

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TESE

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CARACAÇA DA VIOLA
(*Loricariichthys anus*)**

André Silveira da Silva

Pelotas, 2017

ANDRÉ SILVEIRA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CARACAÇA DA VIOLA
(*Loricariichthys anus*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Produção Animal).

Orientador: Sérgio Renato Noguez Piedras

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S111c Silva, André Silveira da

Caracterização físico-química da carcaça da viola -
Loricariichthys anus / André Silveira da Silva ; Sérgio
Renato Noguez Piedras, orientador. — Pelotas, 2017.
48 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,
Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Pesca artesanal. 2. Resíduos. 3. Aproveitamento. 4.
Loricariichthys anus. I. Piedras, Sérgio Renato Noguez,
orient. II. Título.

CDD : 639.3

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

ANDRÉ SILVEIRA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CARAÇA DA VIOLA
(*Loricariichthys anus*)**

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data: 29 de junho de 2017.

Banca examinadora:

Sérgio Renato Noguez Piedras (Presidente da banca). Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Juvêncio Luís Osório Fernandes Pouey. Doutor em Produção Animal pela Universidade de Zaragoza

Helen Cristina dos Santos Hackbart. Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

João Morato Fernandes. Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Beatriz Simões Valente. Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Dedicatória

A minha família e as pessoas que vivem da pesca

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Sérgio Renato Noguez Piedras, pela oportunidade de realizar esse trabalho, além da compreensão dos momentos bons e ruins ao longo dessa jornada.

A todos que me incentivaram a iniciar esta jornada, em especial o prof. Eduardo Xavier e as colegas Ana Elice, Beatriz Valente e Michelle Lopes.

Aos parceiros de pescaria Mauro, Juvêncio, Daiane, Suzane e Charles.

As pessoas que contribuíram de maneira fundamental para a conclusão deste trabalho, entre elas os professores Fábio e Aline, Caroline Bavaresco e Helen Hackbart.

Resumo

SILVA, André da Silveira. **Caracterização físico-química da carcaça da viola – *Loricariichthys anus***. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas.

A atividade pesqueira representa uma importante fonte de alimento, empregos e de benefícios econômicos às pessoas que se dedicam a esta atividade. Além disso, a crescente demanda por alimentos, especialmente de proteínas de origem animal tem estimulado a criação e aprimoramento das técnicas de produção das espécies nativas, permitindo a exploração auto-sustentada. A viola (*Loricariichthys anus*), é a espécie de maior interesse comercial da lagoa Mangueira. Nos anos de 2010 e 2011, a quantidade de viola capturada representou respectivamente 72,5% e 52,2% do total capturado (SANTOS, 2012). Os resíduos da filetagem representam 60% do total capturado, sendo todo este produto descartado gerando danos ao ambiente. Fica evidente a necessidade de um destino adequado a grande quantidade de resíduo gerada. Sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado, evitando a contaminação do solo ou da água. Neste sentido foi desenvolvido um estudo sobre a composição química da carcaça da viola, para avaliar a quantidade e a qualidade das substâncias a ela associadas, principalmente proteína, gordura e minerais. Os resíduos da filetagem da viola apresentam características bromatológicas, com altos níveis de proteína, gorduras e minerais, com potencial para seu aproveitamento para alimentação animal. A elevada concentração de ácidos graxos pode ser de alto valor econômico, desde que seu perfil seja determinado. Com o objetivo de avaliar os melhores parâmetros para obtenção de quitina, foram realizados tratamentos experimentais para as etapas de desmineralização e desproteínização. Os resultados demonstram baixo rendimento em quitina, mas uma elevada concentração de proteína na viola desmineralizada, indicando a possibilidade de uso como substituinte proteico em dietas para animais. Em cada etapa do processo foi feita caracterização bromatológica e por espectroscopia na região do infravermelho, confirmando a presença de quitina na forma beta (β -quitina).

Palavras-chave: Pesca artesanal, resíduos, aproveitamento, *Loricariichthys anus*.

Abstract

SILVA, André Silveira da. **Physicochemical characterization of the carcass of Viola fish – *Loricariichthys anus***. Ph.D. Dissertation. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas.

The fishing activity represents an important source of food, employment and economic benefits to the people that dedicate themselves to this activity. Additionally, the increased demand for food, especially animal protein, has been responsible for stimulating the development and improvement of techniques for production of native species, allowing the self-sustaining exploitation. Viola fish (*Loricariichthys anus*) is the species of major commercial interest at the Mangueira lagoon region, Brazil. The residues of filet production represent 60% of the total capture, and are directly released to the environment. Therefore, a proper destination for such a large amount of residues becomes evident, reducing the environmental impact and avoiding the soil and fresh water contamination. For that reason, a study was conducted about the chemical composition of Viola carcass in order to evaluate the amount and quality of the related substances, mainly protein, fat and minerals. The residues of Viola filet production present bromatology characteristics containing high levels of protein, fat and minerals with potential to be used as a feedstuff. The high concentration of fatty acids might have an elevated economic value if its profile is determined. With the main purpose of evaluating the better parameters for obtaining chitin, experimental treatments were developed for the steps of demineralization and deproteinization. The results show a low yield of chitin but an elevated protein concentration in the demineralized Viola, indicating the possibility of its utilization as a protein alternative in animal diets. In each step of the process the bromatology characterization and spectroscopy in the infrared region was carried out, confirming the presence of β -chitin.

Key-words: Artisanal fishing, residues, exploitation, *Loricariichthys anus*.

SUMÁRIO

1 Introdução.....	10
2 Revisão bibliográfica.....	12
2.1 A viola.....	12
2.2 Resíduos da pesca.....	12
2.3 Aproveitamento dos resíduos de peixe.....	13
2.3.1 Aproveitamento para consumo animal.....	14
2.3.2 Óleo.....	14
2.3.3 Proteína.....	15
2.3.4 Quitina.....	16
3 Capítulo 1 - Composição bromatológica da carcaça da viola (<i>Loricariichthys anus</i>).....	18
3.1 Introdução.....	18
3.2 Metodologia.....	19
3.3 Resultados e discussão.....	20
3.4 Conclusões.....	21
4 Capítulo 2 Determinação do perfil de ácidos graxos de resíduos de viola por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas.....	22
4.1 Metodologia.....	22
4.2 Resultados e discussão.....	23

5. Capitulo 3 Planejamento experimental para obtenção de quitina a partir de resíduo de viola (<i>Loricariichthys anus</i>).....	25
5.1 Introdução.....	25
5.2 Metodologia.....	27
5.3 Resultados e discussão.....	31
5.4 Conclusões.....	35
6. Capitulo 4 - Caracterização da quitina por espectrometria na região do infravermelho.....	36
6.1 Introdução.....	36
6.2 Metodologia.....	38
6.3 Resultados e discussão.....	38
6.4 Conclusões.....	41
7. Considerações finais.....	42
Referencias.....	43

1 Introdução

A atividade pesqueira representa uma importante fonte de alimento, empregos e de benefícios econômicos às pessoas que se dedicam a esta atividade. Além disso, a crescente demanda por alimentos, especialmente de proteínas de origem animal tem estimulado a criação e aprimoramento das técnicas de produção das espécies nativas, permitindo a exploração auto-sustentada.

A produção mundial de pescado está estimada em 130 milhões de toneladas por ano, sendo descartados cerca de 73 milhões de toneladas (FAO, 2003).

A viola (*Loricariichthys anus*), entre as oito espécies de interesse comercial da lagoa mangueira, representa atualmente a espécie mais capturada. Esta mudança ocorreu a partir de 2006 devido à procura por parte dos pescadores de uma alternativa de diversificação da pesca explorando um recurso ainda não utilizado. Nos anos de 2010 e 2011, a quantidade de viola capturada representou respectivamente 72,5% e 52,2% do total capturado (SANTOS, 2012).

Morfologicamente caracteriza-se pelo corpo depresso, revestido superior e inferiormente por placas ósseas quitinosas. Com um rendimento de carcaça aproximado de 40% de músculo aproveitável para o consumo. Os 60% restantes não são aproveitados e descartados como resíduos.

Considerando-se a quantidade capturada e o rendimento, fica evidente a necessidade de um destino adequado a grande quantidade de resíduo gerada. Sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado, evitando a contaminação do solo ou da água.

Desta forma, se faz necessário um estudo sobre a composição química da carcaça da viola, para avaliar a quantidade e a qualidade de quitina que pode ser obtida, bem como das demais substâncias a ela associadas, principalmente proteína, gordura e carbonato de cálcio, fundamentais para o processo de extração.

Assim temos como hipótese de que os resíduos resultantes da comercialização do filé da viola apresentam produtos de alto valor nutritivo que podem resultar benefícios econômicos e ambientais para a atividade pesqueira da região.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 A viola

Loricariichthys anus (Valenciennes, 1840), é uma espécie conhecida vulgarmente como viola ou cascudo-viola. Pertence à ordem Siluriforme, família Loricariidae. Esta família é considerada a segunda maior em número de representantes na América do Sul, contando com cerca de 600 espécies (SUZUKI, 1981). Os loricarídeos são dotados de respiração acessória, resistentes aos baixos níveis de oxigenação da água e ocupam diversos habitats de água doce, favorecidos pelo hábito alimentar detritívoro-herbívoro. A viola ocorre em clima temperado na Argentina, nos rios costeiros do Uruguai e no Brasil.

Morfologicamente a viola é caracterizada por cabeça pontiaguda com a boca posicionada na parte inferior e presença de grandes lábios. O corpo é revestido por placas ósseas quitinosas com coloração parda amarelado-claro. Adaptada a ambientes lênticos e semi-lóticos, quando jovem alimenta-se de insetos, pequenos moluscos e crustáceos e quando adulta alimenta-se de lodo e detritos orgânicos.

