína nas escamas de pirarucu tenha uma relação mais direta com percentual de minerais presentes nas escamas, apresentando valores moderados de cinza e proteínas (Tabela 1).

Os carboidratos das escamas no geral possuem seus valores ignorados na literatura, mesmo que seja uma das matérias primas dos polímeros que compõem as escamas, como é o

caso dos polímeros carboidratos quitina e quitosana. Ao aplicar o método de subtração dos compostos das escamas (umidade, proteína, lipídio, cinza) no estudo da composição centesimal das escamas de pirarucu, foi possível determinar os valores de carboidratos em cerca de 12,11% (Tabela 1). Tal valor é relativamente próximo do volume de carboidratos relatados por Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016) para as escamas de Tilápia-do-nilo, que foi de 9,21%, aproximadamente.

3.1.2. Quitina e quitosana

O teor de umidade da quitina foi maior que a da quitosana, em torno de 11,49% e 6,91%, respectivamente, enquanto o valor de lipídio foi maior na quitosana do que na quitina, em cerca de 1,08% e 0,05%, respectivamente. Isa et al. (2012) e Abdulkarim et al. (2013) sugerem que a umidade da quitina sempre será maior que a da quitosana, uma vez que a primeira secagem é sempre realizada na quitina, antes do processo de desacetilação e extração da quitosana. Consequentemente, os valores de lipídios se mostram inversamente proporcionais ao volume de umidade presente nos polímeros das escamas, como observado na tabela 2, e ainda assim foram relativamente semelhantes aos valores descritos por Abdulkarim et al. (2013) em seus estudos com mexilhão-comum (*Mytilus edulis*).

Mesmo tendo um comportamento semelhante ao apresentado pela literatura, os valores de lipídio da quitina e quitosana das escamas de pirarucu se mostraram muito abaixo dos valores observados por Isa et al. (2012) (9,40% e 5,24%, respectivamente), Liu et al. (2012) (7,12% e 7,64%, respectivamente), Abdulkarim et al. (2013) (12,90% e 1,40%, respectivamente) e Ibitoye et al. (2018) para gafanhoto (4,0% e 3,33%, respectivamente) e camarão (3,98% e 7,62%, respectivamente)

Os teores de proteína foram estabelecidos em 1,01% para a quitina e 0,51% para a quitosana, sendo considerados baixos, quando comparados aos valores descritos por Isa et al. (2012) (10,50% e 6,16%, respectivamente), Liu et al. (2012) (6,33% e 6,22%, respectivamente) e Abdulkarim et al. (2013) (4,93% e 2,29%, respectivamente). Estes últimos autores sugerem que o alto teor de proteína das amostras de quitina e quitosana esteja atribuído ao baixo grau de desacetilação da quitina. Entretanto, sugere-se que os valores reduzidos de proteína nos polímeros do presente estudo indicam a eficiência na etapa de desproteinização e moderado grau de desacetilação da quitina das escamas de pirarucu.

Os teores de cinza dos polímeros foram definidos em 80,71% para a quitina, e 75,76% para a quitosana, valores muitos superiores para os polímeros carboidratos quando comparados aos dados descritos na literatura. Liu et al. (2012), Isa et al. (2012) e Ibitoye et al. (2018)

descrevem valores bem abaixo para a quitina (2,20%, 3,83%, 1,00%) e quitosana (1,59%, 6,41%, 1,00%), respectivamente, enquanto Abdulkarim et al. (2013) encontraram valores mais elevados (26,45% para a quitina e 36,87% para a quitosana), porém muito abaixo dos valores encontrados para a cinza dos polímeros da escama de pirarucu. Abdulkarim et al. (2013) e Isa et al. (2012) atribuem os altos valores de cinza à presença do grupo acetil na amostra de quitina, enquanto Liu et al. (2012) adjudicam o teor de cinza da quitina como indicativo inverso da eficácia do método utilizado para remoção de materiais inorgânicos, em outras palavras, a eficiência no método de desmineralização para diminuir o teor de minerais e cinza dos polímeros. Todavia, no presente estudo acredita-se que os elevados valores de quitina e quitosana não tenham relação com a deficiência no processo de desmineralização, como já foi mencionado os ótimos valores obtidos nesse processo, mas sim que os valores obtidos de cinza tenham mais empatia com a presença de grupos acetil e amina da quitina e quitosana, respectivamente.

Os carboidratos com frequência são desconsiderados na composição centesimal, todavia possuem sua importância nesse estudo por serem os macronutrientes responsáveis pela quitina e quitosana das escamas de peixes. No presente estudo, os teores de carboidrato da quitina e quitosana foram definidos em cerca de 6,74% e 15,74%, respectivamente. Isa et al. (2012) encontraram valores próximos para carboidratos de camarão nigeriano, com valores em cerca de 4,10% para a quitina e 8,74% para a quitosana, indicando que quanto mais eficiente a etapa de desacetilação da quitina maior a presença de fibras na quitosana.

3.2. EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DOS POLÍMEROS CARBOIDRATOS

A quitina é um componente importante na estrutura das escamas, frequentemente encontrada em ligações covalentes de compostos proteicos, como por exemplo, as interações entre quitina e colágeno (GARCÍA-GÓMEZ et al., 2019; YADAV et al., 2019). O método mais comum para extração de quitina de escamas de peixes envolve duas etapas, uma etapa ácida, denominada desmineralização, necessária para remover os compostos inorgânicos e uma etapa alcalina, denominada desproteínização, responsável por remover os compostos proteicos colagenosos e não colagenosos das escamas (SUMATHI et al., 2017; MORIN-CRINI et al., 2019a).

Geralmente, as condições de tratamento ácido usadas para extração do polímero carboidrato das escamas são intensas, assim como observado em exoesqueletos de crustáceos.

A razão para isso é que as escamas de pirarucu possuem altos níveis de material inorgânico, onde foram observados que após a etapa de desmineralização houve redução em cerca de 44,37% do peso das amostras de escamas, sendo possível determinar esse valor como o volume médio de minerais totais extraídos, valor semelhantemente elevado em comparação ao volume de compostos minerais descritos por Abdulkarim et al. (2013) em seus estudos com *M. edulis*.

Os valores de composição centesimal das escamas mostraram um quantitativo de cinza de 31,16% (Tabela 1), inferior aos valores encontrados na desmineralização das escamas. Entretanto, o fato de a desmineralização apresentar valores acima da composição de cinza pode ser explicado pela reação de alguns monômeros de proteína das escamas, que em contato com o ácido acarreta em uma pré-desproteínização das escamas, consequentemente contribuindo para um volume maior de compostos extraídos nesta primeira etapa.

No uso de estruturas calcificadas como matéria-prima para extração de polímeros carboidratos, é imprescindível que a desmineralização das estruturas seja a primeira etapa no processo de obtenção da quitina, pois está diretamente relacionada a um rendimento mais alto do polímero, uma vez que a proteína promove proteção aos polissacarídeos aderidos à cadeia, impedindo a despolimerização e hidrólise da quitina em contato com o ácido (HAMED et al., 2016; SOON et al., 2018). Entretanto, não é regra a extração da quitina ser iniciada pela desmineralização, uma vez que as etapas podem sofrer alterações na ordem de execução, tendo em vista a matéria-prima utilizada, as etapas necessárias e o produto desejado da extração. Como exemplo, os estudos de Astrop et al. (2015) que aprofundam seus conhecimentos na Quitina-Calcio-Fosfato extraídas de crustáceos, onde objetivam o detalhamento das características desse composto, com finalidade de compreensão e comparação nos estudos paleontológicos, do processo evolutivo e de fossilização dos crustáceos.

