



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NILTON DE ANDRADE ANTONINO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE QUITINA E
QUITOSANA DE EXOESQUELETOS DE CAMARÕES
ORIUNDOS DA INDÚSTRIA PESQUEIRA PARAIBANA**

JOÃO PESSOA - PB

Março de 2007

NILTON DE ANDRADE ANTONINO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE QUITINA E
QUITOSANA DE EXOESQUELETOS DE CAMARÕES
ORIUNDOS DA INDÚSTRIA PESQUEIRA PARAIBANA.**

**Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Química (Química Inorgânica).**

**ORIENTADORES: Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza
Prof. Dr. José Estrela dos Santos**

JOÃO PESSOA - PB

2007

A635o Antonino, Nilton de Andrade.

Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundo da indústria pesqueira paraibana / Nilton de Andrade Antonino. – João Pessoa, 2007.

88p. : il.-

Orientador: Antonio Gouveia de Souza; José Estrela dos Santos.

Dissertação (mestrado) UFPB/CCEN

1. Camarão. 2. Quitina. 3. Quitosana. 4. Grau de Desacetilação.

UFPB/BC.

CDU 639.512.5(043)

**“Otimização do Processo de Obtenção de Quitina e
Quitosana de Exoesqueletos de Camarões Oriundo
da Indústria Pesqueira Paraibana”**

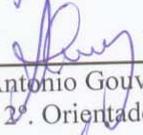
Nilton Andrade Antonino

Aprovada em 09 de março de 2007

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. José Estrela dos Santos
Orientador



Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza
2º. Orientador



Prof. Dr. Carlos Davidson Pinheiro
Examinador



Profa. Dra. Marta Célia Dantas Silva
Examinador

Dedico este trabalho aos meus filhos, minha esposa e a
minha mãe que me deram força e incentivo para a
realização desta obra.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Antônio Gouveia de Souza pela orientação e a oportunidade de realizar esse trabalho;

Ao professor Dr. José Estrela dos Santos por acompanhar todo o trabalho, de maneira muito gentil;

Especialmente as professoras Dr^a Fabíola, Dr^a Marta Célia pela contribuição valiosa;

Ao professor Dr. Francisco Sávio pela contribuição valiosa;

Ao professor Dr. Glimaldo Marino pela sua contribuição;

Às professoras Dr^a Iêda Garcia, Dr^a Marta Maria pela colaboração;

Aos amigos Jailsom Machado, Fagner Ticiano, Geuza Albuquerque, José Ricardo, Manuel Dantas, Carlos Cristiano, Marcos Pequeno, Marcos Barros, Roberlúcia, Hermesson Jales, Antônio Vasconcelos, Rogério, Lucia, Alcineia, Josué, Givanildo, Inácio Mamede, Dênis e Raul.

A todos os colegas que fazem e fizeram parte da equipe do LACOM;

Ao CNPq pela concessão da bolsa;

De maneira especial aos meus filhos e a minha esposa, Nalbertb Guimarães Antonino, Ana Beatriz Guimarães Antonino e Elisandra Silva Guimarães;

De todo coração a minha mãe, Noêmia Cezar Andrade e aos meus irmãos e familiares;

A INBRAPEL pelo fornecimento da matéria-prima, para realização deste trabalho.

“O senhor é a minha força e o meu escudo;
Nele confio o meu coração, e sou socorrido;
Pelo que o meu coração salta de prazer, e com o
meu canto o louvarei”

Salmos 27.7

RESUMO

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE QUITINA E QUITOSANA DE EXOESQUELETOS DE CAMARÕES ORIUNDOS DA INDÚSTRIA PESQUEIRA PARAIBANA

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, após a celulose, estando presente principalmente em exoesqueletos de crustáceos. A quitosana, um outro polissacarídeo, é obtida a partir da desacetilação parcial da quitina. Em virtude da importância destes biopolímeros, o presente trabalho foi proposto com o objetivo de obter quitina e quitosana a partir de cefalotórax de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*. Todos os biopolímeros foram caracterizados por análise térmica (TG e DSC), Análise Elementar, Difração de Raios X (DRX) e Espectroscopia na região do Infravermelho (IV). Também foram obtidas fotomicrografias (MEV) em diferentes ampliações com a finalidade de verificar possíveis alterações morfológicas das amostras. A análise térmica (TG e DSC) foi utilizada para determinar a eficiência do processo de desmineralização das cascas de camarão (TG), bem como avaliar a estabilidade térmica de quitina e quitosana (TG e DSC). A análise elementar constitui uma técnica eficiente para determinar a relação carbono/nitrogênio, mostrando que o teor de nitrogênio da quitosana C é muito próximo da quitina, indicando baixo grau de desacetilação (GD). Estes dados foram confirmados com a técnica de difração de raios X, que descreve a cristalinidade relativa desses polímeros. A espectroscopia de absorção na região do infravermelho identificou o principal grupamento funcional presentes nas amostras de quitina e quitosana. A Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio ($^1\text{H-RMN}$) e a titulação condutimétrica foram usadas para determinar o grau médio de desacetilação (\overline{GD}) das amostras de quitosanas e verificar possíveis interferências de contaminantes nas amostras. O grau de desacetilação (\overline{GD}) apresenta valores acima de 89%, com exceção da quitosana B que possivelmente tenha ocorrido degradação, provocada por hidrólise ácida. A massa molar média (\overline{M}) da quitosana C obtida pela viscosidade intrínseca, apresenta valor de $2,12 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$, indicando que a quitosana não sofreu degradação na cadeia polimérica.

Palavras-chave: Quitina, Quitosana, Grau de desacetilação

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF OBTAIN OF CHITIN AND CHITOSAN FROM OF SHRIMP EXOSKELETONS DERIVED OF THE PARAIBANA FISHING INDUSTRY

Chitin is the second more abundant polysaccharide in the nature, after the cellulose, being mainly present in the crustaceans exoskeletons. Chitosan, another polysaccharide, is obtained starting from the partial deacetylation of chitin. In virtue of the importance of these biopolímeros, the present work has been proposed with the objective of obtaining chitin and chitosan from shrimp cefalotórax of the *Litopenaeus vannamei* species. All the biopolímeros were characterized by thermal analysis (TG and DSC), Elementary Analysis, X-ray study diffraction (XRD) and infrared region spectroscopy (IR). They were also obtained photomicrographs (SEM) in different amplifications with the intention to verify possible morphologic alterations of the samples. The thermal analysis (TG and DSC) was used to determine the efficiency of the process of demineralization of the shrimp shell (TG), as well as to evaluate the thermal stability of chitin and chitosan (TG and DSC). Elementar analyzer it constitutes an efficient technique to determine the carbon/nitrogen relationship, showing that the amount of nitrogen of the chitosan C is very next of the chitin, indicating low degree of desacetylation (DD). These data were confirmed with the technique of X-ray study diffraction (XRD), that describes the relative crystallinid of those polymers. The absorption spectroscopy in the infrared region identified the principal functional group present in the chitin and chitosan samples. The Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and the conductimetric titration were used to determine the medium degree of desacetylation (\overline{DD}) of the chitosan samples and verify possible of contaminates in the samples. The degree of desacetylation present above 89%, except for the chitosan B possibly has happened degradation, provoked for acid hidrolise. The average mass molar (\overline{M}) of the chitosan C obtained by the intrinsic viscosity, it presents value of $2.12 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$, indicating that the chitosan didn't suffer degradation in the polymeric chain.

Key-words: chitin, chitosan, degree of desacetylation

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Estruturas polimórficas da quitina.....	17
Figura 1.2. Estruturas da quitosana.....	18
Figura 1.3. Representação esquemática das estruturas da (a) Celulose, (b) quitina e (c) quitosana.....	20
Figura 3.1. Curvas típicas dos métodos termodinâmicos (a) TG dinâmico, (b) TG isotérmico e (c) TG quase-isotérmico.	29
Figura 3.2. Esquema de um aparelho de Análise Térmica Diferencial.	32
Figura 3.3. Gráfico genérico de η_{red} e η_{in} em função da concentração, onde a extrapolação até a concentração zero fornece o valor da viscosidade intrínseca $[\eta]$	36
Figura 4.1. (a) Esquema representativo da morfologia externa do camarão marinho e (b) Região do cefalotórax do camarão <i>Litopenaeus Vannamei</i>	39
Figura 4.2. Esquema simplificado do processo de obtenção da quitina e quitosana.....	41
Figura 5.1. (a) Curvas TG/DTG de casca de camarão cinza, (b) Material desmineralizado a $0,25\text{mol.L}^{-1}$, $0,50\text{mol.L}^{-1}$ e $1,0\text{mol.L}^{-1}$	51
Figura 5.2. Curvas TG/DTG da amostra de quitina-A.....	51
Figura 5.3. Curvas TG/DTG da amostra de quitina-B.....	52
Figura 5.4. Curvas TG/DTG da amostra de quitina-C.....	53
Figura 5.5. Curvas TG sobrepostas das amostras de quitosanas A, B e C.....	53
Figura 5.6. Curvas TG/DTG da amostra de quitosana A.....	54
Figura 5.7. Curvas TG/DTG da amostra de quitosana B.....	55
Figura 5.8. Curvas TG/DTG da amostra de quitosana C.....	55
Figura 5.9. Curva DSC de casca de camarão.	57
Figura 5.10. Curvas DSC das amostras de quitinas A, B e C.....	57
Figura 5.11. Curvas DSC das amostras de quitosanas A, B e C.....	59
Figura 5.12. Difrátograma de raios X das amostras de quitina e quitosana A, B e C.....	61
Figura 5.13. Espectro na região do infravermelho obtido para amostras de quitina A, B e C.....	63
Figura 5.14. Espectro na região do infravermelho obtido para as amostras de quitosana A, B e C.....	64
Figura 5.15. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ da quitosana A.	67
Figura 5.16. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ da quitosana B.	68
Figura 5.17. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ da quitosana C.	69
Figura 5.18. Curvas condutimétrica das amostras de quitosanas A, B e C.....	71
Figura 5.19. Curva de viscosidade reduzida e viscosidade inerente versus concentração da solução de quitosana C.....	73
Figura 5.20. Fotomicrografia de uma amostra de asca de camarão A= 300 X; B=700 X; C=1500 X e D=400 X.	75
Figura 5.21. Fotomicrografia de quitina, A= 200 X; B=500 X; C=1300 X e D=1500 X.	76
Figura 5.22. Fotomicrografia de quitosana, A= 600 X; B=627 X; C=700 X e D=2000 X.	77

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 Áreas de emprego de quitina e quitosana	25
Tabela 3.2 Principais Técnicas da Análise Térmica.....	27
Tabela 4.1 Reagentes Utilizados nesse trabalho.....	39
Tabela 5.1 Percentuais de Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e relação C/N.	60
Tabela 5.2 Índices de Cristalinidades e Grau de Desacetilação.	61
Tabela 5.3 Os principais grupos funcionais e atribuições vibracionais dos biopolímeros Quitina e Quitosana.	65
Tabela 5.4 Equações das retas para as curvas de titulações condutimétricas das quitosanas A, B e C.	70
Tabela 5.5 Valores de viscosidade intrínseca ($[\eta]$), constante de Huggins (K_H), constante α e massa molar viscosimétrica média (\bar{M}) determinada para amostra de quitosana C.	72

NOMENCLATURA

TG – Termogravimetria;

DTG – Termogravimetria Derivada;

DTA – Análise Térmica Diferencial;

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial;

^1H -RMN – Ressonância Magnética Nuclear de Próton;

IV- Espectroscopia Eletrônica de Infravermelho;

\overline{GD} – Grau Médio de Desacetilação

\overline{GA} – Grau Médio de Acetilação

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

D_2O – Água Deuterada

H - Ac – Núcleo de Hidrogênio do Grupo Acetamido

$|E_R| / \%$ – Erro Relativo

$\% I_{CR}$ – Índice de Cristalinidade relativa

I_C – Intensidade Cristalina

I_A – Intensidade Amorfa

H_{2-6} – Núcleos dos hidrogênios ligados aos carbonos 2, 3, 4, 5 e 6

HDO – Água monodeuterada

NaA_C – Acetato de sódio

HA_C – Ácido acético

Δm – Massa da amostra.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABELAS

NOMENCLATURA

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Fontes de quitina e quitosana	13
1.2 Histórico	14
1.3 Aspectos físicos e químicos da quitina e quitosana	16
1.3.1 Quitina	16
1.3.2 Quitosana	17
1.4 Obtenção: Quitina e Quitosana	18
1.4.1 Quitina	18
1.4.2 Quitosana	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivos específicos	22
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
3.1 Aplicações de Quitina e Quitosana	25
3.2 Análise Térmica	26
3.2.1 Definição e história	26
3.2.2 Técnicas Termoanalíticas	27
3.2.2.1 Termogravimetria (TG)	28
3.2.2.2 Termogravimetria Derivada (DTG)	31
3.2.2.3 Análise Térmica Diferencial (DTA)	32
3.2.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	34
3.2.3 Fatores que podem influenciar nas curvas termogravimétricas	35
3.2.4 Viscosimetria	36
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	39
4.1 Reagentes e Soluções	39
4.2 Lavagem e moagem das cascas de Camarão (<i>Litopenaeus Vannamei</i>)	40
4.3 Técnicas de Caracterização	45
4.3.1 Medidas Termogravimétricas (TG)	45
4.3.2 Medidas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	45
4.3.3 Análise Elementar	46
4.3.4 Difração de Raios X (DRX)	46
4.3.5 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)	46
4.3.6 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (¹ H - RMN)	46
4.3.7 Titulação Condutimétrica	47
4.3.8 Medidas de Viscosidade	47
4.3.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1 Análise Térmica	50

5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial.....	56
5.3 Análise Elementar	59
5.4 Difratoograma de Raios X.....	60
5.5 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	61
5.5.1 Quitina	61
5.5.2 Quitosana	63
5.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (¹ H-RMN).....	65
5.7 Titulação condutimétrica	69
5.8 Medidas de Viscosidade	71
5.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	73
6. CONCLUSÕES	79
7. SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

Capítulo 1

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fontes de quitina e quitosana

A biomassa vem sendo vista com grande interesse pelos cientistas em função de ser uma fonte renovável de energia e fonte de matéria-prima industrial. A celulose, polissacarídeo produzido pela fotossíntese das plantas, compõe boa parte da biomassa. Em segundo lugar, encontra-se a quitina, um polissacarídeo encontrado em animais marinhos, insetos e fungos. A quitina é encontrada principalmente em exoesqueletos de crustáceos e nas paredes celulares de alguns fungos. A reutilização dessa substância química é muito importante do ponto de vista ambiental e econômico, porque além de eliminar os resíduos da indústria pesqueira, o custo final de produção é reduzido em cerca de 60% (MATHUR e NARANG, 1990).

Atualmente, toda quitina produzida comercialmente é obtida a partir de carapaças de caranguejos e cascas de camarões, oriundos de resíduos da indústria de processamentos desses crustáceos enquanto alimentos. Nestes materiais, a quitina está associada com proteínas, materiais inorgânicos, pigmentos e lipídeos. Os exoesqueletos de crustáceos podem apresentar entre 15-20% de quitina, 25-40% de proteínas e 40-55% de carbonatos de cálcio e dependendo do método, pode-se também recuperar a astaxantina, um carotenóide que é usado na indústria como corante (MATHUR e NARANG, 1990).

A quitina é um pó amarelado que apresenta estrutura cristalina ou amorfo, insolúvel em água, solvente orgânico e em alguns ácidos e bases diluídas. Em ácidos minerais concentrados ocorre degradação da cadeia polimérica. Uma das poucas tentativas de solubilizar a quitina é empregar uma solução de N,N-dimetil acetamida contendo 5% de cloreto de lítio ou empregando uma solução concentrada à quente de tiocianato de lítio, precipitando a quitina, em seguida pela adição de água, álcool ou acetona (MATHUR e NARANG, 1990).

Varias companhias produzem quitina e quitosana em escala comercial, a maioria delas localizadas no Japão, onde mais de 100 bilhões de toneladas de quitosana é produzida anualmente a partir de exoesqueletos de caranguejos e camarões, uma quantidade que corresponde aproximadamente 90% da quitosana produzida no mundo (aproximadamente 4 trilhões de toneladas por ano). Somente a produção de crustáceos

nos Estados Unidos (150.000 t de camarão, 25.000 t de lagosta e 85.000 t de caranguejos) é capaz de fornecer matéria-prima para produção de aproximadamente 15.000t de quitina todo ano. No Brasil, não existe dados sobre a produção de carapaças como resíduo da indústria pesqueira (TSIGOS *et al.*, 2000; CRAVEIRO *et al.*, 1999).

1.2. Histórico

A quitina foi isolada pela primeira vez em 1811 por Braconnot, quando trabalhava com fungos. Em seu trabalho, o autor afirmou que os mesmos continham uma nova substância que, em sua opinião, o novo composto era completamente distinto da encontrada nas madeiras (KNORR, 1991).

Odier em 1823 isolou uma substância insolúvel contida na armadura/carapaças dos insetos, a qual passou a chamá-la de quitina, que em grego quer dizer túnica, envelope ou cobertura. Embora tenha falhado em não detectar nitrogênio na composição, foi o primeiro a relatar a semelhança entre as substâncias suportes presentes na armadura dos insetos e nos tecidos vegetais. Existem dúvidas se ele tinha conhecimento da substância encontrada por Braconnot nos fungos, pois neste e em trabalhos posteriores, ele não fez referência sobre trabalhos anteriores. Posteriormente, Odier também observou a presença de quitina na carapaça de caranguejo e sugeriu que ela seria o material básico na formação do exoesqueleto de todos os insetos e possivelmente dos aracnídeos. Entretanto, só mais tarde, em 1843, Payen detectou a presença de nitrogênio na quitina (ROBERTS, 1992).

Os pesquisadores da época Odier e Children relataram que, isolaram a quitina com múltiplos tratamentos com soluções de hidróxido de potássio concentrado. Isto pode ter sido um problema, porque na realidade eles devem ter obtido quitosana ao invés de quitina, pois a quitina ao ser tratada em meio alcalino concentrado pode sofrer desacetilação. No entanto, a quitosana foi descrita pela primeira vez em 1859 por Rouget. Este nome foi proposto em 1894 por Hoppe-Seyler pelo fato de que esta substância possui quantidade de nitrogênio igual à quitina original. (ROBERTS, 1992, NIFANT'EV, 1998).

Devido à grande similaridade entre celulose, quitina e quitosana, uma enorme confusão estabeleceu-se entre elas e manteve-se até o início do século XX, quando as pesquisas demonstraram definitivamente que se tratava de substâncias diferentes. A

celulose na época, por ser já bastante explorada principalmente nas indústrias de papel e têxtil, passou a ser alvo de grande investimento tecnológico. Por outro lado, a quitina ficou restrita à pesquisa básica com pouco incentivo financeiro (NIFANT'EV, 1998).

Apesar da quitina ter sido descoberta há séculos, seu estudo e aplicação só vieram intensificar-se por volta de 1970, quando observou-se o grande potencial de aplicação que apresentavam tanto a quitina como a própria quitosana. (KNORR, 1991, HONG, 1996).

A quitosana só foi produzida industrialmente pela primeira vez em 1971 no Japão. Em 1986, o Japão já possuía quinze indústrias produzindo quitina e quitosana em escala comercial (HIRANO, 1989).

Atualmente estes polissacarídeos vêm tomando destaque considerável nas pesquisas e aplicações, sendo até mesmo considerados um dos materiais de maior potencial para o futuro próximo. Esta afirmação vem sendo tomada com base na grande versatilidade de aplicações encontradas para estes biopolímeros e muitos de seus derivados (NIFANT'EV, 1998).