2.2 Resíduos da pesca

De acordo com Seibel e Soares (2003) o setor pesqueiro deve estar engajado nas propostas de emissão zero de resíduos (ZERI, “Zeri Emission Research Initiative”). Deve também gerenciar os resíduos que venham a ser gerados, garantindo a diversificação da linha de produtos, o crescimento sustentável e a responsabilidade sócio-ambiental (BERTOLDI, 2003). No entanto, a quantidade de resíduos de pescado gerada está aumentando devido a fatores como aumento da elaboração e processamento dos produtos da pesca e implantação de novas indústrias (BLANCO et al., 2007).

Os resíduos gerados no processo de filetagem (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) podem representar mais de 60% da matéria-prima utilizada, variando conforme as espécies e o

processamento (PESSATTI, 2001; BATISTA et al., 2007). A composição dos resíduos da indústria pesqueira gera preocupação relativa aos potenciais impactos ambientais negativos decorrentes da disposição deste material diretamente no ambiente ou oferecido in natura aos peixes cultivados (SILVA; CAMARGO, 2002). Vísceras de pescado são ricas em proteínas e ácidos graxos poli-insaturados, principalmente da família ômega-3, apresentando grande variação na sua composição em função da espécie e diferentes períodos do ano (BHASKAR et al., 2007; BHASKAR; MAHENDRAKAR, 2008; MAQSOOD; BENJAKUL, 2010).

As águas residuárias geradas na industrialização de peixe contêm sólidos suspensos totais, restos de peixe e elevadas demandas química e bioquímica de oxigênio (ARRUDA; BORGHESI; OETTERER, 2007) Toda a água gerada no processo deve ser tratada para posterior aproveitamento.

2.3 Aproveitamento dos resíduos de peixe

A produção mundial de pescado, no ano de 2004, foi de aproximadamente cento e quarenta milhões de toneladas, das quais estima-se que 25% foram destinados a fins não alimentícios (FAO, 2007). Resíduos de pescado são geralmente utilizados como adubo, ração, produção de produtos químicos ou depositados em aterro sanitário (CHEN; JACZYNSKI, 2007; CAVALCANTE JÚNIOR et al., 2005). Também pode ser utilizada para a produção de alimentos para consumo humano, mas a maior parte é destinada a produção de farinha e óleo de pescado (ARRUDA, 2004).

A composição química desses resíduos, ricos em nutrientes como proteínas e ácidos graxos ômega-3, torna interessante a pesquisa e o desenvolvimento de produtos para a alimentação humana buscando por alimentos saudáveis, com alto valor nutritivo e preço acessível (MIRANDA et al., 2003).

2.3.1 Aproveitamento para consumo animal

Óleo de peixe produzido a partir dos resíduos de processamento, possui geralmente baixa qualidade, sendo por isso destinado a alimentação animal. A obtenção industrial envolve as etapas de cozimento, prensagem e/ou filtração e centrifugação. Durante o cozimento em pressão elevada, são liberados o óleo e a água da fase sólida, da qual é posteriormente separada por prensagem e/ou filtração, seguido de centrifugação para separar o óleo bruto da água (LEE, 1963).

A fase sólida possui alto teor protéico, e é submetida a secagem para produção de farinha de pescado, que possui cerca de 70% de proteína e é destinada a alimentação animal (ARRUDA et al., 2006; GUERARD et al., 2002).

Os resíduos do beneficiamento de peixe podem ser valorizados mediante a hidrólise da biomassa para a obtenção de silagem de peixe, com grande potencial para utilização como fonte protéica em rações (BORGHESI; ARRUDA; OETTERER, 2007). A silagem é um produto com consistência semipastosa, quase líquida, produzido a partir do peixe inteiro ou de partes dele, conservado pela ação de ácidos (silagem química) ou por fermentação microbiana induzida por carboidratos (silagem biológica). A liquefação da biomassa é promovida pela atividade de enzimas proteolíticas naturalmente presentes nos peixes ou adicionadas (silagem enzimática) (ARRUDA; BORGHESI; OETTERER, 2007).

2.3.2 Óleo

Em geral, o óleo de peixe é composto de uma variedade de ácidos graxos (saturados, mono e poliinsaturados) e alto teor de vitaminas, em especial a vitamina A. Esses ácidos graxos ômega-3, especialmente os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), atuam no combate e prevenção de doenças cardiovasculares e distúrbios cerebrais (LANDS, 2005; MACLEAN et al, 2005). Estudos recentes indicam a possibilidade de que o ômega-3 atue na prevenção e terapia do câncer. Além dos benefícios citados, encontram-se a prevenção de

doenças inflamatórias, autoimunes e diabetes. Atuam diminuindo a concentração de triacilgliceróis e colesterol e aumentando a fluidez da membrana celular (KINSELLA, 1986; WANASUNDARA; SHAHIDI, 1998).

O óleo de peixe possui os mesmos ácidos graxos que qualquer outro óleo ou gordura, mas diferenciando-se na proporção de ácidos poli-insaturados de cadeia longa (BIMBO; CROWTHER, 1991).

A composição do óleo de peixe pode variar em função de diversos fatores, incluindo espécie, estação do ano, sexo e ciclo reprodutor (BERNARDINI, 1986; GONÇALVES; SOUZA-SOARES, 2000).

Espécies pelágicas parecem ser as melhores fontes de EPA e DHA (GONÇALVES; SOUZA-SOARES, 1998, 2000). Peixes de água fria como sardinha, truta, bacalhau e salmão são os que contêm maior quantidade de EPA e DHA. No óleo de sardinha, estes óleos somam entre 20 e 40% do total de ácidos graxos (CONTRERAS, 1994; STAUFFERT, 2000).

2.3.3 Proteína

A proteína de peixes, crustáceos e moluscos (excluídos plantas aquáticas e mamíferos marinhos) representa cerca de 20% das fontes alimentares de proteína animal consumidas no mundo (FAO, 2007). As proteínas musculares do peixe possuem elevado valor biológico, com uma composição balanceada em aminoácidos, particularmente aqueles limitantes em proteínas de origem vegetal, como a metionina e a cisteína.

Peixes de baixa expressão econômica podem ser utilizados para obtenção de concentrados protéicos como “minced fish” e/ou de surimi.

Isolamento de proteínas consiste basicamente em processo de extração para obtenção de produto concentrado livre de interferentes (MARTINS, 2009).

A proteína de peixe pode ser obtida por dois processos diferentes: isolado protéico ou concentrado protéico. Para produção de isolado protéico as proteínas

são solubilizadas utilizando-se valores extremos de pH e depois precipitadas isoeletricamente. Os concentrados protéicos são obtidos por hidrólise química da proteína em processo de extração, sem interferir na estrutura original do músculo.

Entre os métodos aplicáveis para isolamento de proteínas encontram-se a solubilização ácida ou alcalina que está baseado na solubilização das proteínas quando submetidas a extremos de pH (NOLSØE; UNDELAND, 2009).

Entre os fatores que afetam a sua extração estão a qualidade da matéria – prima, relação sólido/líquido, pH, temperatura, velocidade de centrifugação e força iônica (KAIN et al., 2009).

A Precipitação das proteínas ocorre no pH equivalente ao seu ponto isoelétrico, que é o pH em que as cargas positivas e negativas se equivalem (SATHIVEL; BECHTEL, 2003; KRISTINSSON; DEMIR, 2003). A maioria das proteínas tem seu ponto isoelétrico entre 4,5 e 6,5 e varia conforme a presença de resíduos ácidos ou básicos (SGARBIERI, 1996). No ponto isoelétrico a solubilidade é mínima pois desaparecem as forças de repulsão eletrostáticas devido a carga (PARDI, M.; SANTOS; PARDI, H., 2001).

2.3.4 Quitina

Em 1811, a quitina foi descrita pela primeira vez pelo francês Henri Braconnot. Foi denominada inicialmente de “fungina”, por ter sido extraída de fungos superiores. A denominação de quitina foi sugerida por Odier em 1823 e deriva do grego “chiton”, que significa túnica ou cobertura (AGULLÓ et al, 2004; ROBERTS, 1992). É o segundo polissacarídeo mais abundante logo a seguir à celulose, presente principalmente no exosqueleto dos artrópodes e na parede celular de certas algas e fungos entre outros organismos. Apesar da disponibilidade de quitina em grande quantidade, e do reconhecimento das suas imensas aplicações biotecnológicas, esta permanece relativamente subaproveitada.

Estudos realizados nos últimos 40 anos demonstram a relação entre a estrutura e morfologia da quitina e suas propriedades e aplicações potenciais.

A quitina apresenta três polimorfos: α , β e γ -quitina que se diferenciam quanto ao arranjo cristalino do polímero. As cadeias da quitina se organizam em folhas dispostas paralelamente. A diferenciação entre as polimorfos ocorre em função da orientação relativa das extremidades redutora e não-redutora nos domínios cristalinos.

Na α -quitina as cadeias poliméricas estão dispostas de forma antiparalela. Esta configuração favorece o estabelecimento de ligações de hidrogênio entre moléculas e folhas, resultando em empacotamento denso. As ligações de hidrogênio entre grupos hidroxila formadas entre cadeias de diferentes folhas, são responsáveis pela insolubilidade da α -quitina na maioria dos solventes.

A β -quitina possui as cadeias dispostas paralelamente. Esta configuração dificulta o estabelecimento de ligações de hidrogênio intermoleculares interfolhas. Como resultado, observa-se um empacotamento menos denso, maior reatividade, intumescimento em água e solubilidade que a α -quitina (LAVAL, 2003; SAITO et al, 1997; SAITO et al, 2000).