A desmineralização envolve a decomposição do carbonato de cálcio em cloreto de cálcio juntamente com a liberação de água e descarga de dióxido de carbono, como mostrado:



A emissão de gases, principalmente CO₂, é um indicativo da extensão da matéria mineral presente e do grau de contato entre o ácido e a matéria mineral, dependente da espécie

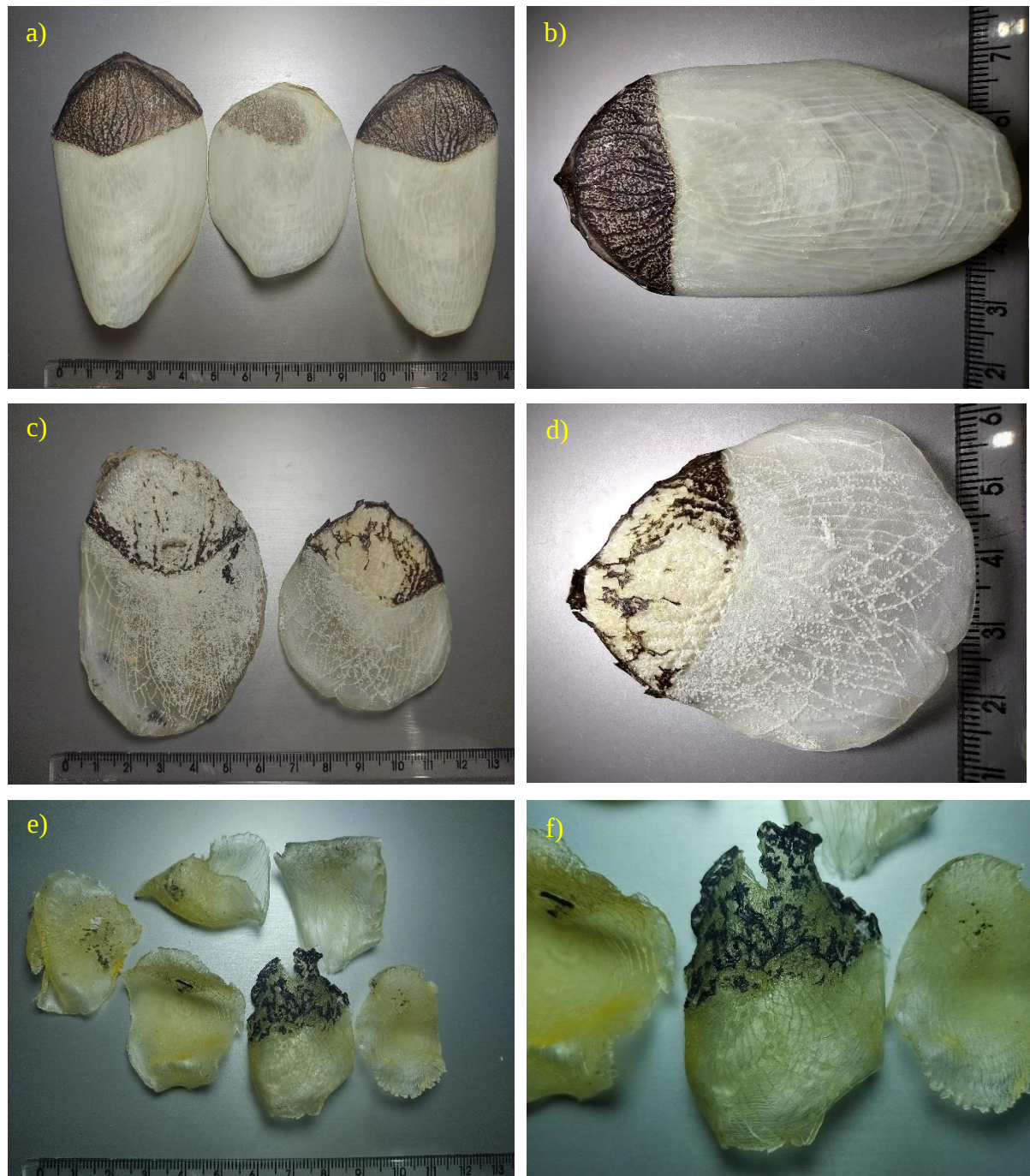


Figura 3: Escamas de pirarucu em diferentes tratamentos de desmineralização. a) Escamas íntegras de pirarucu; b) Detalhes da superfície e linhas de deposição de cálcio das escamas íntegras; c) Escamas desmineralizadas com CH_3COOH ; d) Detalhes dos pontos de cálcio presentes na superfície da escama, resultado da baixa eficiência na desmineralização por CH_3COOH ; e) Escamas de pirarucu totalmente desmineralizadas com HCl ; f) Ausência de pontos de cálcio nas escamas de pirarucu tratados com HCl . Imagens do autor.

utilizada (SAGHEER et al., 2009). De igual modo, as observações das reações químicas do ácido em contato com as escamas de pirarucu foram intensas, a ponto de emitir uma carga considerável de dióxido de carbono na fase inicial de reação das amostragens. Mesmo após 6 horas do início do processo de desmineralização, notou-se certo grau de reação do ácido com

os minerais das escamas, com aparente estabilidade da reação química a partir da 8ª hora de imersão das amostras. As escamas de pirarucu possuem uma rigidez moderada e quando desidratadas exercem maior resistência à torção pela presença de compostos fosfocalcificados estruturais (Figura 3 - a, b, c, d). Entretanto, a desmineralização resulta em escamas bem mais flexíveis à torção, devido à ausência dos minerais cálcicos e concentração dos compostos proteolíticos e carboidratos (Figura 3e, 3f).

3.2.1. Desproteinização

Na segunda etapa do processo de extração da quitina foi realizada a desproteinização, que consiste na ruptura de ligações químicas entre proteínas e os polímeros carboidratos, envolvendo o uso de produtos químicos (YADAV et al, 2019), além da remoção dos polímeros proteicos colagenosos e não colagenosos dos invólucros por meio de reações com álcalis fortes. No presente estudo foi aplicado NaOH, frequentemente utilizado como procedimento convencional, sendo um álcali que atua na clivagem das ligações químicas entre a proteína e os carboidratos (Figura 4).

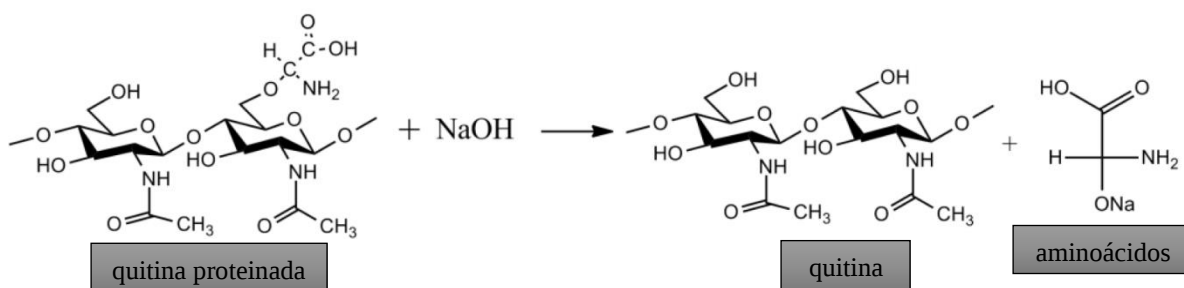


Figura 4: Processo de desproteinização das cadeias de quitina. Adaptado de Yusharani et al., 2019.

Para a desproteinização foram adotados dois tratamentos, sendo o processo homogêneo de hidrólise o tratamento 1 (T1) e o processo heterogêneo de hidrólise o tratamento 2 (T2), procedimentos esses que diferiram em pontos cruciais da clivagem e recuperação dos polímeros.

Em ambos tratamentos as escamas de pirarucu foram dissolvidas em uma massa de tom marrom claro, enquanto o material proteico se diluiu junto a coluna líquida de concentrado alcalino (Figura 5a; 7a). Seguindo a metodologia de desproteinização e recuperação, adaptados de Abdou *et al.* (2008) e Kumari & Rath (2014), a desproteinização homogênea das escamas se mostrou a menos eficiente na extração da quitina, onde foi recuperado uma concentração do

polímero não solúvel, não hidrolisada pelos álcalis presente na solução. O volume de material obtido no tratamento T1 teve rendimento de quitina em cerca de 1,37% ($\pm 0,30$), com volume máximo de 9,70g e mínimo de 1,38g entre as amostras ($\sim 6,11g \pm 2,07$), considerados valores baixos quando observada a quantidade de escamas processadas (Tabela 2).

Os polissacarídeos de quitina são os únicos entre todos os outros biopolímeros de ocorrência natural que, após solubilização, apresenta carga positiva em seus grupos amino, tornando-os funcionais na sua espinha dorsal, permitindo uma ampla gama de aplicações biológicas (ROY et al., 2017). Existem dois grupos principais na estrutura da quitina que influenciam em sua funcionalidade: (i) grupos amino e (ii) grupos hidroxila (Figura 6). Os sítios amino podem reagir com grupos aldeídos e cetonas para a formação das Bases de Schiff e influenciar a solubilidade. Além disso, dois grupos hidroxila na estrutura da quitina fornecem excelentes vias para modificação e funcionalização em vista do aumento da solubilidade. Esses grupos hidroxila envolvem a O-acetilação, O-alquilação, formação de ligações H, etc. (MA et al., 2011). Os grupos hidroxila envolvem a formação de ligações de hidrogênio enquanto os grupos amino são responsáveis pela interação eletrostática primária e secundária de curto alcance na cadeia (PHILIPPOVA et al., 2012).

