



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

SINARA SILVA NEVES MACHADO

**POTENCIAL DA OBTENÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA A
PARTIR DO EXOESQUELETO DA PRODUÇÃO DE INSETOS**

UFBA

SALVADOR

2023

SINARA SILVA NEVES MACHADO

**POTENCIAL DA OBTENÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA A
PARTIR DO EXOESQUELETO DA PRODUÇÃO DE INSETOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PGAli) da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Prof^a. Dr^a. Carolina Oliveira de Souza

Orientador

Prof^a. Dr^a Jania Betânia Alves da Silva

Prof. Dr. Paulo Vitor França Lemos

Coorientador

SALVADOR

2023

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Machado, Sinara Silva Neves.

Potencial da obtenção de quitina e quitosana a partir do exoesqueleto da produção de insetos / Sinara Silva Neves Machado. - 2023.
85 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Oliveira de Souza.

Coorientadora: Profa. Dra. Jania Betânia Alves da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Vitor França Lemos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2023.

1. Entomofagia. 2. Insetos comestíveis. 3. Biopolímeros. 4. Resíduos de animais - Reaproveitamento. 5. Tenébrio. 6. Blaberidae. I. Souza, Carolina Oliveira de. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD - 664

CDU - 664



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS



TERMO DE APROVAÇÃO

SINARA SILVA NEVES MACHADO

POTENCIAL DA OBTENÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA A PARTIR DO EXOESQUELETO DA PRODUÇÃO DE INSETOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 29 de setembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente

CAROLINA OLIVEIRA DE SOUZA

Data: 29/09/2023 13:43:52-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a. CAROLINA OLIVEIRA DE SOUZA (ORIENTADORA)
Universidade Federal da Bahia (UFBA, BA)



Documento assinado digitalmente

DENILSON DE JESUS ASSIS

Data: 29/09/2023 21:15:55-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. DENILSON DE JESUS ASSIS (EXAMINADOR)
Universidade Salvador (UNIFACS, BA)



Documento assinado digitalmente

RENATO SOUZA CRUZ

Data: 29/09/2023 14:55:58-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. RENATO SOUZA CRUZ (EXAMINADOR)
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS, BA)

Dedico este trabalho,

À meu esposo, que me incentivou todos os dias e ofereceu apoio nos momentos críticos, a minha filha que sempre me serviu de inspiração e aos meus pais que não mediram esforços para me ajudar nessa etapa tão importante da minha vida.

Meus agradecimentos,

Primeiramente, sou imensamente grata a Deus, por me conceder saúde, sabedoria e força para enfrentar e superar os desafios ao longo desta jornada, sendo meu alicerce inabalável.

Ao meu esposo, Renildo e minha filha Sophia, pelo amor incondicional, compreensão e paciência durante todo esse processo. Vocês foram minha fonte de inspiração e motivação para seguir em frente.

Aos meus pais, Sônia e Sinaldo, pelo apoio constante e sacrifícios em prol da minha educação, sempre me encorajando a buscar conhecimento, superar obstáculos e realizar meus sonhos. Sem a dedicação de vocês, eu não estaria aqui hoje celebrando essa conquista.

As minhas irmãs Samira e Sirleide e minhas amigas Renata, Ana Livia, Ellen, Ana Paula, Natália e Jessica, não tenho palavras para expressar minha gratidão. Vocês foram meu apoio emocional durante esta caminhada. Com vocês sempre compartilhei risadas, momentos de descontração, mas também estresses e momentos difíceis. Criamos memórias que levarei comigo para sempre.

Ao meu gestor imediato do trabalho, Francisco Emanuel, agradeço a compreensão ao permitir a flexibilidade em meu horário de trabalho para conciliar meus estudos. Sua confiança em minhas habilidades e seu apoio foram fundamentais nessa etapa da minha vida.

A minha orientadora, Carol, que sempre confiou em meu trabalho e me deu oportunidades de superar minhas limitações. Sua orientação cuidadosa, sua expertise, suas análises rigorosas, seus feedbacks sempre construtivos foram fundamentais nesses anos de pesquisa e me aprimoraram e contribuíram para meu crescimento.

Aos professores que auxiliaram na realização desse trabalho, Jania Betânia, Paulo Lemos, Denílson Assis e Henrique Marcelino. O suporte e a colaboração de vocês foram inestimáveis para conclusão dessa pesquisa.

À Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) por realizar as análises de microscopias. Esse suporte foi crucial para este trabalho e a equipe de pesquisa do LAPESCA pela colaboração e sinergia.

RESUMO

A produção de insetos em larga escala está se tornando comum em todo o mundo, gerando uma quantidade expressiva de resíduos oriundos dessas criações. Um exemplo, são os exoesqueletos resultantes do crescimento inicial dos insetos (trocas) e adultos mortos no fim do ciclo de vida. Esses resíduos são fontes de quitina com potencial para aplicação tecnológica e sustentável, ainda pouco explorado. Assim, esse trabalho teve como objetivo obter e caracterizar quitina e quitosana provenientes dos exoesqueletos (fase larval e inseto adulto) da criação de três espécimes de insetos, *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* e *Blaptica dubia*. Os exoesqueletos foram separados, secos em estufa com circulação de ar (50° C/ 12h) e conservados sob refrigeração (-20°C) até as análises. Para extração da quitina foi utilizado método químico em três etapas: desmineralização, desproteínização e despigmentação. A quitosana foi obtida a partir da desacetilação da quitina em solução de hidróxido de sódio (60% m.v⁻¹). As amostras de quitina e quitosana obtidas foram caracterizadas mediante técnicas de espectroscopia no Infravermelho (FTIR), análise térmica (TG/DTG), difração de raios-x e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A quitosana também foi analisada quanto ao Grau de desacetilação (GD), solubilidade e parâmetros reológicos. O rendimento de quitina e quitosana em percentual de massa seca dos exoesqueletos variaram de 11,21% a 20,89% e 6,26 a 7,07%, respectivamente. A amostra com menor percentual de quitina foi o exoesqueleto da larva do *Zophobas morio* e o de maior percentual o exoesqueleto do besouro do *Zophobas morio*. Os difratogramas confirmaram a obtenção de quitina e quitosana dos resíduos dos insetos, com presença da α - quitina. Os índices de cristalinidade relativos (ICR) da quitina variaram de 65,9-89,2%, as curvas TG/DTG evidenciaram dois eventos térmicos típicos, sendo o primeiro associado a perda de umidade e o segundo a decomposição térmica das amostras com Tonset de 197,70 a 427,95°C. As amostras de quitosana apresentaram ICR de 65,3 a 80,2% e as curvas de TG/DTG apresentaram Tonset entre 245,80 a 329,90°C. As soluções de quitosana mostraram um comportamento pseudoplástico com viscosidades aparentes variando de 195,96 a 249,86 mPa.s. O grau de desacetilação variou 75,75 a 89,21% e a solubilidade de 69,88 a 94,39%. As micrografias revelaram superfícies variadas incluindo poros, rugosidades e formatos fibrilares, apresentando resultados semelhantes à da quitosana comercial. De uma maneira geral, a caracterização dos biopolímeros extraídos dos resíduos dos insetos evidenciou alta similaridade em relação aos obtidos de fontes convencionais. Os resultados do presente estudo reforçam a viabilidade do uso de fontes alternativas de quitina e quitosana, proporcionando o aproveitamento dos resíduos da produção em larga escala de insetos, contribuindo para sustentabilidade.

Palavras-chave: biopolímeros. insetos comestíveis. *Zophobas morio*. *Tenebrio molitor*. *Blaptica dubia*. economia circular.

ABSTRACT

The production of insects on a large scale is becoming common all over the world, generating a significant amount of waste from these creations. An example are the exoskeletons resulting from the initial growth of insects (exchanges) and dead adults at the end of their life cycle. These residues are chitin sources with potential for technological and sustainable application, still little explored. Thus, this work aimed to obtain and characterize chitin and chitosan from the exoskeletons (larval stage and adult insect) of the creation of three specimens of insects, *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* and *Blaptica dubia*. The exoskeletons were separated, dried in an oven with air circulation (50°C/12h) and kept under refrigeration (-20°C) until analysis. For chitin extraction, a chemical method was used in three stages: demineralization, deproteinization and depigmentation. Chitosan was obtained from chitin deacetylation in sodium hydroxide solution (60% m.v-1). The chitin and chitosan samples were characterized by means of infrared spectroscopy (FTIR), thermal gravimetric analysis (TGA), X-ray diffraction (XRD) and Scanning Electron Microscopy (SEM) techniques. Chitosan was also observed for the Degree of Deacetylation (DD), solubility and rheological parameters. The yield of chitin and chitosan in percentage of dry mass of exoskeletons ranged from 11.21 to 20.89% and 6.26 to 7.07%, respectively. The sample with the lowest percentage of chitin was the exoskeleton of the larva of *Zophobas morio* and the one with the highest percentage was the exoskeleton of the beetle of *Zophobas morio*. Diffractograms confirmed the obtainment of chitin and chitosan from insect residues, with the presence of α -chitin. The relative crystallinity indices (ICR) of chitin ranged from 65.9-89.2%, the TG/DTG curves showed two typical thermal events, the first being associated with moisture loss and the second with thermal decomposition of samples with Tonset from 197.70 to 427.95°C. The chitosan samples showed ICR from 65.3 to 80.2% and the TGA curves showed Tonset between 245.80 to 329.90°C. Chitosan solutions showed a pseudoplastic behavior with apparent viscosities ranging from 195.96 to 249.86 mPa.s. The degree of deacetylation ranged from 75.75 to 89.21% and the solubility from 69.88 to 94.39%. The micrographs revealed varied surfaces including pores, roughness and fibrillar shapes, presenting similar results to commercial chitosan. In general, the characterization of biopolymers extracted from insect residues showed high similarity in relation to those obtained from conventional sources. The results of the present study reinforce the feasibility of using alternative sources of chitin and chitosan, providing the use of residues from the large-scale production of insects, contributing to sustainability.

Keywords: biopolymers. edible insects. *Zophobas morio*. *Tenebrio molitor*. *Blaptica dubia*. circular economy.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	12
Figura 1 Estrutura química da quitina.....	18
Figura 2 Arranjo das cadeias poliméricas nas três formas de quitina.....	19
Figura 3 Esquema de fontes de extração e aplicações da quitina.....	20
Figura 4 Estrutura química da quitosana	21
Figura 5 Mecanismo da reação de desacetilação da quitina	22
Figura 6 Aplicações, formas de uso e vantagens da quitosana	23
Figura 7 Esquema das aplicações tecnológicas e economia circular na produção de insetos	28
Figura 8 <i>Tenebrio molitor</i> (larva, inseto adulto e exoesqueleto cuticular da larva)	31
Figura 9 Estágio de vida do <i>Zophobas morio</i> , (A) ovos, (B) larva, (C) pupa e (D) besouro.....	33
Figura 10 Barata <i>Blaptia dubia</i>	34
Figura 11 Micrografias das amostras de (a) quitina e (b) quitosana dos resíduos dos insetos	48
Figura 12 Espectros de FTIR -ATR das amostras de (a) quitina e (b) quitosana obtidas dos resíduos dos insetos.....	51
Figura 13 Perfis de difração de raios-X das amostras de (a) quitina e (b) quitosana obtidas dos resíduos dos insetos	55
Figura 14 Curvas (a) TG e (b) DTG das amostras de quitina obtidas dos resíduos dos insetos.....	60
Figura 15 Curva (a) TG e (b) DTG das amostras de quitosana obtidas dos resíduos dos insetos	62
Figura 16 Viscosidades aparentes das amostras de quitosana obtidas dos resíduos dos insetos	65

LISTA DE TABELAS

<i>CAPÍTULO I</i>	12
Tabela 1 Fontes de quitina, rendimentos e tipo de biomassa utilizada para extração do biopolímero	25
Tabela 2 Fontes de obtenção da quitina e quitosana, rendimentos e métodos de extração.....	30
Tabela 3 Rendimentos da quitina e rendimento grau de desacetilação e solubilidade das amostras de quitosana extraídas dos resíduos dos insetos	42
Tabela 4 Picos do difratograma, tipo de polimorfo e índices de cristalinidade relativos (ICR) das amostras de quitina e quitosana obtidas dos resíduos de insetos	56
Tabela 5 Medidas termogravimétricas. Umidade, temperatura de estabilidade térmica (Tonset DTG) e resíduo das amostras de quitina e quitosana obtidas dos resíduos dos insetos	64
Tabela 6 Parâmetros reológicos de suspensão das diferentes amostras de quitosana	66

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I – Potencial da obtenção de quitina e quitosana a partir do exoesqueleto Da produção de insetos</i>	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivo específico	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Breve histórico da quitina e quitosana	17
3.2 Aspecto físico – químico	18
3.2.1 Quitina	18
3.2.2 Quitosana.....	21
3.3 Fonte de quitina.....	24
3.4 Os insetos e as aplicações tecnológicas	27
3.5 Insetos e a produção de quitina e quitosana	29
3.6 <i>Tenebrio molitor</i>	31
3.7 <i>Zophobas morio</i>	32
3.8 <i>Blaptica dubia</i>	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Material	36
4.2 Extração de quitina	36
4.3 Obtenção de quitosana.....	37
4.4 Caracterização físico-químico	38
4.4.1 Grau de desacetilação da quitosana (GD)	38
4.4.2 Solubilidade da quitosana	38
4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	39
4.4.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier acoplada ao dispositivo de refletância total atenuada (FTIR-ATR)	39
4.4.5 Difractometria de raios X (DRX)	39
4.4.6 Análise termogravimétrica (TGA)	40
4.4.7 Parâmetros reológicos da quitosana	40
4.4.8 Análise estatística	41

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	Extração de quitina, obtenção de quitosana e rendimentos dos biopolímeros	42
5.2	Grau de desacetilação da quitosana (GD)	45
5.3	Solubilidade da quitosana	46
5.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	47
5.5	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier acoplada ao dispositivo de refletância total atenuada (FTIR-ATR).....	50
5.6	Difratometria de raios X (DRX)	53
5.7	Análise termogravimétrica (TGA)	59
5.8	Parâmetros reológicos da quitosana	64
6	CONCLUSÃO.....	66
	REFERÊNCIAS.....	67

<i>CAPÍTULO II - Insect residues as an alternative and promising source for the extraction of chitin and chitosan.....</i>	84
---	-----------

Capítulo I

Potencial da obtenção de quitina e quitosona a partir do exoesqueleto da produção de insetos

1 INTRODUÇÃO

A quitina foi relatada pela primeira vez há cerca de 200 anos e está entre os biopolímeros naturais mais abundantes no mundo, sendo encontrada no exoesqueleto de crustáceos, paredes celulares de fungos e na cutícula de insetos, onde atua como elemento de suporte (Broek; Boeriu, 2019; Lucas *et al.*, 2021). É um polímero linear no qual a unidade repetitiva é o dissacarídeo formado por 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose unidos por ligação glicosídica. A desacetilação parcial da quitina resulta na produção de quitosana, cuja estrutura primária é similar à da quitina, mas predominando as unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose (Campana-Filho *et al.*, 2007).

A quitina e a quitosana são atóxicas, biodegradáveis e biocompatíveis. Apesar das excelentes propriedades funcionais, a quitina tem sido subutilizada devido a sua baixa solubilidade na maioria dos solventes orgânicos e inorgânicos (Huet *et al.*, 2020). A quitosana, no entanto, pode sofrer facilmente modificações estruturais devido à presença, principalmente, do grupo amino em sua cadeia polissacarídica, sendo solúvel em soluções aquosas fracamente ácidas, apresentando maior aplicação tecnológica (Soon *et al.*, 2018).

Nas últimas décadas a quitina e a quitosana ganharam amplas aplicações, por exemplo, nas indústrias têxteis, no tratamento de efluentes e remoção de corantes (Sirajudheen *et al.*, 2021), alimentos (Alimi *et al.*, 2023a; Dutta *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2015), na biomedicina como aceleradores de cicatrização de feridas (Matica *et al.*, 2019; Minagawa *et al.*, 2007), reconstituição óssea (Nasrin *et al.*, 2017), atividade antimicrobiana (Jiang *et al.*, 2013; Philibert; Lee; Fabien, 2017) e encapsulamento de materiais (Zhong *et al.*, 2022).

Estima-se que anualmente são produzidas no mundo cerca de 100 bilhões (10^{11}) de toneladas de quitina, com destaque para o Japão e Estados Unidos. Economicamente, o mercado global de quitosana foi avaliado em US\$ 10,88 bilhões em 2022 e prevê-se que se expanda a uma taxa composta de crescimento anual de 20,1% de 2023 a 2030. O crescimento é atribuído ao aumento na demanda por produtos derivados naturalmente, juntamente com sua alta aplicabilidade em diferentes setores industriais (Market Analysisreport, 2023). Fluxos de resíduos da indústria pesqueira (exoesqueleto de crustáceos e outros organismos marinhos), são as principais fontes para obtenção de quitina e quitosana comercial. No entanto, a extração de fontes marinhas apresenta desafios, incluindo o suprimento instável de matérias-primas (disponibilidade sazonal), elevado custo da produção e risco de contaminação com metais pesados devido à origem. Assim, a busca por fontes sustentáveis que englobem a utilização de resíduos, torna o processo mais atrativo e com geração de impactos positivos

nas vias econômica, social e ambiental (MA; XIN; TAN, 2015). Recentemente, estudos estão sendo realizados com foco em alternativas para a obtenção de quitina e quitosana. Nessa perspectiva, os insetos se apresentam com uma opção viável para extração. Estes animais não foram explorados comercialmente no passado em razão da disponibilidade limitada. Entretanto, devido ao atual incentivo ao consumo e a produção destinada para alimentação humana e ração animal, a produção comercial de insetos está sendo substancialmente desenvolvida, tornando-os uma matéria-prima promissora, de baixo impacto ambiental, renovável e não sazonal (Hahn; Tafi; *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2021).

Os insetos possuem nutrientes de alta qualidade para alimentação, destacando o conteúdo de proteínas (aminoácidos essenciais), lipídios (ácidos graxos), minerais, vitaminas e fibras (Van Huis, 2020). Entre as espécies com produção em larga escala se destaca a larva da farinha (*Tenebrio molitor*), já aprovada para consumo humano na União Europeia. O parecer científico (EU) 2015/228 emitido pela EFSA (Autoridade Europeia de Segurança Alimentar) sobre a segurança da larva da farinha como novo alimento para humanos, representou um importante marco econômico para o setor produtivo (Turck *et al.*, 2021). Além disso, insetos como as larvas da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*), barata (*Blaptica dubia*), larvas da mosca doméstica (*Musca domestica*), dentre outros, têm sido utilizados para inserção em ração animal devido ao alto teor nutricional (Kulma *et al.*, 2016; Meyer-Rochow *et al.*, 2021; Yi *et al.*, 2013).

As criações de insetos geram uma grande quantidade de resíduos, constituído principalmente por exoesqueleto cuticular, que são substituídos (ecdises) ao longo dos diferentes estágios de desenvolvimento e insetos adultos, que morrem durante a produção e não podem ser utilizados (Triunfo *et al.*, 2021). O exoesqueleto cuticular ou cutícula, é o componente que recobre a parte mais externa desses animais, mas também está presente em algumas partes internas. Estima-se que a cutícula possa apresentar cerca de 20 a 50% de quitina no corpo dos insetos secos. Assim, a utilização dos exoesqueletos residuais das biorrefinarias de insetos representa uma alternativa viável, sustentável e de alto valor agregado, pois são ricos em quitina e adequados para o processamento e obtenção de quitosana, em um contexto de economia circular (Brigode *et al.*, 2020; Lucas *et al.*, 2021). Estudos já descreveram a extração desses biopolímeros a partir de insetos (Erdogan; Kaya, 2016; Kaya *et al.*, 2015; Luo *et al.*, 2019; Shin; Kim; Shin, 2019; Zelencova *et al.*, 2015). Entretanto, a extração de quitina e quitosana a partir da cutícula de insetos foi pouco explorada.

Diante do contexto, esse trabalho teve como objetivo obter e caracterizar quitina e quitosana provenientes dos resíduos da criação de três espécimes de insetos, *Tenebrio molitor*,

Zophobas morio e *Blaptica dubia*. Uma análise de viabilidade de utilização da quitina e quitosana obtidas de fontes alternativas foi realizada com base nos resultados, considerando a expansão da criação, processamento e comercialização de insetos para alimentação humana e animal, a sustentabilidade da produção e o potencial do exoesqueleto para a extração de biopolímeros.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Extrair e realizar a caracterização físico-química de quitina e quitosana obtidas a partir dos resíduos (exoesqueleto cuticular) de diferentes estágios de desenvolvimento dos insetos *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* e *Blaptica dubia*.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Extrair quitina a partir do exoesqueleto das larvas e insetos adultos dos espécimes
- ✓ *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* e *Blaptica dubia*;
- ✓ Produzir quitosana por meio da desacetilação da quitina obtida dos resíduos de insetos;
- ✓ Determinar o rendimento do processo de obtenção de quitina e quitosana a partir dos resíduos de insetos;
- ✓ Avaliar as características físico-químicas das amostras de quitina e quitosana obtidas, por meio das técnicas de espectroscopia no infravermelho (FTIR), análise térmica (TG/DTG), difração de raio-x (DRX) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- ✓ Caracterizar a quitosana obtida dos resíduos dos insetos quanto a solubilidade, grau de desacetilação e parâmetros reológicos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Breve histórico da quitina e quitosana

A quitina foi isolada pela primeira vez em 1811 pelo químico e farmacêutico francês Henri Braconnot, como fração de alguns fungos superiores, porém, só foi denominada de quitina em 1823, quando o pesquisador Antoine Odier conseguiu isolá-la a partir da carapaça de um inseto pertencente a Família Scarabaeidae e Gênero Melolontha. Odier também identificou a quitina como presente na carapaça desmineralizada de caranguejo e sugeriu que é a base material dos exoesqueletos de todos os insetos e, possivelmente, dos aracnídeos. Embora tenha falhado em não detectar nitrogênio na composição, ele foi o primeiro a relatar a semelhança entre as substâncias suportes presentes na armadura dos insetos e nos tecidos vegetais (Roberts, 1992)

Em 1824 o pesquisador John George Children publicou uma tradução em inglês do artigo de Odier, juntamente com alguns resultados adicionais de seus próprios estudos sobre quitina. Muito provavelmente Odier e Children tenham isolado a quitosana em vez de quitina a partir da descrição do processo de purificação utilizado por eles. No entanto, a quitosana só foi descrita pela primeira vez em 1859 pelo professor Charles Rouget e o nome foi proposto em 1894 por Hoppe-Seyler, pelo fato dele observar que a nova substância possuía quantidade de nitrogênio igual à quitina original. (Dias *et al.*, 2013; Roberts, 1992)

É importante ressaltar que a descoberta da quitina se deu trinta anos antes do isolamento da celulose, mas a falta de conhecimento básico sobre suas propriedades, incluindo a reatividade química, limitou severamente suas aplicações industriais até o início dos anos 70 (Campana-Filho *et al.*, 2007). Durante a década de 70, foi realizada a primeira conferência internacional referente a quitina e quitosana a “1st International Conference on Chitin / chitosan (ICCC)” que aconteceu em Boston, EUA. Esse evento permitiu que cientistas das mais diversas áreas do conhecimento que trabalhavam com pesquisas relacionadas à quitina e quitosana pudessem se reunir e discutir os avanços e perspectivas para aplicação desses compostos (Bezerra, 2015).

A quitosana foi produzida industrialmente pela primeira vez em 1971 no Japão. A partir de então, o interesse progressivo na química de quitina resultou no desenvolvimento de muitos estudos que visaram aumentar o conhecimento sobre as relações estruturas/propriedades deste polímero e seus derivados. Desde 1993, o Japão continua à frente das pesquisas referente a esse biopolímero seguido pelos Estados Unidos, porém outros.

países também passaram a se interessar por esta área, entre eles podemos destacar a China, Itália e Brasil (Antonino, 2007; Campana-Filho *et al.*, 2007; Roberts, 1992).

