



ESTUDO DA ETAPA DE DESMINERALIZAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE QUITINA OBTIDA A PARTIR DE CASCAS DE CARANGUEJO

**LEITÃO, Livia¹; MOURA, Jaqueline Motta de²; RIZZI, Jaques³; PINTO, Luiz
Antonio de Almeida⁴.**

^{1,2,3,4} Escola de Química e Alimentos– Universidade Federal do Rio grande/FURG
Rua Engº. Alfredo Huch, 475 – CEP 96200-090. dqmpinto@furg.br

1. INTRODUÇÃO

A quitina é encontrada nos exoesqueletos de crustáceos, na parede celular de fungos e em outros materiais biológicos, juntamente com proteínas, lipídeos e carbonato de cálcio (Tolaimate, *et. al.*, 2000). Este polímero pode ser utilizado como agente floculante no tratamento de efluentes, como adsorvente na clarificação de óleos, e principalmente na produção de quitosana.

A quitina, e seu produto, a quitosana, têm grande valor no mercado, o que torna viável a sua obtenção pelo reaproveitamento dos resíduos de caranguejo e de outros crustáceos (Craveiro, *et. al.*, 1999).

O fato de a quitina se tratar de um produto natural e de ser extraída de biomassa cuja biossíntese não está em estrito controle genético, ocorrem variações de composição, assim, a completa eliminação das substâncias com as quais naturalmente a quitina ocorre associada não é uma simples tarefa e é por vezes muito difícil atingir um determinado padrão de pureza (Campana-Filho, *et. al.*, 2007)

As etapas de extração de quitina são desmineralização, desproteínização e desodorização (Soares, *et. al.*, 2003; Moura, *et. al.*, 2005). O caranguejo apresenta em sua composição um alto teor de cinzas e 15 a 25% de quitina, que pode ser extraída e transformada em quitosana (Naczki, *et. al.*, 2004; Chen, *et. al.*, 2006).

Diferentes soluções aquosas de diferentes ácidos, como HCl, HNO₃, H₂SO₄, HCOOH, H₃CCOOH, podem ser empregadas na desmineralização, etapa na qual são eliminados os sais minerais, principalmente carbonato e fosfato de cálcio. O tratamento pode ser executado em diferentes condições de temperatura e tempo que podem variar de 0 a 100°C e de 30 minutos a 48 horas, respectivamente (Rhazi, *et. al.*, 2000; Tolaimate, *et. al.*, 2003; Abdou, *et. al.*, 2008). Entretanto, condições rigorosas devem ser evitadas, pois provocam degradação das propriedades macromoleculares da quitina.

Este trabalho tem por objetivo reduzir a quantidade de cinzas (material inorgânico) da carapaça de caranguejo, através da otimização da etapa de desmineralização para obtenção de quitina utilizando a metodologia do

planejamento experimental fatorial. As variáveis do estudo foram: concentração do ácido, tempo e relação de ácido/quantidade de carapaça, tendo como resposta a redução do teor de cinzas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A matéria-prima utilizada para realização dos experimentos foram carapaças de caranguejo, moídas com aproximadamente 4mm de diâmetro, em um moinho de facas *WileyMill* – motor 1,1 kw.

O estudo da etapa de desmineralização foi realizado em escala de bancada, assim, pesou-se uma massa de 25g de carapaça que foram colocadas em oito recipientes de vidro devidamente fechados, contendo soluções de ácido clorídrico, conforme a matriz de planejamento experimental apresentado na Tabela 1.

As análises de composição centesimal (umidade, cinzas e N-total) para caracterização da matéria-prima foram realizadas, segundo os métodos oficiais da A.O.A.C (1995).

Para analisar os efeitos da concentração do ácido, tempo e relação solução ácida/carapaça de caranguejo, na etapa de desmineralização foi utilizado um planejamento experimental do tipo fatorial completo 2^3 com 3 fatores e 2 níveis de variação e ponto central, com o objetivo de estabelecer a significância dos fatores de estudo na operação e a região de trabalho a ser utilizada (Box, Hunter & Hunter, 1978).

A matriz de planejamento experimental fatorial completo, com os níveis e os valores utilizados está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Matriz do planejamento experimental para etapa de desmineralização, com os níveis e seus respectivos valores utilizados.

