



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG  
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

A faint, stylized illustration in the background shows a shrimp on the left and a fish on the right, both contained within a circular frame. The shrimp is rendered in shades of orange and brown, while the fish is in shades of blue and grey. The frame is supported by several vertical posts, suggesting a circular enclosure or a similar structure.

**APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS DE MOLUSCOS E CRUSTÁCEOS  
E APRIMORAMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DO  
CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*) COM  
ULTRASSOM**

José Stênio Aragão Rebouças Júnior

**Rio Grande/RS**

**2021**

Universidade Federal de Rio Grande - FURG

Instituto de Oceanografia

**APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS DE MOLUSCOS E CRUSTÁCEOS  
E APRIMORAMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DO  
CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*) COM  
ULTRASSOM**

Aluno: José Stênio Aragão Rebouças Júnior

Orientador: Marcelo Borges Tesser

Co-orientadora: Juliana Machado Latorres

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande - FURG.

**Rio Grande/RS**

**2021**



Pós Graduação em  
**AQUICULTURA**  
Universidade Federal do Rio Grande - FURG

ATA 03/2021

DE DEFESA DA 198ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia vinte e três de fevereiro de dois mil e vinte e um, às quatorze horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, do **JOSÉ STÊNIO ARAGÃO REBOUÇAS JUNIOR**, orientado pelo Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser (orientador – IO/FURG), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Latorres (Co orientadora - FURG), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vilásia Martins (EQA/FURG) e o Prof. Dr. William Renzo (UFGD). Título da dissertação: **“Aproveitamento de subprodutos de moluscos e crustáceos e aprimoramento do método de extração enzimática do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) com ultrassom”**. Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser, que na qualidade de orientador, passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador em Exercício. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. O candidato **JOSÉ STÊNIO ARAGÃO REBOUÇAS JUNIOR** foi considerado **APROVADO**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

*Marcelo B. Tesser*

PROF. DR. MARCELO BORGES TESSER (ORIENTADOR – IO/FURG)

*Marcelo B. Tesser (por não comparecer)*

PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> JULIANA LATORRES (CO ORIENTADORA - FURG)

*Marcelo B. Tesser (por não comparecer)*

PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> VILÁSIA MARTINS (EQA/FURG)

*Marcelo B. Tesser (por não comparecer)*

PROF. DR. WILLIAM RENZO (UFGD)

*José Stênio Aragão Rebouças Junior*

JOSÉ STÊNIO ARAGÃO REBOUÇAS JUNIOR

*Ricardo Vieira Rodrigues*

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)

### Ficha Catalográfica

R292a    Rebouças Júnior, José Stênio Aragão.

Aproveitamento de subprodutos de moluscos e crustáceos e aprimoramento do método de extração enzimática do Camarão-Branco-do-Pacífico (*litopenaeus vannamei*) com ultrassom / José Stênio Aragão Rebouças Júnior. – 2021.

74 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2021.

Orientador: Dr. Marcelo Borges Tesser.

Coorientadora: Dra. Juliana Machado Latorres.

1. Hidrolisado 2. Resíduo 3. Sonificação 4. Carotenoides  
5. Antioxidante I. Tesser, Marcelo Borges II. Latorres, Juliana Machado III. Título.

CDU 639.4:565.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344.

## Sumário

DEDICATÓRIA.....	7
AGRADECIMENTOS .....	8
<b>RESUMO GERAL</b> .....	9
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	11
<b>OBJETIVOS</b> .....	12
<b>Objetivo geral:</b> .....	12
<b>Objetivos específicos:</b> .....	12
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	12
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	14
RESUMO .....	17
INTRODUÇÃO.....	18
PESCA E AQUICULTURA DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS.....	19
REUTILIZAÇÃO DOS SUBPRODUTOS .....	20
PROTEÍNA .....	20
CAROTENOIDES .....	23
QUITINA E SEUS DERIVADOS .....	25
ÁCIDOS GRAXOS.....	28
MINERAIS.....	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS E TENDÊNCIAS FUTURAS .....	32
REFERÊNCIAS .....	36
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	51
Resumo .....	53
MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
Preparo dos subprodutos.....	56
Obtenção do hidrolisado proteico.....	56
Determinação do Grau de hidrólise (GH).....	57
Teor de Carotenoides Totais.....	57
Sequestro do radical livre 2,2–difeníl–1–picrilhidrazil (DPPH) .....	58
Poder Redutor .....	58
Captura do radical 2,2´-azinobis (3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico ABTS <sup>+</sup> .....	59
Composição proximal.....	59
Análises Estatísticas .....	60

RESULTADOS .....	60
Determinação do Grau de hidrólise (GH).....	60
Teor de Carotenoides Totais.....	61
Poder Redutor.....	62
Atividade antioxidante DPPH .....	63
Atividade antioxidante ABTS <sup>+</sup> .....	64
Composição proximal.....	65
DISCUSSÃO .....	66
CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS .....	70

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todas pessoas que me apoiaram.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a minha Família que me deu todo apoio seja ele motivacional, emocional e financeiro para seguir esse trabalho tão longe de casa.

Agradeço à todos colegas de bancada, técnicos e professores do LTA (Laboratório de Tecnologia e Alimentos) que me acolheram, mesmo sendo de uma área distante. Aprendi muita coisas com vocês.

Ao Marcelo Tesser pela sua disponibilidade, bom-humor, atitude e esforços para a continuidade segura da pesquisa mesmo tempos de pandemia.

A Juliana Latorres por sua paciência ao ensinar e sempre esta aberta ao diálogo, além de dar suas orientações/correções.

Ao Carlos Prentice-Hernández (*in memoriam*), aquela pessoa sempre feliz cheia de novas ideias e soluções, que dava esperança para qualquer problema. Que o senhor esteja em paz.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da FURG e a todo o corpo docente e amigos.

Aos órgãos de fomento, CAPES, CNPq, FAPERGS e FINEP pela concessão da bolsa e pelos recursos concedidos que possibilitam a execução da ciência no Brasil. Principalmente a Escola de Química e Alimentos e a Estação Marinha de Aquicultura que forneceram toda a estrutura de equipamentos e profissionais para a realização desse trabalho.

Obrigado.



## RESUMO GERAL

Existe uma crescente demanda mundial por alimento, sendo a aquicultura uma excelente ferramenta para suprir a demanda de alimentos. Com isso a produção mundial aquícola cresce massivamente nos últimos anos. Porém, grande parte desta produção torna-se resíduo ao qual não tem uma adequada destinação. Sabendo que essa biomassa é uma excelente fonte de diversos compostos de interesse humano foi realizado dois estudos, que estão escritos em dois capítulos. O primeiro capítulo é uma revisão bibliográfica sobre os compostos de interesse presentes nos descartes da produção de moluscos e crustáceos oriundos da pesca e da aquicultura, como: proteínas, carotenoides, quitina e seus derivados, ácidos graxos e minerais. Posteriormente, são reportados estudos que buscam a obtenção e aplicação desses compostos, agregando assim valor comercial a essas biomassas que podem ser utilizadas na fabricação de fármacos no combate ao câncer, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, fabricação de estruturas para construção civil e biofilmes usados como curativos e embalagens, alimentos como ração e hidrolisados concentrados de proteína. O segundo capítulo versa a respeito da obtenção de hidrolisado proteico utilizando como matéria prima o exoesqueleto e o cefalotórax do camarão-branco-do-Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) com utilização do ultrassom. Para a extração da proteína foi realizada uma hidrólise utilizando a enzima Alcalase 2.4L utilizando 2 % (Enzima/Substrato) de proteína, 1:1 (peso:volume), pH 8,0, temperatura de 55 °C, durante uma hora e auxiliado previamente com tratamento de ultrassom para obtenção de hidrolisado proteico. O experimento contou com quatro tratamentos onde foram aplicados tratamentos crescentes de ultrassonificação (1 W/mL) em intervalos de tempo variados (5, 10, 15 minutos e um controle). As análises realizadas no hidrolisado obtido foram o poder redutor, DPPH e ABTS. O hidrolisado obtido apresentou  $69,09 \pm 4,2$  % de proteína,  $12,7 \pm 2,25$  % de lipídios,  $11,91 \pm 4,2$ % de carboidratos e  $39,32 \pm 3,00$  µg/g de teor de carotenoides totais. O tratamento ultrassônico conseguiu acelerar a curva cinética da hidrólise proteica, assim como alterar o grau de hidrólise de  $9,55 \pm 0,7$  para  $12,18 \pm 0,7$  %. Foi possível concentrar de três ( $160,17 \pm 6,27$  µg/g) a cinco vezes mais ( $393,29 \pm 3,00$  µg/g) o teor de carotenoides totais comparadas a quantidade presente no resíduo ( $64,38 \pm 2,41$  µg/g). O estudo comprova positivamente o efeito do tratamento ultrassônico antes das hidrólises proteicas de resíduos de camarão..

**Palavras-chave:** hidrolisado; resíduo; sonificação, carotenoides, antioxidante.

## Abstract

There is a growing worldwide demand for food, with aquaculture being an excellent tool to meet the demand for food. As a result, world aquaculture production has grown massively in recent years. However, a large part of this production becomes waste to which it does not have an adequate destination. Knowing that this biomass is an excellent source of several compounds of human interest, two studies were carried out, which are written in two chapters. The first chapter is a literature review on the compounds of interest present in the production of mollusks and crustaceans from fisheries and aquaculture, such as: proteins, carotenoids, chitin and their derivatives, fatty acids and minerals. Subsequently, studies are reported that seek to obtain and apply these compounds, thus adding commercial value to these biomasses that can be used in the manufacture of drugs to fight cancer, neurodegenerative and cardiovascular diseases, manufacture of structures for civil construction and biofilms used as dressings, packaging, foods such as feed and concentrated protein hydrolysates. The second chapter deals with obtaining protein hydrolyzate using the exoskeleton and cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as raw material and using ultrasound. For the extraction of the protein, a hydrolysis was carried out using the enzyme Alcalase 2.4L using 2% (Enzyme / Substrate) of protein, 1: 1 (weight: volume), pH 8.0, temperature of 55 °C, for one hour and aided previously with ultrasound treatment to obtain protein hydrolysate. The experiment had four treatments in which increasing ultrasound treatments (1 W / mL) were applied at different time intervals (5, 10, 15 minutes and one control). The analyzes performed on the obtained hydrolysate were the reducing power, DPPH and ABTS. The hydrolysate obtained showed  $69.09 \pm 4.2\%$  protein,  $12.7 \pm 2.25\%$  lipids,  $11.91 \pm 4.2\%$  carbohydrates and  $39.32 \pm 3.00 \mu\text{g} / \text{g}$  content total carotenoids. Ultrasonic treatment was able to accelerate the kinetic curve of protein hydrolysis, as well as change the degree of hydrolysis from  $9.55 \pm 0.7$  to  $12.18 \pm 0.7\%$ . It was possible to concentrate from three ( $160.17 \pm 6.27 \mu\text{g} / \text{g}$ ) to five times more ( $393.29 \pm 3.00 \mu\text{g} / \text{g}$ ) the total carotenoid content compared to the amount present in the residue ( $64.38 \pm 2, 41 \mu\text{g} / \text{g}$ ). The study positively proves the effect of ultrasonic treatment before protein hydrolysis of shrimp residues.

**Key Words:** waste; byproducts recovery; shellfish; hydrolysates; enzymatic hydrolysate; carotenoids; antioxidant.

## INTRODUÇÃO GERAL

Grandes quantidades de resíduos de pescado são produzidas em unidades de beneficiamento, pesca e comercialização. Dependendo do tipo de transformação, o resíduo gerado no processamento do pescado representa geralmente a metade do peso inicial do produto (Illera-Vives et al., 2015). O descarte inapropriado de resíduos tem sido visto pela sociedade como algo negativo (Stockhausen et al., 2012), pois quando os resíduos são descartados de forma irregular contribuem com impactos ambientais. O problema pode ser ainda maior do que é relatado devido a pesca ser oriunda de uma atividade informal e mal planejada (Fanimó et al., 2000).

Existe uma grande demanda da aquicultura por proteínas de boa qualidade para a produção de rações, sendo a mais utilizada é a farinha de pescado. No entanto, a indústria de ração tende a encontrar alternativas quanto às suas fontes de proteína. Isso está relacionada à qualidade duvidosa e a variação no volume de captura de pescado, que pode gerar redução na sua oferta e custo elevado do produto (Faria et al., 2001). Diversos produtos têm sido utilizados com o propósito de incluir diferentes fontes de proteína em rações aquícolas e isso inclui subprodutos de pescado (Alam et al., 2005). Em geral, estes subprodutos em sua maioria são destinados a produzir rações para animais (Saranya et al. 2016).

É possível usar esses subprodutos do processamento para extrair diferentes compostos além da proteína, utilizando diferentes técnicas de recuperação, como por exemplo, a hidrólise enzimática. Dentre estes compostos, podem ser citados a quitosana, lipídeos, minerais, carotenoides e carotenoproteína (Holanda, 2006; Özoğul, 2000; Sachindra, 2005; Sachindra 2006). Este trabalho está dividido em dois capítulos. Sendo o primeiro capítulo uma revisão bibliográfica sobre o potencial industrial, alimentício e farmacológico que esses compostos extraídos dos subprodutos do processamento pesqueiro possuem. O segundo capítulo irá aperfeiçoar uma dessas técnicas de recuperação para a obtenção de hidrolisados proteicos, utilizando enzimas e tratamento ultrassônico.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral:**

Estudar subprodutos do resíduo do camarão-branco-do-Pacífico (*Litopenaeus vannamei*).

### **Objetivos específicos:**

1. Descrever sobre os subprodutos de interesse no descarte de pescados;
2. Citar formas de extração desses subprodutos;
3. Apresentar a aplicabilidades desses subprodutos;
4. Obter hidrolisados proteicos com auxílio de enzimas proteolíticas e ultrassom;
5. Determinar o grau de hidrólise, teor total de carotenoides e o potencial antioxidante do hidrolisado obtido.

## **REFERÊNCIAS**

- Alam, M.S.; Teshima, S.; Koshio, S.; Ishikawa, M., Hernandez, L.H.H.; Uyan, O.; Michael, F.R. (2005) Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, v. 248, p. 13-19, 2005.
- Centenaro, G. S.; Prentice-Hernández, C. E.; Salas-Mellado, M. (2009) Efeito da concentração de enzima e de substrato no grau de hidrólise e nas propriedades funcionais de hidrolisados protéicos de corvina (*Micropogonias furnieri*). *Quim. Nova*, v. 32 (7), p. 1792- 1798, 2009.
- Faria, A.C.E.A.; Hayashi, C.; Galdioli, E.M.; Soares, C.M. (2001) Farinha de peixe em rações para alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), linhagem tailandesa. *Acta Scientiarum*, v. 23, (4), p. 903-908, 2001.

- Holanda, H.D.; Netto F.M. (2006). Recovery of Components from Shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) Processing Waste by Enzymatic Hydrolysis. , 71(5), 0–0. doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00040.x
- Illera-Vives M., Seoane LS, Brito L.M., López-Fabal A. & López-Mosquera M.E. (2015) .Evaluation of compost from seaweed and fish waste as a fertilizer for horticultural use. SciHortic. 186:101–107. doi:10.1016/j.scienta.2015.02.008.
- Özoğul Y. (2000). The Possibility of Using Crustacean Waste Products (CWP) on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Feeding. Turkish Journal of Biology, v. 24, n. 4, p. 845–854.
- Saranya R., Prasanna R., Jayapriya J, Aravindhana R. & Tamil Selvi A. (2016). Value addition of fish waste in the leather industry for de hairing. J Clean Prod 118:179–186
- Sachindra N.M., Bhaskar N., Mahendrakar N.S. (2005). Carotenoids in crabs from marine and fresh waters of India. LWT - Food Science and Technology, v. 38, n. 3, p. 221–225.
- Stockhausen B., Officer R.A. & Scott R. (2012). Discard mitigation – what we can learn from waste minimization practices in other natural resources? Mar. Policy 36, 90–95.
- Sachindra, N.M., Bhaskar N. & Mahendrakar N.S. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. (2006). Waste Management, v. 26, n. 10, p. 1092–1098.
- Suleria, H. A. R. *et al.* (2016) ‘Marine bioactive compounds and health promoting perspectives; innovation pathways for drug discovery’, Trends in Food Science and Technology. Elsevier Ltd, 50, pp. 44–55. doi: 10.1016/j.tifs.2016.01.019.
- Ghorbel-Bellaaj O., Jellouli K., Maalej H. (2017). Shrimp processing by-products protein hydrolysates: Evaluation of antioxidant activity and application in biomass and proteases production. Biocatal Biotransformation [Internet]. 2017;35(4):287–97. Available from: <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1334766>

## CAPÍTULO 1

### AQUACULTURE AND FISHERING INDUSTRIAL WASTE REUSE

Autores: José Stênio Aragão Rebouças Júnior, Fernando Pablo Silva Oliveira, Alan Carvalho de Sousa Araujo, Helena Leão Gouveia, Juliana Machado Latorres, Vilásia Guimarães Martins, Carlos Prentice-Hernández (*in memoriam*), Marcelo Borges Tesser.

Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Instituto de Oceanografia  
Universidade Federal do Rio Grande (PPGAq-IO-FURG)  
Rua do Hotel, nº2, Cassino, Rio Grande, RS, Brasil. CEP: 96210-030

Artigo submetido para a revista *Critical Reviews in Biotechnology*,  
em anexo:



## AQUACULTURE AND FISHERING INDUSTRIAL WASTE REUSE

Journal:	<i>Critical Reviews in Biotechnology</i>
Manuscript ID	BBTN-2020-0334
Manuscript Type:	Review Article
Date Submitted by the Author:	26-Oct-2020
Complete List of Authors:	Rebouças , José Stenio; FURG Oliveira, Fernando Pablo; FURG Araujo, Alan; FURG Gouveia, Helena; FURG Latorres, Juliana; FURG Martins, Vilásia; FURG Prentice, Carlos; FURG Tesser, Marcelo; FURG
Keywords:	crustacean, mollusca, quitin, chitosan, proteins, carotenoids, minerals, amino acids, fatty acids

## **APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS DA AQUICULTURA E PESCA**

José Stênio Aragão Rebouças Júnior<sup>1,2\*</sup>, Fernando Pablo Silva Oliveira<sup>1</sup>, Alan Carvalho de Sousa Araujo<sup>1,2</sup>, Helena Leão Gouveia<sup>2</sup>, Juliana Machado Latorres<sup>2</sup>, Vilásia Guimarães Martins<sup>2</sup>, Carlos Prentice-Hernández<sup>1,2</sup>, Marcelo Borges Tesser<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Estação Marinha de Aquicultura, Instituto Oceanográfico, Universidade Federal do Rio Grande, P.O. Box 474, Rio Grande, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, P.O. Box 474, RS, Brasil.