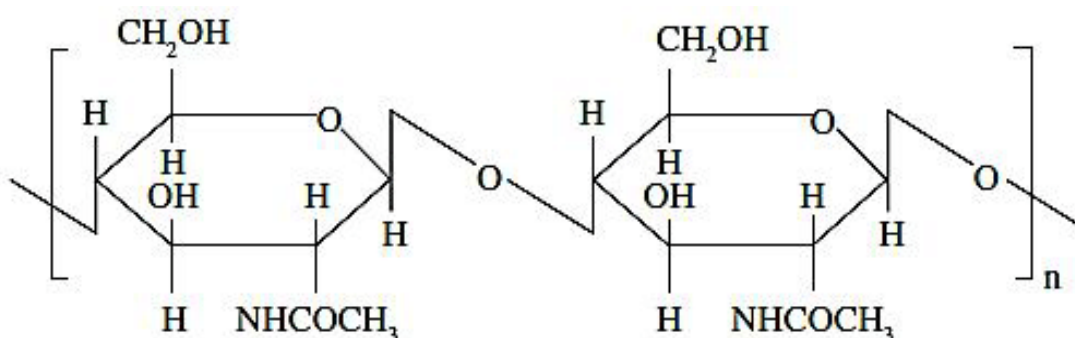
Nos últimos anos os estudos apontam para um crescimento exponencial de pesquisas relacionadas a essa biopolímero, que visam tanto os aspectos físico-químico, quanto propor fontes alternativas para extração do mesmo (Brigode *et al.*, 2020; Huet *et al.*, 2020; Lucas *et al.*, 2021; Triunfo *et al.*, 2022). Isso tem potencializado a utilização da quitina e seus derivados pela indústria, dentre elas, podemos destacar a indústria alimentícia, de cosméticos e a farmacêutica.

3.2 Aspectos físico-químico da quitina e quitosana

3.2.1 Quitina

Estruturalmente a quitina é um polímero de cadeia longa de N-acetilglucosamina, um derivado da glicose no qual a unidade repetitiva é o dissacarídeo formado por 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose unidos por ligação glicosídica conforme apresentado na Figura 1. Dependendo de sua fonte, a quitina existe como duas formas poliméricas principais, α -quitina e β -quitina, que são arranjadas de acordo com ortocélulas rômbricas e monoclinicas, respectivamente. Um terceiro alomorfo, γ -quitina, também foi descrito, porém poucos estudos foram realizados em γ -quitina. Alguns pesquisadores já relataram a possibilidade de a γ -quitina ser uma versão distorcida da α -quitina e β -quitina em vez de ser uma terceira forma (El Knidri *et al.*, 2018; Kaya *et al.*, 2017; Aranaz *et al.*, 2009).

Figura 1 - Estrutura química da quitina.



Fonte: Adaptado de Spin-Neto (2008)

A α -quitina é encontrada em estruturas rígidas e resistentes, como na cutícula de artrópodes, e nesses casos, ocorre fortemente associada a proteínas, materiais inorgânicos ou ambos. As formas β -quitina ocorrem em estruturas flexíveis embora também resistentes, ocorre mais facilmente nos gládios de lula e fibras extracelulares de diatomáceas, são dispostas em cadeias paralelas, resultando em menos estabilidade com um índice de cristalinidade de aproximadamente 70%. A α -quitina é a forma mais abundante e é também considerada a mais estável, visto que a conversão das formas β e γ na α -quitina é irreversível. Na α -quitina as cadeias polissacarídicas são dispostas em cordas antiparalelas, permitindo ligações máximas, resultando em fibras de quitina com alto índice de cristalinidade de aproximadamente 80% (Campana-Filho *et al.*, 2007).

Figura 2 - Arranjo das cadeias poliméricas nas três formas de quitina.



Fonte: Adaptado a partir de Roberts (1992).

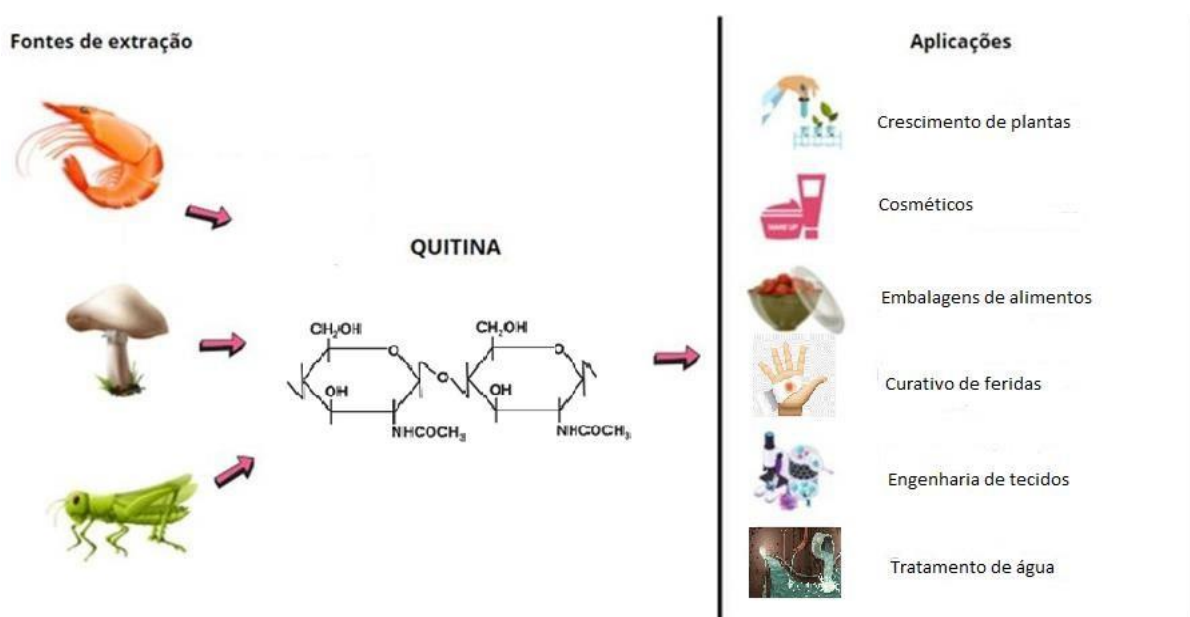
A quitina é conhecida por ser atóxica, biodegradável, comestível, biocompatível, antioxidante, antimicrobiana, termicamente estável, anti-oncogênica e possuir superfície nanofibrosa e porosa (Kaya *et al.*, 2017). No entanto, é um polímero insolúvel em meio aquoso e na maioria dos solventes orgânicos testados e com baixa reatividade química, limitando à algumas aplicações (Hahn; Tafi; *et al.*, 2020).

A quitina presente na biomassa dos organismos está fortemente ligada a outras biomoléculas como as proteínas e minerais. Essas impurezas precisam ser removidas para gerar um produto de alta pureza para serem utilizados pela indústria de forma geral (Broek; Boeriu, 2019). Ela pode ser extraída quimicamente ou biologicamente via fermentação com microorganismos e enzimas, sendo o último método mais ecológico (Van Huis, 2020), porém,

o método químico é o mais comum e aplicado em escala comercial. A extração química consiste em três etapas, desproteinização por tratamento alcalino, desmineralização por tratamento ácido sob alta temperatura, seguida pela etapa de descoloração que se concentra na remoção de pigmentos e lipídios (Philibert; Lee; Fabien, 2017).

As aplicações industriais da quitina permeiam vários nichos tecnológicos, tais como agricultura, onde a quitina pode ser utilizada para a indução de resistência a doenças e promoção do crescimento em plantas (Egusa *et al.*, 2020; Takagi *et al.*, 2022), alimentício, como embalagens para alimentos com funcionalidade antioxidante (Cabrera- Barjas *et al.*, 2021; Yanat; Colijn; Schroën, 2022), na engenharia de tecidos (Smirnova *et al.*, 2019), na cosmética (Triunfo *et al.*, 2021), na medicina em curativo de feridas, graças aos aspectos antimicrobianos, coagulação sanguínea, inchaço, adesão celular e citocompatibilidade (Matica *et al.*, 2019) e no tratamento de águas residuais e remoção de corantes (Sirajudheen *et al.*, 2021). A Figura 3 apresenta um esquema com as possibilidades de aplicação da quitina.

Figura 3 - Esquema de fontes de extração e aplicações da quitina



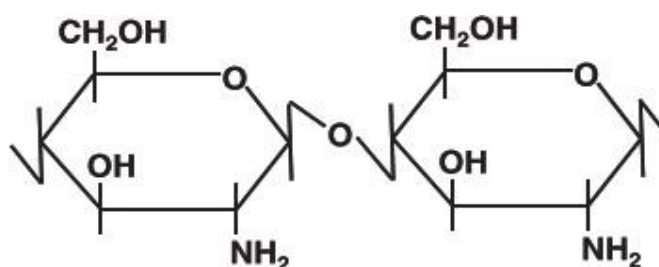
Fonte: Adaptado a partir de Paula (2023)

3.2.2 Quitosana

O principal derivado da quitina é a quitosana, ela também ocorre naturalmente em alguns fungos, mas sua ocorrência é muito menos difundida (Roberts, 1992). Na quitosana há predominância das unidades de 2- amino-2-deoxi-D-glicopirranose em sua estrutura, sendo proveniente da N-desacetilação da quitina. A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina (ou seja, a remoção de grupos acetil do polímero de quitina). A quitosana resultante tem um alto grau de grupos amino livres (NH_2) que fornecem sítios ativos para muitas reações químicas, tornando a quitosana um polímero versátil que é adequado para várias modificações e aplicações (Triunfo *et al.*, 2021).

Propriedades como biodegradabilidade, bioatividade, biocompatibilidade, não toxicidade, capacidade de formar filme e miscibilidade com outros polímeros, tornam a quitosana adequada para uso em diversos setores, como medicina, farmácia, veterinária, engenharia de tecidos, agricultura, proteção ambiental, indústria de alimentos e embalagens (Broek; Boeriu, 2019).

Figura 4 - Estrutura química da quitosana.

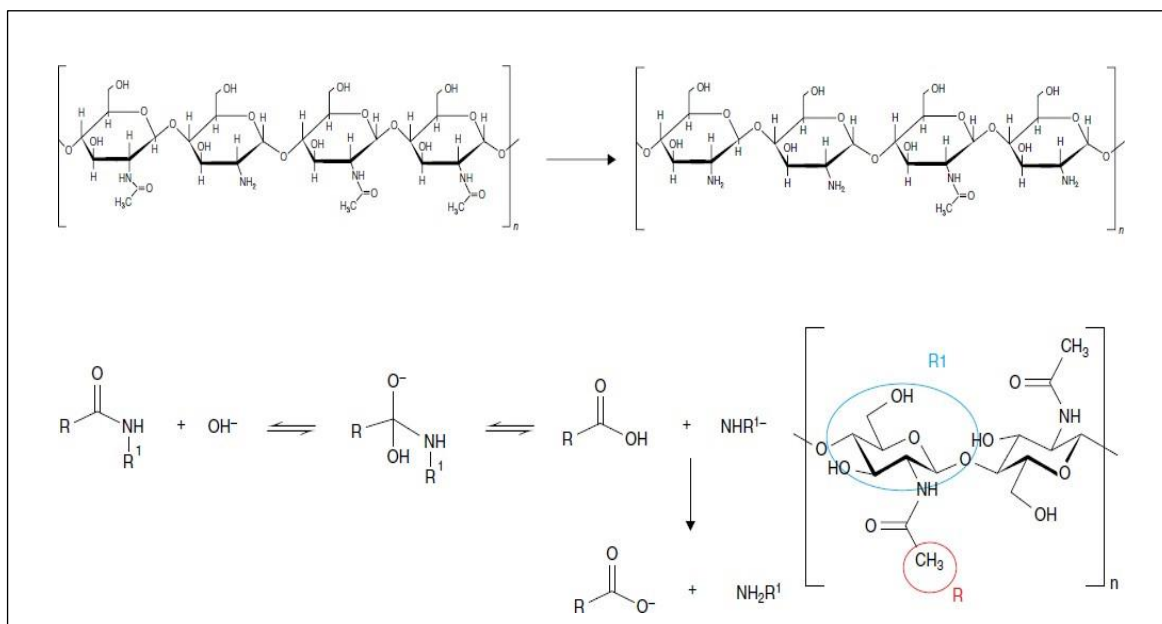


Fonte: Adaptado a partir de Singh; Shitiz; Singh (2017)

O processo químico mais utilizado para obtenção da quitosana é realizado através de soluções concentradas de hidróxido de sódio. A desacetilação é uma reação de substituição nucleofílica em duas etapas (Figura 5). O primeiro passo consiste em uma adição nucleofílica de um hidróxido nos grupos carboxi enquanto na segunda etapa, uma amina é formada (quitosana). O grupo N-acetil pode sofrer vários graus de desacetilação. O grau de desacetilação (GD) é definido como a razão entre o número de grupos de glucosamina ao número total de grupos N-acetilglucosamina (GlcNAc) e glucosamina (GlcN). O percentual do GD determina

se o polímero é quitina ou quitosana. O polímero é considerado quitosana se seu GD for superior a 50%, ele pode ser definido utilizando diferentes métodos, tais como, espectroscopia de infravermelho (FTIR), espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), espectroscopia de UV, titulação potenciométrica e ressonância magnética (RMN) (Broek; Boeriu, 2019; El Knidri *et al.*, 2018).

Figura 5 - Mecanismo da reação de desacetilação da quitina



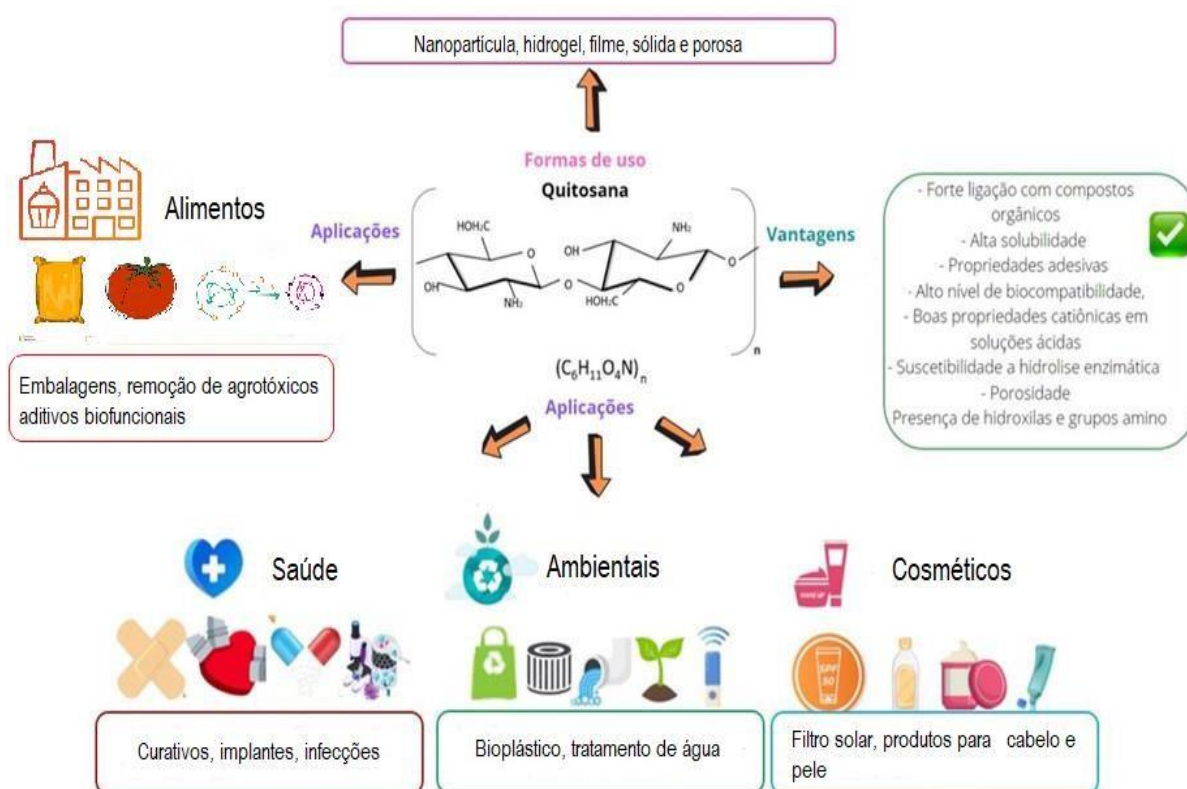
Fonte: Adaptado a partir de Broek; Boeriu (2019)

Levando em consideração os diferentes graus de desacetilação, a literatura divide a quitosana em quatro grupos: o de baixo grau de desacetilação (55-70%), grau médio (71- 85%), grau alto (86-95%) e ultra-alto (96-100%). Essas diferenças no grau de desacetilação conferem características físico químicas diferentes, implicando diretamente na aplicação da mesma. (Nuc; Dobrzycka-Krahel, 2021). Segundo Broek e Boeriu (2019) o grau de desacetilação e a massa molar são fatores importante para determinar a atividade biológica, as características poliméricas e físico-químicas (solubilidade, hidrofiliicidade, cristalinidade, viscosidade) e as aplicações biomédicas da quitosana.

As aplicações da quitosana são mais versáteis que as da quitina devido as suas características físicas-químicas, principalmente a solubilidade e as propriedades catiônicas em soluções ácidas. Na área da saúde, ela tem sido estudada para utilização em implantes ósseos (Lin *et al.*, 2021), tratamento de infecções entéricas (Yan *et al.*, 2021), na cicatrização de feridas (Moeini *et al.*, 2020), na indústria alimentícia, em embalagens para frutas (Motelica *et al.*,

2020), na remoção de agrotóxicos em legumes (Craveiro; Ribeiro; Craveiro, 2019), como estabilizador bifuncional para emulsões de grau alimentício e propriedade antioxidante aditiva (İlyasoğlu; Nadzieja; Guo, 2019), em cosméticos multifuncionais para cuidados com a pele e os cabelos (Guzmán; Ortega; Rubio, 2022) e na área ambiental em tratamento de água (Keshvaridoostchokami *et al.*, 2021), e na produção de plásticos com atividade biológica (Jin *et al.*, 2023). A Figura 6 apresenta um esquema com áreas de grande potencial tecnológico para quitosana.

Figura 6 - Aplicações, formas de uso e vantagens da quitosana



Fonte: Adaptado a partir de Paula (2023)

3.3 Fontes de quitina

A quitina é um dos polímero de carboidrato mais abundante da Terra. Ocorre em animais, particularmente em crustáceos, moluscos e insetos onde é um constituinte importante do exoesqueleto, em diatomáceas e em certos fungos onde é o principal polímero fibrilar na parede celular (Hahn; Roth; *et al.*, 2020; Roberts, 1992). Atualmente, a principal fonte de extração em escala industrial da quitina são os resíduos da indústria pesqueira (exoesqueleto de camarão, carangueijo), que possuem um teor de quitina de 15–40% (Triunfo *et al.*, 2022). Porém, estas fontes de extração apresentam algumas limitações, tais como, sazonalidade, uma vez que existem temporadas específicas para pesca de crustáceos, matéria-prima restrita a regiões costeiras e, risco de desencadear alergias e contaminações (Ma; Xin; Tan, 2015). Com isso surge a necessidade de fontes distintas para a extração do biopolímero.

A Tabela 1 apresenta a relação de estudos realizados com fontes alternativas de quitina e seus respectivos rendimentos. A quantidade de quitina varia de acordo com o tipo de espécie, a parte da biomassa considerada e estágios de crescimento. Os valores variaram de aproximadamente 1% a 71% (p/p) na matéria seca com base no tipo de biomassa.

Dentre as opções apresentadas, os insetos, sendo o grupo animal com o maior número de espécies existente, com uma população variando de 2,6 a 7,8 milhões (Oghenesuvwe; Chinwuba, 2019), tem sido a alternativa mais amplamente pesquisada e com grande potencial para produção em larga escala de quitina. Fatores como ser uma fonte renovável, não sazonal e sustentável (Triunfo *et al.*, 2022) conferem a este grupo alta vantajosidade em relação as demais fontes alternativas.

Tabela 1 - Fontes de quitina, rendimentos e tipo de biomassa utilizada para extração do biopolímero.

NOME	ESPÉCIE	BIOMASSA	% QUITINA*	REFERÊNCIA
Crustáceos (filo Arthropoda)				
Caranguejo azul	<i>Portunus pelagicus</i>	carapaça	20	Sagheer <i>et al.</i> , 2009
Caranguejo marmorizado	<i>Grapsus marmoratus</i>	Corpo inteiro	10	Rhazi <i>et al.</i> , 2000
Santola-Do-Mediterrâneo	<i>Maja squinado</i>	Corpo inteiro	16	Rhazi <i>et al.</i> , 2000
Caranguejo real	<i>Paralithodes</i>	corpo inteiro	35	Kaur; Dhillon, 2015
Camarão Jinga	<i>Metapenaeus affinis</i>	casca	16	Sagheer <i>et al.</i> , 2009
Camarão marrom	<i>Penaeus aztecus</i>	casca	21	Abdou; Nagy; Elsabee, 2008
Camarão-tigre-gigante	<i>Penaeus monodon</i>	casca	10	Marei <i>et al.</i> , 2016
Lagosta espinhosa	<i>Palinurus vulgaris</i>		32	Rhazi <i>et al.</i> , 2000
Lagostim	<i>Procambarus clarkii</i>	casca	20	Abdou <i>et al.</i> , 2008
Craca	<i>Lepas anatifera</i>	carapaça	7	Rhazi <i>et al.</i> , 2000
Insetos (Filo Arthropoda)				
Gafanhoto	<i>Aiolopus simulatrix</i>	Adulto inteiro	5	Kaya; Erdogan; <i>et al.</i> , 2015
Gafanhoto	<i>Duroniella laticornis</i>	Adulto inteiro	6	Kaya; Erdogan; <i>et al.</i> , 2015
Gafanhoto	<i>Oedipoda miniata</i>	inseto adulto na íntegra	8	Kaya; Erdogan; <i>et al.</i> , 2015
Besouro	<i>Calosoma rugosa</i>	Exoesqueleto cuticular	5	Marei <i>et al.</i> , 2016
Bicho-da-seda	<i>Bombyx mori</i> L.	Exoesqueleto cuticular	36 - 62	Yu <i>et al.</i> , 2015
Abelhas	<i>Apis mellifera</i>	Exoesqueleto cuticular	2	Marei <i>et al.</i> , 2016
Borboleta	<i>Pieris</i>	Exoesqueleto cuticular	64	Kaur; Dhillon, 2015
Mosca	<i>Musca domestica</i>	Adultos inteiro	11	Finke, 2013
Barata	<i>Shelfordella lateralis</i> ,	Ninfa inteira	6	Finke, 2013
Larva-da-farinha	<i>Tenebrio molitor</i>	Exesqueleto cuticular da larva	70,9	Lucas <i>et al.</i> , 2021
Larva-da-farinha	<i>Tenebrio molitor</i>	Larva inteira	4	Shin; Kim; Shin, 2019

Besouro	<i>Tenebrio molitor</i>	Adulto inteiro	8	Shin; Kim; Shin, 2019
Besouro	<i>Zophobas morio</i>	Larva inteira	3	Shin; Kim; Shin, 2019
Moluscos (filo Mollusca)				
Chocos	<i>Sepia spp</i>	Carapaça	7	Sagheer <i>et al.</i> , 2009
Lula	<i>Loligo vulgaris</i>	Gládios	40	Rhazi <i>et al.</i> , 2000
Sépia	<i>Sepia officinalis</i>		20	Rhazi <i>et al.</i> , 2000
Fungos				
Cogumelo	<i>Agaricus bisporus</i>	Parede celular	43	Wu <i>et al.</i> , 2004
Zygomycota	<i>Mucor rouxii</i>	Parede celular	50	Wu <i>et al.</i> , 2005
Levedura	<i>Rhizopus oryzae</i>	Biomassa total	14	Zamani <i>et al.</i> , 2008
Levedura	<i>Aspergillus niger</i>	Parede celular	42	Kaur; Dhillon, 2015
Levedura	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Parede celular	20	Kaur; Dhillon, 2015
Levedura	<i>Penicillium notatum</i>	Parede celular	18	Kaur; Dhillon, 2015
Outros animais				
Briozoários	<i>Plumatella repens</i>	Corpo inteiro	13	Kaya; Baran; Karaarslan, 2015
Coral negro	<i>Antipathella fiordensis</i>	Esqueleto (orgânico)	10	Holl <i>et al.</i> , 1992
Aranha	<i>Geolycosa vultuosa</i>	Adulto inteiro	8	Kaya <i>et al.</i> , 2014
	<i>Hogna radiata</i>	Adulto inteiro	5	Kaya <i>et al.</i> , 2014

*Percentuais de quitina aproximados.