O Japão e os EUA são os países que vêm se destacando como os maiores produtores, consumidores e pesquisadores destes polissacarídeos e derivados (NIFANT'EV, 1998, HIRANO, 1989, KOBELKE, 1990). Para exemplificar, em 1993, o Japão e EUA publicaram 214 patentes e 84 publicações, de acordo com "Chemical Abstract Citations", portanto, nesta época, juntos publicaram mais da metade do total no mundo, que foram 501 publicações (PETER, 1995). O Brasil aparece em 24^a posição, com 2 publicações e nenhuma patente.

Desde 1993, o Japão continua à frente das pesquisas seguido novamente pelos Estados Unidos. Outros países, passaram a se interessar mais por esta área, entre eles a China, Itália e Brasil, conforme "Institute for Scientific Information Citation Databases".

O Japão elege a quitosana como o material do século XXI, investindo anualmente gigantesca quantidade de recursos financeiros nos desenvolvimentos científico e tecnológico associado à quitina e à quitosana. (NIFANT'EV, 1998).

Acredita-se que no futuro bem próximo muitos materiais atualmente em uso vão perder seu lugar para estes biopolímeros. Isto fica bem claro quando a quitina, quitosana e derivados são testados na substituição de alguns materiais, eles mostram bons resultados.

1.3. Aspectos físicos e químicos da quitina e quitosana

1.3.1. Quitina

A quitina é um polissacarídeo de cadeia linear formado por unidades de N-acetil-2-dioxi-D-glicopiranosose, que são interligadas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4) (Fig. 1.1).

A quitina é um material biodegradável, não-tóxico, insolúvel em água e em muitos solventes orgânicos. É despolimerizada na presença de ácidos minerais fortes, sendo parcialmente solúvel em solução de dimetilacetamida com 5% de cloreto de lítio (DMAc-LiCl).

A fase cristalina da quitina é ordenada, como pode ser evidenciado por estudo de difração de raios-X. Ela ocorre em três diferentes formas denominadas α , β e γ , as quais diferem no arranjo de suas cadeias nas regiões cristalinas (Figura 1.1).

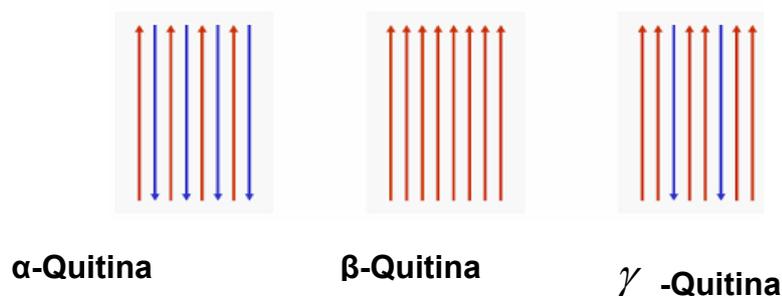


Figura 1.1. Estruturas polimórficas da quitina.

As três estruturas polimórficas estão possivelmente relacionadas a diferentes funções no organismo. A forma α é encontrada onde é necessária uma extrema dureza (resistência), como em cutículas de artrópodes e frequentemente, é associada com proteínas ou materiais inorgânicos ou com ambos. As formas β e γ são encontradas onde são necessárias flexibilidade e dureza. A forma dominante, α - quitina é mais estável que as forma β e γ , entretanto estas últimas, β e γ , podem ser convertidas à forma α por tratamentos adequados.

1.3.2 Quitosana

A quitosana pode ser definida como um copolímero de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose e 2-acetamida-2-desoxi-D-glicopiranosose, de composição variável em função do grau residual de acetilação, cujas unidades também são unidas por ligações glicosídicas β -(1,4) (Figura 1.2).

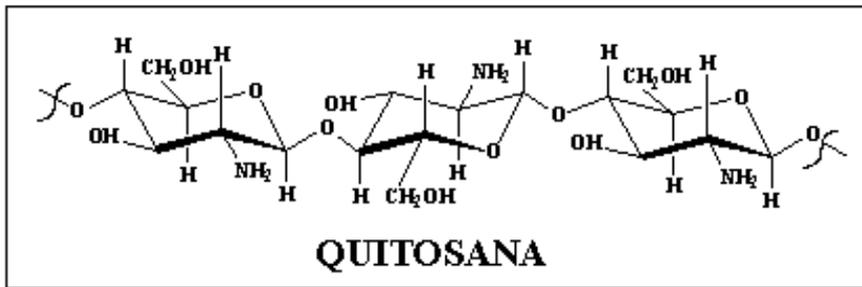


Figura 1.2 Estrutura da quitosana.

A cristalinidade da quitina e quitosana, conforme avaliado através de estudos de raios-X, depende do grau de acetilação e do processo pelo qual o polissacarídeo foi obtido. Já a estrutura espacial está relacionada à forma na qual a quitosana se encontra no estado sólido, ou seja, depende da quitosana estar na forma hidratada, anidra, como complexos ou sais de quitosana.

1.4. Obtenção: Quitina e Quitosana

1.4.1. Quitina

As principais fontes para a obtenção de quitina em laboratório são os exoesqueletos de vários crustáceos, como caranguejos e camarões. A quitina está fortemente associada com proteínas, material inorgânico, pigmentos e lipídios. Várias condições são usadas para remover essas impurezas e ainda não existe um processo padrão. Para isolar a quitina pode-se seguir as seguintes etapas:

- a) desproteinização;
- b) desmineralização;
- c) despigmentação.

Embora sejam conhecidos vários processos de obtenção de quitina, a maior parte deles não reproduz. O maior problema encontrado na extração da quitina é seu modo de preparação. Dificilmente se obtém uma quitina com as mesmas características da sintetizada anteriormente, como exemplo, a massa molar e o grau de acetilação.

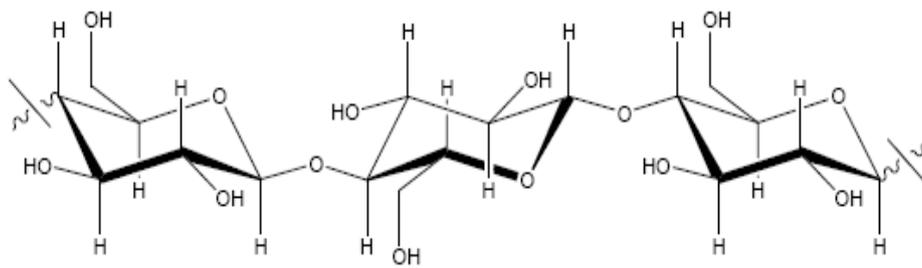
Para eliminar as proteínas, pode ser utilizado um grande número de solventes, tais como soluções aquosas de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, NaHSO₄, CaHSO₃, Na₃PO₄ e Na₂S, sendo o NaOH, o mais utilizado.

A desmineralização ocorre através do tratamento com vários ácidos, como HCl, HNO₃, H₂SO₃, CH₃COOH e HCOOH, sendo o HCl o ácido mais utilizado em diferentes concentrações. Os exoesqueletos de crustáceos contêm pigmentos que não parecem estar complexados com materiais inorgânicos ou proteínas, pois não são eliminados durante o tratamento para retirada de proteínas e na desmineralização. Eles podem ser eliminados pela extração com etanol ou acetona, depois do tratamento de desmineralização ou por branqueamento com uso de KMnO₄, NaClO, SO₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₃ ou H₂O₂.

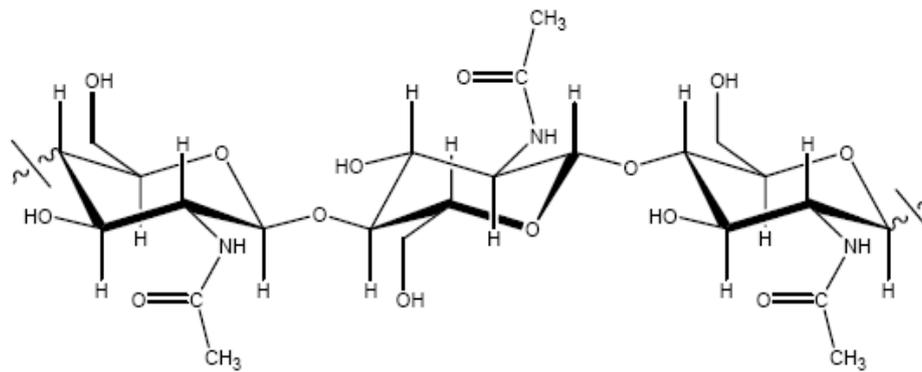
1.4.2. Quitosana

A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em soluções alcalinas. Durante a reação de desacetilação, os grupamentos acetamido (-NHCOCH₃) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino (-NH₂), dando origem a quitosana.

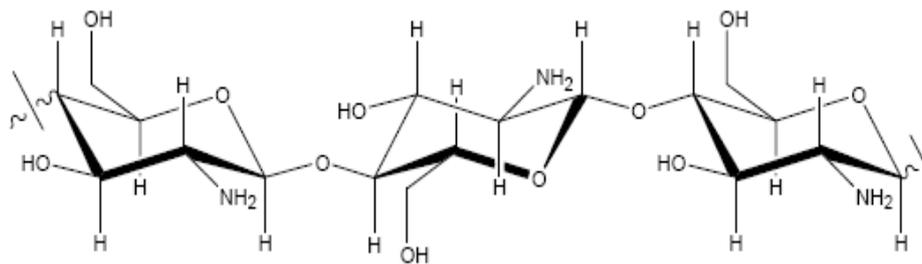
Estruturalmente, a quitina (Figura 1.3 b) é semelhante à celulose (Figura 1.3 a) substituindo-se os grupos OH do carbono-2 de cada unidade glicosídica da celulose por grupos acetilados (-NHCOCH₃). Logo, a quitina é um polissacarídeo linear contendo cadeias de resíduos β-(1-4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose. Já a quitosana difere da quitina, por ocorrer desacetilação na posição do carbono-2 de cada unidade glicosídica por grupos aminas. (Figura 1.3 c)



(a) Celulose



(b) Quitina



(c) Quitosana

Figura 1.3. Representação esquemática das estruturas de (a) Celulose, (b) quitina e (c) quitosana.

Capítulo 2

Objetivos

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo obter, caracterizar e estudar o comportamento térmico e determinar o grau de desacetilação de quitinas e quitosanas obtidas de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira do litoral da Paraíba.

2.1. Objetivos específicos

- Obter e caracterizar quitina e quitosana a partir de rejeitos da indústria de processamento de camarões por um processo alternativo;
- Determinar a percentagem de perda de material inorgânico oriundos de cabeças de camarão tratados, utilizando Termogravimetria (TG);
- Utilizar o procedimento de desproteínação, com o intuito de diminuir o teor de proteínas, que apresenta uma composição de 25-40% biopolímeros;
- Viabilizar um método de despigmentação visando diminuir possíveis interferências nos espectros de ^1H -RMN, além de apresentar um bom aspecto comercial;
- A partir das quitinas obtidas, caracterizá-las por espectroscopia de infravermelho e acompanhar a perda de material através de Análise Térmica;
- Obter as quitosanas e determinar o grau de desacetilação (GD), usando Condutimetria e Ressonância Magnética Nuclear (^1H -RMN) e as identificações de seus grupos funcionais através de Espectroscopia de Infravermelho;
- Submeter os biopolímeros a análise elementar, verificando sua composição percentual e relacionando com o grau de desacetilação;

- Determinar através de difratograma de raios X, o índice de cristalinidade relativa da quitina A e das quitosanas e correlacionar com o grau de desacetilação;
- Determinar a massa molar viscosimétrica (\overline{M}_v) da quitosana e avaliar o grau de polimerização;
- Utilizar a microscopia eletrônica de varredura para verificar o tamanho e formato das partículas de casca de camarão, quitina e quitosana, destacando suas características de materiais quanto ao aspecto físico.

Capítulo 3

Fundamentação Teórica

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Aplicações de Quitina e Quitosana

Muitas são as possíveis aplicações destes biopolímeros devido à sua versatilidade. A lista de aplicações de quitina e quitosana (Tabela 3.1) são ainda mais extensas quando são incluídos os vários derivados de quitosana obtidos por meio de reações químicas através das quais são inseridos diferentes grupos funcionais às suas estruturas, conferindo diferentes propriedades e aplicações (GAMZAZADE et al., 1997; KUMAR, 2000).

TABELA 3.1. Áreas de emprego de quitina e quitosana (KUMAR, 2000; TENG et al., 2001; JAAFARI et al., 2001).

Área	Emprego
Biomédica	Biomembranas artificiais Sutura cirúrgica
Farmacêutica	Agente cicatrizante Aditivo de medicamentos Liberação controlada de drogas Controle de colesterol Lente de contato
Cosmética	Umectante Fungicida Bactericida
Indústria de Alimentos	Aditivos alimentares Nutrição animal Embalagem biodegradável para alimentos
Biotecnologia	Imobilização de enzimas e de células Separação de proteínas Cromatografia Agente antibactericida
Indústria Têxtil e de papel	Tratamento de Superfície
Papel para Indústria Fotográfica	Filmes

Devido às características de biodegradabilidade, biocompatibilidade e hidrofiliçidade, além do fato de que provém de um recurso natural renovável e

abundante, a quitina e a quitosana têm sido largamente utilizadas em estudos com vistas ao tratamento de efluentes, sendo empregados como agentes quelantes de metais, floculantes, adsorventes de corantes, adsorventes de ânions metálicos e outros (SCHMUHL et al., 2001; HUANG et al., 2000; FELIX et al., 2000; GUIBAL et al., 2000).

3.2. Análise Térmica

3.2.1. Definição e história

Análise Térmica é definida como “um grupo de técnicas nas qual uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida, enquanto a amostra é submetida a uma programação de temperatura” [MOTHÉ e AZEVEDO, 2002].

O que difere a Análise Térmica das outras técnicas analíticas instrumentais é o desenvolvimento progressivo em função dos trabalhos exaustivos de pesquisadores isolados não sendo caracteristicamente uma técnica de marketing ou de divulgação intensiva, como ocorreu com outras técnicas instrumentais que foram surgindo ao longo dos anos como panacéia universal analítica.

Com a criação da Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) e, também, o desenvolvimento dos equipamentos comerciais, respaldou a Análise Térmica como um campo extremamente ativo, podendo ser aplicado em inúmeras direções (CONCEIÇÃO, 2004).

3.2.2. Técnicas Termoanalíticas

As técnicas termoanalíticas podem ser consideradas como um instrumento essencial nos estudos da cinética e mecanismo das reações devido ao fato do fornecimento de muitas informações, o que em outros métodos convencionais, certas informações podem ficar mascaradas. Os critérios para que uma técnica térmica possa ser considerada termoanalítica devem ser (WENDLANDT, 1986):

- Medir uma propriedade física;
- Expressar a medida, direta ou indiretamente, em função da temperatura;

- Realizar a medida sob um controle de temperatura.

A Tabela 3.2 mostra uma classificação geral das principais técnicas termoanalíticas de acordo com a propriedade física acompanhada.

TABELA 3.2. Principais Técnicas da Análise Térmica.

TÉCNICA	PROPRIEDADE	ABREVIATURA
Termogravimetria Termogravimetria Derivada	Massa	TG DTG
Análise Térmica Diferencial	Temperatura	DTA
Calorimetria Exploratória Diferencial	Entalpia	DSC
Análise Termomecânica Análise Dinâmica Mecânica	Propriedades Mecânicas	TMA DMA
Termodilatometria	Dimensões	-
Termossonimetria Termoacustimetria	Propriedades acústicas	- TS
Termoptometria	Propriedades Ópticas	-
Termoeletrometria	Propriedades Elásticas	-
Termomagnetometria	Propriedades Magnéticas	-
Análise Termoparticulada	Desprendimento de Partículas	TPA

Pode-se aperfeiçoar as técnicas de caracterização dos materiais combinando-as com outras técnicas analíticas, principalmente, para caracterização dos produtos gasosos liberados, podendo ser possíveis, freqüentemente, a realização de medidas simultâneas das mais variadas propriedades (BROWN, 1998).

Dentre os vários sistemas simultâneos existentes, pode-se citar: termogravimetria-cromatografia gasosa (TG-CG); termogravimetria-espectrometria de massa (TG-MS) e termogravimetria-cromatografia gasosa-espectrometria de massa (TG-CG-MS) (DOLLIMORE et. al., 1984 e SZEKELY et. al., 1992).

O sistema de análise avançada TG/CG/MS possui a capacidade de observar e quantificar as mudanças que ocorrem na amostra de acordo com a variação de sua massa, que está sujeita ao aquecimento a uma velocidade constante (TG) e a qualificação e quantificação da variedade de gases liberados, que são continuamente medidos e analisados (CG/MS). O sistema TG/CG/MS oferece um completo

entendimento do estudo de mecanismo da decomposição térmica, através da aquisição da curva TG e de dados moleculares.

As técnicas termoanalíticas mais usadas são TG e DTA, seguidas por DSC e TMA. Algumas dessas técnicas serão apresentadas, a seguir com suas respectivas aplicações (WENDLANDT, 1986).

3.2.2.1. Termogravimetria (TG)

Baseando-se nos estudos da variação da massa de uma amostra, a termogravimetria é o resultado de uma transformação física (sublimação, evaporação, condensação) ou química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura. Os métodos termogravimétricos mais utilizados são:

- **Dinâmico**→ é o mais utilizado, pois a perda de massa é registrada continuamente à medida que a temperatura aumenta.
- **Isotérmico**→ a variação de massa da amostra é registrada em função do tempo, mantendo-se a temperatura constante. É um caso, usado geralmente, em trabalhos cinéticos.
- **Quase-isotérmico**→ a partir do momento que começa a perda de massa da amostra ($\Delta m \neq 0$), a temperatura é mantida constante até que a massa se estabilize novamente ($\Delta m = 0$). Neste momento recomeça o aquecimento e este procedimento pode ser repetido em cada evento da decomposição.

A Figura 3.1 mostra as curvas típicas dos três métodos mencionados.

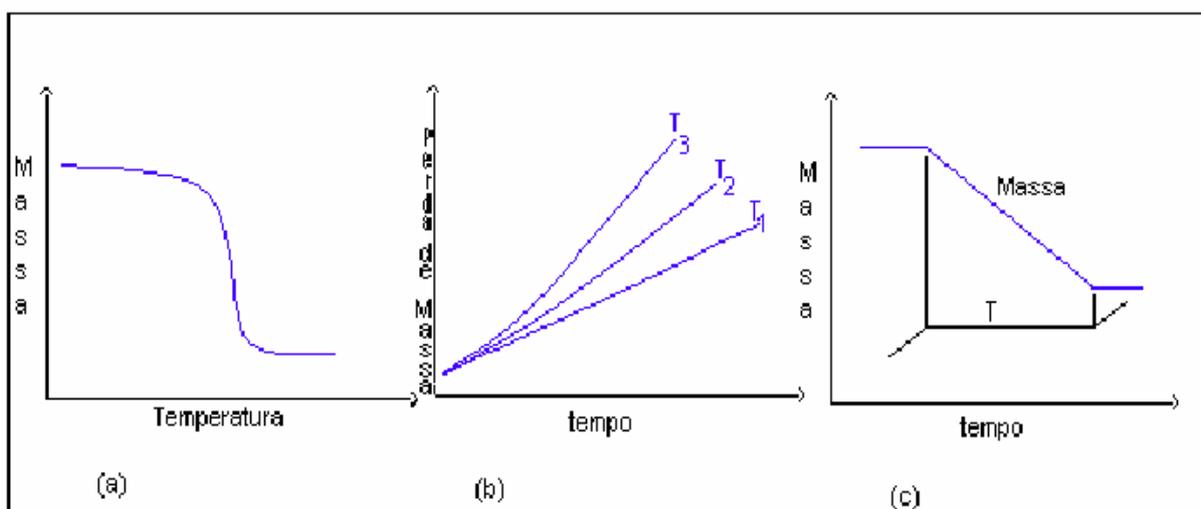


Figura 3.1 Curvas típicas dos métodos termodinâmicos (a) TG dinâmico, (b) TG isotérmico e (c) TG quase-isotérmico.

