

## OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DE DESACETILAÇÃO DA OBTENÇÃO DO BIOPOLÍMERO QUITOSANA A PARTIR DE RESÍDUOS DE CAMARÃO

*Niege Madeira Soares*<sup>1</sup>, *Fernanda Vieira Berti*<sup>2</sup>, *Elessandra Zavareze*<sup>3</sup>, *Jaques Rizzi*<sup>4</sup>, *Luiz Antonio de Almeida Pinto*<sup>5</sup>

1– Bolsista PIBIC/CNPq - Curso de Graduação em Engenharia Química/ FURG.  
e-mail<sup>1</sup>: niege\_eq@yahoo.com.br

2,3 – Curso de Graduação em Engenharia Química/ FURG.

4,5 – Lab.Op.Unit./ Departamento de Química/FURG.Rua. Eng. Alfredo Huch 475, Centro, 96201-900,  
Rio Grande – RS.  
e-mail<sup>5</sup>: dqmpinto@furg.br

**Resumo** – A quitosana, é um polissacarídeo derivado da quitina, que é encontrada em abundância na natureza, principalmente em carapaça de crustáceos. A utilização da quitosana em diversas áreas está relacionada diretamente com o peso molecular do polímero e sua viscosidade intrínseca, que depende das condições da reação de transformação da quitina em quitosana, ou seja, da reação de desacetilação da molécula. O objetivo do presente trabalho consistiu em otimizar a etapa de desacetilação na obtenção do biopolímero quitosana, utilizando a metodologia da superfície de resposta para a viscosidade intrínseca do polímero. A quitina foi obtida a partir de resíduos de camarão em escala piloto através das etapas: desmineralização, desproteínização e desodorização, seguidas da secagem. O estudo da etapa de desacetilação foi feito em escala de bancada através de um planejamento experimental fatorial, onde foi variada a temperatura (120-125-130°C) e o tempo de reação (1,5-2,0-2,5h). A quitosana foi posteriormente purificada e analisada. A melhor condição da reação de desacetilação para menor viscosidade intrínseca foi observada na temperatura de 130°C e o tempo de 1,5h, onde a viscosidade intrínseca do polímero ficou em torno de 120mL.g<sup>-1</sup> o que corresponde a um peso molecular de 1,53×10<sup>5</sup> daltons.

**Palavras-Chave:** Quitosana, Desacetilação, Planejamento Experimental, Viscosidade Intrínseca.

**Área do Conhecimento:** III - Engenharias

### Introdução

A quitosana, copolímero de b-(1-4)-D-glucosamina, é um polissacarídeo derivado da quitina, b-(1-4)-N-acetil-D-glucosamina, que é encontrada em abundância na natureza, sendo o segundo mais importante biopolímero após a celulose.

Devido ao caráter básico, atribuído à presença do grupamento amina nas unidades repetidas, e à sua biodegradabilidade, esses dois polímeros possuem diversas aplicações, como no tratamento de água, manufatura de lentes de contato, membranas artificiais, preservação de frutas e legumes, na proteção gástrica, entre outros. As aplicações e características do polímero dependem fundamentalmente do grau de desacetilação e do tamanho da cadeia do polímero [4].

O beneficiamento de camarão resulta em 35% de resíduos, constituídos basicamente de cascas e

cabeças, sendo a que a quitina representa cerca de 5-7% destes [5].

A reação de desacetilação da quitina é realizada em solução alcalina. Durante esta etapa ocorre a retirada da molécula acetil da quitina resultando no polímero quitosana. Durante o curso da desacetilação alcalina, parte das ligações N-acetil do polímero são rompidas com formação de unidades de D-glicosamina que contém um grupo aminico livre. Entretanto, a quitosana não é uma entidade química uniforme, mas um grupo de polímeros parcialmente desacetilados, dos quais, os que apresentam grau de desacetilação acima de 30%, já podem ser considerados quitosana [2]. A quitosana comercial possui, geralmente, grau de desacetilação variando de 70 a 95%, com massa molar na faixa de 10<sup>4</sup> a 10<sup>6</sup> g.mol<sup>-1</sup>. A distribuição de massa molar, ou seja, polidispersão, é influenciada por vários parâmetros, tais como: tempo, temperatura, concentração e condições atmosféricas empregadas na reação de

desacetilação. Assim, amostras de quitosana podem ter características diferentes quanto ao grau de desacetilação, viscosidade e distribuição de massa molar, que irão influenciar na performance final do polímero [3].

O objetivo do presente trabalho consiste em otimizar a etapa de desacetilação na obtenção do biopolímero quitosana a partir de resíduos de camarão, utilizando a metodologia da superfície de resposta para viscosidade intrínseca do polímero.