3.4 Os insetos e a aplicação tecnológica

Os insetos são o grupo animal com o maior número de espécies existentes e estão presentes em praticamente todos os ecossistemas, tendo participação em processos ecológicos fundamentais (Ulysséa; Hanazaki; Lopes, 2010). Atualmente, estima-se que os insetos façam parte das dietas tradicionais de pelo menos 2 bilhões de pessoas. Eles são considerados uma fonte alimentar altamente nutritiva e saudável, com alto teor de gordura, proteínas, vitaminas, fibras e conteúdo mineral. Possui um valor nutricional altamente diversificado devido à ampla gama de espécies comestíveis, cerca de 1.900 espécies (Van Huis, 2020). A criação comercial de insetos em larga escala para fins industriais é relativamente nova; a primeira planta industrial foi inaugurada em 2015, desde então esse setor apresentou crescimento expressivo (Rehman *et al.*, 2023).

Na alimentação humana os insetos comestíveis têm sido o foco de vários pesquisadores e podem ser consumidos *in natura* (Huang *et al.*, 2019; Van Huis, 2020), e serem incorporados para enriquecer produtos, como pães (Oliveira *et al.*, 2017) e carnes (Kim *et al.*, 2017) e serem utilizados para extração de óleos, ricos em ácidos graxos e capacidade antioxidante (Santos *et al.*, 2021).

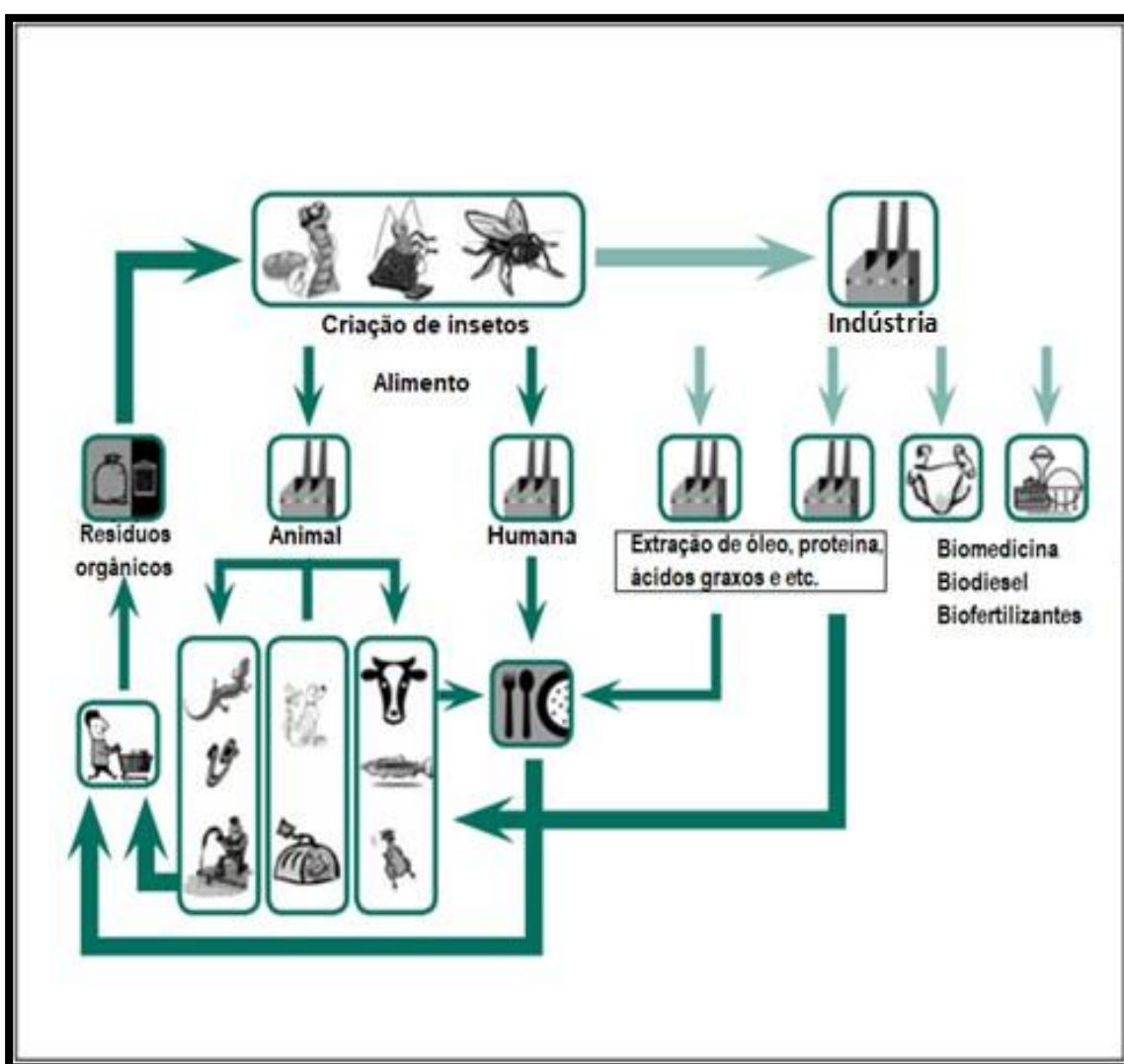
Os insetos possuem alto valor agregado para alimentação animal (suínos, aves e peixes) (Lu *et al.*, 2022). Nesta perspectiva, larvas e pré-pupas de *Hermetia illucens* foram utilizadas para substituírem 25% do trigo em alimentos extrusados experimentais (Otto boni *et al.*, 2018). Farinha de larva do *Tenebrio molitor* foi adicionada em ração de galinhas poedeiras com resultados promissores na qualidade e tamanho dos ovos (Braga, 2023) e o uso de farinha de insetos (*Hermetia illucens*, *Tenebrio molitor* e *Musca domestica*) para aquicultura, foi apresentada como uma alternativa promissora tanto em nível técnico-produtivo quanto em nível de aceitação pelo consumidor (Llagostera *et al.*, 2019).

Os insetos também vêm sendo estudados para aplicações na área da saúde, devido a suas propriedades biológicas. Lee *et al.*, (2021) fizeram um estudo sobre o efeito antitumoral em câncer de pele de um peptídeo derivado do inseto, Robles-Fort *et al.*, (2021) analisaram o potencial antimicrobiano e antiproliferativo de um peptídeo derivado do besouro castanho (*tribolium castaneum*) e Cho *et al.*, (2019) as propriedades antidiabética do grilo (*gryllus bimaculatus*).

As biorrefinarias de insetos têm gerado, do ponto de vista econômico, grande vantagem, pois atende a uma demanda global referente a sustentabilidade e economia

circular, uma vez que os subprodutos dessas refinarias possuem valor agregado, podendo ser usado por exemplo, em biofertilizantes (Bloukounon-Goubalan *et al.*, 2021), produção de biopolímeros (Brigode *et al.*, 2020) , na produção de biodiesel (Surendra *et al.*, 2016) e os insetos podem ser produzidos utilizando resíduos industriais, agrícolas e alimentares (Ravi *et al.*, 2020). A Figura 7 representa um esquema simplificado da economia circular utilizando insetos.

Figura 7 - Esquema das aplicações tecnológicas e economia circular na produção de insetos



Fonte: Adaptado a partir de Broek; Boeriu (2019)

3.5 Insetos e a produção de quitina e quitosana

Além de serem uma valiosa fonte de nutrientes, os insetos também possuem uma quantidade considerável de fibras, presentes na forma de quitina em seus exoesqueletos. A quitina é crucial para o crescimento e desenvolvimento, uma vez que a quitina forma grande parte do exoesqueleto cuticular dos animais, que é regularmente trocado e substituído por uma nova cutícula (Lucas *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2022).

Eles têm certas vantagens sobre os crustáceos para extração de quitina, pois não são sazonais e podem ser facilmente criados devido à sua alta taxa de reprodução. Outra vantagem, é que centros de criação de insetos estão surgindo em todo o mundo para gerenciamento de resíduos orgânicos e processamento de ração animal. Os resíduos dessas fazendas, como exoesqueleto de pré-pupa, exoesqueleto após a muda e insetos mortos, oferecem um grande potencial para a extração de quitina e obtenção de quitosana como subproduto, sendo uma fonte viável desses biopolímeros, apresentando maior sustentabilidade ecológica e econômica (Broek; Boeriu, 2019; Islam; Hoque; Taharat, 2023).

A quitina extraída desses organismos apresentam características físico-química semelhantes às disponíveis comercialmente e propriedades biológicas promissoras, como inferem pesquisas que tem extraído quitina/quitosana a partir de diferentes espécies de insetos, tais como, Bicho-da-seda (*Bombyx mori*) (Paulino *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2000), besouro (*Holotrichia paralela*, *Catharsius molossus* e *Allomyrina dichotoma*) (Liu *et al.*, 2012; Ma; Xin; Tan, 2015; Shin; Kim; Shin, 2019), aranha (*Geolycosa vultuosa* e *Hogna radiata*) (Kaya *et al.*, 2014), Centopeia-mediterrânea (*Scolopendra cingulata*) (Zelencova *et al.*, 2015), tenebrio gigante (*Zophobas morio*) (Shin; Kim; Shin, 2019; Soon *et al.*, 2018), larva-da-farinha (*Tenebrio molitor*) (Lucas *et al.*, 2021; Shin; Kim; Shin, 2019), mosca-soldado-negro (*Hermetia illucens*) (Hahn *et al.*, 2020; Triunfo *et al.*, 2022). A Tabela 2 apresenta diferentes espécies de insetos utilizadas para extração de quitina e quitosana, seus respectivos rendimentos e processo de extração da quitina.

Tabela 2 - fontes de obtenção da quitina e quitosana, rendimentos e métodos de extração

NOME	ESPÉCIE	BIOMASSA	% QT*	% QS*	%GD	E EXTRAÇÃO DA QUITINA	REFERÊNCIA
Gafanhoto do deserto	<i>Schistocerca gregaria</i>	Exoesqueleto	12	ND	98	Químico (HCl 1 M, NaOH 1M)	Marei <i>et al.</i> , 2016
Abelha	<i>Apis mellifera</i>	Exoesqueleto	2	ND	96		
Besouro	<i>Calosoma rugosa</i>	Exoesqueleto	5	ND	95		
Gafanhoto	<i>Dociostaurus maroccanus</i>	Ninfa na íntegra	12	77a	22	Químico (HCl 2 M, NaOH 2 M)	Erdagon e Kaya, 2016
	<i>Dociostaurus maroccanus</i>	Inseto adulto na íntegra	14	81a	64		
Centopeia-mediterrânica	<i>Scolopendra cingulata</i>	Inseto adulto na íntegra	8	66	72	Químico (HCl 2 M, NaOH 2 M)	Zelencona <i>et al.</i> , 2015
Besouro	<i>Zophobas morio</i>	Larvas na íntegra	4 - 5	65 - 75	64 - 81	Químico (HCl 2 M, NaOH 0.5, 1.0 e 2.0 M)	Soon <i>et al.</i> , 2018
Larva-da-farinha	<i>Tenebrio molitor</i>	Larvas na íntegra	4	80	75	Químico (HCl 7%, NaOH 10%)	Shin <i>et al.</i> , 2019
Besouro rinoceronte	<i>Allomyrina dichotoma</i>	Inseto adulto na íntegra	14	75	74		
Gafanhoto	<i>Calliptamus barbarus</i>	Inseto adulto na íntegra	20	75	ND	Químico (HCl 1 M, NaOH 1M)	Kaya <i>et al.</i> , 2015
	<i>Oedaleus decorus</i>	Inseto adulto na íntegra	16	76	ND		
Larva-da-farinha	<i>Tenebrio molitor</i>	Exoesqueleto	70	41	53	Hidrólise enzimática (enzima Alcalase na proporção de 2% (p/p; enzima/sub-estrato)	Lucascas <i>et al.</i> , 2021

*Valores aproximados, sem casas decimais. QT = Quitina, QS=quitosana, GD = Grau de desacetilação.

Segundo Rehman *et al.*, (2023) o perfil sustentável da criação de insetos, a expansão prevista do setor de insetos em um futuro próximo e as sobras da criação, podem constituir um suprimento futuro altamente atraente de quitina. O autor relata que de modo geral, insetos inteiros incluem 30 a 60% de proteína, 10 a 25% de gordura, 15 a 25% de quitina e 2 a 10% de minerais, porém no contexto dos insetos cultivados, o conteúdo de quitina pode variar dependendo da espécie, das condições em que são criados e do estágio de seu ciclo de vida.

3.6 *Tenebrio molitor*

A larva-da-farinha (*Tenebrio molitor*) é da ordem Coleoptera e da família Tenebrionidae. A larva-da-farinha é um inseto holometabólico, ou seja, apresenta metamorfose completa: ovo, larva, pupa e besouro adulto. É originária da região mediterrânea, mas hoje em dia é cosmopolita em sua distribuição. A Figura 4 apresenta a imagem da larva e do besouro da larva-da-farinha.

Figura 8 - *Tenebrio molitor* (larva, inseto adulto e exoesqueleto cuticular da larva).



Fonte: Gałęcki *et al.* (2020)

A criação dessa espécie possui baixas exigências, sendo simples e barata, quando comparada com as fontes tradicionais de proteína (bovinos, suínos, aves etc.). A composição

nutricional das larvas da larva da farinha revelou um teor elevado de proteína e lipídios, 50% e 30-34% em base seca, respectivamente (Mancini *et al.*, 2019). Esses insetos também apresentaram ser uma boa fonte de aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais (Finke, 2015).

Em 2021, a larva da farinha tornou-se o 1º inseto a ser considerado alimento humano pela União Europeia. O parecer científico (EU) 2015/228 emitido pela EFSA (Autoridade Europeia de Segurança Alimentar) sobre a segurança da larva da farinha como novo alimento para humanos, representou um importante marco econômico para o setor e impulsionou ainda mais a produção em escala industrial desse e de outros insetos comestíveis (Turck *et al.*, 2021). Na indústria alimentícia, o *Tenebrio molitor* possui aplicação na produção de ração animal (Hong; Han; Kim, 2020; Shafique *et al.*, 2021), para o consumo humano tanto *in natura*, como aditivos em alimentos, como biscoitos (Zielińska; Pankiewicz, 2020), pão (Cappelli *et al.*, 2020), tortas (Ma; Kim, 2021), molho com capacidade antioxidante (Aybar *et al.*, 2023), na extração de compostos com atividade bioativas, como óleo rico em ácido graxo (Jeon *et al.*, 2016) e proteínas com atividade antioxidante e imunorreguladora (Dong *et al.*, 2021).

Além das contribuições na alimentação humana e animal, os insetos possuem potenciais para aplicações médicas, devido as suas atividades biológicas que incluem ações antimicrobianas, efeitos antifúngicos, antivirais, anticâncer, antioxidantes, anti-inflamatórios e imunomoduladores (KAYA; BARAN; *et al.*, 2015; OGHENESUVWE; CHINWUBA, 2019; SOON *et al.*, 2018; VAN HUIS, 2020). A larvas-da-farinha também apresenta potencial como bioconversores de lixo orgânico (DIENER *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2011) e para produção de biopolímeros (quitina e quitosana) (LUCAS *et al.*, 2021; SHIN; KIM; SHIN, 2019; SOON *et al.*, 2018).

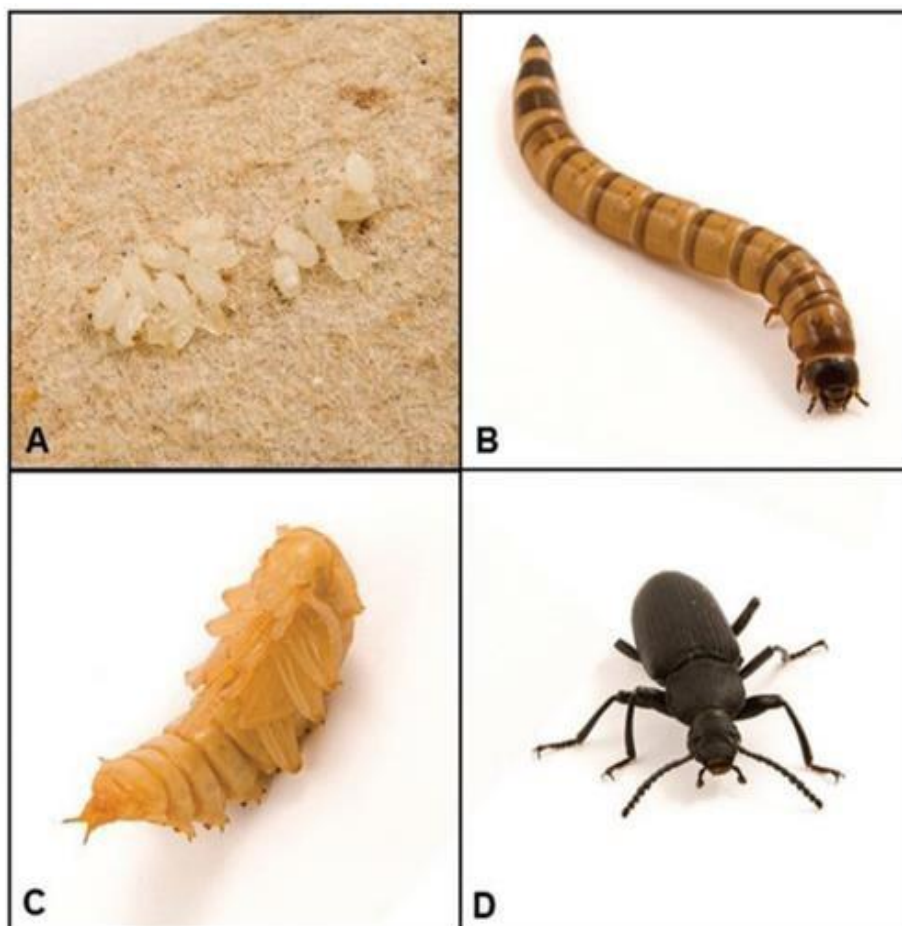
3.7 *Zophobas morio*

O *Zophobas morio* pertence a ordem Coleoptera e família Tenebrionidae, a mesma do *Tenebrio molitor*. A Figura 5 apresenta os estágios de vida do inseto. Trata-se de uma espécie de besouro holometabólico, cujas larvas são conhecidas pelo nome geral de tenébrio gigante e são comumente usados como alimento para animais, consumo humano e na indústria de proteína em pó. Possui um ciclo de vida total que dura aproximadamente 6 meses e inclui quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos (Leung *et al.*, 2012). Eles são facilmente cultivados e têm alta produtividade, seu cultivo pode ser feito verticalmente não necessitando de grandes extensões de terra e água para o manejo (Musyaroh; Hidayat, 2018).

Este inseto pode ser aproveitado em sua totalidade, as larvas sendo utilizada para

alimentação humana e animal, os exoesqueletos trocados ao longo dos ciclos de vida e o besouro adulto podem ser utilizados para a produção de quitina e quitosana. Porém tornasse necessário maiores pesquisas neste sentido, pois eles ainda não foram suficientemente estudados.

Figura 9 - Estágio de vida do *Zophobas morio*, (A) ovos, (B) larva, (C) pupa e (D) besouro.



Fonte: Adaptado a partir de Rumbos e Athanassiou (2021)

O potencial tecnológico deste inseto é promissor. Nas últimas décadas pesquisas apontam para uma diversidade de aplicações. Entre elas, alimentação humana (Araújo *et al.*, 2019), produção de biodiesel (Leung *et al.*, 2012), na medicina, devido ao seu potencial antimicrobiano (Mohtar; Yusof; Ali, 2014) como também para produção de quitina e quitosana (Shin; Kim; Shin, 2019; Soon *et al.*, 2018).

As pesquisas realizadas com o intuito de obter quitina e quitosana deste espécime apresentaram bons resultados. A quitina e quitosana não apresentaram toxicidade, tiveram bons rendimentos (5,43-8,4% de quitina e 75,52-83,33% de quitosana), alto grau de pureza, além de

apresentar potenciais antimicrobianos (Shin; Kim; Shin, 2019; Soon *et al.*, 2018). Considerando esse potencial para extração desse biopolímero, neste estudo propomos a extração de quitina utilizando os resíduos (exoesqueleto da larva e besouro) provenientes da criação desses insetos, sendo uma proposta para a produção sustentável.

3.8 *Blaptia dubia*

A *Blaptia dubia*, também conhecida como barata argentina, é uma espécie que pertence à família Blaberidae. A Figura 10 apresenta este inseto na fase inicial (ninfa) e final adulto macho e fêmea. Sua origem está nas regiões tropicais da América Central e do Sul. São insetos hemimetábolos com três estágios de desenvolvimento (ovo, ninfa e inseto adulto), onde as ninfas já apresentam alguma semelhança com os adultos. O tempo necessário para completar o ciclo de vida varia de acordo com as condições ambientais, como temperatura e disponibilidade de alimentos e podem viver até 18 meses (Alamer; Hoffmann, 2014; Rumpold; Schlüter, 2013).

Figura 10 - Barata *Blaptia dubia*



Fonte: Autora (2023)

A *Blaptia dubia* tem sido amplamente utilizada como alimento vivo para répteis, anfíbios e pássaros. Acredita-se que seu alto teor de proteínas e baixo teor de gordura a tornem uma excelente fonte nutricional para esses animais (Cerreta *et al.*, 2022). Lam *et al.*, (2021)

relatou que quanto a composição nutricional estas espécies possuem teores de umidade entre 59 e 62%, cinzas de 2 a 4%, 35 a 44% de lipídeos e proteína entre 47 e 54%. Estudos apontam que as baratas também podem ser uma boa fonte de aminoácidos não essenciais glicina, alanina e essenciais como lisina e valina (Kulma *et al.*, 2016; Yi *et al.*, 2013).

Quanto ao percentual de quitina nesses insetos ainda são pouco exploradas, porém Lam *et al.*, 2021 em sua investigação da composição nutricional da *Blaptia dubia* incluíram a análise da quitina na fase adulta (5.58 %) e ninfas (3.83%) e apontaram ser essa uma potencial fonte para extração de quitina.

4 MATERIAL E METÓDOS

4.1 Material

Os resíduos dos insetos: exoesqueleto cuticular do besouro adulto *Tenebrio molitor* (BTM), exoesqueleto cuticular da larva do *Tenebrio molitor* (LTM), exoesqueleto cuticular do besouro adulto *Zophobas morio* (BZM), exoesqueleto cuticular da larva do *Zophobas morio* (LZM), exoesqueleto cuticular do inseto adulto da *Blaptica dubia* (ABD), exoesqueleto cuticular da ninfa da *Blaptica dubia* (NBD) foram adquiridos em produtores locais (Salvador, Brasil). A quitosana comercial (CAS: 9012-76-4), usada como referência neste estudo, foi adquirida da Sigma Aldrich (Saint Louis, EUA). Os demais reagentes como os ácidos clorídrico e acético, brometo de potássio grau espectroscópio e hidróxido de sódio foram adquiridos da Merck KGaA (Darmstadt, Alemanha).