José Stênio Aragão Rebouças Júnior; ze.stenio2@gmail.com\*; <https://orcid.org/0000-0002-1991-5097>

Fernando Pablo Silva Oliveira; pablo2fp@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2011-8164>

Alan Carvalho de Sousa Araujo; alandesousa02@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-7362-9681>

Helena Leão Gouveia; gouveia.helena@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3142-2129>

Juliana Machado Latorres; julatorres@yahoo.com.br; <https://orcid.org/0000-0001-8997-7771>

Vilásia Guimarães Martins; vilasiamartins@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1374-8053>

Carlos Prentice-Hernández; carlos.prentice@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4679-3870>

Marcelo Borges Tesser; mbtesser@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4818-9829>

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) do Brasil e à Coordenação Brasileira de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) [Código Financeiro 001].

## **CONFLITOS DE INTERESSE**

Os autores declaram que não há conflitos de interesse de estudo.



---

**RESUMO**

---

A produção mundial de organismos aquáticos tem crescido constantemente nas últimas décadas. Esse incremento na produção resulta em elevados volumes de subprodutos e resíduos, que geralmente são considerados de baixo valor comercial e conseqüentemente são descartados em aterros ou no próprio mar, provocando sérios problemas ambientais. Esses rejeitos geralmente subvalorizados apresentam em sua composição uma importante fonte de compostos bioativos, como os aminoácidos, carotenoides, quitina e derivados, ácidos graxos e minerais. Esses compostos são capazes de ofertar inúmeros benefícios devido às suas propriedades bioativas. Atualmente, grande parte dos resíduos aquícolas que são aproveitados são destinados a indústria de ração. Porém, a aplicabilidade desses compostos pode ser oportuna em vários outros setores. Essa revisão descreve estudos que buscam a obtenção e aplicação de compostos bioativos de resíduos de diferentes fontes aquícolas, agregando assim valor comercial a essas biomassas subutilizadas.

**Palavras Chave:** Crustáceos, moluscos, quitina, quitosana, proteína, carotenoides, minerais, aminoácidos, aplicação, ácidos graxos.

---

**Abstract**

---

The global production of aquatic organisms has grown steadily in recent decades. This increase in production results in high volumes of by-products and waste, generally considered to be of low commercial value and are consequently discarded in landfills or in the sea, causing serious environmental problems. This generally undervalued waste presents an important source of bioactive compounds in its composition, such as amino acids, carotenoids, chitin and derivatives, fatty acids and minerals. These compounds are capable of offering numerous benefits due to their bioactive properties. Currently, a large part of the reused aquaculture waste is destined to the feed industry. However, the applicability of these compounds may be opportune in several other sectors. This review describes studies that seek to obtain and apply bioactive compounds from different sources of aquaculture waste, thus adding commercial value to these underutilized biomasses.

**Keywords:** Crustacean, mollusca, quitin, chitosan, proteins, carotenoids, minerals, amino acid, applications, fatty acids.

---

## INTRODUÇÃO

A escassez de recursos ambientais tem preocupado diversos países, despertando uma maior atenção da população para o reuso, reaproveitamento e reciclagem dos produtos em geral (Regina et al., 2016). Nesse sentido, diferentes pesquisas buscam desenvolver e refinar tecnologias capazes de resgatar compostos bioativos de interesse humano encontrados em resíduos e torná-los úteis novamente (Gustavsson et al., 2013).

A biomassa de crustáceos e moluscos oriundos tanto da pesca quanto da aquicultura é considerada como geradora de grandes volumes de resíduos, porém é pouco explorada quando comparada com a biomassa terrestre (Meivelu Moovendhan et al., 2019). Estudos apontam que a aquicultura e a pesca de crustáceos atingiram uma produção de 9,3 e 6,3 milhões de toneladas, respectivamente. Já para a produção de moluscos foram registrados índices na ordem de 16,9 e 6,0 milhões, respectivamente (Food and Agriculture Organization, 2020b, 2020a). Dependendo do tipo de processamento da espécie, grande parte dessa produção é descartada. O desperdício de organismos aquáticos representa de 20 até 70% da produção total, gerando assim um elevado volume de resíduos (Rinaudo, 2006).

Essa biomassa considerada como resíduo geralmente pode ser destinada a outros propósitos, devido ao grande potencial de compostos ativos presentes na sua composição (El Knidri et al., 2018; Sindhu and Sherief, 2011). No entanto, devido a falta de meios e tecnologia adequada para o tratamento dos resíduos pesqueiros, acaba gerando problemas sanitários e ambientais. O descarte inapropriado de material biológico de alta degradabilidade tem efeitos negativos no meio ambiente quando mal destinados, uma vez que são considerados excelentes substratos para a proliferação microbiana, sendo uma das maiores causas de poluição das bacias hidrológicas (N. Yan & Chen, 2015).

Os resíduos gerados pelo processamento de organismos aquáticos apresentam uma fonte inesgotável de compostos bioativos de interesse humano capazes de promover inúmeros benefícios para a população quando recuperados (Sowmya et al., 2011). O volume gerado de resíduos a partir de crustáceos e moluscos representa importante fonte de aminoácidos essenciais (Sowmya et al., 2011), quitina e seus derivados (Abdelmalek et al., 2017; Suryawanshi et al., 2019), ácidos graxos (Zhao et al., 2011), minerais como carbonato de cálcio (Suryawanshi et al., 2019) e carotenoides

como a astaxantina que o quilo pode alcançar valores acima de 7000 US \$ (Routray et al., 2019).

A composição dessa biomassa pode atingir concentrações de 30 a 40% de proteína, 30 a 50% de minerais, 15 a 40% de quitina e 10 a 60% de ácidos graxos, essas concentrações podem variar de acordo com a espécie e o tipo de tecido analisado (Mao et al., 2017). Além disso, ainda é possível encontrar consideráveis índices de compostos bioativos como ácidos graxos poli-insaturados, colágeno (Suleria et al., 2016), vitaminas e minerais (Meivelu Moovendhan et al., 2019).

Proteínas, quitina, minerais, carotenoides e ácidos graxos são obtidos por meio de processos tecnológicos e possuem propriedades funcionais. Estudos com biorrefinaria integrada vêm ganhando destaque, essas são capazes de destinar os compostos de interesse de cada resíduo em um fluxo reutilizável dentro do sistema de produção (Regina et al., 2016; Suleria et al., 2016). Entre os processos de recuperação mais utilizados estão uso de reagentes químicos como ácidos ou enzimas específicas produzidas por bactérias fermentadoras ou do trato digestivo animal (Dun et al., 2019; Guo et al., 2019). Esses compostos após serem recuperados podem ser reaplicados como fertilizantes (Hua et al., 2015; N. Yan & Chen, 2015), ração (Nunes et al., 2019), fármacos (Narayanasamy et al., 2020; Sah et al., 2019), nutracêuticos (L. Zhang & Wang, 2015), terapias (Li et al., 2020), nutricosméticos (Tang et al., 2020), ração animal (Nunes et al., 2019), fertilizantes (Hua et al., 2015), engenharia têxtil e em vários outros setores industriais (Andonegi et al., 2020; Merz, 2019; Sah et al., 2019). A presente revisão tem como objetivo fornecer informações sobre quais compostos bioativos podem ser obtidos a partir de resíduos agroindustriais aquícolas e seu potencial de aplicação.

## **PESCA E AQUICULTURA DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS**

Estima-se que em 2020 a produção global de pescado atinja 178 milhões de toneladas. Crustácea, subfilo que engloba camarões, lagostas e caranguejos, e Mollusca, filo que engloba lula, ostras e polvo, estão entre as espécies de maiores valores comerciais dentro da pesca e da aquicultura (FAO, 2020b). A produção de crustáceos e moluscos no mundo em 2020 pode ultrapassar 15 milhões de toneladas e 20 milhões de toneladas, respectivamente. No Brasil, a produção de crustáceos oriundos da pesca e

aquicultura foi mais de 100 mil toneladas em 2018, enquanto a produção de moluscos foi de 25 mil toneladas (FAO, 2020a).

Na industrialização de crustáceos e moluscos, a remoção de exoesqueleto, apêndices e cefalotórax geram resíduos sólidos e de difícil degradação (Regina et al., 2016). Os resíduos gerados do processamento de camarões e lagostas descascados e descabeçados representam de 20 até 70% do peso vivo de cada animal utilizado (Bessa-Junior & Gonçalves, 2013). A fração comestível das lulas é de aproximadamente 60 a 80%, que compõem os tentáculos, manto e barbatanas. Entre as vísceras da lula, o fígado representa cerca de 12% dessa biomassa, mas geralmente é descartado durante seu processamento apesar de ser comestível (Meivelu Moovendhan et al., 2019). Quando falamos em rendimento para mexilhões e ostras, os valores são ainda menores podendo atingir apenas 10% de seu peso. Segundo Ogawa et al. (2008) o rendimento máximo do caranguejo apresentou 28%, sendo assim gerados 72% do peso vivo como resíduo.

A indústria de crustáceos marinhos gera as maiores quantidades de resíduo contendo carapaça (6 a 9 milhões de toneladas/ano produzidas globalmente), especialmente quando se refere aos exoesqueletos de crustáceos, como: camarões, caranguejos e lagostas (Lambertus et al., 2020). Assim como grandes indústrias, a indústria pesqueira acumula resíduos em suas produções. Sendo esses mesmos resíduos avaliados com um valor de 100 até 120 US \$ por tonelada sendo o custo de descarte chegando a 150 US \$ para qualquer espécie (Yan & Chen, 2015).

## **REUTILIZAÇÃO DOS SUBPRODUTOS**

### **PROTEÍNA**

As proteínas são as biomoléculas mais abundantes nos seres vivos e apresentam importantes funções fisiológicas na nutrição animal (Abreu et al., 2019). Diferentes estudos buscam a obtenção de proteínas a partir de subprodutos de organismos aquáticos, uma vez que esses subprodutos compreendem aproximadamente entre 45 a 60% do peso de crustáceos para camarões (Mao et al., 2017; Sila et al., 2014), 72% para caranguejos e até 20% para moluscos como lulas, podendo variar dependendo da espécie e do tipo de processamento (Lambertus et al., 2020). Nessa biomassa, ainda é

possível encontrar uma concentração aproximada de 56,8% de aminoácidos essenciais (Mao et al., 2017). Os teores de proteína de resíduos encontrados em espécies mais utilizados na indústria de pescado estão apresentados na Tabela 1.

Existem diversas formas de recuperar a fração proteica do resíduo, sendo a mais comum o método químico que separa a proteína do substrato através do ponto isoelétrico (Suleria et al., 2016). Em um estudo concentrou-se proteínas a partir de resíduos de crustáceos através do processo de solubilização isoelétrica em pH 4 e foi possível obter 73,1% de proteína e boas propriedades funcionais, como solubilidade, capacidade emulsificante e de retenção de óleos, que favorecem a indústria de alimentos. O autor reportou que o concentrado apresentou propriedades funcionais como solubilidade de 2,5mL/g, capacidade de retenção de óleo 8,5 mL/g de proteína e emulsificação de 0 até 20%, entre o pH 3 e 8 (Abreu et al., 2019). Dezesesseis aminoácidos foram encontrados nesses resíduos (Guo et al., 2019). Vários aminoácidos essenciais, como: Fenilalanina, Histidina, Leucina, Lisina, Metionina, Treonina, Isoleucina e Valina foram encontradas em todos resíduos analisados por diferentes autores (Abreu et al., 2019; Djellouli et al., 2020; Guo et al., 2019).

Entretanto, a desvantagem do método químico é a grande quantidade de resíduos químicos produzidos que são potencialmente prejudiciais ao meio ambiente (Suleria et al., 2016). Vários autores reportaram os métodos biotecnológicos como mais eficientes, econômicos e ambientalmente aceitáveis, pois preservam a integridade física e funcional dos compostos de interesse, pois não utilizam reagentes químicos nem produzem resíduos químicos (Abreu et al., 2019; Djellouli et al., 2020; Ghorbel-Bellaaj et al., 2017; Gortari & Hours, 2013; Mao et al., 2017; Mao, Liu, et al., 2013; Mao, Zhang, et al., 2013; Senphan et al., 2014; Sun & Mao, 2016).

Existem três métodos biotecnológicos em destaque. O fermentativo utilizando bactérias fermentativas como *Serratia marcescens* e *Bacillus sp.* (Bastiaens et al., 2019; Djellouli et al., 2020; Dun et al., 2019). No processo enzimático é frequentemente utilizada enzimas como Flavourzyme, Protamex e principalmente a Alcalase (Dun et al., 2019; Ghorbel-Bellaaj et al., 2017; Idowu et al., 2020), enquanto o processo autolítico utiliza enzimas endógenas do organismo (Sowmya et al., 2011). As enzimas além de separar a proteína e peptídeos, também podem hidrolisa-las na forma de aminoácidos livres, tornando-as mais acessíveis, dependendo do grau de hidrólise (Mao et al., 2017).

Em outro estudo foi avaliado a combinação do método de autólise com fermentação usando *Bacillus licheniformis* para desproteinização e obtenção de quitina

e proteína de subprodutos do camarão. Esse mesmo estudo comparou os métodos químico e biotecnológico. No método químico seria usado 2,7 kg de NaOH, 4 L de HCL, 850 L de água e temperatura de 70°C durante 12 h de reação, enquanto que o processo biotecnológico seria usado apenas 240 L de água em 50°C durante 16 h (Guo et al., 2019). Alguns autores afirmam que para obter melhores rendimentos é necessário realizar a remoção dos minerais antecipadamente (Hamdi et al., 2020; Suleria et al., 2016).

O conteúdo dos concentrados proteicos, seja obtido por método químico ou biotecnológico, são carotenoproteínas, aminoácidos livres e peptídeos hidrolisados (Idowu et al., 2020). Estudos observaram que peptídeos filtrados dos resíduos de caranguejos apresentaram atividade máxima de 92,36% e 11,19% de desnaturação de albumina e estabilização de membrana, respectivamente. Os peptídeos foram capazes de inibir a expressão pro-inflamatória de substâncias como a enzima ciclooxigenase COX-2, sendo esse efeito diretamente proporcional à suas concentrações (Narayanasamy et al., 2020). Peptídeos apresentaram atividades antioxidantes segundo os ensaios por captura de radicais livres ABTS e sugeriram que diferentes moléculas com diferentes mecanismos antioxidantes foram formadas (Djellouli et al., 2020).

Em outros estudos com análises de atividade antioxidante e antimicrobiana os isolados proteicos extraídos de resíduos de camarão, formaram halos de inibição maiores que  $8,0 \pm 0,5$  mm de diâmetro contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* (Younes et al., 2012) e quando adicionadas de glucosamina formaram halos de inibição para mais outras quatro espécies: *Lactobacillus helveticus*, *Listeria innocua*, *Citrobacter freundii* e *Pseudomonas fluorescens* (Ghorbel-Bellaaj et al., 2017). Os efeitos antimicrobianos não foram esclarecidos, mas provavelmente exerceram diferentes mecanismos inibitórios (Djellouli et al., 2020).

As proteínas de fontes marinhas também são usadas como gelatinas em produtos alimentícios devido à capacidade de formação de espuma e gel. Essa gelatina é formada durante a hidrólise parcial do colágeno e pode ser usada na indústria de alimentos devido a melhoria da textura, capacidade de retenção de água e estabilidade de produtos alimentares (Abreu et al., 2019). Outras alternativas para a recuperação e utilização de proteínas, peptídeos e aminoácidos provenientes de resíduos aquícolas poderiam ser acrescentadas à alimentação humana como suplemento, nutracêuticos (Sun & Mao, 2016), fármacos (Narayanasamy et al., 2020), podendo tratar, diabetes, hipertensão,

câncer, doenças inflamatórias e neurodegenerativas (Idowu et al., 2020). Entretanto, esses resíduos de moluscos e crustáceos em sua maior parte são destinados para indústria de ração animal devido à praticidade e pela alta demanda de ingredientes com alto teor proteico e alta digestibilidade (Leal et al., 2010; Nunes et al., 2019).

## **CAROTENOIDES**

A palavra carotenoide expressa uma família variada de pigmentos naturais, como vermelho, amarelo e laranja. São hidrocarbonetos com alternância de ligações simples e duplas que dão a essas moléculas propriedades de absorver radiação entre 400 e 500 nm e serem bastante reativas. São amplamente distribuídos na natureza e sintetizados por plantas, fungos e bactérias, principalmente em seus cloroplastos (Britton et al., 2012). Os demais animais, inclusive os crustáceos e moluscos, adquirem tal composto pela dieta (Sachindra et al., 2005). Em geral, o teor de carotenoides presente nos tecidos de diferentes espécies de crustáceos atinge valores de 50 µg/g, sendo que as distribuições dos tipos de carotenoides e as concentrações dos mesmos pelos tecidos variam com a espécie e o estágio de vida do animal (Rehman et al., 2020; N. M. Sachindra et al., 2005).

Os carotenoides nem sempre estão como moléculas livres, grande parte se encontra ligados covalentemente a proteínas ou mono ou diésteres ligados a ácidos graxos (Armenta & Isabbl, 2009). Por serem moléculas lipofílicas, geralmente os carotenoides são extraídos utilizando solventes orgânicos como éter de petróleo e metanol e principalmente acetona para métodos analíticos (Hou et al., 2016). Já para extrações seguras são utilizados outros solventes orgânicos, como óleos vegetais e álcool, além disso, existem métodos que utilizam gás carbônico e ultrassom (Routray et al., 2019). Carotenoides também são obtidos no processo de desproteíntização em sua forma complexada com a proteína, quando isso acontece a mesma é chamada de carotenoproteína (Armenta & Isabbl, 2009). Os métodos mais comuns de se obter carotenoproteína são por meio de fermentação e enzimas proteolíticas (Guo et al., 2019). Maiores quantidades de carotenoides são extraídas da matéria-prima quando a mesma não é desproteínada, isso acontece, pois, parte dos carotenoides estão ligados com as proteínas e parte desses carotenoides é extraída junto às proteínas (Routray et al., 2019). Autores reportam que a carotenoproteína conserva os demais compostos devido a sua potencial reatividade e potencial antioxidante, sendo assim também as

primeiras moléculas a se degradarem ao reagir com radicais livres (Jothy et al., 2019; Rehman et al., 2020; Sindhua & Sherief, 2011).