Tabela 02: Parâmetros quantitativos das escamas, quitina e quitosana extraídos em procedimento homogêneo (T1) e heterogêneo (T2) de resíduos de pirarucu.

	Escamas	T1		T2	
		QT1	QS1	QT2	QS2
MÁXIMO (g)	436,51	9,70	7,91	227,5	8,43
MÍNIMO (g)	396,97	1,38	1,33	88,24	6,83
MÉDIA (dp) (g)	423,33 ($\pm 17,57$)	6,11 ($\pm 2,07$)	5,76 ($\pm 1,85$)	169,63 ($\pm 54,26$)	7,67 ($\pm 0,56$)
RENDIMENTO (dp) (%)	-	1,37 ($\pm 0,30$)	84,68 ($\pm 6,99$)*	38,84 ($\pm 4,40$)	76,66 ($\pm 5,58$)*

(*) Valores de rendimento de quitosana referente à redução de volume da quitina após a desacetilação. QT1 – Quitina homogênea; QT2 – Quitina heterogênea; QS1 – Quitosana homogênea; QS2 – Quitosana heterogênea.

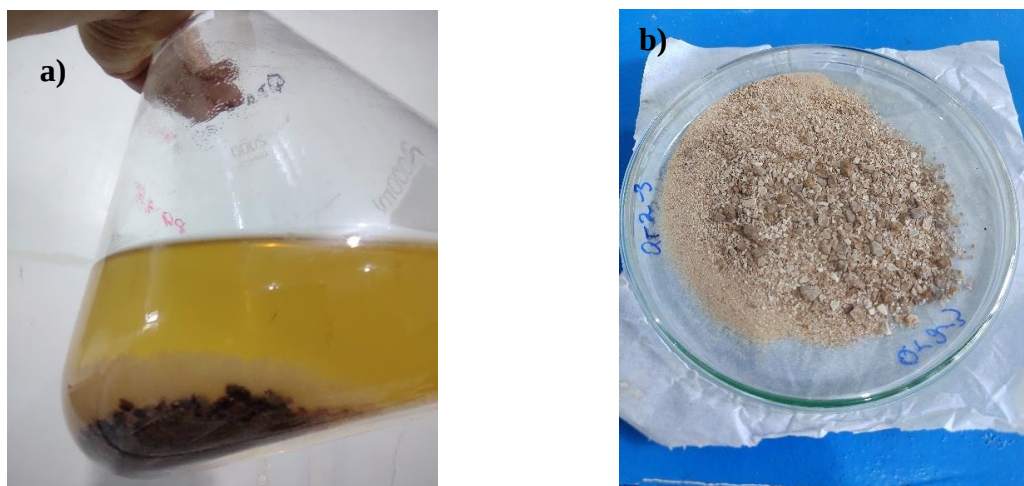


Figura 5: Escamas desproteinizadas. a) concentrado de quitina não solúvel em solução alcalina; b) Material com baixa eficiência de desproteinização, com “torrões” de quitina impura insolúvel em tratamento homogêneo. Imagens do autor.

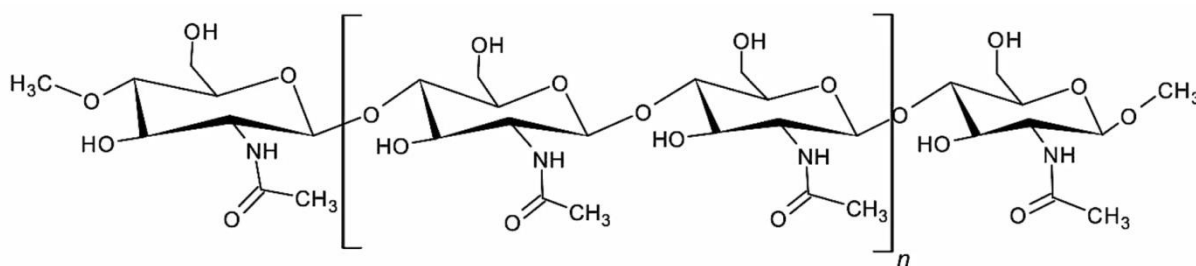


Figura 6: Cadeia de quitina e seus grupos amino e hidroxila. Adaptado de Yadav et al, 2019.

De acordo com Roy et al. (2017) a quitina apresenta insolubilidade devido às fortes ligações de hidrogênio entre os grupos acetil da mesma cadeia ou de cadeias de quitina adjacentes. Segundo o autor, a rede de ligações de hidrogênio constrói uma matriz cristalina tridimensional sequenciando as seguintes ligações $\text{—NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ e $\text{—OH}\cdots\text{O}=\text{C}$.

Com base na hipótese destes autores, acredita-se que as bases de Schiff passaram a agir nas cadeias de quitina homogênea das escamas de pirarucu, tornando-as insolúveis sem as aplicações de temperatura e tempo de processamento mínimo adequados para a clivagem eficiente dos compostos proteicos e solubilização adequada das cadeias de quitina (Figura 5a, 5b, 7a).

Ainda na desproteinização homogênea foi realizado um procedimento experimental, onde se excluiu o uso de calor na extração, realizando o tratamento apenas em temperatura ambiente por 24h em solução de NaOH. Nessa etapa experimental foi possível observar que somente a solução de NaOH, ainda que em concentração razoável na solução (1,3 MOL) não

atua com tanta eficiência na separação das proteínas e polissacarídeos, sendo notório a concentração de gelatina no final da desproteinização, como demonstrado nas Figuras 7a, 7b.

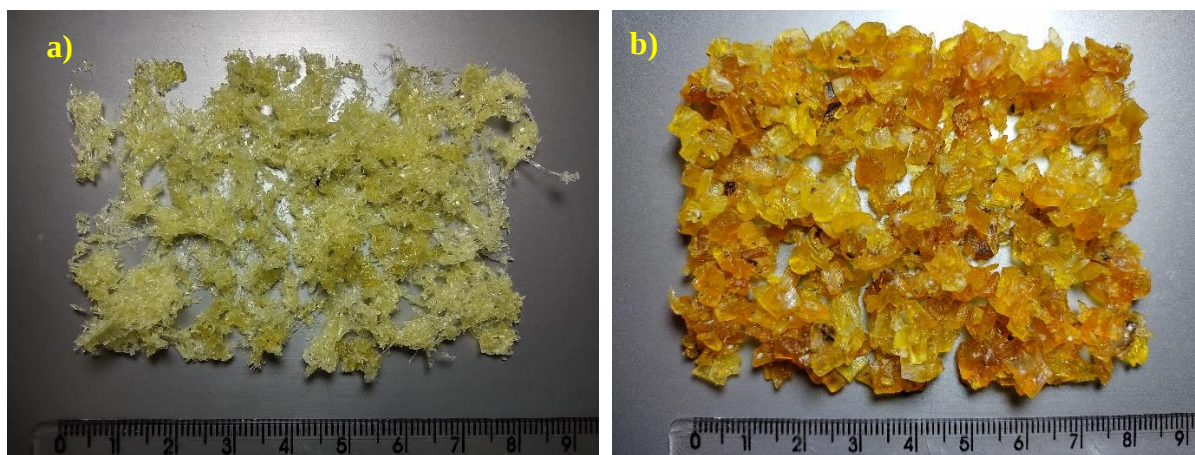


Figura7: Escamas desproteinizadas a) quitina não solúvel por tratamento homogêneo; b) baixa eficiência de desproteinização por tratamento homogêneo, sem adição de calor. Imagens do autor.

Em contra partida, o tratamento heterogêneo (T2), adaptado de Kandile et al. (2018), além de eficaz se mostrou mais eficiente na extração de quitina das escamas de pirarucu, com rendimento do polímero estabelecido em cerca de 38,84% ($\pm 4,40$), bem diferente do volume obtido no tratamento T1 (Tabela 2) (Figura 8). O êxito na eficiência da extração se atribui a algumas etapas executadas ao longo do processo de extração. Dentre elas, a imersão direta das escamas desmineralizadas neutralizadas em solução de álcalis aquecidos, com temperatura média em torno de 90°C, que requereu um menor tempo de processamento e apresentou elevada atuação na separação das proteínas e carboidratos, em comparação com os resultados do T1.

