



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E
BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

**PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DA FERMENTAÇÃO DA
CASCA DE CAMARÃO**

LORRANY KERLLYONAI SANTANA ROCHA

SUMÉ – PB

2016

LORRANY KERLLYONAI SANTANA ROCHA

**PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DA FERMENTAÇÃO DA
CASCA DE CAMARÃO**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz

SUMÉ – PB

2016

R672p Rocha, Lorrany Kerllyonai Santana.

Produção de quitosana a partir da fermentação da casca de camarão. / Lorrany Kerllyonai Santana Rocha. - Sumé - PB: [s.n], 2016.

62 f.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Processo fermentativo. 2. Casca de camarão. 3. Produção de Quitosana. I. Título.

UFCG/BS

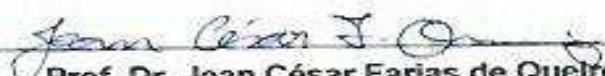
CDU: 663 (043.1)

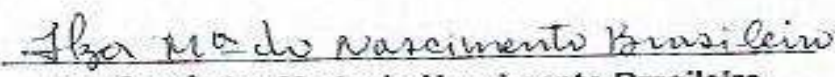
LORRANY KERLLYONAI SANTANA ROCHA

**PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DA FERMENTAÇÃO DA
CASCA DE CAMARÃO**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal De Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz
Orientador - UAEB/CDSA/UFCG


Prof. Dr. Ilza Maria do Nascimento Brasileiro
Examinadora 1 - UATEC/CDSA/UFCG


Prof. Dr. Lenilde Mérglia Ribeiro Lima
Examinadora 2 - UAEB/CDSA/UFCG

Aprovada em 03 de Junho de 2016

SUMÉ – PB

DICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus avós, Antônio Irineu Filho e Josefa Santana Irineu, pelo amor incondicional, pelos valores que me inculcaram e fizeram de mim a pessoa que sou hoje. Meu eterno obrigado!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser presença constante em minha vida, me dando força espiritual para conquistar tudo que arquitetou para mim. Minha fé é inabalável em tua presença.

Aos meus pais, Júnior Cezar e Francisca Santana por acreditarem no meu potencial e sempre estarem ao meu lado, apoiando minhas decisões.

Às minhas irmãs, Luana Kimberllyonai e Laura Karollayne por serem pacientes e compreensivas com meus pais, em todas as renúncias que fizeram por mim.

À minha amada sobrinha Ana Júlia, que em tantos momentos difíceis se tornou minha alegria e ânimo para continuar. Tornei-me uma pessoa melhor, mais humana e sensível desde o dia que te coloquei em meus braços.

Ao Prof. Dr. Hugo Miguel Lisboa, meu co-orientador, pela amizade construída durante esses três anos, por sua ajuda, conselhos, ensinamentos e por me depositar confiança em realizar este trabalho. Sem você nada disto se tornaria possível.

Ao Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz, meu orientador, professor e amigo. Obrigada por me aceitar como sua orientanda, pela paciência, ajuda, correções e sempre me transmitir tranquilidade. Além de orientador, é um professor que sempre lembro com muita admiração e respeito, ao longo desses cinco anos, você me fez crescer no âmbito acadêmico. Sou grata por cada ensinamento, puxão de orelha, por ter me desafiado a estudar cada vez mais nas suas disciplinas, pelas caronas e por ser quem você é.

À Cris, pela parceria durante o desenvolvimento do projeto e pela amizade construída.

Aos meus tios, tias, primos e primas da família Santana, por toda ajuda, motivação e sempre transparecerem alegria em cada conquista minha.

Aos meus amigos, Poliana Moura, Débora Santiago e Railson Farias que desde o colégio estão presentes em minha vida e vão continuar até o fim dela. Pois, amizade verdadeira não é ser inseparável, mas estar separado e nada mudar.

A minha família de Sumé, Layann Rafaella, Giliane Alencar e Éryka de Almeida, nesses cinco anos construímos algo mais que dividir um simples apartamento, construímos um laço fraternal de amor e amizade. Obrigada por me aturar tanto tempo, sei que foi difícil, cada uma com suas peculiaridades, mas sobrevivemos. Amo vocês e tenho certeza que essa família será para a vida toda.

Aos meus queridos amigos (as) universitários (as) do CDSA, Layann Rafaella, Éryka de Almeida, Santana Lívia, Magali Haideé, Rayanne Freitas, Vanessa de Oliveira, Felipe Douglas, Jéssika Bandeira, João Socorro, Ailson Marques, Andrey Gomes, Daniel Farias, Ozires e Analu Freitas, sem vocês não haveria tantos momentos bons para recordar. Obrigada pela amizade, companheirismo, carinho, conversas, pelos trabalhos em grupo, noites de estudo e as muitas gargalhadas. Levarei sempre no meu coração todos esses momentos.

A Éryka, por estar comigo desde o começo do curso, mesmo entre tapas e beijos. Somos companheiras de apartamento, graduação, trabalho em grupo, das noites viradas estudando, de estágio e se Deus permitir continuaremos juntas na pós-graduação. Meu muito obrigada por toda paciência, gentileza, compreensão em momentos de raiva, tristeza e mau humor, você merece o prêmio Nobel por isso e muito mais pelo que fez por mim.

Ao meu amigo João Rodrigues, somos amigos, irmãos de coração e parceiros de curso. Foram cinco anos de ajuda, favores e desabafos, tenho a certeza que mesmo ao fim dessa jornada acadêmica juntos, nossa boa amizade vai continuar independentemente do caminho que trilharmos. E um será plateia do outro em todas as vitórias alcançadas.

À minha amiga Edney, por torcer tanto por mim e se fazer presente em todos os momentos de minha vida desde que me conheceu. Você é a amiga que a engenharia me deu, alguém que posso confiar. Só tenho a agradecer por ter alguém tão especial na minha vida.

Ao CERTBIO, por me fornecer a matéria prima para a realização desde trabalho. Em especial à equipe do Laboratório de Processamento III, Rodrigo, Rayane, Bianca, Eunice, Vitor e Raid, por me ajudarem a realizar todas as análises necessárias para este trabalho, como também a amizade que criamos nesses seis meses de convivência.

Aos meus queridos professores (as), Glauciane Danusa, Aldre Jorge, Hugo Morais, Demerson Sanglard, Thais Gaudêncio, Mérgia Ribeiro, Michelle Vaz, Adriano Barros, Ana Mary, João Leite, Ilza Maria, José Vanderlan, Fabiana Pimentel e Ranoel José por todos os ensinamentos passados, motivação, conselhos, ética profissional e amizade. Vocês me conduziram até aqui, têm minha admiração, respeito e carinho. Muito obrigada pelo privilégio de ter sido aluna de cada um de vocês.

Aos técnicos, Francisco, Adriano, Osvaldo e Norma, por sempre se disporem a ajudar, opinar e ensinar no que era necessário. E aos funcionários do Zelo, em especial Cristiano e Mel, por muitas vezes terem sido companhia e demonstrado preocupação comigo enquanto passava dias e noites nos laboratórios.

À minha querida Sumé – PB e às pessoas de sua terra que me acolheram tão generosamente e com tanto carinho. Lugar este, que me proporcionou experiências únicas, vou sentir saudades.

Ao Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA)/Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

MUITO OBRIGADA!

“ Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos.
Fazer ou não fazer algo, só depende da nossa vontade e perseverança.”

(Albert Einstein)

RESUMO

A casca de camarão é um subproduto da indústria pesqueira que praticamente não é aproveitado no Brasil, embora possa ser aproveitado para a extração da quitina e produção de quitosana, um biopolímero com ampla aplicação na área biomédica. No entanto, as etapas de extração química da quitina revelam-se prejudiciais para o meio ambiente. Neste sentido a presente pesquisa estudou um processo fermentativo, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, com variação da concentração de substrato, por vias aeróbias e anaeróbias, a fim de determinar o método mais eficaz na bioconversão desses resíduos alimentares em produtos de alto valor. A casca foi caracterizada quanto ao tamanho de partículas pela técnica de microscopia ótica e quanto aos minerais pela técnica de cinzas. A fermentação ocorreu em frascos de erlenmeyer contendo o meio inoculado juntamente com o substrato escolhido, no qual todo o processo foi mantido sob agitação de 120 rpm, a 35 °C, por 96 horas. Foi determinada, neste trabalho, a composição da casca do camarão *Litopenaeus vannamei* que é de 55,3 % de carga mineral, sendo cerca de 60 % de carbonato de cálcio, o teor de proteínas é de 24,3 % e de 20,45 % de quitina. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi eficiente na fermentação dos resíduos de camarão, resultando na preservação de 3 % de quitina. A fermentação aeróbia foi mais eficiente, com cerca de 25 % e 11 %, respectivamente, nas etapas de desproteinização e desmineralização, em relação à fermentação anaeróbia no processo de extração de quitina. A quantidade de 5 g de substrato na fermentação aeróbia foi a mais representativa, removendo cerca de 74 % de minerais e 42 % de proteínas. A quitosana produzida por via fermentativa apresentou grau de desacetilação de 77 % e coloração mais adequada às especificações de quitosana para dispositivos médicos. A quitina e quitosana obtidas apresentam pureza semelhante às obtidas por extração química, o que indica a eficiência da metodologia desenvolvida neste trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: Processo Fermentativo. Resíduos Alimentares. Bioconversão. Quitina. Biopolímero.

ABSTRACT

The shrimp shell is a by-product of the fishing industry that is virtually untapped in Brazil, although it can be used for the extraction of chitin and chitosan production, a biopolymer with wide application in the biomedical field. However, the chemical extraction steps chitin disclose to be harmful to the environment. The present research studied a fermentation process, using the *Saccharomyces cerevisiae* with variation of substrate concentration, for aerobic and anaerobic pathways in order to determine the most effective method for bioconversion of these food residues into high value products. The shell was characterized as the size of particles by optical microscopy technique and the minerals composition by the ash's technique. The fermentation takes place in erlenmeyer flasks containing the medium inoculated together with the chosen substrate, where the whole process was maintained under stirring at 120 rpm, at 35 °C, for 96 hours. It was determined in this study, the composition of the shell of the *Litopenaeus vannamei* shrimp which is 55.3 % of mineral filler with about 60 % calcium carbonate, the protein content is 24.3 % and chitin content is 20.45 %. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been effective in fermenting the shrimp waste, resulting in 3 % of chitin's preservation. The aerobic fermentation, in chitin extraction process, was most effective, with about 25 % of deproteinization and 11 % of demineralization improvement in relation to the anaerobic fermentation. The amount of 5 g of the substrate in aerobic fermentation was the most representative, removing about 74 % mineral and 42 % protein. Chitosan produced by fermentation showed deacetylation degree of 77 % and more suitable staining for chitosan specifications in medical devices. The obtained chitin and chitosan show similar purity to those obtained by chemical extraction, indicating the efficient methodology developed in this work.

KEYWORDS: Fermentative Process. Food Residues. Bioconversion. Chitin. Polymer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da quitina.....	22
Figura 2 – Estrutura química da celulose.	22
Figura 3 – Estruturas polimórficas da quitina.	23
Figura 4 – Estrutura química da quitosana.....	24
Figura 5 – Resíduo do camarão, após a trituração.	29
Figura 6 – Frascos de erlenmeyer sob agitação.	32
Figura 7 – Diagrama do processo fermentativo.....	33
Figura 8 – Diagrama do processo de extração de quitina e produção de quitosana.....	35
Figura 9 – Micrografia de uma região de uma das amostras de casca de camarão.....	38
Figura 10 – Distribuição do tamanho das partículas por área em μm	39
Figura 11 – Micrografia da Cinza de Casca de Camarão.....	41
Figura 12 – Resumo dos rendimentos obtidos da extração química após etapa fermentativa aeróbia.....	43
Figura 13 – Resumo dos rendimentos obtidos da extração química após etapa fermentativa anaeróbio.	44
Figura 14 – Curvas de crescimento microbiano ao longo do processo fermentativo aeróbio.....	45
Figura 15 – Variação dos valores de pH do caldo fermentado em função do tempo decorrido da fermentação aeróbia.....	46
Figura 16 – Comparação dos valores do consumo de substrato em função do tempo decorrido na fermentação aeróbia.....	47
Figura 17 – Curvas de crescimento microbiano ao longo do processo fermentativo anaeróbio.....	48
Figura 18 – Variação dos valores de pH do caldo fermentado em função do tempo decorrido da fermentação anaeróbia.....	49
Figura 19 – Comparação dos valores do consumo de substrato em função do tempo decorrido na fermentação anaeróbia.....	50
Figura 20 – Espectrograma da Quitina obtida sem fermentação (linha preta) e com fermentação (linha laranja).....	52
Figura 21 - Espectrograma da Quitosana obtida sem fermentação (linha preta) e com fermentação (linha laranja).....	53
Figura 22 – Valores de L^* , a^* e b^* de quitosanas preparadas sob diferentes condições. Os valores estão expressos em média.....	55
Figura 23 – (A) Quitosana com uma etapa de fermentação; (B) Quitosana comercial.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fontes de extração de quitina.	21
Tabela 2 – Quantidade aproximada de quitina em cada espécie.	23
Tabela 3 – Propriedades principais da quitosana em dispositivos médicos.	25
Tabela 4 – Principais aplicações da quitosana na indústria.	26
Tabela 5 – Reagente utilizado nesse trabalho.	28
Tabela 6 – Resumo das amostras do processo fermentativo.	32
Tabela 7 – Percentuais de umidade do resíduo da casca de camarão obtidos pelo método de estufa.	39
Tabela 8 – Percentuais de cinzas do resíduo da casca de camarão obtidos pelo método de estufa.	40
Tabela 9 – Percentuais em peso dos elementos presentes nas cinzas.	40
Tabela 10 – Rendimentos das etapas extrativas.	41
Tabela 11 – Composição final da casca de camarão <i>Litopenaeus vannamei</i>	42
Tabela 14 – Resumo dos rendimentos da produção de quitosana após etapa fermentativa e processo químico.	51
Tabela 15 – Graus de desacetilação das amostras de quitosana.	54

LISTA DE NOMECLATURAS E SIGLAS

HCl	Ácido clorídrico
NaOH	Hidróxido de sódio
CH₃COOH	Ácido acético
MO	Microscópio ótico
U	Teor de água
<i>mi</i>	Massa inicial
<i>mf</i>	Massa final
C (%)	Cinzas
<i>Pc</i>	Peso das cinzas
<i>Pa</i>	Peso da amostra
EDS	Energia dispersiva de Raios-X
UV	Ultravioleta
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GD	Grau de desacetilação
GA	Grau de acetilação
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
CDSA	Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
CERTBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
3.1 RESÍDUOS ALIMENTARES	20
3.1.1 Caracterização do resíduo alimentar	21
3.1.2 Quitina	22
3.1.3 Quitosana	24
3.1.4 Vias de produção de quitina e quitosana	26
4 METODOLOGIA	28
4.1 MATERIAIS	28
4.2 PREPARAÇÃO DA CASCA DO CAMARÃO	28
4.3 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA	29
4.3.1 Tamanho das partículas, determinada por Microscópio ótico (MO)	30
4.3.2 Umidade	30
4.3.3 Cinzas	30
4.3.4 Determinação da composição das cinzas	31
4.4 PROCESSO FERMENTATIVO	31
4.4.1 Estudo cinético	34
4.5 EXTRAÇÃO DE QUITINA E PRODUÇÃO DE QUITOSANA (MÉTODO QUÍMICO)	34
4.6 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO	36
4.6.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	36
4.6.2 Grau de Desacetilação (GD)	36
4.6.3 Colorimetria	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA	38
5.1.1 Tamanho das partículas	38
5.1.2 Umidade e cinzas	39
5.1.3 Composição das cinzas	40
5.2 RENDIMENTOS DA EXTRAÇÃO QUÍMICA	41
5.3 RENDIMENTOS DA EXTRAÇÃO BIOLÓGICA (FERMENTATIVA)	42
5.3.1 Estudo cinético	45
5.4 RENDIMENTOS DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DA QUITOSANA	51
5.5 ANÁLISES DAS CARACTERIZAÇÕES	51
5.5.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	51
5.5.2 Grau de desacetilação	54
5.5.2 Colorimetria	54
6 CONCLUSÕES	57

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	58
REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção pesqueira de camarão é em torno de 80.000 toneladas por ano, sendo a espécie *Litopenaeus vannamei* responsável por 95 % da produção em cativeiro no país (SINIMBU, 2012).