As concentrações de carotenoides são maiores nos resíduos quando comparada a própria carne comercializada, isso acontece porque há um grande armazenamento de pigmentos nos olhos e cromatóforos (Jothy et al., 2019; Sindhua & Sherief, 2011). Em resíduo de camarões, os carotenoides são encontrados em concentrações de aproximadamente 153µg/g e 104,7µg/g na cabeça e carapaça, respectivamente (Sachindra et al., 2005). O teor total de carotenoide varia de acordo com a espécie, tecidos e a forma de extração. Alguns estudos sobre concentração de carotenoides estão apresentados na Tabela 1. Apesar da astaxantina ser o carotenoide principal de organismos marinhos e representar cerca de 70% ou mais da composição total de carotenoides, também existem outros tipos, como: B-caroteno, echinenona, cantaxantina, luteína, zeaxantina, etc (Rehman et al., 2020). Cada tipo de carotenoide pode ser encontrado em forma diferente devido a diferentes possibilidades de esterificações. As suas diversas formas esterificadas ampliam a complexibilidade, interações e compatibilidade com diferentes comprimentos de onda, radicais livres, propriedades bioativas, molécula ou membranas (Britton et al., 2012; Rehman et al., 2020).

Os carotenoides são importantes complementos dietéticos para a formação da pigmentação dos animais (Jothy et al., 2019). Quando o animal é submetido a uma dieta rica em carotenoides pode-se alterar a coloração da carne e da pele, sendo isso possível em apenas 28 dias com apenas 0,1% de inclusão dietética usando astaxantina, cantaxantina ou luteína (Meiliszka et al., 2017). Essa coloração tem importância para o aceite do produto pelo mercado, sendo a astaxantina a mais utilizada no cultivo de salmão e espécies ornamentais (Ignatz et al., 2020). Atuam como antioxidantes quando administrada em concentrações como 80 ou 150 mg/kg no bagre *Pelteobagrus fulvidraco* (Liu et al., 2016). Estudos recentes indicam que a astaxantina, o carotenoide de maior destaque, apresenta 100-500 vezes maior que o potencial antioxidante da Vitamina E e 6000 vezes maior que a Vitamina C testadas *in vivo* (Kowsalya et al., 2019). Além de ser precursor para síntese de vitamina A (Lopes et al., 2018), assim como o B-caroteno, ambos são utilizados nas indústrias de alimentos, nutricosméticos e farmacêuticas (Fu et al., 2019). Os carotenoides apresentam propriedades anti-inflamatórias (Naguib, 2000), além de propriedades contra doenças cardiovasculares



(Harari et al., 2020). Foi observado que doses administradas em concentrações similares de astaxantina extraída da carapaça de camarão obtiveram efeitos melhores do que astaxantina das demais fontes, em testes contra doenças degenerativas e estresse oxidativo neurológico, inclusive melhorando a memória e aprendizado em modelos animais (Taksima et al., 2019). A astaxantina tem efeito sobre inflamação e a inibição da fibrogênese (Ni et al., 2015). Também possui efeitos sobre a proliferação, invasão, migração do carcinoma, diminuindo metástase (Rehman et al., 2020), além de induzir a apoptose de células cancerígenas *in vitro* (Suganya & Anuradha, 2019), *in vivo* (Roy et al., 2017) e *in situ* (Shao, et al., 2016). A astaxantina é uma poderosa ferramenta terapêutica no combate do câncer (L. Zhang & Wang, 2015), esta também apresenta eficiência nos tratamentos de câncer bucal, mama, bexiga carcinogênese, leucemia, carcinoma de pulmão, colorretal, hepatocelular e vários outros (Suleria et al., 2016). Por isso a astaxantina tem ganhado muito destaque nos últimos anos, principalmente sobre autofagia e angiogênese que ainda não foram bem explicadas (L. Zhang & Wang, 2015).

Somente o comércio de carotenoides sintéticos e naturais para suplementação dietética na aquicultura foi estimado em US\$447 milhões em 2014. O carotenoide natural mais facilmente extraído de crustáceos é a astaxantina, por isso é o mais utilizado pela indústria, podendo alcançar valores aproximados de 7.000 US\$/kg (Routray et al., 2019).

## **QUITINA E SEUS DERIVADOS**

A quitina é um material biodegradável com propriedades bioativas e não tóxica. Denominada poli ( $\beta$ -(1-4)-N-acetil-D-glicosamina), é o polissacarídeo linear mais abundante encontrado na natureza depois da celulose, sendo um revestimento protetor para invertebrados (El Knidri et al., 2018; Özogul et al., 2018). Apesar da quitina ser encontrada em organismos do reino animal e fungi terrestres, a sua maior fonte esta nos organismos aquático como microalgas, poríferos, cnidários, artrópodes e moluscos (Bastiaens et al., 2019; Hamed et al., 2016; Rinaudo, 2006). Destes os organismos que ganharam maior destaque foram os artrópodes (Rinaudo, 2006), moluscos (Abdelmalek et al., 2017) e provavelmente o reino fungi ganhará destaque no futuro devido a grande quantidade de quitina encontrada em seus tecidos (Bastiaens et al., 2019).

O conteúdo de quitina varia amplamente e está relacionado às condições de descasque durante o processamento, como também da espécie, a parte do organismo, estado de nutrição e fase do ciclo reprodutivo (Rinaudo, 2006). A quitina encontra-se na carapaça que são facilmente encontradas em animais aquáticos com proporções aproximadas de 10% até 30% do peso úmido do resíduo aquícola ou de 35 até 75% do peso seco (FAO, 2020b). Na Tabela 1 podem ser observados estudos indicando a composição total de quitina analisadas de resíduo de diversas espécies.

A quitina apresenta-se na forma de um pó amarelado, com estrutura cristalina ou amorfa, insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos, devido às ligações inter e intramoleculares de hidrogênio que atuam na sua estrutura (Roy et al., 2017). Além disso, apresenta três estruturas polimórficas na natureza, denominadas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -quitina. Esses polimorfismos da quitina são diferenciados pela polaridade. A  $\alpha$ -quitina, a forma polimórfica mais encontrada, é uma estrutura rígida e resistente presente na cutícula de artrópodes (Hamed et al., 2016).

O método mais utilizado para recuperar a quitina é usando reagentes químicos, e na sua maioria são ácidos e bases fortes (Roy et al., 2017). A produção biotecnológica mostra-se uma alternativa atraente para substituição do método químico convencional, utilizando bactérias produtoras de ácido lático para desmineralização, proteases para desproteíntização e quitina desacetilases para conversão de quitina em quitosana (Guo et al., 2019). Isso reduz a geração de resíduos químicos altamente poluentes e a despolimerização dos polímeros, mantendo a qualidade em relação às suas propriedades e funcionalidades (Lopes et al., 2018).

Os derivados da quitina como a quitosana, quitooligosacarídeos e glucosaminas são polissacarídeos naturais obtidos após esses procedimentos e possuem interesse industrial (Djellouli et al., 2020; Rinaudo, 2006; Zaeni et al., 2017). Nos crustáceos, a quitina encontra-se associada aos demais constituintes do exoesqueleto, formando um complexo mineralizado com as proteínas, fenóis e lipídios, que se reticulam para formar estruturas macromoleculares altamente ordenadas, por isso são necessárias diferentes etapas de purificação e recuperação do polissacarídeo (Van Dyken & Locksley, 2018). Então, o processo de isolamento da quitina deve passar por processos de secagem, desmineralização, desproteíntização, desacetilação e desodorização para sua transformação em outro composto (Özogul et al., 2018), mas também podem ser encontradas em pequenas quantidades de forma natural.

A celulose e a quitina apresentam estruturas semelhantes, cuja diferença está na presença de um grupamento hidroxila (OH) no carbono-2 do anel glicosídico da celulose. Na quitina, a hidroxila é substituída por um grupamento acetoamida (NHCOCH<sub>3</sub>) durante um processo industrial para sua transformação em quitosana. A substituição da hidroxila pelo grupo acetamida confere a quitina alto grau de acetilação, geralmente em torno de 90%. O grau de acetilação possui efeito determinante na solubilidade dos polímeros, diferenciando a quitina de seu derivado funcional, a quitosana (Younes & Rinaudo, 2015).

Diversos autores têm abordado as barreiras enfrentadas nos processos de obtenção de quitina, uma vez que as propriedades do polímero e de seus derivados dependem do grau de polimerização, grau de acetilação e da massa molar, influenciados diretamente pelas condições de processo. (Aranday-García et al., 2017; Dun et al., 2019; Gamal et al., 2016; Hamdi et al., 2018; Lopes et al., 2018; Younes et al., 2012; H. Zhang et al., 2012). Dependendo do substrato e do método de extração da quitosana são obtidos diferentes resultados para a acetilação.

A quitosana é usada em diferentes setores da indústria de alimentos, de rações (Bonilla et al., 2014) e fármacos (Shajahan et al., 2017). Além disso, é amplamente utilizada como nutricosméticos (Andonegi et al., 2020), devido às suas propriedades anti-coagulante, biocompatibilidade, biodegradabilidade (Bastiaens et al., 2019) e antimicrobianas (Abdelmalek et al., 2017; Mohandas et al., 2018). Usada em processos biotecnológicos como de purificação de água (Al-Manhel et al., 2018), indústria têxtil, produção de filmes ambientalmente sustentáveis e biodegradáveis (Arvanitoyannis, 2008; Tsai et al., 2020). A quitosana também é compatível com outros aditivos para a encapsulamento, protegendo-os contra a oxidação (Dutta et al., 2012) e ataque microbiano (Dutta et al., 2012; El-Diasty, 2012), por exemplo amido de mandioca, polióis (Arvanitoyannis, 2008) e colágeno (Andonegi et al., 2020), também apresentam propriedades químicas podendo atuar como uma molécula sequestradora de metais (Futalan et al., 2011).

A adição de quitosana em alimentos inibe micro-organismos e *off flavor* (El-Diasty, 2012). Além disso, também pode ser utilizada como um filme polimérico biodegradável compatível com a adição de conservantes para embalagens de alimentos (Dutta et al., 2012) adicionando-se alginato que é outra substância também extraída de algas vermelhas e marrons, também um resíduo agroindustrial (Yan et al., 2000). O complexo polieletrólito de quitosana com alginato é usada em filmes como curativos

para cicatrizes (Andonegi et al., 2020; Paulo et al., 2007) e também na fabricação de esponjas com potencial curativo ou na engenharia de tecidos (Sah et al., 2019). Este também apresenta propriedades antibacteriana contra algumas espécies, como: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* e outras (Abdelmalek et al., 2017; Younes et al., 2012).

A quitosana como alimento funciona como fibra solúvel, sendo caracterizada como um alimento funcional comum em muitos nutricosméticos para emagrecimento por ser inerte no intestino humano e funcionando como prebiótico, alterando a composição da microbiota intestinal (Tang et al., 2020). Também atua como agentes espessantes e estabilizadores (Arvanitoyannis, 2008; Rinaudo, 2006). É usada como nanocarreador de outras moléculas bioativas em tratamentos, como em quimioterapias anti-tumorais, anti- melanomas, (Li et al., 2020), além de para fármacos periodontais (Sah et al., 2019). Ela também forma hidrogéis para tratamento intra-articulares para artrite e osteoartrite (Pan et al., 2020). A quitosana pode alcançar valores aproximados de 4000 US\$/kg nos Estados Unidos enquanto a quitina bruta alcança 20 US\$/kg (Bessa-Junior & Gonçalves, 2013).

## ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são compostos orgânicos formados por uma cadeia hidrocarbonada e um grupo carboxílico que normalmente é delimitado com glicerol, formando mono, di ou triglicerídeos. Dependendo da natureza da cadeia hidrocarbonada, os ácidos graxos podem ser saturados ou insaturados, que por sua vez podem ser ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) ou poli-insaturados (PUFA) (FAO/WHO, 2008). Muitos dos ácidos graxos podem ser sintetizados metabolicamente, mas existe um grupo de PUFA, os ácidos graxos essenciais, que animais e humanos não podem produzir ou não conseguem produzir em quantidades significativas, sendo assim necessário adquiri-los dieteticamente (Suleria et al., 2016). Os PUFAs ômega-3 eicopentanoico (EPA) e o docosahexaenóico (DHA) são os mais estudados, devido a inúmeras evidências científicas para a saúde e prevenção de doenças coronárias, neurodegenerativas, derrame e diabetes (Tacon et al., 2020). É desejável uma proporção de PUFAs ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3) de 5:1 ou menos para humanos (Rubio-Rodríguez et al., 2010). O recomendado para dieta humana é cerca de 400-500 mg de

EPA + DHA diariamente para redução e prevenção de doenças coronárias por exemplo (Meivelu Moovendhan et al., 2019).

Os animais marinhos são as melhores fontes de ácidos graxos poli-insaturados (Meivelu Moovendhan et al., 2019) tendo órgãos específicos onde sua concentração é maior, como o hepatopâncreas no camarão (N. M. Sachindra et al., 2005), a cabeça nas lagostas (Bastiaens et al., 2019), gônadas em caranguejos (Jothy et al., 2019). O fígado da lula pode apresentar taxa aproximada de 40% de lipídios, apesar de estudos que chegam até 70,3% (Moovendhan et al., 2019). Vitaminas lipossolúveis como a A e E são extraídas juntos com óleos de animais marinhos, alcançando concentrações de 5418,3 UI e 3,128 mg/g respectivamente, enquanto compostos hidrossolúveis como ácido fólico e vitamina C são encontradas moderadamente, sendo 0,989 e 0,321 mg/100mg respectivamente (Meivelu Moovendhan et al., 2019).

O perfil de lipídios extraídos de crustáceos mostraram valores de 15,2 até 65,2% de ácidos graxos insaturados, sendo as maiores proporções extraídas exatamente dos materiais destinados a tornarem-se resíduos, como cabeça e casca (Sachindra et al., 2005). Foram encontrados aproximadamente 8,3 de LA e 10,0 de ALA, 30,9 de DHA e 43,5 g/100g de EPA em óleos marinhos extraídos do fígado de lulas (Meivelu Moovendhan et al., 2019). As concentrações podem variar de espécie, dieta e estágio de vida (Jothy et al., 2019).

Estudos da dieta no Mediterrâneo e de esquimós indicaram uma correlação proporcional para ingestão de alimentos ricos em ácidos poli-insaturados com menores índices de mortalidade relacionados a complicações cardiovasculares, como o derrame (Kok & Kromhout, 2004), pois eles possuem atividades para controle de dislipidemia, principalmente colesterol, controle de obesidade e atividade anti-inflamatória (Gaggini et al., 2013). A maioria dos estudos epidemiológicos dentre esses lipídios são feitos com os ácidos graxos ômega-3, pois são os mais associados com a baixa incidência de doenças cardiovasculares segundo os estudos. Os ácidos graxos poli-insaturados EPA e DHA são do tipo ômega-3 e então podem prevenir diversas doenças humanas, sendo sua principal aplicação contra as doenças cardiovasculares como arritmia cardíaca, pressão sanguínea, concentração de triglicerídeos e agregação de plaquetas (Raatz & Bibus, 2016).

Os ácidos graxos encontrados em animais marinhos também apresentam propriedades contra distúrbios cognitivos (Graciano et al., 2016), nutrição e desenvolvimento do cérebro, principalmente para crianças e idosos (He et al., 2017).

Eles também são muito utilizados como suplementação alimentar para tratamentos da maioria dos distúrbios depressivos assim como Alzheimer, Parkinson e esquizofrenia (Guu et al., 2019), perda de memória, combatem o estresse oxidativo (Zhou et al., 2018). Os mesmos também são usados como angiogênicos e angiostáticos em terapias para visão (Elmasry et al., 2019). Isso deve-se ao fato que esses lipídeos, principalmente o DHA, estão presentes na composição do cérebro, retina e esperma humano (Harari et al., 2020). Os ômega-3 são usados em tratamentos para carcinomas, pois apresentam um grande efeito anti-tumor quando em altas concentrações (Leineweber et al., 2020). Um estudo feito a partir da alimentação de esquimós a base de animais marinhos, correlacionou a alta ingestão de PUFA's com a baixa incidência de câncer e doenças cardiovasculares (Ueno et al., 2019).

A extração de lipídios baseia-se no uso de solventes orgânicos, como o éter de petróleo, metanol, clorofórmio (Meivelu Moovendhan et al., 2019) e acetona, muitas vezes com o auxílio de um aparelho de refluxo de solvente intermitente chamado Soxhlet (Hamed et al., 2016). Devido as restrições do uso desses compostos pela indústria de alimentos o método utilizando solventes orgânicos é exclusivamente analítico (Rubio-Rodríguez et al., 2010). O método de prensagem úmida é permitido pela legislação, sendo composto pelas etapas de cozimento, prensagem e filtração ou centrifugação (Rubio-Rodríguez et al., 2010). O método supercrítico reduz a temperatura, pressão e densidade da matéria prima abaixo do seu ponto crítico para solidificá-la, resultando em um fluído com propriedades entre líquidas e gasosas, sendo também um bom solvente capaz de separar o óleo (Yu et al., 2019). Já o método enzimático tornou-se uma ótima alternativa por ser seguro e para substituir o método tradicional, utiliza-se lipoenzimas ou proteases como a neutrase, alcalase e flavourenzima, sendo desnecessário o uso de solventes orgânicos, temperatura e pressão artificial (Rubio-Rodríguez et al., 2010).

## **MINERAIS**

Os resíduos do processamento de crustáceos e moluscos podem apresentar em sua composição grandes quantidades de minerais, com valores que variam de 10 até 70% da sua composição (Abreu et al., 2019; Guo et al., 2019; Isa et al., 2012). Desses minerais encontrados, os mais almejados pela indústria são os carbonato de cálcio e o fosfato, devido sua abundância na natureza, fácil acessibilidade e aplicabilidade como

fertilizantes e nas construções civis (Ahmed et al., 2020). A cutícula de alguns isópodes mostrou que aproximadamente 68% do seu peso era compostos de minerais, sendo metade desse valor composto por carbonato de cálcio (Neues & Epple, 2008).