4.2 Extração de quitina

A extração de quitina foi realizada pelo método químico descrito por Kaya et al. (2014) com adaptações. As amostras dos resíduos da produção de insetos foram secas em uma estufa (Tecnal TE-394/I, Piracicaba, Brasil) com circulação de ar (50° C/ 12h), trituradas em moedor (Cadence Di Grano – MDR302, Balneário Piçarras, Brasil) e armazenadas em freezer a -20°C até a realização das análises.

A extração foi realizada em três etapas, desmineralização, desproteínização e despigmentação. Na desmineralização, cinco gramas da amostra foram dispersos em 100 mL de ácido clorídrico (1 mol/L) a 60 °C e 100 rpm por 1 hora e 30 minutos para remoção do conteúdo mineral. Em seguida, as amostras foram lavadas com 20 mL de NaOH (1 mol/L) e água destilada até a neutralização. Na etapa de desproteínização, as amostras foram tratadas com 100 mL de NaOH (1 mol/L) a 100 °C e 100 rpm por 20 horas, seguida de lavagem com 20 mL de HCl (1 mol/L) e água destilada até a neutralização. Na etapa de despigmentação, as amostras desmineralizadas e desproteínizadas foram tratadas com uma solução de água destilada, etanol 95% e clorofórmio (4:2:1) sob agitação (200 rpm) por 2 horas para remoção dos pigmentos. Posteriormente, foram filtradas em filtros de papel 103 (Maratá, Brasil), secas em estufa com circulação de ar a 50 °C por 6 h e pesadas para determinação do rendimento, conforme Equação 1.

O processo de extração da quitina foi repetido por três vezes para cada um dos três lotes de amostras.

$$\text{Rendimento de quitina (\%)}: \left(\frac{\text{massa final da quitina}}{\text{massa do inseto}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Para referenciar as quitinas de cada amostra obtida, foram utilizadas as siglas: CT-BTM (quitina extraída do exoesqueleto cuticular do besouro adulto *Tenebrio molitor*), CT-LTM (quitina extraída do exoesqueleto cuticular da larva do *Tenebrio molitor*), CT-BZM (quitina extraída do exoesqueleto cuticular do besouro adulto *Zophobas morio*), CT-LZM (quitina extraída do exoesqueleto cuticular da larva do *Zophobas morio*), CT-ABD (quitina extraída do exoesqueleto cuticular do inseto adulto da *Blaptica dubia*) e CT-NBD (quitina extraída do exoesqueleto cuticular da ninfa da *Blaptica dubia*).

4.3 Obtenção da quitosana

A obtenção da quitosana a partir das amostras de quitina foi realizada pelo método de Lucas et al. (2021) com adaptações. Para tanto, 0,5 g de quitina previamente isolada e seca foi desacetilada com 50 mL de NaOH (60%, m v⁻¹) por 20 horas a 100°C e 100 rpm. Em seguida, as amostras foram filtradas em papel filtro 103 (Maratá, Brasil), lavadas com água destilada até a neutralização e secas em uma estufa com circulação de ar (50 °C, 6 h). O processo de desacetilação foi repetido três vezes para cada amostra de quitina e após calculado o rendimento, conforme Equações 2-A e 2-B.

$$\text{Quitosana 1 (\%)} = \left(\frac{\text{massa de quitosana}}{\text{massa do exoesqueleto do inseto.}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 2-A}$$

$$\text{Quitosana 2 (\%)} = \left(\frac{\text{massa de quitosana}}{\text{massa de quitina}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 2-B}$$

Para referenciar as quitosanas de cada amostra obtida, foram utilizadas as siglas: CS-BTM (quitosana do exoesqueleto cuticular do besouro adulto *Tenebrio molitor*), CS-LTM (quitosana do exoesqueleto cuticular da larva do *Tenebrio molitor*), CS-BZM (quitosana do exoesqueleto cuticular do besouro adulto *Zophobas morio*), CS-LZM (quitosana do exoesqueleto cuticular da larva do *Zophobas morio*), CS-ABD (quitosana do exoesqueleto cuticular do inseto adulto da *Blaptica dubia*), CS-NBD (quitosana do exoesqueleto cuticular da ninfa da *Blaptica dubia*).

4.4 Caracterização físico-química

4.4.1 Grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação da quitosana foi determinado por titulação potenciométrica, conforme Czechowska-Biskup *et al.*, (2012) e adaptações proposta por Lucas *et al.*, (2021). Para tanto, 0,1 g de quitosana seca foram dissolvidas em 25 mL de ácido clorídrico (0,1 mol/L). Após 30 minutos de agitação (100 rpm), foram adicionados 25mL de água destilada e a solução continuou sob constante agitação até completa solubilização da amostra. O titulante utilizado foi NaOH (0,1 mol/L). No decorrer da titulação manteve-se agitação lenta e constante (7 rpm) e temperatura ambiente (25 °C). As variações de pH foram medidas e os dados foram coletados ao longo da titulação. Os valores foram utilizados para construção das curvas de titulação de volume de NaOH consumido × pH. O grau de desacetilação (GD) da quitosana foi calculado pela Equação 3:

$$DD (\%) = 2,03 \times \frac{(V_2 - V_1)}{[M + 0,0042 \times (V_2 - V_1)]} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde: m é massa da amostra, V_1 e V_2 são os volumes de solução de hidróxido de sódio entre os dois pontos de inflexão, 2,03 é o coeficiente resultante da massa da unidade em monômero de quitina e 0,0042 corresponde ao coeficiente resultante da diferença entre as massas moleculares de unidades monoméricas de quitina e quitosana.

4.4.2 Solubilidade da quitosana

Para o teste de solubilidade da quitosana foi utilizado o método proposto Luo *et al.*, (2019), com adaptações. Assim, 0,05 g de quitosana foram pesados em tubo previamente tarado. Posteriormente foram adicionados 10 mL de ácido acético aquoso (1%, m v⁻¹) e o tubo foi agitado por 1 h em 36órtex (Labnet, Edison, Nova Jersey – EUA) e centrifugado por 4 min. (100 rpm). O sobrenadante foi removido e o tubo foi seco em estufa a 60 °C durante 12h. A solubilidade foi calculada usando a Equação 4:

$$Solubilidade (\%) = \left(\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

Onde, m_0 é massa inicial do tubo, m_1 é massa inicial do tubo mais amostra e M_2 é massa final da amostra mais tubo, após a secagem.

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Um microscópio eletrônico de varredura (JEOL - 6390LV, Tokio – Japão) foi usado para avaliação das amostras revestidas com uma fina camada ouro. As micrografias das amostras de quitina e quitosana foram obtidas com ampliação de $50 \times$ e $500 \times$ em uma tensão de aceleração de 10 kV.

4.4.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier acoplada ao dispositivo de refletância total atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros de infravermelho das amostras de quitina e quitosana foram obtidos usando espectrômetro Spectrum Two (Perkin-Elmer) equipado com dispositivo de refletância total atenuada (ATR), contendo um cristal de seleneto de zinco. As aquisições foram realizadas a temperatura ambiente, acumulando 64 varreduras com uma resolução de 2 cm^{-1} .

4.4.5 Difratometria de raios X (DRX)

Os difratogramas da quitina e quitosana foram obtidos usando difratômetro de raios-X da marca Shimadzu (XRD 6000, Japão), com radiação $\text{CuK}\alpha$, tensão de 40 kV, corrente de 30 mA e ângulo de leitura de 2θ variando de $5,0$ a $45,0$ graus, conforme descritos por Shin *et al.*, (2019) e Soon *et al.*, 2018. Os índices de cristalinidade relativa (ICR) foram calculados utilizando a Equação 5.

$$ICR = \frac{(I(110) - I(020))}{I(110)} \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

Onde, $I_{(110)}$ e $I_{(020)}$ são os valores absolutos de máxima intensidade dos picos de Bragg

(20) 19,3 e 9,2 graus correspondentes as reflexões dos planos (1 1 0) e (0 2 0), respectivamente. As intensidades foram obtidas dos difratogramas após a subtração manual de linha base com 15 pontos ligados por interpolação, utilizando o software OriginPro 8.5.

4.4.6 Análise termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica das amostras foi realizada em um analisador termogravimétrico (Pyrus 1 - Perkin Elmer, Shelton - EUA). Aproximadamente 4 mg de amostra foram pesados em cadinho de platina. As corridas foram realizadas em atmosfera N₂ (50 mL min⁻¹), com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, no intervalo de temperatura de 25 a 900 °C. As medidas de umidade das amostras foram obtidas pela diferença de massa da amostra entre 30.0 e 150.0 °C, enquanto as estabilidades térmicas foram obtidas das primeiras derivadas de cada curva TG (T_{onset} DTG) utilizando Pyris 11 software.

4.4.7 Parâmetros reológicos da quitosana

A avaliação dos parâmetros reológicos das soluções de quitosana foi realizada de acordo com o método descrito por Silva et al. (2018). As medidas foram realizadas em um reômetro (Haake Rheotest, Mod. 2.1, Medingen, Alemanha) com cilindros concêntricos acoplados a um banho termostatzado (25°C) e taxa de cisalhamento entre 25 e 1000 s⁻¹. Dados de tensão de cisalhamento medidos a partir das taxas de deformação foram usados. Para a avaliação do comportamento reológico das soluções de quitosana (1,0%, m v⁻¹), foi utilizado o modelo de Ostwald de Waele segundo a Equação 6.

$$\mu = K\gamma^{n-1} \quad \text{Eq. 6}$$

Onde μ = viscosidade aparente (mPa.s), k = índice de consistência (Pa.sⁿ), γ = taxa de cisalhamento (s⁻¹), e n = índice de comportamento do fluxo.

4.4.8 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata ($n= 3$) para cada grupo experimental e os resultados foram expressos em média aritmética com desvio padrão. Os dados da quitina e quitosana foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% utilizando o software Statistica 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração de quitina, obtenção de quitosana e rendimento dos biopolímeros

Os rendimentos das quitinas extraídas dos exoesqueletos cuticulares dos insetos estão apresentados na Tabela 3. Os percentuais variaram de 11,21% (CT-LZM) a 20,89% (CT- BZM) e estão dentro da faixa média relatada (10 - 36%) para quitina de crustáceos (caranguejo e camarão) (El Knidri *et al.*, 2018; Hajji *et al.*, 2014; Sagheer *et al.*, 2009) e de acordo com os percentuais relatados para quitina de insetos (4,3% *Brachytrupes portentosus* e 20,5% *Calliptamus barbarous*) (Ibitoye *et al.*, 2018; Kaya; Baran; *et al.*, 2015). A literatura relata que as quitinas extraídas de insetos podem apresentar diferenças a depender das espécies utilizadas, do estágio de desenvolvimento e método de extração empregado (Kabalak; Aracagök; Torun, 2020).

Tabela 3 – Rendimento da quitina e rendimento, grau de desacetilação e solubilidade das amostras de quitosana extraídas dos resíduos dos insetos.

Amostras	Rendimento (%) *		Rendimento (%) **	GD (%)	Solubilidade (%)
	CT	CS	CS		
BZM	20,89 ± 0,14 ^a	7,07 ± 0,20 ^a	83,42 ± 0,86 ^a	88,72 ± 1,13 ^a	93,64 ± 2,37 ^a
LZM	11,21 ± 0,55 ^e	6,64 ± 0,17 ^b	81,36 ± 1,35 ^a	83,57 ± 0,28 ^{bc}	94,00 ± 2,68 ^a
BTM	15,13 ± 0,78 ^c	6,52 ± 0,06 ^{bc}	78,96 ± 0,45 ^b	89,21 ± 0,96 ^a	94,41 ± 0,95 ^a
LTM	13,25 ± 0,63 ^d	6,26 ± 0,10 ^c	74,93 ± 0,93 ^c	76,32 ± 0,26 ^d	71,69 ± 0,31 ^b
ABD	15,68 ± 0,20 ^c	6,31 ± <0,01 ^c	75,75 ± 0,45 ^c	86,33 ± 3,13 ^{ab}	92,80 ± 0,47 ^a
NBD	19,23 ± 0,60 ^b	6,26 ± 0,05 ^c	75,07 ± 0,25 ^c	75,75 ± 0,19 ^d	69,88 ± 1,18 ^b
CS-Comercial	-	-	-	81,46 ± 1,20 ^c	94,39 ± 0,08 ^a

Os dados são a média ± Desvio padrão, n=3; * Rendimento total em massa seca do exoesqueleto cuticular do inseto; ** Rendimento total em massa seca da quitina; As médias com letras diferentes em cada coluna são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tuckey; Quitosana (CS), Quitina (CT), Grau de desacetilação (GD); cutícula do besouro adulto *Zophobas morio* (BZM), cutícula da larva do *Zophobas morio* (LZM), cutícula do besouro adulto *Tenébrio molitor* (BTM), cutícula da larva do *Tenébrio molitor* (LTM), cutícula do inseto adulto da *Blaptica dúbia* (ABD), cutícula da ninfa da *Blaptica dúbia* (NBD).

Shin *et al.*, (2019) estudaram larvas e besouros de *Tenebrio molitor* e larvas de *Zophobas morio* e obtiveram rendimento de quitina de 4,60%, 8,40% e 3,9% respectivamente. Os percentuais obtidos por eles foram muito inferiores aos descritos nesse estudo, utilizando o mesmo método de extração (solução alcalina). A diferença nos rendimentos obtidos pode ser explicada pela utilização dos espécimes na íntegra (em base seca), diferente do presente estudo, que usou apenas o exoesqueleto cuticular dos insetos. Outro estudo realizou a extração de quitina da cutícula das larvas de *Tenebrio molitor* por desproteinização enzimática. O rendimento obtido foi de 70,9% (Lucas *et al.*, 2021), superior aos resultados relatados no presente trabalho. Entretanto, o método enzimático não é eficiente para remoção de proteínas ligadas à quitina por ligações covalentes, apresentando teor proteico residual junto com a quitina, sendo necessário tratamentos químicos ou enzimáticos mais severos para remoção (Younes *et al.*, 2012).

A literatura também aborda que o rendimento da quitina pode oscilar conforme o estágio de desenvolvimento do inseto. As espécies *Tenebrio molitor* (13,25% CT-LTM e 15,13% CT-BTM) e *Zophobas morio* (11,21% CT-LZM e 20,89% CT-BZM), apresentaram percentuais maiores de quitina na fase adulta (besouro). Esses achados estão em conformidade aos apresentados por Kaya *et al.*, (2016). Os autores extraíram quitina da larva, pulpa e besouro adulto da *Vespa crabro*, e observaram um aumento expressivo no percentual de quitina durante a transição de larva (2,2%) para a fase adulta (10,3%). Dessa forma, foi possível concluir que há um armazenamento de quitina durante os estágios de desenvolvimento de insetos holometábolos, que apresentam metamorfose completa com quatro estágio de vida: ovo, larva, pupa e adultos. Esse armazenamento foi atribuído principalmente às partes do corpo desenvolvidas como asas, pernas e extremidades das antenas.

As amostras da espécie *Blaptica dubia* CT-NBD e CT-ABD não apresentaram o mesmo comportamento, o rendimento da quitina na fase inicial (19,23%) foi significativamente superior ao da fase adulta (15,68%). A barata *Blaptica dubia* é uma espécie com desenvolvimento hemimetábolo, onde ocorre uma metamorfose incompleta, com o primeiro estágio de vida (nínfa) semelhante ao estágio final (adulto). Erdogan e Kaya (2016) avaliaram os teores de quitina em gafanhoto (*Dociostaurus maroccanus*), um inseto hemimetabólico como a barata. Os autores encontraram percentuais de quitina próximos para as ninfas (12%) e o adulto (14%). Tais achados foram atribuídos às semelhanças morfológicas entre os insetos jovens e adultos. Os diferentes rendimentos de quitina obtidos nesse estudo para os estágios de desenvolvimento da barata *Blaptica dubia*, podem ser atribuídos à resíduos de gordura no exoesqueleto do animal adulto. Segundo Mohan *et al.*, (2019), o percentual de lipídios presente no corpo do inseto pode influenciar o conteúdo de quitina e afetar o rendimento da extração,

resultando em percentuais mais baixos. No entanto, vale ressaltar que os rendimentos de quitina para o resíduo da produção de *Blaptica dubia* (CT-NBD e CT- ABD), foram superiores aos relatados para os insetos inteiros em base seca (adulto – 5,58%; ninfa – 3,83%) (LAM *et al.*, 2021).

Os rendimentos obtidos para a quitina extraída dos exoesqueletos cuticular das amostras nesse estudo demonstram que essa é uma fonte alternativa viável para produção do biopolímero, apresentando percentuais próximos e até superiores aos relatados para as fontes convencionais (crustáceos) de extração de quitina.

Ao analisarmos o rendimento da quitosana em relação a biomassa inicial dos resíduos dos insetos, os resultados obtidos estiveram entre 6,26% (CS-LTM e CS-NBD) e 7,07% (CS-BZM) (Tabela 3). Esses rendimentos estão de acordo aos encontrados na literatura para quitosana produzida a partir de insetos inteiros que variam entre 2% (*Acheta domesticus*) a 16% (*Hermetia illucens*) (Hahn *et al.*, 2020). Segundo Triunfo *et al.*, (2021), os crustáceos apresentam rendimentos ligeiramente maiores, entre 4 e 15% em relação a massa inicial. Esses resultados se devem aos fatores já relatados anteriormente (espécie e método de extração) e principalmente ao fato de os crustáceos possuírem menor teor de proteína e gordura (interferentes no rendimento da quitina e quitosana) em comparação com os insetos. Os rendimentos de quitosana variaram de 74,93% (CS-LTM) a 83,42% (CS-BZM), considerando a massa seca de quitina (Tabela 3). Os valores estão condizentes aos obtidos a partir de fontes convencionais como casca e mistura de cabeça de camarão (73,11% - 90,12%) (Mahdy Samar *et al.*, 2013; Mittal *et al.*, 2021), e aos encontrados para insetos comestíveis como larva (80%) e besouro (78,33%) de *Tenebrio molitor*, larva de *Zophobas morio* (83,33%) e larva do *Rhinoceros beetles* (83,37%). (Shin; Kim; Shin, 2019).

Em trabalho realizado com a cutícula da larva do *Tenebrio molitor*, o rendimento da quitosana encontrado foi de 45,1%, inferior ao relatado neste estudo para o mesmo tipo de amostra (CS- LTM 74,93%). O baixo rendimento de quitosana relatado pelos autores, pode estar relacionado à quantidade de proteína residual na quitina, juntamente com o método de extração empregado (enzimático) (Lucas *et al.*, 2021). Assim, os percentuais de quitosana neste estudo foram promissores, apontando para o potencial dos resíduos da criação de insetos como uma fonte alternativa para obtenção de quitosana. No entanto, é sugerido o aprimoramento do processo de extração visando máximo rendimento e determinações exatas livres de sub- e superestimação de valores por conta de interferentes.

5.2 Grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação (GD) é uma característica molecular que afeta as propriedades da quitosana e suas aplicações (Zelencova *et al.*, 2015). O GD representa a eficiência de remoção do grupo N-acetil e o conteúdo do grupo amino livre, o que influencia diretamente na solubilidade, na reatividade química e na biodegradabilidade da quitosana (Hajji *et al.*, 2014; Muley *et al.*, 2018).

O GD das quitosanas obtidas a partir dos resíduos de insetos variou de 75,75% (CS-NBD) a 89,21% (CS-BTM), superior ao valor de 50% considerado padrão para a desacetilação da quitina (Triunfo *et al.*, 2021) (Tabela 3). A quitosana comercial foi analisada como amostra referência para o método de desacetilação utilizado, apresentando um GD de 81,46%, de acordo com a faixa apresentada na ficha cadastral do produto (75%-85%). Fontes convencionais de quitosana como casca e cabeça de camarão apresentam GD de 67,58 e 95,19%, respectivamente (Mahdy Samar *et al.*, 2013; Muley *et al.*, 2018). Enquanto insetos como gafanhoto adulto, crisálida do bicho-da-seda e cutícula de cigarra, apresentam GD de 89,7%, 84,10% e 85,5%, respectivamente (LUO *et al.*, 2019).

A literatura relata que espécies diferentes podem apresentar percentuais de GD distintos e que outros fatores como tamanho da partícula de quitina e parâmetros utilizados na desacetilação (tempo, temperatura e concentração de NaOH) podem interferir nos valores (Muley *et al.*, 2018).

Shin *et al.*, (2019) relataram GD de 75,59%, 75,63% e 75,67% para quitosana extraída das larvas e besouros do *Tenebrio molitor* e larvas de *Zophobas morio*, respectivamente, ambos em formas íntegras. Os autores utilizaram como parâmetros para a desacetilação: NaOH 55%, 90 °C por 9 h. No presente estudo, para as mesmas espécies e estágios, mas utilizando como matéria-prima as cutículas e exoesqueleto (resíduo) e procedendo a desacetilação com concentração de NaOH (60%; m v⁻¹), temperatura (100 °C) e tempo (20 h), foram obtidos valores superiores de GD (76,32% para larva *Tenebrio molitor*; 89,21% para besouro do *Tenebrio molitor* e 83,57% para larva *Zophobas morio*), demonstrando a influência dos parâmetros do método no GD.

As diferenças nos GD abordadas nesse estudo estão em parte associadas as distinções entre as fontes de quitina. A quitina também é encontrada nas estruturas internas dos insetos e a composição entre o inseto inteiro e apenas as cutículas das larvas e/ou ninfas e besouro são diferentes (Hahn; Roth; *et al.*, 2020). Outro fator a ser avaliado, são os parâmetros utilizados no método (temperatura, tempo de reação) para desacetilar a quitina. Mittal *et al.*, (2021) ao utilizarem diferentes temperaturas e tempos para desacetilar amostras de quitina de uma espécie

de camarão, obtiveram GD maior para a temperatura mais alta e maior tempo de reação. Enquanto Mahdy Samar *et al.*, (2013) utilizaram diferentes concentrações de NaOH e tamanho de partículas de quitina extraída de camarão, e alcançaram maiores percentuais (95,19%) para a maior concentração de NaOH e menor partícula de quitina.

O tamanho das partículas de quitina no processo de desacetilação, não foi padronizado no presente estudo, o que pode ter contribuído para a variação nos valores de GD entre os resíduos (cutícula da larva e besouro) da mesma espécie (Tabela 3). No entanto, os resultados apresentados foram comparáveis aos estudos que utilizaram fontes tradicionais como o camarão, insetos de espécies distintas e de espécies similares e em relação a quitosana comercial, estando na mesma faixa relatada nesses estudos.

No geral, quatro amostras apresentaram GD acima de 83% e duas acima de 75%, estes percentuais de desacetilação demonstram potencialidades dessas amostras para aplicação tecnológica, principalmente na indústria farmacêutica, biomédica e áreas afins. A maioria das propriedades biológicas está relacionada a protonação do grupo amino da quitosana e suas interações eletrostáticas em nível molecular e celular, sendo o parâmetro com maior efeito no GD (Aranaz *et al.*, 2009).

5.3 Solubilidade da quitosana

O ensaio de solubilidade para as amostras de quitosana obtidas apresentou valores de 69,88% a 94,41%, conforme demonstrado na Tabela 3. A quitosana comercial foi utilizada nessa análise para efeitos de comparação de resultados, apresentando uma solubilidade de 94,39%.

O grau de desacetilação é um dos fatores que interfere na solubilidade da quitosana, pois a partir da desacetilação, cada unidade de D-glucosamina apresenta um grupo amino livre e esses grupos podem ser protonados, conferindo solubilidade a quitosana em soluções ácidas diluídas. Assim, quanto maior o GD, mais grupos amino disponível e maior a solubilidade (El Knidri *et al.*, 2018).

Neste estudo, observou-se uma direta proporcionalidade entre os valores de GD e solubilidade para as amostras QS-BTM (GD 89,21% - SL 94,41%), QS-BZM (88,72% - 93,64%), QS-ABD (86,33% - 92,80%), QS-LTM (76,32% - 71,69%) e QS-NBD (75,75% - 69,88%), onde os maiores valores de solubilidade foram correlacionados com os maiores graus de desacetilação das amostras (Tabela 3).

