

EXTRAÇÃO DE QUITINA, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE QUITOSANA OBTIDA ATRAVÉS DE RESÍDUOS DE CAMARÃO (*Macrobrachium amazonicum*)

L. P. ALMEIDA¹, W. da L. RODRIGUES¹, N. V. AGUIAR¹, R. S. da SILVA¹, C. K. P. MOREIRA¹

¹ Universidade do Estado do Amapá, Engenharia Química
E-mail para contato: leticiaalmeida_26@hotmail.com

RESUMO – A quitosana é um polímero natural, biocompatível, biodegradável, e atóxico. É derivada do processo de desacetilação da quitina, a qual constitui a maior parte do exoesqueleto dos insetos, crustáceos e parede celular de fungos. Depois da celulose, é o composto orgânico mais encontrado na natureza. A quitina foi separada dos outros componentes dos resíduos de camarão (*Macrobrachium amazonicum*) por um processo químico que envolve 3 etapas: desmineralização, desproteinização, e despigmentação. A quitosana produzida foi caracterizada através dos processos de titulação potenciométrica, a fim de encontrar seu grau de desacetilação (85,32%), determinação de viscosidade intrínseca, para definir sua massa molecular (503223 g/mol), e difratometria de raio X para determinar seu índice de cristalinidade (66,67%).

1. INTRODUÇÃO

O potencial pesqueiro brasileiro é visto como uma atividade de grande importância econômica nacional, principalmente para os municípios banhados por bacias hidrográficas ou localizados na zona costeira. Apesar dos inúmeros benefícios atrelados a esta atividade, há uma preocupação relacionada ao descarte adequado dos resíduos que são gerados. Uma das possíveis aplicações para a reutilização desses materiais é a produção de quitosana.

A quitosana é um biopolímero obtido através da desacetilação da quitina, que é o maior constituinte de exoesqueletos de crustáceos e outros animais marinhos. Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e antibactericidas, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há mais de setenta anos (Roberts, 1992; Goosen, 1996; Campana; Signini, 2001).

A quitosana possui o grau médio de desacetilação da quitina igual ou superior a 50%, é solúvel em soluções aquosas diluídas em ácidos orgânicos e inorgânicos (ácido acético, fórmico e clorídrico), devido a presença dos grupos aminos, enquanto que a quitina corresponde a produtos muito mais acetilados e insolúveis na maioria dos solventes testados (Roberts, 1992; Acosta, *et al.*, 1993; Santos, *et al.*, 2003; Battist, 2008).

A extração da quitina compreende três etapas de tratamento: a desmineralização, a desproteinização e a despigmentação, tendo por objetivo a remoção de minerais (CaCO₃), de proteínas e pigmentos, respectivamente (Shahidi; Synowieckit, 1991). A conversão de quitina

em quitosana pode ser realizada pelo tratamento em meio básico, com solução de hidróxido de sódio ou potássio (40-50%), usualmente a temperaturas maiores que 100°C, tendo por objetivo hidrólise dos grupos acetamida do polímero, este método é conhecido por desacetilação heterogênea (Acosta, *et al.*, 1993; Rege; Block, 1999; Assis; Brito, 2008).

O objetivo deste trabalho foi a extração da quitina e produção da quitosana a partir de resíduos de camarão regional, visando o melhor aproveitamento desse resíduo, a avaliação do processo produtivo e a caracterização do produto final.

2. MATERIAIS E METODOLOGIA

2.1. Extração de Quitina e Produção de Quitosana

A produção da quitosana foi dividida em 5 etapas, sendo que as 4 primeiras são apenas de extração da quitina.

A primeira etapa (tirada de sujidades do material) consistiu-se na lavagem, fervura, secagem em estufa, trituração e peneiramento (600 µm) das cascas de camarão (*Macrobrachium amazonicum*). Ao final desse processo obtiveram-se 100g de matéria-prima.

Na segunda etapa, também chamada de desmineralização, o material foi posto em agitação com HCl a 1M, com duração de 2h. Em seguida foi feita a lavagem com água destilada até atingir o pH neutro, e então o resíduo do camarão foi levado para a estufa por 12h a 50°C.

Na terceira etapa (desproteínização) o material foi adicionado a 900mL de NaOH a 15% e foi levado para um sistema de agitação e aquecimento a 65°C por 3h, em seguida foi para a estufa com as mesmas condições anteriores e apresentou massa final de 20,388g.