Para recuperar esse composto é necessário desmineralizar a matéria-prima. Esse procedimento geralmente é feito com ácidos, principalmente o ácido clorídrico, pois o carbonato reage com a substância ácida e o resultado é a precipitação dos sais minerais. A quantidade de minerais obtido pela desmineralização por ácidos alcança de 69,4 até 100% dependendo das variáveis de reação, como: pH, temperatura, tempo e quantidade de ácidos utilizados. Os melhores resultados foram obtidos com 4 – 50 °C, três banhos em solução 1/10 (w/w) de 0,5 – 2,0 mol/L de HCl em 3 h de reação (Younes et al., 2016). Um procedimento mais ecologicamente correto seria a utilização de bactérias fermentadoras como o *Lactobacillus spp.*, devido a produção natural de ácido láctico (Dun et al., 2019; Zaeni et al., 2017; H. Zhang et al., 2012). A eficiência das desmineralizações fermentativas realizadas alcançam 84% em temperaturas de 50°C durante 48 h e decresceram a 70% em temperaturas menores de 40°C. A mesma alcançou 90% ao adicionar 5% (w/w) de glucose como fonte de carbono para as bactérias *B. coagulans* (Dun et al., 2019). Outro estudo também conseguiu alcançar eficiência de desmineralização de 94,48% usando *Serratia marascens* e *Lactobacillus plantarum* em conjunto (H. Zhang et al., 2012).

O carbonato de cálcio é um material que pode ser obtido abundantemente a partir do exoesqueleto de conchas de animais marinhos (Ahmed et al., 2020) e possui diversas aplicações na indústria. O óxido de cálcio formado a partir do carbonato de cálcio funciona como catalizador para a produção de biodiesel (Hou et al., 2016). Carbonato de cálcio pode ser utilizado como fertilizantes terrestres e aquícola, assim como suas nano partículas podem ser usadas em fitofarmacêuticos ou pesticida, sendo ambientalmente corretas (Hua et al., 2015), apresentando resultados melhores quando comparados com organofosforados, piretróides, e espinosade (Jin et al., 2011). Os minerais das carcaças dos crustáceos e as conchas dos moluscos são reaproveitados na construção civil (Chierighinia et al., 2011), tratamento de solo (N. Yan & Chen, 2015), fabricação de borracha, esponjas e plásticos, uma vez que são fontes de carbonato de cálcio (Bessa-Junior & Gonçalves, 2013).

Os fosfatos também são encontrados em quantidades relativamente altas nos resíduos de animais marinhos de estrutura quitinosa (Gonçalves & Ribeiro, 2008). Os fosfatos participam do processamento de alimentos como estabilizantes proteicos,

emulsificantes, antioxidantes, melhoradores de textura e também atuam no controle microbiológico (Etemadian et al., 2011).

Os fosfatos são usados como aditivo para melhorar a extração de compostos bioativos, incluindo a própria quitina, sendo que o estudo relatou que o fosfato de cálcio derivado de crustáceos possui poder de sequestro de íons como o flúor melhor do que o carvão (Wagutu et al., 2018). Fosfatos são utilizados para alterar a configuração estrutural dos tecidos, sendo essa prática aplicada pela indústria de processamento, principalmente em frutos do mar, pois auxilia na integridade da miofibrila muscular aumentando a estabilidade térmica das proteínas e impedindo o gotejamento de tecidos, reduzindo perda de qualidade como peso e volume durante o congelamento e cozimento (Gonçalves & Ribeiro, 2008). Fosfatos ligados a sódio também são encontrados nesses resíduos, e esses possuem utilidades farmacêuticas, como o fosfato monossódico e dissódico que são utilizados como laxantes em fármacos (Mendoza et al., 2007).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS E TENDÊNCIAS FUTURAS**

De acordo com os estudos, o índice de descarte de resíduos agroindustriais de pesca e aquicultura no mundo atinge 178 milhões de toneladas, onde de 20 a 80% dessa biomassa torna-se resíduo, dependendo do tipo de processamento e da espécie. Com o avanço da ciência e tecnologia é possível fomentar um destino adequado para esses resíduos. Organismos marinhos são excelentes fontes de compostos bioativos que são capazes de serem utilizados por diversos setores industriais. São utilizadas na indústria de ração e suplementação alimentar humano devido sua alta qualidade, digestibilidade e riqueza de pigmentos com alto potencial antioxidante. Grande parte da população humana passa fome ou tem uma alimentação não adequada em termos nutricionais, assim, esses produtos poderiam melhorar essa condição. Na indústria farmacêutica, devido aos seus ativos estes são capazes de tratar problemas inflamatórios, doenças neurodegenerativas, diabetes, cardiovasculares e carcinomas, também podem ser utilizadas como fertilizantes agrícolas de alta solubilidade. Além de possuírem compostos capazes de reconstruir tecidos danificados como intra-articulares e periodontais. Na engenharia é capaz de produzir filmes, borrachas e esponjas degradáveis, além de material para construção civil. As práticas de reutilização de resíduos são comuns em países desenvolvidos, porém nos demais países ainda são descartados em aterros e no mar. Espera-se que as indústrias se interessem e se



desenvolvam tecnologicamente para reaproveitar esses subprodutos, uma vez que sua matéria prima é barata, abundante e acessível. Embora vários métodos químicos e biotecnológicos já tenham sido testados em laboratório, ainda é necessário desenvolver estudos em larga escala.

<b>Matéria-prima</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Lipídios</b>	<b>Quitina</b>	<b>Minerais</b>	<b>Total Carotenoide</b>	<b>Quitosana Desacetilação</b>	<b>Referências</b>	
	(%)	(%)	(%)	(%)	(µg/g)	(%)		
Camarão	<i>Litopenaeus vannamei</i>	58,5	4,7	18,2	17,9	-	93,0	(Abreu et al., 2019; H. Zhang et al., 2012)
	<i>Litopenaeus vannamei</i> carotenoprotein	73,58	21,87	34,92	18,77	500,0	-	(Senphan et al., 2014)
	N/E	29,5	-	19,75	50,75	-	61,7 - 88,0	(Merz, 2019; Zaeni et al., 2017)
	Nigerian shrimp	21,4	-	8,9	69,7	-	50,64	(Isa et al., 2012)
	<i>Parapenaeus longirostris</i>	31,3	3,97	34,9	28,6	-	-	(Sila et al., 2014)
	<i>Penaeus monodon</i>	52,3	11,3	16,5	22,4	169,2	85,4	(Phuong et al., 2017)
	<i>Pandalus borealis</i>	66,7	5,5	0,0	11,5	-	93,1	(Guo et al., 2019)
	<i>Aristeus alcocki</i>	29,71	2,06	23,80	29,40	87,1	-	(Sindhua & Sherief, 2011)
Lagosta	<i>Thenus sp.</i>	16,93	-	21,26	61,81	-	-	(Bastiaens et al., 2019)
	<i>Procambarus clarki</i>	21,93	-	21,63	56,16	-	-	(Dun et al., 2019)
	Lobter carotenoprotein	59,8	14,9	7,5	6,2	295,3	-	(Ya et al., 1991)

Caranguejo	<i>Portunus pelagicu</i>	14,36	-	20,14	65,5	-	-	(Bastiaens et al., 2019)
	<i>Portunus segnis</i>	12,9	4,4	28,1	53,8	73,8	71,37	(Hamdi et al., 2020)
	<i>Portunus segnis</i> carotenoprotein	74,3	14,4	1,9	4,7	2216,0	-	(Hamdi et al., 2020)
Mexilhão	N/E	9,99	-	23,25	51,92	137,88	60,69	(Abdulkarim et al., 2013; Cheng et al., 2019)
Lula	<i>Loligo vulgaris</i>	36,52	0,32	31,2	2,57	-	71,0	(Abdelmalek et al., 2017)

Tabela 1: Composição de proteínas, lipídios, quitina, minerais, carotenoides e grau de desacetilação de diferentes subprodutos de crustáceos e moluscos.

N/E: Espécie não especificada.

## REFERÊNCIAS

- Abdelmalek, B. E., Sila, A., Haddar, A., Bougatef, A., & Ayadi, M. A. (2017).  $\beta$ -Chitin and chitosan from squid gladius: Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. *International Journal of Biological Macromolecules*, *104*, 953–962. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.107>
- Abdulkarim, A., Isa, M. T., Abdulsalam, S., Muhammad, A. J., & Ameh, A. O. (2013). Extraction and Characterisation of Chitin and Chitosan from Mussel Shell. *Civil and Environmental Research*, *3*(2), 108–115.
- Abreu, A. D. S., De Souza, M. M., Da Rocha, M., Wasielesky, W. F., & Prentice, C. (2019). Functional Properties of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) By-Products Protein Recovered by Isoelectric Solubilization/Precipitation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *28*(6), 649–657. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1628151>
- Ahmed, N. M., Fathi, A. M., Mohamed, M. G., & Abd El-Gawad, W. M. (2020). Evaluation of new core-shell pigments on the anticorrosive performance of coated reinforced concrete steel. *Progress in Organic Coatings*, *140*(September 2019), 105530. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105530>
- Al-Manhel, A. J., Al-Hilphy, A. R. S., & Niamah, A. K. (2018). Extraction of chitosan, characterisation and its use for water purification. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *17*(2), 186–190. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.04.001>
- Andonegi, M., Heras, K. Las, Santos-Vizcaíno, E., Igartua, M., Hernandez, R. M., de la Caba, K., & Guerrero, P. (2020). Structure-properties relationship of chitosan/collagen films with potential for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, *237*(March), 116159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116159>
- Aranday-García, R., Román Guerrero, A., Ifuku, S., & Shirai, K. (2017). Successive inoculation of *Lactobacillus brevis* and *Rhizopus oligosporus* on shrimp wastes for recovery of chitin and added-value products. *Process Biochemistry*, *58*(April), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.04.036>
- Armenta, R. E., & Isabbl, G. L. (2009). Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

57(14), 6095–6100. <https://doi.org/10.1021/jf901083d>

- Arvanitoyannis, I. S. (2008). The use of chitin and chitosan for food packaging applications. In *Environmentally Compatible Food Packaging*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845694784.1.137>
- Bastiaens, L., Soetemans, L., D'Hondt, E., & Elst, K. (2019). Sources of Chitin and Chitosan and their Isolation. *Chitin and Chitosan*, 1–34. <https://doi.org/10.1002/9781119450467.ch1>
- Bessa-Junior, A. P., & Gonçalves, A. A. (2013). Análises econômica e produtiva da quitosana extraída do exoesqueleto de camarão Economic and productive analysis of chitosan extracted from shrimp exoskeleton. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources, 1*, 13–28. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2013.1.1.13-28>
- Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.002>
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (2012). *Carotenoids: HandBook* (4th ed.). Birkhäuser.
- Cheng, D., Zhang, Y., Liu, H., Zhang, H., Tan, K., Ma, H., Li, S., & Zheng, H. (2019). An improving method for extracting total carotenoids in an aquatic animal *Chlamys nobilis*. *Food Chemistry*, 280(May 2018), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.043>
- Chierighinia, D., Bridib, R., Rochac, A. A. da, & Lapa, K. R. (2011). Possibilidades do Uso das Conchas de Moluscos. In: *International Workshop Advances In Cleaner Production [Anais...]*, 3, 5. [http://www.advancesincleanerproduction.net/third/files/sexoes/6A/6/Chierighini\\_D - Paper - 6A6.pdf](http://www.advancesincleanerproduction.net/third/files/sexoes/6A/6/Chierighini_D - Paper - 6A6.pdf)
- Djellouli, M., López-Caballero, M. E., Arancibia, M. Y., Karam, N., & Martínez-Alvarez, O. (2020). Antioxidant and Antimicrobial Enhancement by Reaction of Protein Hydrolysates Derived from Shrimp By-Products with Glucosamine. *Waste and Biomass Valorization*, 11(6), 2491–2505. <https://doi.org/10.1007/s12649-019->

00607-y

- Dun, Y., Li, Y., Xu, J., Hu, Y., Zhang, C., Liang, Y., & Zhao, S. (2019). Simultaneous fermentation and hydrolysis to extract chitin from crayfish shell waste. *International Journal of Biological Macromolecules*, *123*, 420–426. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.088>
- Dutta, J., Tripathi, S., & Dutta, P. K. (2012). Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: A systematic study needs for food applications. In *Food Science and Technology International* (Vol. 18, Issue 1). <https://doi.org/10.1177/1082013211399195>
- El-Diasty. (2012). *Using of Chitosan as Antifungal Agent in Kariesh Cheese*. *5*(973), 78–101.
- El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2018). Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, *120*, 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>
- Elmasry, K., Ibrahim, A. S., Abdulmoneim, S., & Al-Shabrawey, M. (2019). Bioactive lipids and pathological retinal angiogenesis. *British Journal of Pharmacology*, *176*(1), 93–109. <https://doi.org/10.1111/bph.14507>
- Etemadian, Y., Shabanpour, B., Sadeghi Mahoonak, A. R., Shabani, A., & Alami, M. (2011). Cryoprotective effects of polyphosphates on *Rutilus frisii kutum* fillets during ice storage. *Food Chemistry*, *129*(4), 1544–1551. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.005>
- FAO/WHO. (2008). Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids From the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. *FAO/WHO Expert Consultation*, 14. [http://www.who.int/nutrition/topics/FFA\\_summary\\_rec\\_conclusion.pdf%0Ahttp://www.who.int/nutrition/topics/FFA\\_summary\\_rec\\_conclusion.pdf?ua=1](http://www.who.int/nutrition/topics/FFA_summary_rec_conclusion.pdf%0Ahttp://www.who.int/nutrition/topics/FFA_summary_rec_conclusion.pdf?ua=1)
- Food and Agriculture Organization. (2020a). *Fishery and Aquaculture Statistics. Global production by production source 1950-2018 (FishstatJ)*. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy.

[www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en](http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en).

- Food and Agriculture Organization. (2020b). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, Italy.
- Fu, D., Deng, S., McClements, D. J., Zhou, L., Zou, L., Yi, J., Liu, C., & Liu, W. (2019). Encapsulation of  $\beta$ -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 89, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.032>
- Futalan, C. M., Kan, C. C., Dalida, M. L., Hsien, K. J., Pascua, C., & Wan, M. W. (2011). Comparative and competitive adsorption of copper, lead, and nickel using chitosan immobilized on bentonite. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 528–536. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.013>
- Gaggini, M., Morelli, M., Buzzigoli, E., DeFronzo, R. A., Bugianesi, E., & Gastaldelli, A. (2013). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*, 5(5), 1544–1560. <https://doi.org/10.3390/nu5051544>
- Gamal, R. F., El-Tayeb, T. S., Raffat, E. I., Ibrahim, H. M. M., & Bashandy, A. S. (2016). Optimization of chitin yield from shrimp shell waste by *Bacillus subtilis* and impact of gamma irradiation on production of low molecular weight chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 598–608. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.008>
- Ghorbel-Bellaaj, O., Jellouli, K., & Maalej, H. (2017). Shrimp processing by-products protein hydrolysates: Evaluation of antioxidant activity and application in biomass and proteases production. *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(4), 287–297. <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1334766>
- Gonçalves, A. A., & Ribeiro, J. L. D. (2008). Do phosphates improve the seafood quality? Reality and legislation. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(3), 237–247.
- Gortari, M. C., & Hours, R. A. (2013). Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: A mini-review. *Electronic Journal of Biotechnology*,

16(3). <https://doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-10>

- Graciano, M. F., Leonelli, M., Curi, R., & R. Carpinelli, A. (2016). Omega-3 fatty acids control productions of superoxide and nitrogen oxide and insulin content in INS-1E cells. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 72(4), 699–710. <https://doi.org/10.1007/s13105-016-0509-1>
- Guo, N., Sun, J., Zhang, Z., & Mao, X. (2019). Recovery of Chitin and Protein from Shrimp Head Waste by Endogenous Enzyme Autolysis and Fermentation. *Journal of Ocean University of China*, 18(3), 719–726. <https://doi.org/10.1007/s11802-019-3867-9>
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., & Emanuelsson, A. (2013). The methodology of the FAO study : “ Global Food Losses and Food Waste - extent , causes and prevention ” - FAO , 2011. In *SIK report No. 857: Vol. SIK report* (Issue 857). <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:944159/FULLTEXT01.pdf>
- Guu, T. W., Mischoulon, D., Sarris, J., Hibbeln, J., McNamara, R. K., Hamazaki, K., Freeman, M. P., Maes, M., Matsuoka, Y. J., Belmaker, R. H., Jacka, F., Pariante, C., Berk, M., Marx, W., & Su, K. P. (2019). International Society for Nutritional Psychiatry Research Practice Guidelines for Omega-3 Fatty Acids in the Treatment of Major Depressive Disorder. *Psychotherapy and Psychosomatics*, 88(5), 263–273. <https://doi.org/10.1159/000502652>
- Hamdi, M., Hajji, S., Affes, S., Taktak, W., Maâlej, H., Nasri, M., & Nasri, R. (2018). Development of a controlled bioconversion process for the recovery of chitosan from blue crab (*Portunus segnis*) exoskeleton. *Food Hydrocolloids*, 77, 534–548. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.10.031>
- Hamdi, M., Nasri, R., Dridi, N., Li, S., & Nasri, M. (2020). Development of novel high-selective extraction approach of carotenoproteins from blue crab (*Portunus segnis*) shells, contribution to the qualitative analysis of bioactive compounds by HR-ESI-MS. *Food Chemistry*, 302(July 2019), 125334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125334>
- Hamed, I., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean



- by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science and Technology*, 48, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.007>
- Harari, A., Leikin Frenkel, A., Barshack, I., Sagee, A., Cohen, H., Kamari, Y., Harats, D., Kandel Kfir, M., & Shaish, A. (2020). Addition of fish oil to atherogenic high fat diet inhibited atherogenesis while olive oil did not, in LDL receptor KO mice. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 30(4), 709–716. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.12.007>
- He, Y., Li, J., Kodali, S., Chen, B., & Guo, Z. (2017). Rationale behind the near-ideal catalysis of *Candida antarctica* lipase A (CAL-A) for highly concentrating  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids into monoacylglycerols. *Food Chemistry*, 219, 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.149>
- Hou, Y., Shavandi, A., Carne, A., Bekhit, A. A., Ng, T. B., Cheung, R. C. F., & Bekhit, A. E. din A. (2016). Marine shells: Potential opportunities for extraction of functional and health-promoting materials. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(11–12), 1047–1116. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1202669>
- Hua, K. H., Wang, H. C., Chung, R. S., & Hsu, J. C. (2015). Calcium carbonate nanoparticles can enhance plant nutrition and insect pest tolerance. *Journal of Pesticide Science*, 40(4), 208–213. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D15-025>
- Idowu, A. T., Igiehon, O. O., Idowu, S., Olatunde, O. O., & Benjakul, S. (2020). Bioactivity Potentials and General Applications of Fish Protein Hydrolysates. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10071-1>
- Ignatz, E. H., Dumas, A., Benfey, T. J., Hori, T. S., Braden, L. M., Runighan, C. D., Rise, M. L., & Westcott, J. D. (2020). Growth performance and nutrient utilization of growth hormone transgenic female triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared at three temperatures in a land-based freshwater recirculating aquaculture system (RAS). *Aquaculture*, 519(September 2019), 734896. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734896>