Quando se deseja acompanhar as variações de massa envolvidas em um experimento é essencial a aplicação da termogravimetria. Esse tipo de medida é realizada utilizando um equipamento denominado termobalança.

A termobalança consiste na combinação de uma microbalança eletrônica adequada com um forno e um programador linear de temperatura, permitindo a pesagem contínua de uma amostra em função da temperatura, à medida que a amostra é aquecida ou resfriada (WENDLANDT, 1986).

Em geral, a maioria das balanças baseia-se no princípio da balança de nulo, operando em equilíbrio contínuo, pois os eventuais deslocamentos do travessão são detectados por um arranjo de feixe luminoso e o restabelecimento ocorre através da força de um motor de torque magnético.

Os fornos, de um modo geral, são capazes de operar na faixa de 1000 - 1200°C, existindo também fornos que podem operar até 1600 - 2400°C. A temperatura do forno e da amostra é determinada através de um par termoelétrico e o sensor deve estar localizado próximo da amostra ($\cong 1$ a 2 mm).

A escolha do porta-amostra ocorre de acordo com a substância a ser analisada e com a temperatura máxima de aquecimento aplicada a essa substância. Esses porta-amostras são, geralmente, constituídos de alumínio (temperatura máxima de 600°C),

alumina (temperatura máxima de 1200°C), platina, níquel, quartzo, tungstênio, grafite e cobre, (temperatura máxima de 1200°C).

É possível controlar a atmosfera que envolve a amostra, podendo viabilizar o trabalho com atmosfera estática ou dinâmica à pressão ambiente, sob pressão ou a vácuo. Podem ser utilizados gases inertes (nitrogênio, argônio), oxidantes (oxigênio) ou corrosivos (WENDLANDT, 1986).

Como resultados desses experimentos termogravimétricos, tem-se curvas nas quais pode-se observar variações de massa, de modo que possa originar produtos voláteis (IONASHIRO et al., 1980).

As curvas termogravimétricas podem ser utilizadas para análises em que se observa mudança de massa. Caso essa mudança de massa não seja observada, pode-se utilizar técnicas térmicas como: DSC, DTA e TMA. Se essa mudança de massa for muito pequena (<1%), pode-se empregar a análise de gás despreendido (EGA) (FERNANDES, 1995 e CONCEIÇÃO, 2000).

Nos estudos termogravimétricos, as principais aplicações são:

- Decomposição e estabilidade térmica das substâncias orgânicas e inorgânicas e dos mais variados materiais, tais como: minerais, carvão, madeira, petróleo, polímeros, alimentos, fármacos e outros;
- Corrosão de metais em atmosferas constituídas por diferentes gases e em faixas muito amplas de temperatura;
- Velocidade de destilação e evaporação de líquidos e de sublimação de sólidos;
- Desidratação, higroscopicidade, absorção, adsorção, dessorção, determinação do teor de umidade, fração volátil e teor de cinzas de vários materiais;
- Cinética das reações, inclusive de reações no estado sólido e, também, em possíveis descobertas de novos compostos químicos;
- Determinação da pureza e da estabilidade térmica de reagentes analíticos, inclusive padrões primários e secundários;
- Estudo sistemático das propriedades térmicas dos precipitados, de acordo com os processos de precipitação utilizados;
- Desenvolvimento de processos analíticos gravimétricos;
- Curva de ignição dos meios de filtração e da conveniência de se secar ou calcinar um precipitado;

- Determinação de um único componente ou da composição de misturas com dois ou três componentes;
- Caracterização funcional de compostos orgânicos, TG-CG/MS;
- Definição da estequiometria;
- Estabelecimento da composição e estabilidade térmica de compostos intermediários;
- Composição do resíduo e decomposição térmica em várias condições de atmosfera e temperatura;
- Sensibilidade do mecanismo e do registro.

3.2.2.2. Termogravimetria Derivada (DTG)

A Termogravimetria Derivada (DTG) é a derivada da variação de massa em relação ao tempo ou temperatura da curva TG. Esta técnica é capaz de auxiliar na visualização e esclarecimentos dos eventos que ocorrem na curva TG. A área dos picos da curva DTG é proporcional ao total de massa perdida pela amostra, além de possibilitar a determinação da temperatura de pico, e as temperaturas inicial e final do processo (FERNANDES, 1995 e SILVA, 2005).

Pode-se citar como aplicações da curva DTG:

a) Separação de reações sobrepostas;

Onde é possível identificar as reações sobrepostas a partir da curva DTG, através da formação dos picos, uma vez que, cada pico formado corresponde a um fenômeno ocorrido.

b) Identificação de uma determinada substância;

Mantendo as mesmas condições de análise, com os picos registrados na curva de DTG, é possível identificar a amostra, levando em consideração a atmosfera envolvida, fluxo de gás, massa da amostra, composição do cadinho e a razão de aquecimento;

c) Variação da massa calculada, em reações sobrepostas;

d) Medida da altura do pico analisada quantitativamente;

e) Diferença entre os eventos térmicos comparados com a curva DTG.

3.2.2.3 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A Análise Térmica diferencial é uma técnica térmica em que a temperatura de uma amostra é comparada com a temperatura de um material termicamente inerte. A mudança de temperatura na amostra com relação à referência deve-se a processos físicos e químicos e é detectada por um método diferencial, conforme ilustrado na Figura 3.2.

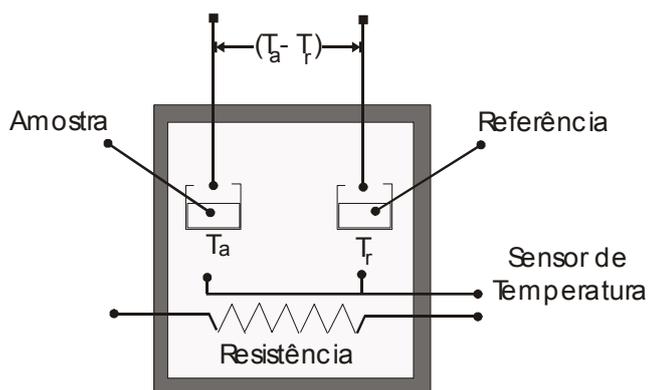


Figura 3.2. Esquema de um aparelho de Análise Térmica Diferencial.

As mudanças na temperatura da amostra são ocasionadas pelas transições ou reações entálpicas (endotérmica ou exotérmica) devido à mudança de fase, fusão, inversão da estrutura cristalina, sublimação, vaporização, reações de fase, desidratação, redução e outras reações químicas (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

As variações de temperatura da amostra são causadas por transições entálpicas, endotérmicas ou exotérmicas, registrando-se a diferença de temperatura entre a amostra e a referência em função da temperatura ($\Delta T = T_a - T_r$), daí o termo diferencial.

Quando se aquece uma amostra, seu calor específico tende a variar, com a mudança de estado físico ocorre uma alteração brusca, ocorre também, processos como fusão e decomposição, nos quais há variações de entalpia, como por exemplo: calor latente de fusão, calor de reação e outros. Caso uma reação endotérmica aconteça no interior da amostra, a temperatura da amostra, comparada com a temperatura da referência, produz uma diferença de temperatura e, por analogia, uma diferença oposta de temperaturas aparece como efeitos exotérmicos (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

Dessa forma, a técnica pode ser utilizada na identificação qualitativa e quantitativa de compostos orgânicos e inorgânicos, metais, minerais, graxas, óleos, polímeros, madeiras e outros. Essa técnica também pode ser utilizada na área farmacêutica para

determinar a estabilidade térmica, oxidação e transição vítrea dos fármacos, além da determinação da pureza dos materiais biológicos. As técnicas térmicas DTA e a DSC estão sendo utilizadas na indústria, especialmente na área de polímeros, metalurgia, geologia e cerâmicas, tendo como principal objetivo a identificação de materiais e, também, a estabilidade térmica e oxidativa.

3.2.2.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma técnica que mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Essas medidas informam, qualitativamente e quantitativamente sobre mudanças físicas e químicas que envolvem processos endotérmicos (absorção de calor), exotérmicos (liberação de calor) ou mudanças na capacidade calorífica (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

Dentre as aplicações da DSC, pode-se citar:

- Estudo de eventos térmicos: calor específico, pureza, polimorfismo, transição vítrea, gelatinização, cinética de reações, comportamento de fusão e cristalização;
- Identificação de substâncias: através da forma, posição e número de picos endotérmicos ou exotérmicos em função da temperatura;
- Determinação quantitativa de substâncias - pois o calor da reação é proporcional à quantidade de substância;
- Identificação, composição quantitativa de materiais e estabilidade térmica e oxidativa: sendo utilizada na área de polímeros, metalúrgica, geologia, cerâmica, alimentos;
- Determinação da estabilidade térmica, oxidação e transição vítrea de fármacos.

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), apresenta as seguintes vantagens:

- Tempo de análise rápido (geralmente, 30 minutos);
- Preparação fácil da amostra;
- Aplicabilidade em sólidos e líquidos;
- Faixa de temperatura larga;

- Medidas quantitativas.

Desvantagens e limitações da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC):

- Sensibilidade reduzida quando a linha base está em inclinação ou curvatura;
- Para aumentar a sensibilidade é necessário elevar as razões de aquecimento, mas com isso a resolução é reduzida;
- Algumas transições observadas são complexas e apresentam dificuldades para interpretação (por exemplo, temperatura de transição vítrea, fusão e cristalização).

3.2.3. Fatores que podem influenciar nas curvas termogravimétricas

Como em qualquer técnica experimental, na gravimetria existem fatores que afetam os resultados. A TG provavelmente tem um número grande de variáveis devido à natureza dinâmica da variação da temperatura na amostra. Basicamente, os fatores que podem influenciar na curva de variação da massa da amostra são classificados em duas categorias: os fatores relacionados ao equipamento e às características da amostra (HAINES, 1995).

Fatores relacionados ao equipamento:

- Atmosfera do forno;
- Razão de aquecimento;
- Geometria do forno e da amostra;
- Registro;
- Sensibilidade do mecanismo e do registro.

Fatores relacionados à amostra:

- Calor de reação;
- Condutividade térmica;
- Empacotamento da amostra;
- Natureza da amostra;
- Quantidade da amostra;
- Solubilidade de gás desprendido na amostra;

- Tamanho da partícula.

3.2.4. Viscosidade

Medidas de viscosidade de soluções diluídas de polímeros são muito utilizadas na sua caracterização e na avaliação quanto a degradação. A viscosidade relativa (η_{rel}) é definida como a razão entre o tempo de escoamento da solução (t) e do solvente (t_0):

$$\eta_{rel} = t / t_0 \quad (\text{Eq. 3.1})$$

Podemos definir, então a viscosidade específica (η_{sp}), viscosidade reduzida (η_{red}) e viscosidade inerente (η_{in}):

$$\eta_{sp} = t - t_0 / t_0 ; \eta_{red} = \eta_{sp} / \text{concentração}; \eta_{in} = \ln \eta_{rel} / \text{concentração}$$

Esboçando um gráfico η_{red} ou η_{in} em função da concentração espera-se obter um gráfico de acordo com a Figura 4 e extrapolando-se à diluição infinita, obtemos a viscosidade intrínseca, $[\eta]$, que está relacionada à massa molar do polímero (KIRK-OTHMER Encyclopedia of Chemical Technology, 1982)

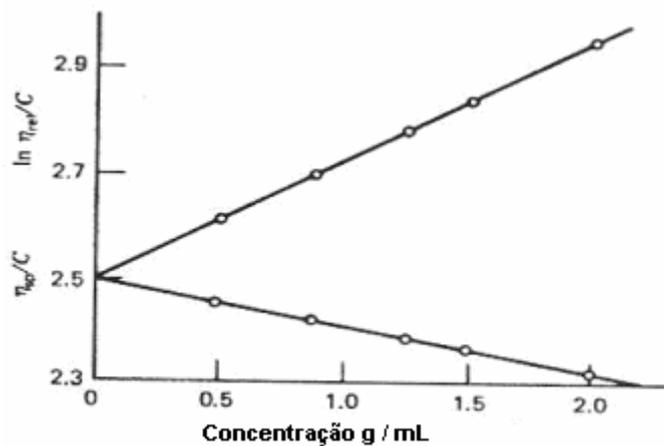


Figura 3.3. Gráfico genérico de η_{red} e η_{in} em função da concentração, onde a extrapolação até a concentração zero fornece o valor da viscosidade intrínseca $[\eta]$

A viscosidade de uma solução de polieletrólito pode ser descrita como função de sua viscosidade intrínseca e de sua concentração, caso não ocorram interações entre as moléculas (sistema diluído). Assim, a equação de Huggins pode ser usada (Eq. 3.2).

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + K_H [\eta]^2 C \quad (\text{Eq. 3.2})$$

Em que: η_{sp} é a viscosidade específica; $\frac{\eta_{sp}}{C}$ é a viscosidade reduzida (ml g^{-1}); $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca (ml g^{-1}); K_H é a constante de Huggins e C é a concentração da solução (g mL^{-1}).

O estudo da viscosidade de soluções poliméricas tem grande importância prática pelo uso de polímeros em diversos produtos industriais, alimentícios ou farmacêuticos, em muitos casos justamente como controlador da viscosidade. Além disto, do ponto de vista molecular, o estudo viscosimétrico de soluções de polímeros permite avaliar informações importantes sobre massa molar média do polímero, dimensões da cadeia polimérica em solução e, como conseqüência, da qualidade deste solvente para este polímero (medida pela intensidade de solvatação do polímero).

Capítulo 4

Procedimiento Experimental

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados nesse trabalho foram de grau analítico (PA) e utilizados sem tratamento prévio, exceto quando indicado. (Tabela 4.1)

A água utilizada no preparo de soluções e nos ensaios foi obtida de um destilador Servitech Equipamentos.

A procedência dos demais reagentes é apresentada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Reagentes Utilizados nesse trabalho.

REAGENTES	MARCA
Ácido Clorídrico (HCl)	Vetec
Ácido Acético (C ₂ H ₄ O ₂)	FM
Álcool Etilico (C ₂ H ₅ OH)	Vetec
Álcool Isopropilico (C ₃ H ₇ OH)	Vetec
Hidróxido de Sódio (NaOH)	Synth
Hipoclorito de Sódio (NaClO)	QM
Hidróxido de Amônio (NH ₄ OH)	Vetec
Tetrahidroboreto de Sódio (NaBH ₄)	Vetec

As amostras de quitina foram extraídas de exoesqueletos de camarão *Litopenaeus Vannamei*, cujo esquema morfológico está representado na Figura 4.1.

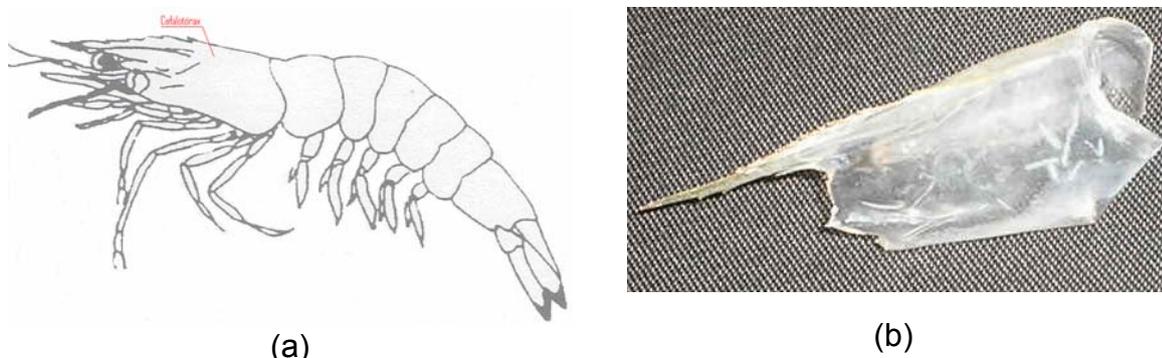


Figura 4.1 (a) Esquema representativo da morfologia externa do camarão marinho e (b) Região do cefalotórax do camarão *Litopenaeus Vannamei*.

Os exoesqueletos de *Litopenaeus Vannamei* foram fornecidos pela empresa INBRAPEL, localizada no distrito industrial de Mangabeira – João Pessoa - PB. Para

transportar o material utilizado, as cascas (cefalotórax) de *Litopenaeus Vannamei* congeladas, foram colocadas em caixas térmicas e depois armazenadas sob refrigeração ($\approx -10^{\circ}\text{C}$) até o seu uso.

4.2 Lavagem e moagem das cascas de Camarão (*Litopenaeus Vannamei*)

Primeiramente, foram separadas manualmente as cascas de camarão (cefalotórax). Em seguida, foi realizada a lavagem manual para a retirada de resíduos de carne, ovos, etc. A parte aproveitável do *Litopenaeus Vannamei* está representada na Figura 4.1 b.