A região do Nordeste é o principal produtor desta espécie, por possuir características de manejo favorável e ótima aceitação à diversidade de clima e região, correspondendo a 92 % de toda a produtividade brasileira (CASTRO; PAGANI, 2004). O Rio Grande do Norte e o Ceará são os estados que mais produzem, somam 70 % de acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC). Esta atividade tem crescido a cada ano, devido à exportação deste produto agregar um valor comercial benéfico ao país. Atualmente o Brasil está entre os dez maiores produtores de camarão no mundo (FISHERIES, 2009).

O processamento do camarão gera uma enorme quantidade de rejeitos no meio ambiente, pois durante o seu beneficiamento as cascas e cabeças, as quais correspondem em torno de 50 % do peso total do animal são retiradas e descartadas, tornando-se lixo orgânico. A produção anual de resíduos da indústria pesqueira é de aproximadamente 39 mil toneladas. Esses são biodegradáveis, por isso não provocam acúmulo excessivo na natureza, apesar de causarem grande problema de ordem social por serem desagradáveis no cheiro e atraírem insetos, podendo acarretar danos à saúde humana (ROCHA; RODRIGUES; AMORIM, 2003).

A bioconversão desses resíduos é, provavelmente, um dos procedimentos mais rentáveis e ambientalmente corretos, devido aos seus componentes que podem ser transformados em produtos de alto valor comercial em diversos setores, dentre eles, pode-se citar a indústria química, farmacêutica, alimentar, de materiais e no tratamento de águas residuais (COSTA et al., 2007).

A casca e cabeça do camarão são compostas por 15 a 40 % de quitina, 20 a 40 % de proteínas e 20 a 50 % de carbonato de cálcio (MATHUR; NARANGE, 1990). A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, perdendo apenas para a celulose, sendo ela um importante componente orgânico dos artrópodes (KHOR, 2012).

A quitosana é um biopolímero natural derivado por desacetilação alcalina da quitina, encontrada em crustáceos como o caranguejo, camarão e lagostim. Durante as últimas décadas, a quitosana tem recebido maior atenção por suas aplicações comerciais em dispositivos médicos, alimentos e indústria química (SANDFORD; HUTCHINGS, 1987).

A quitosana é um biopolímero com diversas vantagens, dentre elas podem-se citar ser biodegradável, ter boa compatibilidade, baixo custo, ser atóxico, ter propriedade antimicrobiana, emulsificante e ser considerado “verde” devido ao fato de não acumularem e nem prejudicarem o meio ambiente. Este biopolímero pode ser aplicado na terapia gênica, liberação controlada de fármacos, recuperação de tecidos, suplementos dietéticos, controle de pragas, preservação alimentar, cicatrização, entre outros (ANTONINO et al., 2016).

Normalmente o processo químico de extração de quitina segue as seguintes etapas: desmineralização, desproteíntização e despigmentação. Nestas etapas ocorre a eliminação do carbonato e fosfato de cálcio e/ou magnésio, proteínas e pigmentos. Geralmente utilizam soluções ácidas, alcalinas, solventes orgânicos, água e altas temperaturas. Para o polímero quitosana, a reação é realizada em solução aquosa alcalina (DELEZUK, 2009). Tais métodos requerem elevados consumos de energia, água e agentes químicos e conseqüentemente geração de novos resíduos mais complexos de tratar quando são dispostos de forma inadequada no meio ambiente, como o pigmento astaxantina (LISBOA, 2011).

Estudo de processos biológicos para a produção de quitina tem demonstrado que a utilização de bactérias e enzimas produz ácidos orgânicos que favorecem a desmineralização e desproteíntização de resíduos de crustáceos, como também a recuperação do pigmento astaxantina (JUNG et al., 2007; TENG et al., 2007; BHASKAR et al, 2007) .

Neste sentido, o presente trabalho visa dar proposta à acumulação de resíduos alimentares provenientes do intenso consumo de crustáceos no Nordeste Brasileiro, tais como a casca de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*. Esta será alvo de fermentação com a finalidade de extração dos biopolímeros quitina e quitosana, bem como do pigmento astaxantina. Desta forma, cria-se uma solução sinérgica que combina o tratamento de resíduos alimentares, com a produção de produtos de elevado valor comercial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Extração de quitina e produção de quitosana a partir da fermentação pelas vias aeróbia e anaeróbia da casca do crustáceo *Litopenaeus vannamei*, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização da casca de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*;
- Otimização das condições operatórias da fermentação aeróbia e anaeróbia da casca de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*;
- Extração e análise da quitosana extraída da quitina pelo método químico e fermentativo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 RESÍDUOS ALIMENTARES

O aproveitamento de resíduos alimentares tem sido uma alternativa sinérgica para a diminuição da poluição no meio ambiente e a produção de produtos de alto valor. Para os ambientalistas, há uma preocupação com o destino adequado para os resíduos da indústria pesqueira, com ênfase nos exoesqueletos de crustáceos que são geralmente descartados em forma de rejeitos no meio ambiente podendo atrair ratos e baratas e conseqüentemente poluindo o meio ambiente (DE SOUZA et al., 2015).

De acordo com Pinto e colaboradores (2006) no Brasil, a produção de pescado relacionado à pesca extrativa, aquicultura marinha e continental tem alcançado níveis próximos a um milhão de toneladas anuais, devido ao seu potencial pesqueiro, bacias hidrográficas, diversidade de fauna aquática e clima favorável.

A casca de camarão é um resíduo alimentar de grande valor econômico devido aos diferentes elementos que a constituem. Para, além disto, a acumulação do referido resíduo no litoral do Nordeste Brasileiro é um problema que necessita de atenção, uma vez que, no beneficiamento deste crustáceo, visando à exportação, as cascas e cabeças do camarão não são aproveitadas sendo um resíduo de pouca utilização, tornando-se lixo orgânico.

Segundo Sinimbu (2012) da Embrapa Meio-Norte, o camarão branco (*Litopenaeus vannamei Boone*) predomina em 95 % das criações no Brasil, sendo o Nordeste responsável por cerca de 92 % de toda a produção brasileira dessa espécie. Juntos, os estados do Rio Grande do Norte e Ceará respondem por 70 % da produção. Em 2010, segundo a Associação Brasileira de Criadores de Camarão, a produção brasileira chegou a 80 mil toneladas (SINIMBU,2012).

A cabeça, a cauda e a casca são geralmente removidas durante o beneficiamento do camarão. Isso representa aproximadamente 50 % do seu peso total, o que favorece a aplicação desses resíduos no processamento de alimentos. Sendo assim, ressalta-se a necessidade de minimização dos resíduos, tendo em vista o excelente potencial do seu reaproveitamento (SHAHIDI,2003).

3.1.1 Caracterização do resíduo alimentar

Resíduos biológicos de casca de crustáceos são compostos por um material complexo de quitina, carbonato de cálcio e proteínas. Em termos percentuais esse complexo possui cerca de 15 – 40 % de quitina, 20 – 50 % de carbonato de cálcio e 20 – 40 % de proteínas (KURITA, 2006). Do correto aproveitamento destes resíduos biológicos obtêm-se valiosos produtos, tais como quitina e quitosana, mas também proteínas e o pigmento astaxantina (VASCONCELOS, 2004). O biopolímero quitosana é o produto desacetilado da quitina, e possui numerosas aplicações na indústria farmacêutica, têxtil, alimentícia, cosmética, na agricultura e no tratamento de águas residuais (RINAUDO, 2006).

Os polissacarídeos consistem em polímeros de condensação de elevado peso molecular formados por milhares de unidades monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4), unidas em longas cadeias lineares ou ramificadas (CAMPANA-FILHO, 2007). As unidades de monossacarídeos que os constituem podem ser de natureza básica, neutra ou ácida, o que resulta um grupo de compostos mais abundantes e diversificados na natureza (FERREIRA, 2006). Podem ser encontrados em plantas, animais e microrganismos (fungos e bactérias) (Tabela 1), nos quais possuem duas funções biológicas principais, como forma armazenadora de energia ou como material estrutural (McMURRY, 1996).

Tabela 1 – Fontes de extração de quitina.

Animais Marinhos	Insetos	Microrganismos
Anelídeos	Escorpiões	Algas verdes
Moluscos	Aranhas	Leveduras
Celenterados	Formigas	Fungos
Lagosta	Besouros	Esporos
Camarão	-	Algas marrons
Caranguejo	-	-
Krill	-	-

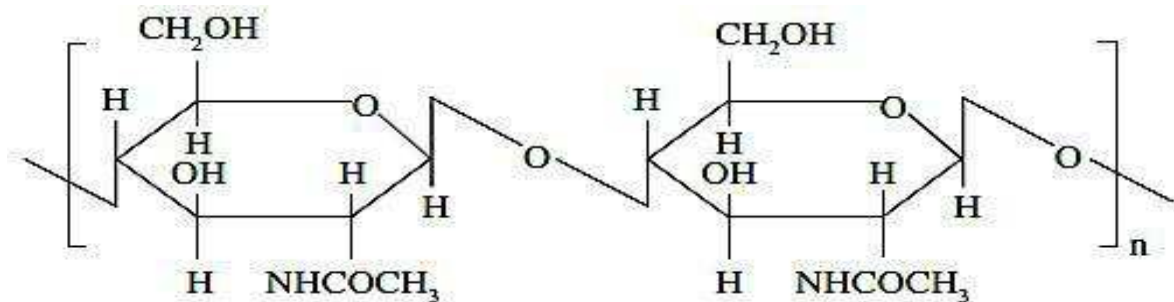
Fonte: fontes de quitina e quitosana adaptado de Brangel, 2011.

3.1.2 Quitina

O biopolímero quitina foi isolada pela primeira vez por Braconnot em 1811, a partir de cogumelos, trinta anos depois da descoberta da celulose (KNORR, 1991).

É um pó incolor ou amarelado, que possui um perfil cristalino ou amorfo, altamente hidrofóbico, insolúvel em água, ácidos diluídos, solventes orgânicos e soluções alcalinas são algumas de suas características físico-químicas (SANTOS 2004).

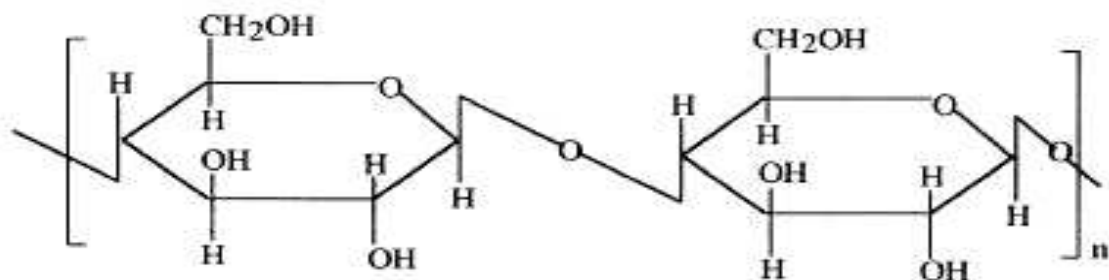
Figura1 – Estrutura química da quitina.



Fonte: Spin-Neto et al., 2008.

A estrutura química da quitina (Figura 1) é semelhante com a estrutura da celulose, representada na Figura 2, mas se distingue pela substituição dos grupos OH do carbono - 2 de cada unidade glicosídica do polissacarídeo celulose por grupos aminoacetilados ($-\text{NHCOCH}_3$). Assim, a quitina é um polissacarídeo de cadeia linear contendo ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$, constituído por unidades de N - acetil - 2 - dioxi - D - glicopironase (ROSA, 2008).

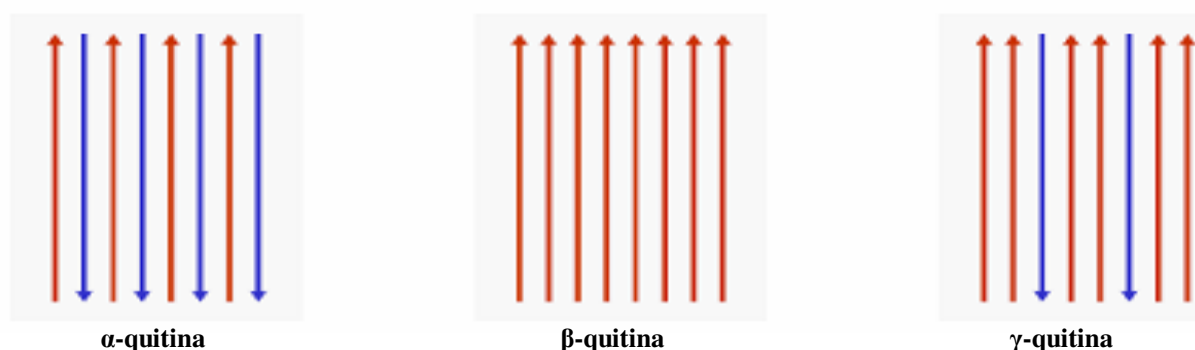
Figura2 – Estrutura química da celulose.