- Isa, M. T., Ameh, A. O., Tijjani, M., & Adama, K. K. (2012). Extraction and characterization of chitin and chitosan from Nigerian shrimps. *Bioresource Technology*, 6(1), 446–453. <https://doi.org/doi:10.4314/ijbcs.v6i1.40>
- Jin, T., Zeng, L., Lin, Y., Lu, Y., & Liang, G. (2011). Insecticide resistance of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), in mainland China. *Pest Management Science*, 67(3), 370–376. <https://doi.org/10.1002/ps.2076>
- Jothy, P. T., Rajesh Kannan, R., & Subramoniam, T. (2019). Lipid and carotenoid metabolism in the developing embryos of the intertidal anomuran crab, *Emerita asiatica* (Milne Edwards). *Invertebrate Reproduction and Development*, 63(3), 135–145. <https://doi.org/10.1080/07924259.2019.1608325>
- Kok, F. J., & Kromhout, D. (2004). Atherosclerosis: Epidemiological studies on the health effects of a Mediterranean diet. *European Journal of Nutrition*, 43(SUPPL. 1), 2–5. <https://doi.org/10.1007/s00394-004-1102-x>
- Kowsalya, K., Vidya, N., & Vijayalakshmi, V. (2019). *Super Nutritive Marine Astaxanthin , an Effectual Dietary Carotenoid for Neurodegenerative Diseases. August.*
- Lambertus A.M., Broek, V. den, & Boeriu, C. G. (2020). *Chitin and Chitosan: Properties and Applications.*
- Leal, A. L. G., de Castro, P. F., de Lima, J. P. V., de Souza Correia, E., & de Souza Bezerra, R. (2010). Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) feeds. *Aquaculture International*, 18(4), 635–646. <https://doi.org/10.1007/s10499-009-9284-0>
- Leineweber, C. G., Pietzner, A., Zhang, I. W., Blessin, U. B., Rothe, M., Schott, E., Schebb, N. H., & Weylandt, K. H. (2020). Assessment of the effect of sorafenib on omega-6 and omega-3 epoxyeicosanoid formation in patients with hepatocellular carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ijms21051875>
- Li, S., Zhang, F., Yu, Y., & Zhang, Q. (2020). A dermatan sulfate-functionalized biomimetic nanocarrier for melanoma targeted chemotherapy. *Carbohydrate Polymers*, 235(February), 115983. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115983>

- Liu, F., Shi, H. zhuan, Guo, Q. sheng, Yu, Y. bing, Wang, A. ming, Lv, F., & Shen, W. biao. (2016). Effects of astaxanthin and emodin on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish and Shellfish Immunology*, *51*, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.02.020>
- Lopes, C., Antelo, L. T., Franco-Uría, A., Alonso, A. A., & Pérez-Martín, R. (2018). Chitin production from crustacean biomass: Sustainability assessment of chemical and enzymatic processes. *Journal of Cleaner Production*, *172*, 4140–4151. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.082>
- Mao, X., Guo, N., Sun, J., & Xue, C. (2017). Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, *143*, 814–823. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.042>
- Mao, X., Liu, P., He, S., Xie, J., Kan, F., Yu, C., Li, Z., Xue, C., & Lin, H. (2013). Antioxidant properties of bio-active substances from shrimp head fermented by bacillus licheniformis OPL-007. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *171*(5), 1240–1252. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0217-z>
- Mao, X., Zhang, J., Kan, F., Gao, Y., Lan, J., Zhang, X., Hu, Z., Li, Y., & Lin, H. (2013). Antioxidant production and chitin recovery from shrimp head fermentation with *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Biotechnology*, *22*(4), 1023–1032. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0179-5>
- Meiliswa, N., Jusadi, D., Zairin, M., Artika, I. M., Priyo Utomo, N. B., Kadarini, T., & Suprayudi, M. A. (2017). Digestibility, growth and pigmentation of astaxanthin, canthaxanthin or lutein diets in Lake Kurumoi rainbowfish, *Melanotaenia parva* (Allen) cultured species. *Aquaculture Research*, *48*(11), 5517–5525. <https://doi.org/10.1111/are.13372>
- Meivelu Moovendhan, Seedeivi, P., Vairamani, S., & Shanmugam, A. (2019). Exploring the Chemical Composition and Anticancer Potential of Oil from Squid (*Loligo duvauceli*) Liver Waste from Fish Processing Industry. *Waste and Biomass Valorization*, *10*(10), 2967–2973. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0304-z>
- Mendoza, J., Legido, J., Rubio, S., & Gisbert, J. P. (2007). Systematic review: The adverse effects of sodium phosphate enema. *Alimentary Pharmacology and*

*Therapeutics*, 26(1), 9–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03354.x>

- Merz, C. R. (2019). Physicochemical and Colligative Investigation of  $\alpha$  (Shrimp Shell)-And  $\beta$  (Squid Pen)-Chitosan Membranes: Concentration-Gradient-Driven Water Flux and Ion Transport for Salinity Gradient Power and Separation Process Operations. *ACS Omega*, 4(25), 21027–21040. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02357>
- Mohandas, A., Deepthi, S., Biswas, R., & Jayakumar, R. (2018). Chitosan based metallic nanocomposite scaffolds as antimicrobial wound dressings. *Bioactive Materials*, 3(3), 267–277. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.11.003>
- Naguib, Y. M. A. (2000). Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1150–1154. <https://doi.org/10.1021/jf991106k>
- Narayanasamy, A., Balde, A., Raghavender, P., Shashanth, D., Abraham, J., Joshi, I., & Nazeer, R. A. (2020). Isolation of marine crab (*Charybdis natator*) leg muscle peptide and its anti-inflammatory effects on macrophage cells. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25(February), 101577. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101577>
- Neues, F., & Epple, M. (2008). Analysis of the Composition of the Cuticula (Shell) of Isopods. *Netzsch-Thermal-Analysis.Com*, 4, 6–8. [http://www.netzsch-thermal-analysis.com/download/R-302-08\\_Analysis\\_of\\_the\\_Composition\\_of\\_the\\_Cuticula\(Shell\)\\_of\\_Isopods\\_386.pdf](http://www.netzsch-thermal-analysis.com/download/R-302-08_Analysis_of_the_Composition_of_the_Cuticula(Shell)_of_Isopods_386.pdf)
- Ni, Y., Nagashimada, M., Zhuge, F., Zhan, L., Nagata, N., Tsutsui, A., Nakanuma, Y., Kaneko, S., & Ota, T. (2015). Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with Vitamin E. *Scientific Reports*, 5(November), 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep17192>
- Nunes, A. J. P., Sabry-Neto, H., Oliveira-Neto, S., & Burri, L. (2019). Feed preference and growth response of juvenile *Litopenaeus vannamei* to supplementation of marine chemoattractants in a fishmeal-challenged diet. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(6), 1048–1063. <https://doi.org/10.1111/jwas.12648>
- Ogawa, M., Da Silva, A. I. M., Ogawa, N. B. P., Maia, E. L., & Nunes, M. L. (2008).

- Adequações tecnológicas no processamento da carne de caranguejo. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 78–82. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100012>
- Özogul, F., Hamed, I., Özogul, Y., & Regenstein, J. M. (2018). Crustacean By-products Crustacean By-products. In *Encyclopedia of Food Chemistry* (Issue October). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814026-0.21690-9>
- Pan, W., Dai, C., Li, Y., Yin, Y., Gong, L., Machuki, J. O. achwa, Yang, Y., Qiu, S., Guo, K., & Gao, F. (2020). PRP-chitosan thermoresponsive hydrogel combined with black phosphorus nanosheets as injectable biomaterial for biotherapy and phototherapy treatment of rheumatoid arthritis. *Biomaterials*, 239(February), 119851. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119851>
- Paulo, N. M., Conceição, M. da, Bueno, I. A., Silva, M. S. de B. e, Menezes, L. B. de, Moraes, Â. M., & Rodrigues, A. P. (2007). Chitosan film for treatment of cutaneous wound in a female cat. *Acta Scientiae Veterinariae*, 35(3), 381. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.16136>
- Phuong, P. T. D., Minh, N. C., Cuong, H. N., Van Minh, N., Han, N. T., Van Hoa, N., Yen, H. T. H., & Trung, T. S. (2017). Recovery of protein hydrolysate and chitosan from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) heads: approaching a zero waste process. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1850–1856. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2616-6>
- Raatz, S., & Bibus, D. (2016). Fish and Fish Oil in Health and Disease Prevention. *Elsevier Science Publishing Co. Inc.*, 1, 380. <https://doi.org/10.16309/j.cnki.issn.1007-1776.2003.03.004>
- Regina, S., Ferreira, S., Albino, S., Valcareggi, A., & Hense, H. (2016). *Tecnológica Provenientes Do Resíduo De Crustáceos E Suas Aplicações*. December, 117–136.
- Rehman, A., Tong, Q., Jafari, S. M., Assadpour, E., Shehzad, Q., Aadil, R. M., Iqbal, M. W., Rashed, M. M. A., Mushtaq, B. S., & Ashraf, W. (2020). Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 275, 102048. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102048>
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in*

*Polymer Science (Oxford)*, 31(7), 603–632.  
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

- Routray, W., Dave, D., Cheema, S. K., Ramakrishnan, V. V., & Pohling, J. (2019). Biorefinery approach and environment-friendly extraction for sustainable production of astaxanthin from marine wastes. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(4), 469–488. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1573798>
- Roy, J. C., Salaün, F., Giraud, S., Ferri, A., Chen, G., & Guan, J. (2017). Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms. *Solubility of Polysaccharides*, 1(7), 109–127. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71385>
- Rubio-Rodríguez, N., Beltrán, S., Jaime, I., de Diego, S. M., Sanz, M. T., & Carballido, J. R. (2010). Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.10.006>
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2005). Carotenoids in crabs from marine and fresh waters of India. *LWT - Food Science and Technology*, 38(3), 221–225. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.003>
- Sachindra, Nakkarike M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2005). Carotenoids in different body components of Indian shrimps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(1), 167–172. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1977>
- Sah, A. K., Dewangan, M., & Suresh, P. K. (2019). Potential of chitosan-based carrier for periodontal drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178(February), 185–198. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.044>
- Senphan, T., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2014). Characteristics and antioxidative activity of carotenoprotein from shells of Pacific white shrimp extracted using hepatopancreas proteases. *Food Bioscience*, 5, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.11.004>
- Shajahan, A., Shankar, S., Sathiyaseelan, A., Narayan, K. S., Narayanan, V., Kaviyarasan, V., & Ignacimuthu, S. (2017). Comparative studies of chitosan and its nanoparticles for the adsorption efficiency of various dyes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 1449–1458.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.128>

- Shao, Y., Ni, Y., Yang, J., Lin, X., Li, J., & Zhang, L. (2016). Astaxanthin inhibits proliferation and induces apoptosis and cell cycle arrest of mice H22 hepatoma cells. *Medical Science Monitor*, 22, 2152–2160. <https://doi.org/10.12659/MSM.899419>
- Sila, A., Sayari, N., Balti, R., Martinez-Alvarez, O., Nedjar-Arroume, N., Moncef, N., & Bougatef, A. (2014). Biochemical and antioxidant properties of peptidic fraction of carotenoproteins generated from shrimp by-products by enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 148, 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.146>
- Sindhua, S., & Sherief, P. M. (2011). Extraction, Characterization, Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Carotenoids from the Shell Waste of Arabian Red Shrimp *Aristeus alcocki*, Ramadan 1938. *The Open Conference Proceedings Journal*, 2(1), 95–103. <https://doi.org/10.2174/2210289201102010095>
- Sowmya, R., Rathinaraj, K., & Sachindra, N. M. (2011). An Autolytic Process for Recovery of Antioxidant Activity Rich Carotenoprotein from Shrimp Heads. *Marine Biotechnology*, 13(5), 918–927. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9353-4>
- Suganya, V., & Anuradha, V. (2019). In silico molecular docking of astaxanthin and sorafenib with different apoptotic proteins involved in hepatocellular carcinoma. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19(February), 101076. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101076>
- Suleria, H. A. R., Gobe, G., Masci, P., & Osborne, S. A. (2016). Marine bioactive compounds and health promoting perspectives; innovation pathways for drug discovery. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.019>
- Sun, J., & Mao, X. (2016). An environmental friendly process for Antarctic krill (*Euphausia superba*) utilization using fermentation technology. *Journal of Cleaner Production*, 127, 618–623. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.020>
- Suryawanshi, N., Jujjavarapu, S. E., & Ayothiraman, S. (2019). Marine shell industrial wastes—an abundant source of chitin and its derivatives: constituents, pretreatment,

- fermentation, and pleiotropic applications-a revisit. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(7), 3877–3898. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-02204-3>
- Tacon, A. G. J., Lemos, D., & Metian, M. (2020). Fish for Health: Improved Nutritional Quality of Cultured Fish for Human Consumption. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1762163>
- Taksima, T., Chonpathompikunlert, P., Sroyraya, M., Hutamekalin, P., Limpawattana, M., & Klaypradit, W. (2019). Effects of astaxanthin from shrimp shell on oxidative stress and behavior in animal model of Alzheimer's disease. *Marine Drugs*, 17(11). <https://doi.org/10.3390/md17110628>
- Tang, D., Wang, Y., Kang, W., Zhou, J., Dong, R., & Feng, Q. (2020). Chitosan attenuates obesity by modifying the intestinal microbiota and increasing serum leptin levels in mice. *Journal of Functional Foods*, 64(44), 103659. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103659>
- Tsai, S. Y., Yu, H. T., & Lin, C. P. (2020). Environmental influence analysis of marine waste-oyster shell-plastic bag for waste treatment. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 0123456789, 12–15. <https://doi.org/10.1007/s10973-020-09621-y>
- Ueno, Y., Miyamoto, N., Yamashiro, K., Tanaka, R., & Hattori, N. (2019). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and stroke burden. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms20225549>
- Van Dyken, S. J., & Locksley, R. M. (2018). Chitins and chitinase activity in airway diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 142(2), 364–369. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.06.017>
- Wagutu, A. W., Machunda, R., & Jande, Y. A. C. (2018). Crustacean derived calcium phosphate systems: Application in defluoridation of drinking water in East African rift valley. *Journal of Hazardous Materials*, 347, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.12.049>
- Ya, T., Simpson, B. K., Ramaswamy, H., Yaylayan, V., Smith, J. P., & Hudon, C. (1991). Carotenoproteins from lobster waste as a potential feed supplement for



- cultured salmonids. *Food Biotechnology*, 5(2), 87–93.  
<https://doi.org/10.1080/08905439109549794>
- Yan, N., & Chen, X. (2015). Don't waste seafood waste: Turning cast-off shells into nitrogen-rich chemicals would benefit economies and the environment. *Nature*, 524, 155–157.
- Yan, X., Khor, E., & Lim, L.-Y. (2000). NII-Electronic Library Service. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 48(7), 941. <http://www.mendeley.com/research/geology-volcanic-history-eruptive-style-yakedake-volcano-group-central-japan/>
- Younes, I., Ghorbel-Bellaaj, O., Nasri, R., Chaabouni, M., Rinaudo, M., & Nasri, M. (2012). Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization. *Process Biochemistry*, 47(12), 2032–2039.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.07.017>
- Younes, I., Hajji, S., Rinaudo, M., Chaabouni, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2016). Optimization of proteins and minerals removal from shrimp shells to produce highly acetylated chitin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.034>
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174.  
<https://doi.org/10.3390/md13031133>
- Yu, I. K. M., Attard, T. M., Chen, S. S., Tsang, D. C. W., Hunt, A. J., Jérôme, F., Ok, Y. S., & Poon, C. S. (2019). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Value-Added Products and Thermochemical Synthesis of Platform Chemicals from Food Waste. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 7(2), 2821–2829.  
<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b06184>
- Zaeni, A., Safitri, E., Fuadah, B., & Sudiana, I. N. (2017). Microwave-Assisted Hydrolysis of Chitosan from Shrimp Shell Waste for Glucosamine Hydrochlorid Production. *Journal of Physics: Conference Series*, 846(1).  
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/846/1/012011>
- Zhang, H., Jin, Y., Deng, Y., Wang, D., & Zhao, Y. (2012). Production of chitin from shrimp shell powders using *Serratia marcescens* B742 and *Lactobacillus plantarum*

ATCC 8014 successive two-step fermentation. *Carbohydrate Research*, 362(May), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.09.011>

Zhang, L., & Wang, H. (2015). Multiple mechanisms of anti-cancer effects exerted by astaxanthin. *Marine Drugs*, 13(7), 4310–4330. <https://doi.org/10.3390/md13074310>

Zhao, J., Huang, G. R., Zhang, M. N., Chen, W. W., & Jiang, J. X. (2011). Amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant stability of shrimp processing byproduct hydrolysate. In *American Journal of Food Technology* (Vol. 6, Issue 10, pp. 904–913). <https://doi.org/10.3923/ajft.2011.904.913>

Zhou, M. M., Che, H. X., Huang, J. Q., Zhang, T. T., Xu, J., Xue, C. H., & Wang, Y. M. (2018). Comparative Study of Different Polar Groups of EPA-Enriched Phospholipids on Ameliorating Memory Loss and Cognitive Deficiency in Aged SAMP8 Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(7), 1–13. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700637>

**CAPÍTULO 2****HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO RESÍDUO DE CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*) COM AUXÍLIO DE ULTRASSOM**

Autores: José Stênio Aragão Rebouças Júnior, Juliana Machado Latorres, Vilásia Guimarães Martins, Carlos Prentice-Hernández (*in memoriam*), José Maria Monsserrat, Marcelo Borges Tesser.