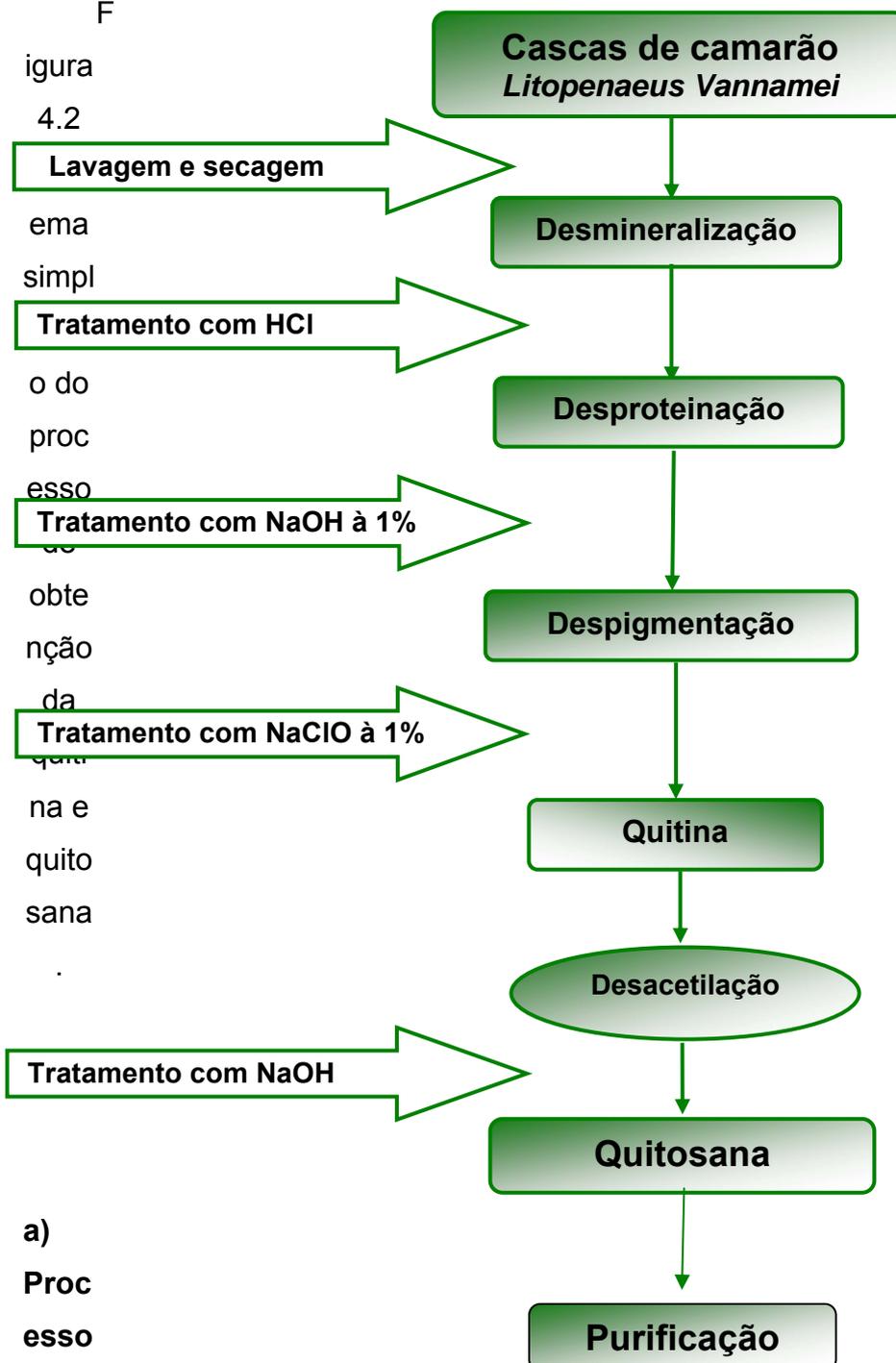
O material resultante foi colocado em bandejas de alumínio (30 x 40 cm) para secar ao sol por 3 horas. Em seguida esse material foi colocado em estufa (Fanem Modelo 315 SE) para secar a temperatura de 40°C por 24 horas.

O material já seco foi triturado em um liquidificador, onde foi obtido um pó que em seguida foi moído em um moinho de facas (TE-631 Tecnal). O material resultante foi peneirado em peneira granulométrica (latão) de abertura de 0,150 mm (100 mesh).

A quitina foi extraída do *Litopenaeus Vannamei* através da seguinte seqüência. (Figura 4.2)

F

igura
4.2



a)
Proc
esso
de
Des
mine
ralização

Aproximadamente 2 g do material (Cefalotórax) moído foi adicionado a 40 mL de solução de HCl nas seguintes concentrações: $0,25 \text{ mol L}^{-1}$, $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, sob agitação constante durante 2 horas sob temperatura ambiente. Esse material foi

submetido a uma filtração a vácuo, onde o material foi lavado várias vezes com água destilada até o sobrenadante atingir a neutralidade, (pH \approx 7). O sólido resultante foi seco em estufa, por 12 horas a temperatura de 40°C.

O material foi submetido à Análise Termogravimétrica (TG), que foi utilizada para determinar a quantidade de carbonatos na amostra.

b) Processo de Desproteíntização

Em um béquer, foi colocado 2,0 g de material desmineralizado, em 20 mL de solução de NaOH a 1% e, em outro béquer, também 2 g do material em 20 mL de solução de NaOH a 10%. As duas suspensões foram deixadas sob agitação por 3 horas à temperatura de 50°C. O material resultante foi filtrado à vácuo e lavado posteriormente com água destilada até pH neutro. Em seguida, a amostra foi secada em estufa, por 12 horas à temperatura de 40°C.

c) Processo de Despigmentação

Foram adicionados 2,0 g de material desproteíntizado a 50 mL de hipoclorito de sódio 1% à temperatura de 40°C sob agitação constante por 8 horas. O material sólido foi filtrado e, em seguida, seco em estufa à 40°C por 12 horas.

d) Desacetilação de quitina

A partir de três amostras de quitina (amostras A, B e C), de lotes diferentes, classificados como lote A, B e C, foram obtidas cinco amostras de quitosanas, para cada lote, através do processo de desacetilação. Para a obtenção de possíveis quitosanas A₁, A₂, A₃, A₄ e A₅, B₁, B₂, B₃, B₄ e B₅ e C₁, C₂, C₃, C₄ e C₅.

Quitosana A₁

Cerca de 5,0 g de quitina A foram suspensas em 200 mL de solução aquosa de NaOH (50% m/v). O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 5 horas a temperatura de 100 \pm 5°C. Após o sistema atingir a temperatura ambiente, o material resultante foi lavado com água destilada até pH neutro (pH \approx 7). Em seguida, o

material foi lavado com etanol e filtrado à vácuo. O sólido foi seco a temperatura ambiente por 2 horas e, posteriormente, em estufa por 12 horas a temperatura de 40°C. Nesse procedimento foi identificado que a quitina sofreu desacetilação.

Quitosana A₂

Cerca de 5,0 g de quitina A foram suspensas em 200 mL de solução aquosa de NaOH (30% m/v). O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 5 horas a temperatura de $100 \pm 5^\circ\text{C}$. Após o sistema atingir a temperatura ambiente, o material resultante foi lavado com água destilada até pH neutro ($\text{pH} \approx 7$). Em seguida, o material foi lavado com etanol e filtrado à vácuo. O sólido foi seco à temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente em estufa por 12 horas a temperatura de 40°C. Nesse procedimento foi identificado que a quitina não sofreu desacetilação suficiente para classificá-la como quitosana.

Quitosana A₃

Cerca de 5,0 g de quitina A foram suspensas em 200 mL de solução aquosa de NaOH (30% m/v) e 50 mL de álcool isopropílico, na tentativa de facilitar a desacetilação. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 5 horas a temperatura de $100 \pm 5^\circ\text{C}$. Após o sistema atingir a temperatura ambiente, o material resultante foi lavado com água destilada até pH neutro ($\text{pH} \approx 7$). Em seguida, o material foi lavado com etanol e filtrado à vácuo. O sólido foi seco à temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente em estufa por 12 horas à temperatura de 40°C. Nesse procedimento foi identificado que a quitina não sofreu desacetilação suficiente para classificá-la como quitosana.

Quitosana A₄

Cerca de 3,0 g de quitina A são suspensas em 200 mL de solução aquosa de NaOH (10% m/v) e 50 mL de álcool isopropílico. Foi diminuído a concentração de NaOH para evitar degradação do polímero. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 5,0 horas a temperatura de $100 \pm 5^\circ\text{C}$. Após o sistema atingir a temperatura ambiente, o material resultante foi lavado com água destilada até pH neutro ($\text{pH} \approx 7$). Em seguida, o material lavado com etanol e filtrado. O sólido foi seco a

temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente em estufa por 12 horas a temperatura de 40°C. Nesse procedimento foi identificado que a quitina não sofreu desacetilação suficiente para classificá-la como quitosana.

Quitosana A₅

Cerca de 3,0 g de quitina A foram suspensas em 200 mL de solução aquosa de NaOH (10% m/v) e 50 mL de álcool isopropílico e adicionado à mesma 1,0 g de tetraidroboreto de sódio (NaBH₄). A presença de hidreto foi para facilitar a redução do composto. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 5 horas à temperatura de 100 ± 5°C. Após o sistema atingir a temperatura ambiente, o material resultante foi lavado com água destilada até pH neutro (pH ≈ 7). Em seguida, o material foi lavado com etanol e filtrado. O sólido foi seco à temperatura ambiente por 2 horas e, posteriormente em estufa por 12 horas a temperatura de 40°C. Nesse procedimento foi identificado que a quitina não sofreu desacetilação suficiente para classificá-la como quitosana.

Esses procedimentos análogos foram realizados para as quitinas B e C.

Como a desacetilação só foi eficiente nas quitinas A₁, B₁ e C₁, então se tem apenas quitosanas A, B e C

e) Processo de purificação da quitosana

As amostras de quitosana foram purificadas dissolvendo-as em uma solução de ácido acético à 0,50 mol L⁻¹, sob agitação constante e a temperatura ambiente por 20 horas.

A solução resultante apresentou-se viscosa e foi submetida à filtração a vácuo para reter resíduos insolúveis. O sobrenadante foi colocado em um béquer, sob agitação constante, e a ele foi adicionado hidróxido de amônio, até a total precipitação da quitosana. Esse precipitado foi filtrado à vácuo e lavado com água destilada até pH neutro. O sólido resultante foi lavado com álcool etílico e colocado para secar por 2 horas a temperatura ambiente e, em seguida, foi colocado em estufa à 40°C por 12 horas.

4.3 Técnicas de Caracterização

4.3.1 Medidas Termogravimétricas (TG)

As curvas TG foram obtidas em uma Termobalança (SHIMADZU TGA-50), com razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ sob atmosfera dinâmica de ar (vazão de 30 mL min^{-1}), com massa aproximadamente de 5 mg em cadinho de platina no intervalo de temperatura de 28 – 900°C . As curvas TG das amostras foram obtidas para verificar o perfil da decomposição térmica (CARRASCO, 1996 e WENDLANDT, 1986).

Para determinar os intervalos de temperatura correspondente às percentagens de hidratação, decomposição de material orgânico e resíduo formado, utiliza-se as curvas DTG, correspondente à derivada primeira das curvas de TG

4.3.2 Medidas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas em um Calorímetro Exploratório Diferencial da SHIMADZU modelo DSC-50, em atmosfera de N_2 com vazão de gás de 50 mL min^{-1} , razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em um intervalo de temperatura entre 25°C e 500°C , com cadinho de alumínio aberto.

4.3.3 Análise Elementar

Para as análises elementares das amostras de quitina e quitosanas foram pesadas aproximadamente 3mg de cada amostra e colocadas em analisador elementar (Carlo Erba EA 1110).

4.3.4 Difração de Raios X (DRX)

Os dados de difração de raios-X foram obtidos utilizando o equipamento Siemens modelo D-5000, nas seguintes condições: 40kV e 40mA com radiação de $K\alpha Cu$ ($\lambda = 1,9373$ e $2\theta = 5$ a 40°) e monocromador de grafite, incidência normal à temperatura ambiente. Os resultados da análise foram obtidos por meio da indexação das fichas cristalográficas JCPDS.

4.3.5 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT-IR, modelo MB-102, na região de 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros de IV foram obtidos usando pastilhas preparadas a partir de amostras de quitina e quitosana previamente secas em estufas a pressão reduzida por 12 horas à temperatura de $40^\circ C$. Após período, cerca de 2,0 mg de amostra são misturadas a 98 mg de KBr previamente seco em estufa, e a mistura homogeneizada em almofariz de ágata. A mistura foi prensada em prensa hidráulica para formar uma pastilha de aproximadamente 0,20 mm de espessura, em seguida foi analisada.

4.3.6 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (1H - RMN)

Os espectros de 1H -RMN foram obtidos em um espectrômetro Varian Unity Plus 300 MHz. Com o objetivo de melhorar a resolução dos picos foram estipulados as seguintes condições: pulso acumulado de 16 varreduras e LB de 0,30 Hz. A largura espectral e os pontos foram de 5000 Hz e 64 K, respectivamente. Os espectros foram calibrados a partir do sinal devido a HOD em 4,1 ppm.

Para obter os espectros de 1H -RMN a amostra foi dissolvida seguindo o procedimento descrito na literatura (HIRAI et al., 1991; SIGNINI; CAMPANA FILHO, 1998).

Inicialmente, uma solução acidificada 1% (v/v) foi preparada pela adição de 0,01 mL de HCl concentrado a 0,99 mL de D_2O . Cerca de 10 mg de amostra foram adicionadas a 1 ml desta solução e mantida sob agitação constante por 24 horas a temperatura ambiente. Uma alíquota dessa solução viscosa foi colocada em tubos de quartzo de 5 mm de diâmetro. Para diminuir a interferência do sinal do solvente (HDO) com os picos da amostra, o experimento foi conduzido a uma temperatura de $70^\circ C$.

4.3.7 Titulação Condutimétrica

Aproximadamente 20 mg de quitosana foram adicionadas a 5 mL de HCl 0,10 mol L⁻¹, sob agitação constante por 20 horas a temperatura ambiente. Em seguida, a solução viscosa foi diluída e titulada com solução aquosa de NaOH 0,1 mol L⁻¹, previamente padronizada. Durante a titulação, a temperatura foi controlada a 25 ± 0,3 °C com auxílio de um banho termostático Tecnal (Modelo TE 184). As variações de condutâncias durante a titulação foram medidas em um condutivímetro Trans Instruments (Modelo B330), equipado com célula Condutimétrica Digimed (Modelo DMC-010)

4.3.8 Medidas de Viscosidade

Cerca de 50 mg de amostra de quitosana foram dissolvidas em 25 mL de solução tampão (ácido acético/acetato de sódio, pH ≈ 4,5), sob agitação constante por 15 horas. A solução foi, então, imersa em banho-maria à 80°C durante 2 minutos e, em seguida, resfriada à temperatura ambiente. Acrescentou-se 25 ml de solução tampão e emergiu-se novamente à 80°C por 2 minutos. Após atingir a temperatura ambiente, a solução foi filtrada em membrana de celulose (Millipore) de porosidade 0,45 mm termostático a 25,0 ± 0,1°C para diluição seriada.

Os tempos de escoamento foram determinados em viscosímetro Schott-Gerate (Modelo AVS 20). A solução com viscosidade relativa menor que 1,8 foi seqüencialmente diluída no próprio capilar, através da adição do tampão ácido acético/acetato (pH ≈ 4,5), até atingir uma viscosidade relativa de 1,2. Foram medidos valores de tempos de escoamento de viscosidade intrínseca $[\eta]$ correspondente a quatro determinações independentes, que não apresentassem variação maior que 0,09%. Todos os tempos de escoamento foram automaticamente corrigidos para efeitos cinéticos, pelo acionamento de dispositivo específico no sistema de gerenciador de medidas.

4.3.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das quitosanas foi analisada em microscópio eletrônico de varredura digital – marca LEO – modelo 1430.

As amostras, armazenadas em dessecador com sílica gel, foram colocadas fitas adesivas de carbono no porta-amostra de alumínio. A corrente do feixe utilizado foi de 500 pA e a potência do feixe de 20 KV.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos da obtenção e caracterização de quitina e quitosana a partir de casca de camarão, *litopenaeus vannamei*, bem como avaliar a estabilidade térmica (TG/DSC) das amostras envolvidas. Na caracterização das amostras, usou-se a Espectroscopia na região do Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (^1H -RMN), Titulação condutimétrica, comportamento reológico usando a viscosimetria, análise elementar, difração de Raios X e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

5.1. Análise Térmica

Inicialmente, foi realizado um estudo do efeito da concentração de HCl nas amostras de cascas de camarão, a fim de determinar o teor de carbonatos.

Esse parâmetro é de grande importância para se estabelecer uma metodologia adequada e, assim, racionalizar gastos com reagentes e conseqüentes danos ao meio ambiente.

A Figura 5.1 apresenta as curvas TG/DTG sobrepostas para a amostra de cascas de camarão, submetida à razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ sob atmosfera de ar.

As curvas TG, apresentadas na Figura 5.1, apresentam três eventos térmicos: perda de água, perda de material orgânico e, por final, perda de material inorgânico e possível formação de óxidos.

O processo de desmineralização foi realizado em três concentrações diferentes de HCl com a finalidade de obter-se um processo mais eficiente. Com base na Figura 5.1, observa-se que os perfis das curvas termogravimétricas (TG) são semelhantes. De acordo com os resultados obtidos, é preferível utilizar uma concentração menor no processo de desmineralização.

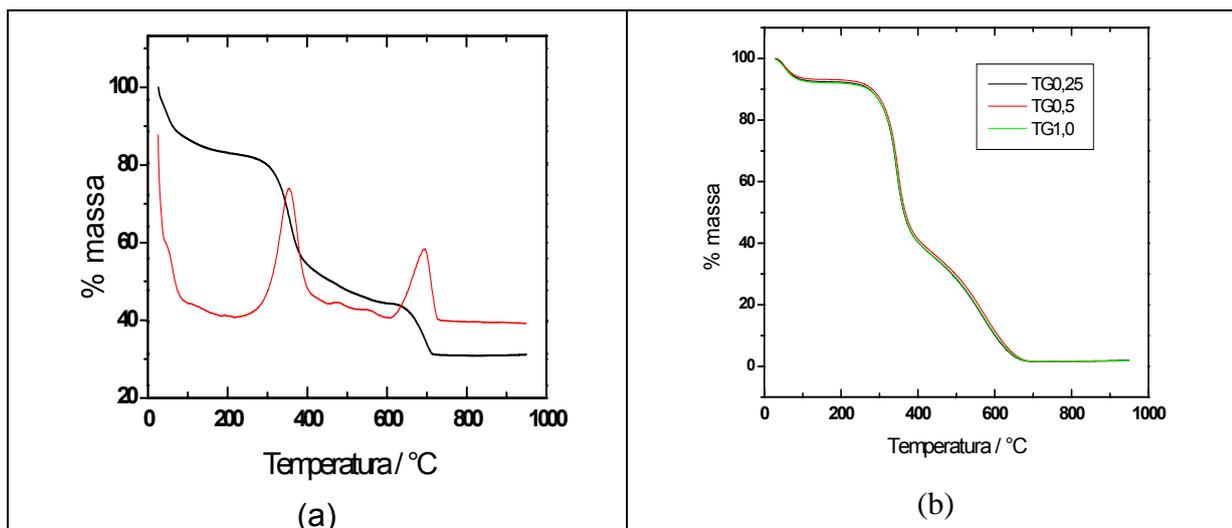


Figura 5.1 (a) Curvas TG/DTG de casca de camarão cinza. (b) Curvas TG do material desmineralizado em HCl $0,25 \text{ mol L}^{-1}$, $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 5.2 descreve o perfil da decomposição térmica de uma curva TG/DTG da amostra de quitina A.

A primeira decomposição, referente à perda de água, ocorreu numa temperatura de pico de $61,0^\circ\text{C}$, com perda de massa de $5,85\%$, já a segunda decomposição, referente a perda de material orgânico, ocorreu numa temperatura de pico de $326,6^\circ\text{C}$, com perda de $64,6\%$. No terceiro evento de decomposição, referente à material carbonizado, ocorreu numa temperatura de pico de $496,0^\circ\text{C}$, com perda de massa de $26,45\%$.

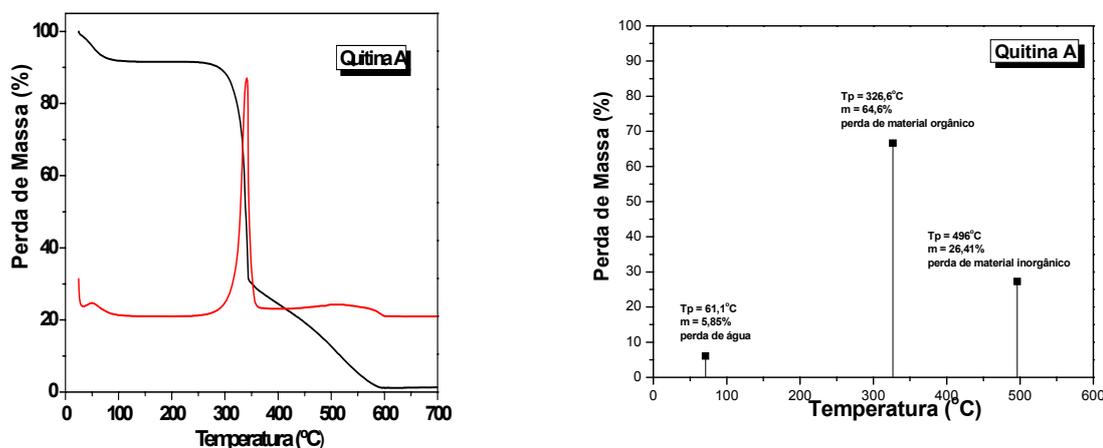


Figura 5.2. Gráfico de uma curva TG/DTG da amostra de quitina-A.