Na γ -quitina ocorre uma combinação de arranjos: Duas cadeias antiparalelas são intercaladas com por uma cadeia paralela (AGULLÓ et al, 2004; ROBERTS, 1992).

Estas diferenças de arranjo e propriedades físico-químicas implicam em diferentes métodos de obtenção e finalidades diferentes para cada tipo de estrutura.

3 Capítulo 1 – Composição bromatológica da carcaça da viola (*Loricariichthys anus*)

3.1 Introdução

A atividade pesqueira representa uma importante fonte de alimento, empregos e de benefícios econômicos as pessoas que se dedicam a esta atividade. Além disso, a crescente demanda por alimentos, especialmente de proteínas de origem animal tem estimulado a criação e aprimoramento das técnicas de produção das espécies nativas, permitindo a exploração auto-sustentada.

A viola *Loricariichthys anus* é uma das espécies mais capturadas por pescadores artesanais do Rio Grande do Sul. Representa 52,2% (200 toneladas/ano) da quantidade capturada na lagoa Mangueira e passou a ter grande aceitação comercial a partir de 1990 (SANTOS, 2012).

Morfologicamente caracteriza-se pelo corpo depresso, revestido superior e inferiormente por placas ósseas quitinosas. Com um rendimento de carcaça inferior à 40% de músculo aproveitável para o consumo. O restante é descartado como resíduo.

Entre os principais nutrientes encontrados nos peixes e afetando a qualidade da carne encontram-se as proteínas e os lipídios (REGOST et al, 2001). As médias de proteína e gordura encontradas por Britto et al (2014) foram respectivamente de 16,72% e 3,58%. De acordo Ackman (1989), a viola é classificada como um peixe magro, com teor de gordura menor que 4%.

A industrialização do pescado produz uma grande quantidade de resíduos que se não forem adequadamente direcionados geram desperdício de matéria prima de grande potencial tecnológico. Entre as possibilidades de aproveitamento encontram-se o uso como alimento, fertilizantes, produtos químicos, minerais, óleo e quitina (NUNES, 2011).

Considerando-se a quantidade capturada e o rendimento, fica evidente a necessidade de um destino adequado a grande quantidade de resíduo gerada. Sua

utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado, evitando a contaminação do solo ou da água.

Grande parte da tecnologia conhecida para a utilização dos resíduos das indústrias de pescado (entre elas a produção de farinha de peixe) não se mostra economicamente atrativa, em vista do elevado investimento inicial. Normalmente as áreas costeiras ou de águas interiores são utilizadas como áreas de lazer. Este fato inviabiliza a disposição dos resíduos em aterros sanitários ou lagoas de estabilização, devido aos odores desagradáveis que podem gerar (LUSTOSA NETO, 2004).

Entre as alternativas viáveis para o aproveitamento dos resíduos gerados mesmo em pequenas produções encontra-se a extração do óleo, que pode ser utilizado para consumo humano ou animal ou, se considerado impróprio, uma alternativa para produção de biodiesel (ARRUDA, 2004).

Desta forma, se faz necessário um estudo sobre a composição química da carcaça da viola, para avaliar a quantidade e a qualidade dos seus constituintes, com foco principalmente no teor de óleo e no perfil de ácidos graxos.

3.2 Metodologia

Foi utilizado o resíduo gerado na filetagem de viola (*Loricariichthys anus*) obtido em experimento realizado no Laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, que foi mantido congelado até o início do processamento. O resíduo, após descongelamento, foi seco em estufa com circulação de ar a 60 °C por 72 horas, triturado em moinho de bolas e armazenado sob refrigeração.

Este material foi submetido às análises de umidade, cinzas, extrato etéreo, N-proteína e N-quitina de acordo com metodologia oficial (AOAC, 1995). Tanto proteínas como quitina são dosadas pelo método de Kjeldal para nitrogênio total e

utilizados os fatores de conversão de 6,25 para proteína e 14,49 para quitina. Desta forma, se faz necessária a separação destes constituintes, que é feita através da dissolução da proteína com solução de hidróxido de sódio 5%. Assim determina-se o nitrogênio total e o nitrogênio proveniente da quitina, sendo o nitrogênio proteico determinado por diferença.

3.3 Resultados e discussão

Os constituintes da carcaça da viola (Tabela 1) têm como principal componente, o extrato etéreo com 12,26 %, seguido de 11,47 % de proteína, 9,44 % de cinzas e apenas 1,95 % de quitina, sendo 63,47 % umidade.

Estes resultados indicam um produto de qualidade própria para aproveitamentos diversos, desde a obtenção de óleos e gorduras, assim como da proteína. O produto obtido apresenta níveis de proteína considerados elevados e semelhantes aos resíduos de outras espécies, que tem seus resíduos aproveitados para alimentação animal. Já os níveis de gorduras, de 12,26 % são superiores aos de outras espécies, que variam entre 5,0 e 10% (LIMA, M.; MUJICA; LIMA, A., 2012), podendo ser uma excelente fonte de renda para o sistema produtivo.

Tabela 1. Composição centesimal da carcaça de Viola - *Loricariichthys anus*

Variável	%
Proteína bruta	11,47± 0,13
Extrato etéreo	12,26±0,49
Umidade	63,47±0,19
Cinzas	9,44±0,58
Quitina	1,95± 0,43

O percentual de cinzas, que indica a presença de minerais é superior à outras espécies, que apresentam valores entre 1 e 4%, sugerindo seu possível aproveitamento como complemento mineral na alimentação animal.

A quantidade de quitina presente é considerada elevada para peixes, entretanto é muito baixa para seu aproveitamento, quando comparada com fontes

tradicionais de quitina, como crustáceos. O camarão apresenta na sua composição cerca de 5 a 7% de quitina, e o siri, de 15 a 20% (MOURA et al. 2006).

3.4 Conclusões

Os resíduos da filetagem da viola (*Lorichariichthys anus*) apresentam características bromatológicas, com altos níveis de proteína, gorduras e minerais, com potencial para seu aproveitamento para alimentação animal. A elevada concentração de ácidos graxos pode ser de alto valor econômico, desde que seu perfil seja determinado.

4 Capítulo 2 - Determinação do perfil de ácidos graxos de resíduos de viola por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas.

4.1 Metodologia

A extração dos lipídeos foi realizada por método a frio, utilizando-se o hexano como solvente. Foram utilizados quatro banhos consecutivos, com duração de duas horas seguido de filtração e prensagem do resíduo. Da fase líquida foi evaporado o solvente em extrator de Soxhlet e o óleo obtido foi levado a etapa seguinte para determinação cromatográfica dos ácidos graxos.

Hidrólise alcalina

Em um eppendorf foram pesadas 0,1 g de óleo de viola e adicionado 1 mL de hexano, em seguida, a amostra foi sonificada por 30 min em banho de ultrassom e logo centrifugada a 13000 rpm. Em seguida, foram retiradas duas alíquotas de 300 μL e secas sob nitrogênio. Em um dos eppendorf foi realizada a hidrólise alcalina com adição de 500 μL de hidróxido de potássio metanólico 6% (p/v), e colocado em banho maria por 30 min a temperatura de 85 °C. Logo foi adicionado 500 μL de hexano para separação das fases. A fase superior foi retirada com pipeta de Pasteur de vidro e acondicionada em vial para secagem utilizando nitrogênio para posterior derivatização.

A derivatização foi realizada com a adição de 200 μL de BF_3 e aquecimento a 60 °C por 10 min. Em seguida, a amostra esta foi injetada em equipamento cromatográfico gasoso acoplado a espectrofotômetro de massas. Foram realizadas amostras de brancos utilizando apenas os padrões de análise, ou seja, sem a presença do óleo de viola.

Análise cromatográfica

Os ácidos graxos foram analisados em Cromatógrafo Gasoso Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra com autoinjeter AOC-20i, equipado com um processador de dados *LabSolution®*, utilizando-se uma coluna Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) 100 % dimetilpolisiloxano (RESTEK, USA). Injetou-se 1 μ L de amostra com temperatura da coluna de 140 $^{\circ}$ C; temperatura do injetor de 240 $^{\circ}$ C, razão split 1:50, gás de arraste hélio (33,7 kPa) com programação de aquecimento iniciando em 140 $^{\circ}$ C por 10 min, sendo então elevada para 240 $^{\circ}$ C a uma taxa de 4 $^{\circ}$ C por minuto, ficando nesta temperatura por 20 min, e tendo como tempo total de análise de 55 min. Para espectrometria de massas as temperaturas da fonte de íons e interface foram de 260 $^{\circ}$ C e 270 $^{\circ}$ C, respectivamente. A faixa de massa de 40 – 400 m/z; 0,2 varreduras por segundo e tempo de corte do solvente em 3 minutos.

4.2 Resultados e Discussão

A separação e identificação dos ácidos graxos, obtidos a partir de hidrólise alcalina, foram obtidas por cromatógrafo gasoso e está ilustrada na Figura 1. Os ácidos graxos identificados estão apresentados na Tabela 2.

