UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

TESE DE DOUTORADO

ELETROFIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS BIOPOLIMÉRICAS A BASE DE QUITOSANA EXTRAÍDAS DOS EXOESQUELETOS DE CRUSTÁCEOS

Sânia Maria Belísio de Andrade

PPgEM Nº 016

Natal/RN
Abril/2012

SÂNIA MARIA BELÍSIO DE ANDRADE

ELETROFIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS BIOPOLIMÉRICAS A BASE DE QUITOSANA EXTRAÍDAS DOS EXOESQUELETOS DE CRUSTÁCEOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, na área de Tecnologia dos Materiais em cumprimento as exigências para obtenção do título de Doutor em Engenharia Mecânica.

Orientador: Prof. Dr. Rasiah Ladchumananandasivam

Natal/RN
Abril/2012

SÂNIA MARIA BELÍSIO DE ANDRADE

ELETROFIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS BIOPOLIMÉRICAS A BASE DE QUITOSANA EXTRAÍDAS DOS EXOESQUELETOS DE CRUSTÁCEOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, na área de Tecnologia dos Materiais em cumprimento as exigências para obtenção do título de Doutor em Engenharia Mecânica.

Aprovada em ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Rasiah Ladchumananandasivam - UFRN (Orientador)

_____

Prof. Dr. Roberto Silva de Souza - IFRN (Examinador externo)

_____

Prof. Dr. José de Anchieta Lima - IFRN (Examinador externo)

_____

Prof.ª Dr.ª Maria Gorete Felipe - UFRN (Examinador interno)

_____

Prof. Dr. José Ubiragi de Lima Mendes - UFRN (Examinador interno)

Dedico este trabalho a Deus, meu Tudo.
Sempre presente, por me fazer aprendiz para lutar pelos meus ideais e por todas as bênçãos que constantemente derrama e derramará em minha vida.
Aos meus avós, por ensinar a construir cada momento vivido e pelo exemplo de vida.
Aos meus pais, pela formação, amor, dedicação, e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, meu fiel companheiro e amigo de todas as horas. Aquele que me guia, me ilumina e me motiva constantemente. Obrigada por conceder-me a oportunidade de vivenciar toda essa experiência e dar-me força para superar tantos impasses e desafios. Obrigada!

Aos meus pais, Sônia Maria Belísio de Andrade e Severino Estevam de Andrade, pelo amor, pela confiança em minha capacidade intelectual e profissional, pelo estímulo ao meu crescimento e incentivo a prosseguir nesta caminhada. E por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos em minha vida. Meu amor, gratidão e admiração por vocês são inacabáveis.

Aos meus avós maternos, Joana Belísio de Oliveira e Manoel Belísio (in memorian), exemplo de seriedade, honestidade e decência, pelo carinho, confiança e apoio constante, que sempre me deram. Obrigado pelos ensinamentos meu avô querido e amado.

Aos meus avós paternos, Josina Tereza de Andrade e José Estevam de Andrade (in memorian), pela alegria e pelo amor que sempre tiveram com a família.

A Instituição Universidade Federal do Rio Grande do Norte -UFRN, que proporcionou toda a minha formação acadêmica, tanto a nível de graduação, como na pós- graduação (Mestrado e Doutorado).

Ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica - PPGEM, pela contribuição em minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Rasiah Ladchumananandasivam, pela confiança em mim depositada desde o primeiro momento de trabalho em conjunto, pelos conhecimentos, pela orientação e pela convivência desde a época da graduação nessa Instituição e depois como aluna de doutorado.

Ao prof. Dr. José Ubiragi de Lima Mendes por ter compartilhado comigo a vivência da docência assistida no período do meu doutorado.

Ao Prof. Dr. Clodomiro, coordenador do curso de pós-graduação em Engenharia Mecânica-PPGEM.

Ao secretário Luiz Henrique pela paciência e dedicação a todos os alunos do PPGEM.

Ao CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior) pelo apoio financeiro, concedido a esta Tese.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica - PPGEM, que de maneira direta ou indiretamente contribuíram na minha formação acadêmica e na

aprendizagem.

A todo o corpo técnico do Laboratório de CTPETRO-INFRA, FINEP/LIEM da UFRN e ao CSIR pelo apoio na execução dos ensaios quando solicitados.

Aos colegas do curso e do laboratório-LABTEX, pela oportunidade de convivência, só posso dizer a cada um, muito obrigada.

Aos membros da banca examinadora pelas opiniões valiosas e preciosas sugestões.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta Tese, desejo expressar o meu sincero reconhecimento.

A todos; o meu muito obrigada.

Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine.
E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.

I Coríntios 13:1-2

"... Mas os que esperam no Senhor renovarão as suas forças, subirão com asas como águias; correrão e não se cansarão, andarão e não se fatigarão".