Na despigmentação (quarta etapa), a matéria-prima foi colocada no Extrator de Soxhlet com álcool etílico absoluto por 24h.

Depois de extraída a quitina das cascas do camarão, foi feito mais um processo para a produção da quitosana, chamado de desacetilação, em que foi elaborada uma solução de NaOH a 40% com quitina e foi levada para um sistema de agitação e aquecimento por 7h a 115°C

2.2. Caracterização da Quitosana

Titulação potenciométrica: O grau de desacetilação (GD) da amostra foi determinado através de titulações com solução padronizada de base (NaOH), acompanhadas por medidas potenciométricas. O procedimento foi adaptado de Catão (2008) em que 200mg das amostras de quitosana foram agitadas em 50mL de solução de ácido clorídrico 0,05mol L⁻¹ por 24 horas. As amostras foram tituladas com solução de hidróxido de sódio a 0,097 mol L⁻¹ à temperatura de 25,0° ± 0,1 °C, as variações de pH durante a titulação foram medidas por um potenciômetro Marconi PA200. O grau de desacetilação da quitosana foi calculado utilizando-se a equação 1, demonstrada abaixo:

$$\%GD = \left(\frac{MM \times V_{NaOH} \times M_{NaOH}}{m} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde: GD é o grau médio de desacetilação; M_{NaOH} é a concentração da solução de NaOH; V_{NaOH} é a diferença entre os volumes de NaOH gastos nos dois pontos de inflexão; MM é a massa molar média da unidade de repetição do polímero (constante igual a 161,16 $gmol^{-1}$) e m é a massa da quitosana em mg.

Viscosidade: Para determinações de viscosidade intrínseca, $[\eta]$, foi adaptado o procedimento descrito por Signini e Campana Filho (1998). Cerca de 50 mg de amostra de quitosana purificada foi dissolvida em 25 mL de uma solução tampão (ácido acético / acetato de sódio, pH $\sim 4,5$) sob agitação constante por 15 horas. A solução foi então aquecida em banho-maria a 80 °C durante dois minutos e após atingir a temperatura ambiente, acrescentou-se 25 mL de solução tampão e aqueceu-se novamente a 80 °C por dois minutos. Após atingir a temperatura ambiente, a solução foi filtrada. As medidas foram realizadas em capilar de vidro termostatizado em $25^\circ \pm 0,01^\circ C$ e as soluções foram sequencialmente diluídas no próprio capilar obtendo-se 5 concentrações diferentes.

No tratamento dos dados para determinações de valores de viscosidade intrínseca foi empregada a equação 2 de Huggins (1940):

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k_H [\eta]^2 C \quad (2)$$

Onde: η_{sp} é a viscosidade específica; η_{sp} / C é a viscosidade reduzida (mLg^{-1}); $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca (mLg^{-1}); k_H é a constante de Huggins e C é a concentração da solução (gmL^{-1}).

Cristalinidade: A quitosana foi caracterizada pela técnica de difratometria de raio X (DR-X), no modelo D2 Phaser com tubo de cobre ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), a tensão e a corrente utilizadas foram 50kV e 100mA, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

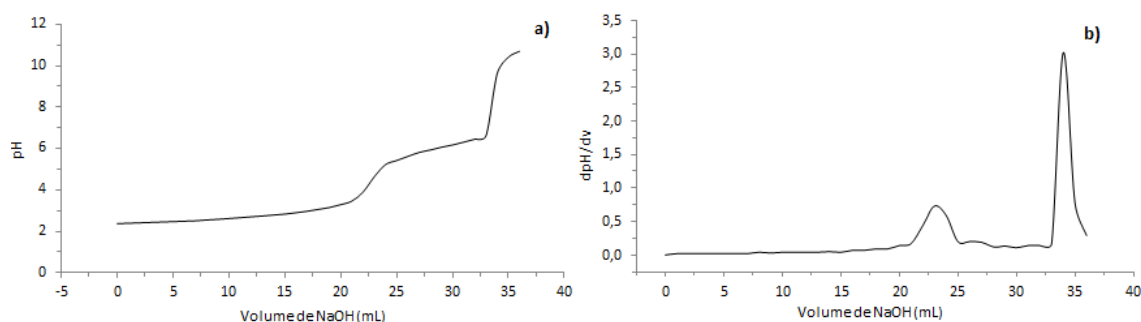
A Tabela 1 apresenta a variação, em massa, nas diferentes etapas do procedimento a partir da matéria-prima inicial (casca de camarão). O rendimento de quitina apresentado no processo foi de 20,5% em relação à massa inicial, enquanto que a etapa de desacetilação iguala-se a 17 % da massa inicial utilizada, entretanto corresponde a 83% do total de quitina transformada em quitosana. Esses rendimentos são rigorosamente similares aos obtidos por Acosta *et al.* (1993) para extração a partir de camarões *Panaeus caraimense* e dos apresentados por Battisti (2002), obtidos de *Macrobrachium rosenbergii*, em processo similar de extração.