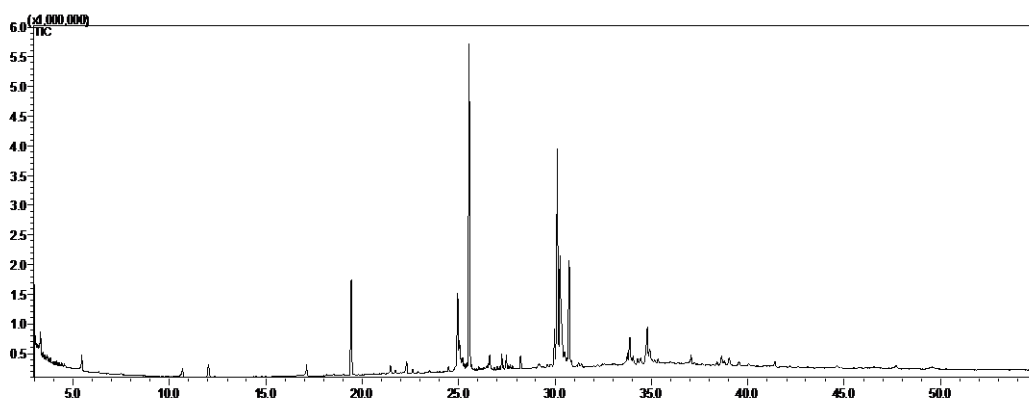


Figura 1. Cromatograma da amostra hidrolisada.

Tabela 2. Ácidos graxos na amostra hidrolisada.

	Ácido graxo	Área (%)
1	Dodecanoic acid, methyl ester (Laurico C12)	1.70
2	tetradecanoico (Mirístico C14)	8.78
3	9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (Palmitoléico C16:1(9)w7)	5.23
4	Hexadecanoic acid, methyl ester (Palmitico C16)	31.82
5	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (Linoléico C18:2(9,12)w6)	2.80
6	9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (Oleico C18:1(9)w9)	19.97
7	6-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-(Petroselínico C18:1(6)w12)	11.09
8	Octadecanóico (Esterárico (C18)	8.85
9	11- Octadecenoic acid, methyl ester (Vacênico C18:1(11)w7)	0.19
10	9,12-Octadecadienoico acid, methyl ester (Linolelaídico C18:2(t9,t12)w6)	0.12
11	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, ethyl ester, (all-Z)- (Araquidônico C20:4(5,8,11,14)w6)	2.45
12	6,9,12-octadecatrienóico (gama linolenico C18:3(6,9,12)w6)	0.43
13	9,12,15-Octadecatrienoiic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- (alfa linolenico C18:3(9,12,15)w3)	0.50
14	cis-13-Eicosenoic acid, methyl ester (Paulinico C20:1(7))	3.91
15	15-tetracosenóico (Nervonico C24:1(15)w9)	0.78
16	4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid, methyl ester, (all-Z)- (DHA C22:6(4,7,10,13,16,19)w3)	0.93
17	cis-7,10,13,16-Docosatetraenoic acid, methyl ester (C22:4(7,10,13,16)w6)	0.27
18	5, 8, 11, 14, 17- Eicosapentaenoic acid, methyl ester (EPA C20:5(5,8,11,14,17)w3)	0.18

Sabe-se que os valores da composição nutricional, principalmente de ácidos graxos, apresentam composição diferenciada entre peixes de água salgada e água doce, como a viola. Os resultados apresentados na Tabela 2 estão de acordo com a literatura onde se reporta que peixes de água doce não possuem grandes quantidades de ácidos graxos ômega-3 e de cadeia longa, diferentemente dos peixes de água salgada, no entanto, o óleo de viola analisado neste estudo apresentou 18 possíveis ácidos graxos identificados.

De acordo com a Tabela 2, foram identificados 18 ácidos graxos presentes no óleo de viola, sendo os de maior concentração os ácidos: Palmítico (C16:0); Oléico (C18:1(9)w9); Petroselínico (C18:1(6)w12); Esterárico (C18:0); Mirístico (C14:0) e Palmitoléico (C16:1(9)w7), respectivamente, ainda foram identificados os ácidos graxos DHA e EPA encontrados, de acordo com a literatura em maior quantidade em peixes de água salgada, sendo estes ácidos graxos importantes na dieta humana devido a sua ingestão estar associada à diminuição dos riscos de doenças isquêmicas fatais do coração.

5 Capítulo 3 – Planejamento experimental para obtenção de quitina a partir de resíduo de viola (*Loricariichthys anus*)

5.1 Introdução

A atividade pesqueira representa uma importante fonte de alimento, empregos e de benefícios econômicos as pessoas que se dedicam a esta atividade. Além disso, a crescente demanda por alimentos, especialmente de proteínas de origem animal tem estimulado a criação e aprimoramento das técnicas de produção das espécies nativas, permitindo a exploração auto-sustentada.

A lagoa Mangueira possui uma área de aproximadamente 950 Km², e está localizada na porção oriental sul do Brasil (33 ° 4 '5 "S e 52 ° 44' 5" W), representando uma importante área de pesca da região.

A viola (*Loricariichthys anus*) é uma das espécies mais capturadas por pescadores artesanais do Rio Grande do Sul. Representa 52,2% da quantidade capturadas na lagoa Mangueira e passou a ter grande aceitação comercial a partir de 1990 (SANTOS, 2012).

Morfologicamente caracteriza-se pelo corpo depresso, revestido superior e inferiormente por placas ósseas quitinosas. Com um rendimento de carcaça aproximado entre 30 e 38% de músculo aproveitável para o consumo. O restante é descartado como resíduo (BRITTO et al, 2014).

Considerando-se a quantidade capturada e o rendimento, fica evidente a necessidade de um destino adequado a grande quantidade de resíduo gerada. Sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado, evitando a contaminação do solo ou da água.

Resíduos da indústria pesqueira são normalmente aproveitados para produção de farinha de pescado. O uso de resíduos de composição semelhante à carcaça de viola, tais como cascas de camarão e siri, não é recomendado para esta finalidade,

pois reduz o valor nutricional do produto, devido principalmente a sua elevada concentração de minerais. Uma alternativa para agregar valor aos resíduos é a extração da quitina e produção de quitosana, produtos com alto valor comercial e ampla utilização na medicina e nas indústrias farmacêutica, química, de alimentos e biomateriais (MOURA et al, 2006; AZEVEDO et al, 2007). Outra alternativa seria a redução do teor de minerais do resíduo, através de processo semelhante a etapa de desmineralização para produção de quitina, visando assim a obtenção de um concentrado proteico que pode ser utilizado em nutrição animal.

Do ponto de vista químico, a quitina é um polissacarídeo precursor da quitosana, muito semelhante à celulose. A diferença estrutural entre elas é a substituição dos grupos hidroxila na posição 2 da celulose por grupos acetamino. É a segunda fibra natural mais abundante depois da celulose (CAMPANA-FILHO et al, 2007).

A quitina é encontrada em diversas espécies animais, tais como fungos, algas, insetos e animais marinhos, ocorrendo alguma variação na sua estrutura e composição, dependendo da espécie e estágio de desenvolvimento. As algas diatomáceas (*Thalassiosira fluviatilis* e *Cyrtotella cryptica*) são as únicas exceções conhecidas cuja análise revela quitina constituída exclusivamente de unidades 2-acetamido-2desoxi-D-glicopirranose. Nas demais espécies ocorre quitina com uma pequena quantidade (5-10%) de unidades 2-amino-2desoxi-D-glicopirranose, característico da quitosana.

Desta forma, se faz necessário um estudo sobre a composição química da carcaça da viola, para avaliar a quantidade e a qualidade de seus constituintes (proteína, gordura, minerais e quitina). O Resíduo de viola possui elevado teor de gordura, sendo a quantidade encontrada maior que no filé representando um grande potencial para a indústria de óleo de peixe. A casca da viola, depois de seca e desengordurada, apresenta grande concentração de proteína, mas também possui um elevado teor de cinzas, que dificulta a etapa de desmineralização. O objetivo deste trabalho é avaliar os melhores parâmetros para o procedimento de desmineralização e desproteinização para obtenção de quitina.

5.2 Metodologia

Foi utilizado o resíduo gerado na extração do óleo de viola (*Loricariichthys anus*) realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Este material foi submetido às análises de umidade, cinzas, N-proteína e N-quitina de acordo com metodologia oficial (AOAC, 1995). Tanto proteína como quitina são dosadas pelo método de Kjeldal para nitrogênio total e utilizados os fatores de conversão de 6,25 para proteína e 14,49 para quitina. Desta forma, se faz necessária a separação destes constituintes, que é feita através da dissolução da proteína com solução de hidróxido de sódio 5%. Assim determina-se o nitrogênio total e o nitrogênio proveniente da quitina, sendo o nitrogênio proteico determinado por diferença.

Foram realizados três experimentos para determinação do melhor tratamento na etapa de desmineralização, considerando que o material utilizado possui elevado teor de cinzas, e os tratamentos normalmente utilizados para camarão mostraram-se insuficientes.

No primeiro experimento foi utilizado um planejamento experimental do tipo fatorial completo 2^3 , com três fatores e dois níveis de variação, apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Variáveis e valores utilizados na matriz de planejamento experimental.

Variável	Nível 1	Nível 2
Tempo (h)	2	4
Concentração HCl (%)	2,5	5,0
Relação ácido/resíduo (mL/g)	2:1	4:1

O nível 1 corresponde aos valores utilizados para resíduo de camarão (SOARES et al, 2003) e o nível 2 ao dobro destes valores. A matriz de planejamento experimental fatorial completo utilizada na forma codificada é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Matriz de Planejamento Experimental na forma codificada.

Tratamento	Concentração HCl	Tempo	Relação ácido/resíduo
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	2	1
4	1	2	2
5	2	1	1
6	2	1	2
7	2	2	1
8	2	2	2

Foram utilizados tubos Falcon de 50 mL e mesa agitadora. Após o tempo de reação, os resíduos foram filtrados em cadinho de vidro poroso previamente tarado e incinerados em mufla à 600 °C por 4 h, obtendo-se assim o teor de cinzas para cada tratamento. Comparando-se ao teor inicial de cinzas obteve-se o percentual de redução de cinzas em cada tratamento.