## FUNDAMENTO TEÓRICO

Para estimativa da viscosidade intrínseca utiliza-se a equação de Huggins, segundo SIMAL[7], conforme a Equação (1):

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k \cdot [\eta]^2 \cdot c \quad (1)$$

onde  $\eta_{sp}$  é a relação entre a viscosidade do polímero em solução e a viscosidade do solvente,  $c$  é a concentração da solução,  $k$  é uma constante válida para cada polímero e  $[\eta]$  é a viscosidade intrínseca. Um gráfico de  $(\eta_{sp}/c)$  em função da concentração ( $c$ ) das soluções das amostras, fornece a viscosidade intrínseca da solução, por extrapolação da reta obtida por regressão linear para  $c = 0$ , conforme apresentado por ALSARRA [1].

Para a determinação do peso molecular viscosimétrico médio " $M_v$ " de polímeros lineares, onde se encontra a quitosana, utiliza-se a equação empírica de Mark-Houwink-Sakurada, citado em ROBERTS [6], que relaciona a viscosidade intrínseca ao peso molecular do polímero, da forma apresentada na Equação (2):

$$[\eta] = K \cdot M_v^a \quad (2)$$

em que  $K$  e  $a$  são as constantes que dependem do solvente e do polímero utilizado.

## Metodologia

### MATÉRIA PRIMA

A matéria prima utilizada foi resíduos de camarão providos das indústrias de pescado da cidade do Rio Grande/RS.

### OBTENÇÃO DA QUITINA

A obtenção da quitina foi feita em escala piloto através das etapas de desmineralização, que consiste na redução do teor de cinzas da matéria prima; desproteinização, onde há uma redução do nitrogênio protéico dos resíduos de camarão; desodorização, para redução do odor característico do camarão. A secagem da quitina é feita em um secador de bandejas até umidade comercial (5,0-6,0%).

## PRODUÇÃO DE QUITOSANA

A quitina seca foi então colocada no reator, em escala de bancada, com aquecimento e agitação, projetado propriamente para a reação de conversão da quitina em quitosana, onde foi adicionada uma solução alcalina concentrada.

Para o estudo da reação de desacetilação foi utilizado um planejamento experimental fatorial completo ( $3^2$ ), com dois fatores e três níveis de variação, sendo a análise realizada através da metodologia da superfície de resposta.

Os fatores de estudo foram a temperatura e o tempo de reação, nos níveis de variação conforme mostrado na tabela 1.

Tabela 1 – Fatores e os níveis estudados.

Fatores	-1	0	+1
Temperatura (°C)	120	125	130
Tempo (min)	90	120	160

Os experimentos foram realizados segundo a matriz do planejamento experimental representada na Tabela 2, na forma codificada.

Tabela 2 – Matriz do planejamento experimental fatorial

Experimento	Temperatura	Tempo
1	-1	-1
2	0	-1
3 (3)	1	-1
4	-1	0
5	0	0
6	1	0
7	-1	1
8	0	1
9	1	1

A resposta analisada para cada experimento realizado foi a viscosidade intrínseca  $[\eta]$ .

## PURIFICAÇÃO DA QUITOSANA

Após cada experimento, a quitosana foi purificada pelas etapas de dissolução em ácido orgânico diluído, filtração para a retirada do material que

não foi dissolvido, precipitação até pH 12,5, neutralização (pH 7,0) e centrifugação para a separação do sobrenadante.

## VISCOSIMETRIA

Para análise da viscosidade das soluções foi utilizado um viscosímetro Cannon – Fenske modelo SCHOTT GERATE, GMBH – D65719.

As amostras de quitosana foram preparadas em seis diferentes concentrações variando de 0,001 a 0,012g.mL<sup>-1</sup>, em trélicas, e foram analisadas a temperatura de 25°C. As viscosidades relativas ( $\eta_{sp}$ ) foram transformadas em viscosidades reduzidas através da relação  $\eta_{sp}/c$ .

## Resultados

A Tabela 3 apresenta os valores da viscosidade específica ( $\eta_{sp}$ ), da concentração do soluto (c) e da viscosidade reduzida ( $\eta_{sp}/c$ ) para o experimento 3, onde a temperatura da reação foi de 130°C com tempo de 1,5h.

Tabela 3 – Resultados obtidos para experimento 3.

Concentração (c) [g.mL <sup>-1</sup> ]	$\eta_{sp}$	$\eta_{sp}/c$
0,001	0,167	167,15
0,003	0,542	180,67
0,006	1,233	205,59
0,009	2,139	237,72
0,012	3,305	275,45
0,001	0,165	165,74
0,003	0,542	180,88
0,006	1,243	207,25
0,009	2,143	238,15
0,012	3,371	280,93
0,001	0,167	167,03
0,003	0,541	180,54
0,006	1,234	205,73
0,009	2,140	237,82
0,012	3,301	275,08

A Figura 1 representa o gráfico da viscosidade reduzida ( $\eta_{sp}/c$ ) em função da concentração para o experimento 3. Através desta figura observa-se a adequabilidade da metodologia experimental utilizada, pelos valores obtidos para as trélicas de cada ponto experimental.