A quitina em contato com NaOH principia uma desacetilação parcial da cadeia, reduzindo alguns monômeros de quitina em quitosana. Quando esse grau de desacetilação se mostra inferior a 40% da cadeia de quitina, os monômeros de quitosana se tornam susceptíveis à agregação ao longo da série estendida de unidades acetil da quitina, resultando na insolubilidade completa do polímero na maioria dos solventes comuns (ROY et al., 2017). Popa-Nita et al. (2010) relataram que na desacetilação moderada das cadeias de quitina (GD = 75% - 50%), o polímero apresenta uma característica parcialmente hidrofílica, onde parte desse material se apresenta diluído no meio alcalino da solução de NaOH. Isso implica que parte da quitina não solubilizada, com cadeias maiores e pouco desacetiladas, se deposita no fundo da solução, enquanto as cadeias menores e parcialmente desacetiladas permanecem dispersas na

coluna em meio alcalino, sendo necessário o equilíbrio do pH do meio para total recuperação dos polímeros de quitina extraídos na desproteínização. Com isso, observou-se que o segundo ponto crucial na extração de quitina das escamas de pirarucu foi a neutralização das amostras com ácido orgânico (CH_3COOH), resultando no aumento do rendimento quitina no T2, como visto nas Tabela 2, Figura 8a e Figura 9.

Concluídas as etapas de desmineralização e desproteínização das escamas de pirarucu e aplicados os procedimentos de recuperação, purificação e secagem do T2, se obteve uma massa de tom marrom claro, resultante da dissolução dos compostos proteicos e minerais das escamas e concentração dos polissacarídeos, caracterizado como sendo quitina (Figura 8c).



Figura 8: Polímeros de quitina heterogênea extraídos de escamas de pirarucu. A) desproteínização, b) quitina impura granulada, c) quitina purificada granulada. Imagens do autor.

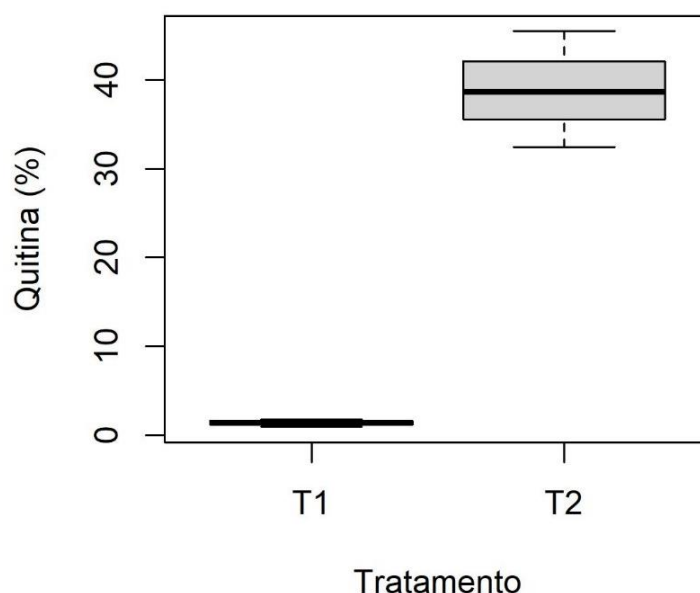


Figura 9: Rendimento da quitina extraída das escamas de pirarucu em procedimento homogêneo (T1) e heterogêneo (T2).

3.2.2. Desacetilação

A quitosana pode ser obtida da quitina por método enzimático ou químico (ROBERTS, 1992; TOKUYASU et al. 2000; PHILIBERT et al. 2017). Devido à adequação para produção em massa, os processos químicos são comumente usados para a produção de quitosana em escala comercial. No método químico de desacetilação, álcalis ou ácidos são empregados para desacetilar a quitina (Figura 10). Como as ligações glicosídicas são bastante vulneráveis ao ácido, o álcali é proposto como uma escolha melhor (HAJJI et al. 2014).

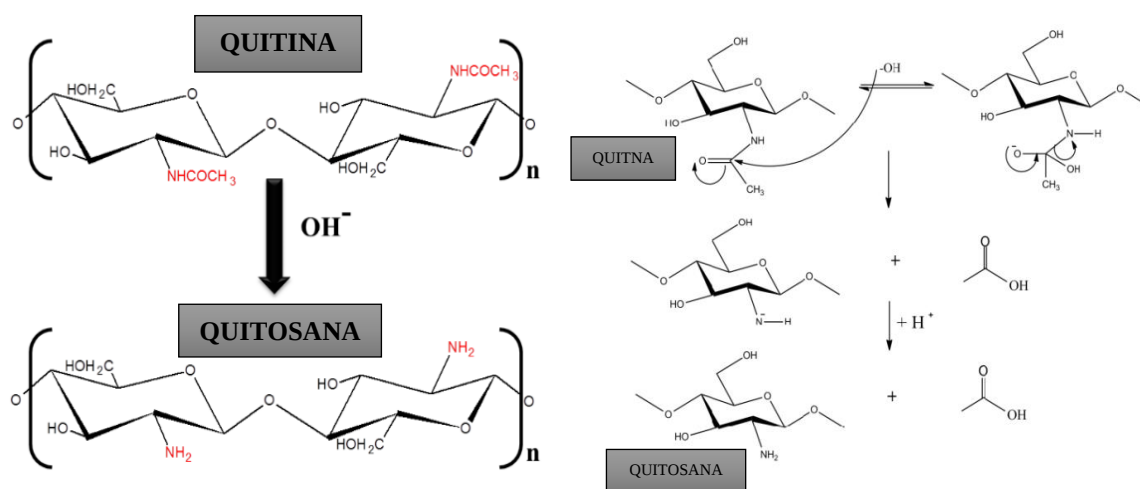


Figura 10: Desacetilação da quitina para quitosana. Adaptado de Yusharani et al., 2019.

Assim como na desproteinização das escamas, foram aplicados os procedimentos homogêneos e heterogêneos para a desacetilação da quitina obtida (Figura 2), resultando em volumes e características de produtos distintos entre os tratamentos. Em decorrência ao baixo rendimento da quitina no tratamento T1, foram utilizadas a totalidades das amostras de quitina para a etapa de desacetilação e extração de quitosana T1. Já em relação ao elevado volume da quitina no tratamento T2, foram separadas amostras de 10g ($\pm 0,05$) para a etapa de desacetilação e extração de quitosana T2.

A aquisição de uma quitina insolúvel no T1 influenciou diretamente na desacetilação do polímero e redução à quitosana. Fato é que a desacetilação da quitina homogênea resultou no equivalente a 84,68% ($\pm 6,99$) do seu volume em quitosana impura e repleta de traços de quitina não solubilizada, mesmo em meio alcalino de alta concentração de NaOH (Tabela 2; Figura 11). Em contra partida, a desacetilação da quitina T2 resultou em um volume equivalente a 76,66% ($\pm 5,58$), sendo um material com melhor aspecto de cor, padronização de granulometria e solubilização em solução ácida (Figura 12).

Popa-Nita et al. (2010) e Yusharani et al. (2019) expõem que as condições e o tipo de reação utilizada durante a desacetilação, homogênea ou heterogênea, influenciam na massa molar dos polímeros de quitosana e no seu grau de desacetilação (porcentagem de grupos amino livres existentes na estrutura após a retirada dos grupos acetil), quando o grau de desacetilação está acima de 50%, o polímero torna-se solúvel em soluções aquosas de ácidos fracos e passa a ser chamado de quitosana.

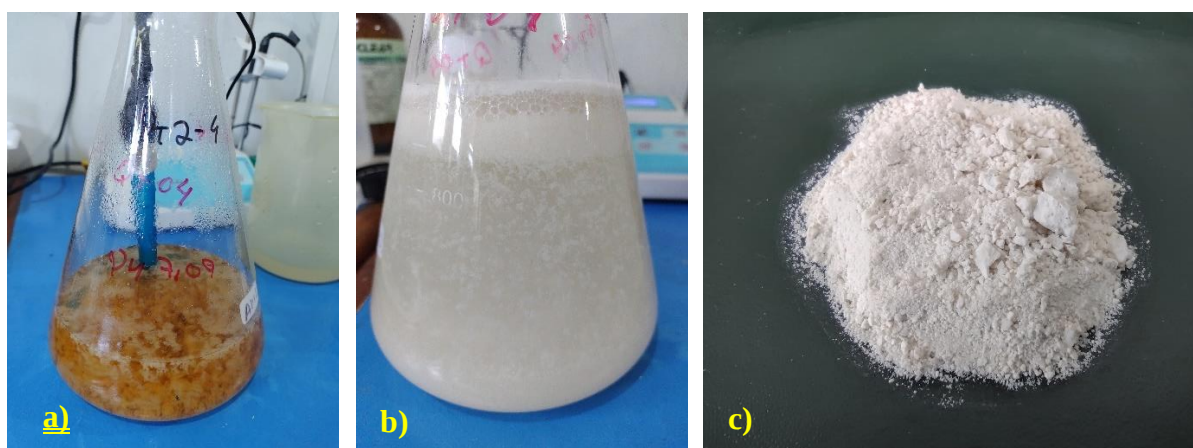


Figura 11: Polímeros de quitosana homogênea extraídos de escamas de pirarucu. A) desacetilação, b) precipitação e recuperação do polímero, c) quitosana homogênea purificada granulada. Imagens do autor.