Os dados foram analisados de acordo com um delineamento experimental completamente casualizado. Foi realizada a análise do fatorial usando o pacote “*Rcmdr – The R Commander*” do pacote estatístico R (R CORE TEAM, 2015), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + d_i + h_{ij} + w_{ij} + e_{ijk},$$

Em que: μ = media geral, d_i = efeito fixo do tempo ($i = 2$ e 4 horas), h_{ij} = efeito fixo da relação entre resíduo e HCl ($j = 2:1$ e 4:1), w_{ij} = efeito fixo da concentração de HCl ($k = 2,5$ e 5%) e e_{ijk} = erro aleatório (erro residual). Após foi realizado a análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento “*LSM- least squares means*” sendo as médias comparadas através do teste t com um nível de significância $P < 0,05$.

A partir dos melhores resultados encontrados, foi realizado um teste de níveis da relação entre o volume de solução de ácido clorídrico e a massa do resíduo, mantendo-se constante a concentração do ácido em 5,0% e o tempo de reação em 2 horas. Foram utilizados quatro níveis: 6:1, 8:1, 10:1 e 12:1.

Os dados para estabelecer a relação entre quantidade de ácido para resíduo de viola foram submetidos a análise de variância e após foi realizado o teste de Tukey à 5% de probabilidade para a comparação das médias.

Para finalizar foi realizado um novo fatorial completo 2^3 , utilizando-se uma concentração maior de ácido com o objetivo de reduzir o volume gasto de solução. Os níveis e fatores utilizados são apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Variáveis e valores utilizados na matriz de planejamento experimental.

Variável	Nível 1	Nível 2
Tempo (h)	2	4
Concentração HCl (%)	5,0	7,0
Relação ácido/resíduo (mL/g)	8:1	10:1

Foram mantidos os tempos utilizados no primeiro experimento. A concentração de 7,0% foi utilizada por Moura et al (2005) ao trabalhar com casca de siri com teor de cinzas semelhante ao resíduo desengordurado de viola. Para o volume de solução, foi utilizado o melhor resultado do teste anterior e um nível abaixo. A matriz de planejamento experimental fatorial completo utilizada na forma codificada é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6. Matriz de Planejamento Experimental na forma codificada.

Tratamento	Concentração HCl	Tempo	Relação ácido/resíduo
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	2	1
4	1	2	2
5	2	1	1
6	2	1	2
7	2	2	1
8	2	2	2

Os dados foram analisados de acordo com um delineamento experimental completamente casualizado. Foi realizada a análise do fatorial usando o pacote

“Rcmdr – The R Commander” do pacote estatístico R (R CORE TEAM, 2015), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + d_i + h_{ij} + w_{ij} + e_{ijk},$$

Em que: μ = media geral, d_i = efeito fixo do tempo ($i = 2$ e 4 horas), h_{ij} = efeito fixo da relação entre resíduo e HCl ($j = 8:1$ e $10:1$), w_{ij} = efeito fixo da concentração de HCl ($k = 5$ e 7%) e e_{ijk} = erro aleatório (erro residual). Após foi realizado a análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento “*LSM- least squares means*” sendo as médias comparadas através do teste t com um nível de significância $P < 0,05$.

Os dois melhores resultados foram repetidos, gerando amostras para análise de infra-vermelho. Foi escolhido um tratamento para nova desmineralização e o produto obtido a partir de 100 gramas do resíduo desengordurado foi submetido a análises bromatológicas e um novo delineamento experimental para a etapa de desproteíntização.

Para este experimento foi utilizado um planejamento experimental do tipo fatorial completo 2^3 , com três fatores e dois níveis de variação, apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Variáveis e valores utilizados na matriz de planejamento experimental.

Variável	Nível 1	Nível 2
Concentração NaOH (%)	3,0	5,0
Tempo (h)	0,5	2,0
Temperatura (°C)	Ambiente	70

As variáveis e valores foram escolhidos combinando-se os parâmetros utilizados por dois autores na etapa de desproteíntização em casca de camarão: Soares et al (2003) utilizou 5% e 2 horas enquanto Santos (2016) trabalhou com 3%, 30 minutos e 70 °C.

5.3 Resultados e discussão

Os resultados da análise do resíduo desengordurado são mostrados na tabela 8.

Tabela 8. Composição centesimal do resíduo desengordurado de Viola - *Loricariichthys anus*

Variável	%
Umidade	9,72±0,73
Cinzas	35,70±1,24
Proteína bruta	45,11±0,28
Quitina	5,67±0,67

Observa-se que a proteína é o principal constituinte deste resíduo e que poderia ser de alguma forma aproveitado. O processo de desproteinização utilizado para obtenção de quitina pode significar o desperdício de uma boa fonte protéica para nutrição animal. Por outro lado, a presença de polissacarídeos não amiláceos como a quitina na alimentação de não ruminantes, pode ser prejudicial pois modificam a digestibilidade, a viscosidade e o tempo de permanência no trato digestivo (BRITO et al, 2008).

O teor de quitina é consideravelmente maior que no resíduo *in natura*, com 1,95%, que seria inviável para seu aproveitamento. O valor é um pouco maior que o encontrado por Moura et al (2006) para camarão, com 4,8%, uma das principais fontes de quitina utilizadas no Brasil.

A quantidade de minerais pode ser um fator limitante para obtenção de quitina. O camarão e o siri apresentam respectivamente 6,1 e 32,8% de cinzas (MOURA et al, 2006). Moura et al (2005) alcançou resultados satisfatórios de desmineralização utilizando siri com 40,5% de cinzas. O teor de cinzas do resíduo desengordurado de viola encontra-se próximo ao valor encontrado para siri, indicando a possibilidade de realizar a desmineralização utilizando-se tratamentos adequados.

Para a análise estatística da resposta percentual de redução do teor de cinzas em relação à matéria-prima, foi realizada uma análise de variância (Quadro de

ANOVA), com o auxílio do software estatístico R, tendo como fatores de estudo o tempo, concentração do ácido e relação ácido/resíduo. Os resultados são mostrados nas tabelas 9 e 10

Neste experimento, não foi verificada uma eficiência satisfatória na redução do teor de minerais, pois em todos os tratamentos o percentual de redução de cinzas ficou abaixo de 50%.

Tabela 9. Efeito da concentração de HCl, tempo e relação HCl/resíduo no percentual de redução do teor de cinzas em resíduo de Viola.

Tempo	Relação ¹	Redução de cinzas (%)	
		HCl (%)	
		2,5	5,0
2h	2:1	11,00±0,22	18,83±0,78
2h	4:1	20,38±1,60	42,81±2,22
4h	2:1	11,21±1,19	18,45±0,61
4h	4:1	21,35±1,47	42,78±1,56
Efeitos		Probabilidades (P≤0,05)	
Tempo		0,6880	
Relação		<.0001	
HCl		<.0001	
Tempo*Relação		0,5682	
Tempo*HCl		0,4082	
Relação*HCl		<.0001	
Tempo*Relação*HCl		0,8336	

¹ Relação entre solução de HCl e resíduo (mL/g)

Tabela 10. Desdobramento do fatorial entre Relação e HCl (%) sobre a redução de cinzas em resíduo de Viola.

Relação ¹	Redução de cinzas (%)	
	HCl (%)	
	2,5	5,0
2:1	B 11,10±0,71 b	B 18,63±0,70 a
4:1	A 20,86±1,53 b	A 42,79±1,89 a

¹ Relação entre solução de HCl e resíduo (mL/g); Médias seguidas por letra minúscula na linha diferem-se entre si pelo teste t à 5% de significância; Médias seguidas por letras maiúsculas na coluna diferem-se entre si pelo teste t à 5% de significância.

Os resultados do estudo de níveis são mostrados na tabela 11.

Neste experimento foi alcançado o valor próximo de 100% nos níveis 10:1 e 12:1, e foi escolhida a relação 10:1 para novo teste fatorial.

Tabela 11. Relação entre volume de ácido e resíduo tratado sobre a redução de cinzas de carcaça de viola

Relação	Redução de cinzas (%)
6:1	63,18±4,98 c
8:1	82,65±4,53 b
10:1	94,00±0,80 a
12:1	97,11±4,26 a
P	<.0001

Médias seguidas por letras minúsculas diferem-se entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Os resultados da análise de variância para o percentual de redução de cinzas são mostrados nas tabelas 12 e 13.

Tabela 12. Efeito da concentração de HCl, tempo e relação HCl/resíduo no percentual de redução do teor de cinzas em resíduo de Viola.

Tempo	Relação ¹	Redução de cinzas (%)	
		HCl (%)	
		5,0	7,0
2h	8:1	87,20±2,43	97,23±1,58
2h	10:1	100,29±2,14	101,10±2,15
4h	8:1	84,55±1,43	97,13±1,19
4h	10:1	97,93±0,97	97,57±0,85
Efeitos		Probabilidades (P≤0,05)	
Tempo		0,002	
Relação		<.0001	
HCl		<.0001	
Tempo*Relação		0,52	
Tempo*HCl		0,24	
Relação*HCl		<.0001	
Tempo*Relação*HCl		0,14	

Médias de quatro repetições ± desvio padrão. ¹ Relação entre solução de HCl e resíduo (mL/g)

Tabela 13. Desdobramento do fatorial entre Relação e HCl (%) sobre a redução de cinzas em resíduo de viola

Relação ¹	Redução de cinzas (%)	
	HCl (%)	
	5,0	7,0
8:1	B 85,87±2,33 b	A 99,11±1,99 a
10:1	A 97,18±1,29 b	A 99,58±2,47 a

¹ Relação entre solução de HCl e resíduo (mL/g); Médias ± desvio padrão seguidas por letra minúscula na linha diferem-se entre si pelo teste t à 5% de significância; Médias ± desvio padrão seguidas por letras maiúsculas na coluna diferem-se entre si pelo teste t à 5% de significância.