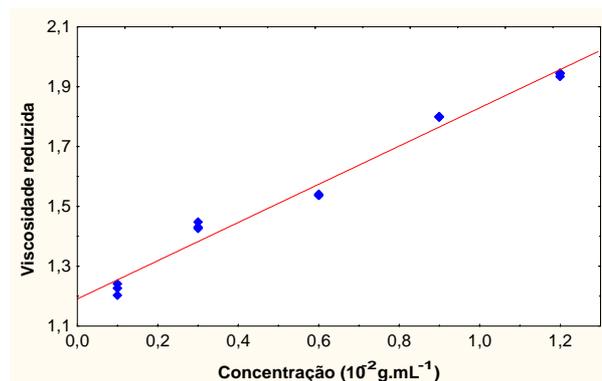


Figura 1 – Gráfico do ajuste da equação de Huggins para os valores da viscosidade reduzida e concentração.

Os resultados de todos os ensaios da matriz do planejamento experimental (Tabela 2), para estimativa dos parâmetros  $[\eta]$  e k, através da regressão linear utilizando a Equação (1), foram analisados com auxílio do software STATISTICA 6.0.

O bom ajuste da Equação (1) aos dados experimentais de cada ensaio da matriz experimental, foi verificado através dos altos valores do coeficiente de correlação obtidos ( $R^2 \geq 0,99$ ), como pode ser observado na Figura 1 para o experimento 3.

A Figura 2 apresenta o gráfico de resíduos para o experimento 3, que mostra que não houve valores viciados pela aleatoriedade dos pontos em torno do zero. Este comportamento foi verificado em todas as análises de regressão linear realizadas.

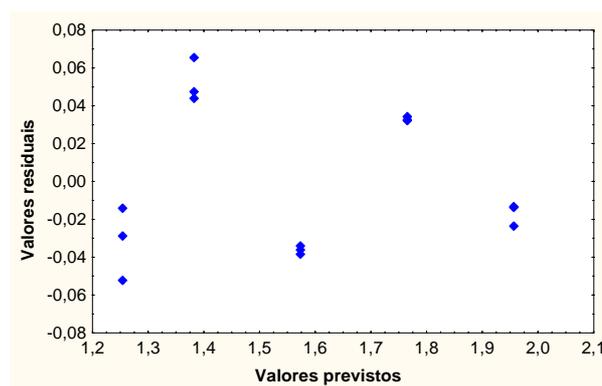


Figura 2 – Gráfico dos resíduos versus os valores previstos.

Os valores calculados para os parâmetros  $[\eta]$  e k são apresentados na Tabela 4 da matriz do planejamento experimental fatorial utilizado.

Tabela 4 - Resultados dos parâmetros de ajuste da matriz do planejamento experimental fatorial utilizada.

Nº Experimento	k	$[\eta]$ [mL.g <sup>-1</sup> ]
1	0,416	152,7
2	1,394	139,4
3	1,230	120,3
4	1,525	152,5
5	1,636	163,6
6	1,433	143,3
7	1,452	145,2
8	1,297	129,7
9	1,379	137,9

Para determinação da melhor condição da reação de desacetilação para a resposta viscosidade intrínseca  $[\eta]$ , foi utilizado o software STATGRAPHICS Plus 2.1, com os dados da matriz do planejamento experimental fatorial da Tabela 4.

A Figura 3 apresenta o gráfico padronizado de efeito dos fatores, onde **A** e **B** representam os efeitos principais do tempo e da temperatura, respectivamente, **AA** e **BB** a forma quadrática dos fatores e **AB** a interação entre estes.

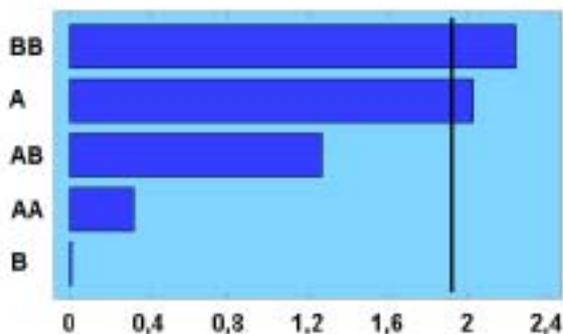


Figura 3 – Gráfico padronizado de efeito dos fatores.

Pela análise da Figura 3 do gráfico padronizado de efeito dos fatores pode-se observar, a um nível de significância de 85%, pela linha vertical da figura, que os fatores que mais influenciaram foi a forma quadrática do tempo e o efeito principal da temperatura.