,

Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Instituto de Oceanografia  
Universidade Federal do Rio Grande - FURG (PPGAq-IO-FURG)  
Rua do Hotel, nº2, Cassino, Rio Grande, RS, Brasil. CEP: 96210-030

Artigo redigido em formato de short communication a ser submetido

em anexo:

## **HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO RESÍDUO DE CAMARÃO-BRANCO-DO-PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*) COM AUXÍLIO DE ULTRASSOM**

José Stênio Aragão Rebouças Júnior<sup>1,2\*</sup>, Juliana Machado Latorres<sup>2</sup>, Vilásia Guimarães Martins<sup>2</sup>, Carlos Prentice-Hernández (em memória)<sup>1,2\*</sup>, José Maria Monserrat<sup>1,3</sup>, Marcelo Borges Tesser<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Estação Marinha de Aquicultura, Instituto Oceanográfico, Universidade Federal do Rio Grande, P.O. Box 474, Rio Grande, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, P.O. Box 474, RS, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Federal University of Rio Grande Grande, Rio Grande, P.O. Box 474, RS, Brazil

José Stênio Aragão Rebouças Júnior; ze.stenio2@gmail.com\*; <https://orcid.org/0000-0002-1991-5097>

Juliana Machado Latorres; julatorres@yahoo.com.br; <https://orcid.org/0000-0001-8997-7771>

Vilásia Guimarães Martins; vilasiamartins@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1374-8053>

Carlos Prentice-Hernández; carlos.prentice@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4679-3870> (em memória)

José Maria Monserrat; josemmonserrat@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9463-3049>

Marcelo Borges Tesser; mbtesser@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4818-9829>

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) do Brasil e à Coordenação Brasileira de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) [Código Financeiro 001].

### **CONFLITOS DE INTERESSE**

Os autores declaram que não há conflitos de interesse de estudo.

---

**Resumo**

---

O camarão-branco-do-Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) é o crustáceo mais comercializado no mundo, sendo metade de sua biomassa composta por cefalotórax e carapaça, sendo esses descartados durante seu processamento. Essa biomassa é uma fonte rica de proteína, lipídios, minerais, quitina e carotenoides. O objetivo desse trabalho foi verificar a ação do ultrassom na hidrólise enzimática dos subprodutos do camarão-branco-do-Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) extraídos a partir da hidrólise enzimática. Para a obtenção do hidrolisado foi utilizado 2% (enzima/substrato) do teor de proteína com a enzima Alcalase, em pH de 8,0, a uma temperatura de 55 °C durante uma hora. Previamente a etapa de hidrólise, foi realizado um tratamento com ultrassom (potência de 1 W/mL) em tempos variados de 5 minutos (T1), 10 minutos (T2), 15 minutos (T3) e um controle (T0) sem pré-tratamento de ultrassom, gerando assim 4 tratamentos. Foram realizadas análises de composição proximal, grau de hidrólise, teor total de carotenoides, poder redutor, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) do hidrolisado obtido. O tratamento ultrassônico conseguiu acelerar a curva cinética da hidrólise proteica, assim como alterar o grau de hidrólise de  $9,55 \pm 0,7$  para  $12,18 \pm 0,7\%$ . Foi possível concentrar de três a cinco vezes mais o teor de carotenoides totais dos subprodutos de camarão submetido a hidrólise enzimática, demonstrando o efeito positivo do tratamento ultrassônico. Os hidrolisados proteicos apresentaram crescente atividade antioxidante do poder redutor, assim como obteve a capacidade de eliminação do radical ABTS acima de 90% para 6 mg/mL e atividade decrescente de eliminação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) com o avanço da sonificação. O hidrolisado com melhor desempenho foi o T3 e obteve  $69,09 \pm 4,2\%$  de proteína,  $12,7 \pm 2,25\%$  de lipídios,  $11,91 \pm 4,2\%$  de carboidrato e  $393,29 \pm 30,00 \mu\text{g/g}$  de carotenoides.

**Palavras Chave:** Cefalotórax; exoesqueleto; sonificação; recuperação protéica; hidrolise enzimática; carotenóides; antioxidantes.

---

**Abstract**

---

Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is the most commercialized crustacean in the world, with half of its biomass composed of cephalothorax and shell, these being discarded during processing. This biomass is a rich source of protein, lipids, minerals, chitin and carotenoids. The objective of this work was to verify the action of ultrasound on the enzymatic hydrolysis of by-products of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) extracted from the enzymatic hydrolysis. To obtain the hydrolyzate, 2% (enzyme/substrate) of the protein content was used with the enzyme Alcalase, at pH 8.0, at a temperature of 55 °C for one hour. Previously to the hydrolysis stage, an ultrasound treatment (power of 1 W/mL) was performed at different times of 5 minutes (T1), 10 minutes (T2), 15 minutes (T3) and a control (T0) without pre-ultrasound treatment, thus generating 4 treatments. Analyzes of proximal composition, degree of hydrolysis, total carotenoid content, reducing power, antioxidant activity (DPPH and ABTS) of the obtained hydrolysate were carried out. Ultrasonic treatment was able to accelerate the kinetic curve of protein hydrolysis, as well as change the degree of hydrolysis from  $9.55 \pm 0.7$  to  $12.18 \pm 0.7\%$ . It was possible to concentrate three to five times more the total carotenoid content of shrimp by-products submitted to enzymatic hydrolysis, demonstrating the positive effect of ultrasonic treatment. The protein hydrolysates showed an increasing antioxidant activity of the reducing power, as well as the ability to eliminate the ABTS radical above 90% to 6 mg/mL and decreasing activity to eliminate the 2,2 – diphenyl – 1 – picrilhidrazil radical (DPPH) with the advancement of sonification. The best performing hydrolysate was T3 and obtained  $69.09 \pm 4.2\%$  protein,  $12.7 \pm 2.25\%$  lipids,  $11.91 \pm 4.2\%$  carbohydrate and  $393.29 \pm 30.00 \mu\text{g/g}$  of carotenoids.

**Keywords:** Cefalotórax; shell; sonification; protein recovery; enzymatic hydrolysate; carotenoids; antioxidants.

---

## INTRODUÇÃO

A produção mundial de camarão-branco-do-Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) alcançou 5 milhões de toneladas em 2020 (Food and Agriculture Organization, 2020). Durante o processamento do camarão é gerado muito resíduo, especialmente o cefalotórax e a carapaça (Sachindra, 2005), perfazendo de 45 até 70% do peso do animal (Mao et al., 2017; Sila et al., 2014). Por outro lado, esta biomassa pode apresentar aproximadamente 60% de proteína (Abreu et al., 2019), que poderia ser destinada para outras finalidades. O resíduo produzido geralmente é descartado irregularmente em aterros sanitários ou em bacias hidrográficas, causando diversos problemas e poluição ambiental, já que são ótimos substratos para o crescimento microbiano (Sindhua e Sherief, 2011; Yan e Chen, 2015). Nos anos recentes a aquicultura tem buscado novas fontes de proteína de baixo custo para substituir a farinha de pescado, que é um ingrediente escasso nas rações (Nunes et al., 2019).

Camarões e outros crustáceos são ricas fontes de proteínas, carotenoides, assim como várias outras biomoléculas de interesse econômico, como a astaxantina (Ya et al., 1991). Essas biomoléculas, como os peptídeos e carotenoides são conhecidos por apresentarem boas atividades antioxidantes (Djellouli et al., 2020). A astaxantina é um carotenoide de maior valor econômico, podendo alcançar valores aproximados de 7.000 US\$/kg (Routray et al., 2019) e é encontrada em abundância nos resíduos de crustáceos, onde geralmente essa molécula está complexada como uma carotenoproteína (Britton, *et al.*, 2012)

As carotenoproteínas são complexos estáveis originadas de interações entre lipoproteínas de alta densidade vinculadas com carotenoides. As carotenoproteínas são bem distribuídas entre invertebrados, mas especialmente em crustáceos elas estão distribuídas principalmente nos tecidos como gônadas, ovos, hepatopâncreas e no tegumento, principalmente nos cromatóforos, que são os tecidos comuns encontrados nos resíduos do processamento de camarão (Assis e Britto, 2008; Britton *et al.*, 2012). A produção de carotenoproteínas a partir de carapaça de camarão podem fornecer diversos suplementos funcionais, nutracêuticos (Mao et al., 2017), fármacos (Narayanasamy et al., 2020), podendo combater diabetes, hipertensão, doenças inflamatórias, neurodegenerativas (Idowu et al., 2020), e câncer (Suleria et al., 2016; Zhang et al., 2012).

Vários estudos têm sido realizados objetivando extrair os carotenóides em sua forma complexada carotenoproteína de forma mais eficiente (Rebeca *et al.* 1991; Armenta e Isabbl, 2009; Klomklao *et al.*, 2009; Senphan *et al.*, 2014). A hidrólise por meio de enzimas proteolíticas tem se mostrado uma técnica muito eficiente (Armenta-López *et al.*, 2002; Phuong *et al.*, 2017; Dun *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2019). Novas técnicas de extração utilizando ondas de ultrassom têm ganhado destaque devido à capacidade de causar mudanças estruturais, como deformações celulares ou ruptura na membrana celular que permitem maior penetração do solvente no tecido, assim aumentando a área de contato entre as fases sólida e líquida, e extraíndo uma quantidade maior do composto de interesse (Corrales *et al.*, 2008). O objetivo desse trabalho é verificar a ação do ultrassom como modulador na obtenção do hidrolisado proteico dos resíduos do camarão-branco-do-Pacífico (*Litopenaeus vannamei*).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Preparo dos subprodutos**

O exoesqueleto e o cefalotórax do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) foi fornecido pela Estação Marinha de Aquicultura (EMA), localizada na Praia do Cassino, Estado Rio Grande do Sul. O material foi levado ao LANOA (Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Os resíduos foram visualmente selecionados com relação à aparência, uniformidade, coloração e ausência de danos físicos, descartando as unidades indesejáveis. O material selecionado foi lavado com água corrente a fim de remover resíduos indesejados superficiais e sanitizados através da imersão em solução de cloro a 10 ppm durante 15 minutos, sendo a fração líquida descartada e a fração sólida armazenada em sacos de polietileno.

### **Obtenção do hidrolisado proteico**

A extração do hidrolisado proteico foi realizada de acordo com Sila *et al.* (2014) com algumas modificações. Foram utilizados 30 g de resíduo de camarão misturados com 30 mL de água em proporção 1:1 (m/v). Então, esta mistura foi submetida a 4 tratamentos com ultrassom com potencia de 1 W/ml em tempos variados de 5 min (T1), 10 min (T2), 15 min (T3) e um controle (T0) sem pré-tratamento de ultrassom. Os produtos da etapa anterior foram agitados a 500 rpm constantemente, aquecidos até 55 °C em um agitador (modelo KASVI K40-1820H) e estabilizados em pH 8,0 adicionando-se hidróxido de sódio (NaOH) com molaridade de 1M. Para o início da hidrólise foi



acrescentada a enzima Alcalase 2,4L Sigma-Aldrich em 2% da composição centesimal proteica da amostra. Após 1 hora de reação a mistura foi aquecida até 80°C durante 15 minutos para a desativação das enzimas. A fração líquida foi filtrada e ultra congelada (-96°C) no ultrafreezer (Panasonic), enquanto a fração sólida armazenada em freezer comum até o momento das demais análises. A fração líquida foi submetida a -96°C durante 48 horas e posteriormente levada ao Liofilizador (SL-405/E). O hidrolisado proteico liofilizado foi armazenado em freezer comum.

### **Determinação do Grau de hidrólise (GH)**

A determinação do grau de hidrólise (GH) seguiu a metodologia proposta por Sila et al. (2014), definido como a razão percentual entre o número de ligações peptídicas hidrolisadas ( $h$ ) e o número total de ligações peptídicas no substrato estudado ( $h_{tot}$ ), este foi calculado a partir da quantidade de base (NaOH) adicionada para manter o pH constante durante a hidrólise de acordo com a equação a seguir:

$$GH (\%) = \frac{h}{h_{hot}} \times 100 = \frac{B \times N_b}{MP} \times \frac{1}{\alpha} \times \frac{1}{h_{hot}} \times 100$$

Sendo:

$B$ : é a quantidade de NaOH consumida (mL) para manter o pH constante durante a reação;

$N_b$ : é a normalidade da base, assumindo o valor de 1,0082 N;

$MP$ : é a massa (g) de proteína da amostra;

$h_{hot}$ : é o número total de ligações peptídicas por grama, assumindo o valor de 9,22 meq/g;

$\alpha$ : é o grau médio de dissociação dos grupos  $\alpha - NH_2$  liberados durante a hidrólise, assumindo o valor de 0,8694.

### **Teor de Carotenoides Totais**

O teor de carotenoides totais foi analisado de acordo com a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2004). Foi pesado 0,1 g do hidrolisado e dissolvida em 10 mL de acetona sob agitação constante durante 30 min até completa homogeneização. A solução foi filtrada em papel filtro e acrescentada de 30 mL de éter de petróleo, sendo adicionado intercaladamente pequenas quantidades de água destilada (até 50 mL) e no final adicionado 2 g cloreto de sódio ficando em repouso por 15 minutos. A fase etérea foi separada e filtrada com sulfato de sódio. O extrato resultante foi levado ao

espectrofotômetro (Kasuaki), lida em absorvância de 450 nm e aplicado a seguinte equação para calcular o teor total de carotenoides:

$$C_{total} = \frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\%}^{1\text{cm}} \times m}$$

Onde:

A: é a absorvância do extrato;

V: é o volume total do extrato;

M: é a massa da amostra;

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ : Coeficiente de absorção.

### Atividade Antioxidante

#### Sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O potencial antioxidante na captura do radical DPPH foi realizado segundo o método descrito por Pires (2017). Foi preparado DPPH 394,32 g/mol, dissolvendo-se 4 g de DPPH em 50 mL de etanol. A solução foi utilizada para analisar as amostras em microplaca de 96 poros (Biotek Synergy HT). Os hidrolisados foram dissolvidos em etanol em diluições de 2, 4 e 6 mg/mL. A microplaca foi preparada utilizando 200 µL de solução DPPH mais 50 µL de amostra. Após deixá-las incubadas protegidas de luz por 30 min, foram lidas em microplacas com UV/vis a 517nm. Para o cálculo da atividade antioxidante do DPPH foi utilizada a equação:

$$DPPH(\%) = \frac{(Abs\ Controle\ DPPH - Abs\ amostra) \times 100}{Abs\ Controle\ DPPH}$$

Onde:

Abs Controle DPPH: é a absorvância da reação controle (com todos reagentes, exceto a amostra).

Abs amostra DPPH: é a absorvância da reação contendo a amostra.

#### Poder Redutor

A capacidade do hidrolisado proteico de reduzir o ferro (III) foi determinada de acordo com o método descrito por Yildirim, Mavi e Kara (2001). Uma alíquota de 1 mL

de cada hidrolisado em diferentes concentrações (2, 4 e 6 mg/mL) foi misturada com 2,5 mL de tampão fosfato de 0,2 M (pH 6,6) e 2,5 mL de solução de ferricianeto de potássio de 1% (p/v). As misturas foram incubadas por 30 min a 50 °C em estufa (Nova Ética). Após a incubação, foram adicionados 2,5 mL de 10% (p/v) ácido tricloroacético. Por fim, 2,5 mL da solução de cada mistura amostral foi misturada com 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico de 0,1 % (p/v). Após um tempo de reação de 10 minutos, a absorção dos solutos resultantes foi lida a 700 nm em espectrofotômetro (Kasuaki). Uma maior absorção da mistura de reação indicou maior poder de redução. O controle foi conduzido da mesma maneira, exceto que a água destilada foi usada em vez da amostra. Os valores apresentados são a média das análises que foram realizadas em triplicatas.

### **Captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico ABTS<sup>+</sup>**

A avaliação da captura do radical livre ABTS foi realizada de acordo com o método descrito por Chi et al, (2015). Foi preparado uma solução de ABTS em 7 mM com persulfato de potássio em 2,45 mM. A mistura foi armazenada em local com ausência de luz durante 16 h. Após isso a mistura foi diluída em etanol até atingir a absorbância de  $0,700 \pm 0,02$  lido a 734 nm em espectrofotômetro da Kasuaki. Um volume de 600  $\mu$ L da solução ABTS<sup>+</sup> foi misturada com 400  $\mu$ L das amostras em diferentes concentrações (2, 4 e 6 mg/mL). Após 10 minutos de reação, as soluções foram lidas em 734 nm. O poder antioxidante do hidrolisado foi calculado pela seguinte equação:

$$ABTS + (\%) = \frac{A_{controle} - A_{amostra}}{A_{controle}} \times 100$$

Onde:

$A_{controle}$ : é a absorbância da reação controle (com todos reagentes, exceto a amostra);

$A_{amostra}$ : é a absorbância da reação com a amostra.

### **Composição proximal**

O tratamento com a melhor desempenho, o tratamento T3, foi analisado sua composição centesimal junto com o resíduo do camarão. Para as análises de proteína, lipídeos e cinzas foram seguidas as metodologias propostas por AOAC (2000), enquanto carboidratos foi obtida pela diferença.

### **Análises Estatísticas**

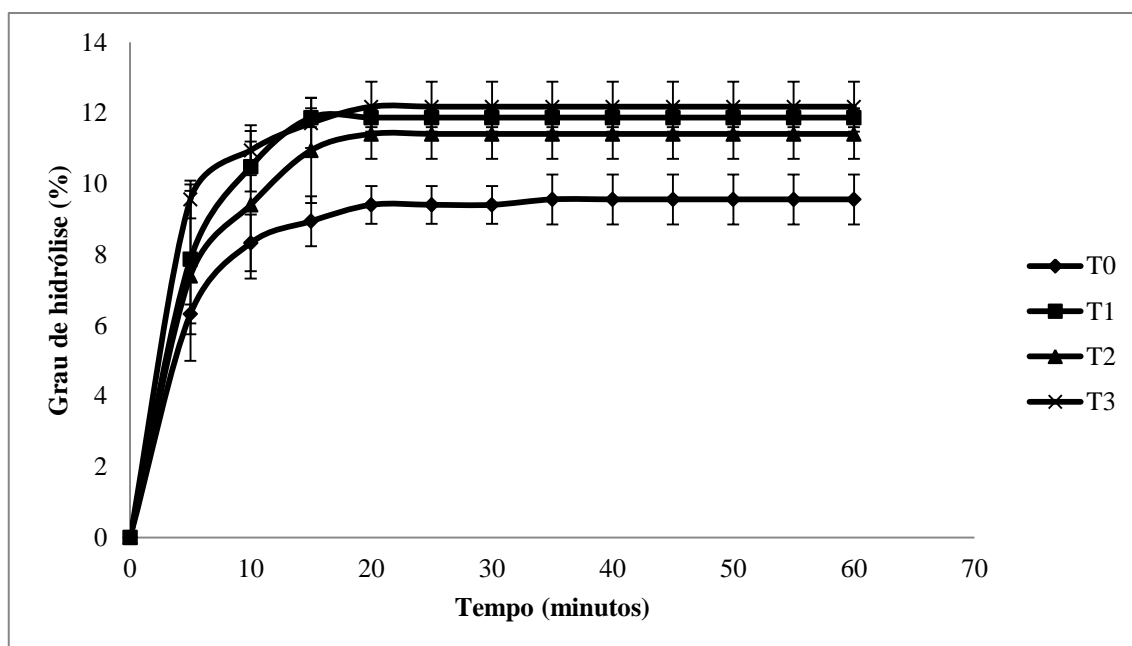
Para identificar possíveis diferenças entre os tratamentos foi utilizado o *t-student* nas análises das composições centesimais. Para teor de carotenoides totais utilizou-se a análise de variância (Anova) de uma via. Para as análises antioxidantes (Poder redutor, DPPH e ABTS) utilizou-se a Anova de duas vias, levando em consideração o tempo de ultrassom e as concentrações das amostras. Quando necessário foi aplicado o teste de Tukey a posteriori para detectar possíveis diferenças. Todos os testes foram realizados no nível de significância de 5%.