Isaías 40:31

RESUMO

Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis e biocompatíveis produzidos por fontes naturais renováveis com aplicações em diversas áreas como: agricultura, têxtil, farmacêutica, cosméticos e biomateriais, tais como géis, filmes, membranas poliméricas entre outros. Ambas têm despertando grande interesse de cientistas e pesquisadores como materiais poliméricos funcionais. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi aproveitar os resíduos de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*) proveniente de feiras, barracas de praia e restaurantes em Natal/RN para extração de quitina, quitosana e produção de membranas pelo processo de eletrofiação. A extração foi realizada a partir das etapas de desmineralização, desproteinização, desodorização e desacetilação. Análises morfológicas (MEV e DRX), análises das propriedades térmicas (TG e DTG), análise por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e ensaios mecânicos por tração foram realizados. Na análise de DRX pode-se verificar a estrutura semicristalina da quitosana enquanto a quitina teve alta cristalinidade. As análises térmicas demonstraram um processo de desidratação seguido da decomposição com comportamento similar de material carbonizado. A quitosana apresentou temperaturas de máxima degradação mais baixas do que a quitina. Na análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) as curvas foram coerentes aos eventos térmicos das membranas de quitosana. Os resultados obtidos com (GD) para quitosana extraída de camarões *Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus* foram (80,36 e 71,00%) e caranguejos *Ucides cordatus* foi 74,65%. Pode-se perceber que, com soluções 70:30 (v/v) (TFA/DCM), 60 e 90% CH_3COOH, ocorreu melhor facilitação na formação das membranas, enquanto em 100:00 (v/v) (TFA/DCM) houve formação de aglomerados. Em relação aos diâmetros dos nanofilamentos das membranas de quitosana, percebeu-se que a distância capilar-coletor de 10 cm e tensões de 25 e 30 kV contribuíram para a redução dos diâmetros das membranas. Quanto ao módulo de Young diminui com o aumento da concentração da quitosana nas membranas. 90% CH_3COOH contribuiu para o aumento da deformação, sendo um material mais flexível. As membranas com 5% quitosana 70:30 (v/v) (TFA/DCM) apresentaram maior valor de resistência à tração.

Palavras chaves: Quitina, quitosana, crustáceos, cristalinidade, membranas.

ABSTRACT

Chitin and chitosan are nontoxic, biodegradable and biocompatible polymers produced by renewable natural sources with applications in diverse areas such as: agriculture, textile, pharmaceutical, cosmetics and biomaterials, such as gels, films and other polymeric membranes. Both have attracted greater interest of scientists and researchers as functional polymeric materials. In this context, the objective of this study was to take advantage of the waste of shrimp (*Litopenaeus vannamei* and *Aristeus antennatus*) and crabs (*Ucides cordatus*) from fairs, beach huts and restaurant in Natal/RN for the extraction of chitin and chitosan for the production of membranes by electrospinning process. The extraction was made through demineralization, deproteinization, deodorization and deacetylation. Morphological analyzes (SEM and XRD), Thermal analysis (TG and DTG), Spectroscopy in the Region of the Infrared with Transformed of Fourier (FTIR) analysis Calorimetry Differential Scanning (DSC) and mechanical tests for traction were performed. In (XRD) the semicrystalline structure of chitosan can be verified while the chitin had higher crystallinity. In the thermal analysis showed a dehydration process followed by decomposition, with similar behavior of carbonized material. Chitosan showed temperature of maximum degradation lower than chitin. In the analysis by Differential Scanning Calorimetry (DSC) the curves were coherent to the thermal events of the chitosan membranes. The results obtained with (DD) for chitosan extracted from *Litopenaeus vannamei* and *Aristeus antennatus* shrimp were (80.36 and 71.00%) and *Ucides cordatus* crabs was 74.65%. It can be observed that, with 70:30 solutions (v/v) (TFA/DCM), 60 and 90% CH_3COOH, occurred better facilitate the formation of membranes, while 100:00 (v/v) (TFA/DCM) had formation of agglomerates. In relation to the monofilaments' diameters of the chitosan membranes, it was noted that the capillary-collector distance of 10 cm and tensions of 25 and 30 kV contributed to the reduction of the diameters of membranes. It was found that the Young's modulus decreases with increasing concentration of chitosan in the membranes. 90% CH_3COOH contributed to the increase in the deformation resulting in more flexible material. The membranes with 5% chitosan 70:30 (v/v) (TFA/DCM) had higher tensile strength.

Keywords: Chitin, chitosan, crustaceans, crystallinity, membranes.

LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS

Figura 1 - Comparação das estruturas moleculares da celulose, quitina e quitosana..... 26
Figura 2 - Orientações das cadeias poliméricas nas diferentes formas de quitina..... 27
Fluxograma 1 - Etapas para obtenção de quitina e quitosana..... 30
Figura 3 - Sistema de eletrofiação..... 34
Figura 4 - Formação do cone de Taylor..... 35
Figura 5a - Medição de comprimentos b. larguras das carapaças dos caranguejos *Ucides cordatus*..... 44
Fluxograma 2 - Fluxograma de produção de quitina e quitosana..... 47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número anual de publicações no assunto de eletrofiação desde 1995..... 33
Gráfico 2 - Distribuição de Universidades trabalhando no método de eletrofiação ao redor de mundo..... 34
Gráfico 3 - Propriedades mecânicas de um polímero..... 39
Gráfico 4 - Variabilidade do peso (carne + casca) de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 41
Gráfico 5 - Variabilidade do peso (casca) de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 42
Gráfico 6 - Variabilidade do peso (carne + casca) de camarões *Aristeus antennatus*..... 43
Gráfico 7 - Variabilidade do peso (casca) de camarões *Aristeus antennatus*..... 43
Gráfico 8 - Comprimento das carapaças de caranguejos *Ucides cordatus*..... 44
Gráfico 9 - Largura das carapaças de caranguejos *Ucides cordatus*..... 45
Gráfico 10 - Variabilidade do peso das amostras de caranguejos *Ucides cordatus*..... 45
Gráfico 11a - Curvas TG/DTG em desmineralização de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação de HCl 1:3..... 52
Gráfico 11b - TG/DTG em desmineralização de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação de HCl 1:6..... 52
Gráfico 11c - TG/DTG em desmineralização de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação de HCl 1:10..... 53
Gráfico 12a - Curvas TG/DTG em desmineralização de camarões *Aristeus antennatus* na relação de HCl 1:3..... 53
Gráfico 12b - Curvas TG/DTG em desmineralização de camarões *Aristeus antennatus* na relação de HCl 1:6..... 54
Gráfico 12c - Curvas TG/DTG em desmineralização de camarões *Aristeus antennatus* na relação de HCl 1:10..... 54
Gráfico 13a - Curvas TG/DTG em desmineralização de caranguejo- *Ucides cordatus* na relação de HCl 1:3..... 55
Gráfico 13b - Curvas TG/DTG em desmineralização de caranguejo – *Ucides cordatus* na relação de HCl 1:6..... 55
Gráfico 13c - TG/DTG em desmineralização de caranguejo – *Ucides cordatus* na relação de HCl 1:10..... 56
Gráfico 14a - Difratograma de raio-X de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 75
Gráfico 14b - Difratograma de raio-X de quitina de camarões *Aristeus antennatus*..... 76

Gráfico 14c - Difratograma de raio-X de quitina de caranguejos *Ucides cordatus*..... 76
Gráfico 15a - Difratograma de raio-X de quitosana de camarões *Litopenaeus* vannamei..... 77
Gráfico 15b - Difratograma de raio-X de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*……... 77
Gráfico 15c - Difratograma de raio-X de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*…….…….. 77
Gráfico 16a - TG/DTG em quitina de camarão *Litopenaus vanammei*……..... 80
Gráfico 16b - TG/DTG em quitina de camarão *Aristeus antennatus*..... 80
Gráfico 16c - TG/DTG em quitina de caranguejo *Ucides cordatus*……..… 81
Gráfico 17a - TG/DTG em quitosana de camarão *Litopenaus vanammei*……..... 81
Gráfico 17b - TG/DTG em quitosana de camarão *Aristeus antennatus*……..…….. 82
Gráfico 17c - TG/DTG em quitosana de caranguejo *Ucides cordatus*……..…… 82
Gráfico 18a - DSC de quitosana de camarão *Litopenaus vanammei*..... 84
Gráfico 18b - DSC de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 84
Gráfico 18c - DSC de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus*..... 85
Gráfico 19a - Espectro-FTIR da quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 86
Gráfico 19b - Espectro-FTIR de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 87
Gráfico 19c - Espectro- FTIR de quitina de camarões *Aristeus antennatus*..... 87
Gráfico 19d - Espectro- FTIR de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 88
Gráfico 19e - Espectro-FTIR de quitina de caranguejos *Ucides cordatus*..... 89
Gráfico 19f - Espectro-FTIR de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 89
Gráfico 20a - DRX de raio-X da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*- 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM)..... 101
Gráfico 20b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM)..... 102
Gráfico 20c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v)..... 102
Gráfico 21a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM)..... 103
Gráfico 21b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus* 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM)..... 103
Gráfico 21c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus* 5 % (m/v) quitosana