Fonte: KUMAR, M. N. R., 2000.

A quitina possui três formas de estrutura polimórficas diferentes, esquematizadas na Figura 3, elas estão associadas às diferentes funções no organismo. A estrutura α é encontrada na cutícula de artrópodes, onde é necessária uma extrema dureza. As formas β e γ encontra-se onde são necessárias flexibilidade e dureza (ANTONINO, 2007). As estruturas α e β são as mais conhecidas e α -quitina a mais comum, é a forma mais abundante e mais estável, logo é a mais estudada (MUZZARELLI, 1973; KURITA et al., 1993).

Figura3 – Estruturas polimórficas da quitina.



Fonte: ANTONINO, 2007.

De acordo com Thatte (2004), as variações de proporções de quitina que podem ser encontradas dependem da espécie e a região de origem assim como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Quantidade aproximada de quitina em cada espécie.

Espécies	% de Quitina
Fungos	5-20%
Camarão	22%
Polvos/Lula	3-20%
Escorpiões	30%
Aranhas	38%
Baratas	35%
Besouro d'água	37%
Bicho de seda	44%
Caranguejo Hermit	69%
Caranguejo Edible	70%

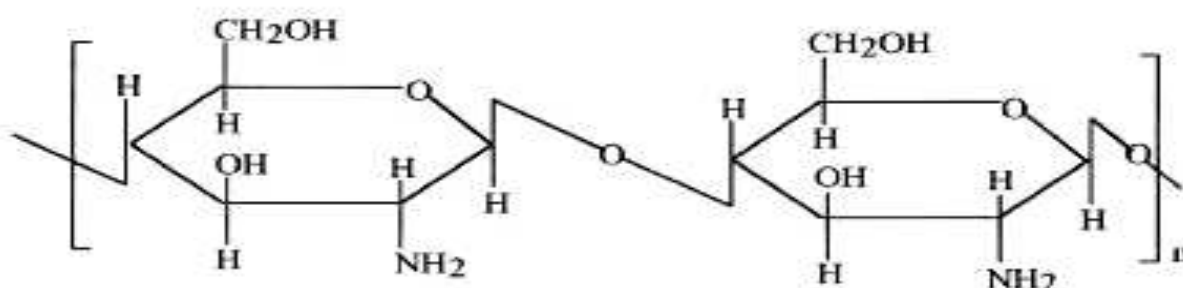
Fonte: THATTE, 2004.

Nos artrópodes a quitina é encontrada na parte interna, que é mais espessa, contendo também carbonato de cálcio e pigmentos, como por exemplo a astaxantina. Por ser rígida e impermeável, ela tem a função de proteção mecânica, sustentação e atua contra a desidratação (MELLO, 2006).

3.1.3 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo que pode ser obtida pelo processo de desacetilação química do seu precursor, a quitina. Este processo ocorre pela hidrólise dos grupos acetamido da macromolécula quitina, que originam grupos amino, gerando o polímero quitosana (DELEZUK, 2009). Sua composição é variável diante da função do grau residual de acetilação e é constituída por várias unidades de 2 – amino - 2deox i - D - glicopirranose, representado na Figura 4, e suas unidades são unidas por ligações glicosídicas β -(1,4). A quitosana é solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos, como o ácido clorídrico e ácido acético (COSTA et al., 2007).

Figura4 – Estrutura química da quitosana.



Fonte: MAJETI, N. V; KUMAR, R., 2000.

Comercialmente, a quitosana é encontrada na forma em pó branco, em seu estado sólido é um polímero de perfil semicristalino (CARTIER et al.,1990).

Suas propriedades e qualidade estão relacionadas ao seu processo de fabricação que influencia no seu produto final. Logo, é necessário caracterizar a quitosana quanto as suas propriedades intrínsecas, como: pureza, massa molecular, viscosimetria, solubilidade e grau de desacetilação (BEZERRA, 2011).

Segundo Roberts (1992), os principais fatores que afetam as características da quitosana e a eficiência da desacetilação são:

- Temperatura e tempo de reação;
- Concentração do álcali;
- Proporção quitina/álcali;
- Tamanho de partícula;
- Ambiente de reação e agentes que evitem a despolimerização.

A quitosana é um polímero natural, de baixo custo, renovável e biodegradável. Nos últimos anos, há um grande interesse em aplicações biomédicas deste biopolímero e de seus derivados, devido as suas propriedades e atividades biológicas, tornando possível novas aplicações (MOFFAT; COOKSON, 2000). Nas Tabelas 3 e 4, estão descritas as principais propriedades e aplicações deste polímero.

Tabela 3– Propriedades principais da quitosana em dispositivos médicos.

Potencial biomédico e aplicações	Principais características
Sutura cirúrgica	Biocompatível
Implantes dentais	Biodegradável
Pele artificial	Renovável
Reconstruidor de osso	Formador de filmes
Lentes de contato de córneas	Agente hidratante
Liberação de fármacos (animais/humanos)	Não tóxico, tolerância biológica
Encapsulamento de material	Propriedades curativas de ferida e biocontrole de bactérias, fungos e vírus

Fonte: adaptado por Rinaudo, 2006.

Tabela 4 – Principais aplicações da quitosana na indústria.

Principais aplicações da quitosana	
Agricultura	Herbicida/pesticida, Revestimento de sementes; Fertilizantes.
Tratamento de água	Agentes de coagulação/floculação para águas residuais; Remoção/recuperação dos íons metálicos de águas residuais poluídas.
Alimentar/Suplementos	Espessantes naturais; Aditivos alimentares; Processamento de alimentos; Filtração e clarificação; Agentes de absorção de gorduras.
Cosméticos	Mantém a umidade da pele; Tratamento da acne; Reduz eletricidade estática do cabelo; Tom de pele e cuidados orais (creme dental e chicletes)
Farmacêuticos	Imunológico; Antitumoral; Anticoagulante e bactericida

Fonte: adaptado por Rinaudo, 2006.

3.1.4 Vias de produção de quitina e quitosana

Tipicamente a quitina, é extraída de cascas de crustáceos por meio de tratamento químico, que utiliza em etapas alternadas hidróxido de sódio, ácido clorídrico e água, bem como temperaturas elevadas. Após a extração, a quitosana é produzida por hidrólise alcalina, empregando-se uma solução de hidróxido de sódio a 12,5 M com temperaturas em torno dos 100 °C. Tais métodos requerem elevados consumos de energia, água e agentes químicos e conseqüentemente geração de resíduos alcalinos com elevada demanda biológica de oxigênio (LISBOA, 2011). Importa ainda referir, que a quitosana obtida através desta metodologia, sofre elevado fracionamento polimérico, produzindo-se biopolímeros de peso molecular inferior, traduzindo-se este fator por uma menor aplicabilidade do produto.

A fermentação de resíduos de crustáceos usando bactérias da espécie *Lactobacillus spp.* resulta numa fração sólida contendo quitina, e a produção de um licor rico em proteína de camarão, minerais e pigmentos. A ação desta bactéria pode ser descrita pela produção de proteases que retiram a proteína do complexo quitina,

carbonato de cálcio por hidrólise. Além disso, o ácido formado durante a fermentação dissolve uma parte considerável do carbonato de cálcio, liberando desta forma CO₂ (JUNG et al., 2007). Sini et al. (2007), constataram que utilização da bactéria *Bacillus subtilis* para fermentação da casca de camarão, produz quantidades suficientes de ácidos para remover os sais minerais. Teng e colaboradores relataram que a utilização do fungo *Aspergillus niger* durante a fermentação ocorre à liberação de proteases que facilitam a desproteíntização do camarão em pó e a liberação de proteínas hidrolisadas (TENG et al., 2007). De acordo com Bhaskar et al. (2007) a bactéria *Pediococcus acido lactici* mostrou-se eficiente no processo de produção de quitina com 97,9 %, 72,5 % e 72,4 % – 78,5 % de desproteíntização, desmineralização e recuperação do pigmento, respectivamente. Nesses processos biológicos, desmineralização, desproteíntização e despigmentação ocorrem simultaneamente, mas incompletamente (JUNG et al., 2007).

Uma vez que a casca de camarão é um resíduo pobre em açúcares fermentáveis, considera-se necessária a otimização das condições de fermentação no que toca ao tipo de açúcar utilizado e quantidades, bem como, a quantidade de inoculante, temperatura, agitação e pH. Esta otimização interativa almeja a produção de quitina e quitosana de qualidade elevada por vias ambientalmente mais favoráveis (RAO et al., 2000).

4 METODOLOGIA

Os experimentos efetuados para a realização deste trabalho foram conduzidos na Central de Laboratórios I do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA), na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Câmpus Sumé. Os ensaios de caracterização da casca de camarão, quitina e quitosana obtidas foram realizados pelo Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO), na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Câmpus Campina Grande.

4.1 MATERIAIS

- Casca de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*;
- Levedura *Saccharomyces cerevisiae*, da marca FERMIX.

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico P.A, descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Reagentes utilizados nesse trabalho.

Reagente	Simbologia	Procedência
Ácido clorídrico P.A	HCl	NEON
Hidroxido de sódio microperolas P.A	NaOH	NEON

4.2 PREPARAÇÃO DA CASCA DO CAMARÃO

A casca congelada foi fornecida pela Empresa Aquamaris da cidade de João Pessoa - PB, e a sua preparação englobou as seguintes atividades:

- Lavagem: a casca foi lavada com água corrente até que os resíduos não fossem perceptíveis;
- Seleção das cascas: depois de lavadas, foi feita a seleção das cascas, no qual ocorreu a separação das vísceras e de qualquer outra parte indesejada;

- Secagem: posteriormente, as cascas foram secas em Secador de Pratos, a 60 °C durante 24 horas até obter peso constante;
- Moagem: depois de secas, as cascas foram moídas em moinho de lâminas da marca Fortinox e modelo STAR FT 48;
- Peneiração: a peneiração das cascas moídas foi feita em uma peneira de 19 cm de diâmetro a fim de classificar quanto ao tamanho de partícula.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA

A Figura 5 mostra a casca de camarão seca e moída. A casca foi caracterizada com as seguintes técnicas descritas nos itens 4.3.1 – 4.3.4. As caracterizações de umidade e cinzas foram seguidas as normas da Associação das Análises Químicas Oficiais (A.O.A.C, 1995).

Figura5 – Resíduo do camarão, após a trituração.



Fonte: própria da autora, 2016.

4.3.1 Tamanho das partículas, determinada por Microscópio ótico (MO)

Em uma lâmina foi colocada uma pequena quantidade de cascas de modo que elas não ficassem muito amontoadas, em seguida foram analisadas por um Microscópio Ótico de marca Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D, acoplado a uma estação de Análises de Imagens e foram obtidas dez imagens referentes a cada parte da amostra em uma magnificação de 500x. Com o auxílio do programa ImageJ foram obtidas as medidas de largura e comprimento das partículas para a produção do histograma e para análise estatística dos resultados.

4.3.2 Umidade

Para a realização da determinação de umidade utilizou-se o método gravimétrico, sendo realizada a secagem das amostras em estufa. Foram pesadas três amostras em balança semi-analítica e colocadas em estufa a 105 °C, durante 24 horas. Posteriormente, as amostras foram novamente pesadas em temperatura ambiente e o teor de água, em base úmida, foi obtida por meio da Equação 1.

$$U = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

U: teor de água, %;

m_i : massa inicial, g;

m_f : massa final, g.

4.3.3 Cinzas

Foram pesadas três amostras num cadinho de porcelana, o qual foi previamente incinerado, resfriado e tarado. A carbonização da matéria orgânica foi realizada com o auxílio de uma placa aquecedora até que todo material permaneceu na cor preta.

Depois o conjunto foi incinerado numa mufla, inicialmente em uma temperatura mais baixa e depois oscilando numa faixa de 500 – 600 °C, por 24 horas. Ao fim deste tempo, o conjunto foi retirado da mufla e colocado num

dessecador para resfriar, após atingir a temperatura ambiente foi pesado novamente. A quantidade de cinzas foi obtida por meio da Equação 2.

$$C(\%) = \frac{P_c}{P_a} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Em que:

$C(\%)$ = Cinzas, %;

P_c = Peso das cinzas, g;

P_a = Peso da amostra, g.

4.3.4 Determinação da composição das cinzas

Para a determinação dos elementos que compõem as cinzas, foram realizados ensaios por espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS). Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura, marca Phenon, modelo PRO X, operado a 10 kV tendo sido realizada a análise numa imagem a 500x.

4.4 PROCESSO FERMENTATIVO

O processo fermentativo consiste no sistema em que o microrganismo se reproduz por meio do consumo de nutrientes adequados, visando à obtenção de um bioproduto. Existem dois tipos principais de vias catabólicas, a anaeróbia que ocorre sem a presença de gás oxigênio e a aeróbia que é conduzido utilizando-se o gás oxigênio (MALAJOVICH, 2012).

A fermentação foi conduzida por via anaeróbia e aeróbia, utilizando a sacarose como substrato em quantidades variáveis, descritos na Tabela 6. Os experimentos foram realizados em duplicata.

Tabela 6 – Resumo das amostras do processo fermentativo.

Amostra	Quantidade de casca (g)	Quantidade de substrato (g)	Tipo de substrato	Tipo de fermentação
Q1	10	1	Sac	Aeróbio
Q2	10	5	Sac	Aeróbio
Q3	10	10	Sac	Aeróbio
Q4	10	1	Sac	Anaeróbio
Q5	10	5	Sac	Anaeróbio
Q6	10	10	Sac	Anaeróbio

Sac - Sacarose.

Em um fermentador (erlenmeyer 250 mL) foi adicionada uma fração de casca com determinado diâmetro de partícula. Após a adição da casca de camarão foram adicionados o substrato e 100 mL de água destilada. Para a via anaeróbia o fermentador foi vedado com parafilme e para ambos os processos, os fermentadores foram autoclavados por vinte minutos em autoclave vertical, marca Phoenix Lufenco e modelo AV. Posteriormente, foi realizado o inóculo com a transferência assepticamente de 1g da levedura *Saccharomyces cerevisiae* no fluxo lâminar, previamente esterilizado com luz UV durante vinte minutos, para que não ocorresse contaminação no meio. Os frascos foram colocados em *shakers* (Figura 6) sob agitação de 120 rpm, numa temperatura em torno de 35 °C, durante 96 horas.