## **RESULTADOS**

### **Determinação do Grau de hidrólise (GH)**

A Figura 1 apresenta as curvas de hidrólise dos hidrolisados utilizando a enzima Alcalase e os diferentes tratamentos com ultrassom. Todos os tratamentos apresentaram maiores velocidades cinéticas nos 10 primeiros minutos. A curva teve estabilidade aparente aos 20 minutos de reação no tratamento controle (T0) e no tratamento T1, enquanto os demais tratamentos (T2 e T3) estabilizaram-se entre 15 minutos de reação. Após uma hora de reação T1 obteve grau de hidrólise de  $9,55\% \pm 0,71$ , sendo o menor valor obtido do experimento, sendo significativamente diferente dos demais tratamentos. No entanto, não foram observadas diferenças significativas na hidrólise enzimática entre os tratamentos T1 ( $11,86\% \pm 0,26$ ), T2 ( $11,40\% \pm 0,70$ ) e T3 ( $11,71\% \pm 1,16$ ).

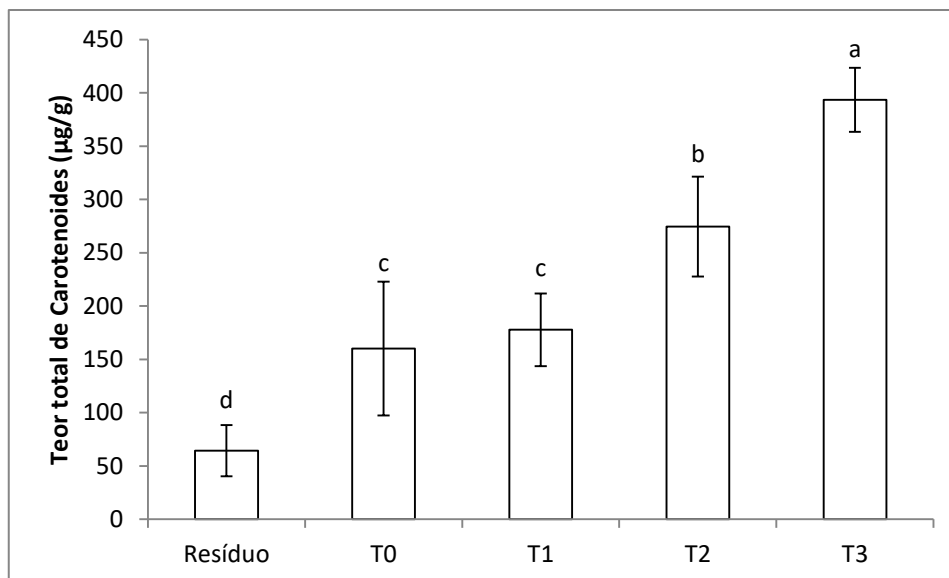
**Figura 1:** Grau de hidrólise para os diferentes tratamentos, sendo: T0: controle; T1: 5 minutos com ultrassom; T2: 10 minutos com ultrassom; T3: 15 minutos com ultrassom.



### Teor de Carotenoides Totais

A concentração de carotenoides totais no resíduo de camarão, bem como nos hidrolisados estão apresentados na Figura 2. O teor de carotenoides totais encontrado no resíduo de camarão em base seca foi triplicado após a hidrólise enzimática comparada ao T0. Não foi possível identificar diferenças significativas entre o tratamento controle (T0) e a sonificação de 5 minutos (T1). Já na sonificação de 10 (T2) e 15 minutos (T3) foi possível observar maior recuperação de carotenoides.

**Figura 2:** Teor total de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) presentes na matéria seca do resíduo de camarão e nos hidrolisados proteicos submetidos aos diferentes tratamentos, sendo: T0: controle; T1: 5 minutos com ultrassom; T2: 10 minutos com ultrassom; T3: 15 minutos com ultrassom.

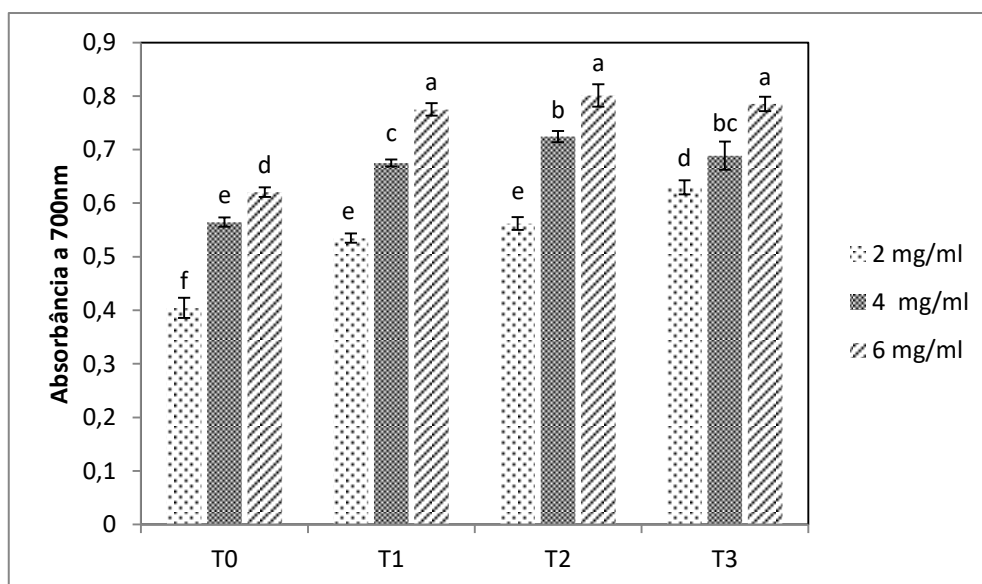


Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste Tukey.

### Poder Redutor

O resultado da ANOVA duas vias demonstrou haver efeito significativo para a interação entre tempo de sonicação e a concentração e os resultados podem ser observados na Figura. O tempo de sonicação conseguiu obter maior poder antioxidante. Esse efeito pode ser observado comparando o T0 de qualquer diluição (2, 3 e 6 mg/ml) com os tratamentos sonificados das respectivas concentrações. Foi possível observar que T3 em 2 mg/ml apresentou resultados de atividade antioxidante semelhante a T0 em 6 mg/ml. Na diluição de 6 mg/mL não foi possível identificar diferença significativa entre o tratamentos com ultrassom (T1, T2 e T3). Já a atividade antioxidante das diluições de 2 e 4 mg/mL indicaram que os tratamentos com ultrassom tiveram melhor desempenho que o controle sendo o tratamento T3 o de maior atividade antioxidante.

**Figura 3:** Poder redutor em diferentes concentrações (2, 4, 6 mg/ml) e tratamentos (T0: sem ultrassom; T1: tratamento com 5 minutos de ultrassom; T2: tratamento com 10 minutos de ultrassom; T3: tratamento com 15 minutos).

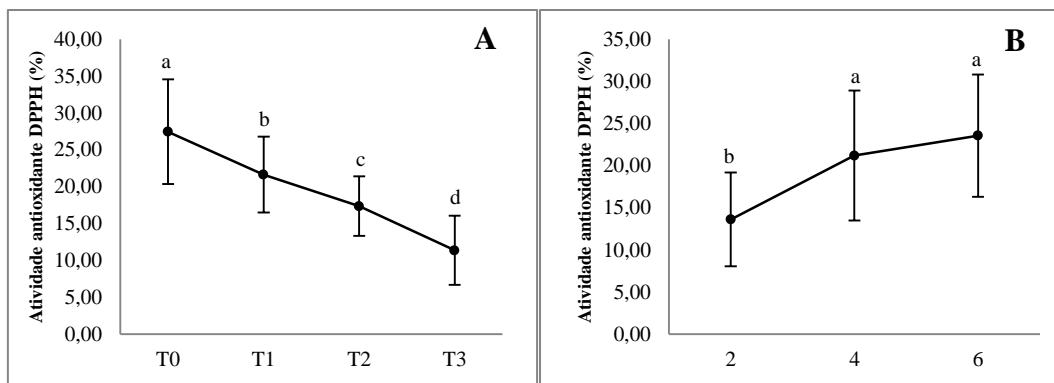


Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### Atividade antioxidante DPPH

Foi observado efeito significativo tanto da concentração da amostra quanto do tempo de sonificação sobre a atividade antioxidante de DPPH, mas não da interação entre as duas ( $p < 0,05$ ). A Figura 4 mostra dois gráficos ilustrando os resultados obtidos entre os tempos de sonificação e as concentrações. Foi observado um decréscimo no poder antioxidante para DPPH com o acréscimo do tempo de sonificação, mostrando que os tratamentos T0, T1, T2 e T3 são significativamente diferentes entre si para qualquer concentração. Enquanto existe um acréscimo de atividade antioxidante DPPH na concentração de 2 para 4 mg/ml mas não foi observado acréscimo de atividade antioxidante acima de 4 mg/ml.

**Figura 4: A:** Taxa média do sequestro de radical livre (DPPH) das todas as concentrações (2, 4 e 6 mg/mL) em cada tratamento (T0: sem ultrassom; T1: tratamento com 5 minutos de ultrassom; T2: tratamento com 10 minutos de ultrassom; T3: tratamento com 15 minutos de ultrassom). **B:** Taxa média de todos os tratamentos (T0, T1, T2 e T3) em cada concentração (2, 4 e 6 mg/mL).



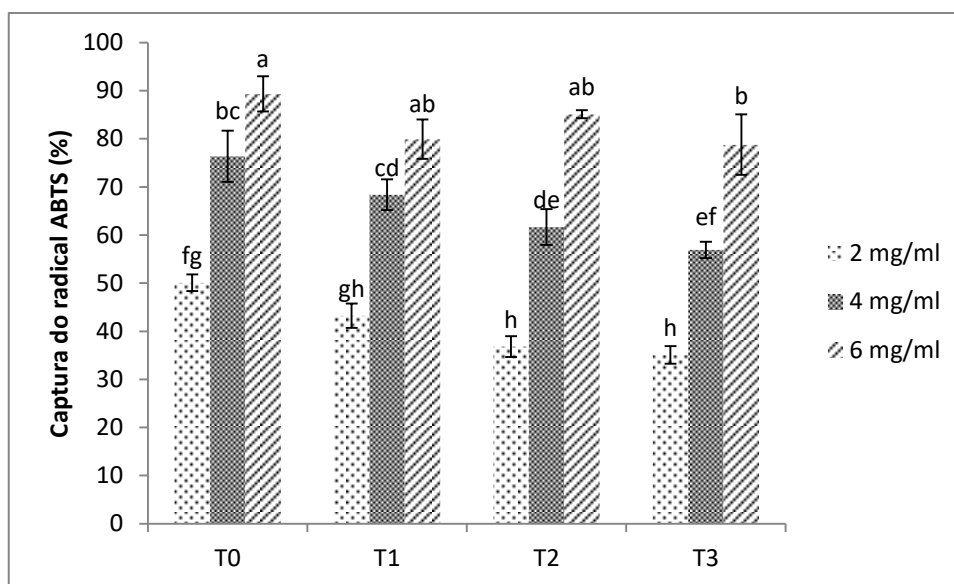
Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

### Atividade antioxidante ABTS<sup>+</sup>

Os resultados obtidos para a captura de radical ABTS<sup>+</sup> indicam alto poder antioxidante para todos os tratamentos e diluições testadas, podendo doar elétrons/hidrogênio a valores próximos ou superiores de 50% dos radicais presentes. Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) de atividade antioxidante na interação do tempo de sonificação com as concentrações analisadas. A Figura 5 apresenta os resultados obtidos entre os tratamentos. Os tratamentos obtiveram uma relação decrescente de sequestro de radical livre (ABTS<sup>+</sup>) ao sonificar e ao diluir as amostras. Esse efeito explica o T0, T1 e T2 em 6 mg/ml ser o grupo homogêneo com as maiores médias de atividade antioxidante e o grupo T1, T2 e T3 em 2 mg/ml obter as menores médias. Foi possível encontrar diferenças significativas até a concentrações de em 6 mg/ml, entretanto essa concentração obteve médias mais semelhantes comparadas as concentrações menores, esse efeito pode ter acontecido devido a saturação da reação com os radicais livres ABTS.

**Figura 5:** Captura de radical livre (ABST) entre os tratamentos: T0: tratamento controle (sem ultrassom); T1: tratamento com 5 minutos de ultrassom; T2: tratamento com 10 minutos de ultrassom; T3: tratamento com 15 minutos de ultrassom e em diferentes concentrações (2, 4, 6 mg/mL).





Letras diferentes indicam que há diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

### Composição proximal

A Tabela 1 apresenta os valores da composição proximal do resíduo do camarão (cefalotórax e carapaças) e do hidrolisado proteico (T3) que teve o melhor desempenho nas análises de antioxidante, grau de hidrólise e teor total de carotenoides. Como pode ser visto a diferença no teor de proteínas, lipídios, cinzas e principalmente de carboidratos. Houve aumento considerável no teor de proteínas e lipídios, sendo os resultados indicam a eficiência da recuperação da proteína. O percentual de carboidrato e cinzas decresceu, pois são compostos abundantes na carapaça do animal ao qual foi peneirado e separado da fração solúvel após as hidrólises. Parte dos minerais ainda observados na análise de composição proximal do hidrolisado proteico possa ser proveniente dos sais formados ao aplicar hidróxido de sódio para manter o pH durante a reação constante.

**Tabela 1:** Composição proximal do resíduo de camarão (*Litopenaeus vannamei*) em base seca e do hidrolisado proteico do tratamento T3.

	Proteína (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Carboidratos* (%)	Umidade (%)
<b>Resíduos</b>	57,34 ± 1,99 b	7,63 ± 0,37 b	17,04 ± 1,40 b	17,97 ± 2,56 b	71,89 ± 1,43
<b>Hidrolisado</b>	69,09 ± 3,93 a	12,75 ± 2,25 a	11,9 ± 1,16 a	6,23 ± 4,58 a	**

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste *t-student*.

\* Carboidratos foram calculados por diferença.

\*\* Produto liofilizado do tratamento T3.

## DISCUSSÃO

No processo de hidrólise é notável perceber uma curva onde em um determinado momento perde drasticamente a velocidade de reação até chegar a uma fase aparentemente estacionária. Esse perfil pode estar relacionado aos peptídeos de curta cadeia e aminoácidos livres que competem com os substratos das enzimas proteolíticas, causando um efeito competidor sobre as proteínas não hidrolisadas e desacelerando a reação proteolítica até o momento da hidrólise ter sido totalmente completa (Rebeca *et al.*, 1991). Há relatos de que pode-se demorar de 2 até 6 h para o completo processo de recuperação de proteína e hidrólise (Klomklao *et al.*, 2009; Senphan *et al.*, 2014; Ghorbel *et al.*, 2017; Hamdi *et al.*, 2020).

A alta velocidade de reação hidrolítica pode ter sido resultado da enzima comercial Alcalase utilizada em 2% (enzima/substrato). Senphan (2014) e Hamdi et al. (2020) relataram que a velocidade de reação da hidrólise e o teor de recuperação proteica dependem da concentração enzimática utilizada, porém esse aumento tem um limite de até 20 unidades/g (enzima/substrato), mais que esse limite não se obtém melhorias de reação e recuperação. Resultados de processos de recuperação de proteína da carapaça de *Penaeus monodon* utilizando a enzima Tripsina de *Pomatomus saltatrix* precisaram de aproximadamente uma hora para que a curva cinética perca velocidade de reação (Klomklao et al., 2009). Enquanto Ghorbel (2017) utilizou resíduo industrial de *Metapenaeus monoceros* com 4,5% (peso/substrato) de bactéria *Bacillus licheniformis* NH1 (produtora de alcalase), obtendo 10% de grau de hidrolis e estabilizando a reação após 500 minutos. Já ao utilizar 3% (enzima/substrato) de Alcalase e Pancreatina comerciais foi possível observar a estabilização da reação aos 10 primeiros minutos e alcançar 16% de grau de hidrólise com cefalotórax, exoesqueleto e cauda de *Xiphopenaues kroyeri* (Holanda e Netto, 2006), sendo esses resultados semelhantes ao presente trabalho.

A alta concentração de lipídeos no hidrolisado pode ter sido provocada pela alta presença de peptídeos com sítios hidrofóbicos capazes de reter lipídios (Daukšas et al., 2005). Este fato apresenta características antagônicas, uma podendo apresentar maior teor de carotenoides, já que são moléculas hidrofóbicas com alta afinidade por lipídios (Britton *et al.*, 2012), sendo uma excelente fonte de ácidos graxos poli-insaturados (Kotiya et al., 2019). Porém, o alto teor de lipídios tende a diminuir a estabilidade do hidrolisado (Etemadian et al. 2011).