A figura 5.3 descreve o perfil da decomposição térmica TG/DTG da amostra de quitina-B.

A primeira decomposição, referente à perda de água, ocorreu numa temperatura de pico de 73,0°C, com perda de massa de 7,7%, já a segunda decomposição, referente a perda da material orgânico, ocorreu numa temperatura de pico de 316,1°C, com perda de 59,8%. No terceiro evento de decomposição, referente à material carbonizado, ocorreu numa temperatura de pico de 510,0°C, com perda de massa de 29,5%.

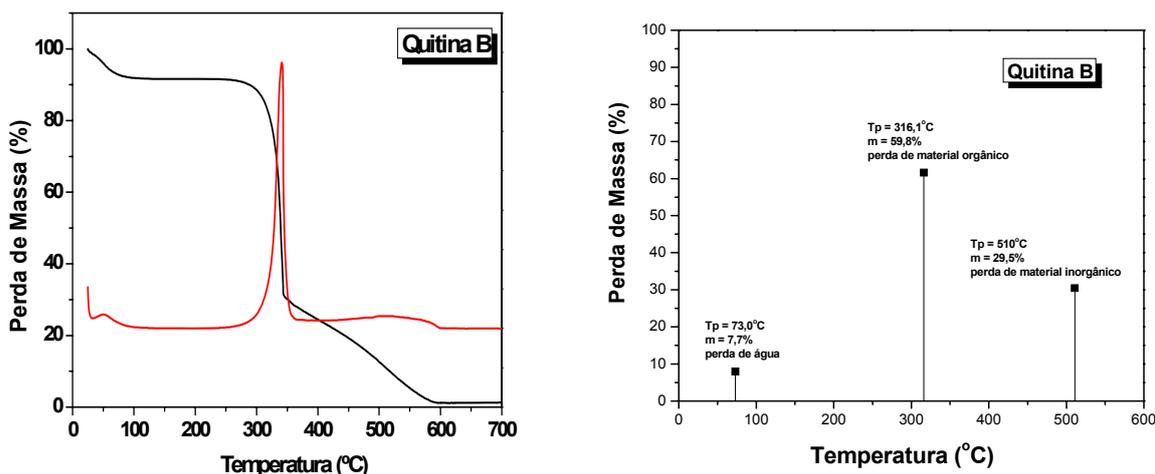


Figura 5.3 Curva TG/DTG da amostra de quitina-B.

A Figura 5.4 descreve o perfil decomposição térmica de uma curva de uma TG/DTG da amostra de quitina-C.

A primeira decomposição, referente à perda de água, ocorreu numa temperatura de pico de 75,5 °C, com perda de massa de 5,98%, já a segunda decomposição, referente a perda de material orgânico, ocorreu numa temperatura de pico de 304,1°C, com perda de 60,36%. No terceiro evento de decomposição, referente a material carbonizado, ocorreu numa temperatura de pico de 505,0 °C, com perda de massa de 30,4%.

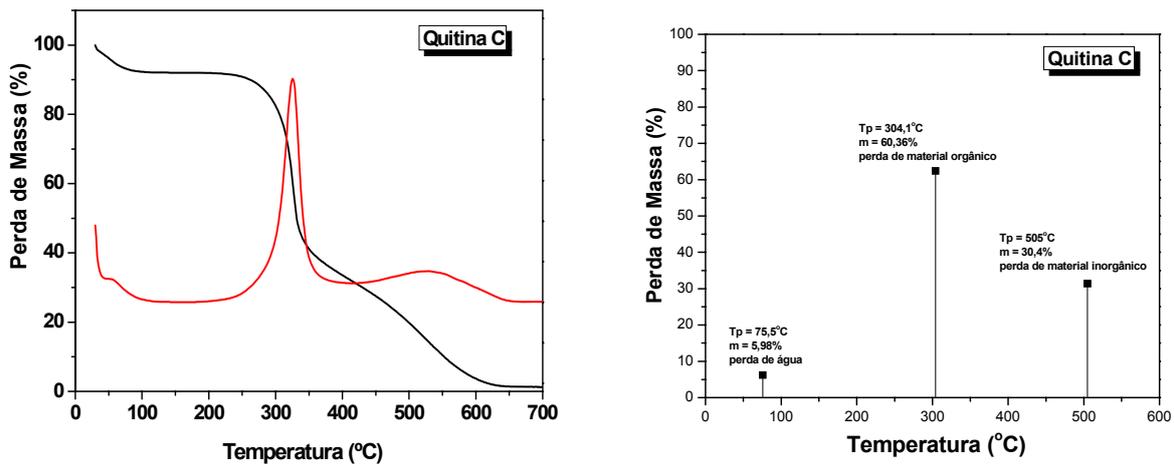


Figura 5.4. Curvas TG/DTG da amostra de quitina-C.

Observando o comportamento térmico das quitinas A, B e C, com relação à perda de água, a quitina C apresenta moléculas de água mais fortemente agregada ao polímero que a quitina B e a quina A. Com relação ao material orgânico, verifica-se que a quitina A, apresenta uma temperatura de pico maior que a quitina B e que a quitina C, apresentando maior estabilidade energética, como descrita na curva do DSC.

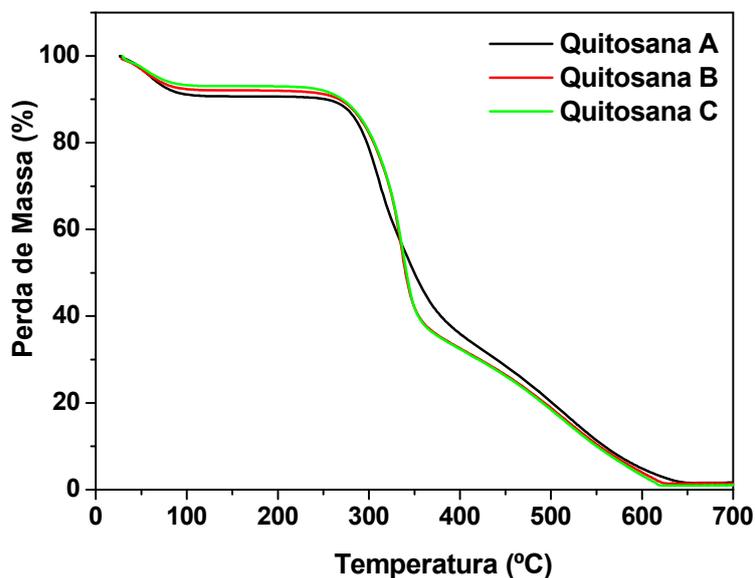


Figura 5.5. Curvas TG sobrepostas das amostras de quitosanas A, B e C.

A Figura 5.6 descreve o comportamento térmico da curva TG/DTG da amostra de quitosana A.

A figura 5.6 (b) relaciona a perda de massa em função da temperatura. Na primeira decomposição, houve uma perda de 9,36% de massa numa temperatura de pico

de 78°C, correspondente a perda de água, a segunda decomposição, ocorreu numa temperatura de pico de 330°C, com perda de massa de 59,6%, referente à material carbonizado. No terceiro evento, ocorreu decomposição, referente à perda de material inorgânico, numa temperatura de pico de 553°C, com perda de massa de 31,1%.

O comportamento da quitosana A se assemelha bastante com o tratamento da quitina correspondente.

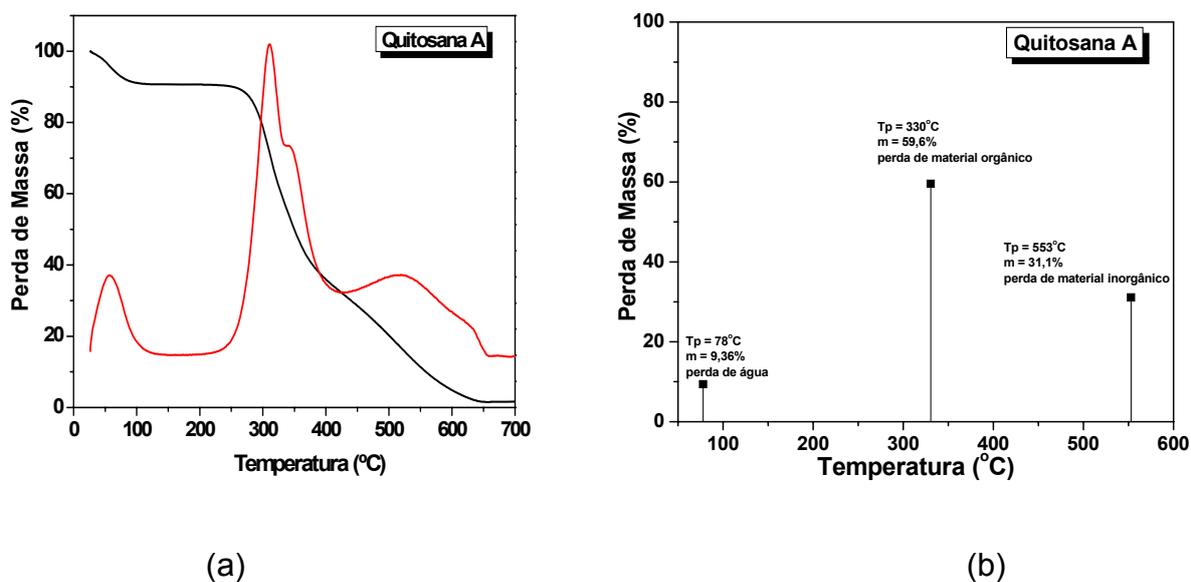
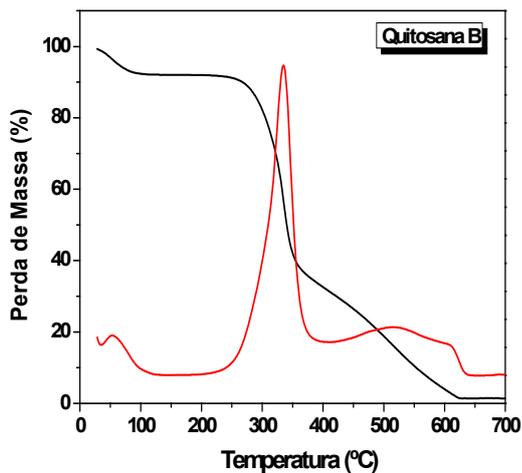


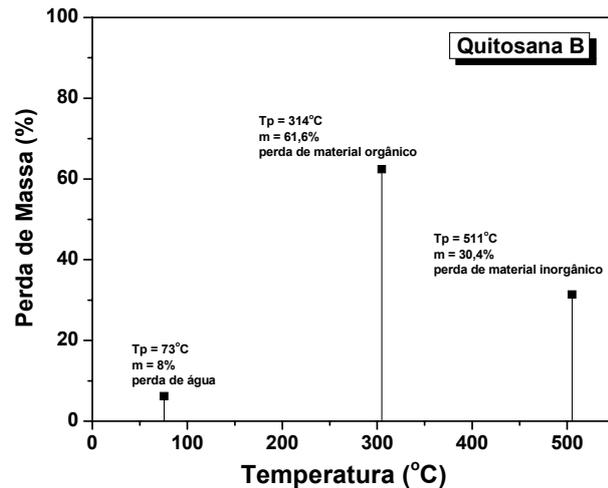
Figura 5.6. Curvas TG/DTG da amostra de quitosana A.

A Figura 5.7 descreve o comportamento térmico da curva TG/DTG da amostra de quitosana B.

A Figura 5.7 (b) relaciona a perda de massa em função da temperatura. Na primeira decomposição, houve uma perda de 8,0% de massa numa temperatura de pico de 73°C, correspondente a perda de água, a segunda decomposição, ocorreu numa temperatura de pico de 314°C, com perda de massa de 61,6%, referente à material carbonizado. No terceiro evento, ocorreu decomposição, referente à material carbonizado, numa temperatura de pico de 511°C, com perda de massa de 30,4 %.



(a)

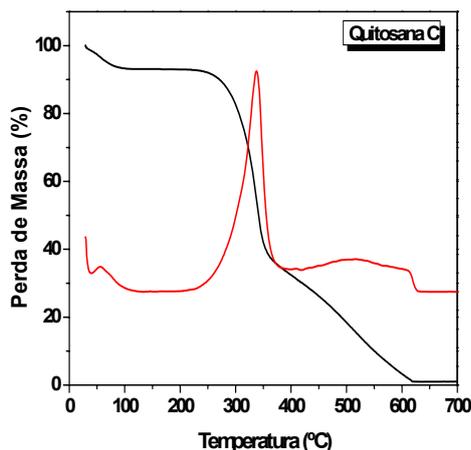


(b)

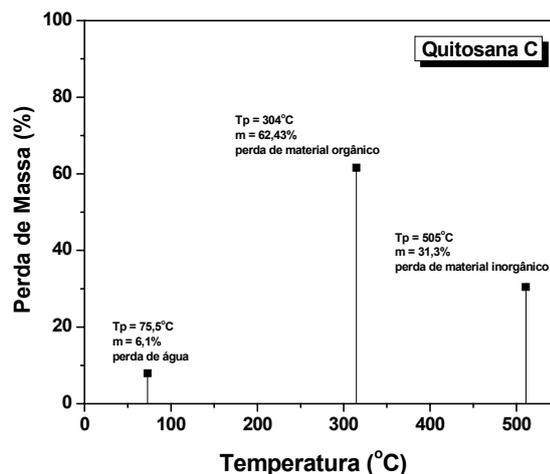
Figura 5.7 Curvas TG/DTG da amostra de quitosana B.

A Figura 5.8 descreve o comportamento térmico da curva TG/DTG da amostra de quitosana C.

A Figura 5.8 (b) relaciona a perda de massa em função da temperatura. Na primeira decomposição, houve uma perda de 6,1% de massa numa temperatura de pico de 75,5°C, correspondente a perda de água, a segunda decomposição, ocorreu numa temperatura de pico de 304°C, com perda de massa de 62,4%, referente à perda de material orgânico.



(a)



(b)

Figura 5.8 Curvas TG/DTG da amostra de quitosana C.

No terceiro evento, ocorreu decomposição, referente à material carbonizado, numa temperatura de pico de 505°C, com perda de massa de 31,3%.

5.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos biopolímeros foram realizadas com o objetivo de verificar as transições físicas e/ou químicas ocorridas durante o processo de decomposição.

A Figura 5.9 descreve o comportamento térmico das curvas DSC das amostras de casca de camarão. A curva DSC para amostra de casca de camarão apresentou transição endotérmica, com temperatura de pico de 88°C e entalpia de 441,7 J/g.

A Figura 5.10 apresenta as curvas de quitina A, B e C. A curva DSC para a amostra de quitina A apresentou duas transições endotérmicas, a primeira decomposição a uma temperatura de pico de 100°C e uma entalpia de 223,3 J/g e a segunda temperatura de pico de 390°C e uma entalpia de 30,10 J/g. A curva DSC para a amostra de quitina B apresentou duas transições endotérmicas, a primeira decomposição a uma temperatura de pico de 98°C e uma entalpia de 151,42 J/g e a segunda temperatura de pico de 370°C e uma entalpia de 14,00 J/g. A curva DSC para a amostra de quitina C apresentou dois eventos endotérmicos, a primeira decomposição a uma temperatura de pico de 110°C e uma entalpia de 195,27 J/g e a segunda temperatura de pico de 388°C e uma entalpia de 26,05 J/g.

As energias envolvidas nesse processo estão associadas à estabilidade do material, observando as primeiras energias absorvidas. A quitina A é mais estável que a quitina B e a quitina C é mais estável que a quitina B, e isso pode ser associado com o grau de desacetilação dessas quitinas. Quanto maior a estabilidade maior será o grau de desacetilação.

A energia da casca de camarão é bem maior que as energias das quitinas, conferindo-lhe maior estabilidade, como indicado nas Figuras 5.9 e 5.10.

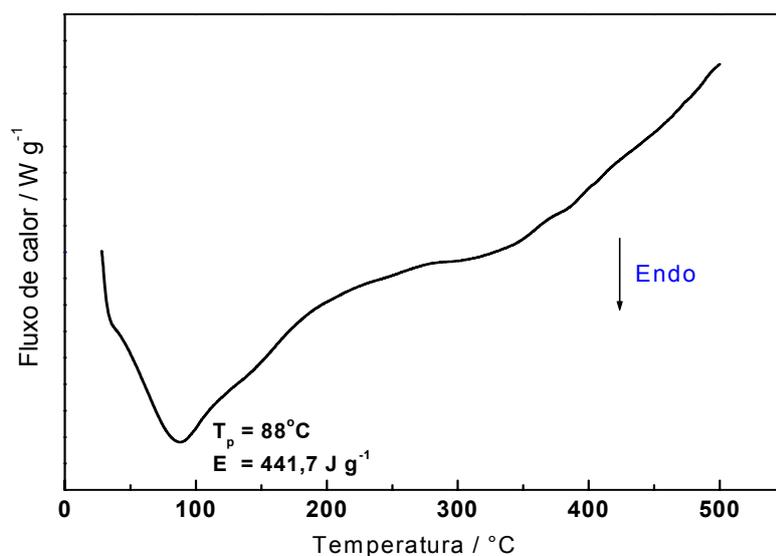


Figura 5.9. Curva DSC de casca de camarão.

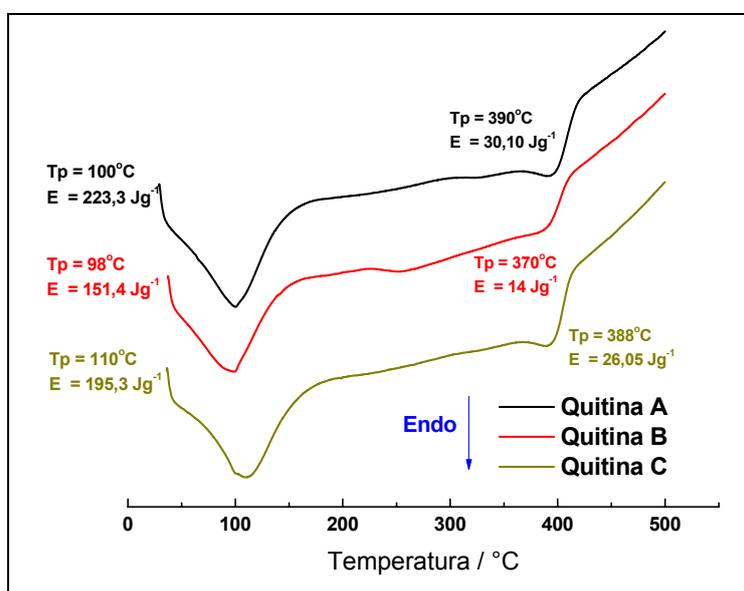


Figura 5.10. Curvas DSC das amostras de quitinas A, B e C.

A Figura 5.10 descreve o comportamento térmico das curvas DSC das amostras de quitosanas A, B e C.