Figura6–Frascos de erlenmeyer sob agitação.

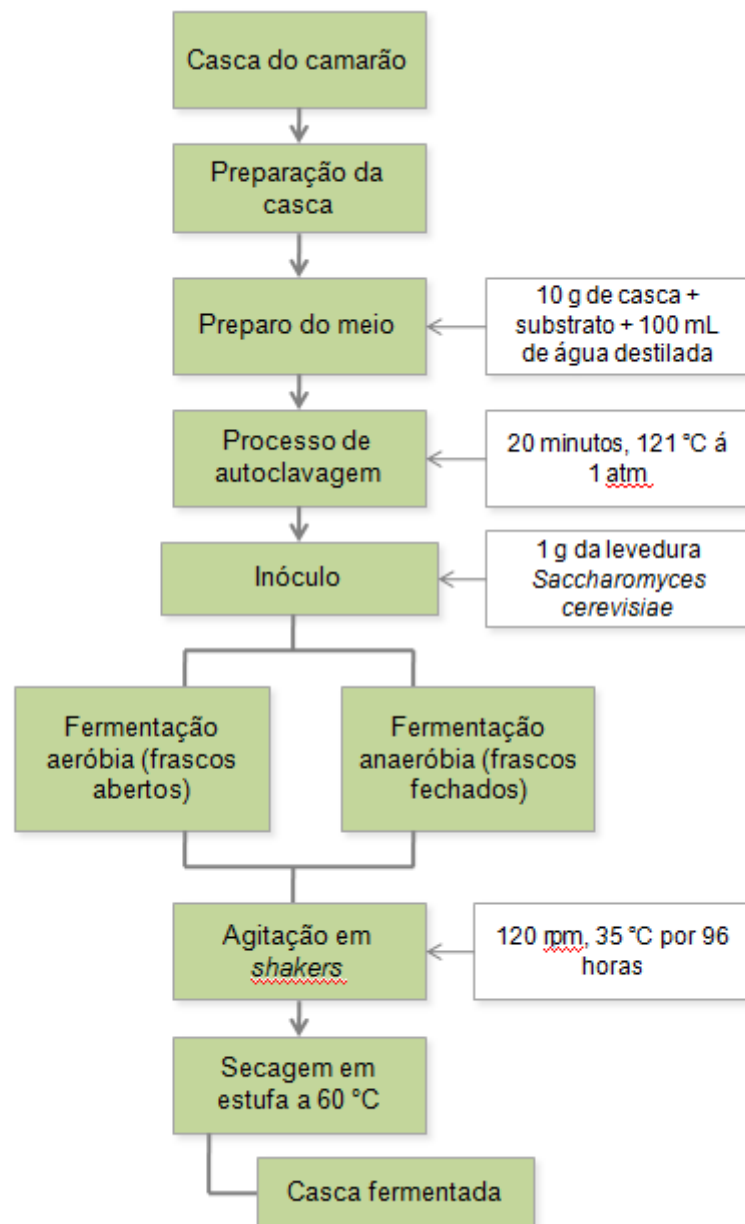


Fonte: própria da autora, 2016.

Ao término da fermentação as amostras foram filtradas com o auxílio de um sistema a vácuo. Logo, foram extraídas a fração líquida de proteínas e pigmentos e a fração sólida seguiu para a secagem em estufa a 60 °C. As cascas fermentadas após secas seguiram para as etapas de desmineralização, desproteíntização e desacetilação descrita no item 4.5.

Logo abaixo, são ilustradas em forma de resumo as etapas que envolveram o processo fermentativo (Figura 7).

Figura 7 – Diagrama do processo fermentativo.



Fonte: própria da autora, 2016.

4.4.1 Estudo cinético

A cada 24 horas foram retiradas alíquotas de 10 mL de cada fermentador por um período de 96 horas, para a realização das seguintes análises:

pH: os valores de pH foram obtidos por meio do pHmetro digital de bancada.

Teor de sólidos solúveis (°Brix): os valores do °Brix foram obtidos por meio da leitura direta utilizando o refratômetro de bancada da marca Abbe EEQ9006B. Tais valores foram utilizados para conhecer a concentração de substrato, pela Equação 3 (TORRES NETO et al., 2006), que apresenta a correlação entre o grau Brix e a concentração de sacarose no meio.

$$\text{Substrato (g/L)} = 10,13 \times \text{°Brix} + 1,445 \quad (\text{Equação 3})$$

Crescimento celular: a determinação da concentração de células foi realizada por gravimetria. A partir das alíquotas retiradas a cada 24 horas, o produto foi filtrado em papel de filtro de 14µm com o auxílio de um sistema a vácuo. O papel de filtro antes de ter sido utilizado na filtração foi pesado e depois que contido os sólidos retidos foram colocados em estufa para secagem em uma temperatura de 40 °C durante 24 horas, ao final deste tempo as amostras foram pesadas novamente e o cálculo da concentração de leveduras foi feito por meio da diferença entre as duas massas divididas pelo volume da amostra.

4.5 EXTRAÇÃO DE QUITINA E PRODUÇÃO DE QUITOSANA (MÉTODO QUÍMICO)

A quitina presente na casca de camarão foi extraída seguindo as seguintes etapas:

Desmineralização: a etapa de desmineralização da casca do camarão foi realizada com uma solução de ácido clorídrico (HCl) a 1,25 M v/v, tendo sido utilizados 10 g de casca de camarão para 100 mL de solução em um agitador magnético em temperatura ambiente, durante uma hora.

Desproteíntização: a etapa de desproteíntização da casa desmineralizada ocorreu com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1 M p/v, foi utilizada a razão 1:10 (g/mL) de casca desmineralizada para a solução de NaOH em um agitador magnético sobre uma chapa aquecedora a 70 °C durante seis horas.

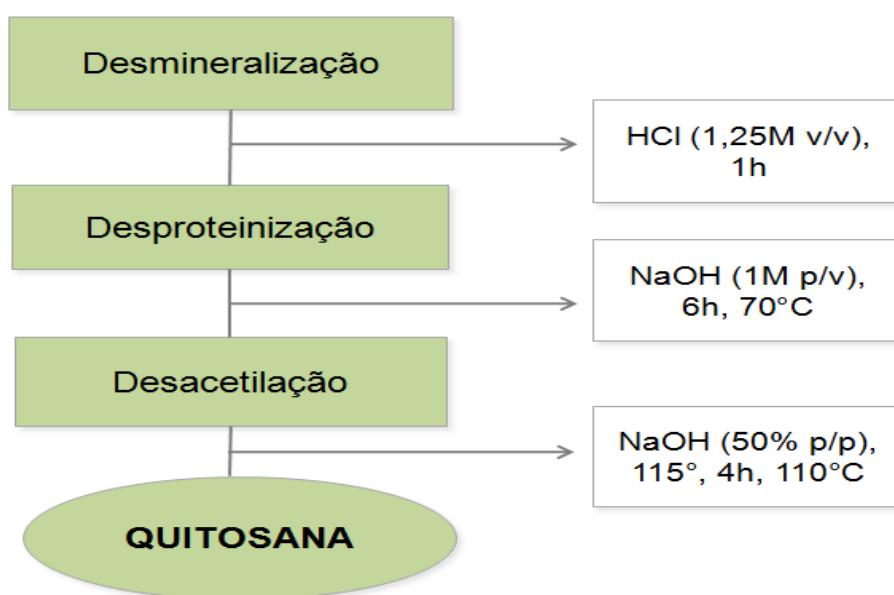
Para a produção de quitosana foram preparados 100 mL de solução de NaOH 50 % (p/p) para cada 10 g de quitina obtida no processo químico e fermentativo. Em seguida, as amostras foram colocadas para congelar durante um dia. Posteriormente, foram retiradas do congelador e colocadas em banho-maria em uma temperatura de 115 °C, para ocorrer a mudança de fase de sólido para líquido, depois que ocorreu isso foi feita a reação da solução numa temperatura de 100 °C durante quatro horas sob agitação magnética.

No fim de cada etapa o produto foi cuidadosamente filtrado e lavado com água destilada até obter pH neutro. Após isso, foi colocado na estufa a 60 °C para secagem até obter peso constante.

Os experimentos supracitados foram realizados em duplicata.

Logo abaixo, são ilustradas em forma de resumo as etapas que envolveram o processo de extração de quitina e produção de quitosana (Figura 8).

Figura 8 – Diagrama do processo de extração de quitina e produção de quitosana.



Fonte: própria da autora, 2016.

4.6 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO

4.6.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho fornece informações sobre vibrações moleculares presentes no material. A transformada de Fourier da espectroscopia no infravermelho oferece uma alta razão entre sinal e ruído e alta acurácia espectral (RATNER et al., 2004). Logo as ligações químicas das substâncias e as massas dos átomos envolvidos nessas ligações possuem frequência de vibração específica (ALBURQUEQUE, 2008).

É um método analítico padrão, baseado na banda da amida/ no espectro da quitina e quitosana, normalmente utilizado para caracterizar a estrutura de polímeros (KHOR, 2001; RINUADO, 2006).

A caracterização por espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em um espectrômetro de marca Perkin Elmer e modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer. Para cada amostra foram obtidos cinco espectros entre 4000 e 650 cm^{-1} , após serem realizados 16 varreduras com uma resolução de 4 cm^{-1} .

4.6.2 Grau de Desacetilação (GD)

O grau de desacetilação (GD) é um dos principais parâmetros na caracterização da quitina e quitosana. Pode ser definido, como o número de grupos amina em relação ao número de grupos amida.

A utilização do espectro com transformada de Fourier descrita no item 4.6.1, além de caracterizar a estrutura do polímero, também é utilizada para determinar o grau de desacetilação da quitina e quitosana. Isso pode ser feito relacionando as absorbâncias nos comprimentos das ondas de 1560 e 1017 cm^{-1} e aplicar na Equação 4, proposta por Shigemasa e colaboradores (1996).

$$GD = 100 - GA = 100 - \left[\left(\frac{A_{1560}}{A_{1017}} \right) \times 100 \right] \quad (\text{Equação 4})$$

Em que:

GD = grau de desacetilação;

GA= grau de acetilação;

A_{1560} = absorvância no comprimento de onda 1560 cm^{-1} ;

A_{1017} = absorvância no comprimento de onda 1017 cm^{-1} .

4.6.3 Colorimetria

O teste por colorimetria foi realizado para a quitosana obtida pelos dois processos. Esse teste foi utilizado para verificar a diferença de coloração nas amostras, a fim de saber qual método foi mais eficiente para a descoloração do produto final. O equipamento utilizado foi o colorímetro portátil (Miniscan XE plus, modelo 45/O-L, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, USA) com o sistema L^* (Luminosidade), a^* (+ para vermelhidão e – para cor verde) e b^* (para cor amarela). O ângulo do observador empregado foi de 10° e o iluminante D65. A calibração foi realizada em conformidade com os padrões de cor fornecidos pelo fabricante (branco e preto). E as análises foram realizadas em triplicata para cada amostra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos da caracterização da matéria prima, quitina e quitosana a partir da casca de camarão, *Litopenaeus vannamei*, bem como avaliar o processo fermentativo por vias aeróbia e anaeróbia e a variação de substratos no meio. Na caracterização das amostras usou-se microscópio ótico (MO), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e colorimetria.

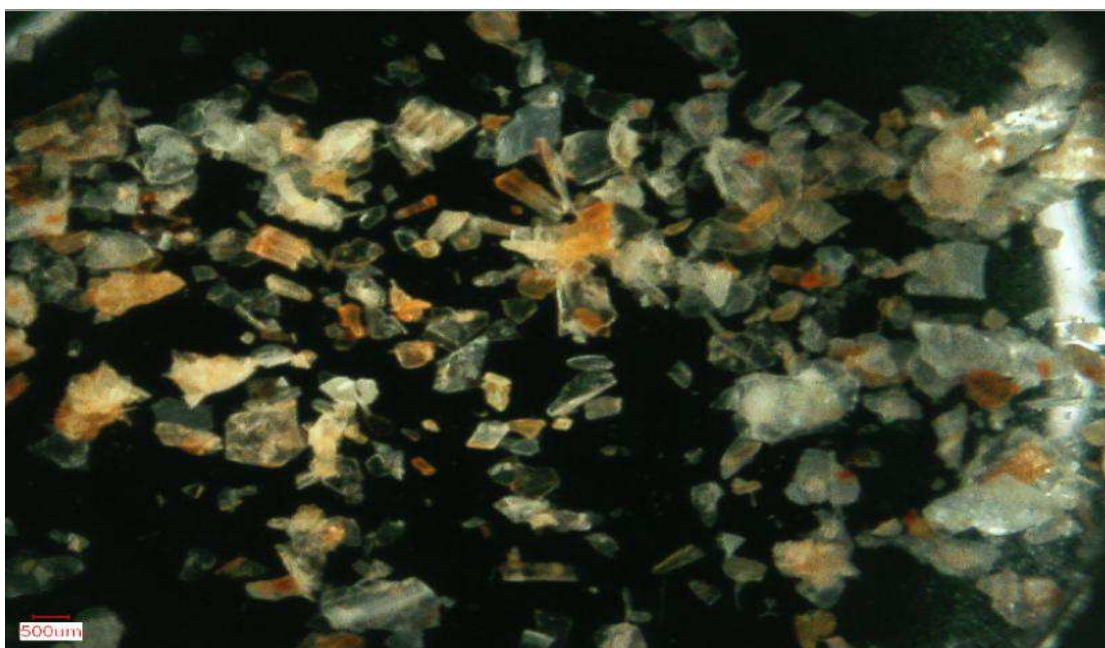
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA

5.1.1 Tamanho das partículas

Com as medidas obtidas foi possível obter a distribuição de tamanho das partículas de casca de camarão nas amostras.

A Figura 9 é um exemplo das micrografias utilizadas nas medidas com o ImageJ.

Figura 9 – Micrografia de uma região de uma das amostras de casca de camarão.