As amostras QS-LZM (83,57% - 94,00%) e a amostra comercial (81,46% - 94,39%) não apresentaram a tendência das demais relatadas acima. A literatura nos mostra que o GD é

um parâmetro muito importante na solubilidade da quitosana, porém não é o único. Mahdy Samar *et al.*, (2013) analisaram a quitosana obtida da casca do camarão e observaram que além do GD, a solubilidade foi diretamente afetada pelo tamanho das partículas de quitosana, sendo as quitosanas com maior GD e menor tamanho de partícula, as que apresentaram maior solubilidade. Luo *et al.*, (2019) fizeram a comparação das quitosanas obtidas da casca do camarão e de diferentes espécies de insetos e relataram que o GD da quitosana do camarão foi maior (91,2%) que os apresentados pelas quitosanas dos insetos (84,1% - 89,7%). No entanto, a quitosana do camarão apresentou a menor solubilidade (91,5% e 94,3% - 99,3% para os insetos). Os autores apontaram como possível causa para este resultado, a massa molecular apresentada pela quitosana obtida da casca do camarão (1,620 Da), em relação às dos insetos (3,77 Da – 4,09 Da).

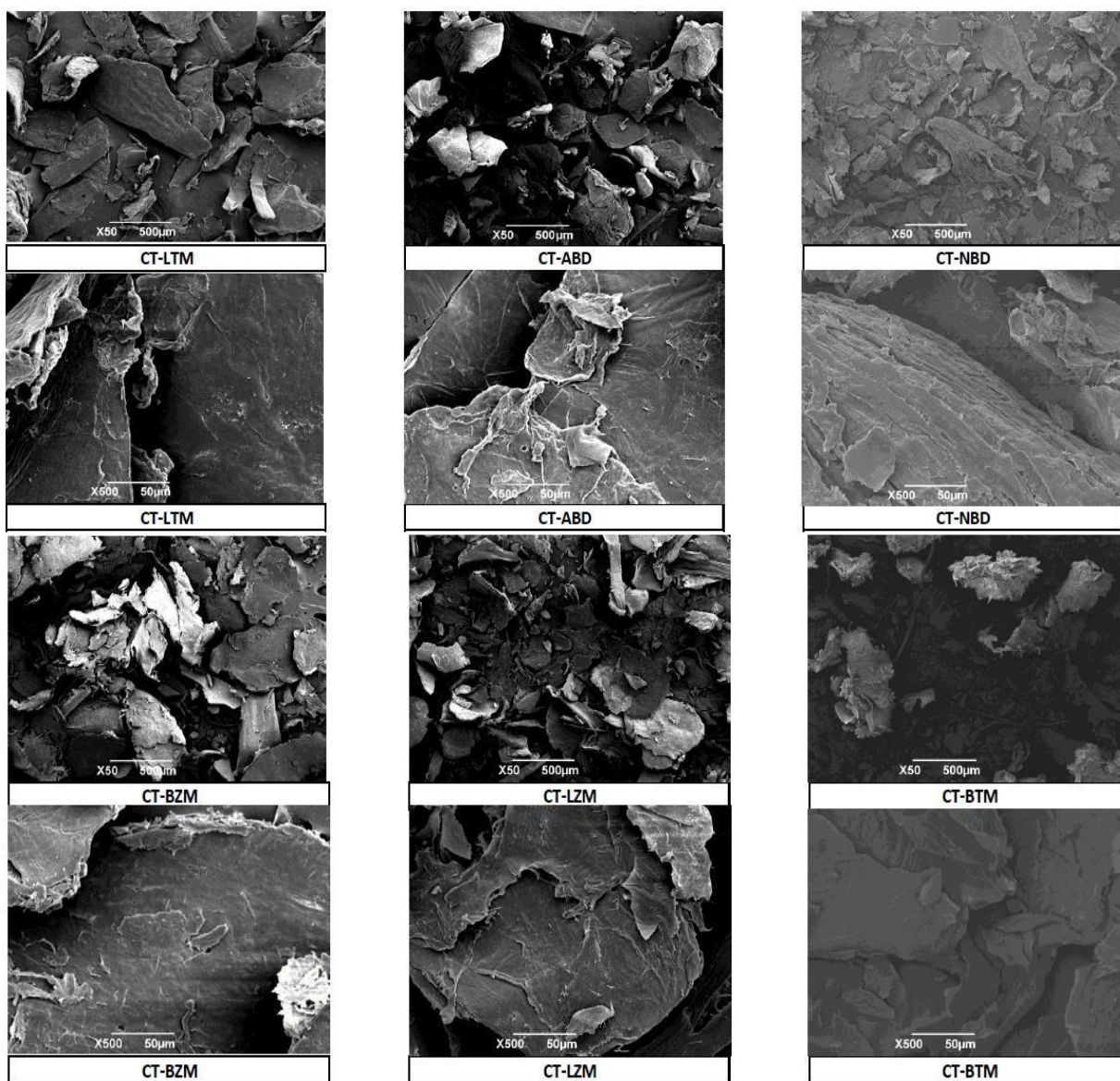
É importante ressaltar que a solubilidade das quitosanas obtidas a partir dos resíduos dos insetos, ainda têm sido pouco avaliadas na literatura. Em um estudo recente realizado com a quitosana da cutícula da larva do *Tenebrio molitor*, a solubilidade foi de 40,3 % e GD 53,9%. A baixa solubilidade foi associada ao grau de desacetilação, porém, destacam a necessidade de mais estudos para elucidar a contribuição individual do GD, massa molecular e de outros fatores que interferem na solubilidade (Lucas *et al.*, 2021).

5.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

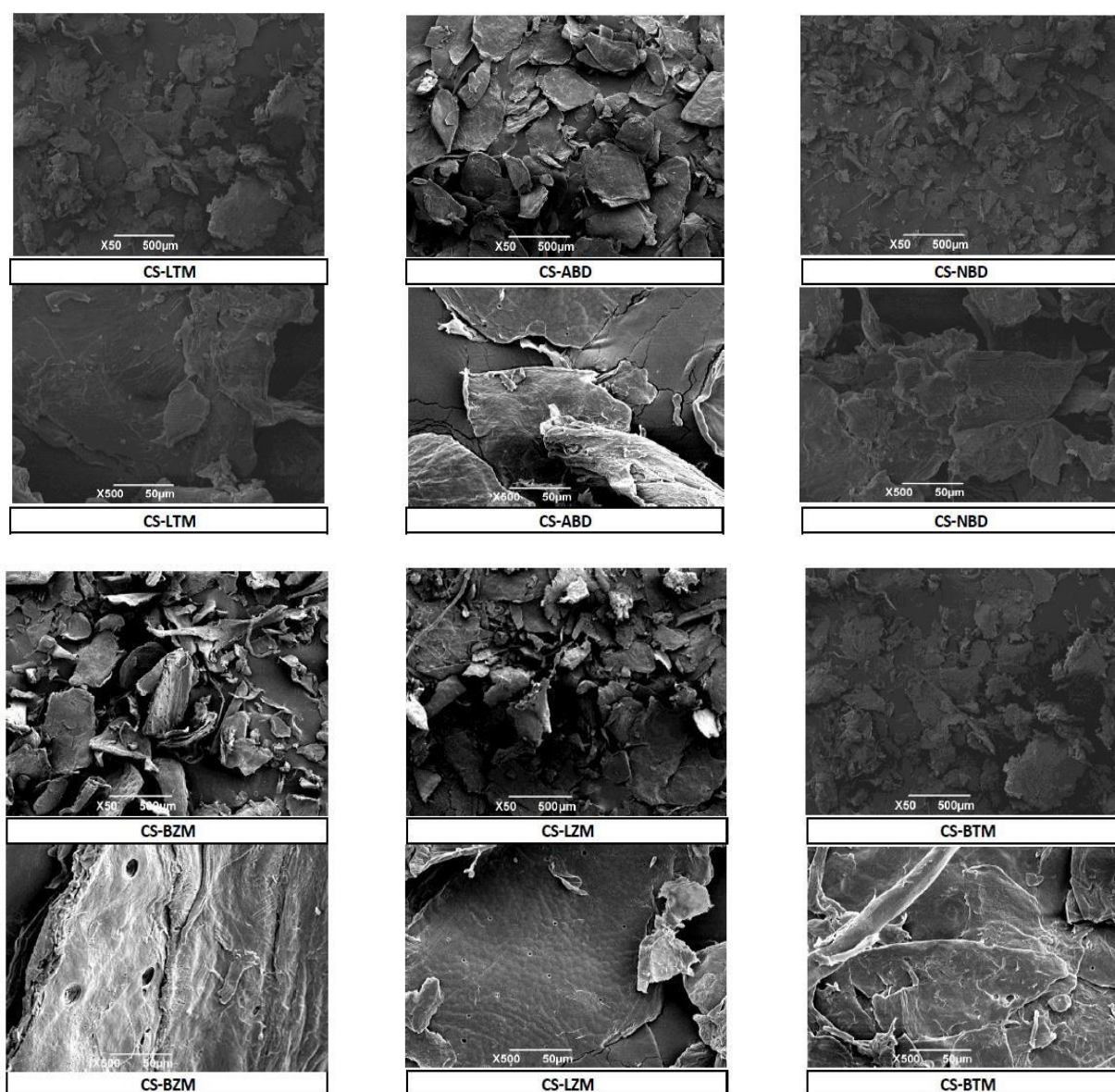
As morfologias de superfície das amostras de quitina e quitosana podem ser visualizadas na Figura 11 (a) e (b), respectivamente. Os resultados das quitinas obtidas dos diferentes resíduos de insetos apresentaram características morfológicas distintas. Marei *et al.*, (2015) relatam cinco morfologias de superfície para quitina e quitosana sendo (I) morfologia superficial rugosa e dura sem poros e nanofibras, (II) com apenas estrutura de nanofibras, (III) com poros e estrutura de nanofibras, (IV) dois tipos de poros com nanofibras e (V) apenas poros.

Nesse estudo as amostras CT-NBD, CT-BTM e CT-LTM apresentaram uma morfologia de superfície rugosa com fibras fragmentadas e ausência de poros, resultado semelhante foi descrito por Triunfo *et al.*, (2022) para quitina extraída da larva de *Hermetia illucens*. Já CT-BZM e CT-LZM apresentaram superfícies mais densas, com alguns poros e estrutura fibrilares. A CT-ABD apresentou uma morfologia lisa, sem nanofibras e poros, conforme observado por Kaya *et al.*, (2015) para quitinas extraídas das espécies *Calliptamus barbarus* e *Oedaleus decorus*.

Figura 11 - Micrografias das amostras de (a) quitina e (b) quitosana dos resíduos dos insetos



a) Micrografias das amostras de quitina. As siglas CT-BZM, CT-LZM, CT-BTM, CT-LTM, CT-ABD e CT-NBD, representam amostras de quitinas do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.



b) Micrografias das amostras de quitosana. As siglas CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM, CS-LTM, CS-ABD e CS-NBD, representam amostras de quitosana do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.

As micrografias de superfície das amostras de quitosana dos resíduos dos insetos, de uma forma geral, apresentaram morfologia rugosa, porém menos fibrosa em comparação com a quitina. Triunfo *et al.*, (2020) reportaram um resultado semelhante para quitosana obtida da larva, exúvia da pupa e insetos adultos e mortos da *Hermetia illucens* (mosca-soldado-negro). Segundo os autores, a desacetilação altera a estrutura da quitina, tornando-a mais homogênea e menos fibrosa. As amostras CS-BTM e CS-BZM apresentaram poros em sua estrutura, resultado semelhante foi observado por Paulino *et al.*, (2006) e Kaya *et al.*, (2019) para

quitosana obtida de crisálidas do bicho-da-seda e da espécie *Hylobius abietis*, respectivamente. A CS-LZM apresentou superfície compacta, quase sem a presença de nanofibras, com unidades repetitivas de estrutura hexagonal e presença de poros, estrutura similar a morfologia descrita por Liu *et al.*, (2019) para quitosana da crisálida do bicho-da- seda.

No presente estudo, quitina e quitosana apresentaram morfologias diferentes, mesmo quando obtidas da mesma espécie. De acordo com a literatura, a morfologia da quitina e quitosana obtidas de insetos pode variar não apenas dependendo das diferentes espécies e estágio de crescimento, mas do gênero e parte do corpo. As quitinas que apresentam estruturas porosas podem ser usadas na adsorção de íons metálicos, enquanto as de formatos fibrilares podem ser empregadas em engenharia de tecidos. Portanto, a morfologia é uma característica que desempenha um papel importante na aplicação dos biopolímeros. (Zelencova *et al.*, 2015; Kaya *et al.*, 2016).

5.5 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR é comumente utilizada para avaliar as diferenças químicas presentes nas estruturas da quitina e quitosana. Adicionalmente, permite acessar as cadeias polissacarídicas de curto alcance desses biopolímeros viabilizando a obtenção de informações estruturais (Sevenou *et al.*, 2002).

A Figura 12 (a) apresenta os espectros de infravermelho das quitinas obtidas dos resíduos de inseto. Para a quitina, foram identificadas bandas em aproximadamente 3445 cm^{-1} , que correspondem às vibrações de estiramento axial do grupo --OH e em 3260 cm^{-1} , característico do grupo --NH_2 .

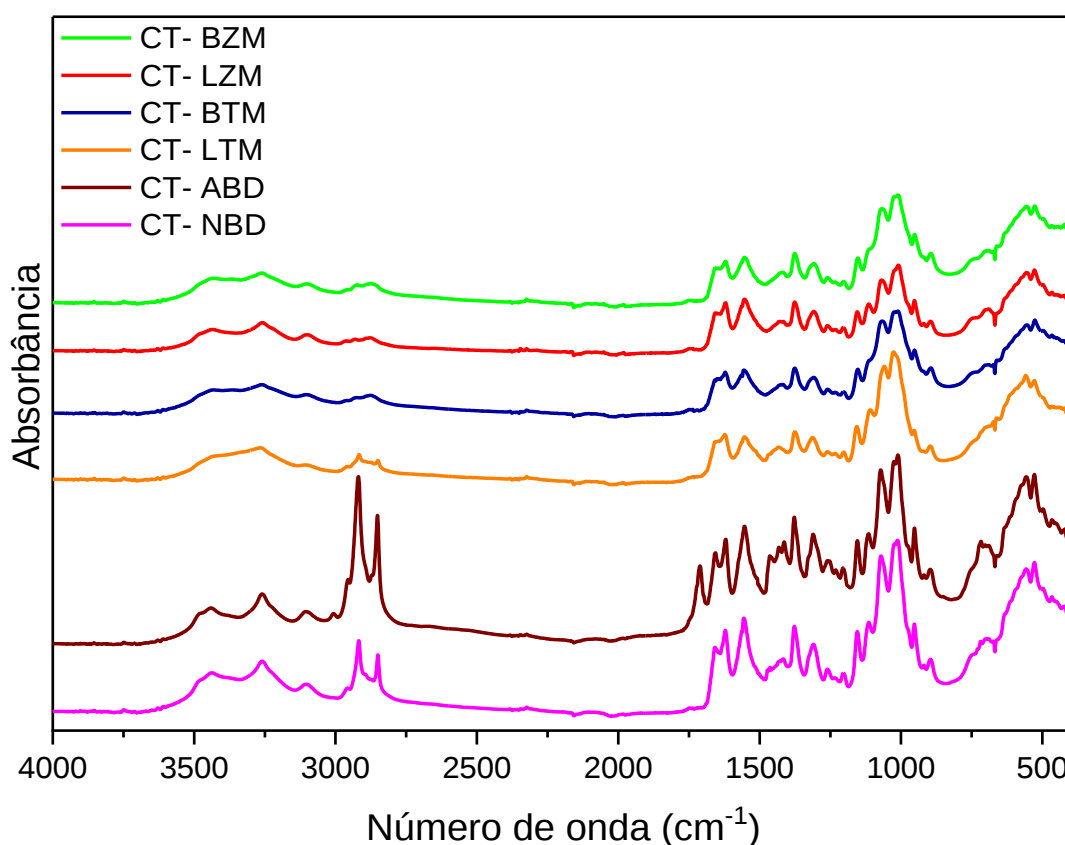
Também foi observado uma banda na faixa de $1551\text{--}1558\text{ cm}^{-1}$ corresponde à mistura de dois modos vibracionais, N--H no plano e o estiramento C--H , referente à amida II, bandas de amida III na faixa de $1306\text{--}1309\text{ cm}^{-1}$ e a banda de amida I em aproximadamente 1660 cm^{-1} com desdobramento em 1622 cm^{-1} . É importante salientar que o desdobramento da banda amida I da quitina é atribuído aos dois tipos de interações de hidrogênio formadas por grupos amida no alinhamento antiparalelo presente nas regiões cristalinas da α -quitina (Liu *et al.*, 2012). A amida tipo I é uma banda característica da α -quitina, um polimorfo comumente encontrado em estruturas rígidas e resistentes como cutícula de insetos (Campana-Filho *et al.*, 2007).

Bandas de amida tipo I semelhantes às das quitinas extraídas dos resíduos de insetos foram descritas para *Scolopendra cingulata* (centopeia), em 1654 e 1620 cm^{-1} (Zelencova *et al.*, 2015), larvas de *Zophobas morio* e *Tenebrio molitor* em 1620 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} e 1653 cm^{-1} e

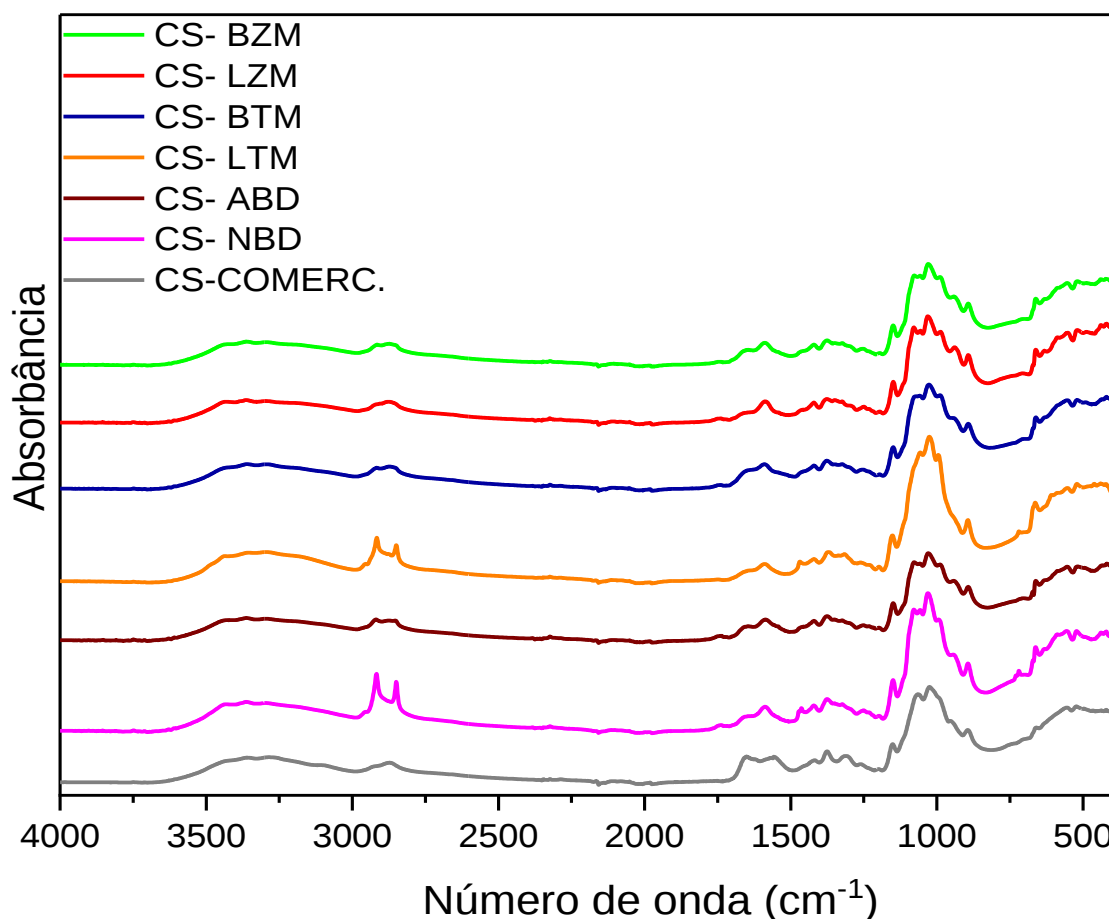
1636 cm^{-1} , respectivamente (Lucas *et al.*, 2021; Soon *et al.*, 2018) e no gafanhoto *Calliptamus barbarus* em 1652 cm^{-1} e 1621 cm^{-1} (Kaya *et al.*, 2015).

Bandas intensas foram identificadas nas amostras CT-ABD e CT-NBD, na região de 2922 e 2852 cm^{-1} e 2915 e 2845 cm^{-1} , respectivamente. Segundo Campana Filho e Signini (2001), a região de 3000 cm^{-1} - 2800 cm^{-1} é característica da deformação axial de C-H em amostras de quitina. (Focher *et al.*, (1992) relataram bandas semelhantes para α -quitina extraída de camarão. No entanto, na literatura avaliada, não foram encontrados dados que relatem a caracterização de quitina a partir da espécie *Blaptica dubia*, apesar de o perfil espectral encontrado ser compatível com a quitina obtida de outras espécies de insetos.

Figura 12 - Espectros de FTIR -ATR das amostras de (a) quitina e (b) quitosana obtidas dos resíduos dos insetos



a) Espectros de infravermelho da quitina. As siglas CT-BZM, CT-LZM, CT-BTM, CT-LTM, CT-ABD e CT-NBD, representam amostras de quitinas do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.



b) Espectros de infravermelho da quitosana. As siglas CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM, CS- LTM, CS- ABD e CS-NBD, representam amostras de quitosana do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente

A Figura 12 (b) apresenta os espectros de infravermelho das quitosanas obtidas. Embora os espectros da quitina e quitosana apresentem semelhanças, pequenas diferenças permitem diferenciar esses biopolímeros.

As bandas características de quitosana são a de deformação axial de C=O da amida tipo I (1650 cm^{-1}), menos intensa que na quitina devido a desacetilação e a deformação angular do grupo n-h (1590 cm^{-1}) (Shin; Kim; Shin, 2019; Zelencova *et al.*, 2015).

Nesse estudo, essas bandas apareceram no intervalo de $1647 - 1650\text{ cm}^{-1}$ e $1589 - 1591\text{ cm}^{-1}$ para as amostras de quitosana dos resíduos dos insetos e em 1660 cm^{-1} e 1564 cm^{-1} para a quitosana comercial. Outras bandas também foram observadas nos espectros da quitosana: a banda de estiramento axial de -OH entre 3436 e 3445 cm^{-1} , sobreposta às bandas de estiramento N-H e deformação axial de -CN de amida (próximo a 1425 cm^{-1}). Espectros de infravermelho semelhantes foram observados para quitosanas extraídas de fontes convencionais e insetos (Hahn; Tafi; *et al.*, 2020; Lucas *et al.*, 2021; Ma; Xin; Tan, 2015; Triunfo *et al.*, 2022).

As amostras CS-LTM e CS-NBD apresentaram duas bandas mais intensas que as demais, na região de 3000 cm^{-1} - 2800 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de C-H. Segundo Campana Filho e Signini, (2001) essa banda está associada ao teor de acetamidas presentes na estrutura da quitina, sendo assim, na quitosana, ela é menos intensa devido ao processo de desacetilação. Essas duas amostras apresentaram os menores graus de desacetilação (CS-LTM = 76,32% e CS-NBD = 75,75%), o que justifica a presença das bandas associadas aos grupos acetamida não desacetilados.

Os resultados obtidos pela técnica de FTIR-ATR das amostras de quitina e quitosana estão de acordo aos apresentados na literatura. Dessa forma, confirmando a extração da quitina dos resíduos de insetos e que a desacetilação dela resultou em quitosanas similares as que são comercializadas atualmente.