As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) do biopolímeros quitosana foram realizadas com o objetivo de verificar as transições físicas e/ou químicas ocorridas durante o processo de decomposição (Figura 5.10).

A curva DSC para a amostra de quitosana A apresenta dois eventos térmicos, um endotérmico, com uma temperatura de pico de 97°C e uma entalpia de 18,13 J/g e um segundo pico exotérmico com uma temperatura de pico de 304°C e uma entalpia de 119,75 J/g.

A curva DSC para a amostra de quitosana B apresenta três transições térmicas, uma endotérmica, com uma temperatura de pico de 101°C e uma entalpia de 181,90 J/g e um segundo pico exotérmico com uma temperatura de pico de 312°C e uma entalpia de 44,39 J/g e um terceiro pico, endotérmico, com uma temperatura de pico de 388°C e uma entalpia de 54,85 J/g.

A curva DSC para a amostra de quitosana C apresenta três transições térmicas, uma endotérmica, com uma temperatura de pico de 107°C e uma entalpia de 185,21 J/g e uma segunda transição exotérmica com uma temperatura de pico de 312,14°C e uma entalpia de 44,4 J/g e um segundo pico endotérmico, com uma temperatura de pico de 390°C e uma entalpia de 47 J/g.

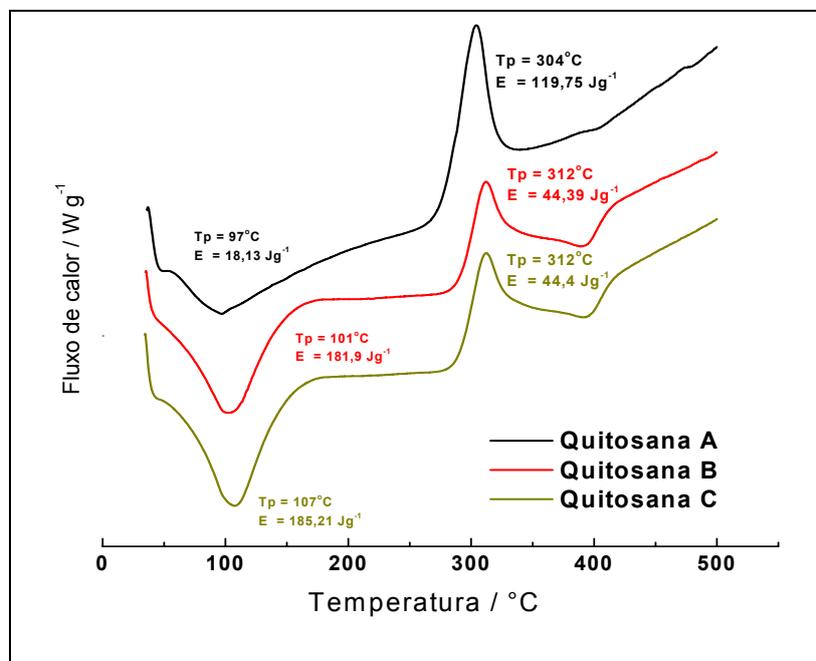


Figura 5.11. Curvas DSC das amostras de quitosanas A, B e C.

5.3. Análise Elementar

A análise elementar é outra técnica utilizada para se avaliar a eficiência do processo de desacetilação da quitina, pois se espera que, quanto mais eficiente for a desacetilação da quitina, maior será o percentual de nitrogênio encontrado na quitosana e, conseqüentemente maior o grau de desacetilação (GD).

A Tabela 5.1 mostra os percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio e a relação carbono/nitrogênio encontrados nos biopolímeros. Colocando-se em ordem crescente de percentual de nitrogênio, tem-se a seguinte seqüência $C \approx B < A$, sendo assim, o comportamento da quitosana C se aproxima da quitina, com percentuais de nitrogênio de 6,765% e 6,27%, respectivamente, comprovando que a quitosana C é apontada como a que possui o menor grau de desacetilação.

Os valores apresentados dos percentuais de nitrogênio pelas quitosanas B e C, são próximos entre si, ou seja, 6.77% e 6.76%, respectivamente, e inferior a quitosana A com 6,89%. Foi observado também o comportamento no percentual de carbono, já que no processo de desacetilação ocorre saída do grupo acetamido, isto é, redução na quantidade de carbono, logo seu percentual deve diminuir nas estruturas mais desacetiladas, comprovando que a quitosana A possui um maior grau de desacetilação. Este comportamento também foi observado com os valores do grau de desacetilação obtido na espectroscopia na região do infravermelho. Desta forma, os resultados da análise elementar estão de acordo com os resultados apresentados pela análise condutimétrica.

Tabela 5.1. Percentuais de Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e relação C/N.

	QUITINA	QUITOSANA A	QUITOSANA B	QUITOSANA C
C	43,50	39,52	41,62	41,94
H	6,69	7,32	6,86	7,09
N	6,27	6,88	6,76	6,76
C/N	6,93	5,74	6,15	6,20

5.4. Difratoograma de Raios X

O emprego de difração de raios X também permite distinguir claramente a quitina de partida de seus derivados desacetilados. De fato, o difratograma de quitina apresenta sinais mais resolvidos e em maior número do que observado nos difratograma de quitosana (Figura 5.12). O que é atribuída à existência de domínios cristalinos, maiores em maior número no caso da quitina. (ROBERTS, 1992 e ZHANG et al., 2000).

A finalidade do uso de difração de raios X é apropriada para determinação dos índices de cristalinidade de quitosana e quitina. O índice de cristalinidade (I_{CR}) pode ser determinado com o emprego da equação 5.1 (LI et al, 1998).

$$I_{CR} = \frac{I_C - I_A}{I_C} \times 100 \quad (\text{Eq. 5.1})$$

Sendo: I_C e I_A as intensidades dos sinais das regiões Cristalinas ($2\theta \approx 20^\circ$) e amorfas ($2\theta \approx 12^\circ$), respectivamente.

A relação entre o grau de desacetilação e o índice de cristalinidade relativo é inversa, quanto maior índice de cristalinidade menor será o grau de desacetilação, já que é característica das quitinas possuírem elevado grau de cristalinidade.

Tabela 5.2. Índices de Cristalinidades e Grau de Desacetilação.

Amostras	I_A	I_C	% I_{CR}	%GD
Quitosana-A	83,7	176,1	52,4%	95,40%
Quitosana-B	48,9	237,1	79,3%	82,80%
Quitosana-C	44,9	219,9	79,5%	89,56%
Quitina-A	174,56	1043,94	83,2%	————

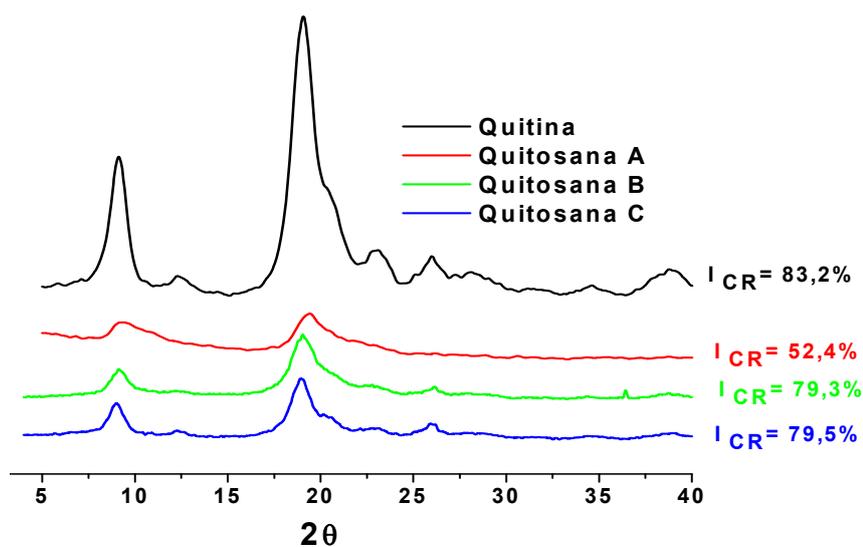


Figura 5.12. Difratograma de raios X das amostras de quitina e quitosana A, B e C.

5.5. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

5.5.1. Quitina

A espectroscopia na região do infravermelho é uma das técnicas utilizadas para caracterização de quitina e quitosana, de forma que, a caracterização destes biopolímeros nesta região do espectro foi de fundamental importância para este trabalho (BRUGNEROTTO et al., 2001 e SAIMOTO et al., 1996).

Os espectros das amostras das quitinas A, B e C estão apresentados na Figura 5.13. Observa-se as seguintes bandas características no espectro: a banda na região de 3400 cm^{-1} , intensa e larga, é devido às vibrações de estiramento axial do grupo OH presente na quitina, à qual está sobreposta a banda de estiramento de N-H, e as bandas na região de 2900 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento C-H.

As quatro bandas consideravelmente fortes, observadas entre 1700 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} , são bem características. A banda em 1655 cm^{-1} é atribuída à deformação axial de C=O presente na quitina, denominada de amida I. A banda em 1560 cm^{-1} corresponde à

mistura de dois modos vibracionais, N-H no plano e o estiramento C-H, que é chamada de amida II. Essa banda pode ser observada em todas as amostras.

A banda em 1380 cm^{-1} é atribuída à deformação angular simétrica do grupo CH_3 . A banda em 1313 cm^{-1} é menos intensa que as outras três e é atribuída às ligações C-N e C-H.

Além destas bandas características, pode-se observar em todas as amostras investigadas, as bandas de polissacarídeos na região entre $890 - 1150\text{ cm}^{-1}$. Todas as bandas observadas são semelhantes àquelas descritas na literatura (BRUGNEROTTO et al., 2001 e SAIMOTO et al., 1996).

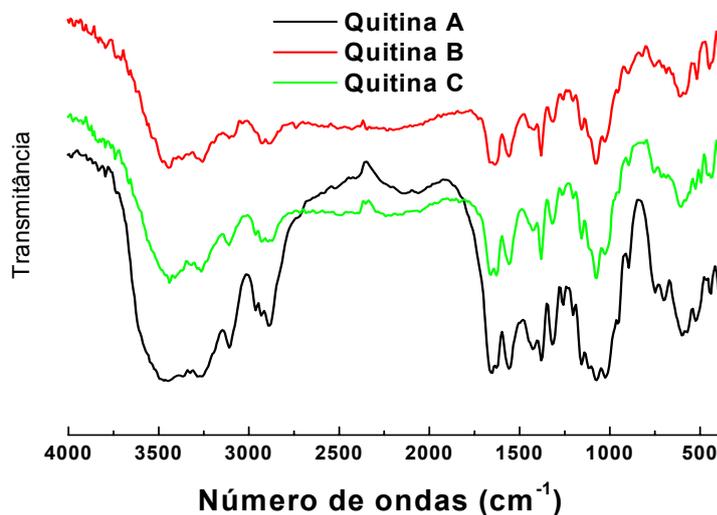


Figura 5.13. Espectro na região do infravermelho obtido para amostras de quitina A, B e C.

5.5.2. Quitosana

Os espectros na região do infravermelho de quitosana A, B e C estão apresentados na Figura 5.14.

Embora os espectros na região do infravermelho de quitina e quitosana apresentem certas semelhanças, é possível observar algumas diferenças, que são atribuídas aos diferentes índices de grupos acetamida, principalmente nas regiões correspondentes aos seguintes intervalos de número de onda: 3700 a 3000 cm^{-1} e 1800

a 1500 cm^{-1} . Comparando-se os espectros das quitosanas com os da quitina, verifica-se que houve significativas modificações na região entre 1700 a 1300 cm^{-1} .

No caso das amostras de quitosana, é visível o desaparecimento do ombro em torno de 3480 cm^{-1} presente no espectro da quitina Figura 5.13. O surgimento de uma nova banda a 1600 cm^{-1} , O desaparecimento da banda em 1560 cm^{-1} é devido à deformação NH_2 que predomina sobre a banda em 1655 cm^{-1} , esta última banda está associada à carbonila ($\text{C}=\text{O}$) que tende a diminuir, conforme vai aumentando o grau de desacetilação da quitosana.

O desaparecimento das duas bandas entre as regiões 3200 e 3100 cm^{-1} , como já mencionado, está relacionado à desacetilação do grupo NHCOCH_3 , transformando a amida em amina primária. Entretanto, nota-se a permanência das bandas nas regiões em torno de 3400 cm^{-1} , que esta relacionada à hidroxila.

Quando o mesmo espectro é observado na região entre 1500 a 1700 cm^{-1} nas amostras de quitosana B e C a desacetilação não foi tão efetiva quanto no processo de desacetilação da amostra A, isto fica evidenciado na Figura 5.14. As principais bandas características dos biopolímeros quitina e quitosana estão de forma resumidas na Tabela 5.3. A finalidade do uso da espectroscopia de infravermelho nesse trabalho foi identificar os principais grupos funcionais pertencentes aos biopolímeros quitina e quitosana. Observando que a quitosana sofreu desacetilação, conforme verificado através de ^1H -RMN e Titulação Condutimétrica.

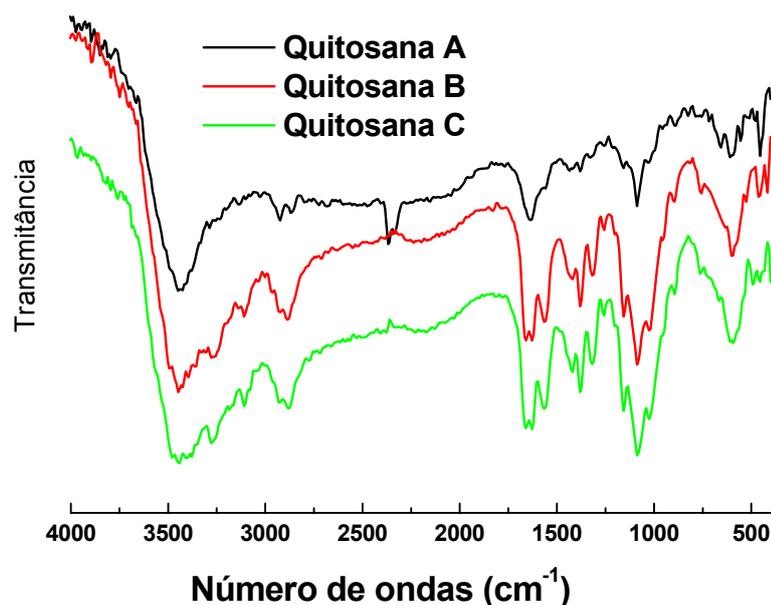


Figura 5.14. Espectro na região do infravermelho obtido para as amostras de quitosana A, B e C.

Tabela 5.3. Os principais grupos funcionais e atribuições vibracionais dos biopolímeros Quitina e Quitosana.

Amostra	Atribuição	Número de Ondas (cm ⁻¹)	Amostra	Atribuição	Número de Ondas (cm ⁻¹)
Quitina A	ν (O-H)	3450	Quitosana A	ν (O-H)	3450
	$\nu_{sim.}$ (C-H)	2920		$\nu_{sim.}$ (C-H)	2925
	δ (C=O)	1650		δ (N-H)	1630
	$\nu_{sim.}$ (N-H)	1560		$\delta_{sim.}$ (C-H)	1375
	δ (N-H)	1555			
	$\delta_{sim.}$ (C-H)	1380			
Quitina B	ν (O-H)	3450	Quitosana B	ν (O-H)	3450
	$\nu_{sim.}$ (C-H)	2920		$\nu_{sim.}$ (C-H)	2925
	δ (C=O)	1650		δ (N-H)	1654
	$\nu_{sim.}$ (N-H)	1560		$\delta_{sim.}$ (C-H)	1380
	δ (N-H)	1555			
	$\delta_{sim.}$ (C-H)	1380			
Quitina C	ν (O-H)	3445	Quitosana C	ν (O-H)	3450
	$\nu_{sim.}$ (C-H)	2915		$\nu_{sim.}$ (C-H)	2900
	δ (C=O)	1655		δ (N-H)	1650
	$\nu_{sim.}$ (N-H)	1560		$\delta_{sim.}$ (C-H)	1380
	δ (N-H)	1555			
	$\delta_{sim.}$ (C-H)	1380			

5.6. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (^1H -RMN)

A determinação do grau médio de desacetilação (\overline{GD}) por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (^1H -RMN) foi usada nesse trabalho para comparar com as demais técnicas usadas para caracterização dos biopolímeros quitina e quitosana.

O grau médio de desacetilação de quitosana, \overline{GD} , é uma medida do número médio de unidades 2-acetoamido-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose. A proporção relativa dessas unidades nas cadeias macromoleculares de quitosana tem efeito na solubilidade e nas propriedades das soluções de quitosana.

Várias técnicas têm sido propostas para determinação do \overline{GD} as quais incluem: métodos espectroscópicos IR e ^1H -RMN (SABNIS e BLOCK, 1997). métodos titrimétricos (BROUSSINGNAC, 1969)., análise térmica (ALONSO, 1983)., análise por hidrólise e cromatografia líquida de alta eficiência, métodos enzimáticos e análise elementar (ROBERTS, 1992).

Para analisar as amostras de quitosanas a técnica de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio tem mostrado boa reprodutibilidade, rapidez nas análises e exige pouca quantidade de amostra. A obtenção de um espectro de ^1H -RMN quantitativo depende de parâmetros, tais como tempo de irradiação da amostra, tempo de varredura, tempo de espera antes do pulso seguinte, número de varredura entre outros.

A espectroscopia de ^1H -RMN é útil nas análises das amostras de quitosana em ampla faixa de valores de \overline{GD} e é independente da viscosidade da amostra, pois a análise é realizada a 70°C . No entanto, é necessário que a varredura do espectro e a aquisição dos dados sejam realizadas rapidamente ao se efetuar a análise a 70°C , de modo a minimizar problemas tais como a reação de hidrólise ácida que leva à desacetilação e/ou degradação da amostra (SANTOS et al., 2003)

Para calcular os valores de grau médio de desacetilação (\overline{GD}), foi utilizada a seguinte equação:

$$\overline{GD} = 100 \left[1 - \left(\frac{1/3 H_{Ac}}{1/6 H_{2-6}} \right) \right] \quad (\text{Eq. 5.2})$$

Em que: H_{Ac} = núcleos do grupo acetilado e H_{2-6} = núcleos dos hidrogênios ligados aos carbonos 2,3,4,5 e 6.

A atribuição dos sinais observados no espectro das Figuras 5.15; 5.16 e 5.17 correspondem a:

- Na região entre 4,6 e 5,2 ppm o sinal é atribuído ao hidrogênio da posição 1 de anel glicosamino com vizinhança do grupo acetamido na posição 2;
- Entre 3,6 e 4,2 ppm são observados, superpostos, os sinais dos hidrogênios ligados aos carbonos 6, 5, 4 e 3 do anel glicosamino;
- O tripleto em 3,2 ppm é devido ao hidrogênio localizado na posição 2 do anel glicosamino;
- O singleto na região de 2,1 ppm corresponde ao hidrogênio da metila do grupo acetamido.