em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM)..... 104
Gráfico 22a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* 7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH..... 105
Gráfico 22b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus.* 7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH..... 105
Gráfico 22c - DRX da membrana decaranguejos *Ucides cordatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH..... 106
Gráfico 23a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* 7% (m/v) quitosana em solução de 90% CH_3COOH..... 107
Gráfico 23b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 90% CH_3COOH..... 107
Gráfico 23c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH..... 108
Gráfico 24 - DSC das membranas de camarões *Litopenaus vanammei*. a. 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) b.5 % (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) c.7 % quitosana em 60 % CH_3COOH d. 7 % quitosana em 90 % CH_3COOH..... 110
Gráfico 25 - DSC de membrana de camarões *Aristeus antennatus*. a. 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) b.5 % (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) c. 7 % quitosana em 60 % CH_3COOH d. 7 % quitosana em 90 % CH_3COOH..... 112
Gráfico 26 - DSC de membrana de camarões *Ucides cordatus*. a. 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) b.5 % (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) c.7 % quitosana em 60 % CH_3COOH d. 7 % quitosana em 90 % CH_3COOH..... 114
Gráfico 27a - Tensão máxima de ruptura das membranas de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 116
Gráfico 27b - Tensão máxima de ruptura das membranas de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 117
Gráfico 27c - Tensão máxima de ruptura das membranas de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 117

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1a - Camarões *Litopenaeus vannamei*..... 40

Fotografia 1b - Camarões *Aristeus antennatus*..... 40

Fotografia 1c - Caranguejos *Ucides cordatus*..... 40

Fotografia 2 - Tamanhos de camarões *Litopenaeus vannamei* utilizados..... 41

Fotografia 3 - Tamanhos de camarões *Aristeus antennatus* utilizados..... 42

Fotografia 4a - Medida da largura da carapaça de caranguejo *Ucides cordatus* 48

Fotografia 4b - Peso de carapaça de caranguejo *Ucides cordatus* 48

Fotografia 4c - Peso das amostras..... 48

Fotografia 5a - Medida do exoesqueleto *Litopenaeus vannamei*..... 49

Fotografia 5b - Peso das amostras..... 49

Fotografia 5c - Exoesqueletos de camarões secos, triturados em moinho de facas..... 49

Fotografia 5d - Granulométria 48 mesh..... 49

Fotografia 6 - Amostras na etapa de desmineralização com ácido clorídrico (HCl) 2,5% v/v, para camarões e 7,0% v/v para caranguejos..... 50

Fotografia 7 - Amostras de caranguejos e camarões secas em estufa a 80ºC..... 51

Fotografia 8 - Dessecador utilizado para dessecar as amostras..... 51

Fotografia 9 - Quitina de camarão e caranguejo em estufa para secagem..... 57

Fotografia 10a - Solução (TFA/DCM) 70:30..... 58

Fotografia 10b - Solução (TFA/DCM) 100:00..... 58

Fotografia 10c - Fotografia 10c- Soluções 60% de CH_3COOH..... 58

Fotografia 10d.- Soluções 90% de CH_3COOH..... 59

Fotografia 11 - Aparelho de eletrofiação com suporte para o tubo capilar, coletor e fonte..... 60

Fotografia 12a - Tubo capilar (pipeta de Pasteur)..... 60

Fotografia 12b - Coletor..... 60

Fotografia 13 - Tubo capilar e elétrodo..... 61

Fotografia 14a - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 90

Fotografia 14b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* 90

Fotografia 14c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 90

Fotografia 14d - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 91

Fotografia 14e - Membrana de camarões *Aristeus antennatus*..... 91

Fotografia 14f - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 91

Fotografia 14g – Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 92
Fotografia 14h - Membrana de camarões *Aristeus antennatus*..... 92
Fotografia 14i - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 92
Fotografia 14j - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 93
Fotografia 14 l- Membrana de camarões *Aristeus antennatus* 93
Fotografia 14m - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 93

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1a - Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 67
Imagem 1b - Micrografia de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 67
Imagem 2a - Micrografia da quitina e quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 68
Imagem 2b - Micrografia da quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 68
Imagem 3a - Micrografia de quitina camarão *Litopenaeus vannamei*..... 69
Imagem 3b - Micrografia de quitosana de camarão *Litopenaeus vannamei*..... 69
Imagem 4a -Micrografia da quitina de camarões *Aristeus antennatus*..... 70
Imagem 4b -Micrografia da quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 70
Imagem 5a -Micrografia de quitina de caranguejo *Ucides cordatus*..... 71
Imagem 5b -Micrografia de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus*..... 71
Imagem 6a - Micrografia de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 72
Imagem 6b - Micrografia de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 72
Imagem 7a - Micrografia do floco de quitosana de camarões *Litopenaeus Vannamei*..... 73
Imagem 7b - Micrografia de quitosana de camarões *Litopenaeus Vannamei*..... 73
Imagem 8a - Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 74
Imagem 8b - Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 74
Imagem 9a - Membrana de camarão *Litopenaeus vannamei*-7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM)..... 94
Imagem 9b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* -7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM)..... 95
Imagem 9c - Membrana de camarão *Ucides cordatus* - 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) TFA/DCM..... 95
Imagem 10a - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* - 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM)..... 96
Imagem 10b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* - 5 %(m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM)..... 96
Imagem 10c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus* - 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM)..... 97
Imagem 11a - Membrana de *Litopenaeus vannamei* 7% quitosana em solução de 60 % de CH_3COOH..... 98
Imagem 11b - Membrana de *Aristeus antennatus* - 7% quitosana em solução de 60 % de CH_3COOH..... 98