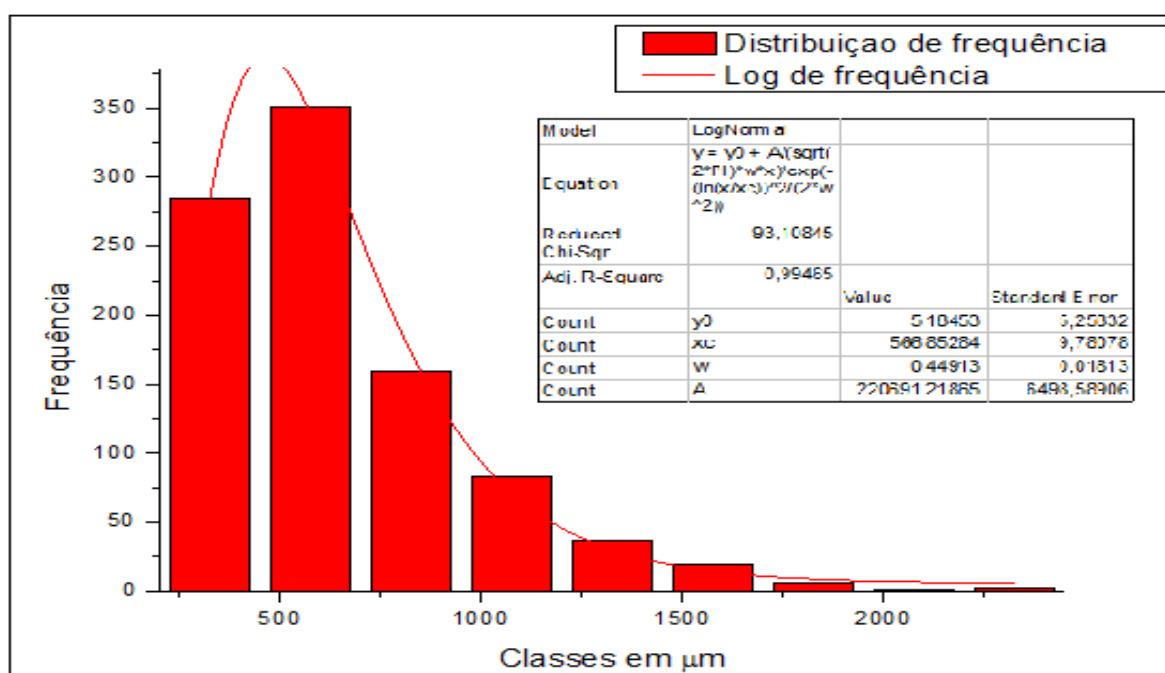


Fonte: própria da autora, 2016.

A Figura 10 indica as classes da medida das áreas das partículas e a sua frequência de distribuição normal. Foi aplicado o logaritmo normal, para maior confiabilidade da análise.

Por meio da análise da Figura 10, é possível notar que a maior parte das micropartículas medidas nesta amostragem possui um tamanho médio de 566, 85 μm , que corresponde a uma faixa de 500-1000 μm .

Figura 10 – Distribuição do tamanho das partículas por área em μm .



Fonte: dados da autora, 2016.

5.1.2 Umidade e cinzas

Os dados referentes às porcentagens de umidade e cinzas encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Percentuais de umidade do resíduo da casca de camarão obtidos pelo método de estufa.

Amostra	Umidade (%)
1	9,33
2	9,40
3	9,25
Média	9,32
Desvio padrão	0,0755

Fonte: dados da autora, 2016.

Os dados apresentados na Tabela 8 são valores habituais para a casca de camarão, tendo sido obtido o mesmo valor por Lisboa (2011). Vale ressaltar que todos os elementos que compõem a casca de camarão são higroscópios e daí a umidade residual.

Tabela 8 – Percentuais de cinzas do resíduo da casca de camarão obtidos pelo método de estufa.

Amostra	Cinzas (%)
1	18,48
2	18,24
3	18,40
Média	18,37
Desvio padrão	0,1234

Fonte: dados da autora, 2016.

Tal como indicado na tabela 8, a casca de camarão possui um percentual elevado de minerais, que fornecem rigidez à casca. A quantidade de minerais presentes na casca é então de cerca de 18,4 % do peso total.

5.1.3 Composição das cinzas

Na Tabela 9 são apresentados os resultados para a composição de cinzas realizada por energia dispersiva de raios-x (EDS).

Tabela 9 – Percentuais em peso dos elementos presentes nas cinzas.

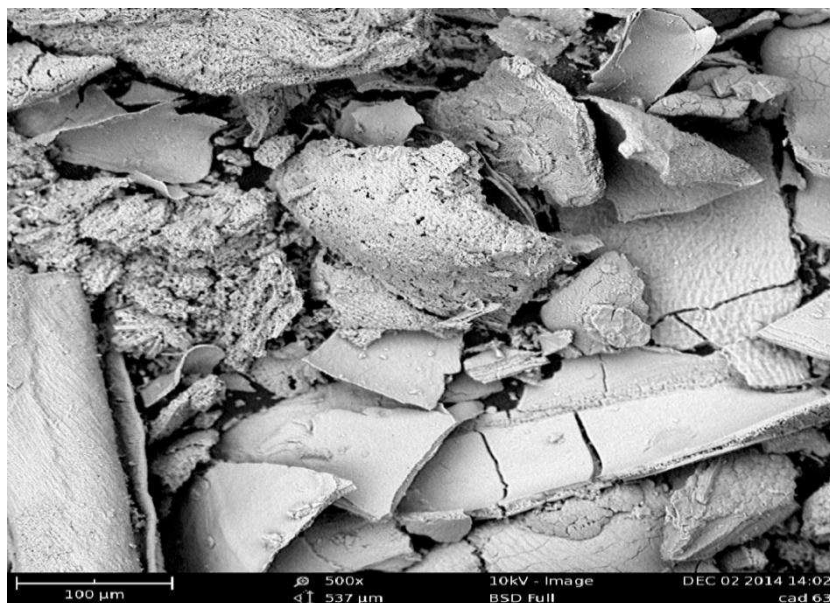
Elemento	Amostra 1 (peso total %)	Amostra 2 (peso total %)	Amostra 3 (peso total %)	Média
Cálcio	59,6	58,8	59,3	59,23
Fósforo	18,3	23,0	20,1	20,47
Nitrogênio	14,7	14,2	14,8	14,57
Magnésio	4,2	4,0	4,2	4,13
Enxofre	3,2		1,6	2,40
Total	100	100	100	

Fonte: dados da autora, 2016.

Analisando os referidos dados, verifica-se que o elemento mais comum é o cálcio, seguido do fósforo. Tal resultado vem em conformidade com o obtido por Lisboa (2011), para a mesma espécie de camarão.

Na Figura11, é apresentada a micrografia que origina o resultado de EDS.

Figura11 – Micrografia da cinza de casca de camarão.



Fonte: própria da autora, 2016.

5.2 RENDIMENTOS DA EXTRAÇÃO QUÍMICA

A partir da extração de quitina pelo método químico, foram determinados os rendimentos referentes a cada etapa extrativa e os rendimentos globais. Na Tabela 10 estão apresentados esses valores.

Tabela 10–Rendimentos das etapas extrativas.

Etapa	Peso (g)	Rendimento parcial	Rendimento global
Início	10	-	-
Desmineralização	4,47	44,7%	44,7%
Desproteínização	2,04	45,6%	20,4%
Desacetilação	1,22	59,8%	12,20%

Fonte: dados da autora, 2016.

A partir da massa removida em cada etapa é possível determinar a composição da casca de camarão *Litopenaeus vannamei*. Os resultados encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 – Composição final da casca de camarão *Litopenaeus vannamei*.

Composto	Massa removida (g)	%
Minerais	5,53	55,3%
Proteínas	2,43	24,3%
Quitina	0,82	8,2%
Quitosana	1,22	12,2%
Total	10	100%

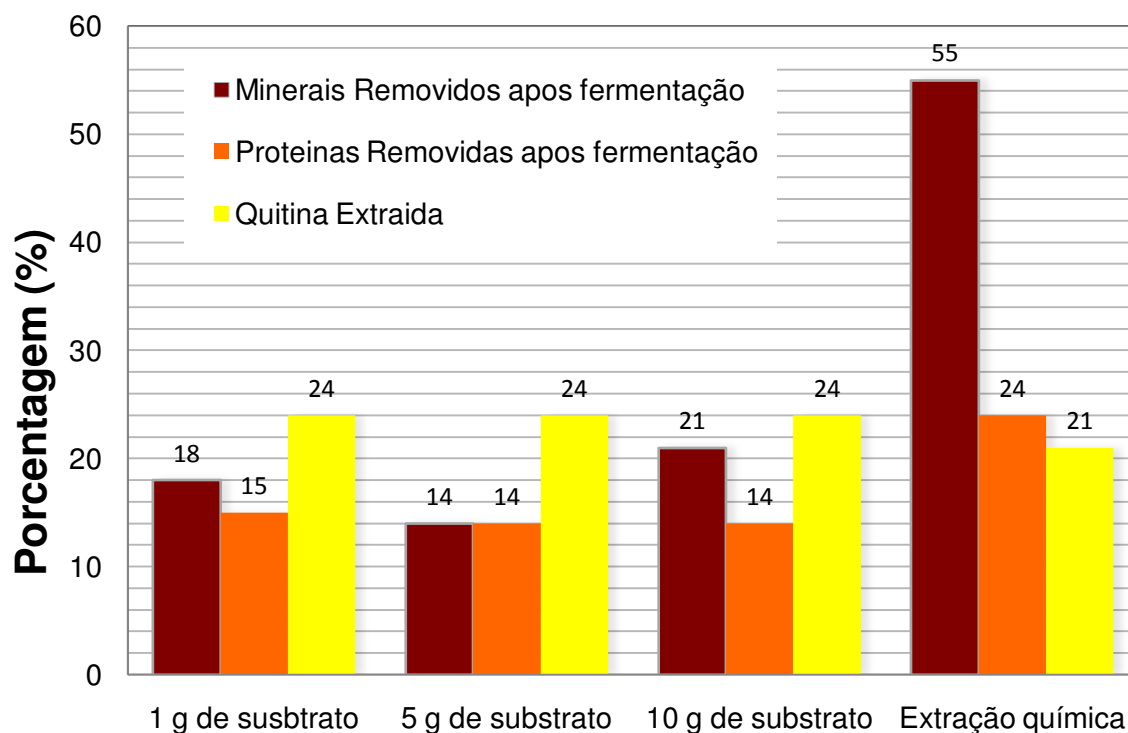
Fonte: dados da autora, 2016.

Da análise da Tabela 11 pode-se então afirmar que os valores obtidos experimentalmente estão de acordo com aqueles obtidos por Cavalcanti e colaboradores (2013) para o mesmo tipo de casca.

5.3 RENDIMENTOS DA EXTRAÇÃO BIOLÓGICA (FERMENTATIVA)

Na Figura 12 são apresentados os rendimentos obtidos quando é adicionada uma etapa de fermentação aeróbia.

Figura12 – Resumo dos rendimentos obtidos da extração química após etapa fermentativa aeróbia.



Fonte: dados da autora, 2016.

Analisando a Figura 12, verifica-se que a extração química remove cerca de 55 % de massa da casca de camarão sendo estes 55 % correspondentes à fração mineral daquela. Quando se compara com o valor da mesma etapa, mas precedido de uma etapa de fermentação verifica-se que este valor cai para cerca de 15 – 20 %.

Os motivos para este decréscimo estão relacionados com a remoção de parte da fração mineral durante a etapa fermentativa, em que verificou-se também um decréscimo na ordem dos 10 % para a desproteínização.

Outro resultado bastante interessante é o aumento do rendimento de obtenção de quitina, significando que cerca de 3 % de quitina é preservada utilizando-se uma etapa fermentativa.

Com base nos presentes resultados é possível constatar que a etapa de fermentação aeróbia contribui de forma significativa para a melhoria do processo extrativo da quitina a partir da casca de camarão.

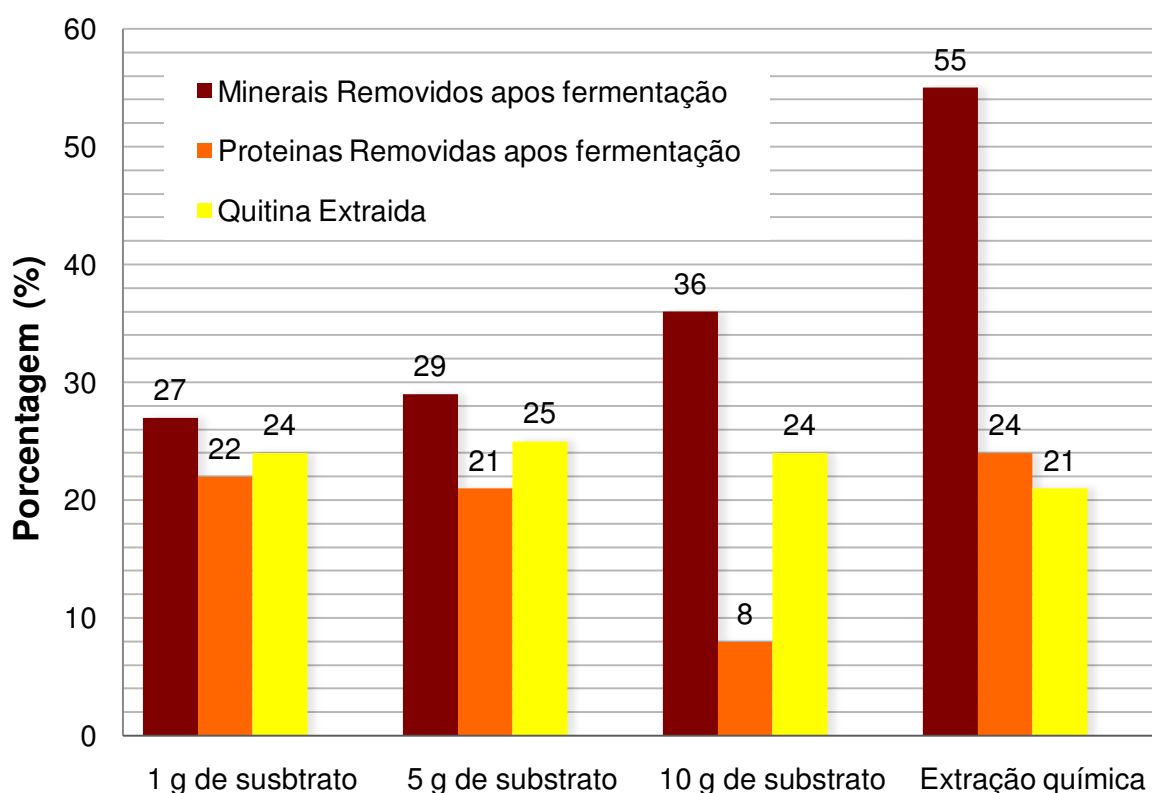
Não se verifica uma influência significativa na quantidade de substrato usada. É possível que todas as quantidades se encontrassem em excesso durante o

período de tempo considerado ou o sistema pode ter sido limitado por outro parâmetro, como falta de oxigênio ou questões difusionais.