Tabela 1 - Variação média de massa e de rendimentos para a extração de quitina e transformação em quitosana.

Etapas	Variação de massa(g)	Rendimento (%)
Matéria-prima	99,45	-
Quitina	20,388	20,5
Quitosana	16,935	83

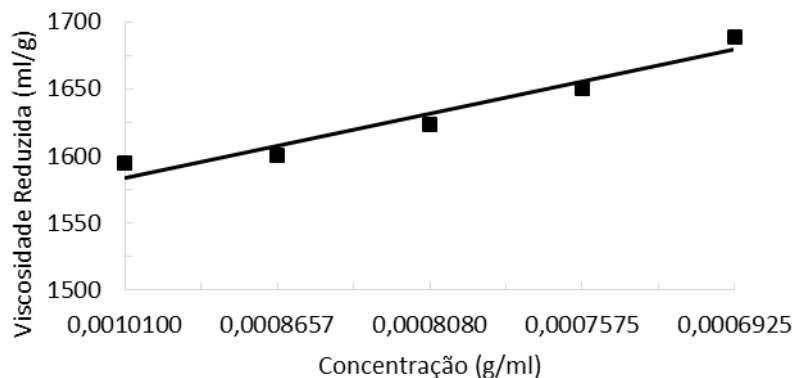
A curva da titulação potenciométrica está representada na Figura 1. Pode-se observar que a curva apresenta dois pontos de inflexão, sendo o primeiro relacionado à neutralização do excesso de HCl na solução e o segundo ponto referente a neutralização dos grupos amino protonados, os pontos podem ser observados melhor no gráfico da primeira derivada. O grau de desacetilação calculado por este método foi de 85,32%, encontrando-se dentro da faixa dos dados presentes na literatura, os quais podem variar de 50,0 a 92,3% (MARTINO, 1996).

Figura 1 – a) curva de titulação potenciométrica e b) derivada primeira da quitosana.



Da curva de viscosidade reduzida (η_{red}) *versus* concentração da solução de quitosana (figura 2), foram determinados os valores de viscosidade intrínseca, constante de Huggins e massa molecular média viscosimétrica, conforme visto na tabela 2.

Figura 2 – Curvas de viscosidade reduzida *versus* concentração das amostras de quitosana



O valor da constante de Huggins encontrado no solvente estudado é relativamente pequeno, o que indica que uma solução de boa qualidade foi obtida a partir da dissolução da amostra de quitosana.

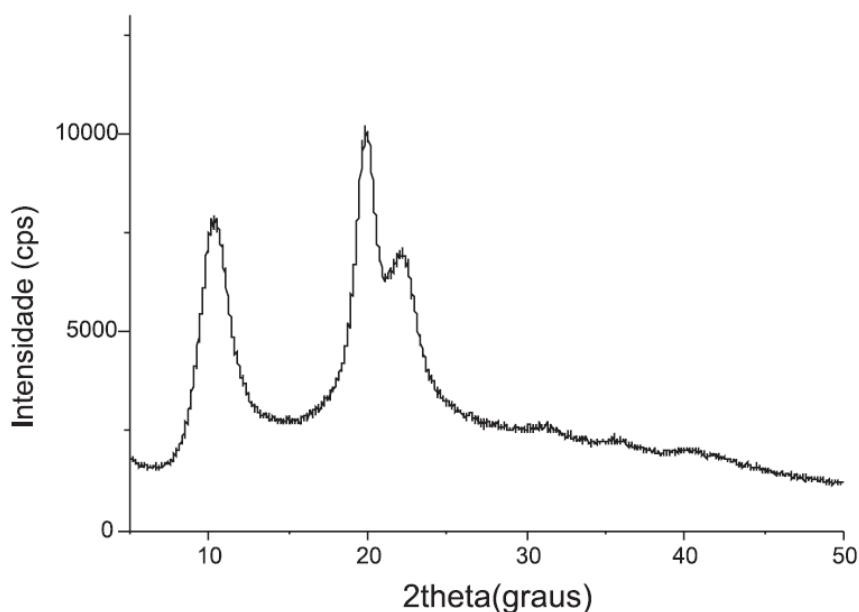
Tabela 2 - Valores de viscosidade intrínseca, constante de Huggins e massa molecular média viscosimétrica da quitosana.