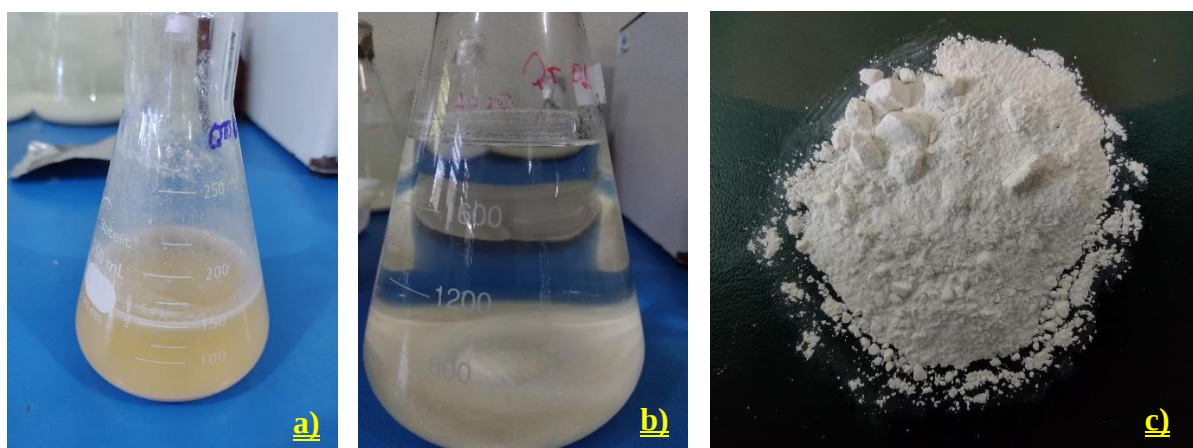


Figura 12: Polímeros de quitosana heterogênea extraídos de escamas de pirarucu. A) desacetilação, b) neutralização e recuperação do polímero, c) quitosana heterogênea purificada granulada. Imagens do autor.

As quitosanas homogêneas e heterogêneas obtidas, como já mencionado, mostraram divergências em vários aspectos. Enquanto na quitosana homogênea foi notória a presença de compostos insolúveis, além da irregularidade na granulometria do polímero, a quitosana heterogênea se mostrou mais equilibrada, com baixa presença de compostos insolúveis,

granulometria mais uniforme e melhor solubilidade em meio ácido. Além disso, o volume de quitosana homogênea extraída foi maior que o volume de quitosana heterogênea obtida (Tabela 2, Figura 13). Isso implica que a desacetilação teve menor eficiência na quitina homogênea que na quitina heterogênea, concluindo assim que a quitosana heterogênea teve maior perda dos grupos acetil do que a quitosana homogênea.

Tal observação é corroborada com as ponderações de Popa-Nita et al. (2010) e Sivashankari & Prabakaran (2017), quando avaliam que quando o grau de desacetilação está entre 60 e 90%, uma nova entidade química “Quitosana” é batizada que é solúvel em ácidos orgânicos como o ácido acético. Alternativamente, a estrutura com um valor de grau de desacetilação inferior a 60% é considerada como quitina e insolúvel em soluções ácidas. Os autores discorrem ainda que o tipo de processo de desacetilação fornece uma distribuição diferente de grupos acetil no esqueleto da quitina, micro-bloco e aleatório, onde o domínio de micro-bloco em quitosana é facilmente suscetível à agregação ao longo da série estendida de unidades acetil, levando a uma completa insolubilidade na maioria dos solventes comuns. No caso de grau de acetilação alta $> 60\%$ ou grau de desacetilação $< 40\%$, a quitosana é muito propensa a associação e agregação, enquanto a quitina com grau de acetilação baixa $= 1,5\%$ ou grau de desacetilação $= 98,5$ não apresenta agregação.

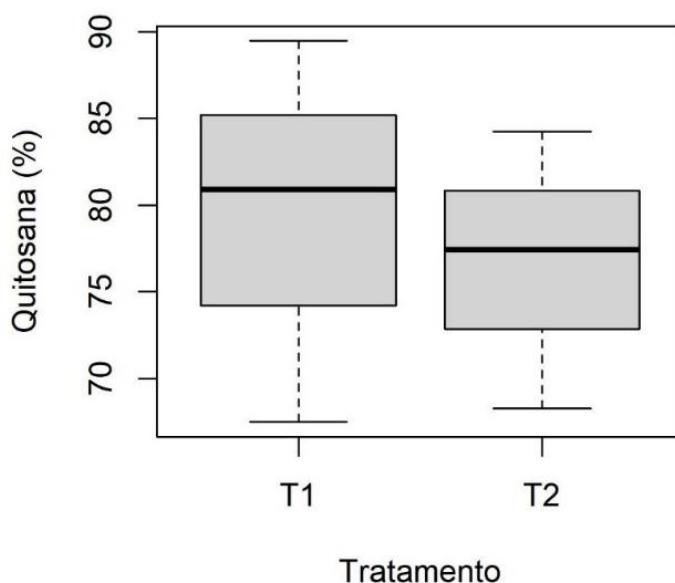


Figura 13: Comparativo de rendimento da quitosana extraída das escamas de pirarucu em procedimento homogêneo (T1) e heterogêneo (T2).

3.3. ESPECTROSCOPIA DOS POLÍMEROS CARBOIDRATOS

A análise de FTIR foi realizada para caracterizar estruturalmente os principais grupos funcionais e a possível verificação da integridade e pureza da quitina e quitosana presentes nas amostras das escamas de pirarucu em um intervalo de 4000 a 600 cm^{-1} . As transmitâncias mostraram os espectros obtidos da quitina e quitosana, contudo somente as bandas consideradas mais relevantes foram analisadas.

3.3.1. Quitina

As bandas características dos espectros de IR de quitina são mostradas na tabela 5. Essas bandas de IR são semelhantes com aquelas relatadas na literatura para quitina, com alguns deslocamentos (Tabela 3).

As bandas de 3.600 – 2.700 cm^{-1} estão associadas a deformação axial nos átomos de hidrogênio ligados ao carbono (C-H), oxigênio (O-H) e nitrogênio (N-H) do polímero à base de glucosamina. Contudo, tais bandas podem oferecer uma leitura distorcida, uma vez que não são facilmente verificados nos espectros das amostras de quitina, devido a sobreposição e o deslocamento das bandas. Considerando tais limitações, as bandas na região acima de 2.000 cm^{-1} dos espectros de quitina não são utilizados em análises quantitativas dos espectros (DELEZUK, 2013).

As principais bandas consideradas nos espectros do infravermelho de quitina são: deformação axial da amida I ($-\text{C}=\text{O}-\text{NH}_2$) entre 1700 cm^{-1} a 1630 cm^{-1} , deformação angular de NH_2 entre 1550 cm^{-1} a 1590 cm^{-1} , deformação angular simétrica de CH_3 entre 1390 cm^{-1} a 1370 cm^{-1} , deformação axial amida II ($-\text{C}=\text{O}-\text{NH}_2$) entre 1580 cm^{-1} a 1500 cm^{-1} , deformação axial amida III ($-\text{C}=\text{O}-\text{NH}_2$) em aproximadamente 1350 cm^{-1} , sendo que todas as deformações citadas estão relacionadas diretamente à presença de grupos acetamida na quitina. A região onde estão inseridas as principais bandas de quitina compreende, portanto o intervalo entre 1800 cm^{-1} a 800 cm^{-1} .

Os padrões de absorção do espectro observados na figura 14 são semelhantes aos da literatura, sugerindo a obtenção de uma boa qualidade de biopolímeros de quitina. Os espectros observados possuem uma banda localizada em 3452,6 cm^{-1} , indicando a vibração de estiramento de O-H alifático, que são mais evidentes no espectro da quitina (ZAKU et al., 2011). O pico de absorção em 2915,4 cm^{-1} é da vibração CH_2 e CH_3 . As bandas consideravelmente fortes, observadas entre 1.700 cm^{-1} e 1.300 cm^{-1} , são bem típicas da quitina. A banda em 1.652 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação axial de C=O da acetamida

Tabela 03: Grupos funcionais da quitina das escamas de pirarucu comparados à literatura.