5.6 Difractometria de raios X (DRX)

A técnica de DRX permite acessar as estruturas de longa ordem relacionadas ao empacotamento de cadeias lineares, identificar e quantificar fases cristalinas nas diferentes amostras de quitina e quitosana (Sevenou *et al.*, 2002).

A depender do organismo avaliado e a função que desempenha, a quitina pode se apresentar em diferentes estruturas polimórficas chamadas α -, β - e γ -quitina (LUCAS *et al.*, 2021). A α -quitina corresponde a um empacotamento denso resultante da disposição antiparalela das cadeias poliméricas. Em contraste, na β -quitina as cadeias dispõem-se paralelamente e em γ -quitina ocorre uma combinação dos dois arranjos. Como consequência de seus diferentes arranjos no estado sólido, os polimorfos da quitina exibem propriedades diferentes e sendo possível discriminá-los por meio dos perfis de difração típicos para cada um deles. A α -quitina é a mais comum e estável, visto que é possível a conversão da β e γ -quitina em α -quitina, porém essa conversão é irreversível (Campana- Filho *et al.*, 2007).

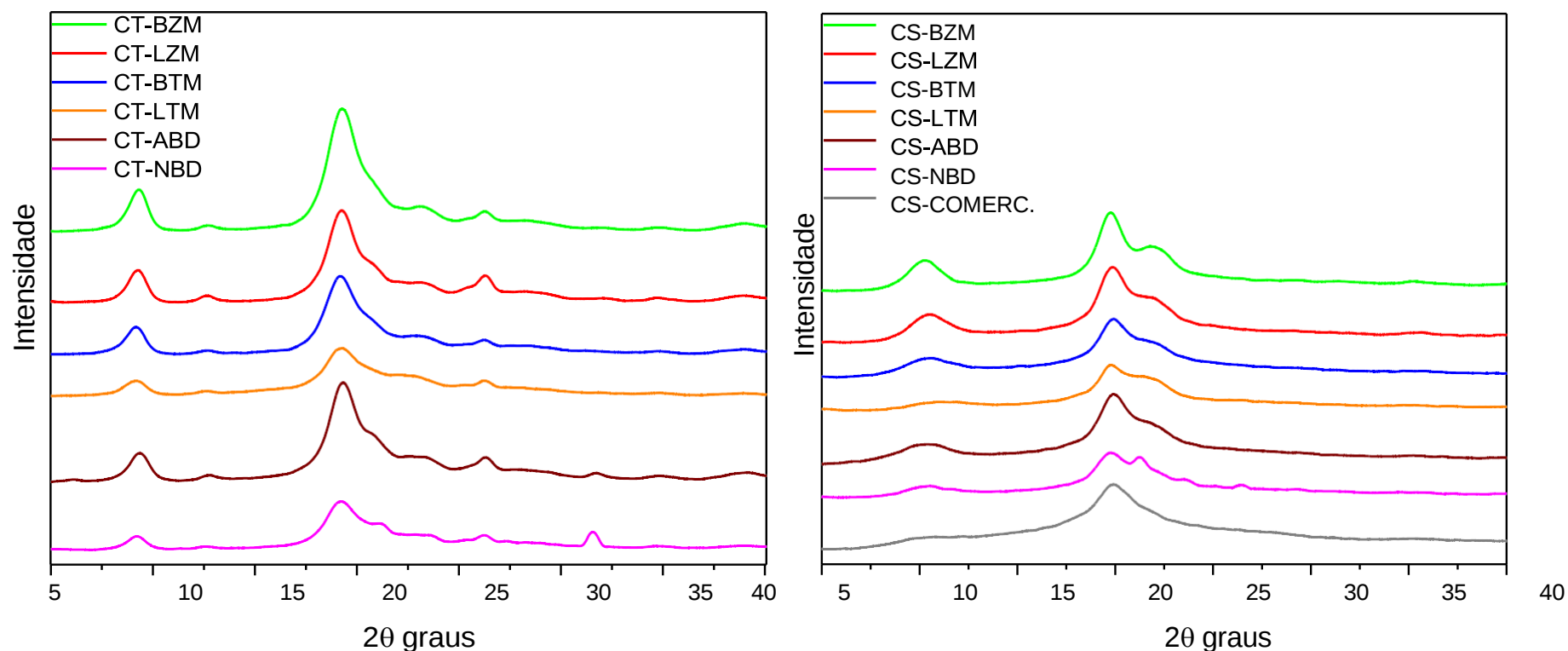
A β - e γ -quitina são encontradas em estruturas flexíveis (gládio de lula e casulo de insetos)(KAYA *et al.*, 2017), no entanto α -quitina é encontrada em exoesqueleto de insetos e crustáceos (estruturas rígidas), devido à disposição antiparalela das cadeias poliméricas em diferentes lamelas ou folhas, o que favorece a existência de numerosas ligações hidrogênio inter- e intra-cadeias da mesma lamela e de lamelas vizinhas resultando em um empacotamento denso das cadeias polissacarídicas (Campana-Filho *et al.*, 2007; Wei; Fu; Guo, 2021), o que também confere a ela maior índice de cristalinidade em comparação com β -quitina que possui ICR de aproximadamente 72%(Battisti; Campana-Filho, 2008) e γ -quitina que é de aproximadamente 68% (Kaya *et al.*, 2017). Porém existem outros fatores que podem influenciar

no índice de cristalinidade que devem ser considerados na identificação do polimorfismo da quitina.

A Figura 13 (a) e Tabela 4 apresentam os resultados dos difratogramas das amostras de quitina. Foram observadas duas reflexões intensas em aproximadamente $9,2^\circ$ e $19,3^\circ$ e cinco menos intensas em aproximadamente 12° , 22° , 26° , 32° e 35° . As duas reflexões agudas em torno de $9,2^\circ$ e $19,3^\circ$ são referentes aos planos de difração (020) e (110) da estrutura cristalina ortorrômbica e demais reflexões menos intensas (SOON *et al.*, 2018).

As reflexões mais intensas observadas nesse estudo estão de acordo com resultados previamente reportados para α -quitinas extraídas de camarão, com picos intensos em $9,1^\circ$ e $19,1^\circ$ (Mittal *et al.*, 2021), larva do *Zophobas morio* ($9,2^\circ$ e $19,3^\circ$) (SOON *et al.*, 2018), gafanhoto *Calliptamus barbarus* ($9,2^\circ$ e $19,2^\circ$), *Oedaleus decorus* ($9,4^\circ$ e $19,4^\circ$), (Kaya *et al.*, 2015) e centopéia *Scolopendra cingulata* ($9,3^\circ$ e $19,3^\circ$) (Zelencova *et al.*, 2015). As reflexões de menor intensidade também estão em conformidade com a literatura para α -quitina, apresentando uma variabilidade de distribuição na faixa de 12° a $38,7^\circ$. Kaya *et al.*, (2015) reportaram picos menos intensos entre $21,2^\circ$ - $31,7^\circ$ e $21,1^\circ$ - $26,6^\circ$ para os espécimes *Calliptamus barbarus* e *Oedaleus decorus* respectivamente e Soon *et al.*, (2018) observaram picos menos intensos variando de $21,0^\circ$ - $27,9^\circ$ para a espécie *Zophobas morio*. Esses picos nos permitem inferir que a α -quitina foi o polimorfo obtido dos resíduos dos insetos no presente estudo.

Figura 13 - Perfis de difração de raios-X das amostras de (a) quitina e (b) quitosana obtidas dos resíduos dos insetos.



a) Perfis de difração das amostras de quitina. As siglas CT-BZM, CT-LZM, CT-BTM, CT-LTM, CT-ABD e CT-NBD, representam amostras de quitinas do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenébrio molitor*, larva do *Tenébrio molitor*, *Blaptica dúbia* adulta e ninfa *Blaptica dúbia*, respectivamente.

b) Perfis de difração das amostras de quitosana. As siglas CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM, CS-LTM, CS-ABD e CS-NBD, representam amostras de quitosana do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenébrio molitor*, larva do *Tenébrio molitor*, *Blaptica dúbia* adulta e ninfa *Blaptica dúbia*, respectivamente.

Tabela 4 - Picos do difratograma, tipo de polimorfo e índices de cristalinidade relativos (ICR) das amostras de quitina e quitosana obtidas dos resíduos de insetos.

Picos 20 graus										Tipo	ICR	ICR
Amostras	CT								CS	(CT)	(CT)	(CS)
BZM	9,3	12,5	19,4	23,0	26,1	35,1	38,7	10,3	19,7	α	89,2	80,2
LZM	9,1	12,5	19,0	22,6	26,3	32,2	35,3	11,1	19,4	α	68,0	66,3
BTM	9,1	12,8	19,0	22,6	26,9	34,2	38,5	10,3	19,9	α	73,3	67,6
LTM	9,3	12,8	19,4	22,8	26,3	31,6	34,9	10,3	19,9	α	71,7	65,3
ABD	9,3	12,8	19,2	22,8	26,1	32,0	34,9	10,8	19,7	α	86,8	73,9
NBD	9,3	12,3	19,4	23,5	26,3	31,5	38,7	10,8	19,7	α	80,9	66,6
CS Comercial	-	-	-	-	-	-	-	10,8	19,9	-	-	65,9

CT – quitina, CS – quitosana, IC – índice de Cristalinidade, cutícula do besouro adulto *Zophobas morio* (BZM), cutícula da larva do *Zophobas morio* (LZM), cutícula do besouro adulto *Tenebrio molitor* (BTM), cutícula da larva do *Tenebrio molitor* (LTM), cutícula do inseto adulto da *Blaptica dubia* (ABD), cutícula da ninfa da *Blaptica dubia* (NBD).

As amostras CT-BTM e CT-NBD apresentaram picos menos intensos entre 12,8°-38,5° e 12,3-38,7°, respectivamente. Resultados semelhantes foram relatados por Luo *et al.* (2019) para quitina extraída da larva da farinha (*Tenebrio molitor*), (12,7°-39,0°), e por Sáenz-Mendoza *et al.*, (2019), em estudo com a mesma espécie (12,8°- 39,3°).

O índice de cristalinidade (IC) é uma propriedade de grande importância sendo altamente relevante para as aplicações da quitina e principalmente da quitosana. Por exemplo, a menor cristalinidade da quitosana facilita sua solubilidade em soluções ácidas, aumenta sua capacidade de sorção e aumenta a acessibilidade dos grupos amino livres primários da quitosana (Hahn; Tafi; *et al.*, 2020).

Os índices de cristalinidade relativo (ICR) das quitinas variaram de 68,07% (CT-LTM) a 89,23% (CT-BZM). Os valores obtidos se apresentaram em concordância com outros previamente reportados para casca de camarão (89,17%) e besouro *Holotrichia parallela* (88,5%) (Liu *et al.*, 2012). Estudos anteriores relatam que essa variação no índice de cristalinidade é esperado e pode ser influenciado por vários fatores, tais como a natureza do organismo do qual a quitina foi extraída e as condições empregadas na extração do polímero (Kaya *et al.*, 2015; Campana-Filho *et al.*, 2007; Lucas *et al.*, 2021).

Zhang *et al.*, (2000) reportaram ICRs para pupas (47%) e cutícula da larva de *Bombyx mori* (56%) inferiores aos determinados no presente trabalho. As diferenças nos valores de ICR foram atribuídas às catecolaminas presentes na esclerotização (endurecimento) das cutículas dos insetos, que não foram removidas no processo de desmineralização, devido as condições reacionais empregadas (temperatura e concentração do ácido). Os autores explicam que a presença desses compostos na quitina interfere em sua estrutura e, portanto, na sua estrutura semicristalina.

Observou-se que entre os resíduos das espécies de insetos holometábolos (CT-BZM 89,23% e CT LZM 86,81% / CT-BTM 73,36% e CT-LTM 68,07%), o índice de cristalinidade foi maior para a quitina extraída do estágio adulto. Esse resultado também foi observado por Triunfo *et al.*, (2022), que relataram que a cristalinidade da quitina extraída do inseto adulto *Hermetia illucens* (96%) foi maior do que a extraída da larva (90%). Kaya *et al.*, (2014) também reportaram variações dos valores do ICR das quitinas extraídas de diferentes invertebrados a depender da rigidez dos seus exoesqueletos. Nesse estudo os autores avaliaram seis espécies (1 crustáceo e 5 insetos) sendo que a espécie do crustáceo possuía o exoesqueleto externo mais flexível que o dos insetos e apresentou ICR mais baixo. Portanto, é possível inferir que o ICR da quitina aumenta gradativamente nas diferentes fases de vida do inseto e

que está associada a rigidez de suas cutículas.

As amostras da barata (hemimetábolo) apresentaram diferentes resultados de ICR, de maneira que a fase adulta apresentou valor inferior (CT-ABD, 71,78%) ao da ninfa (CT - NBD, 80,94%). Para o gafanhoto *Dociostaurus maroccanus*, inseto hemimetábolo, a fase adulta também apresentou IC menor (71%) do que a fase de ninfa (74%), porém, como a diferença entre os ICR foi pequena, os autores concluíram que a cristalinidade das quitinas não alterou entre os diferentes estágios de desenvolvimento.

Os perfis de difração também podem ser utilizados para distinguir a quitina da quitosana. Os picos característicos de quitosana estão centrados em $10,0^\circ$ e $20,0^\circ$, correspondendo aos planos cristalográficos (002) e (101) (Antonino *et al.*, 2017). Neste estudo, o padrão observado está relatado na Figura 13 (b), onde os picos em 2θ graus foram em aproximadamente $10,3 - 11,1^\circ$ e $19,4-19,9^\circ$. Esses resultados estão condizentes com os da quitosana comercial ($10,8^\circ$ e $19,9^\circ$) e ao relatado em outro estudo para a quitosana obtida a partir de casca de camarão, que apresentaram picos em $10,0^\circ$ e $20,0^\circ$ (Shin; Kim; Shin, 2019). Outro fator a ser observado nos difratogramas da quitosana para inferir que a desacetilação da quitina ocorreu é a intensidade dos picos. A forma hidratada da quitosana produzida pela hidrólise alcalina dos grupos acetamido da quitina resulta em amorfização de cadeias. A amorfização pode ser claramente reconhecida nos difratogramas, por reflexões menos intensas e mais alargadas quando comparadas as da quitina (LUCAS *et al.*, 2021), conforme observado no presente estudo (Figura 13b).

Os ICR das quitosanas dos resíduos de insetos variaram entre 65,33% (CS-ABD) e 80,24% (CS-BZM) e a quitosana comercial apresentou IC de 65,92%. Observou-se que em todas as amostras o ICR diminuiu em comparação ao da quitina, sendo este resultado esperado, pois a cristalinidade da quitina é reduzida após a reação de desacetilação (Sagneer *et al.*, 2009). A diminuição do índice de cristalinidade da quitosana em relação a quitina indica que houve alteração estrutural induzida pela desacetilação, resultando em regiões amorfas (Mittal *et al.*, 2021). As mesmas tendências foram observadas para quitina e quitosana obtida de cascas de camarão (64,1% para 31,9%) e caranguejo (67,8% para 35,2%) (Hajji *et al.*, 2014) e para cigarra (82,1% para 64,8%), crisálida do bicho-da-seda (59,21% para 32,9%), larva-da-farinha (81,11% para 51,9%) e gafanhoto (83,4% para 50,1%) (Luo *et al.*, 2019).

O ICR da quitosana comercial foi inferior a das amostras CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM, CS-ABD, CS-NBD. Battisti e Campana-Filho, (2008) atribuem esse resultado ao processo de purificação que algumas quitosanas comerciais são submetidas. Os autores

relataram que uma vez que a quitosana passe pela purificação por dissolução seguida de precipitação por neutralização, as cadeias adotam uma nova organização, diferente daquela adotada por quitosanas que não foram solubilizadas e que preservam parcialmente a organização estrutural de quitina, levando as amostras purificadas possuírem ICR mais baixos.

As variações observadas nos ICR entre as espécies estudadas, podem estar associadas a outros fatores que não o método de purificação, tais como a fonte de quitina, tempo de desacetilação e características físico-químicas da quitosana, como o grau de desacetilação (Muley *et al.*, 2018). Hahn *et al.*, (2020) enfatizam que existe uma clara necessidade de determinar a contribuição de cada um dos fatores que afetam a cristalinidade de quitina e quitosana obtidas de insetos, por meio de investigações baseadas nas técnicas de raios-X.

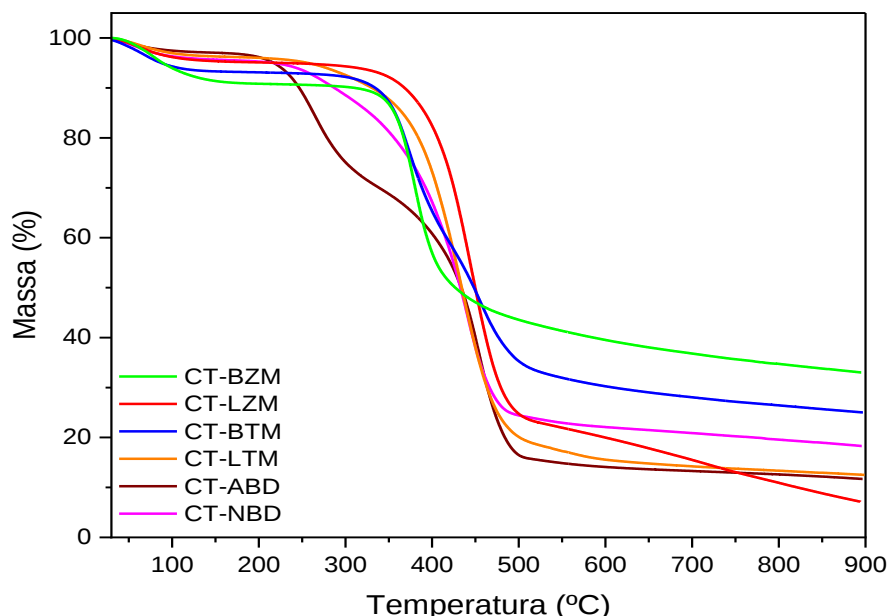
5.7 Análise termogravimétrica (TGA) da quitina e quitosana

As curvas TG e DTG das quitinas obtidas a partir dos resíduos dos insetos, estão apresentadas nas Figura 14 (a) e (b) e Tabela 5. O primeiro evento térmico observado nas amostras (30-150 °C) está associado à evaporação da água com perda de massa variando de 2,94 a 7,95%. Como pode ser visto na Tabela 5, foram observadas T_{onset} DTG do segundo evento de decomposição causada pela despolimerização/decomposição das unidades acetiladas do polímero entre 360,0 e 427,9 (Kaya *et al.*, 2014). Segundo Poerio *et al.*, (2020) a temperatura máxima de decomposição da α -quitina é geralmente superior a 350 °C. O resultado obtido neste estudo corrobora com os relatados por este autor e está dentro da variação sugerida pela literatura para decomposição das unidades acetiladas da quitina (Paulino *et al.*, 2006).

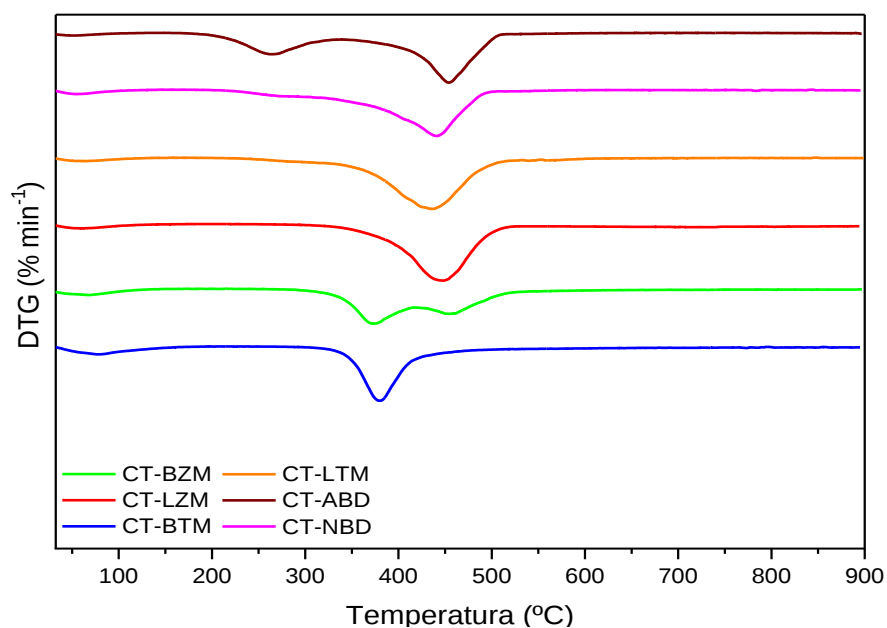
Os resíduos da pirólise dessas amostras variaram de 0,34 a 25,00% (Tabela 5) provenientes de impurezas na amostra. Segundo Huet *et al.*, (2020) os percentuais de impurezas estão associados as fontes de extração e são principalmente minerais que não foram totalmente retirados no processo de desmineralização. Esses autores relataram que as quitinas extraídas da larva do *Bombyx eri* apresentaram percentuais de impurezas/resíduos de 21,7 e 30,3%, sendo o segundo valor superior ao maior índice relatado nesta pesquisa.

Três amostras apresentaram três eventos térmicos, o primeiro entre 50° e 110°C e dois T_{onset} DTG, CT-BTM (312° e 427°C), CT-ABD (197° e 373°C) e CT-|BZM (320° e 382°C). Abdel-Rahman *et al.*, (2015) reportaram um resultado semelhante para a quitina comercial. Segundo os autores, o primeiro evento entre 50-100 °C é referente a evaporação da água, o segundo por volta 230 °C corresponde aos resíduos de proteínas e pigmentos presentes nas cadeias de quitina e o terceiro por volta de 300 °C, está relacionado à degradação do polímero.

Figura 14 - Curvas (a) TG e (b) DTG das amostras de quitina obtidas dos resíduos dos insetos.



a) Perfis TG das quitinas obtidas dos resíduos dos insetos. As siglas CT-BZM, CT-LZM, CT-BTM, CT-LTM, CT-ABD e CT-NBD, representam amostras de quitinas do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.



b) Perfis DTG das quitinas obtidas dos resíduos dos insetos. As siglas CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM, CS-LTM, CS-ABD e CS-NBD, representam amostras de quitosana do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.

Os perfis TG e DTG das quitosanas obtidas dos resíduos dos insetos e a comercial podem ser visualizados na Figura 15 (a) e (b), respectivamente. Elas apresentaram dois eventos térmicos típicos para esse biopolímero. O primeiro evento (30-150 °C) está relacionado à evaporação das moléculas de água com perda de massa variando de 6,89 a 9,80% (Tabela 5). Ma, Xin e Tan (2015) em sua pesquisa com quitosana oriunda do resíduo de *Catharsius molossus* reportaram perdas de massa com percentuais superiores aos encontrados nesse estudo (13,37 e 13,88%) e inferiram que essas taxas relativamente grandes, poderiam indicar uma grande quantidade de -NH₂ associando-se às moléculas de água por meio de ligações de hidrogênio.