Experimentos	Concentração HCl		Tempo		Relação ácido/carapaça	
	A*	(% v/v)	B*	(h)	C*	(mL/g)
1	-1	10	-1	12	-1	4:1
2	+1	20	-1	12	-1	4:1
3	-1	10	+1	24	-1	4:1
4	+1	20	+1	24	-1	4:1
5	0	15	0	18	0	7:1
6	-1	10	-1	12	+1	10:1
7	+1	20	-1	12	+1	10:1
8	-1	10	+1	24	+1	10:1
9	+1	20	+1	24	+1	10:1

*Valores na forma codificada.

Os valores utilizados na matriz de planejamento experimental foram definidos conforme faixa de valores citados por diversos autores (Kamil, *et. al.*, 2002; Tolaimate, *et. al.*, 2003; Naczka, *et. al.*, 2004; Chen, *et. al.*, 2006; Gamage & Shahidi, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de composição centesimal da carapaça de caranguejo in-natura foram de $6,6 \pm 0,2\%$ de umidade, $68,6 \pm 0,5\%$ de cinzas e $1,7 \pm 0,2\%$ de N-total.

Estes resultados de percentual de cinzas foram semelhantes aos encontrados por Abdou, *et. al.*, (2008), (66,58) para resíduos de caranguejo. Porém, o percentual de quitina citado pelo autor foi de 16,7% enquanto que o utilizado nos experimentos foi de 22,8%. Essa variação de composição pode ocorrer devido ao fato das fontes de extração de quitina ser de biomassa cuja biossíntese não possui estrito controle genético.

Os resultados das análises de composição centesimal do teor de cinzas após a realização dos experimentos, e os percentuais de redução estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores da matriz de planejamento experimental para as respostas de teor de cinzas e seu percentual de redução.

Experimento	Teor de Cinzas (%)	Percentual de Redução de Cinzas (%)
1	11,81 ± 0,2	82,8 ± 0,2
2	6,54 ± 0,4	90,5 ± 0,4
3	11,13 ± 0,9	83,8 ± 0,9
4	4,09 ± 0,1	94,0 ± 0,1
5	4,88 ± 1,0	93,0 ± 1,0
6	4,10 ± 0,3	94,0 ± 0,3
7	1,78 ± 0,2	97,4 ± 0,2
8	3,11 ± 0,4	95,5 ± 0,4
9	0,56 ± 0,1	99,2 ± 0,1

A partir da análise da Tabela 2, pode-se constatar que o tratamento com soluções diluídas de HCl, em tempos médios e à temperatura ambiente, nas faixas utilizadas, assegurou uma ação bem satisfatória de remoção dos sais minerais.

Para análise estatística da resposta considerada (percentual de redução do teor de cinzas), obtida através dos experimentos da Tabela 1. Foi utilizada uma análise de variância (Quadro de ANOVA) e análise de regressão não linear para obter os valores teóricos do cubo de resposta, esta análise estatística foi realizada utilizando o software Statgraphics Plus 5.0.

Através da análise estatística utilizada para os valores do percentual de redução de cinzas apresentados na Tabela 2, foram obtidos o quadro de ANOVA (Tabela 3), o gráfico de pareto (Figura 1) para analisar a significância dos fatores. O gráfico dos efeitos principais (Figura 2) para analisar a influência de cada fator e o cubo de resposta (Figura 3) para determinar a região de trabalho para a maior redução do percentual de cinzas.

Tabela 3: Quadro de ANOVA.

Fatores	Σ quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	Teste-F	Significância
A: Concentração HCl	78,437	1	78,437	139,10	0,0071
B: Tempo	7,5466	1	7,5466	13,380	0,0673
C: Relação	153,39	1	153,39	272,01	0,0037
AB	1,0585	1	1,0585	1,8800	0,3042
AC	14,769	1	14,769	26,190	0,0361
BC	0,2278	1	0,2278	0,4000	0,5901
Erro total	1,1278	1	1,1278		
Total	256,56	7			

Através do gráfico de ANOVA e do gráfico de pareto dos efeitos padronizados (Figura 1) pode-se observar que os efeitos principais, relação ácido/carapaça,

concentração e a interação de primeira ordem relação e concentração, foram significativos ao nível de 95% ($p < 0,05$), representado pela linha vertical da figura 1.

O cubo de resposta é apresentado na Figura 2, onde nos vértices estão colocados os percentuais de redução de cinzas, e nas arestas os níveis dos fatores de estudo.