Os valores de \overline{GD} para as amostras de quitosana A, B e C são:

Para quitosana A, $\overline{GD} = 92\%$ e para quitosana C, $\overline{GD} = 89\%$. Para quitosana B, não foi possível determinar seu \overline{GD} , pois ocorreu degradação da amostra, por uma possível hidrólise ácida;

$$\overline{GD} = 100 \left[1 - \left(\frac{1/3 H_{Ac}}{1/6 H_{2-6}} \right) \right]$$

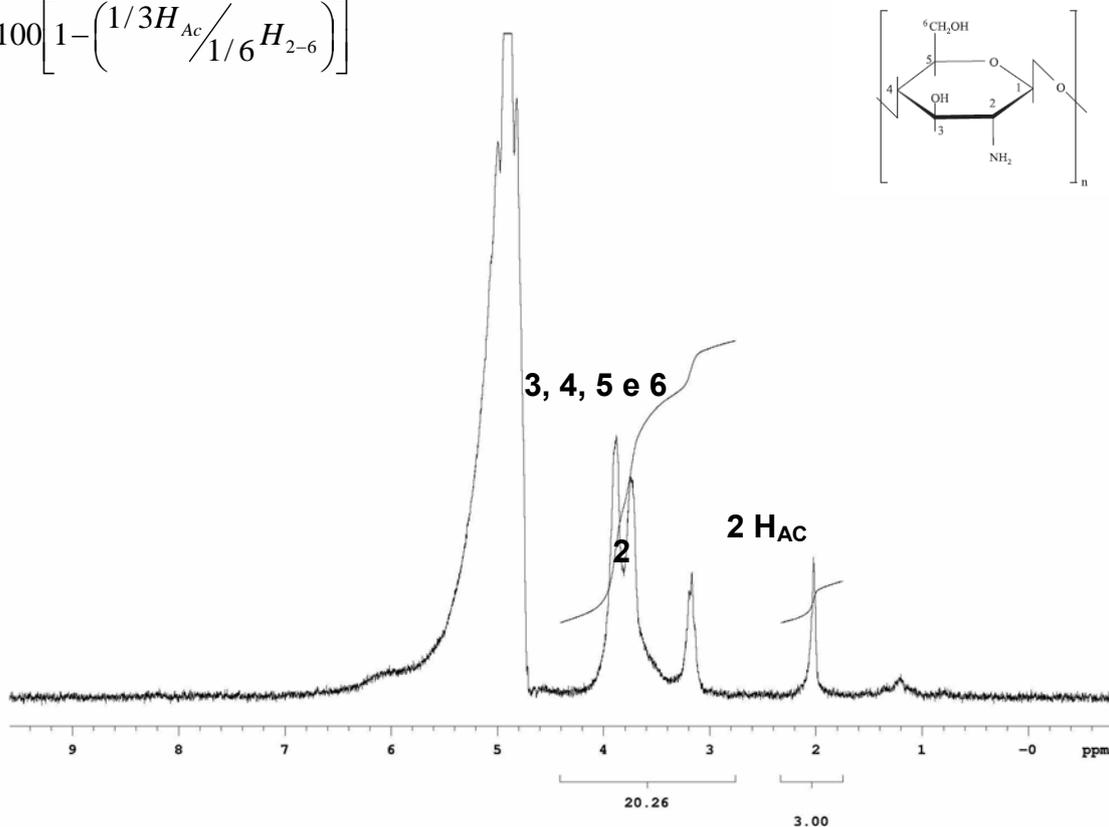
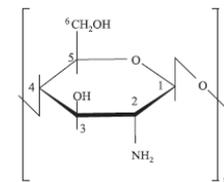


Figura 5.15. Espectro de ^1H -RMN da quitosana A.

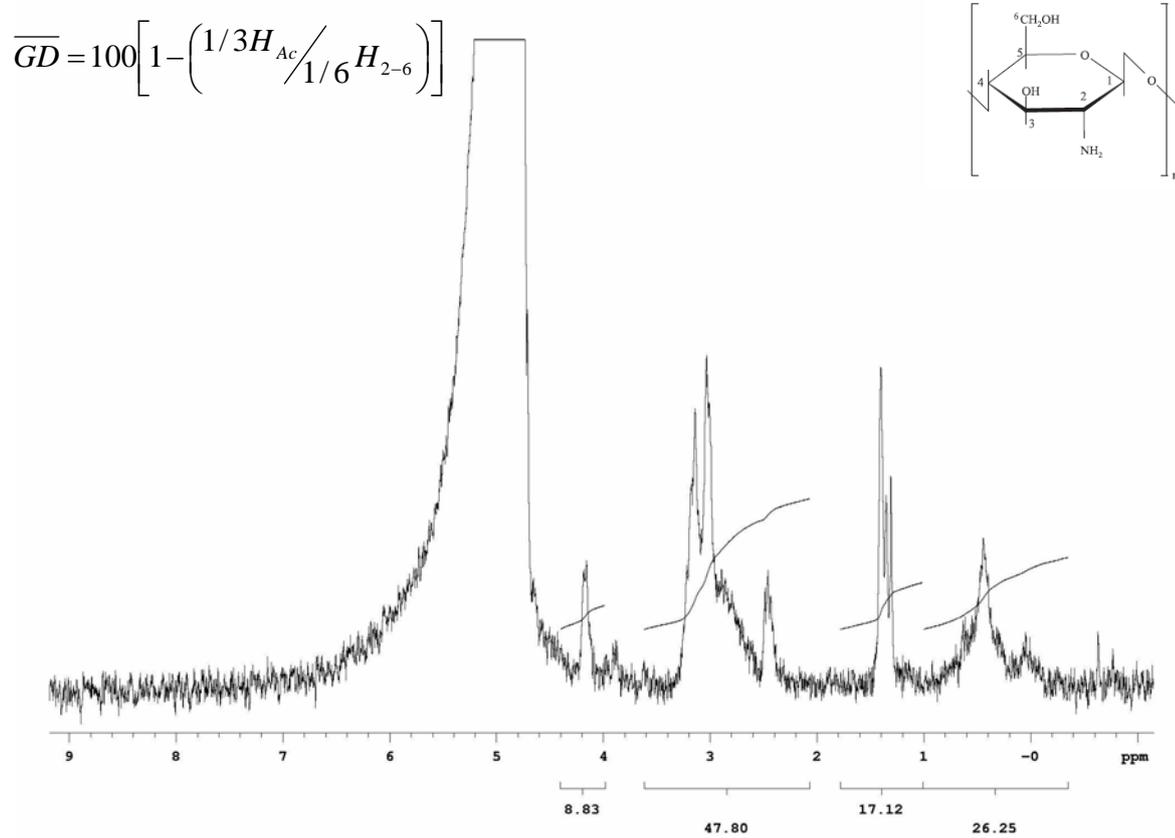


Figura 5.16. Espectro de ^1H -RMN da quitosana B.

$$\overline{GD} = 100 \left[1 - \left(\frac{1/3 H_{Ac}}{1/6 H_{2-6}} \right) \right]$$

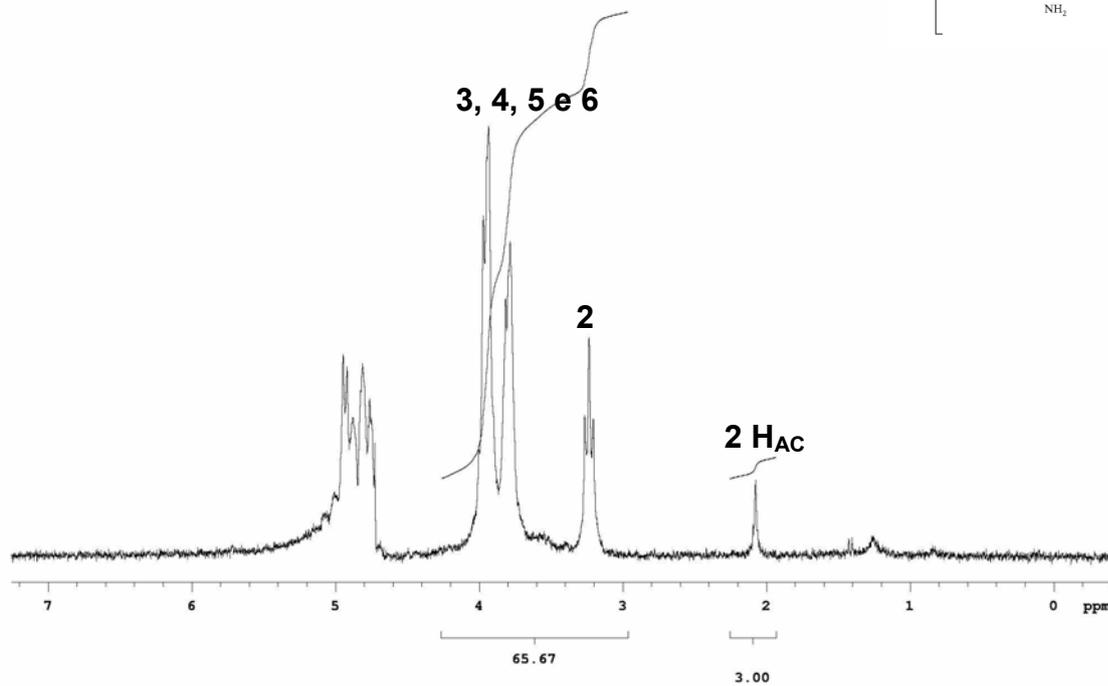
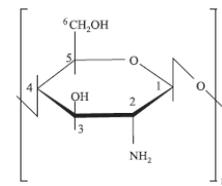


Figura 5.17. Espectro de ^1H -RMN da quitosana C.

5.7. Titulação condutimétrica

O grau médio de Desacetilação (\overline{GD}) é definido como o número de grupos amino em relação aos grupos amida da cadeia polimérica, podendo ser determinado por meio de titulação condutimétrica (SANTOS et al., 2003).

O princípio básico da titulação condutimétrica é a substituição de íons que têm certa condutividade por outros íons, com condutividade diferente.

As curvas condutimétricas das amostras de quitosana A, B e C são representadas na Figura 5.18.

O primeiro ramo linear representa a neutralização do ácido presente, o segundo ramo linear corresponde à neutralização de prótons dos grupos amino da quitosana e o terceiro conjunto de pontos refere-se ao excesso de base, após o ponto de equivalência. Estas três retas, (Figura 5.18) originam por extrapolação dois pontos de inflexão, que correspondem ao volume de base necessário para neutralizar os grupos amino protonados. O número de equivalentes de grupos ácidos foi calculado usando a seguinte expressão:

$$\% \overline{GD} = \frac{16,1 \cdot [(base) \cdot (V_2 - V_1)]}{m} \quad (\text{Eq. 5.3})$$

$$\% \overline{GA} = 100\% - \overline{GD} \quad (\text{Eq. 5.4})$$

Em que: \overline{GD} é o grau médio de desacetilação, \overline{GA} é o grau médio de acetilação, V_1 é o volume de base usado para neutralização de HCl em excesso, expresso em mL, $V_2 - V_1$ é o volume de base usado para neutralização dos grupos aminos ácidos de quitosana, expresso em mL; (Base) é a concentração da base e m é a massa da quitosana.

O \overline{GD} foi determinado usando a Equação 5.3, levando em conta as equações das retas, formadas em cada titulação.

Tabela 5.4. Equações das retas para as curvas de titulações condutimétricas das quitosanas A, B e C.

QUITOSANA-A	QUITOSANA-B	QUITOSANA-C
$Y_1 = 4,42844 - 0,70604 X$	$Y_1 = 3,95704 - 0,62716 X$	$Y_1 = 3,88107 - 0,55479 X$
$Y_2 = 0,78 + 0,10 X$	$Y_2 = 0,489 + 0,125 X$	$Y_2 = 0,328 + 0,14 X$
$Y_3 = - 0,40762 + 0,30143 X$	$Y_3 = - 0,80778 + 0,35 X$	$Y_3 = - 1,05467 + 0,35606 X$
%GD = 95,4	%GD = 82,8	%GD = 89,6

Fazendo $Y_1=Y_2$, o "X" equivale ao volume de base utilizada para neutralizar o HCl, isto é, V_1 , e quando $Y_2=Y_3$, o valor de "X" equivale ao volume de base utilizada para neutralizar os grupos aminos protonados. Isto é, V_2 .

Os valores encontrados estão de acordo com os valores determinados pelas técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (^1H - RMN).

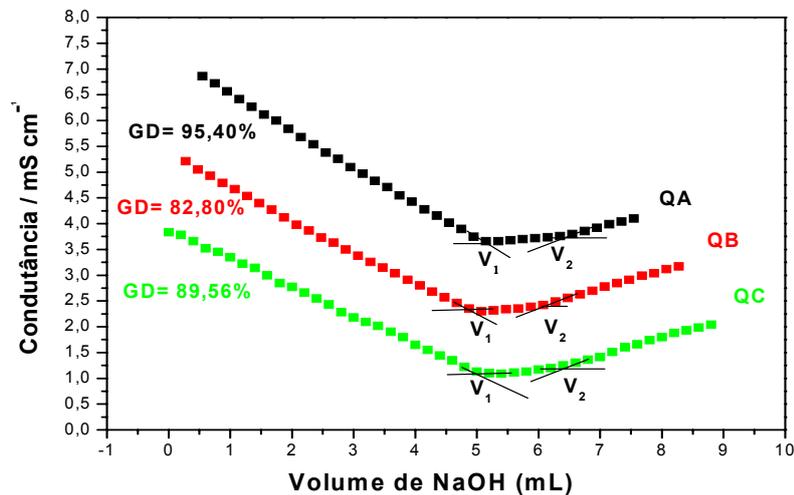


Figura 5.18. Curvas Condutimétrica das amostras de quitosanas A, B e C.

5.8. Medidas de Viscosidade

A Tabela 5.5 apresenta os valores de viscosidade intrínseca ($[\eta]$), da constante de Huggins (K_H), da constante α e massa molar média (\bar{M}) da amostra de quitosana C determinados por viscosimetria, (RINAUDO *et al.*, 1993):

Tabela 5.5. Valores de viscosidade intrínseca ($[\eta]$), constante de Huggins (K_H), constante α e massa molar viscosimétrica média (\bar{M}) determinada para quitosana C.

Amostra	% \overline{GD}	$[\eta]$ / (ml g ⁻¹)	K_H	α	(\bar{M}) /g mol ^{-1(a)}
Quitosana C	89,56%	848,77	0,076	0,76	2,12 x 10 ⁵

^(a)valor calculado usando uma solução tampão NaAc/HAc (RINAUDO *et al.*, 1993)

A Figura 5.19 apresenta a curva de viscosidade reduzida $[\eta_{red}]$ versus concentração da solução de quitosana C.

A viscosidade intrínseca é determinada pela extrapolação a $C \rightarrow 0$ da reta obtida no gráfico (Figura 5.19). As retas obtidas apresentaram coeficiente de correlação da ordem de 0,9986, e os valores de constante de Huggins, determinados no tampão ácido acético/acetato são relativamente pequenos (Tabela 5.5) indicando que soluções límpidas e com viscosidade adequada foram obtidas pela dissolução da amostra purificada. Tais soluções foram preparadas previamente por diluição de estoque, de acordo com os testes para otimizar sua concentração (SANTOS *et al.*, 2003; SIGNINI e CAMPANA FILHO, 1998).

A Figura 5.19 mostra curvas de viscosidade reduzida e viscosidade inerente versus concentração da solução da amostra de quitosana C em solução tampão NaAc/HAc.

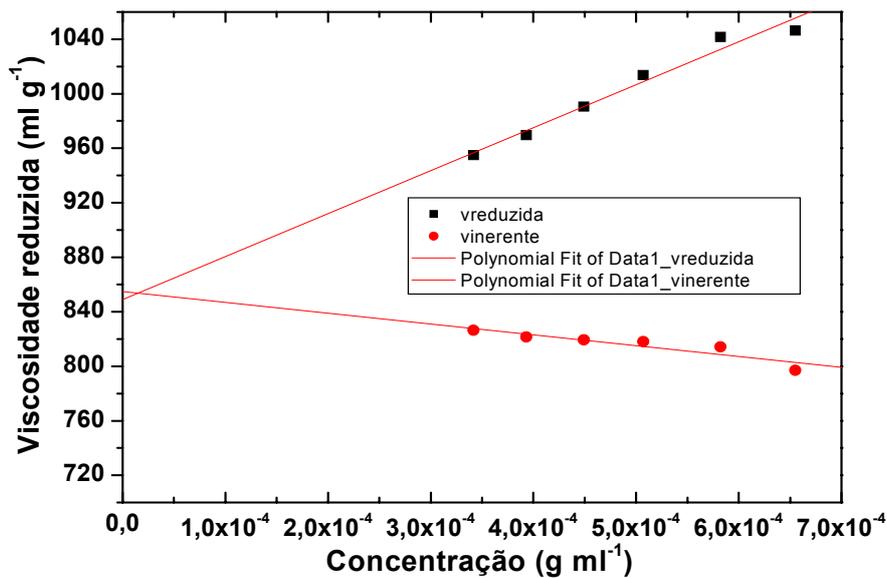


Figura 5.19. Curva de viscosidade reduzida e viscosidade inerente versus concentração da solução de quitosana C.

(pH= 4,5) a temperatura de 25°C. A viscosidade, assim determinada, satisfaz a relação de Marc-Houwink (Eq 6).

$$[\eta] = KM_v^\alpha \quad (\text{Eq. 5.5})$$

Em que: $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca da solução, K é a constante dependente da temperatura e do solvente e característica do polímero; α é uma constante característica da geometria da molécula e o M_v é massa molar média determinada por viscosimetria (RINAUDO *et al.*, 1993).

O valor de viscosidade intrínseca determinada a partir da Equação 5.5 permite determinar a massa viscosimétrica M_v da amostra de quitosana C.

5.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

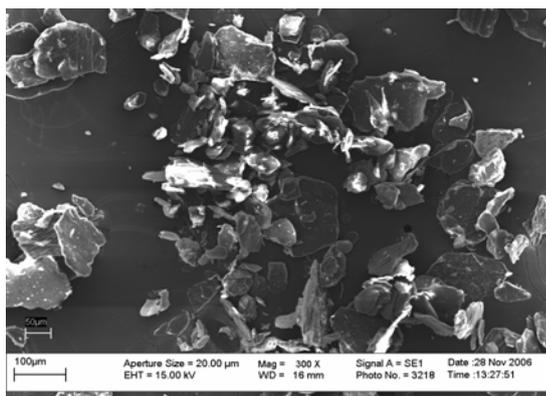
As Figuras 5.20, 5.21 e 5.22 representam as fotomicrografias das amostras de casca de camarão, quitina e quitosana, respectivamente.

Observa-se à morfologia da casca de camarão, quitina e quitosana as quais apresentaram homogeneidade e compactação, além de evidenciar presença de

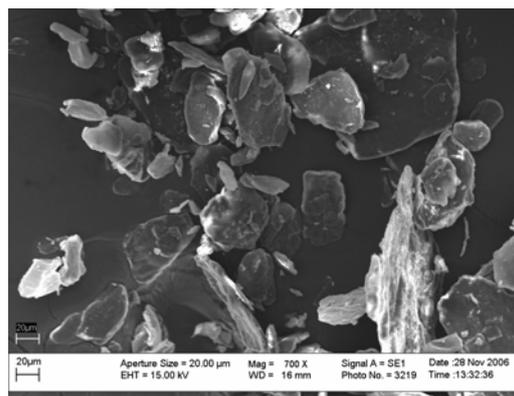
agregados com formação de orifícios, devido às partículas se difundirem umas nas outras, processo que promove o fenômeno do transporte de massa entre as partículas.

Comparando entre as Fotomicrografias de Casca de camarão, quitina e quitosana ao aumento máximo de cada polímero, descrito nas figuras 5.20 D, 5.21 D e 5.22D observou-se que na casca de camarão as partículas apresentavam-se homogêneas e com aspecto mais compactado, formando grandes partículas com pequenos orifícios como mostrado na Figura 5.20 D.