Em extração enzimática exógenas com Alcalase e Pancreatina de resíduo industrial de camarão (*Xiphopenaeus kroyeri*) foi verificado valores de 91,7 µg/g de carotenoides, não possuindo diferenças significativas entre os graus de hidrólise de 6% e 12% (Holanda e Netto, 2006). A mesma autora afirmou ter observado maior quantidade de carotenoides presentes na fração insolúvel (resíduo pós-hidrólise) que no próprio hidrolisado proteico, sendo 70% dos carotenoides presentes na amostra proveniente da fração insolúvel (Holanda e Netto, 2006). A fração solúvel tende ainda a apresentar coloração alaranjada após o processo de hidrólise, isso acontece, pois os carotenoides, principalmente a astaxantina, ficam retidos em vesículas compostas por quitina e sais de cálcio, aos quais podem ser submetida a rupturas como ultrassom e tratamentos ácidos, como fermentação láctica (Armenta-López *et al.*, 2002).

Alguns autores utilizaram tratamentos ácidos e ultrassom afirmando ter otimizado a recuperação de carotenoides (Armenta-López *et al.*, 2002; Ogawa *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2019). A partir do cefalotórax de *Litopenaeus vannamei* foi recuperado 47,1 µg/g ao qual estima que 21,4 µg/g seja astaxantina e 15,8 de β-caroteno-5,6-epóxido (Ogawa *et al.*, 2007). Valores próximos de 500 µg/g de carotenóides foram recuperados a partir de enzimas endógenas de *Litopenaeus vannamei* em concentração enzimática de 20 U/g, temperatura de 60°C, durante 120 minutos (Senphan *et al.*, 2014). Outro autor conseguiu extrair 70% dos carotenoides presentes em cefalotórax de *Penaeus monodon* extraído pelo método de autólise em pH de 8,0, temperatura de 50°C, relação resíduo e água de 1:5 (w:w), durante 4 horas de extração (Sowmya *et al.*, 2011). Armenta-López *et al.* (2002) alcançou valores de 38,91 µg/g de carotenoides em hidrolisados proteicos obtidos a partir de cabeças de *Penaeus sp.* e enzimas (savinase, neutrase, alcalase e esperasse) e com fermentação láctica por meio de inoculação de *Lactobacillus*. Utilizando *Bacillus licheniformis* (produtor de Alcalase) também foi possível extrair a quitina do resíduo de cabeças de *Pandalus borealis* após um processo de desmineralização com ácidos orgânicos e hidrólise proteica (Guo *et al.*, 2019). Ao utilizar o método de ruptura celular com ultrassom (Cheng *et al.*, 2019) aperfeiçoou a extração de carotenoides a partir do resíduo de conchas do mexilhão dourado (*Chlamys nobilis*) de  $107.75 \pm 2.60$  µg/g para  $137.88 \pm 1.22$  µg/g.

Os carotenoides apresentam atividades antioxidantes para diversas análises, como: ABTS, FRAP, DPPH e metal quelante (Senphan *et al.*, 2014). Djellouli *et al.* (2020)

encontrou a maior atividade antioxidante em hidrolisados proteicos do suco de carapaça de *Litopenaeus vannamei* aquecidos em temperaturas de 180 °C. Os carotenóides presentes, em concentração de aproximadamente 50 µg/g, foram capazes de eliminar todos os radicais e ter o poder redutor em maior extensão quando foram utilizadas concentrações maiores que 5 mg/mL de hidrolisados (Sowmya *et al.*, 2011). Os resultados obtidos estão de acordo com Sowmya (2002) e Wu *et al.* (2003), que demonstram poder redutor positivo para processados de carotenoproteína comparado aos seus tratamentos controle obtidos a partir de resíduo de camarão. O efeito da atividade antioxidante do poder redutor foi inverso para Latorres *et al.*, (2018). Utilizando a enzima Alcalase o hidrolisado de 10% com cefalotórax e exoesqueleto obteve maior atividade antioxidante de comparado a hidrolisados com graus de hidrólises de 20% e hidrolisados obtidos a partir da enzima Protamex (Latorres *et al.*, 2018). Wu *et al.*, (2003) observou que a atividade antioxidante aumentou de acordo com o prosseguimento da hidrólise proteica para o poder redutor tanto para autólises quanto hidrólises proteicas, porém mesmo esse efeito não foi observado em outros tipos de análises antioxidantes.

Alguns autores também encontraram uma relação inversamente proporcional entre a o grau de hidrólise e a atividade antioxidante. Foi observado um decréscimo da atividade antioxidante DPPH de 10,7 para 5,2 eqv comparando o grau de hidrólise de 8% e 10%, analisando 5 mg/ml de hidrolisados a partir da bactéria *Bacillus licheniformis* (bactéria produtora de alcalase) e as enzimas Papaína, Alcalase e Neutrase (Ghorbel *et al.*, 2017). Hidrolisados proteicos obtidos a partir de Alcalase e Papaína com grau de hidrólise de 20% tiveram aproximadamente 3 vezes menos atividade antioxidante para o sequestro do radical livre (DPPH) comparado a hidrolisados com grau de hidrólise de 10%. De acordo com Shavandi *et al.* (2017), a habilidade de captura do radical depende da enzima utilizada na hidrólise e da concentração da proteína. Esse comportamento está associado com o comprimento e composição dos hidrolisados proteicos (Jemil *et al.*, 2014). Durante as primeiras horas de hidrólise uma grande variedade de peptídeos de cadeia curta, suas sequencias e aminoácidos livres são gerados dependendo da especificidade da enzima, sendo a mudança dessas estruturas um elemento que afeta a atividade antioxidante, por exemplo sequências com histidina tendem a ter altos valores antioxidantes (Wu *et al.*, 2003). Wu (2003) afirma que hidrólises realizadas com proteases são muito mais efetivas que hidrólises autolíticas na

produção de aminoácidos livres e peptídeos de cadeia curta. O mesmo autor observou a atividade antioxidante decrescer gradualmente após 10 h de hidrólise, correlacionando o resultado com as mudanças de peso molecular das proteínas (Wu *et al.*, 2013). Hidrolisados proteicos de cabeça de *P. monodon* apresentam uma grande variabilidade de aminoácidos (Tirosina, Metionina, Lisina, Arginina, Fenilalanina, Leucina, Isoleucina e Cisteína) aos quais arginina e leucina são os aminoácidos dominantes (Phuong *et al.*, 2017).

Os resultados antioxidantes para o radical livre ABTS estão de acordo com os encontrados por Senphan *et al.* (2014), que observou que os resultados são dependentes da concentração, sendo possível encontrar diferenças de atividade até 5 mg/mL. Pattanaik *et al.* (2020) observou um acréscimo de  $163.25 \pm 2.02$  para  $396 \pm 3.92$  mM Trolox/g ao hidrolisar carapaças de diferentes espécies utilizando a enzima Papaína. O autor explica que a alta concentração de carotenoides encontrada no exoesqueleto de *Penaeus styliifera* ( $114 \pm 0.03$  µg/mL) comparado ao *Nematopalemon tenuipe* ( $40.30 \pm 0.01$  µg/mL) foi responsável pelo ótimo desempenho antioxidante ABTS (Pattanaik *et al.*, 2020).

O hidrolisado obtido no experimento teve teor de proteínas e lipídios semelhante ao encontrado por (Abreu *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2019; Hamdi *et al.*, 2020; Holanda e Netto., 2006; Senphan *et al.*, 2014; Phuong *et al.*, 2017). Abreu *et al.* (2019) alcançou 73% através do processo de concentração proteica por ponto isoelétrico. Foram obtidos  $76,86\% \pm 0,19$  de proteína a partir de exoesqueleto e cefalotórax possuindo baixa concentração de lipídeos  $2,23 \pm 0,05$  utilizando a enzima Alcalase durante 3h (Holanda e Netto, 2006). A mesma autora observou que a Alcalase obteve 20% a mais de rendimento na recuperação de proteínas comparada a hidrólise utilizando pancreatina (Holanda e Netto, 2006). Valores de  $73,58 \pm 0,73$  de proteína e 21,87 de lipídeos por Senphan (2014) usando a enzimas endógenas do camarão (*Litopenaeus vannamei*) e Tripsina, ao quais os resultados mais se assemelham com o do presente trabalho.

Os trabalhos realizados com hidrolisados possuem valores de lipídeos bastante discrepantes, sendo relatado, por exemplo, valores de  $2,23 \pm 0,05\%$  utilizando cauda, exoesqueleto e cefalotórax (Holanda e Netto, 2006),  $11,5 \pm 0,4\%$  com cefalotórax,  $21,87 \pm 0,12\%$  apenas com exoesqueleto (Senphan *et al.*, 2014) e  $24,1 \pm 2,9\%$  (Abreu *et al.*, 2019). Assim como lipídeos, as cinzas também apresentam resultados diferentes,

chegando a valores como  $1,8 \pm 0,2\%$  utilizando exoesqueleto e cefalotórax (Abreu et al., 2019),  $8,7 \pm 0,3\%$  utilizando apenas o cefalotórax (Phuong et al., 2017) e  $17,89 \pm 1.12\%$  utilizando apenas exoesqueleto de camarão (Klomklao et al., 2009). Os autores não informam nenhuma relação entre a fração residual do animal utilizada para realizar as hidrólises com as respectivas composições centesimais encontradas, porém aparentemente podem ter alguma relação, principalmente com a fração lipídica do cefalotórax e minerais no exoesqueleto dos camarões. As composições de carboidrato corroboram com os resultados obtidos aproximados de 5% de diversos autores (Holanda e Netto, 2006; Klomklao et al., 2009; Guo et al., 2019).

## CONCLUSÃO

A aplicação de ultrassom de 15 minutos (T3) em potência de 1 W/mL obteve o melhor desempenho. O hidrolisado concentrou mais carotenoides, contendo alta atividade antioxidante, aumentou o grau de hidrólise e acelerou a velocidade de reação hidrolítica. Entretanto, o aumento da intensificação do tratamento com ultrassom provocou algumas alterações na atividade antioxidante do hidrolisado, tal efeito pode ter sido provocado pela liberação de peptídeos de curta cadeia e aminoácidos livres, sendo necessários estudos mais detalhados.

## REFERÊNCIAS

- Abreu, A. D. S., De Souza, M. M., Da Rocha, M., Wasielesky, W. F., & Prentice, C. (2019). Functional Properties of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) By-Products Protein Recovered by Isoelectric Solubilization/Precipitation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(6), 649–657. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1628151>.
- Armenta-López, R., Guerrero, L. I., & Huerta, S. (2002). Astaxanthin extraction from shrimp waste by lactic fermentation and enzymatic hydrolysis of the carotenoprotein complex. *Journal of Food Science*, 67(3), 1002–1006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09443.x>.
- Armenta, R. E., & Isabbl, G. L. (2009). Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6095–6100. <https://doi.org/10.1021/jf901083d>.
- Assis, O. B. G., & Britto, D. de. (2008). Processo básico de extração de quitinas e produção de quitosana a partir de resíduos da carcinicultura. *Revista Brasileira de Agrociencia*, 14(1), 91–100. <https://doi.org/10.18539/cast.v14i1.1417>

- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (2012). *Carotenoids: HandBook* (4th ed.). Birkhäuser..
- Cheng, D., Zhang, Y., Liu, H., Zhang, H., Tan, K., Ma, H., Li, S., & Zheng, H. (2019). An improving method for extracting total carotenoids in an aquatic animal *Chlamys nobilis*. *Food Chemistry*, 280 (May 2018), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.043>.
- Chi, C. F., Hu, F. Y., Wang, B., Li, T., & Ding, G. F. (2015). Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle. *Journal of Functional Foods*, 15, 301–313. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.045>.
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., & Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(1), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.002>
- Daukšas, E., Falch, E., Šližyte, R., & Rustad, T. (2005). Composition of fatty acids and lipid classes in bulk products generated during enzymic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, 40(8), 2659–2670. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.12.012>.
- Djellouli, M., López-Caballero, M. E., Arancibia, M. Y., Karam, N., & Martínez-Alvarez, O. (2020). Antioxidant and Antimicrobial Enhancement by Reaction of Protein Hydrolysates Derived from Shrimp By-Products with Glucosamine. *Waste and Biomass Valorization*, 11(6), 2491–2505. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00607-y>.
- Dun, Y., Li, Y., Xu, J., Hu, Y., Zhang, C., Liang, Y., & Zhao, S. (2019). Simultaneous fermentation and hydrolysis to extract chitin from crayfish shell waste. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 420–426. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.088>.
- Food and Agriculture Organization. (2020). *Fishery and Aquaculture Statistics. Global production by production source 1950-2018 (FishstatJ)*. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy. [www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en](http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en).
- Ghorbel-Bellaaj, O., Jellouli, K., & Maalej, H. (2017). Shrimp processing by-products protein hydrolysates: Evaluation of antioxidant activity and application in biomass and proteases production. *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(4), 287–297.

- <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1334766>.
- Guo, N., Sun, J., Zhang, Z., & Mao, X. (2019). Recovery of Chitin and Protein from Shrimp Head Waste by Endogenous Enzyme Autolysis and Fermentation. *Journal of Ocean University of China*, 18(3), 719–726. <https://doi.org/10.1007/s11802-019-3867-9>.
- Hamdi, M., Nasri, R., Dridi, N., Li, S., & Nasri, M. (2020). Development of novel high-selective extraction approach of carotenoproteins from blue crab (*Portunus segnis*) shells, contribution to the qualitative analysis of bioactive compounds by HR-ESI-MS. *Food Chemistry*, 302(July 2019), 125334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125334>.
- Holanda, H. D., & Netto, F. M. (2006). Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Science*, 71(5), 298–303. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00040.x>
- Idowu, A. T., Igiehon, O. O., Idowu, S., Olatunde, O. O., & Benjakul, S. (2020). Bioactivity Potentials and General Applications of Fish Protein Hydrolysates. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10071-1>.
- Klomklao, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H., & Simpson, B. K. (2009). Extraction of carotenoprotein from black tiger shrimp shells with the aid of bluefish trypsin. *Journal of Food Biochemistry*, 33(2), 201–217. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00213.x>.
- Kotiya, A. S., Vadher, K. H., Bhatt, A. J., & Dave, T. (2019). Comparison of proximate composition level in *Litopenaeus vannamei* cultured in various Stocking density during summer crop in province of Gujarat states in India. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(5), 59–72.
- Latorres, J. M.; Rios, D. G.; Saggiomo, G.; Wasielesky, W.; Prentice-Hernandez, C. (2017). Functional and antioxidant properties of protein hydrolysates obtained from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Food Science and Technology*, (), -. doi:10.1007/s13197-017-2983-z.
- Mao, X., Guo, N., Sun, J., & Xue, C. (2017). Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143, 814–823. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.042>.
- Narayanasamy, A., Balde, A., Raghavender, P., Shashanth, D., Abraham, J., Joshi, I., & Nazeer, R. A. (2020). Isolation of marine crab (*Charybdis natator*) leg muscle



- peptide and its anti-inflammatory effects on macrophage cells. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25 (February), 101577. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101577>.
- Nunes, A. J. P., Sabry-Neto, H., Oliveira-Neto, S., & Burri, L. (2019). Feed preference and growth response of juvenile *Litopenaeus vannamei* to supplementation of marine chemoattractants in a fishmeal-challenged diet. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(6), 1048–1063. <https://doi.org/10.1111/jwas.12648>
- Ogawa, M., Maia, E. L., Fernandes, A. C., Nunes, M. L., Oliveira, M. E. B. de, & Freitas, S. T. (2007). Resíduos do beneficiamento do camarão cultivado: obtenção de pigmentos carotenóides. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(2), 333–337. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612007000200022>.
- Phuong, P. T. D., Minh, N. C., Cuong, H. N., Van Minh, N., Han, N. T., Van Hoa, N., Yen, H. T. H., & Trung, T. S. (2017). Recovery of protein hydrolysate and chitosan from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) heads: approaching a zero waste process. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1850–1856. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2616-6>.
- Rebeca, B. D., Peña-Vera, M. T., & Díaz-Castañeda, M. (1991). Production of Fish Protein Hydrolysates with Bacterial Proteases; Yield and Nutritional Value. *Journal of Food Science*, 56(2), 309–314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb05268.x>.
- Routray, W., Dave, D., Cheema, S. K., Ramakrishnan, V. V., & Pohling, J. (2019). Biorefinery approach and environment-friendly extraction for sustainable production of astaxanthin from marine wastes. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(4), 469–488. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1573798>.
- Rodriguez-Amaya D. B., & Kimura, M. (2004). Handbook for Carotenoid Analysis. *Transportation Research Record: Journal of the Transportation Research Board*, 2068(1), 71–77. <https://doi.org/10.3141/2068-08>.
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2005). Carotenoids in different body components of Indian shrimps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(1), 167–172. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1977>.
- Senphan, T., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2014). Characteristics and antioxidative activity of carotenoprotein from shells of Pacific white shrimp extracted using hepatopancreas proteases. *Food Bioscience*, 5, 54–63.

- <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.11.004>.
- Sila, A., Sayari, N., Balti, R., Martinez-Alvarez, O., Nedjar-Arroume, N., Moncef, N., & Bougatef, A. (2014). Biochemical and antioxidant properties of peptidic fraction of carotenoproteins generated from shrimp by-products by enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 148, 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.146>
- Sindhua, S., & Sherief, P. M. (2011). Extraction, Characterization, Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Carotenoids from the Shell Waste of Arabian Red Shrimp *Aristeus alcocki*, Ramadan 1938. *The Open Conference Proceedings Journal*, 2(1), 95–103. <https://doi.org/10.2174/2210289201102010095>.
- Sowmya, R., Rathinaraj, K., & Sachindra, N. M. (2011). An Autolytic Process for Recovery of Antioxidant Activity Rich Carotenoprotein from Shrimp Heads. *Marine Biotechnology*, 13(5), 918–927. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9353-4>.
- Suleria, H. A. R., Gobe, G., Masci, P., & Osborne, S. A. (2016). Marine bioactive compounds and health promoting perspectives; innovation pathways for drug discovery. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.019>.
- Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36(9–10), 949–957. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00104-2).
- Ya, T., Simpson, B. K., Ramaswamy, H., Yaylayan, V., Smith, J. P., & Hudon, C. (1991). Carotenoproteins from lobster waste as a potential feed supplement for cultured salmonids. *Food Biotechnology*, 5(2), 87–93. <https://doi.org/10.1080/08905439109549794>.
- Yan, N., & Chen, X. (2015). Don't waste seafood waste: Turning cast-off shells into nitrogen-rich chemicals would benefit economies and the environment. *Nature*, 524, 155–157.
- Zhang, H., Jin, Y., Deng, Y., Wang, D., & Zhao, Y. (2012). Production of chitin from shrimp shell powders using *Serratia marcescens* B742 and *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 successive two-step fermentation. *Carbohydrate Research*, 362 (May), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.09.011>.