Estes resultados mostram uma melhor eficiência na remoção de minerais utilizando-se concentração de ácido clorídrico de 7,0%. Foi encontrado o mesmo resultado com a relação HCl/resíduo de 8:1. Em escala industrial, isto significa diminuição no consumo de água e resíduos líquidos gerados.

Comparando-se com os resultados obtidos por Moura et al (2005), observa-se que este atingiu resultado semelhante utilizando volume menor de solução ácida (proporção de 4:1) e tempo maior (12 horas). Esta diferença pode estar relacionada a natureza do material utilizado, mas também as diferenças na preparação deste material. O resíduo de viola desengordurado, utilizado neste trabalho, possuía menores granulometria e teor de umidade, fatores que podem estar relacionados respectivamente ao tempo de reação e volume de ácido utilizado.

Utilizando-se os melhores resultados obtidos anteriormente (2h, 7% e 8:1), foi realizado o processo de desmineralização do resíduo, alcançando-se um rendimento de 52,5% de viola desmineralizada, que foi caracterizada e utilizada para o experimento de desproteínização.

Os resultados da caracterização encontram-se na tabela 14.

Tabela 14. Composição centesimal do resíduo desmineralizado de Viola - *Loricariichthys anus*

Variável	%
Umidade	9,63±1,17
Cinzas	3,09±0,05
Proteína bruta	80,58±0,21
Quitina	1,17±0,04

Os resultados confirmam a eficiência na redução do teor de cinzas, mas também uma redução drástica na quantidade de quitina, que pode inviabilizar sua obtenção.

Os resultados da etapa de desmineralização são apresentados na tabela 15.

Comparando-se ao teor de quitina encontrado na viola desmineralizada, observa-se que o tratamento 2 apresenta o resultado mais próximo. Valores mais

altos indicam contaminação da quitina com outras substâncias e mais baixos, a destruição de parte da quitina durante o processo.

A pequena quantidade obtida torna este procedimento inviável para produção de quitina.

Considerando o teor de proteína encontrado no material desmineralizado e que boa parte da quitina foi eliminada no processo, o emprego como fonte proteica para alimentação animal poderia ser uma alternativa viável.

Tabela 15. Percentual de produto obtido após desproteínização

Tratamento	Concentração NaOH (%)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Resíduo (%)
1	3	0,5	A	2,85
2	3	0,5	70	1,28
3	3	2,0	A	2,25
4	3	2,0	70	0,85
5	5	0,5	A	1,97
6	5	0,5	70	0,90
7	5	2,0	A	1,45
8	5	2,0	70	0,56

5.4 Conclusões

Não houve influência significativa do tempo de reação sobre o percentual de redução de cinzas.

O tratamento mais eficiente para redução do teor de cinzas corresponde à concentração de 7% de ácido clorídrico em proporção de 8:1. O produto obtido neste tratamento possui baixo teor de quitina e quantidade elevada de proteína. Para avaliar a possibilidade de uso deste material como fonte proteica, são necessários mais estudos, tais como avaliação do perfil de aminoácidos e testes nutricionais com acréscimo em dietas de animais e avaliação dos resultados.

6 Capítulo 4 – Caracterização da quitina por espectrometria na região do infravermelho

6.1 Introdução

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) envolve a interação de moléculas com energia eletromagnética nesta faixa de comprimento de onda. A radiação eletromagnética possui comportamento duplo, comportando-se como partícula ou onda dependendo das circunstâncias. Como todas as ondas, a radiação eletromagnética é caracterizada por um comprimento de onda (λ), uma frequência (ν) e uma amplitude (MCMURRY, 2005).

Quando um composto orgânico é exposto a um feixe de radiação eletromagnética, ele absorve energia de certos comprimentos de onda, mas passa ou transmite energia de comprimentos de onda diferentes. O espectro de absorção é determinado irradiando-se a amostra com energia de comprimento de onda muito diferente. Os resultados são dispostos sobre um gráfico que mostra o comprimento de onda *versus* a quantidade de radiação transmitida.

Os comprimentos de onda dentro da região do IV são geralmente dados em micrômetros ($1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$), e as frequências são dadas em números de onda preferencialmente em hertz.

Todas as moléculas têm certa quantidade de energia distribuída por toda a sua estrutura, provocando o estiramento e contrações das ligações, ou provocando a movimentação dos átomos para trás e para frente. Alguns tipos de vibração permitidos são: estiramentos simétricos e assimétricos e deformações angulares dentro e fora do plano.

A energia absorvida por uma molécula corresponde à frequência de vibração de um grupo molecular específico. A interpretação desses movimentos permite a identificação dos tipos de ligação e grupos funcionais presentes na molécula.

Espectros de infravermelho não são característicos de uma molécula como um todo, mas indicam a presença de certos grupos de átomos que dão origem a

bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. A presença dessas bandas características de grupos permite a obtenção, através do exame do espectro e consulta a tabelas, de informações estruturais úteis (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

A radiação infravermelha na faixa aproximada de 10000 cm^{-1} a 100 cm^{-1} converte-se, quando absorvida por uma molécula orgânica, em energia de vibração molecular. O processo é quantizado, porém o espectro vibracional aparece como uma série de bandas em vez de linhas, porque cada mudança de um nível de energia vibracional corresponde a uma série de mudanças de níveis de energia rotacional (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

As intensidades das bandas podem ser expressas como transmitância (T) ou absorbância (A), ou ainda por termos semiquantitativos (F = forte, m = médio, f = fraco).

Espectros moleculares no ultravioleta e no visível são mais convenientemente obtidos a partir de soluções diluídas do analito, porém, esta estratégia não é frequentemente aplicável na espectroscopia IV porque bons solventes não são transparentes em toda a região de interesse. Também é muito difícil encontrar um solvente que não apresente picos que se sobreponham as bandas de absorção do analito. Como consequência, o manuseio da amostra é frequentemente a parte mais difícil e demorada em uma análise espectrométrica no IV (HOLLER; SKOOG; DOUGLAS, 2009).

Os espectros são geralmente obtidos com a dispersão do sólido em um líquido ou em uma matriz sólida e a amostra sólida deve ser triturada até que seu tamanho seja menor que o comprimento de onda da radiação para evitar os efeitos da radiação espalhada.

A identificação de um composto orgânico a partir de um espectro deste tipo consiste na determinação de grupos funcionais mais prováveis de estarem presentes observando-se a região de frequência dos grupos, que compreende a radiação de aproximadamente 3600 cm^{-1} a cerca de 1250 cm^{-1} .

6.2 Metodologia

As análises de Espectroscopia na região do Infravermelho (IV) foram realizadas em pastilha de Brometo de Potássio (KBr) em equipamento IRPrestige-21(Shimadzu) disponível na Central Analítica – Prédio 31.

6.3 Resultados e discussão

A figura 2 mostra os espectros de infravermelho de amostra desengordurada (preto) e de amostras desengorduradas e desmineralizadas a 5% (verde) e a 7% (vermelho). Neste material obtido de resíduos de viola espera-se isolar quitina a partir do processo de desproteinização.

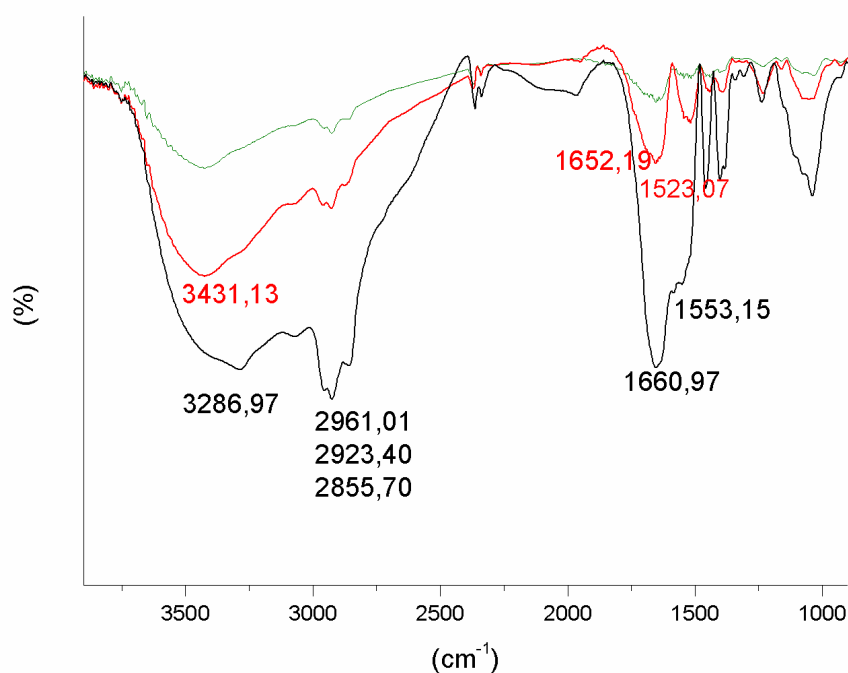


Figura 2. Espectro na região do infravermelho (IV) do material desengordurado (preto), desengordurado e desmineralizado a 5% (verde) e desengordurado e desmineralizado a 7% (vermelho). Transmitância (%) *versus* Número de onda (cm^{-1}). Estrutura molecular da quitina é evidenciada para facilitar a identificação das bandas características.