A fim de testar a última hipótese propõe-se a utilização de partículas de casca de menor dimensão (experimento não realizado no presente trabalho). A primeira hipótese foi testada por meio de experiências em meio anaeróbio.

Na Figura 13 estão apresentados os rendimentos obtidos quando é adicionada uma etapa de fermentação anaeróbia.

Figura13 – Resumo dos rendimentos obtidos da extração química após etapa fermentativa anaeróbio.



Fonte: dados da autora, 2016.

Analisando a Figura 13, verifica-se que com o aumento da concentração de substrato, é possível aumentar a quantidade de matéria removida da casca de camarão para o mesmo período de tempo.

Enquanto que as concentrações de 1 g e 5 g possuem rendimentos semelhantes para todos os componentes da casca, verifica-se que com 10 g de substrato ocorre uma remoção preferencial de proteínas, uma vez que o rendimento

da desproteínização realizada após a fermentação se encontra com valores muito baixos.

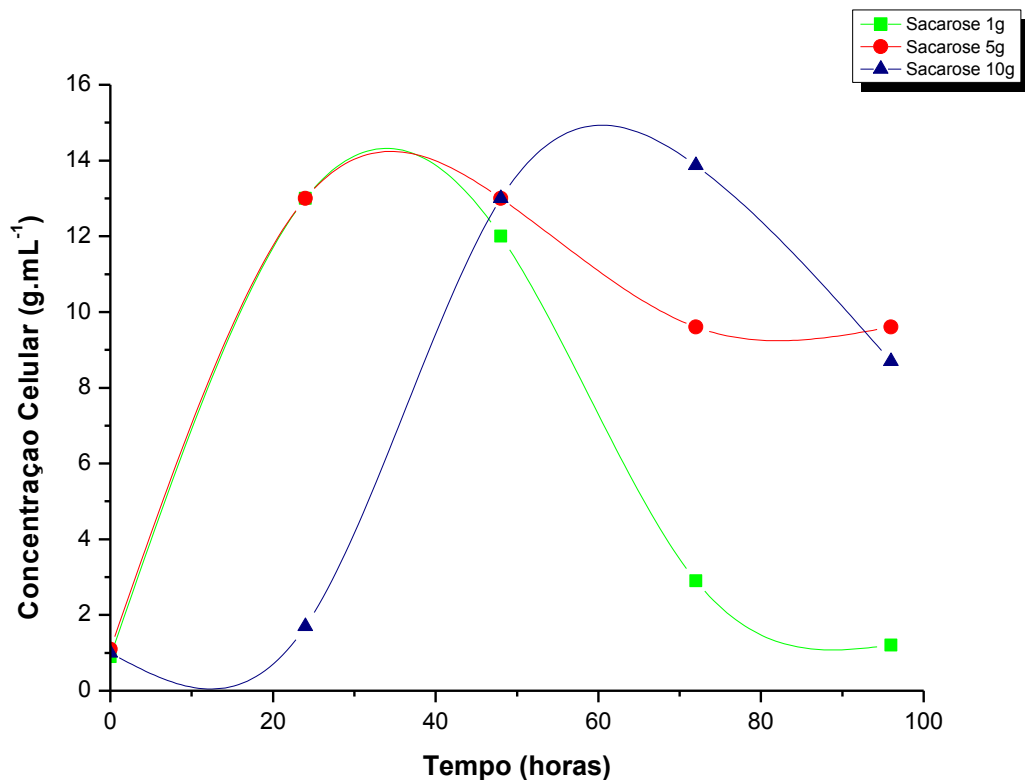
De resto os valores obtidos para a fermentação anaeróbia são menos expressivos do que a fermentação aeróbia, ou seja, a casca mantém em maior quantidade os seus componentes após a fermentação existindo claramente um favorecimento para as condições aeróbias.

5.3.1 Estudo cinético

5.3.1.1 Cinética da fermentação aeróbia

Na Figura 14 são apresentadas as curvas de crescimento microbiano para as três variações de substrato – 1 g, 5 g e 10 g de sacarose.

Figura 14 – Curvas de crescimento microbiano ao longo do processo fermentativo aeróbio.



Fonte: dados da autora, 2016.

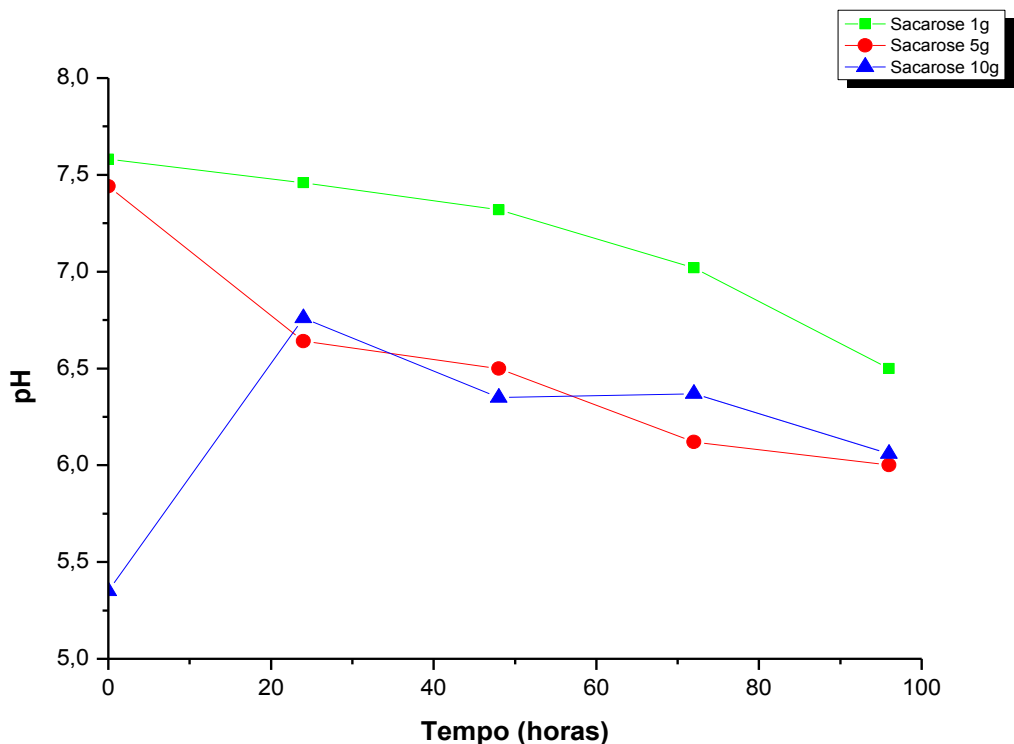
Verifica-se que o crescimento microbiano segue, para todos os substratos com uma cinética de crescimento que compreende as 4 fases habituais do crescimento microbiano.

Para o substrato sacarose - 1 g e 5 g - o tempo de *lag* (fase que ocorre a adaptação das células no meio) é muito reduzido, entrando o sistema praticamente em crescimento exponencial, ao passo, que para a variação de 10 g de substrato, o tempo de *lag* é substancial, indicando que a sacarose - 1 g e 5 g - são a variação de substrato mais indicado para esta fermentação microrganismo.

É notado ainda para o declive da curva de crescimento na etapa exponencial ser semelhante para ambas as concentrações de substratos, indicando que tanto uma quantidade quanto a outra estariam em excesso, e a velocidade de crescimento específico seria máximo.

Os valores da variação do pH para todos os substratos em cada período do processo fermentativo aeróbio estão expressos na Figura 15.

Figura 15 – Variação dos valores de pH do caldo fermentado em função do tempo decorrido da fermentação aeróbia.



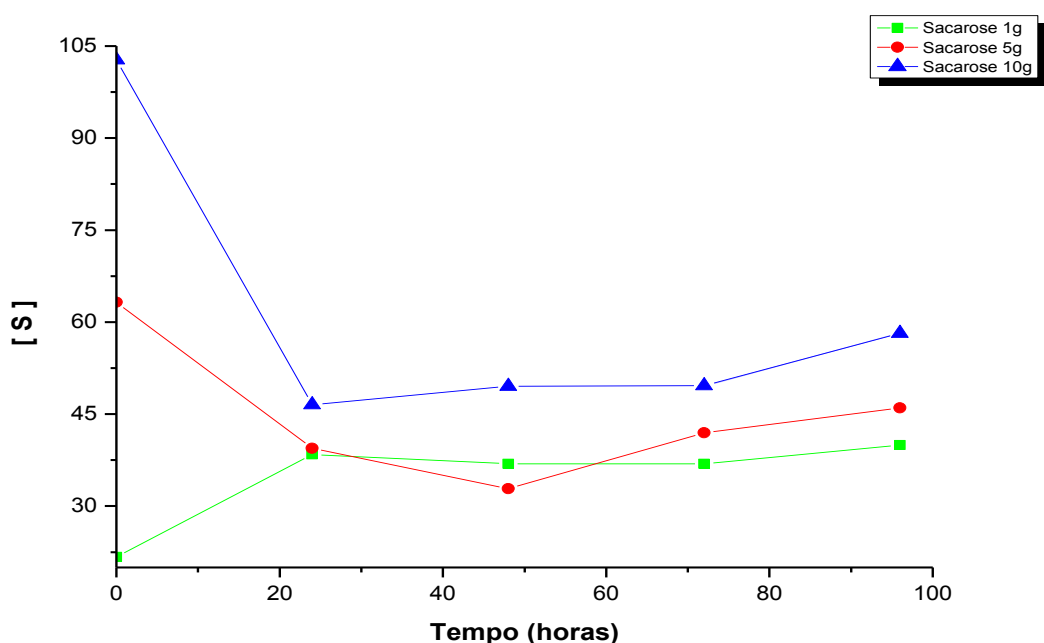
De acordo com o exposto na Figura 15, verifica-se que ocorre um decréscimo do pH do meio para os substratos – 1 g e 5 g -, de 7,58 e 7,44 para 6,5 e 6,0, respectivamente. Teng e colaboradores (2001), relataram que um pH mais baixo aumenta a hidrólise proteolítica de proteínas pela protease extracelular segregada, promovendo assim a desmineralização da casca de camarão.

Analisando os valores de pH com a quantidade removida de minerais na casca após a fermentação (Figura 12), comprova-se que o substrato (5 g) que atingiu o menor valor de pH foi o que mais desmineralizou a casca durante a fermentação aeróbia.

É possível observar que para 10 g de substrato, nas primeiras 24 horas de fermentação, a leitura do pH do caldo fermentado apresentou um aumento de 5,35 para 6,76. Posteriormente os valores de pH foram decrescendo ao longo do processo fermentativo até o ponto de 96 horas (4º dia) atingindo um valor de 6,06, porém permaneceram os níveis adequados para o crescimento celular.

O perfil cinético do consumo de substrato [S], expressos em g.mL^{-1} , em função do tempo de fermentação, está apresentado na Figura 16.

Figura 16 – Comparação dos valores do consumo de substrato em função do tempo decorrido na fermentação aeróbia.



Fonte: dados da autora, 2016.

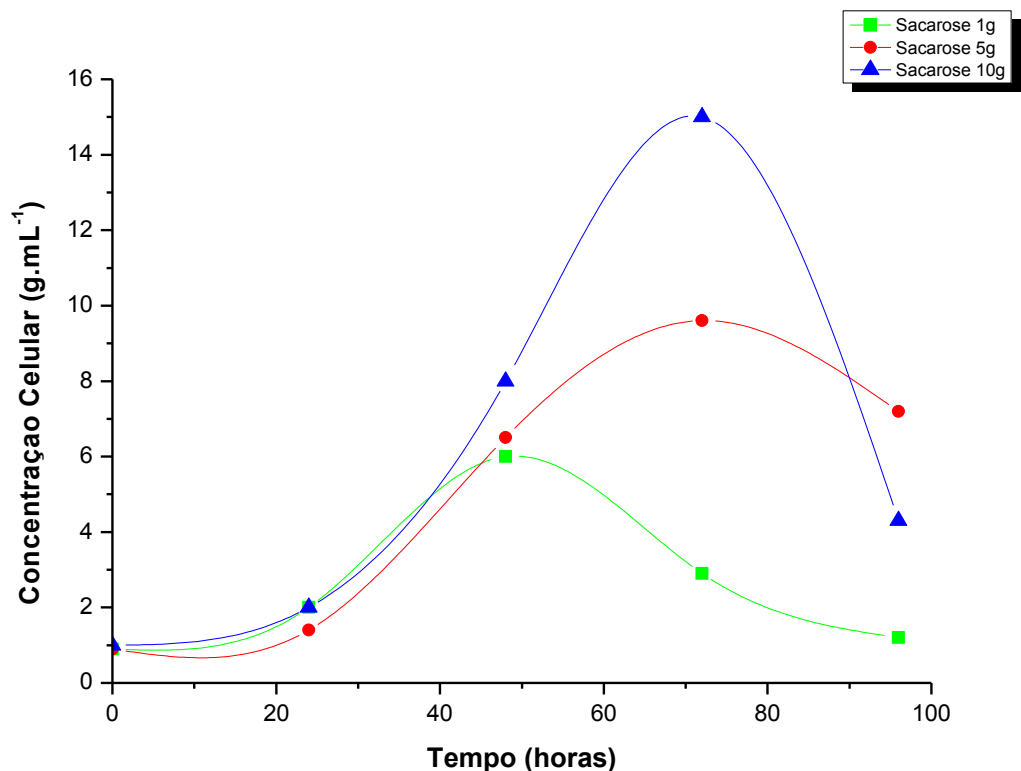
Durante o processo de fermentação da casca de camarão utilizando a sacarose como substrato, observou-se que para as variações de 5 g e 10 g ocorreu um rápido consumo nas primeiras 24 horas, desde então o consumo foi decrescendo ao longo do processo fermentativo, até o ponto de 96 horas (5 dias).

Pode-se notar que para 1 g de substrato, o consumo começou após 24 horas (1º dia).

5.3.1.2 Cinética da fermentação anaeróbia

Por meio da Figura 17 pode-se observar as curvas de crescimento microbiano referente aos três tipos de concentrações de substrato ao longo do processo fermentativo anaeróbio.

Figura 17 – Curvas de crescimento microbiano ao longo do processo fermentativo anaeróbio



Fonte: dados da autora, 2016.