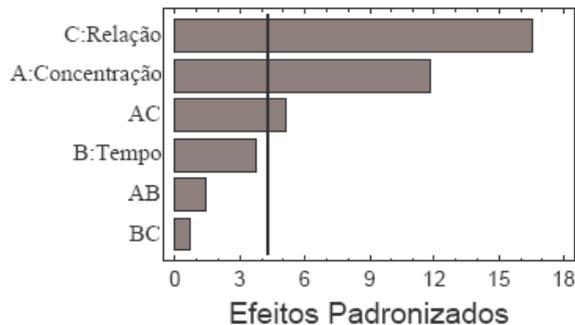


Figura 1: Gráfico Pareto para resposta do teor de cinzas na carapaça de caranguejo.

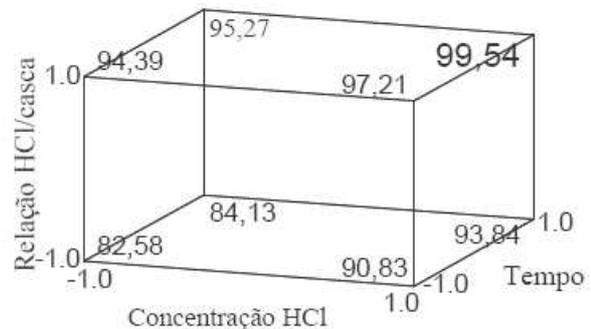


Figura 2: Cubo de resposta para percentual de redução de cinzas.

Pode-se observar através da Figura 2, que os maiores percentuais de redução de cinzas da carapaça de caranguejo, foram alcançados nos maiores níveis (+1) de concentração, tempo e relação de ácido/carapaça. Portanto, a faixa de trabalho recomendada é na concentração de HCl de 20% v/v, no tempo de 24h e na relação de solução ácido/carapaça de 10:1.

4. CONCLUSÕES

A metodologia experimental utilizada no presente trabalho mostrou-se adequada, pois houve uma redução de 99,2% do teor de cinzas em relação a carapaça in-natura. A melhor condição de operação foi definida com a utilização de solução de ácido clorídrico a 20% v/v, tempo de 24 h de reação e na relação de solução de 10:1 em relação a carapaça de caranguejo de 0,6%.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC – Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J. S. Statistics for experiments: Na introduction to design, data analysis and model building. New York, John Wiley & Sons, 1978.
- CHEN, P.; HSIEH, B.; CHEN, R.L.C.; WANG, T.; HSIAO, H.; CHENG, T. Characterization of natural chitosan membranes from the carapace of the soldier crab *Mictyris brevidactylus* and its application to immobilize glucose oxidase in amperometric flow-injection biosensing system. *Bioelectrochemistry*, 2006, v. 68, p. 72-80.
- GAMAGE, A.; SHAHIDI, F. Use of chitosan for the removal of metal ion contaminants and proteins from water. *Food Chemistry*, 2007.
- KAMIL, J.Y.V.A.; JEON, Y.; SHAHIDI, F. Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*); *Food Chemistry*, 2002, v. 79, p. 69-77.
- MOURA, J.M.; FERREIRA, F.C.; SILVA, F.M.M.; RIZZI, J.; PINTO, L.A.A. Obtenção de quitina a partir de carapaças de siri (Maia Squinado): Uso de um Planejamento Experimental na Etapa de Desmineralização, *Vetor*, 2005, v. 15. p. 7-17.
- NACZK, M.; WILLIAMS, J.; BRENNAN, K.; LIYANAPATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Compositional characteristics of green crab (*Carcinus maenas*), 2004, v. 6.
- SOARES, N.M.; MOURA, C.M.; VASCONCELOS, S.; RIZZI, J.; PINTO, L.A.A. Obtenção de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto, *Revista Univap*, 2003, v. 10, p. 88-92.
- TOLAIMATE, A.; DESBRIÈRES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A.; VINCENDON, M.; VOTTERO, P. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin os chitosan. *Polymer*, 2000, v. 41, p. 2463-2469.
- TOLAIMATE, A.; DESBRIÈRES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 2003, v. 44, p. 7939-7952.
- CAMPANA-FILHO, S.P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F.R.; CARDOSO, M.B.; BATTISTI, M.V.; SIM, P.C.; GOY, T.C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R.L. Extração, estrutura e propriedades de α - e β -quitina. *Química Nova*, 2007, v. 30, p. 644-650.

ABDOU, E.S.; NAGY, K.S.A.; ELSABEE, M.Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 2008, v. 99, p. 1359-1367.

RHAZI, M.; DESBRIÈRES, J.; TOLAIMATE, A.; ALAGUI, A.; VOTTERO, P. Investigation of different natural sources of chitin: influence of the source and deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan. *Polymer International*. 2000, v. 49. p. 337-344.