MODOS DE VIBRAÇÃO	NÚMERO DE ONDA (cm ⁻¹)		
	QT* (<i>A. gigas</i>)	Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016)	Zaku et al. (2011)
Def. axial N-H (aminas aromáticas)	3452,6	3500,0	3426,6
Def. axial CH ₃ simétrica / def. axial CH ₂ assimétrica	2915,4	2931,0	2967,5
Def. axial CO (amida I)	1652,0	1655,0	1654,9
Def. angular de CH ₂ e def. de CH ₃ , -NH, - CN	1417,7	1462,0	1456,3
Def. axial de CO	1041,5	1030,0	1048,3
Def. angular de CH ₃ ao longo da cadeia	964,42	890,0	878,6

*QT = Quitina de pirarucu.

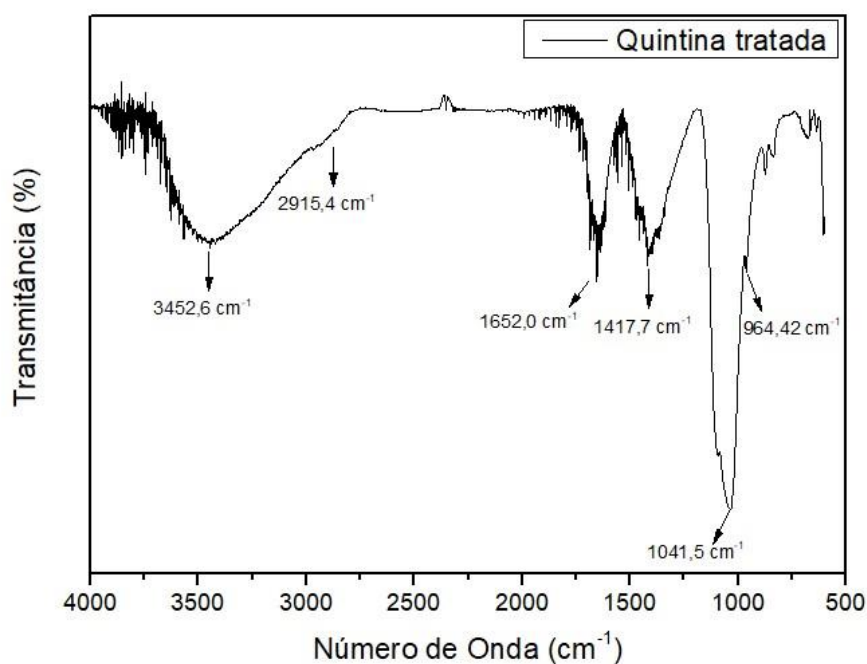


Figura 14: Espectro de FTIR para a quitina das escamas de pirarucu.

(-NHCOCH₃) presente na quitina, denominada amida I. Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016) descreveram dados semelhantes, com a banda em 1.655cm⁻¹, onde além desse, descreveram também a banda em 1.581cm⁻¹ corresponde à mistura de dois modos vibracionais, NH no plano e estiramento CH, descrito como de amida II, timidamente presente também no espectro da quitina de pirarucu. O pico de absorção em 1041,5cm⁻¹ é a vibração de alongamento

para -C-O-C- do anel de glucosamina, enquanto os picos em $964,4\text{cm}^{-1}$ e outro próximo a $890,0\text{cm}^{-1}$ são os alongamentos do anel de uma banda característica de ligações glicosídicas β -1, 4, concordando com o relatado na literatura para a quitina.

3.3.2. Quitosana

As bandas de absorção de FTIR de quitosana (Tabela 4, figura 15) foram observadas na faixa de $3643\text{--}3938\text{ cm}^{-1}$ relacionadas a aminas primárias de ligação NH , 2920 cm^{-1} – 3440 cm^{-1} foi associada a C=O de ácido carboxílico, $1787\text{--}2522\text{ cm}^{-1}$ foi associado com $\text{C}=\text{N}$, $\text{C}\equiv\text{N}$ de amina alifática e 433 cm^{-1} - 860 cm^{-1} $\text{C}-\text{N}$ Aromático (dobro) (Tabela 6, Figura 18). A banda em 1567 cm^{-1} tem uma intensidade maior do que em 1655 cm^{-1} , o que sugere uma desacetilação efetiva. Quando a desacetilação da quitina ocorre, a banda observada em 1656 cm^{-1} diminui, enquanto ocorre um crescimento em 1597 cm^{-1} , indicando a prevalência de grupos NH_2 (Gokulalakshmi et al., 2017).

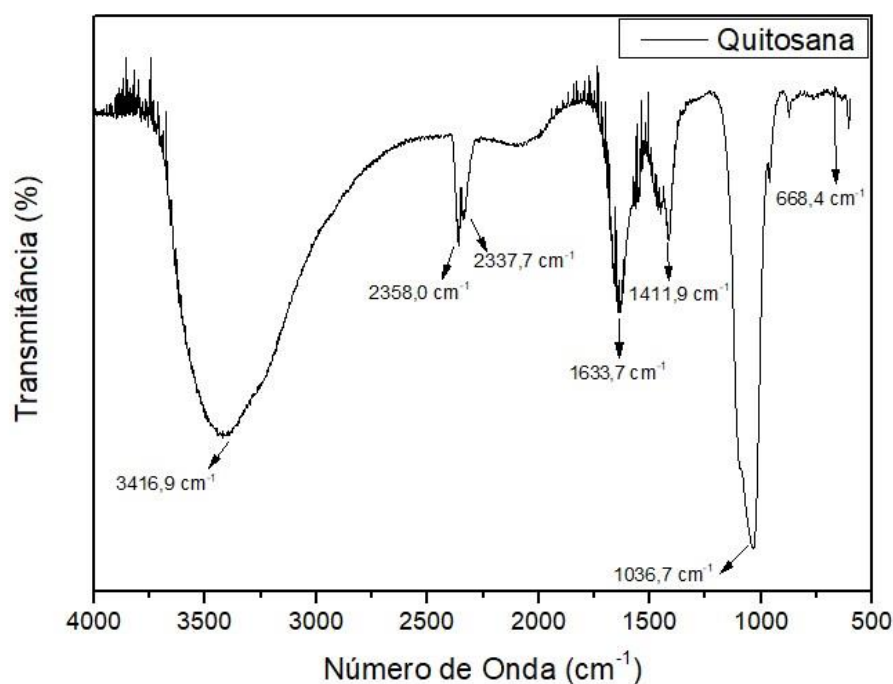
O destacamento da banda em 1.633 cm^{-1} e o desaparecimento da banda em 1.570 cm^{-1} são referentes a deformação de NH_2 , que predomina sobre a banda em 1.655 cm^{-1} . De acordo com Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016) e Gokulalakshmi et al. (2017) essa última banda está associada à carbonila (C=O) que tende a diminuir à medida que o grau de desacetilação da quitosana aumenta, enquanto ocorre um crescimento em próximo de 1570cm^{-1} , indicando a prevalência dos grupos NH_2 . Logo se observa que a banda em 1650cm^{-1} permanece intensa, sugerindo a baixa desacetilação da quitina por conta da necessidade de ajustes no processo de extração ou despolimerização da quitosana obtida das escamas de pirarucu (Tabela 4, figura 15).

Para amostras de quitosana é considerável a presença da banda em 3.417cm^{-1} , sendo bem mais tímido no espectro de quitina da Figura 14, associada a C=O de ácido carboxílico. Esse destaque também mostra a baixa transformação da amida em amina primária. A redução das bandas entre a região de 3450cm^{-1} e 3100 cm^{-1} estaria relacionada à desacetilação do grupo NHCOCH_3 (Gokulalakshmi et al., 2017), o que não pôde ser observado com tanta efetividade nas amostras de FTIR da quitosana das escamas de pirarucu.

Tabela 04: Grupos funcionais da quitosana das escamas de pirarucu comparados à literatura.

MODOS DE VIBRAÇÃO	NÚMERO DE ONDA (cm ⁻¹)		
	QS* (<i>A. gigas</i>)	Gokulalakshmi et al. (2017)	Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca (2016)
Def. axial N-H (aminas aromáticas)	3416,9	3439,53	3432,0
Def. axial CH ₃ simétrica /	2358,0	2521,94	2384,02
Def. axial CH ₂ assimétrica	2337,7	ND	2364,0
Def. axial CO (amida I)	1633,7	1787,07	1655,0
Def. angular de CH ₂ e def. de CH ₃ , -NH, -CN	1411,9	ND	1400,0
Def. axial de CO	1036,7	1082,71	ND
Def. angular de CH ₃ ao longo da cadeia	668,4	860,21	ND

*QS = Quitosana de pirarucu; ND = Não Determinado.