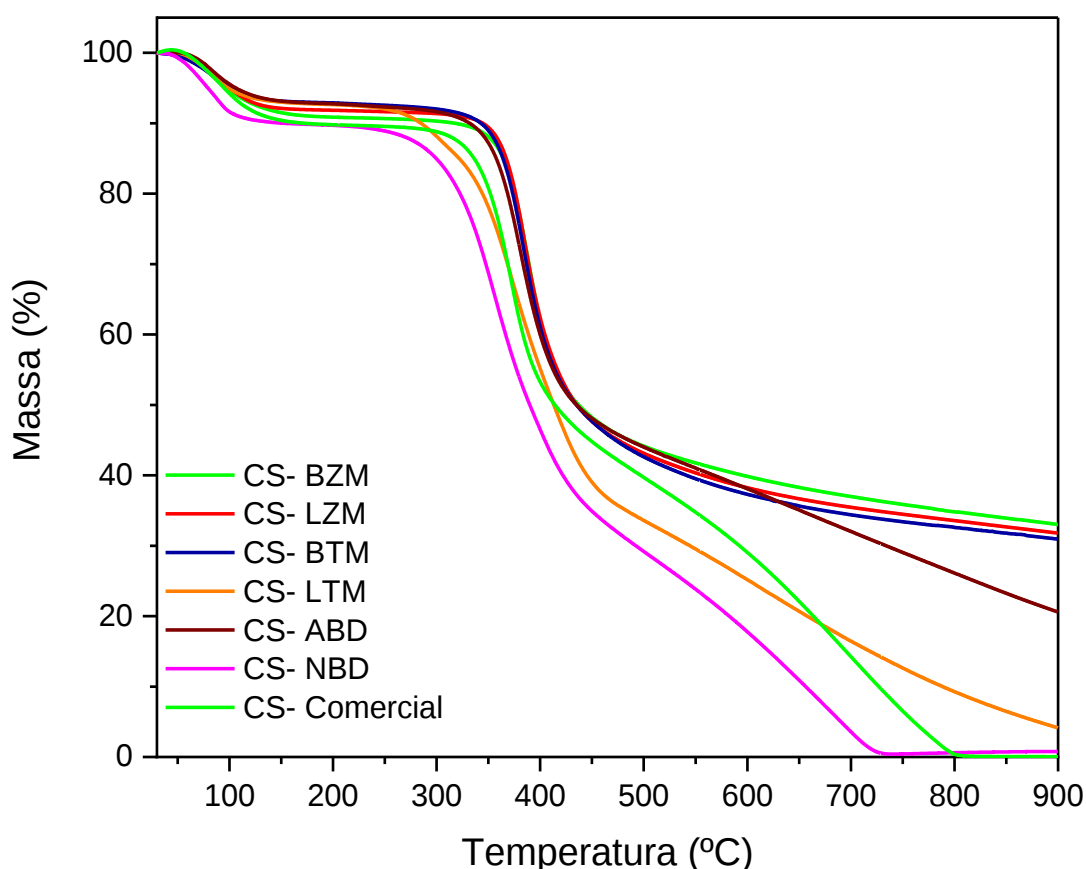
No segundo evento térmico, foram observados Tonset DTG variando de 245° a 329°C (Tabela 5), associado a decomposição de glucosamina e acetil glucosamina residuais das cadeias, seguidos pela decomposição térmica da quitosana propriamente dita (Abdel- Rahman *et al.*, 2015; Kaya *et al.*, 2015). Os resultados obtidos no presente estudo são comparáveis aos descritos em trabalhos anteriores que relataram dois eventos térmicos para a quitosana de invertebrados, apresentando diferentes temperaturas de estabilidade térmica (Tonset DTG) e percentuais de decomposição da quitosana, a depender da espécie analisada: *Catharsius molossus* (400°C e 45,76%) (Ma; Xin; Tan, 2015), *Calliptamus barbarus* (296°C e 61%), *Oedaleus decorus* (305°C e 57%) (Kaya *et al.*, 2015) e *Scolopendra cingulata* (300°C e 61,97%) (Zelencova *et al.*, 2015).

Foram observados (Tabela 5) percentuais de resíduos que variaram entre 0,77% (CS-NBD) e 33,02% (CS-BZM). A literatura relata que para ideal das quitosanas purificadas é teor residual <1% (Almeida *et al.*, 2019), que corrobora com o percentual apresentado pela amostra da quitosana comercial (0,04%) e apenas a amostra CS-NBD ficou dentro desse padrão. Hong *et al.*, (2007), fizeram uma análise dos eventos térmicos de quitosana extraída da casca do camarão e observou que a massa residual foi de 27,84%. Pereira *et al.*, (2012) analisou uma quitosana comercial que apresentou uma massa residual de 25%, segundo esses autores nem toda a quitosana é decomposta em até 700 C a essa temperatura há a degradação térmica de uma nova reticulação formada pela decomposição térmica do grupo amino funcional resultante de reações dos subprodutos formados na primeira degradação onde ocorre a decomposição de glucosamina e acetil glucosamina residuais das cadeias.

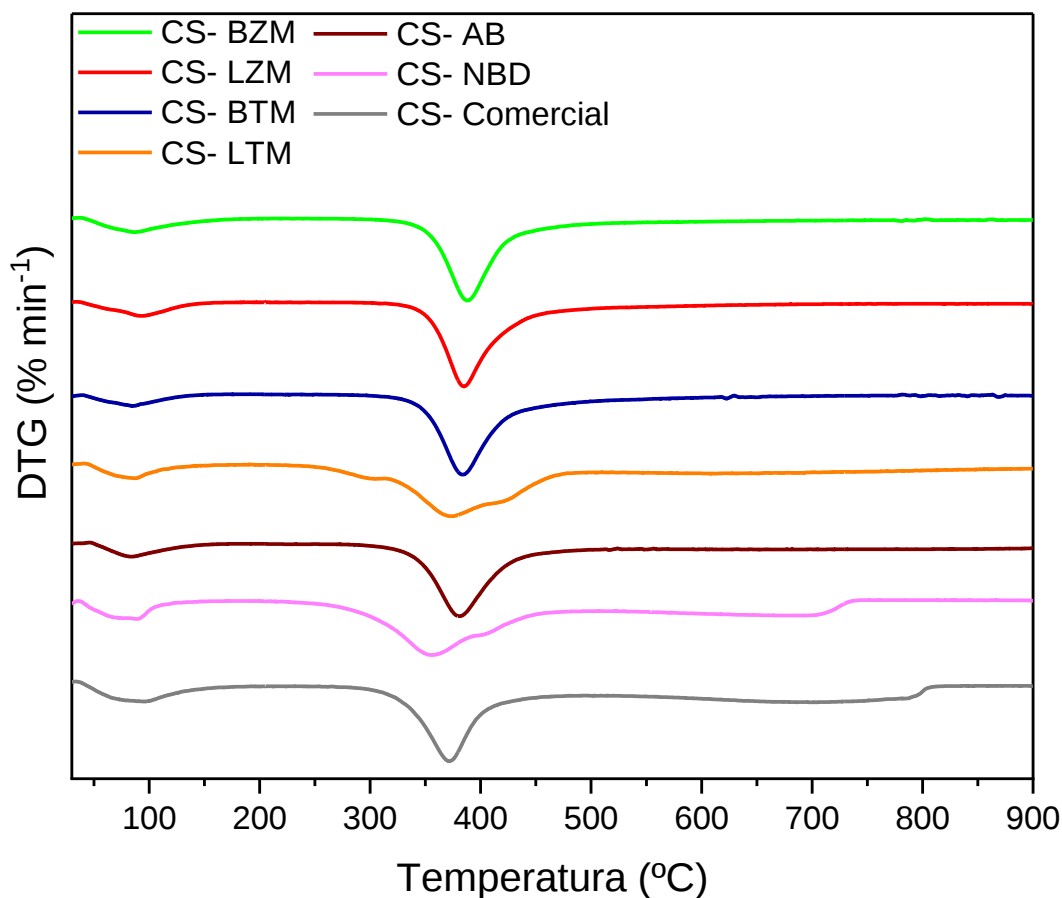
Observou-se que o T_{onset} DTG das amostras de quitosana foram menores que o da quitina. Os resultados obtidos seguem a tendência relatada por Kaya *et al.* (2014), que em seu estudo, após comparar as temperaturas de degradação (T_{peak} DTG) de quitina e quitosana

obtidas de seis espécies de invertebrados, observaram que as quitinas foram degradadas em temperaturas mais altas do que as quitosana. Soon *et al.*, (2018) também observou que a estabilidade térmica da quitina foi maior que a quitosana e ambos os autores atribuíram esse resultado principalmente ao arranjo no estado sólido da α -quitina que possui um empacotamento denso das suas estruturas, resultante da disposição antiparalela das cadeias poliméricas o que favorece a existência de numerosas ligações hidrogênio inter- e intra-cadeia, formando estruturas com alto índice de cristalinidade e maior estabilidade.

Figura 15 - Curvas (a) TG e (b) DTG das amostras de quitina obtidas dos resíduos dos insetos



a) Curvas TG das amostras de quitina. As siglas CT-BZM, CT-LZM, CT-BTM, CT-LTM, CT-ABD e CT-NBD, representam amostras de quitinas do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.



b) Curvas DTG das amostras de quitosana. As siglas CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM, CS-LTM, CS-ABD e CS-NBD, representam amostras de quitosana do exoesqueleto cuticular do Besouro *Zophobas morio*, larva do *Zophobas morio*, besouro *Tenebrio molitor*, larva do *Tenebrio molitor*, *Blaptica dubia* adulta e ninfa *Blaptica dubia*, respectivamente.

Observou-se também que as amostras CS-BZM, CS-LZM, CS-BTM e CS-ABD, apresentaram maior estabilidade térmica que a amostra de quitosana comercial. Ma, Xin e Tan (2015) também observaram que a estabilidade térmica da quitosana obtida dos resíduos de *Catharsius molossus* foi maior que a da quitosana comercial. Os autores associaram esse dado ao índice de cristalinidade, indicando que as amostras que possuem maior índice de cristalinidade, apresentam maiores temperaturas de decomposição térmica e por consequência maior estabilidade térmica. A mesma tendência de direta proporcionalidade entre os ICR e estabilidade térmica também foi observada no presente estudo (Figura 15 e Tabela 5).

Os perfis e as medidas das curvas TG das amostras de quitina e quitosana extraídas dos resíduos dos insetos se apresentaram comparáveis com os respectivos biopolímeros extraídos de outras fontes, como espécimes marinhas e outros insetos. Portanto, corroborando as similaridades em nível molecular e estrutural entre esses biopolímeros.

Tabela 5 - Medidas termogravimétricas. Umidade, temperatura de estabilidade térmica (T_{onsetDTG}) e resíduo das amostras de quitina e quitosana obtidas dos resíduos dos insetos.

Amostras	Umidade (%)	$T_{\text{onset DTG}} (^{\circ}\text{C})$		Resíduo (%)
		I	II	
CT-ABD	2,94	197,70	373,93	11,67
CT-BTM	6,66	312,50	427,95	25,00
CT-NBD	4,32		368,00	18,28
CT-LTM	3,60	-	360,00	12,50
CT-LZM	4,56	-	365,02	7,13
CT-BZM	7,95	320,50	382,68	0,34
CS-ABD	6,93	310,60	-	20,59
CS-BTM	6,89	326,80	-	30,91
CS-NBD	9,99	256,00	-	0,77
CS-LTM	7,05	245,80	-	4,14
CS-LZM	7,94	329,90	-	31,79
CS-BZM	8,61	328,20	-	33,02
CS-Comercial	9,80	301,50	-	0,04

CT-BZM (quitina da cutícula do besouro *Zophobas morio*), CT- LZM (quitina da cutícula da larva do *Zophobas morio*), CT- BTM (quitina da cutícula do besouro *Tenebrio molitor*), CT- LTM (quitina da cutícula da larva do *Tenebrio molitor*), CT-ABD (quitina da cutícula do inseto da *Blaptica dubia*), CT-NBD (quitina da cutícula da ninfa da *Blaptica dubia*).

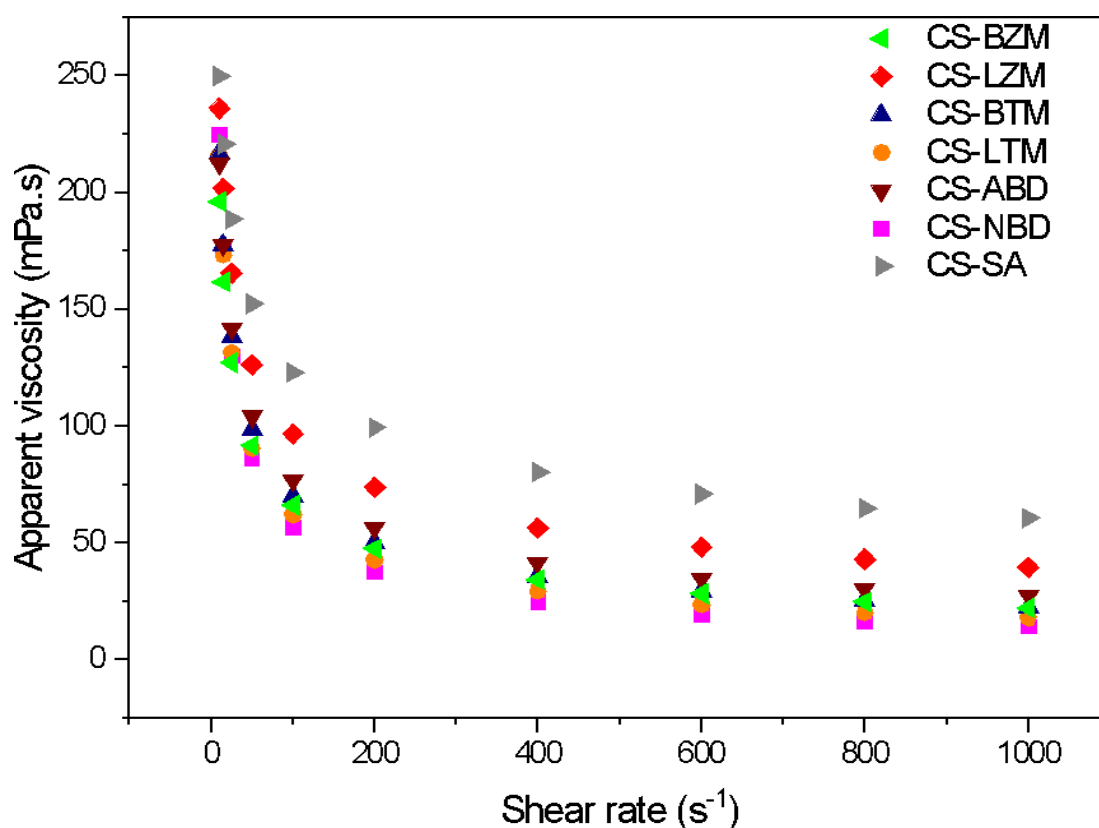
5.8 Parâmetros reológicos da quitosana

A Figura 16 e Tabela 6 mostram os resultados para a viscosidade aparente das quitosanas (1%, m v⁻¹) em solução aquosa de ácido acético (1%, v v⁻¹) com taxa de cisalhamento na faixa de 10-1000 s⁻¹ a 25°C. As quitosanas dos resíduos de inseto apresentaram valores variando de 195,96 a 235,87 mPa.s. Para todas as amostras avaliadas, os resultados foram menores em comparação à quitosana comercial (249,86 mPa.s) (p<0,05), sendo a quitosana CS-LZM (235,87 mPa.s), a que mais se aproximou. Esses resultados podem estar relacionados com as respectivas massas moleculares das amostras, uma vez que as quitosanas que apresentam maior distribuição de massa molecular, apresentam maior viscosidade (Hahn *et al.*, 2020). Muito embora a correlação entre massa molecular e viscosidade já seja conhecida, as massas moleculares médias das quitosanas não foram determinadas no presente trabalho.

Todas as amostras apresentaram reduções nos valores de viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento. Esse comportamento é provavelmente devido ao alinhamento das cadeias poliméricas na direção do fluxo, indicando ser um fluido pseudoplástico (Silva-Weiss *et al.*, 2013).

O comportamento reológico da quitosana como fluido não newtoniano foi relatado por Luo *et al.*, (2019), ao avaliarem quitosanas obtidas a partir da casca do camarão e de quatro espécies de insetos. Os autores observaram que para a quitosana da casca de camarão, a viscosidade diminuiu drasticamente à medida que a taxa de cisalhamento aumentava. Nas amostras dos insetos, a viscosidade também diminuiu à medida que a taxa de cisalhamento aumentou, no entanto, de forma mais gradual.

Figura 16 - Viscosidades aparentes das amostras de quitosana obtidas dos resíduos dos insetos.



CS-BZM (quitosana da cutícula do besouro *Zophobas morio*), CS- LZM (quitosana da cutícula da larva do *Zophobas morio*), CS- BTM (quitosana da cutícula do besouro *Tenebrio molitor*), CS- LTM (quitosana da cutícula da larva do *Tenebrio molitor*), CS-ABD (quitosana da cutícula do inseto da *Blaptica dubia*), CS-NBD (quitosana da cutícula da ninfa da *Blaptica dubia*) e CS-SA = quitosana comercial.

Tabela 6 - Parâmetros reológicos de suspensão das diferentes amostras de quitosana.

Amostras	Viscosidade aparente (mPa.s)	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
CS-BZM	195,96 ± 2,97 ^a	581,81 ± 8,84 ^b	0,53 ± 0,00 ^d	0,99
CS-LZM	235,87 ± 6,16 ^d	576,43 ± 16,32 ^b	0,61 ± 0,00 ^f	0,99
CS-BTM	216,68 ± 2,43 ^{bc}	669,02 ± 9,50 ^c	0,51 ± 0,00 ^c	0,99
CS-LTM	215,72 ± 4,39 ^{bc}	749,07 ± 9,36 ^d	0,46 ± 0,00 ^b	0,99
CS-ABD	212,35 ± 1,06 ^b	588,84 ± 0,16 ^b	0,56 ± 0,00 ^e	0,99
CS-NBD	224,71 ± 4,38 ^c	890,00 ± 9,11 ^e	0,40 ± 0,00 ^a	0,96
CS-Comercial	249,86 ± 0,18 ^e	507,45 ± 1,16 ^a	0,69 ± 0,00 ^g	0,99

* Solução de quitosana 1,0% (m v⁻¹), 25°C, 10 s⁻¹. CS-BZM quitosana do exoesqueleto cuticular do besouro *Zophobas morio*, CS-LZM quitosana do exoesqueleto cuticular da larva *Zophobas morio*, CS-BTM quitosana do exoesqueleto cuticular do besouro *Tenebrio molitor*, CS-LTM quitosana do exoesqueleto cuticular da larva *Tenebrio molitor*, CS-ABD quitosana do exoesqueleto cuticular da barata adulta e CS-NBD quitosana do exoesqueleto cuticular da ninfa da barata.

O comportamento do fluxo foi ajustado ao modelo Ostwald de Waelle ($R^2 \geq 0,96$) para todas as amostras, conforme demonstrado na Tabela 6, sendo o valor do índice de comportamento do escoamento (n) menor que 1 para todas as amostras, como esperado para fluídos pseudoplásticos (Saenz-Mendoza *et al.*, 2020).

É de suma importância conhecer as propriedades reológicas das quitosanas em solução. De acordo com Silva-Weiss *et al.*, (2013) as soluções com viscosidades mais baixas são mais interessantes ao processamento durante operações de alto cisalhamento, como bombeamento, enchimento e aplicações de pulverização. Por outro lado, as soluções de alta viscosidade aparente em baixas taxas de cisalhamento, apresentam textura agradável proporcionando uma sensação na boca desejável durante a mastigação, para aplicações em alimentos. Além disso, também são interessantes na preparação de soluções formadoras de filmes por imersão.

6 CONCLUSÃO

Quitina e quitosana foram obtidas a partir dos resíduos de criação de *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* e *Blaptica dubia* e caracterizadas com sucesso. Os resultados obtidos demonstram que esses resíduos possuem teores de quitina comparáveis aos relatados para as fontes convencionais, como a casca de camarão e caranguejo. A quitosana apresentou altos

graus de desacetilação, solubilidade e demais características físico-químicas similares ao da quitosana comercial. Isso prenuncia seu potencial nas mesmas aplicações já consolidadas para quitina e quitosana de crustáceos, mas como uma fonte alternativa desses biopolímeros.

É importante ressaltar que esse é um estudo preliminar que buscou avaliar os potenciais dos resíduos oriundos da criação de insetos em larga escala como fonte de quitina. Apesar dos resultados obtidos, estudos adicionais para o desenvolvimento de procedimentos que otimizem a extração da quitina e quitosana sem alterar suas características químicas intrínsecas ainda são necessários.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHMAN, R. M. *et al.* Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 107–120, 2015. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2015.06.027.

ABDOU, E. S.; NAGY, K. S.A.; ELSABEE, M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 1359–1367, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051>.

ALAMER, A. H.; HOFFMANN, K. H. Endocrine aspects of ovary growth and gestation in the Argentinian cockroach, *Blaptica dubia* (Dictyoptera, Blaberidae). **Invertebrate Reproduction and Development**, v. 58, n. 1, p. 34–41, 2014. <https://doi.org/10.1080/07924259.2013.797935>.

ALIMI, B. A. *et al.* Extraction, quantification, characterization, and application in food packaging of chitin and chitosan from mushrooms: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 237, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124195>.

ALMEIDA, R. S. *et al.* Produção, caracterização e avaliação in vitro de partículas de quitosana e hidroxiapatita para substituição óssea. **Cerâmica**, v. 65, p. 569-577, 2019. <https://doi.org/10.1590/0366-69132019653762682>.

ANTONINO, N. de A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de**

exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana. Dissertação (Mestrado em Química), Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, p. 89, 2007. Available at:

http://www.ppgq.quimica.ufpb.br/dissertacoes/Dissertacao_Nilton_Andrade.pdf.

ANTONINO, R. S. C. M. de Q. *et al.* Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Marine Drugs**, v. 15, n. 5, p. 1–12, 2017. <https://doi.org/10.3390/md15050141>.

ARANAZ, I. *et al.* Functional Characterization of Chitin and Chitosan. **Current Chemical Biology**, v. 3, n. 2, p. 203–230, 2009. <https://doi.org/10.2174/2212796810903020203>.

AYBAR, M. *et al.* Tenebrio molitor as a Clean Label Ingredient to Produce Nutritionally Enriched Food Emulsions. **Insects**, v. 14, n. 2, p. 147, 31 Jan. 2023.

<https://doi.org/10.3390/insects14020147>.

AZEVEDO, V. V. C. *et al.* Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2.3, p. 27–34, 2007.

BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2014–2019, 2008.

BEZERRA, A. M. **Prospecção quantitativa e qualitativa de uma nova fonte renovável de quitosana.** 2015. Tese (Doutorado em Tecnologia Químico-Farmacêutica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. doi:10.11606/T.9.2016.tde-25022016-111721. Acesso em: 2023-08-21.

BLOUKOUNON-GOUBALAN, A. Y. *et al.* By-products of insect rearing: insect residues as biofertilizers. **Insects as animal feed: novel ingredients for use in pet, aquaculture and livestock diets**. UK: CABI. p. 60–71, 2021. <https://doi.org/10.1079/9781789245929.0008>.

BRAGA, Y. C.; PRATES, J. V. S.; COSTA, D. V. da. Farinha de insetos como alternativa na

alimentação de galinhas poedeiras. **Research, Society and Development**. v. 12, n. 1, e23412139556, 2023. DOI- 10.33448/rsd-v12i1.39556.

BRIGODE, C. *et al.* Isolation and physicochemical properties of chitin polymer from insect farm side stream as a new source of renewable biopolymer. **Journal of Cleaner Production**, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122924>.

BROEK, A. M.V. D; BOERIU, C. G. **Chitin and Chitosan**. [S. l.: s. n.], v. 2–4, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-044451967-2/00127-6>.

CABRERA-BARJAS, G. *et al.* Valorization of food waste to produce intelligent nanofibrous β -chitin films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 186, p. 92–99, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.045>.

PAULA, R. C. de. **Otimização do cultivo de *Cunninghamella elegans* para a produção de biomassa, quitina, quitosana e biossurfactante em meio de resíduo agroindustrial**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2023.

CAMPANA-FILHO, S. P. *et al.* Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644–650, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300026>.

CAMPANA FILHO, S. P.; SIGNINI, R. Efeito de Aditivos na Desacetilação de Quitina. **Polímeros**, v. 11, n. 4, p. 169–173, 2001. <https://doi.org/10.1590/s0104-14282001000400006>.