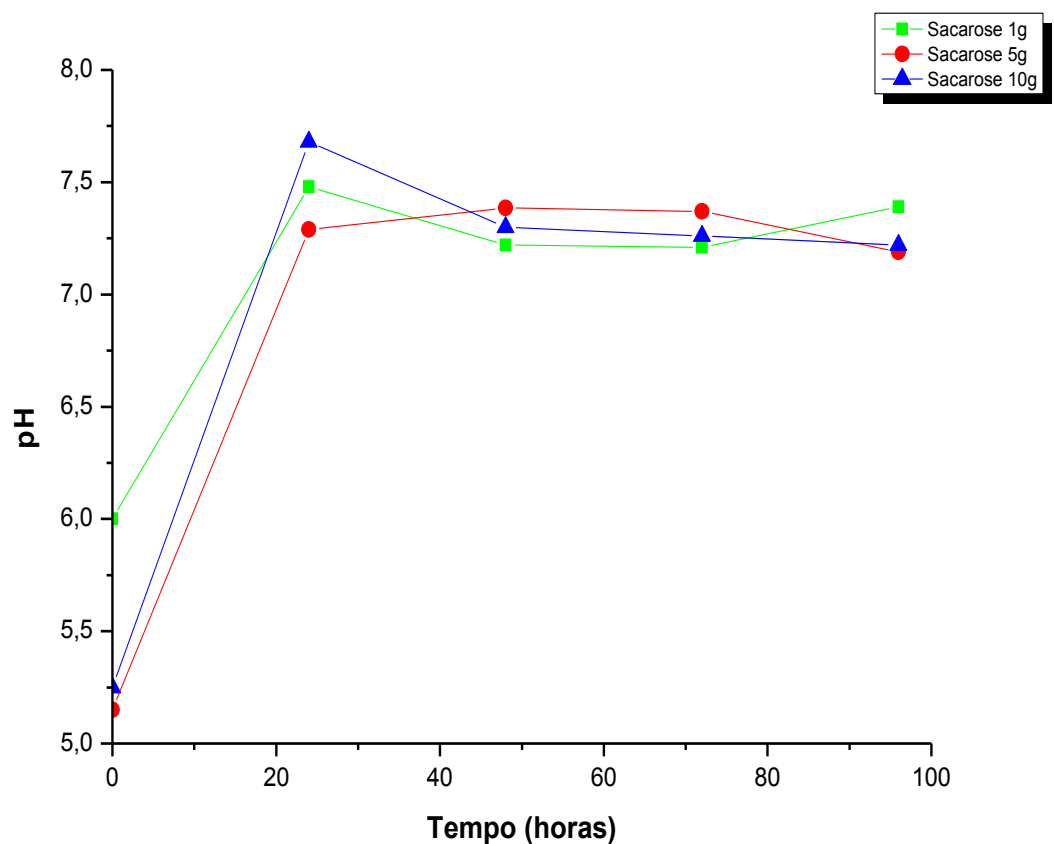
Nota-se que os valores de concentração celular permaneceram semelhantes para todas as variações de substratos, sendo que a fase *lag*, que é a fase de adaptação do microrganismo no meio, pode ser observada durante as primeiras 24 horas.

A partir do primeiro dia verifica-se a fase exponencial em todos os substratos, e nota-se que o maior pico de produção celular foi para o substrato utilizando 10 g de sacarose, que chegou a 15 g.mL^{-1} no quarto dia.

Assim, a fermentação de modo anaeróbico se torna ineficaz devido a esse período de adaptação das células, comparando-a com o processo aeróbico.

Os valores da variação de pH para todos os substratos, em cada período do processo fermentativo, estão expressos na Figura 18.

Figura 18 – Variação dos valores de pH do caldo fermentado em função do tempo decorrido da fermentação anaeróbica



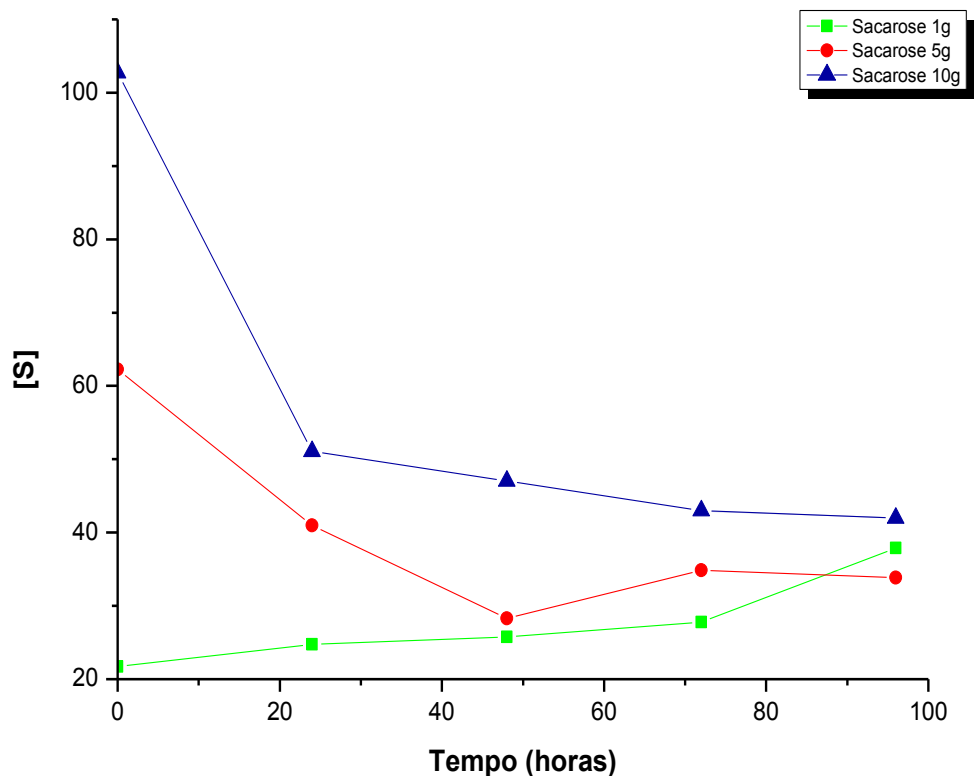
Fonte: dados da autora, 2016.

Diferentemente do processo fermentativo aeróbio, as amostras apresentaram valores de pH inicialmente na faixa de 5,15 – 6,0, no decorrer de 24 horas todas tiveram um aumento no valor do pH, que foi acima de 7,0, tornando o meio neutro durante todo o processo fermentativo.

Estes dados justificam os rendimentos inferiores da remoção de minerais nas cascas aos obtidos pelo processo aeróbio. Porém, na remoção de proteínas durante a fermentação, o meio contendo 10 g de sacarose, foi o mais significativo entre os dois processos fermentativos, o que segundo Jung e colaboradores (2007) com o aumento do pH acima de 7,5 favorece a desproteíntização da casca de camarão.

O perfil cinético do consumo de substrato [S], expressos em $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, em função do tempo de fermentação anaeróbia, está apresentado na Figura 19.

Figura 19 – Comparação dos valores do consumo de substrato em função do tempo decorrido na fermentação anaeróbia.



Fonte: dados da autora, 2016.

De acordo com o exposto, é evidente o consumo do substrato nas primeiras 24 horas para as variações de 5 g e 10 g de sacarose, o que confirma a eficiência do inóculo. Observa-se também que para 1 g de substrato, o consumo do substrato começou após as 24 horas. Verifica-se que o perfil cinético do consumo de substrato no processo fermentativo de modo anaeróbio foi semelhante ao processo fermentativo aeróbio.

5.4 RENDIMENTOS DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DA QUITOSANA

Na Tabela 14 são apresentados os rendimentos obtidos da quitosana quando é adicionado um estágio de fermentação e pelo processo químico.

Tabela 12 – Resumo dos rendimentos da produção de quitosana após etapa fermentativa e processo químico.

Quitina (g)	Processo	Rendimentos	
		(g)	(%)
10,00	Fermentativo	7,95	79,5%
10,00	Químico	6,00	60%

Fonte: dados da autora, 2016.

Analisando a Tabela 14, observa-se que a quitina obtida por meio da fermentação dos resíduos do camarão apresenta maior rendimento do produto final – quitosana – do que a quitina obtida pelos métodos convencionais – químico. Não há relatos na literatura que comprove, a que é possível atribuir esse maior rendimento.

5.5 ANÁLISES DAS CARACTERIZAÇÕES

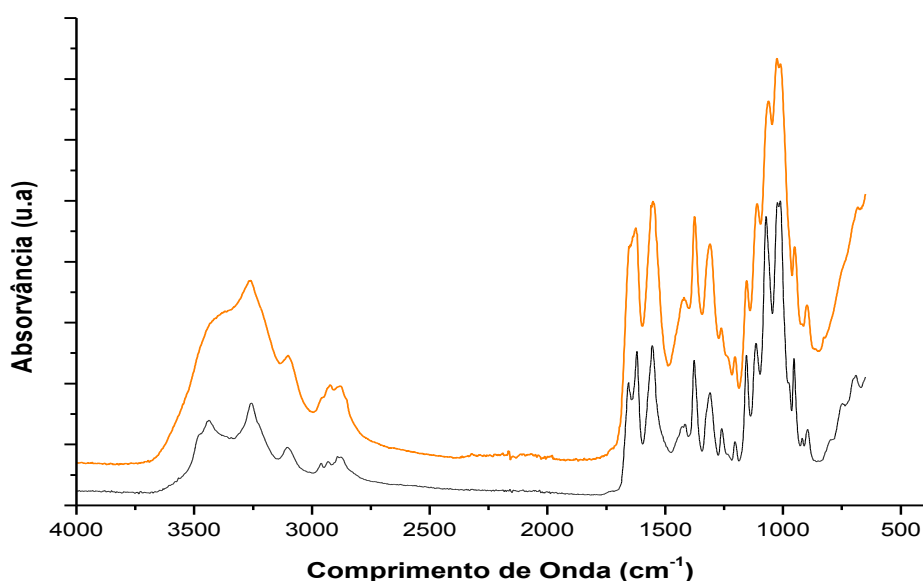
5.5.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

O propósito da caracterização por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é obter a identificação química da macromolécula. O método é realizado por meio da análise dos picos do espectrograma, sendo que

cada absorção ou pico corresponde à vibração de uma ligação química. Cada tipo de ligação química terá um comprimento de onda específico.

Na Figura 20 é apresentado o espectrograma de quitina obtida pelos métodos químicos e fermentativos.

Figura 20 – Espectrograma da Quitina obtida sem fermentação (linha preta) e com fermentação (linha laranja).



Fonte: dados da autora, 2016.

No espectro da quitina, a banda larga com máximo em torno de 3313 cm^{-1} , se deve à deformação axial do grupo O-H associado a outros grupos polares através de pontes de hidrogênio intra e intermoleculares.

A banda na região de 1385 cm^{-1} é característica da vibração de deformação angular simétrica dos grupos metil (CH_3) do grupo acetamida.

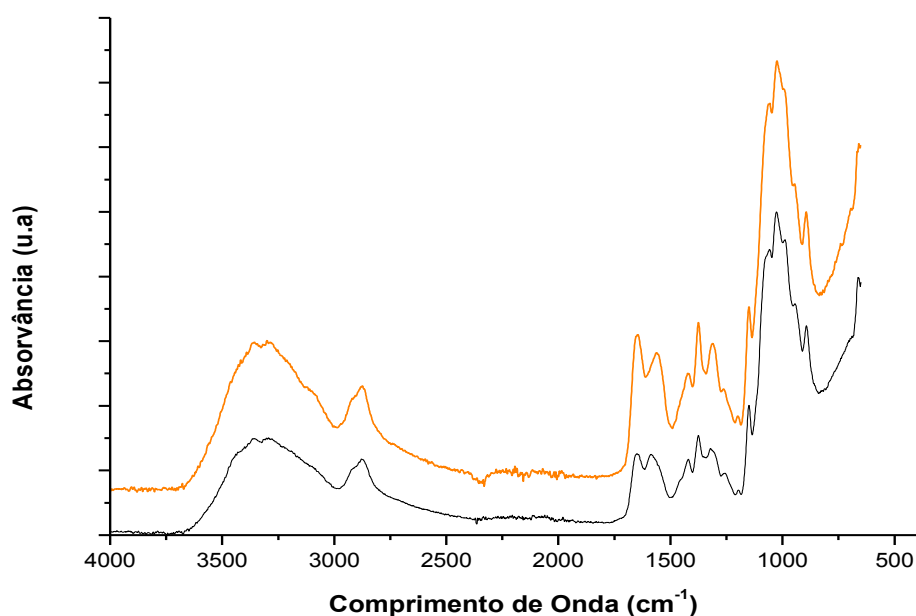
As bandas de absorção na região de 1138 e 896 cm^{-1} (estiramento de ligações C-O-C), 1068 e 1025 cm^{-1} (vibrações de estiramento do grupo C-O) são características da estrutura sacarídea da quitina.

A presença do pico em 1649 cm^{-1} deve-se ao grupo $\text{CH}_3\text{-C=O}$, denotando a presença do grupo acetil.

Ambas as quitinas apresentam os mesmos picos tendo a quitina obtida sem fermentação picos mais definidos possivelmente devido a uma maior pureza.

Na Figura 21 é apresentado o espectrograma da quitosana obtida pelos métodos químicos e fermentativos.

Figura 21 – Espectrograma da Quitosana obtida sem fermentação (linha preta) e com fermentação (linha laranja)



Fonte: dados da autora, 2016.

No espectro da quitosana, observam-se algumas diferenças do espectro da quitina, que se deve aos diferentes índices de grupos acetamida.

Dentre essas diferenças, nota-se o desaparecimento do ombro em 3480 cm⁻¹ e da banda 1560 cm⁻¹, este último devido à deformação do NH₂ (amida II), que está relacionada com a carbonila (C=O) que à medida que o grau de desacetilação aumenta, vai diminuindo.

O desaparecimento das bandas entre 3200 e 3100 cm⁻¹, refere-se à desacetilação do grupo acetamida (NHCOCH₃) da quitina, transformando-se em amina.

5.5.2 Grau de desacetilação

O grau de desacetilação é um dos principais parâmetros de caracterização, porque influencia nas propriedades físico-químicas e mecânicas do polímero, pois determina a quantidade de grupos amino na amostra.

Os graus de desacetilação das quitosanas foram calculados por meio da Equação 4, descrita no item 4.7.2. Os resultados estão expostos na Tabela 15.