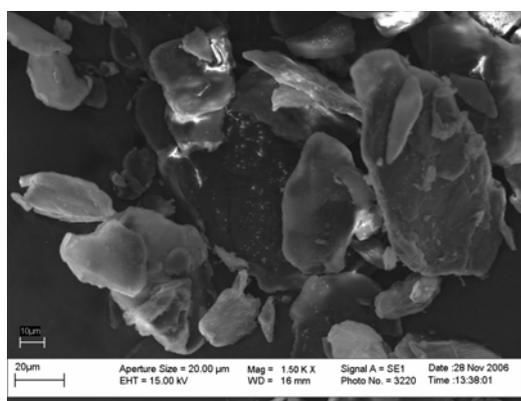
Na amostra de quitina, a superfície apresentou um comportamento fibroso, observado na Figura 5.21 D e sem zonas de orifício, as quais possuem tamanhos regulares e com mesmo aspecto em todas as partículas. Enquanto na quitosana as partículas possuem tamanhos irregulares, sem orifícios e bem maiores que o tamanho da quitina e com aspecto fibroso, descrição da figura 5.22.



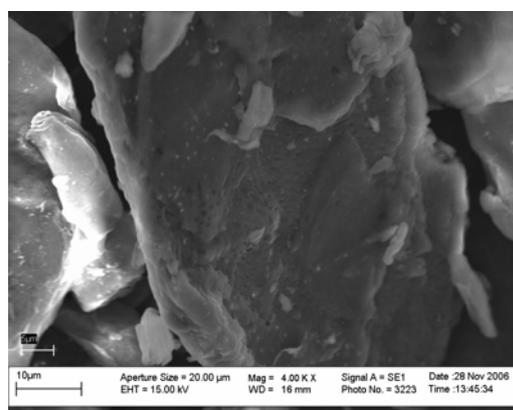
A



B

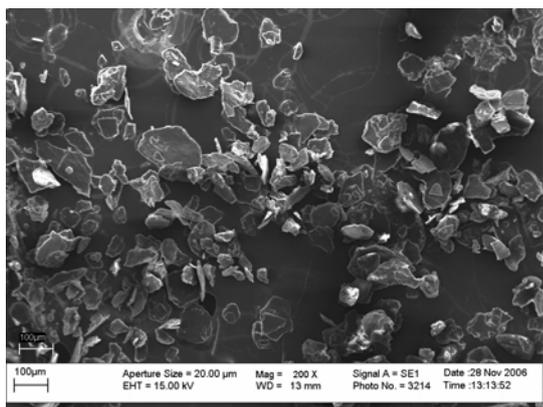


C

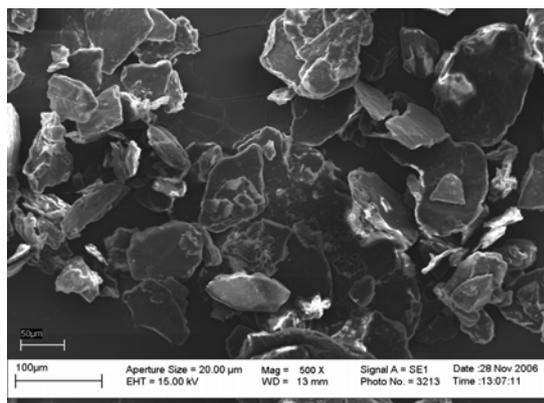


D

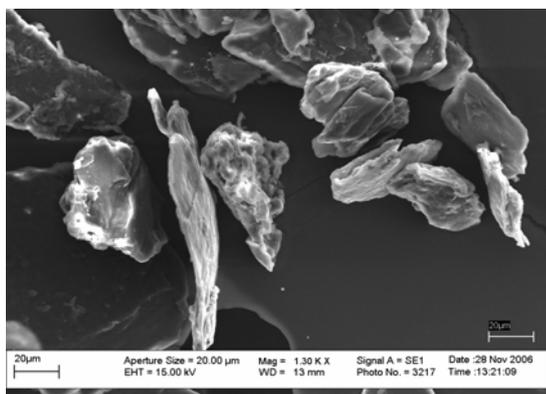
Figura 5.20. Fotomicrografia de uma amostra de casca de camarão: A= 300 X; B=700 X; C=1500 X e D=400 X.



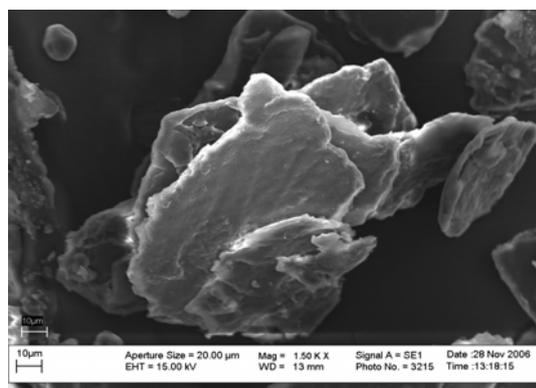
A



B

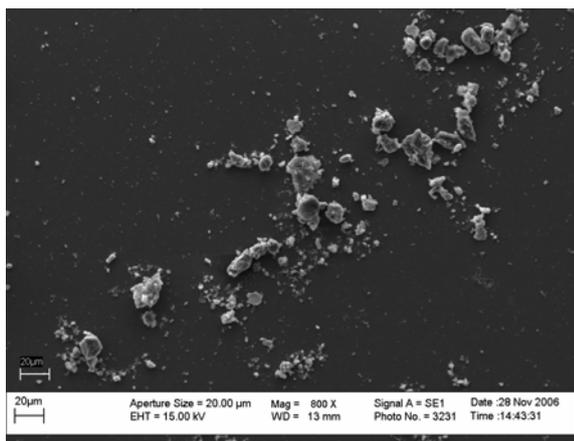


C

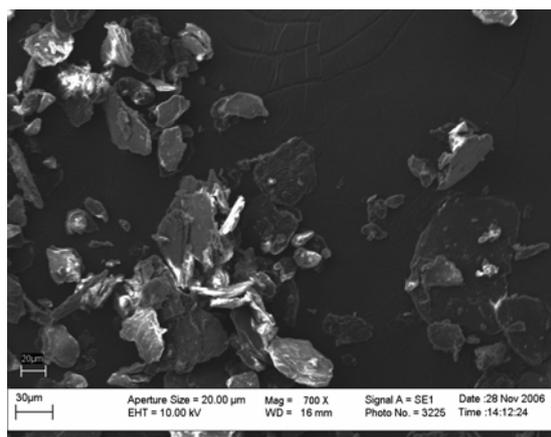


D

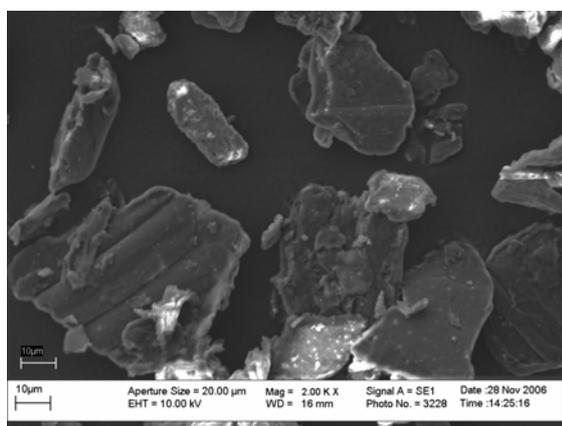
Figura 5.21. Fotomicrografia de amostra de quitina: A= 200 X; B=500 X; C=1300 X e D=1500 X.



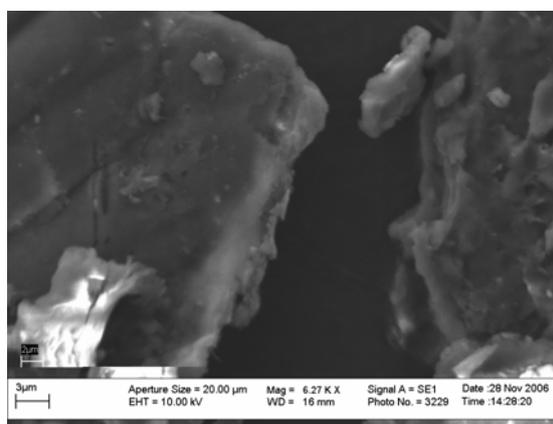
A



B



C



D

Figura 5.22. Fotomicrografia de amostras de quitosana: A= 600 X; B=627 X; C=700 X e D=2000 X.

Capítulo 6

Conclusões

6. CONCLUSÕES

No processo de desmineralização das cascas de camarão, as concentrações de ácidos reproduziram um perfil bastante semelhante, descrito na curva TG. Em síntese, foi importante usar a menor concentração de ácido para minimizar gastos de reagentes e possíveis agressões ao meio ambiente.

A desmineralização da quitina foi eficiente, como justificado pela Análise Térmica, através das técnicas TG e DSC, verificando que em todos os processos as amostras obtidas possuem um perfil semelhante.

A caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio $^1\text{H-RMN}$, foi bastante importante para verificar o grau de desacetilação das quitosanas A, B e C, apesar da quitosana B sofrer degradação, mas ela foi determinada por Titulação Condutimétrica, mais os valores estão dentro da faixa de erro relativo permitido.

A análise de Difractograma de Raios X foi bastante útil para verificar o grau de cristalinidade da quitina em relação à quitosana, onde o gráfico da quitina apresenta maiores picos e em maior número que o gráfico da quitosana. Podendo até relacioná-lo com o grau de desacetilação

A análise elementar foi importante, para verificar a percentagem de cada elemento na estrutura, conferindo quitina e quitosana, na proporção de seus grupos funcionais, relacionando o grau de desacetilação com o percentual de nitrogênio de cada polímero.

O Estudo viscosimétrico determinou a massa molar viscosimétrica, mostrando que o biopolímero não sofreu degradação, pois ele apresenta alta massa molar. (Quitosana C).

As identificações dos grupos funcionais através de espectroscopia de infravermelho, foram de grande importância, para identificar realmente os biopolímeros quitina e quitosana contribuindo para determinação do grau de desacetilação.

A Titulação Condutimétrica foi relevante pois além de determinar o grau de desacetilação, serviu de suporte para comparar o grau de desacetilação determinado por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio. Dessa forma o processo de obtenção de quitosana a partir de cascas de camarão, apresentaram boas condições de reprodutibilidade e baixo custo financeiro, comparado com o valor de mercado.

A análise de Microscopia Eletrônica de Varredura foi essencial para análise do tamanho e formato das partículas de quitina e quitosana, destacando suas características de matérias quanto ao aspecto físico.

Capítulo 7

Sugestões

7. SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

Obtenção de quitosana a partir de cascas de camarão utilizando catálise homogênea, em meio alcalino mais brando por mais tempo.

Síntese de quitosanas modificadas a partir de uma amostra de quitosana previamente definida com suas propriedades físico-químicas, para produção de fármacos.

Estudo e análise de pigmento astaxantina, derivado da despigmentação, no tratamento de obtenção de quitina.

Estudo de filmes finos a partir de quitosana, para conservação de alimentos.

Capítulo 8

Referências bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIROLDI, C.M.O.A.Jr.; **International Journal of Macromolecules**; 26; 119, 1999.

ALEXANDER, L.E., "Degree of Crystallinity of Polymers", in: **X-Ray Diffraction Methods in Polymer Science**, cap. 3, John Wiley & Sons Inc., Malabar, 1998

ALONSO, I. G.; COVAS, C. P. e NIETO, J. M. Determination of Degree of acetylation of chitin and Chitosan by Thermal Analysis. **Journal Thermal Analysis**, v.28,p.189-193, 1983.

ANDERSON, H. U.; PENNEL, M. J.; GUHA, J. P. "Polymeric synthesis of lead magnesium niobate powders". **Advances in Ceramics**, 21, 91-98, 1987.

BROUSSINGNAC, P. Un Haut Polymer Naturel Peu Connu l'industrie Le Chitosane. **Chimie et Industrie Genie Chimique**, v.99, n. 9,p.1241-1247, 1969.

BROWN, M. E. **Introduction to Thermal Analysis: Techniques and applications**. New York: Chapman and Hall, 1988.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F.M.; ARGUELLAS-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J. e RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, **Polymer.**, 42, 35-69, 2001.

CARRASCO, F.; **Thermochimica Acta**, 287: 115, 1996.

CAVALHEIRO, E. T. G.; IONASHIRO, M.; BREVIGLIERE, S. T.; MARINO, G e CHIERICE, G. O. "A Influência de fatores experimentais nos resultados de análise termogravimétricas". **Química Nova**, 18(3): 305, 1995.

CONCEIÇÃO, M. M. **Estudo da degradação térmica de adoçante com aspartame, João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB**, Tese de doutorado, 2004.

CONCEIÇÃO, M. M.; **Estudo termoanalítico e cinético do milho e derivados**. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB. Dissertação de Mestrado, 2000.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C. e QUEIROZ, D. C. **Quitosana a Fibra do Futuro**. Fortaleza: PADETEC (UFC), 1999.

DOLLIMORE, D.; GAMLEN, G. A. e TAYLOR, T. J., Mass spectrometric evolved gas analysis: An overview, **Thermochimica Acta**, 75, pág. 59 - 69, 1984.

FELIX, E. G.; KIMURA, I.Y.; LARANJEIRA, M.C.M.; FAVERE, V.T. Adsorção de corantes reativos pela floculação da quitosana. In: Encontro Brasileiro sobre Adsorção, 2., 1998, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Leonel T. Pinto. p.433-437, 2000.

FERNANDES, V. J. **Curso de Análise Térmica (TG, DSC, DTA e TMA)**, UFRN, Natal, 1995.

GAMZAZADE, A. I.; NASIBOV, S. M.; ROGOZHIN, S. V. Study of lipoprotein sorption by some sulfoderivatives of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v.34, p.381-384, 1997.

GUIBAL, E.; MILOT, C.e ROUSSY, J. Influence of hydrolysis mechanisms on molybdate sorption isotherms using chitosan. **Separation Science and Technology**, v.35, n.7, p.1021- 1038, 2000.

HAINES, P. J., **Thermal Methods of Analysis: Principles, Applications and Problems**, Blackie Academic and Professional, England, 1995.

HERMANS,P. H. e WEINDINGER, A. J. **Appl. Phys.**19, p 281 ,1998.

HIRAI, A.; ODANI, H.; NAKAJIMA, A. Determination of Deacetylation of Chitosan by ¹H-NMR Spectroscopy. **Polymer Bulletin**, v.26, p.87-94, 1991.

HIRANO, S.Chitin and Chitosan, **Elsevier**, New York, 37-43, 1989.

HONG, XIAO-YIN; J. M. **S-Pure Appl.Chem.**, 10, 1459-1477. 1996.

HUANG, C.; CHEN, S.; PAN, J. R. Optimal condition for modification of chitosan: a biopolymer for coagulation of colloidal particles. **Water Research**, v.34, n.3, p.1057-1062, 2000.

IONASHIRO, M. e GIOLITO, I., **Nomenclatura, padrões e apresentação de resultados em análise térmica**, Cerâmica, 26, pág. 17 - 24, 1980.

JAAFARI, K.; ELMALEH, S.; COMA, J.; BENKHOUJA, K. Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protonated cross-linked chitosan. **Water SA**, v.27, n.1, Jan. 2001.

KIRK-OTHMER Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd ed. John Wiley & Sons, New York, 1982

KNORR, D. **Food Technol.**, January, 114-120, 1991.

KOBELKE, D. N. **Food Australia**, 42, 18-19, 1990

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.

LI, J.; REVOL, J. F. e MARCHESSAULT, R. H. **J. Appl.Polym.** 16, p. 83, 1998.

LUCHESE, Thelma; BATALHA, Mário Otávio. Produção de camarão marinho no Estado de São Paulo: um estudo de viabilidade utilizando indicadores de competitividade de cadeia produtiva. IN: IV Congresso Internacional de Economia e Gestão de Redes Agroalimentares, 2003, Ribeirão Preto – SP. **Anais do Congresso**. Ribeirão Preto: USP – Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade, 2003.

MATHUR, N. K.; NARANG, K. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals. **J. Chem. Educ.**, 67, 11, 1990.

MOTHÉ, C. G. e AZEVEDO, A. D., **Análise térmica de materiais**. São Paulo: Editora, 2002.

NATIONAL BIODIESEL BOARD; In: **Anais do Congresso Internacional de Biocombustíveis Líquidos**; Instituto de Tecnologia do Paraná; Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior; Curitiba, PR, Brasil; 19 a 22 de julho, p. 42, 1998.

NIFANT'EV, N. E.; CHERNETSKII, V.N. **Mendeleev Chem. J.** 1998.

NIKUMBH, A. K., Slip casting of partially stabilized Zircônia. **Journal of Materials Science**, 26, pág. 3649-3656, 1991.

PETER. M. G; J. M. Applications and Environmental Aspects of chitin and Chitosan. **Pure Appl. Chem.**, 4, 629-640, 1995.

RAYMOND, L., MORIN, F. G.; MARCHESSAULT, R. H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. **Carbohydr. Res.**, 246, 331, 1993.

RINAUDO, M.; MILAS, M e DUNG, P. L. Characterization of Chitosan. Influence of Ionic Strength and Degree of Acetylation on Chain Expansion. **International Journal of Biological Macromolecules**, 15, 281,1993.

ROBERTS, G. A. F. **Chitin Chemistry**, Macmillan, London 14 (3): 166-169 JUN 1992.

SABNIS, S e BLOCK, L.H. Improved infrared Spectroscopic for the Analysis of Degree of N-Deacetylation of Chitosan. **Polymer Bulletin**, v.39, p.67-71, 1997.

SAIMOTO, H.; SASHIWA, H.; MATSUURA, H e SHIGEMASA, Y. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin. **International Journal of Biological Macromolecules**, 18, 237, 1996.

SANTOS, J. E., SOARES, J. P., DOCKAL, E. R., CAMPANA FILHO, S. P., CAVALHEIRO, E. T. G. Caracterização de Quitosanas Comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** 13(4), 242, 2003.

SCHMUHL, R.; KRIEG, M. H e KEIZER, K. Adsorption of Cu (II) and Cr (VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies. **Water SA**, v.27, p.1-7, 2001.

SIGNINI, R e CAMPANA-FILHO, S. P. Purificação de quitosana comercial. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** 4 (4), 63, 1998.

SILVA. M. C. D., **Obtenção e avaliação térmica do corante natural bixina a partir das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)**, João Pessoa, Programa de Pós- Graduação em Química, UFPB, Tese de Doutorado, 2005.

SZEKELY, G.; NEBULONI, M. e ZERILLI, L. F.; Thermal analysis-mass spectrometry coupling and its applications, **Thermochimica Acta**, 196, pág. 511 - 532, 1992.

TENG, L. W.; KHOR, E.; TAN, T. K.; LIM, L. Y.; TAN, S. C. Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. **Carbohydrate Research**, v.332, p.305-316, 2001.

TSAIH, M. L.; CHEN, R. H. Effect of molecular weight and urea on the conformation of chitosan molecules in dilute solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.20, p.233-240, 1997.

TSIGOS, I.; MARTINO, A. e KAFETZOPOULOS, V., Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology. **Trends in Biotechnology**, 18, 305, 2000.

WENDLANDT, W. W.; Thermal Analysis, Third Edition, John Wiley & Sons, New York, , 58 (5): 1986.

ZHANG, M.; HAGA, A. SEKIGUCHI, H.; HIRANO, S. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. **International Journal of Biological Macromolecules**, 27, 99–105, 2000.