As amostras desmineralizadas a 5% e 7% não mostram diferenças nas bandas do espectro de IV em relação ao número de onda, isto indica que o material produzido nos dois processos de desmineralização é muito semelhante em relação ao conteúdo orgânico.

Ao comparar a amostra desmineralizada a 7% (vermelho) e a amostra não desmineralizada (preto) observam-se diferenças no padrão de bandas. As principais diferenças são observadas nas bandas largas em $3286,97\text{ cm}^{-1}$ e $1660,97\text{ cm}^{-1}$.

A banda larga em $3286,97\text{ cm}^{-1}$ indica [v N-H] de amina primária alifática de alguma impureza da amostra, uma vez que a amostra apenas foi desengordurada e ainda contém compostos como proteínas. Já a amostra desmineralizada a 7% apresenta a banda larga em $3431,13\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a [v O-H] em ligação de hidrogênio sobrepondo [v N-H].

As bandas [v C-H_{alifático}] aparecem em $2961,01$ e $2923,40\text{ cm}^{-1}$ como estiramentos assimétricos e em $2855,70\text{ cm}^{-1}$ como estiramento simétrico tanto na amostra desmineralizada quanto não desmineralizada.

Outra diferença considerável está na região de $1660,97\text{ cm}^{-1}$, onde se observa uma única banda larga na amostra não desmineralizada, referente à sobreposição de bandas de grupos orgânicos, o que pode indicar que estes grupos não estão livres, isto é, devem estar ligados a íons metálicos. Após o processo de desmineralização, observa-se alteração nesta banda, com o aparecimento de duas bandas distintas. A banda larga em $1652,19\text{ cm}^{-1}$ indica [v C=O] de amida I sobreposta à [δ N-H] de amida II, já a banda em $1523,07\text{ cm}^{-1}$ indica [v C-N-H] de amida III (RINAUDO, 2006).

Para uma amostra de α -quitina espera-se que as três bandas de amida I, II e III sejam distintas (SAGHEER, et al., 2009), o que indica que nas amostras desmineralizadas neste trabalho, devido à presença de somente duas bandas de amida, há a extração de β -quitina (SAGHEER et al, 2009; RINAUDO, 2006). A diferença entre os tipos de quitina está associada à origem da matéria prima e à rigidez do material quitinoso (RINAUDO, 2006).

A ampliação da figura 2 na região entre 1500 a 900 cm^{-1} é evidenciada na figura 3. Nesta região é possível observar a semelhança no padrão de bandas entre as três amostras. Na amostra não desmineralizada (preto) observa-se a banda em 1457,63 cm^{-1} referente a $[\delta_{\text{assimétrico}} \text{C-H}_{\text{alifático}}]$ e em 1403,09 e 1383,10 cm^{-1} $[\delta_{\text{simétrico}} \text{C-H}_{\text{alifático}}]$. Já em 1240,58 e 1040,61 cm^{-1} observa-se $[\nu_{\text{assimétrico}} \text{C-O-C}]$ e $[\nu_{\text{simétrico}} \text{C-O-C}]$, respectivamente. As mesmas considerações são válidas para as amostras desmineralizadas.

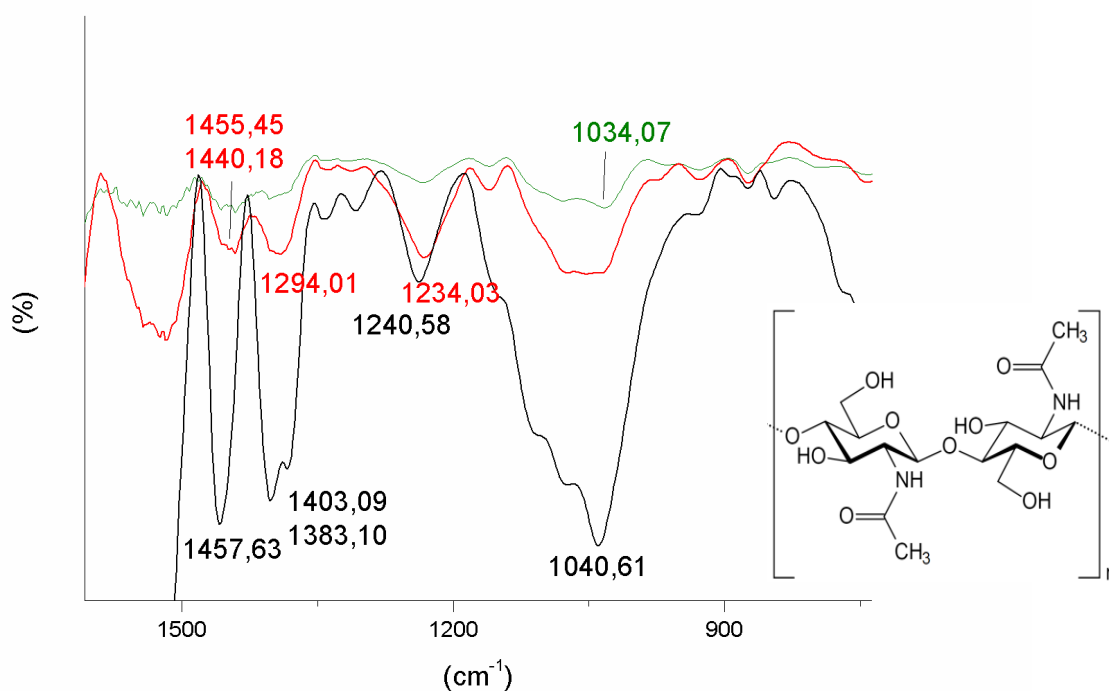


Figura 3. Ampliação do espectro de IV na região entre 1500 e 900 cm^{-1} . Material desengordurado (preto), desengordurado e desmineralizado a 5% (verde) e desengordurado e desmineralizado a 7% (vermelho). Transmitância (%) versus Número de onda (cm^{-1}). Estrutura molecular da quitina é evidenciada para facilitar a identificação das bandas características.

Todas as bandas discutidas acima são bandas características de materiais quitinosos e estão amplamente divulgadas na literatura. (RINAUDO, 2006; SILVERSTEIN et. al., 2007; SAGHEER et. al., 2009).

6.4 Conclusões

A análise dos espectros de infravermelho revelam a presença de β -quitina nas amostras analisadas. Em ambas as concentrações utilizadas de ácido clorídrico na etapa de desmineralização, não houve alteração estrutural na quitina, e pode-se considerar os dois tratamentos semelhantes quanto à qualidade do produto obtido.

7 Considerações finais

O resíduo da filetagem de viola, submetido aos tratamentos apresentados neste trabalho, mostrou-se impróprio para obtenção de quitina, devido ao baixo rendimento. No entanto, considerando-se as possibilidades de uso para quitina na forma impura com a presença de alguma quantidade de minerais, pode-se estudar uma alternativa de tratamento de desmineralização que não seja tão eficiente, mas preserve a estrutura da quitina intacta.

O rendimento em óleo é alto. Para seu aproveitamento são necessários mais estudos visando à quantificação dos ácidos graxos presentes, avaliação dos métodos mais adequados de extração e possibilidades de uso, que incluem alimentação animal e humana, usos industriais e produção de biodiesel.

O resíduo desmineralizado apresenta alto teor de proteína bruta. Para sua utilização deve ser melhor estudado, avaliando-se o teor de aminoácidos, a digestibilidade e a substituição de outras fontes proteicas em dietas.

Referências

ACKMAN, R. G. Nutritional composition of fats in seafood. **Progress in Food and Nutrition Science**, v. 13, p. 161-241, 1989.

AGULLÓ, E.; PENICHE, C.; TAPIA, C.; HERAS, Á.; ROMÁN, J. S.; ARGÜLLES, W.; GOYCOOLEA, F.; MAYORGA, A.; NAKAMATSU, J.; ABRAM, A. P. **Quitina y quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones**. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú / Fondo Editorial, 2004. 312 p.

ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo para obtenção de silagem e óleo com subproduto**. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

ARRUDA, L. F. BORGHESI, R.; BRUM, A.; REGITANO D'ARCE, M.; OETTERER, M. Nutritional aspects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) silage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.749-756, 2006.

ARRUDA, L. F.; BORGHESI, R.; OETTERER, M. Use of fish waste as silage – a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.5, p.879-886, 2007.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, 1995.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v.2.3 (2007)27-34.

BATISTA, I.; PIRES, C.; NELHAS, R. Extraction of sardine proteins by acidic and alkaline solubilisation. **Food Science Technology International**, v.13, p.189-194, 2007.

BERNARDINI, E. **Tecnologia de Aceites y Grasas**. Editorial Alhambra, S. A., Madrid, España, p. 229-316. 1986.

BERTOLDI, F. C. **Efeito do *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 393 na redução do sabor amargo da carne escura de atum**. Florianópolis: UFSC, 2003. 61p. Dissertação Mestrado.

BHASKAR N; MAHENDRAKAR, N.S. Protein hydrolysate from visceral waste proteins Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4105–4111, 2008.

BHASKAR, N.; SATHISHA, A. D.; SACHINDRA, N. M.; SAKHARE, P. Z.; MAHENDRAKAR, N. S. Effect of acid ensiling on the stability of visceral waste proteases of indian major carp *Labeo rohita*. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 16, p. 73–86, 2007.

BIMBO, A.P.; CROWTHER, J.B. Fish Oils: Processing Beyond Crude Oil. Infofish International, junho de 1991, p. 20-24.