Imagem 11c - Membrana de *Ucides cordatus* -7% quitosana em solução de 60 % de CH_3COOH..... 99
Imagem 12a - Membrana de quitosana *Litopenaeus vannamei* -7% qeuitosana em solução de 90 % de CH_3COOH..... 99
Imagem 12b - Membrana de *Aristeus antennatus* -7% quitosana em solução de 90 % de CH_3COOH..... 100
Imagem 12c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus* -7% quitosana em solução de 90 % de CH_3COOH..... 100

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Áreas de emprego da quitina e quitosana..... 29
Quadro 2 - Quantidade das matérias-primas usadas para extração de quitina e quitosana..... 46
Quadro 3 - Reagentes utilizados nesse trabalho..... 46
Quadro 4 - Etapa de desmineralização com exoesqueletos de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) nas relações de 1:3, 1:6 e 1:10..... 50
Quadro 5 - Resultados obtidos no processo de desmineralização para camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*)..... 56
Quadro 6 - Amostras utilizadas com as soluções e concentração de quitosana..... 59
Quadro 7 - Descrição dos materiais do aparato de eletrofiação..... 61
Quadro 8 - Parâmetros usados no trabalho..... 62
Quadro 9 - Percentual de rendimento de quitina e quitosana..... 66
Quadro 10 - (I_{CR}) e (GD) da quitina e quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e Aristeus *antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*)..... 78
Quadro11 - Comparação das curvas térmicas (TG/DTG) obtidas na quitina e quitosana no segundo estágio..... 83
Quadro 12a - Tensão de ruptura, deformação de ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*..... 118
Quadro 12b - Tensão de ruptura, deformação de ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*..... 118
Quadro 12c - Tensão de ruptura, deformação de ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*..... 118

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ASTM	American Society for Testing and Materials
C	Celsius
$Ca(HSO_3)_2$	Bisulfito de cálcio
$Ca(OH)_2$	Hidróxido de cálcio
CH_2	Etil
CH_2Cl_2	Cloreto de metileno
$C_2HF_2O_2$	Ácido trifluoracético
CH_3	Metil
$(CH_3)_2CO$	Acetona
CH_3COOH	Ácido acético
C=O	Carbonila
CPs	Contagem por segundo
CSIR	National Institute for Interdisciplinary Science and Technology
CTINFRA	Fundo Setorial de Infra-Estrutura
CTPETRO	Fundo Setorial do Petróleo e Gás Natural
Cu	Cobre
DCM	Diclorometano
DRX	Difração de Raio-X
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
FINEP	Financiadora de Estudos e Projetos
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
GD	Grau de desacetilação
HCOOH	Ácido fórmico
HCl	Ácido clorídrico
HNO_3	Ácido nítrico
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
H_2SO_3	Ácido sulfuroso
I_{CR}	Índice de cristalinidade
$KMnO_4$	Permanganato de potássio
KOH	Hidróxido de potássio