CAPPELLI, A. *et al.* Assessment of the rheological properties and bread characteristics obtained by innovative protein sources (*Cicer arietinum*, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*): Novel food or potential improvers for wheat flour? **LWT**, v. 118, p. 108867, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108867>.

CERRETA, A. J. *et al.* Comparative nutrient analysis of four species of cockroaches used as food for insectivores by life stage, species, and sex. **Zoo Biology**, v. 41, n. 1, p. 26–33, 2022.

<https://doi.org/10.1002/zoo.21647>.

CHI-WANG M.; YOUNG-KA K. Development of Blueberry Cakes with Addition of Mealworm Powder (*Tenebrio molitor* Lavare) Using sensory evaluation. **The International Journal of Advanced Smart**. v. 10, n. 3, p. 225–231, 2021.

CHO, H. T. *et al.* Anti-diabetic activity of edible insect *gryllus bimaculatus* extracts in insulin-deficient diabetic mice. **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 10, p. 1165–1171, 2019. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2019.48.10.1165>.

CRAVEIRO, A. A.; RIBEIRO, L. de M.; CRAVEIRO, A. C. Removal of pesticides in peppers and tomatoes with the use of chitosan. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 10218–10227, 2019. <https://doi.org/10.34117/bjdv5n7-180>.

OLIVEIRA, L. M. *et al.* Bread enriched with flour from cinereous cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 44, p. 30–35, 2017. DOI 10.1016/j.ifset.2017.08.015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2017.08.015>.

DIAS, K. B. *et al.* Quitina e quitosana: Características, utilizações e perspectivas atuais de produção. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 3, p. 184–191, 2013. <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v4n3.dias>.

DONG, Z. *et al.* Selenium accumulation in protein fractions of *Tenebrio molitor* larvae and the antioxidant and immunoregulatory activity of protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127475, Jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127475>.

DUTTA, P. K. *et al.* Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173–1182, 2009. DOI 10.1016/j.foodchem.2008.11.047. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.047>.

EGUSA, M. *et al.* Improving nitrogen uptake efficiency by chitin nanofiber promotes growth in tomato. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 1322–1331, 2020. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.178. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.178>.

EL KNIDRI, H. *et al.* Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181–1189, 2018. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.

ERDOGAN, S.; KAYA, M. High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 118–126, 2016. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.059.

FERRER L. P. *et al.* The use of insect meal as a sustainable feeding alternative in aquaculture: Current situation, Spanish consumers' perceptions and willingness to pay. **Journal of Cleaner Production**, v. 229, p. 10–21, 2019. DOI 10.1016/j.jclepro.2019.05.012.

FINKE, M. D. Complete nutrient content of four species of commercially available feeder insects fed enhanced diets during growth. **Zoo Biology**, v. 34, n. 6, p. 554–564, 2015. <https://doi.org/10.1002/zoo.21246>.

FINKE, M. D. Complete Nutrient Content of Four Species of Feeder Insects. **Zoo Biology**, v. 32, n. 1, p. 27–36, 2013. <https://doi.org/10.1002/zoo.21012>.

FOCHER, B. *et al.* Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solutions-evidence from CP-MAS ¹³C-NMR, FT-IR and FT-Raman spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 17, n. 2, p. 97–102, 1992. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(92\)90101-U](https://doi.org/10.1016/0144-8617(92)90101-U).

GUZMÁN, E.; ORTEGA, F.; RUBIO, R. G. Chitosan: A Promising Multifunctional Cosmetic Ingredient for Skin and Hair Care. **Cosmetics**, v. 9, n. 5, 2022. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9050099>.

HAHN, T. *et al.* Chitosan production with larval exoskeletons derived from the insect protein production. **Journal of Biotechnology**, v. 310, p. 62–67, 2020a. DOI 10.1016/j.jbiotec.2019.12.015.

HAHN, T. *et al.* Current state of chitin purification and chitosan production from insects.

Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 95, n. 11, p. 2775–2795, 2020b. <https://doi.org/10.1002/jctb.6533>.

HAJJI, S. *et al.* Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 298–306, 2014. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2014.01.045.

HOLL, S. M. *et al.* Comparison of black coral skeleton and insect cuticle by a combination of carbon-13 NMR and chemical analyses. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 292, n. 1, p. 107–111, Jan. 1992. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(92\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0003-9861(92)90057-4).

HONG, J.; HAN, T.; KIM, Y. Y. Mealworm (*Tenebrio molitor* larvae) as an alternative protein source for monogastric animal: A review. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 1–20, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10112068>.

Hong, P. Z. *et al.* Thermogravimetric analysis of chitosan. **Journal of applied polymer science**, v. 105, n. 2, p. 547–551, 2007. <https://doi.org/10.1002/app.25920>.

HUANG, C. *et al.* Impact of drying method on the nutritional value of the edible insect protein from black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae: amino acid composition, nutritional value evaluation, in vitro digestibility, and thermal properties. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 1, p. 11–21, 2019. DOI 10.1007/s00217-018-3136-y.

HUET, G. *et al.* Straightforward extraction and selective bioconversion of high purity chitin from *Bombyx eri* larva: Toward an integrated insect biorefinery. **Carbohydrate Polymers**, v. 228, p. 115382, 2020. DOI 10.1016/j.carbpol.2019.115382.

IBITOYE, E. B. *et al.* Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 13, n. 2, 2018. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa9dde>.

İLYASOĞLU, H.; NADZIEJA, M.; GUO, Z. Caffeic acid grafted chitosan as a novel dual-

functional stabilizer for food-grade emulsions and additive antioxidant property. **Food Hydrocolloids**, v. 95, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.043>.

ISLAM, N.; HOQUE, M.; TAHARAT, S. F. Recent advances in extraction of chitin and chitosan. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 1, p. 1–17, 2023. DOI 10.1007/s11274-022-03468-1. A

LUCAS, A. J. da S. *et al.* Edible insects: An alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 311, p. 126022, 2020. DOI 10.1016/j.foodchem.2019.126022.

JEON, Y. *et al.* Physicochemical properties and oxidative stabilities of mealworm (*Tenebrio molitor*) oils under different roasting conditions. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 1, p. 105–110, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0015-9>.

JIANG, L. *et al.* Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivatives. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 4, p. 956–963, 2013. <https://doi.org/10.1111/jam.12111>.

JIN, S. Functionalized cellulose nanofibrils based supramolecular system-assisted molding enabled strong, antibacterial chitosan bioplastics. **Carbohydrate Polymers**, v. 315, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120979>.

KABALAK, M.; ARACAGÖK, D.; TORUN, M. Extraction, characterization and comparison of chitins from large bodied four Coleoptera and Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.194>.

KAUR, S.; DHILLON, G. S. Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 44–61, 2015. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798256>.

KAYA, M. *et al.* Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta). **Biotechnology and**

Bioprocess Engineering, v. 20, n. 1, p. 168–179, 2015. <https://doi.org/10.1007/s12257-014-0391-z>.

KAYA, M.; BARAN, T.; KARAARSLAN, M. A new method for fast chitin extraction from shells of crab, crayfish and shrimp. **Natural Product Research**, v. 29, n. 15, p. 1477–1480, 3 Aug. 2015. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1026341>.

KAYA, M. *et al.* Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 72, p. 797–805, Jan. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.034>.

KAYA, M. *et al.* On chemistry of γ -chitin. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, p. 177–186, 2017. DOI 10.1016/j.carbpol.2017.08.076.

KAYA, M. *et al.* A physicochemical characterization of fully acetylated chitin structure isolated from two spider species: With new surface morphology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 553–558, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.010>.

KAYA, M. *et al.* Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 64–70, 2016. DOI 10.1016/j.carbpol.2016.03.010. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.010>.

KESHVARDOOSTCHOKAMI, M. *et al.* A review on the use of chitosan and chitosan derivatives as the bio-adsorbents for the water treatment: Removal of nitrogen-containing pollutants. **Carbohydrate Polymers**, v. 273, p. 118625, 2021. DOI 10.1016/j.carbpol.2021.118625.

KIM, H. W. *et al.* Effect of House Cricket (*Acheta domesticus*) Flour Addition on Physicochemical and Textural Properties of Meat Emulsion Under Various Formulations. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 12, p. 2787–2793, 2017. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13960>.

KULMA, M. *et al.* Nutritional value of three Blattodea species used as feed for animals.

Journal of Animal and Feed Sciences, v. 25, n. 4, p. 354–360, 2016.

<https://doi.org/10.22358/jafs/67916/2016>.

LAM, P. Y. *et al.* Nutrient composition of Blaptica dubia (Order: Blattodea) as an alternative protein source. **Journal of Tropical Resources and Sustainable Science (JTRSS)**, v. 6, n. 2, p. 88–92, 2021. <https://doi.org/10.47253/jtrss.v6i2.568>.

LEE, R. H. *et al.* Antitumorigenic effect of insect-derived peptide poecilocorisin-1 in human skin cancer cells through regulation of Sp1 transcription factor. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2021. DOI 10.1038/s41598-021-97581-0. Available at:

<https://doi.org/10.1038/s41598-021-97581-0>.

LEUNG, D. *et al.* Biodiesel from Zophobas morio larva oil: Process optimization and FAME characterization. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 2, p. 1036–1040, 2012. <https://doi.org/10.1021/ie201403r>.

LIN, M. H. *et al.* Hybrid ZnO/chitosan antimicrobial coatings with enhanced mechanical and bioactive properties for titanium implants. **Carbohydrate Polymers**, v. 257, p. 117639, 2021. DOI 10.1016/j.carbpol.2021.117639.

LIU, S. *et al.* Extraction and characterization of chitin from the beetle Holotrichia parallela motschulsky. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 4604–4611, 2012a. <https://doi.org/10.3390/molecules17044604>.

LIU, S. *et al.* Extraction and characterization of chitin from the beetle Holotrichia parallela motschulsky. **Molecules**, 2012b. <https://doi.org/10.3390/molecules17044604>.

LU, S. *et al.* Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae (Hermetia illucens L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review. **Insects**, v. 13, n. 9, p. 1–17, 2022. <https://doi.org/10.3390/insects13090831>.

LUCAS, A. J. da S. *et al.* Extraction, physicochemical characterization, and morphological properties of chitin and chitosan from cuticles of edible insects. **Food Chemistry**, v. 343, n. June 2020, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128550>.

LUO, Q. *et al.* Comparison of the physicochemical, rheological, and morphologic properties of chitosan from four insects. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 266–275, 2019. DOI 10.1016/j.carbpol.2019.01.030. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.030>.

MA, J.; XIN, C.; TAN, C. Preparation, physicochemical and pharmaceutical characterization of chitosan from *Catharsius molossus* residue. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 547–556, 2015. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.027.

MAHDY SAMAR, M. *et al.* Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 58, n. 1, p. 33–41, 2013. DOI 10.1016/j.aos.2013.01.006.

MANCINI, S. *et al.* Former foodstuff products in *Tenebrio molitor* rearing: Effects on growth, chemical composition, microbiological load, and antioxidant status. **Animals**, v. 9, n. 8, p. 1–13, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9080484>.

MAREI, N. H. *et al.* Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 871–877, Jan. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.024>.

MARKET, A. R. Chitosan Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Pharmaceutical, Water Treatment, Cosmetics, Biomedical, Food & Beverage), By Region, And Segment Forecasts, 2023 – 2030. Grand View Research (2023). <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/global-chitosan-market>.

MATICA, M. A. *et al.* Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 1–34, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>.

MEYER-ROCHOW, V. B. *et al.* Chemical composition, nutrient quality and acceptability of edible insects are affected by species, developmental stage, gender, diet, and processing method. **Foods**, v. 10, n. 5, 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10051036>.

MINAGAWA, T. *et al.* Effects of molecular weight and deacetylation degree of

chitin/chitosan on wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 4, p. 640–644, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.007>.

MITTAL, A. *et al.* Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shell chitosan and the conjugate with epigallocatechin gallate: Antioxidative and antimicrobial activities. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 1–16, 2021. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13569>.

MOEINI, A. *et al.* Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 233, p. 115839, 2020. DOI 10.1016/j.carbpol.2020.115839. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115839>.

MOHAN, K. *et al.* Extraction and characterization of chitin from sea snail *Conus inscriptus* (Reeve, 1843). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 555–560, 2019. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.241. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.241>.

MOHTAR, J. A.; YUSOF, F.; ALI, N. M. H. Screening of novel acidified solvents for maximal antimicrobial peptide extraction from *Zophobas morio fabricius*. **Advances in Environmental Biology**, v. 8, n. 3, p. 803–809, 2014. ISSN-1995-0756.

MOTELICA, L. *et al.* Innovative antimicrobial chitosan/zno/ag nps/citronella essential oil nanocomposite—potential coating for grapes. **Foods**, v. 9, n. 12, p. 1–26, 2020. <https://doi.org/10.3390/foods9121801>.

MULEY, A. B. *et al.* Extraction and characterization of chitosan from prawn shell waste and its conjugation with cutinase for enhanced thermo-stability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 1047–1058, 2018. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.115. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.115>.

MUSYAROH, M.; HIDAYAT, N. The Effect of Stirring Length Time and NaOH Concentration on the Neutralization Process of Superworm Cooking Oil Purification. **Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri**, v. 7, n. 2, p. 81–88, 2018. <https://doi.org/10.21776/ub.industria.2018.007.02.2>

NASRIN, R. *et al.* Preparation of Chitin-PLA laminated composite for implantable application. **Bioactive Materials**, v. 2, n. 4, p. 199–207, 2017. DOI 10.1016/j.bioactmat.2017.09.003.

NEMCOVÁ, Ivonne. Detection of cell wall structural polysaccharides by cellulase-gold and chitinase-gold complexes. Czech phycolgy Olomouc. v3, p. 31-36, 2003.

NUC, Z.; DOBRZYCKA-KRAHEL, A. From chitin to chitosan – A potential natural antimicrobial agent. **Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives**, v. 26, p. 23–40, 2021. <https://doi.org/10.15259/PCACD.26.003>.

OGHENESUVWE, E. E.; CHINWUBA, P. Edible Insects bio-actives as anti-oxidants: Current status and perspectives. **Journal of Complementary Medicine Research**, v. 10, n. 2, p. 1, 2019. <https://doi.org/10.5455/jcmr.20190130100319>.

OTTOBONI, M. *et al.* Inclusion of *Hermetia Illucens* larvae or prepupae in an experimental extruded feed: process optimisation and impact on in vitro digestibility. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 2, p. 418–427, 2018. DOI 10.1080/1828051X.2017.1372698. Available at: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1372698>.

PAULINO, A. T. *et al.* Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 1, p. 98–103, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.10.032>.

PEARLMUTTER, N L; LEMBI, C A. Localization of chitin in algal and fungal cell walls by light and electron microscopy. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 26, n. 10, p. 782–791, 5 Oct. 1978. <https://doi.org/10.1177/26.10.722047>.

PEREIRA, F. S. *et al.* Thermal studies of chitin–chitosan derivatives. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 114, p. 321–327, 2013. DOI 10.1007/s10973-012-2835-z.

PHILIBERT, T.; LEE, B. H.; FABIEN, N. Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 181, n. 4, p. 1314–1337, 2017. DOI 10.1007/s12010-016-2286-2. Available at:

<http://dx.doi.org/10.1007/s12010-016-2286-2>.

POERIO, A. *et al.* Extraction and physicochemical characterization of chitin from cicada orni sloughs of the south-eastern French mediterranean basin. **Molecules**, v. 25, n. 11, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25112543>.

RAVI, H. K. *et al.* Larvae mediated valorization of industrial, agriculture and food wastes: Biorefinery concept through bioconversion, processes, procedures, and products. **Processes**, v. 8, n. 7, 2020. <https://doi.org/10.3390/PR8070857>.

REHMAN, K. U. *et al.* Insect-Derived Chitin and Chitosan: A Still Unexploited Resource for the Edible Insect Sector. **Sustainability**, v. 15, n. 6, p. 4864, 2023. <https://doi.org/10.3390/su15064864>.

RHAZI, M. *et al.* Investigation of different natural sources of chitin: Influence of the source and deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan. **Polymer International**, v. 49, n. 4, p. 337–344, 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0126\(200004\)49:4<337::AID-PI375>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0126(200004)49:4<337::AID-PI375>3.0.CO;2-B).

ROBERTS, G. A. F. **Chitin Chemistry**. [S. l.: s. n.], 1992. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-020367-6.50009-x>.

ROBLES-FORT, A. *et al.* Dual antimicrobial and antiproliferative activity of tcpask peptide derived from a tribolium castaneum insect defensin. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 1–24, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020222>.

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 57, n. 5, p. 802–823, 2013. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>.

SÁENZ-MENDOZA, A.I. *et al.* Aparicio-Saguilán. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, p. 39–56, 2019.

SAENZ-MENDOZA, A. I. *et al.* Characterization of insect chitosan films from *Tenebrio molitor* and *Brachystola magna* and its comparison with commercial chitosan of different molecular weights. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 953–963, 2020. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.255.

SAGHEER, F. A. A. *et al.* Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 410–419, 2009. DOI 10.1016/j.carbpol.2009.01.032.

SANTOS, O. V. *et al.* Artisanal oil obtained from insects' larvae (*Speciomerus ruficornis*): fatty acids composition, physicochemical, nutritional and antioxidant properties for application in food. **European Food Research and Technology**, v. 247, n. 7, p. 1803–1813, 2021. DOI 10.1007/s00217-021-03752-8.

SEVENOU, O. *et al.* Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 1–3, p. 79–85, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(02\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(02)00067-3).

SHAFIQUE, L. *et al.* The feasibility of using yellow mealworms (*Tenebrio molitor*): Towards a sustainable aquafeed industry. **Animals**, v. 11, n. 3, p. 1–38, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11030811>.

SHIN, C. S.; KIM, Y.; SHIN, W. S.. Characterization of chitosan extracted from Mealworm Beetle (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*) and Rhinoceros Beetle (*Allomyrina dichotoma*) and their antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 72–77, 2019. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.242.

SILVA-WEISS, A. *et al.* Structural properties of films and rheology of film-forming solutions based on chitosan and chitosan-starch blend enriched with murta leaf extract. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 458–466, 2013. DOI 10.1016/j.foodhyd.2012.11.028.

SINGH, R.; SHITIZ, K.; SINGH, A. Chitin and chitosan: biopolymers for wound management. **International Wound Journal**, v. 14, n. 6, p. 1276–1289, 2017.

<https://doi.org/10.1111/iwj.12797>.

SIRAJUDHEEN, P. *et al.* Applications of chitin and chitosan based biomaterials for the adsorptive removal of textile dyes from water — A comprehensive review. **Carbohydrate Polymers**, v. 273, p. 118604, 2021. DOI 10.1016/j.carbpol.2021.118604.

SMIRNOVA, N. V. *et al.* Effect of chitin nanofibrils on biocompatibility and bioactivity of the chitosan-based composite film matrix intended for tissue engineering. **Materials**, v. 12, n. 11, 2019. <https://doi.org/10.3390/ma12111874>.

ARAÚJO, R R. S. *et al.* Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: Potential foods harvested in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 76, p. 22–26, 2019. DOI 10.1016/j.jfca.2018.11.005. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.005>.

SOON, C. Y. *et al.* Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 135–142, 2018. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138>.

SURENDRA, K. C. *et al.* Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming. **Renewable Energy**, v. 98, p. 197–202, 2016. DOI 10.1016/j.renene.2016.03.022.

TAKAGI, M. *et al.* Chitin-induced systemic disease resistance in rice requires both OsCERK1 and OsCEBiP and is mediated via perturbation of cell-wall biogenesis in leaves. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1–13, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1064628>.

TRIUNFO, M. *et al.* Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2022. DOI 10.1038/s41598-022-10423-5.

TRIUNFO, M. *et al.* Insect Chitin-Based Nanomaterials for Innovative Cosmetics and Cosmeceuticals. **Cosmetics**, v8, n.40, 2021. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020040>

TURCK, D. *et al.* Safety of frozen and dried formulations from whole yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. **EFSA Journal**, v. 19, n. 8, 2021. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6778>.

ULYSSÉA, M. A.; HANAZAKI, N.; LOPES, B. C.. Percepção e uso dos insetos pelos moradores da comunidade do Ribeirão da Ilha, Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 23, n. 3, p. 191–202, 2010.

VAN HUIS, A. Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: A review. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 6, n. 1, p. 27–44, 2020. <https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0017>.

WU, T. *et al.* Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3888–3894, 2005. <https://doi.org/10.1021/jf048202s>.

WU, T. *et al.* Chitin and chitosan-value-added products from mushroom waste. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 26, p. 7905–7910, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf0492565>.

YAN, D. *et al.* Antimicrobial properties of chitosan and chitosan derivatives in the treatment of enteric infections. **Molecules**, v. 26, n. 23, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26237136>.

YANAT, M.; COLIJN, I.; SCHROËN, K. Chitin Nanocrystals Provide Antioxidant Activity to Polylactic Acid Films. **Polymers**, vol. 14, no. 14, 2022. <https://doi.org/10.3390/polym14142965>.

YI, L. *et al.* Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3341–3348, 2013. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.05.115.

YOUNES, I. *et al.* Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 2032–2039, 2012. DOI 10.1016/j.procbio.2012.07.017. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2012.07.017>.

YU, H. *et al.* Effect of venom from the jellyfish *Nemopilema nomurai* on the silkworm *Bombyx mori* L. **Toxins**, v. 7, n. 10, p. 3876–3886, 2015.
<https://doi.org/10.3390/toxins7103876>.

ZAMANI, A. *et al.* Determination of Glucosamine and *N*-Acetyl Glucosamine in Fungal Cell Walls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8314–8318, 24 Sep. 2008. <https://doi.org/10.1021/jf801478j>.

ZELENCOVA, L. *et al.* Chitin extraction and chitosan production from Chilopoda (*Scolopendra cingulata*) with identification of physicochemical properties. **Polymer Science - Series A**, v. 57, n. 4, p. 437–444, 2015. <https://doi.org/10.1134/S0965545X15040161>.

ZHANG, Y. *et al.* Stabilizing oil-in-water emulsions with regenerated chitin nanofibers. **Food Chemistry**, vol. 183, p. 115–121, 2015. DOI 10.1016/j.foodchem.2015.03.030.

ZHANG, M. *et al.* Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 27, n. 1, p. 99–105, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(99\)00123-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00123-3).

ZHONG, W. *et al.* Oxidized Chitin Nanocrystals Greatly Strengthen the Stability of Resveratrol-Loaded Gliadin Nanoparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 42, 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c04174>.

ZIELIŃSKA, E.; PANKIEWICZ, U. Nutritional, Physiochemical, and Antioxidative Characteristics of Shortcake Biscuits Enriched with *Tenebrio molitor* Flour. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5629, 30 Nov. 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25235629>.

Capítulo II

*Insect residues as an alternative and promising source for the extraction of chitin
and chitosan*

Insect residues as an alternative and promising source for the extraction of chitin and chitosan

Sinara Silva Neves Machado ^a, Jania Betânia Alves da Silva ^{b,c}, Renata Quartieri Nascimento ^d, Paulo Vitor França Lemos ^d, Denílson de Jesus Assis ^{b,e}, Henrique Rodrigues Marcelino ^f, Ederlan de Souza Ferreira ^{a,f}, Lucas Guimarães Cardoso ^{c,e}, Juraci Duarte Pereira ^c, Jamille Santos Santana ^f, Maria Luiza Andrade da Silva ^g, Carolina Oliveira de Souza ^{a,d,f,*}

^a Graduate Program in Food Science, Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil

^b Center for Exact and Technological Sciences, Faculty of Mechanical Engineering, Federal University of Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, Brazil

^c Graduate Program in Chemical Engineering, Polytechnic School, Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil

^d Doctoral Program in Biotechnology – Northeast Biotechnology Network (RENORBIO), Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil

^e School of Exact and Technological Sciences, Salvador University, Salvador, BA, Brazil

^f College of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil

^g Chemistry Institute, Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil

Periódico submetido (1ª submissão):	<i>International Journal of Biological Macromolecules</i> , ISSN 0141-8130
Maior percentil (Scopus):	94%
Registro do artigo publicado:	https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127773