**Figura 15:** Espectro de FTIR para a quitosana das escamas de pirarucu.

4. CONCLUSÃO

As estruturas calcificadas residuais do pirarucu se mostram passíveis de extração da quitina e quitosana, com ótimas características para uso em diversas áreas tecnológicas.

Ainda que a literatura indique a obtenção de um polímero carboidrato de melhor qualidade em procedimentos homogêneos, a extração heterogênea de quitina e quitosana das escamas de pirarucu, mesmo que mais onerosa, se mostra mais viável em função de tempo e volume dos produtos obtidos.

A extração de quitina e das escamas de pirarucu é um caminho viável para a o reaproveitamento de subprodutos do beneficiamento do pescado, além de agregar valor e mudar o status de material residual descartável para coproduto de alto valor agregado.

Vale ressaltar que as informações referentes a extração de quitina e quitosana em recursos pesqueiros amazônicos são escassas. Portanto, são necessários mais estudos voltados para pescado da região amazônica, que possam dar robustez à ideia de aproveitamento dos resíduos de beneficiamento de pescado e, por meio do desenvolvimento e aplicação de técnicas, gerar coprodutos de alto valor agregado, como os biopolímeros.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABDOU, E. S., NAGY, K. S. A., & ELSABEE, M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99(5), 1359–1367. (2008). doi:10.1016/j.biortech.2007.01.051
- ABDULKARIM A.; ISA, M. T.; ABDULSALAM, S.; MUHAMMAD, A. J.; AMEH, A. O. (2013). Extraction and characterisation of chitin and chitosan from mussel shell. *Civ. Environ. Res.* 3(2):108–114.
- AFREEN, M.; UCAK, I. (2020). Fish processing wastes used as feed ingredient for animal feed and aquaculture feed. *Journal of Survey in Fisheries Sciences* 6(2) 55-64. <https://dx.doi.org/10.18331/SFS2020.6.2.7>. Disponível em: <https://sifisherliessciences.com/article-1-151-en.pdf>
- AL KHAWLI, F.; PATEIRO, M.; DOMÍNGUEZ, R.; LORENZO, J. M.; GULLÓN, P.; KOUSOULAKI, K.; FERRER, E.; BERRADA, H.; BARBA, F. J. (2019). Innovative green technologies of intensification for valorization of seafood and their by-products. *Marine Drugs*, 17: 689 [online]. [acesso: 11 de Dezembro de 2021]. www.mdpi.com/1660-3397/17/12/689/htm
- ALFARO, A. D. T. (2008). **Otimização das condições de extração e caracterização da Gelatina de pele de Tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas
- AMAZONAS. (2018). Secretaria de Estado do Meio Ambiente (SEMA/AM) (2018). Relatório anual de contagem e captura de Pirarucu (*Arapaima gigas*) em Áreas de Manejo de Unidades de conservação e Acordos de Pesca do Estado do Amazonas. Secretaria de Estado do Meio Ambiente (SEMA).
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (1995). Official Methods of Analysis of AOAC international. 16th edn. Vol. 2, AOAC International, Arlington.
- ASHWITHA. A; THAMIZHARASAN, K; BHATT, P. (2020). Optimization of hydroxyapatite (HAp) extraction from scales of *Sardinella longiceps* and its conjugative effect with immunostimulants. *SN Applied Sciences* 2:1228. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3057-9>.
- ASTROP, T. I., SAHNI, V., BLACKLEDGE, T. A., & STARK, A. Y. Mechanical properties of the chitin-calcium-phosphate “clam shrimp” carapace (Branchiopoda: Spinicaudata): implications for taphonomy and fossilization. *Journal of Crustacean Biology*, 35(2), 123–131. (2015). doi:10.1163/1937240x-00002332
- BADOLATO, E. S. G.; CARVALHO, J. B.; MELLO, M. R. P. A.; TAVARES, M.; CAMPOS, N. C.; AUDE-PIMENTEL, S.; MORAIS, C. Composição centesimal de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 54, n. 1, p. 27-35, 1994.

- BEZERRA, W. B. A.; OLIVEIRA, M. S.; GARCIA-FILHO, F. C.; DEMOSTHENES, L. C. C.; SILVA, L. C.; MONTEIRO, S. N. (2018). Caracterização de escamas de pirarucu e compósitos reforçados com escamas de pirarucu por DRX, EDS e MEV. **73º Congresso Anual da ABM**, São Paulo. p. 917-924. ISSN: 2594-5327, DOI 10.5151/1516-392X-31531
- BOARIN-ALCALDE, LIDIA; GRACIANO-FONSECA, GUSTAVO. (2016). Alkali process for chitin extraction and chitosan production from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 44(4): 683-688, 2016 <http://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-3>
- BRITO, B. M., LIRA, G. M., PINHEIRO, A. G. A., SANTANA, C. M. A. S., & AMARAL, I. L. (2019). Efeito do cozimento com margarina interesterificada na composição química de peixes. *Food Science and Technology*, 39(Supl. 2), 640-645. <http://dx.doi.org/10.1590/fst.29618>
- DELEZUK, J. A. M. **Produção de quitosanas com características controladas utilizando a irradiação de ultrassom de alta intensidade**. Tese (Doutorado em Química) Faculdade de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP. p. 210. 2013. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75134/tde-30072013-093249/publico/JorgeAugusto_deMouraDelezuk_Revisado.pdf. Acesso em 29/03/2022.
- FAO - Food And Agriculture Organization Of The United Nations - The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2020: Roma, Italy 2020. Pages 244. Acesso em 08.02.2020. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- FAO. Fishery and aquaculture statistics: Aquaculture production (2017). Anuário estatístico FAO. 2019. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/static/Yearbook/YB2017_USBcard/navigation/index_content_aquaculture_e.htm#C Acesso: 01/01/22.
- FREITAS-JÚNIOR, A. C. V.; COSTA, H. M. S.; ICIMOTO, M. Y.; HIRATA, I. Y.; MARCONDES, M.; CARVALHO Jr. L. B.; OLIVEIRA, V.; BEZERRA, R. S. (2012). Giant Amazonian fish pirarucu (*Arapaima gigas*): Its viscera as a source of thermostable trypsin. *Food Chemistry*, 133(4), 1596–1602. doi:10.1016/j.foodchem.2012.02.05
- GHALY A.E., RAMAKRISHNAN, V.V., BROOKS M.S., BUDGE S.M., D. D. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, v. 05, n. 04, p. 107–129, 2013.
- GOES, E. S. R, SOUZA, M. L. R., MICHKA, J. M. G., KIMURA, K. S., LARA, J. A. F., DELBEM, A. C. B., & GASPARINO, E. (2016). Enriquecimento de massa fresca com concentrado proteico de tilápia: características nutricionais e sensoriais. *Food Science and Technology*, 36(1), 76-82. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0020>.
- GOKULALAKSHMI, E.; RAMALINGAM, K.; UMASANKARI; VANITHA, M. C. (2017). Extraction and Characterization of Chitosan Obtained from Scales of *Clarias gariepinus* (Catfish). *Biotechnology Journal International*. 18(4): 1-8. DOI: 10.9734/BJI/2017/27944

- HAJJI S, YOUNES I, GHORBEL-BELLAJ O, HAJJI R, RINAUDO M, NASRI M, JELLOULI K (2014) Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. *Int J Biol Macromol*. 1 65:298–306
- HAMED, I., ÖZOGUL, F., & REGENSTEIN, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 40–50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.007>
- IBITOYE, E. B.; LOKMAN, I. H.; HEZMEE, M. N. M.; GOH, Y. M.; ZUKI, A. B. Z.; JIMOH, A. A. (2018). Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket. *Biomedical Materials*, 13(2), 025009. doi:10.1088/1748-605x/aa9dde
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br/index.html>> Acesso em: 15 agosto. 2020.
- ISA, M. T., AMEH, A. O., TIJJANI, M.; ADAMA, K. K. (2012) 'Extraction and Characterisation of Chitin and chitosan from Nigerian Shrimps', *International Journal of Biological and chemical Sciences*, vol. VI, no. 1, pp. 446-453.
- KANDILE, N.G.; ZAKY, H.T.; MOHAMED, M.I.; NASR, A.S.; ALI, Y.G. (2018) Extraction and Characterization of Chitosan from Shrimp Shells. *Open Journal of Organic Polymer Materials*, 8, 33-42. <https://doi.org/10.4236/ojopm.2018.83003>
- KUMARI, S.; & RATH, P. K. (2014). Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (Labeo rohita) Fish Scales. *Procedia Materials Science*, 6, 482–489. doi:10.1016/j.mspro.2014.07.062
- LARSEN, R., EILERTSEN, K. E., & ELVEVOLL, E. O. (2011). Benefícios para a saúde de alimentos e ingredientes marinhos. *Avanços da biotecnologia*, 29 (5), 508-518. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.017>.
- LIMA, M. M.; MUJICA, P. I. C.; LIMA, A. M. Caracterização química e avaliação do rendimento em filés de caranha (*Piaractus mesopotamicus*). *Braz. J. Food Technol*, IV SSA, maio 201. P. 41-46.
- LIU, S.; SUN, J.; YU, L.; ZHANG, C.; BI, J.; ZHU, F.; QU, M.; JIANG, C.; YANG, Q. (2012). Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. *Molecules*, 17(4), 4604–4611. doi:10.3390/molecules17044604
- MA, G., LIU, Y., KENNEDY, J. F., & NIE, J. (2011). Synthesize and properties of photosensitive organic solvent soluble acylated chitosan derivatives (2). *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 681–685. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.013
- MARTINS, M. E. O.; CLAUDINO, R. L.; MORAIS, J. P. S.; CASSALES, A. R.; ALEXANDRE, L. C.; SOUZA, B. W. S.; ALCÂNTARA, L. O.; SOUSA, J. R.; SOUZA-FILHO, M. S. M. Obtenção de gelatina a partir de escama de tilápia (*Oreochromis niloticus*): características químicas e físico-químicas. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Ceará. 23p. 2015. ISSN 1679-6543 (108).