kV	Kilovolt
K_2CO_3	Carbonato de potássio
LABTEX	Laboratório de Engenharia têxtil
LIEM	Laboratório de Interferência Eletromagnética
mA	Microamperes
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
m/v	Massa/volume
mL/min	Milímetros/minutos
µm	Micrometro
$NaHCO_3$	Bicarbonato de sódio
$NaHSO_4$	Bissulfato de sódio
Na_2CO_3	Carbonato de sódio
Na_3PO_4	Fosfato de sódio
$Na_2S_2O_4$	Hidrosulfito de sódio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
Na_2S	Sulfeto de sódio
Na_2SO_3	Sulfito de sódio
$NaHSO_3$	Bisulfito de sódio
NH	Composto nitrogênio e hidrogênio
NH_2	Amina
$NHCOCH_3$	Acetil (acetamino)
OH	Hidroxila
P.A	Para análise
pH	Potencial hidrogeniônico
Qts	Quitosana
SO_2	Dióxido de enxofre
T	Temperatura
TFA	Trifluoracético
TG	Termogravimetria
DTG	Termogravimetria derivada
v/v	Volume/volume
θ	Ângulo de contato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 22
1.1 OBJETIVO GERAL..... 24
1.1.1 Objetivos Específicos..... 24
2 REFERENCIAL TEÓRICO..... 25
2.1 QUITINA E QUITOSANA..... 25
2.1.1 Aplicações..... 28
2.1.2 Processo de obtenção e extração..... 30
2.2 ELETROFIAÇÃO..... 33
3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO..... 37
3.1 CÁLCULO DE RENDIMENTO..... 37
3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)..... 37
3.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS - X (DRX)..... 37
3.4 GRAU DE DESACETILAÇÃO (GD)..... 37
3.5 ANÁLISE TÉRMICA (TG/DTG)..... 38
3.6 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)..... 38
3.7 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)..... 38
3.8 AVALIAÇÃO QUALITATIVA - ASPECTOS VISUAIS..... 38
3.9 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA POR TRAÇÃO..... 39
4 MATERIAIS E MÉTODOS..... 40
4.1 MATERIAIS..... 40
4.2 MÉTODOS..... 47
4.2.1 Processo para extração da quitina e quitosana..... 47
4.2.2 Processo para preparação das membranas de quitosana..... 58
4.2.3 Processo de eletrofiação para formação de membranas..... 60
4.2.4 Caracterização de Quitina, Quitosana e Membranas..... 63
4.2.4.1 Cálculo de rendimento percentual de quitina e quitosana..... 63
4.2.4.2 Análise morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 63
4.2.4.3 Análise por Difração de Raios-X (DRX)..... 63
4.2.4.4 Determinação do Grau de desacetilação (GD)..... 64
4.2.4.5 Análise Térmica (TG/DTG)..... 64
4.2.4.6 Calorimetria Exploratória Diferencial de Varredura (DSC)..... 65

4.2.4.7 Análise por Espectroscopia de Infravermelho e Transformada de Fourier (FTIR)..... 65
4.2.4.8 Aspectos visuais das membranas de quitosana..... 65
4.2.4.9 Caracterização mecânica..... 65
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 66
5.1 CÁLCULO DE RENDIMENTO PERCENTUAL DE QUITINA E QUITOSANA..... 66
5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)..... 67
5.3 ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X..... 75
5.3.1 Índice de cristalinidade e grau de desacetilação..... 75
5.4 ANÁLISE TÉRMICA (TG/DTG)..... 79
5.5 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)..... 83
5.6 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO E TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)..... 86
5.7 ASPECTOS VISUAIS DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA..... 90
5.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA..... 94
5.9 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA (DRX)..... 101
5.10 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA DAS MEMBRANAS..... 109
5.11 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA..... 116
6 CONCLUSÕES..... 120
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... 122
REFERÊNCIAS..... 123

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o uso de biopolímeros naturais para aplicações em diversas áreas têm sido de vital importância para o avanço das ciências e apresenta várias vantagens como: fácil obtenção, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Os biopolímeros têm suas propensões extremamente bioativas e são geralmente derivados de produtos agrícolas ou de crustáceos.

A quitina e a quitosana são biopolímeros descobertos recentemente e tem despertando grande interesse de cientistas e pesquisadores como materiais poliméricos funcionais. A quitina é geralmente considerada a "celulose animal", pois é a segunda substância orgânica mais abundante na biosfera e a principal fonte de poluição superficial nas zonas costeiras. É superada apenas pela celulose, mas a sua taxa de reposição chega a ser duas vezes superior à da celulose. A quitosana é desacetilada a partir da quitina. Ambas são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidas por fonte naturais renováveis como: paredes celulares de alguns fungos, exoesqueletos dos insetos, algas diatomáceas, exoesqueletos dos crustáceos (camarão, caranguejo, siri, lagosta e krill) [1, 2].

Os resíduos de crustáceos encontram-se desperdiçados pelas indústrias pesqueiras em várias partes do mundo, incluindo os EUA (Oregan, Washington, Virginia), Japão e por várias frotas pesqueiras na Antártica [3]. O Japão, os EUA e a China são os maiores produtores mundiais de quitina, mas o polímero também é produzido, ainda que em menor escala na Índia, Noruega, Canadá, Itália, Polônia, Chile e Brasil, entre outros [4].

Esses materiais apresentam grande valor comercial devido à sua aplicabilidade e alta porcentagem de nitrogênio (6,89%), quando comparada à celulose com 1,25% [5].