BLANCO, M.; SOTELO, C. G.; CHAPELA, M. J.; PÉREZ-MARTÍN, R. I. Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trend. **Trends in Food Science and Technology**, v.18, p.29-36, 2007.

BORGHESI, R.; ARRUDA, L. F.; OETTERER, M. A silagem de pescado na alimentação de organismos aquáticos. **Boletim CEPPA**, v.25,n.2, p.329-339, 2007.

BRITO, M. S.; OLIVEIRA, C. F. S.; SILVA, T. R. G.; LIMA, R. B.; MORAIS, S. N.; SILVA, J. H. V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de Monogástricos – revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.4, p.111-117, 2008.

BRITTO, A. C. P.; ROCHA, C. B.; TAVARES, R. A.; FERNANDES, J. M.; PIEDRAS, S. R. N.; POUHEY, J. L. O. F. Rendimento corporal e composição química do filé da *Viola (Loricariichthys anus)*. **Cienc. Anim. Bras.**, Goiânia, v.15, n.1, p. 38-44, jan./mar. 2014.

CAMPANA-FILHO, S. P. et al. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 3, 644-650, 2007.

CAVALCANTE JÚNIOR, V.; ANDRADE, L. N.; BEZERRA, L. N.; GURJÃO, L.M.; FARIAS, W. R. L. Reuso de água em um sistema integrado com peixes, sedimentação, ostras e macroalgas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9 (supl.), p.118-122, 2005.

CHEN, Y. C.; JACZYNSKI, J. Gelation of protein recovered from Antarctic krill (*Euphausia superba*) by isoelectric solubilization/precipitation as affected by functional additives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p.1814–1822, 2007

CHEN, Y. C.; JACZYNSKI, J. Protein recovery from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing byproducts via isoelectric solubilization/precipitation and its gelation properties as affected by functional additives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, nº. 22, p.9079-9088, 2007

CONTRERAS, E. S. G. **Bioquímica de Pescados e Derivados**. Jaboticabal, SP, Br: FUNEP, p. 315-330. 1994.

FAO – **Food and Agricultural Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture 2006 (SOFIA)**. Rome: FAO, 2007. 180p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. Review of the state of world Aquaculture. **FAO Fisheries Technical**. Roma. (Fisheries Circular,886), p. 95, 2003.

GONÇALVES, A. A.; SOUZA-SOARES, L. A. Efeitos do processamento e armazenamento na fração lipídica do pescado. **Vetor**, FURG, Rio Grande, v. 10, p. 93-112, 2000.

GONÇALVES, A. A.; SOUZA-SOARES, L. A. Lipídios em Peixes. **Vetor**, FURG, Rio Grande, v. 8, p. 35-53, 1998.

GUERARD, F.; GUIMAS, L.; BINET, A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.19-20, p.489-498, 2002

HOLLER, James H.; SKOOG, Douglas A.; CROUCH, Stanley R. **Princípios de análise instrumental**. 6.ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. p.444-494.

KAIN; R. J; CHEN, Z; SONDA, T. S; ABU-KPAWOH. Study on the effects of control variables on the extration of peanut protein isolates from peanut meat (archies hypogaea L.). **American Journal of food technology**, v. 4; p: 47-55, 2009.

KINSELLA, J. E. Food components with potential therapeutic benefits: The n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils. **Food Technology**, v. 40, n. 2, 1986.

KRISTINSSON, H; DEMIR, N. **Functional fish protein ingredients from fish species of warm and temperate waters: Comparison of acid- and alkali-aided processing vs. conventional surimi processing**. In .Advances in Seafood Byproducts Conference Proceedings. p. 277–295, 2003.

LANDS, W. E. M. **Fish, omega-3 and human health**. 2.ed. Champaign: AOCS Press, 2005. 220p.

LAVAL, R. L. **Estudos de Obtenção, Desacetilação e Caracterização Físico-Química da β -quitina dos Gládios de Lulas do Gênero *Ioligo***. 2003. 151 f. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) – Departamento de Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

LEE, C. F. Processing fish meal and oil. In: Stansby, E. M. Industrial fishery technology, New York: Reinhold Publishing Corporation, 1963. cap. 16, p.219-235.

LIMA, M. M.; MUJICA, P. I.C.; LIMA, A. M. Caracterização química e avaliação do rendimento em filés de caranha (*Piaractus mesopotamicus*) Chemical characterization and evaluation of yield in caranha fillets (*Piaractus mesopotam*) . **Braz. J. Food Technol.**, IV SSA, maio 2012, p. 41-46

LUSTOSA NETO, A. D. (2004), **Elaboração e caracterização química funcional e nutricional de ensilados de resíduos de pescado da família Lutjanidae**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. 77p

MACLEAN, C.H., ISSA, A.M., NEWBERRY, S.J., MOJICA, W.A., MORTON, S.C., GARLAND, R.H., SCHMIDT, E.B.; ARNSEN, H.; KRISTENSEN, J.H.; RASMUSSEN, L.H.; KRISTENSEN, S.D.; CATERINA, R. Marine n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease. Part II. Clinical trials and recommendations. **Thrombosis Res**, v.115, n.4, p.257–262, 2005.

MAQSOOD, S; BENJAKUL, S. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. **Food Chemistry**, v. 119,p.123 –132, 2010.

MARTINS, V. G. **Obtenção de um hidrogel proveniente de proteínas da corvina(Micropogonias furnieri) e solubilização das proteínas fibrosas residuais**. 2009. 182 f.Tese (Doutorado), Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

MCMURRY, J. **Química orgânica**. Vol.1. 6.ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2005. p.398-405.

MIRANDA, F. F.; PORTO, M. R. A.; PACHECO, R. S.; HERNÁNDEZ-PRENTICE, C. Processo tecnológico destinado à obtenção de flocos de corvina (*Micropogon furnieri*). In: Congresso de Iniciação Científica, 12, 2003, Pelotas. **Resumos...** Pelotas: UFPel, 2003. CD Rom.

MOURA, C. et al. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto. **Vetor**, Rio Grande, 16(1/2): 37-45, 2006.

NOLSØE, H.; UNDELAND, I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art. **Food Bioprocess Technology**, v.2, p.1–27, 2009.

NUNES, M. L. **Farinha de pescado**. Capítulo de livro: Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. Editor Alex Augusto Gonçalves. São Paulo : Editora Atheneu, 2011.

PARDI, M; SANTOS, I, F; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia de carne**. Goiânia: Editora UFG, 2001. 2v.

PESSATTI, M. L. **Aproveitamento dos sub-produtos do pescado**. Itajaí: MAPA/UNIVALI, 2001. 130p.

R CORE TEAM (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REGOST, C., J. ARZEL, M. CARDINAL, M. LAROCHE AND S.J. KAUSHIK. 2001. Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation. **Aquaculture**, 193: 325-345.

RINAUDO M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31(7), p. 603-632, junho 2006.

ROBERTS, G. A. F. **Chitin Chemistry**. London: Mc Millan Press, 1992. 350 p.

SAITO, Y.; OKANO, T.; GAILL, F.; CHANZY, H.; PUTAUX, J. L. Structural data on the intra-crystalline swelling of β -chitin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 28, p. 81-88, 2000.

SAITO, Y.; PUTAUX, J. L.; OKANO, T.; GAILL, F.; CHANZY, H. Structural aspects of the swelling of β -chitin in HCl and its conversion into α -chitin. **Macromolecules**, v. 30, p. 3867-3873, 1997.

SANTOS, A. J. R. W. A.; HACKBART, H. C. S.; GIACOMINI, G. X.; BERSCH, P.; PARAGINSKI, G. L.; HORNER, M. Inorganic and organic structures as interleavers among [bis(1-methyl-3-(*p*-carboxylatephenyl)triazenide 1-oxide)Ni(II)] complexes to form supramolecular arrangements. **Journal of Molecular Structure**, 2016.

SANTOS, J. M. **Apropriação das áreas de pesca e dos recursos pesqueiros por pescadores artesanais da Lagoa Mangueira**. Dissertação, Zootecnia, UFPEL, 62p, 2012.

SAGHEER F. A. A.; AL-SUGHAYER M. A.; MUSLIM S.; ELSABEE M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. **Carbohydrate Polymers**, v. 77(2), p. 410-419, fevereiro 2009.

SATHIVEL, S; BECHTEL, P. J. . A comparison of physical and rheologic properties of arrowtooth flounder protein made using three different extracting processes. **Journal of Food Biochemistry**, v.32, p.557–575, 2008. SATHIVEL, S. **Functional and nutritional enhancing protein isolates from Arrowtooth Flounder**. Annual Meeting- Chicago. University of Alasca, 2003

SEIBEL, N. F.; SOARES, L. A. de S. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.2, p.333-337, 2003.

SILVA, G. G. H.; CAMARGO, A. F. M. Valor nutritivo de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*) utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Acta Scientiarum**, v.24, n.2, p.519-526, 2002.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006. p.70-104.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos – propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p. SGARBIERI, V. C. Proteínas funcionais de proteínas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32,n.1, p.105-126, 1996.

SOARES, N. M.; MOURA, C.; VASCONCELOS, S.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. *Revista UniVap*, 10(18) (2003) 88-92.

SUZUKI, T. **Fish and Krill Protein: Processing Technology**. Applied Science Publishers, Barking, Essex, 1981.

STAUFFERT, D. **Hidrólise Enzimática de Óleo de Pescado**, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). FURG, Rio Grande. 2000.

WANASUNDARA, U. N.; SHAHIDI, F. Lipase-Assisted Concentration of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Acylglycerols from Marine Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 8, p. 945-951, 1998.