A Figura 4 apresenta a análise dos efeitos principais na forma codificada para a resposta viscosidade intrínseca. Os efeitos da temperatura e do tempo apresentaram um comportamento de forma não linear, sendo que os menores valores da viscosidade intrínseca, que apresentam a menor massa molecular, encontram-se na região de maior temperatura (130°C) e no maior e menor tempo (1,5 e 2,0h).

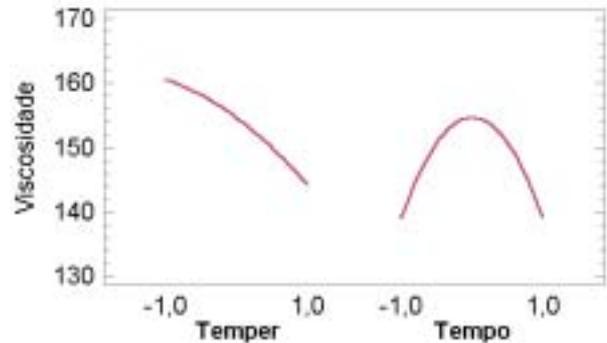


Figura 4 – Gráfico dos Efeitos Principais para viscosidade intrínseca.

A Figura 5 apresenta a superfície de resposta para viscosidade intrínseca.

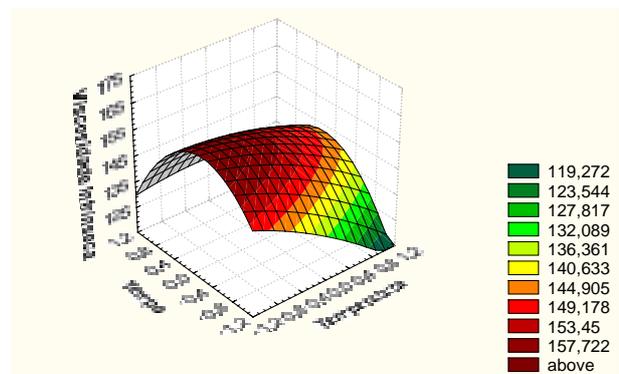


Figura 5 – Superfície de resposta para viscosidade intrínseca.

Através da Figura 5 observa-se a não linearidade da temperatura e do tempo demonstrada anteriormente na Figura 4. Para escolha das condições ótimas de operação, foi definida a região de menor viscosidade intrínseca, que está associada ao menor peso molecular da quitosana, pois este está relacionado ao maior grau de desacetilação da reação. A condição que apresentou menor viscosidade intrínseca foi a de maior temperatura (130°C) e menor tempo (1,5h). O peso molecular viscosimétrico médio da quitosana na melhor condição, foi calculado através da Equação (2), com a viscosidade intrínseca do experimento 3 apresentada na Tabela 4, e com os valores de  $K = 1,81 \times 10^{-3} \text{ mL.g}^{-1}$  e  $a = 0,93$ , citados por ROBERTS[6], para quitosana em um sistema solvente constituído de ácido acético 0,1M, cloreto de sódio 0,2M, a temperatura de 25°C. Obteve-se então um peso molecular viscosimétrico médio da quitosana de  $1,53 \times 10^5$  daltons.

## Conclusões

A metodologia experimental utilizada para o cálculo da viscosidade intrínseca mostrou-se adequada pela reprodutibilidade das réplicas dos experimentos. A utilização da equação de Huggins para estimativa da viscosidade intrínseca apresentou um bom ajuste, com altas correlações ( $R^2 \geq 0,99$ ). Na otimização da etapa de desacetilação, utilizando-se a metodologia da superfície de resposta, o menor valor da viscosidade intrínseca foi alcançado na condição de temperatura de 130°C e do tempo de 1,5h, sendo este de 120mL.g<sup>-1</sup> o que resulta em um peso molecular médio da quitosana nesta condição de 1,53×10<sup>5</sup>daltons.

### Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao CNPq pelo apoio e por prover os meios necessários a esta pesquisa.

### Referências

- [1] I. A. Alsarra, *et. al.*, Molecular Weight and Degree of Deacetylation Effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics, *Biomaterials*, 2002.
- [2] J. Brandrup, E. H. Immergut, *Polymer Textbook*, 1995.
- [3] R. H. Chen, H. D. Hwa, *Carbohydr. Polymer*, 1996.
- [4] A. A. Craveiro, *et al.*, Quitosana: a Fibra do futuro, *PADETEC*, 1999.
- [5] N. M. Soares, *et al.*, Obtenção e Purificação de Quitosana Obtida a partir de Resíduos de Camarão em Escala Piloto, *Revista Univap*, 2003.
- [6] G. A. F. Roberts, J. G. Domszy, Determination of the Viscometric constants for Chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.*, 1982.
- [7] A. L. Simal, *Estrutura e Propriedades dos Polímeros*, 2002.