Estima-se que a produção anual de crustáceos encontra-se cerca de 1.200.000 toneladas, apenas 20% deste valor são convertidos em alimentos e 40% representa resíduos sólidos. Destes resíduos sólidos, aproximadamente 30% representam matéria seca. Cerca de 70% da matéria seca é quitina e o restante carbonato de cálcio e proteína [6]. Tais resíduos podem causar grandes problemas de ordem social por ser desagradável no cheiro, atrair insetos e, além disso, pode acarretar danos à saúde humana [7].

As alterações e os fenômenos ambientais gerados pelas atividades da indústria pesqueira são decorrentes da falta de planejamento e da falta de interesse das indústrias em adequarem-se aos procedimentos atuais da saúde, de segurança e do meio ambiente [8].

De fato, a produção desses polímeros a partir da biomassa pode contribuir para reduzir drasticamente o acúmulo de resíduos no meio ambiente. Sua aplicabilidade está em diversas

áreas como: agricultura, indústria alimentícia, indústria têxtil, indústria farmacêutica, cosméticos e biomateriais, tais como géis, filmes, membranas poliméricas entre outras aplicabilidades [9].

A nanotecnologia vem se destacando ao longo dos anos devido à versatilidade em suas aplicações [10]. Um bom exemplo disso é a produção de membranas que podem ser utilizadas em diversas áreas, como na medicina e na engenharia de tecidos. Membranas de quitosana podem ser utilizadas como biomateriais, pois são interessantes suportes para o crescimento celular devido suas capacidades de imitar a matriz extracelular [11].

Muita atenção tem sido dada sobre o uso de alto potencial eletrostático na fabricação de membranas de materiais com origens diversas em diâmetros de escalas micrométricas e nanométricas pelo processo de eletrofiação [12]. Apesar de descoberta e patenteada em 1934 por Formhals, esta técnica ficou esquecida por um longo período de tempo [13]. Foi a partir dos anos 90, com o forte progresso da nanociência e nanotecnologia, que a eletrofiação voltou a ser explorada. Graças à evolução dos conhecimentos e ferramentas de análise de estruturas de dimensões nanométricas foi possível compreender as potencialidades inerentes a esta técnica.

A eletrofiação consiste na aplicação de forças eletrostáticas e de arraste. Os materiais produzidos através desse processo oferecem características únicas de controle de tamanho de poros. Estes resultam em materiais com alta razão superficial de área e volume com morfologia semelhante aos tecidos naturais. As membranas de quitosana são excelentes candidatas para o uso na fabricação de estruturas de apoio para o crescimento celular, enxerto vascular, curativos e sistemas para aplicações de remédios [14].

Algumas variáveis podem influenciar durante o processamento, como: a concentração polímero/solvente, tensão elétrica aplicada, solução, vazão de alimentação (saída da solução do capilar) e distância de trabalho entre o capilar até o coletor [15].

Diante da preocupação ao destino adequado para os resíduos de crustáceos, os quais são descartados e tornam-se nocivos por poluírem o meio ambiente, e da importância do biopolímero quitosana, esta pesquisa foi desenvolvida no sentido de contribuir para que as agressões ao meio ambiente sejam cada vez mais reduzidas. Desta forma, há de destacar o caráter relevante do tema, uma vez que contribui para o reaproveitamento dos exoesqueletos de camarões e caranguejos para a extração da quitina, desacetilação da quitosana e fabricação das membranas. Pois, há uma grande carência de comprovação científica em relação à caracterização mais detalhada em relação à membrana de quitosana por eletrofiação.

1.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho foi realizado com o objetivo de extrair e caracterizar a quitina e a quitosana, a partir dos exoesqueletos de crustáceos: camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) para fabricação de membranas de quitosana.

1.1.1 Objetivos Específicos

Além do objetivo geral, o trabalho teve os seguintes objetivos específicos:

a) Produzir e extrair o biopolímero quitina a partir das matérias-primas dos crustáceos: camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) por meio das etapas de desproteinização, desmineralização e despigmentação. Após etapa de despigmentação ou desodorização realizar o processo de desacetilação para obter a quitosana;
b) Calcular o rendimento percentual da quitina e quitosana obtidas no processo;
c) Caracterizar a quitina e a quitosana extraídas através das técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difratometria de Raios-X (DRX), análise Termogravimétrica e Termogravimétrica Derivada (TG e DTG), análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR);
d) Avaliar o índice de cristalinidade (I_{CR}), grau de desacetilação (GD) das amostras de quitina e quitosana produzidas;
e) Desenvolver membranas de quitosana pelo processo de eletrofiação;
f) Caracterizar as membranas de quitosana através das técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difratometria de Raios-X (DRX), análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e análise das propriedades mecânicas por tração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 QUITINA E QUITOSANA

O termo quitina é derivado da palavra grega "*Khitón*", que significa carapaça, casca ou caixa de revestimento, cuja sua função na natureza é de revestimento e proteção dos invertebrados [1].