Tabela 13 – Graus de desacetilação das amostras de quitosana.

Amostra	Grau de desacetilação (%)
Quitosana (químico)	83
Quitosana (fermentativo)	77

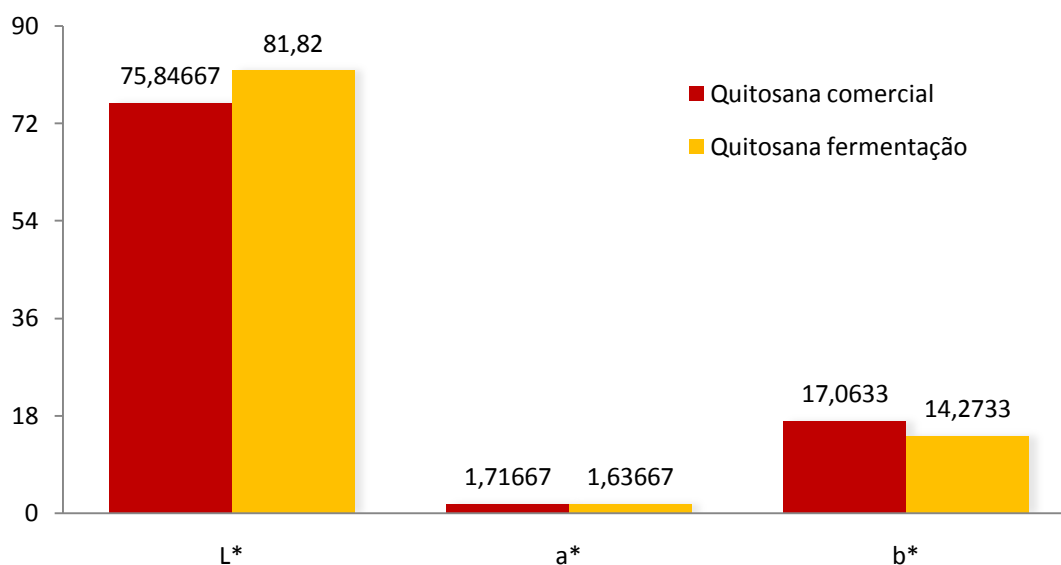
Fonte: dados da autora, 2016.

Observa-se que ambas as quitosanas obtiveram o grau de desacetilação >50, o que de acordo com Alves e Mano (2008), considera-se uma quitosana solúvel em ácidos diluídos. Outra característica que se pode atribuir quanto ao grau de desacetilação, é que ambas estão dentro das especificações de quitosana para dispositivos médicos, que fica entre 70 – 90 % (LISBOA, 2012). Assim, considera-se que a desacetilação das quitosanas alcançaram valores dentro dos padrões exigidos, o que comprova a eficiência do processo.

5.5.2 Colorimetria

Os valores das cores L^* , a^* e b^* estão exposto na Figura 22 e a coloração das duas quitosanas, são mostradas na Figura 23.

Figura 22 – Valores de L*, a* e b* de quitosanas preparadas sob diferentes condições. Os valores estão expressos em média



Fonte: dados da autora, 2016.

Nota-se que entre as duas quitosanas o maior valor em L* e menor valor em a* e b*, foram observados para a quitosana obtida pelo processo fermentativo. Isto sugere que durante a fermentação ocorreu a remoção do carotenoide astaxantina, o que favoreceu na coloração do produto final – quitosana. Entretanto, não se pode afirmar a quantidade de pigmento recuperado durante a fermentação, assim se faz necessária a quantificação do pigmento na fração líquida obtida pela fermentação com *Saccharomyces cerevisiae*.

Figura 23 – (A) Quitosana com uma etapa de fermentação; (B) Quitosana comercial.



Fonte: própria da autora, 2016.

A produção de quitosana pelo processo de fermentação sem o uso de um agente branqueador reduziria consideravelmente o custo de produção devido à redução do uso de produtos químicos e de descargas de águas residuais volumosas. Já que, no processo químico de produção de quitosana, se fazem necessárias etapas de branqueamento, utilizando álcool etílico (YOUN et al., 2007).

6 CONCLUSÕES

- A composição da casca do camarão *Litopenaeus vannamei* é de 55,3 % de carga mineral, sendo cerca de 60 % de Carbonato de Cálcio, 24,3 % de proteínas e 20,45 % de quitina;
- A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi eficiente na fermentação dos resíduos de camarão, resultando na preservação de 3 % de quitina;
- A fermentação aeróbia mostrou-se eficiente, com cerca de 25 % e 11 % respectivamente nas etapas de desproteinização e desmineralização, em relação à fermentação anaeróbia no processo de extração de quitina da casca de camarão;
- A quantidade de 5 g de substrato na fermentação aeróbia foi a mais representativa, removendo cerca de 74 % de minerais e 42 % de proteínas;
- O grau de desacetilação da quitosana, de 77 % com uma etapa fermentativa está de acordo com os padrões estabelecidos da quitosana para dispositivos médicos.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Otimização nas condições operatórias no processo fermentativo devem ser realizadas, bem como o ajuste de pH no meio e maior tempo de fermentação, para provocar maior desmineralização e desproteínização da casca;
- São necessários mais ensaios de caracterização do produto final, que são imprescindíveis para se obter uma quitosana de grau médico, como: Peso molecular, solubilidade, conteúdo em proteínas, conteúdo em cinzas e grau de cristalinidade;
- Torna-se necessária a quantificação do carotenoide astaxantina por espectrofotometria UV-Visível, a fim de validar a eficiência da recuperação do pigmento por fermentação.

REFERÊNCIAS

ABCC – Associação Brasileira de Criadores de Camarões. O Censo da carcinicultura nacional em 2011. **Revista Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, v. 15, n. 1 p. 24-28, 2013.

ALBUQUERQUE, Carlos A. Modelagem Molecular Aplicada ao Desenvolvimento de sistema Nanoscópicos Bioativos, 2008. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais)**, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá – MG, 2008.

ALVES, N.; MANO, J. Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 43, n. 5, p. 401-414, 2008.

ANTONINO, N. Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana. João Pessoa, Programa de Pós-graduação em Química, UFPB, 2007. **Dissertação (Mestrado em Química)**, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2007.

ANTONINO, R. S. C.; FREITAS, P. A.; VASCONCELOS, A. L.; LIMA, R. J. S.; LIA FOOK, M. V. FIO MONOFILAMENTAR À BASE DE QUITOSANA: UMA ALTERNATIVA PARA FIOS DE SUTURA ABSORVÍVEIS. In: 4^a Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais. Campina Grande – PB, 2016. **Anais.**, 2016. CD Room.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, 1995.

BEZERRA, A. M. Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia Químico-Farmacêutica)**, Universidade de São Paulo. São Paulo-SP: 2011.

BHASKAR, N.; SURESH, P. V.; SAKHARE, P. Z. Shrimp biowaste fermentation with *Pediococcus acido lactici* CFR2182: Optimization of fermentation conditions by response surface methodology and effect of optimized conditions on deproteination/demineralization and carotenoid recovery. **Enzymeand Microbial Technology**, v. 40, n. 5, p. 1427-1434, 2007.

BRANGEL, L. M. **Desenvolvimento de hidrogéis a base de quitosana e ácido lactobiônico com adição de nanoelementos**. 2011. 55f. Trabalho de conclusão de curso - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

CAMPANA-FILHO, S. P.; DE BRITO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R. Extração, estruturas e propriedades de alpha-e beta-quitina. **Química Nova**, São Carlos – SP, v. 30, n. 3, p. 644, 2007.

CARTIER, N.; DOMARD, A.; CHANZY, H. Single crystals of chitosan. **International journal of biological macromolecules**, v. 12, n. 5, p. 289-294, 1990.

CASTRO, A. A.; PAGANI, G. D. Secagem e composição química da cabeça de camarão (*Litopenaeus vannamei* Boone) a diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, n. 2, p. 123-129, 2004.

CAVALCANTI, A. S. R.; FURTADO, G. T. Morphological characterization of chitin extraction. **Journal of Chitin and Chitosan Science**, v. 1, n. 2, p. 157-160, 2013.

COSTA, A. C. F. M.; LIA FOOK, M. V.; BEZERRA, D. C.; CHAVES, S. A.; AZEVEDO, V. V. C. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande – PB, v.2, n. 3 p. 27-34, 2007.

DE SOUZA, F. M.; FERREIRA, R. D. M. S.; CARDOSO, R. UTILIZAÇÃO DA CASCA DE CAMARÃO PARA PRODUÇÃO DE QUITINA. **Revista Scire**, v. 7, n. 1, p. 1, 2015.

DELEZUK, J. A. de M. Desacetilação de beta-quitina assistida por ultra-som de alta intensidade: estudo dos efeitos da amplitude e do tempo de irradiação e da temperatura de reação. 2009. 97 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências)** - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Paulo, 2009.

DOS SANTOS, J. E.; SOARES, J. da P.; DOCKAL, E. R. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

FERREIRA, P.; GIL, M. Polissacarídeos como biomateriais. **Química**, v. 100, p. 72-74, 2006.

FISHERIES, F. The State of World Fisheries and Aquaculture: 2008. **Food and agriculture organization of the United Nations**, 2009.

GOTO, S.; KOGURE, K.; ABE, K.; KIMATA, Y.; KITAHAMA, K. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1512, n. 2, p. 251-258, 2001.

GUERIN, M.; HUNTLEY, M. E.; OLAIZOLA, M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. **TRENDS in Biotechnology**, v. 21, n. 5, p. 210-216, 2003.

JUNG, W.; JO, G. H.; KUK, J. H.; KIM, Y. J.; OH, K. T.; PARK, R. D. Production of chitin from red crab shell waste by successive fermentation with *Lactobacillus*

paracasei KCTC-3074 and Serratiamarcescens FS-3. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 4, p. 746-750, 2007.

KHOR, E. Chitin: a biomaterial in waiting. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 6, n. 4, p. 313-317, 2002.

KHOR, E. The structural properties of chitin as it is known today. In: (Ed.). **Chitin: Fulfilling a Biomaterials Promise**: Elsevier New York, p.73-82, 2001.

KNORR, D. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. **Food technology (USA)**, p. 114-120, 1991.

KUMAR, M. N. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and functional polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 2000.

KURITA, K.; TOMITA, K.; TADA, T.; ISHII, S. Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 485-491, 1993.

KURITA, K. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. **Marine Biotechnology**, v. 8, n. 3, p. 203-226, 2006.

LISBOA, H.M. **Produção De Quitosano e Desenvolvimento De Novos Materiais a Partir De Resíduos Alimentares**. 2011. Tese (Ciência e Engenharia de Materiais) - Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2012.

MAJETI N.V.; KUMAR R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers** 46, 1–27, 2000.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia 2011**. Rio de Janeiro: Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012, p.60.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **Journal of Chemical Education**, v. 67, n. 11, p. 938,1990.

MCMURRY, J. Química orgânica. v. 1 e 2. **São Paulo**: Pioneira Thomson, 1996.

MELLO, K. G. P. C. D. et al. Synthesis and physicochemical characterization of chemically modified chitosan by succinic anhydride. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 49, n. 4, p. 665-668, 2006.

MOFFATT, M. F.; COOKSON, W. O. Genetics of asthma and allergic disease. **Human molecular genetics**, v. 9, n. 16, p. 2359-2364, 2000.

MUZZARELLI, R. A. Natural chelating polymers; alginic acid, chitin and chitosan. In: (Ed.). **Natural chelating polymers; alginic acid, chitin and chitosan**: Pergamon Press, 1973.

NAGUIB, Y. M. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1150-1154, 2000.

PINTO, L. A. A.; ALMEIDA, J.; SCHIMIDT, C.; MUSZINSKI, P.; MOURA, C de M. Quitina e Quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: Avaliação do processo em escala piloto. **Revista de ciências exatas e engenharias**, Rio Grande, v. 16, n.1,p.37-45, 2006.

RAO, M.; MUNOZ, J.; STEVENS, W. Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, n. 6, p. 808-813, 2000.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; LEMONS, J. E. **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine**. Academic press, 2004.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in polymer science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

ROBERTS, G. A. F. **Chitin Chemistry**, Macmillan. London 14.v.3, p.166-169, junho, 1992.

ROCHA, I. D. P.; RODRIGUES, J. A. A carcinicultura brasileira em 2003. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, n. 6, p. 1, 2004.

ROSA, C. G. Quitina e quitosana: Aspectos gerais de obtenção e aplicações. Departamento de Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas – RS, 2008.

SANFORD, P.; HUTCHINGS, G. Chitosan--a natural, cationic biopolymer: commercial applications. **Progress in biotechnology**, v. 3, p. 363-376, 1987.

SANTOS, J. E. **Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre**. 2004. 124f. Tese (Doutorado em Ciências – Área Química Analítica) - Departamento de Química, Universidade federal de São Carlos, São Paulo, 2004.

SHAHIDI, F.; HEU, M. S.; KIM, J. S. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. **Food Chemistry**, v. 82, n. 2, p. 235-242, 2003.

SHIGEMASA, Y.; MATSUURA, H.; SASHIWA, H. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 18, n. 3, p. 237-242, 1996.

SINI, T. K.; SANTHOSH, S.; MATHEW, P. T. Study on the production of chitin and chitosan from shrimp shell by using *Bacillus subtilis* fermentation. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 16, p. 2423-2429, 2007.

SINIMBU, F. Mais Camarão em menos tempo. EMBRAPA, 2012. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=26824&secao=Pacotes%20Tecnol%F3gicos>. Acesso em 25 de Janeiro de 2016.

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37, n. 2, p. 155-161, 2008.

TENG, W. L.; KHOR, E.; TAN, T. K.; LIM, L. Y.; TAN, S. C. Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. **Carbohydrate research**, v. 332, n. 3, p. 305-316, 2007.

THATTE, M. R. **Synthesis and antibacterial assessment of water-soluble hydrophobic chitosan derivatives bearing quaternary ammonium functionality**. 2004. Dissertação (Mestrado em Química) - Louisiana State University, Louisiana, 2004.

TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R. Kinetic and physico-chemical characterization of cashew (*Anacardium occidentale* L.) wine. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 489-492, 2006.

VASCONCELOS, M.M.M.; SILVEIRA, V.M.M.A. Rendimento e composição química dos componentes estruturais do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, cultivado no município de Acaraú/CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS; 19., 2004, Recife. **Anais...** Recife: SBCTA, 2004. CD Room.

YOUN, D. K.; NO, H. K.; PRINYAWIWATKUL, W. Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 4, p. 707-712, 2007.