- MEAZZA, K. **Avaliação do beneficiamento de resíduos do pirarucu para a produção de biocompósitos a base de hidroxiapatita e fibra de colágeno.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) Faculdade de Tecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. p. 63. 2019.
- MORAES, M. A. **Obtenção e caracterização de blendas e compósitos poliméricos de fibroína de seda e alginato de sódio.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. p. 116. 2010. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/266963>, Acesso em: 26 jan. 2022.
- MORIN-CRINI, N.; LICHTFOUSE, E.; TORRI, G.; CRINI, G. Fundamentals and Applications of Chitosan. p. 49-12-124. In CRINI, G.; LICHTFOUSE, E. (Eds.) Chitin and Chitosan: History, Fundamentals and Innovations. Sustainable Agriculture Reviews 35. 2019a. 343p.
- MUYONGA J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G.; Extraction and physicochemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and boné gelatina. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p.581-592, 2004.
- OLIVEIRA, V. M., ASSIS C. R. D., HERCULANO, P. N., CAVALCANTI, M. T. H., BEZERRA, R. S., PORTO, A. L. F. 2017a. Collagenase from smooth weakfish: extraction, partial purification, characterization and collagen. **Boletim do Instituto de Pesca**, 43(1): 52-64.
- OLIVEIRA, V. M., CARNEIRO CUNHA, M. N., ASSIS, C. R. D., NASCIMENTO, T. P., HERCULADO, P. N., CAVALCANTE, M. T. H., PORTO, A. L. 2017b. Colagenases de pesca e suas aplicações industriais. **Pubvet**, 11(3): 243-255.
- PEIXES BR. Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixes BR 2018. Associação Brasileira da Piscicultura, 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>
- PEIXES BR. Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixes BR 2019. Associação Brasileira de Piscicultura, 2022. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2022/>
- PHILIBERT. T.; LEE, B.H.; FABIEN, N. (2017) Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. **Appl Biochem Biotechnol**. 181:1314–1337
- PHILIPPOVA, O. E., KORCHAGINA, E. V., VOLKOV, E. V., SMIRNOV, V. A., KHOKHLOV, A. R., & RINAUDO, M. (2012). Aggregation of some water-soluble derivatives of chitin in aqueous solutions: Role of the degree of acetylation and effect of hydrogen bond breaker. **Carbohydrate Polymers**, 87(1), 687–694. doi:10.1016/j.carbpol.2011.08.043
- POPA-NITA, S., ALCOUFFE, P., ROCHAS, C., DAVID, L., & DOMARD, A. (2010). Continuum of Structural Organization from Chitosan Solutions to Derived Physical Forms. **Biomacromolecules**, 11(1), 6–12. doi:10.1021/bm9012138
- ROBERTS, G. A. F. Chitin chemistry. London: The MacMillan, 1992. 350p.

- ROY, J. C., SALAÜN, F., GIRAUD, S., FERRI, A., CHEN, G., & GUAN, J. (2017). Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms. ***Solubility of Polysaccharides***. doi:10.5772/intechopen.71385
- SAGHEER, F. A. A., AL-SUGHAYER, M. A., MUSLIM, S., & ELSABEE, M. Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. ***Carbohydrate Polymers***, 77(2), 410–419. doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.032
- SANTOS, Geraldo; FERREIRA, Efrem; ZUANON, Jansen. Peixes comerciais de Manaus. Editora Pro-Várzea, Ibama, Manaus, Brasil, 2006.
- SIVASHANKARI, P. R., & PRABAHARAN, M. (2017). Deacetylation modification techniques of chitin and chitosan. ***Chitosan Based Biomaterials***. 1, 117–133. doi:10.1016/b978-0-08-100230-8.00005-4
- SOON, C. Y.; TEE, Y. B.; TAN, C. H.; ROSNITA, A. T.; KHALINA, A. (2018). Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. ***International Journal of Biological Macromolecules***, 108, 135–142. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138
- SOUZA, A. F. L. D.; INHAMUNS, A. J. (2011). Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta amazônica*, 41(2), 289-296.
- SUMATHI, N.; VIGNESH, R.; MADHUSUDHANAN, J. (2017). Extraction, characterization and applications of Chitosan from fish scales. ***International Journal of Modern Trends in Engineering and Research (IJMTER)*** Volume 04, Issue 4, ISSN (Online):2349–9745; ISSN (Print):2393-8161.
- TOKUYASU K, MITSUTOMI M, YAMAGUCHI I, HAYASHI K, MORI Y (2000) Recognition of chitooligosaccharides and their N-acetyl groups by putative subsites of chitin deacetylase from a deuteromycete, *Colletotrichum lindemuthianum*. ***Biochemistry***, 39:8837–8843
- TORRES, F. G., TRONCOSO, O. P., NAKAMATSU, J., GRANDE, C. J., & GÓMEZ, C. M. (2008). Characterization of the nanocomposite laminate structure occurring in fish scales from *Arapaima Gigas*. ***Materials Science and Engineering: C***, 28(8), 1276–1283. doi:10.1016/j.msec.2007.12.001
- VIDOTTI, R.M.; & GONÇALVES, G.S. (2006). Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. São Paulo Fisheries Institute. [www.pesca.sp.gov.br]. Reviewed: 10 March 2015.
- VIVIAN, M. M. P. S. (2013). **Caracterização e perspectivas de utilização de escamas da Tilápia do Nilo**. Dissertação de Mestrado em Zootecnia. Universidade Estadual Oeste do Paraná. 60p. il.
- YADAV, M.; GOSWAMI, P.; PARITOSH, K.; KUMAR, M.; PAREEK, N.; VIVEKANAND, V. (2019). Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials. ***Bioresources and Bioprocessing***, 6(1). <http://dx.doi.org/10.1186/s40643-019-0243-y>

- YANG, W., QUAN, H., MEYERS, M. A., & RITCHIE, R. O. (2019). Arapaima Fish Scale: One of the Toughest Flexible Biological Materials. *Matter*. 1, 1557–1566. doi:10.1016/j.matt.2019.09.014
- YANG, W.; SHERMAN, V. R.; GLUDOVATZ, B.; MACKEY, M.; ZIMMERMANN, E. A.; CHANG, E. H.; SCHAIBLE, E.; QIN, Z.; BUEHLER, M. J.; RITCHIE, R. O.; MEYERS, M. A. (2014). Protective role of Arapaima gigas fish scales: Structure and mechanical behavior. *Acta Biomaterialia*, 10(8), 3599–3614. doi:10.1016/j.actbio.2014.04.009
- YUSHARANI, M. S., STENLEY, HARMAMI, ULFIN, I., & NI'MAH, Y. L. (2019). Synthesis of water-soluble chitosan from squid pens waste as raw material for capsule shell: temperature deacetylation and reaction time. IOP Conference Series: *Materials Science and Engineering*, 509, 012070. doi:10.1088/1757-899x/509/1/012070
- ZAKU, S. G.; EMMANUEL, S. A.; AGUZUE, O. C.; THOMAS, S. A. Extraction and characterization of chitin; a functional biopolymer obtained from scales of common carp fish (*Cyprinus carpio* L.): A lesser known source, *African journal of food science*, 5(8), p. 478-483, 2011.