$[\eta]$ mL/g	k_H	M_V g/mol
1594,300	23,857	503223 ^(a)
(a) Valor calculado empregando $K=0,074$ e $a=0,76$		

A partir da massa molecular média encontrada pela análise da viscosidade intrínseca pode-se caracterizar a quitosana produzida como de médio peso molecular, pois, segundo Mello (2009), quitosanas de médio peso estão na faixa de 500.000 g/mol.

Quanto à análise do difratograma, os principais sinais estão localizados em $2\theta = 9,2^\circ$ e $2\theta = 20^\circ$. Já o grau de cristalinidade ICR(%) da quitosana foi de 66,67%, conforme visto na figura 3.

Figura 3 – Difratograma de Raio X da amostra de quitosana



4. CONCLUSÃO

Com um rendimento de 83% em relação à quitina, a produção de quitosana mostrou-se ter um padrão positivo em comparação às literaturas que foram citadas. Dentre as caracterizações, a titulação potenciométrica demonstrou ser bastante eficaz para a determinação do grau de desacetilação, apresentando um valor de 85,32%, com a determinação da viscosidade intrínseca encontrou-se a massa molecular equivalente a 503223g/mol e a difratometria de raio X determinou o índice de cristalinidade da quitosana produzida igual a 66,67%. Pesquisas futuras podem ser lançadas como forma de otimização do processo produtivo, alterando concentrações, temperaturas e tempo de reação para analisar de que forma essas variáveis podem interferir na quitosana formada.

5. REFERÊNCIAS

ACOSTA, N. *et al.*, Extraction and characterization of chitin from crustaceans. *Biomass and Bioenergy*. v. 5, n. 2, p. 145-153. 1993.

ASSIS, O. B.G.; BRITO, D. Processo básico de extração de quitinas e produção de quitosana a partir de resíduos de carnicicultura. *R. Bras. Agrociência*, Pelotas, v.14, n.1, p.91-100. 2008.

BATTISTI, M. V. *Obtenção e caracterização de quitina e quitosana de Macrobrachium resenberghii*. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2002.

CAMPANA, F. S.; SIGNINI, R. Efeito de Aditivos na Desacetilação de Quitina. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.11, n.4, p. 169-173. 2001.

CAMPANA, F. S.; SIGNINI, R. Purificação e caracterização de quitosana comercial. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.8, n.4, p. 63-68. 1998.

CATÃO, A. J. L. *Estudo de adsorção de íons cobre (II) em esferas de quitosana e esferas de quitosana reticulada*. Dissertação. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis. 2012.

GOOSEN, M. F. A., Application of Chitin and Chitosan. *Technomic Publishing Company, Inc.* Lancaster, Pennsylvania. USA. 1996.

HUGGINS, M. L. The viscosity of dilute solutions of long-chain molecules. *J. Am. Chem. Soc.* v. 64, n. 11, p. 2716-2718. 1942.

MARTINO, A.; Immobilization of beta-glucosidase from a commercial preparation. Part 1. A comparative study of natural supports. *Process Biochemistry*, New York, v. 31, p. 281-285. 1996.

MELLO, K. G. P. C. Imobilização de pepsina em membranas liofilizadas de quitosana e o-carboximetilquitosana. 2009. Dissertação (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

REGE, P. R.; BLOCK, L. H. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydr. Res.* v. 321, n. 3, p. 235-245. 1999.

ROBERTS, G. A. F. Chitin Chemistry. *The Macmillan Press*, London, p. 54.1992.

SANTOS, J. E.; *et al.* Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. UFSCar e USP. *Ciência e Tecnologia*. v. 13, n. 4. 2003.

SHAHIDI, F.; SYNOWIECKIT, J. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, Easton, v. 39, p. 1527-1532. 1991.