A quitina é um biopolímero essencialmente produzido por fontes naturais renováveis, encontrada nos exoesqueletos dos crustáceos (camarão, caranguejo, siri, lagosta e krill), nos insetos, nas algas diatomáceas e também na parede celular de alguns fungos. A fonte comercial mais utilizada são as cascas de crustáceos marinhos (camarões e caranguejos), devido às largas quantidades disponíveis desta fonte, essencialmente subprodutos da indústria de processamento alimentar [1, 2].

A quitina foi isolada pela primeira vez em 1811, pelo professor francês Henri Braconnot, atribuindo-lhe a denominação inicial de fungina por ter sido extraída de fungos. Em 1823, Odier isolou uma substância contida nas carapaças de insetos, a qual chamou de quitina. Somente em 1843, Anselme Payen detectou a presença de nitrogênio na estrutura da quitina. O mesmo isolou o exoesqueleto quitinoso da larva do bicho da seda utilizando hidróxido de potássio a quente [16, 17].

A quitosana foi descoberta e descrita pela primeira vez em 1859 por Rouget. Em 1894 Gilson confirmou a presença de glicosamina na quitina e no mesmo ano o nome quitosana foi proposto por Hopper-Seyler [18]. A partir de então, o interesse progressivo da aplicação da quitina resultou no desenvolvimento de muitos estudos que visaram aumentar o conhecimento sobre as relações estruturas/propriedades deste polímero e seus derivados [2].

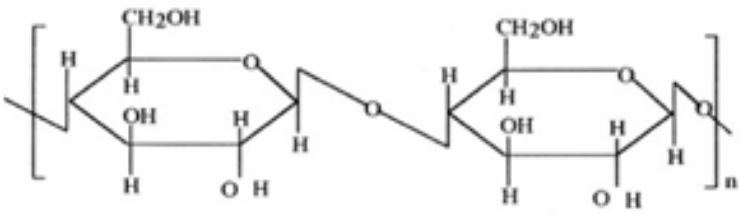
A quitina é a segunda substância orgânica mais abundante na biosfera e a principal fonte de poluição superficial nas zonas costeiras. É superada apenas pela celulose, mas a sua taxa de reposição chega a ser duas vezes superior à da celulose [19].

É um polímero linear composto por unidades 2-acetamino-2-deoxi-β-D-glicose (~95%) e 2-amino-2-deoxi-β-D-glicose (~5%) ligados através de ligações glicosídicas do tipo β (1→4) [20, 2, 21]. Tem como função principal manter a estrutura de crustáceos, insetos e alguns fungos. Tem estrutura semelhante à celulose diferenciando-se pela ausência da hidroxila no carbono dois [22].

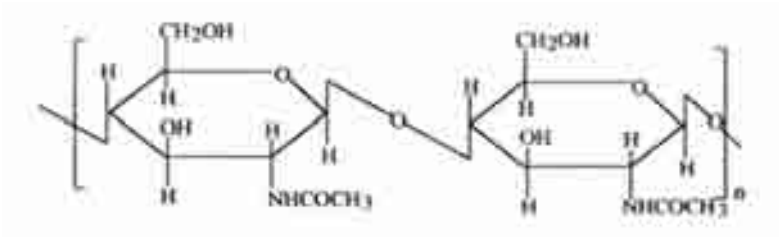
A Figura 1 mostra a comparação das estruturas moleculares da celulose, quitina e quitosana, onde os grupos hidroxila (OH) estão dispostos na estrutura geral do carboidrato

para a celulose e grupos amino (NH_2) para a quitosana. A quitosana é solúvel em meio ácido diluído formando um polímero catiônico que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais [23].

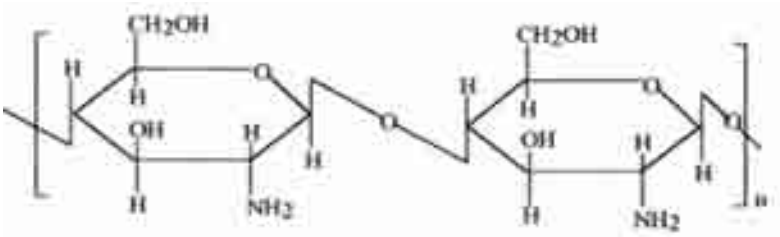
Figura 1 - Comparação das estruturas moleculares da celulose, quitina e quitosana.



Celulose



Quitina



Quitosana

Fonte: [24]

Embora a composição varie conforme a espécie e sazonalidade. A composição dos exoesqueletos dos crustáceos pode conter de 15 a 20% de quitina, 25 a 40 % de proteínas e 40 a 55 % de sais inorgânicos, principalmente carbonatos de cálcio, além de alguns pigmentos, incluindo carotenóides [25].

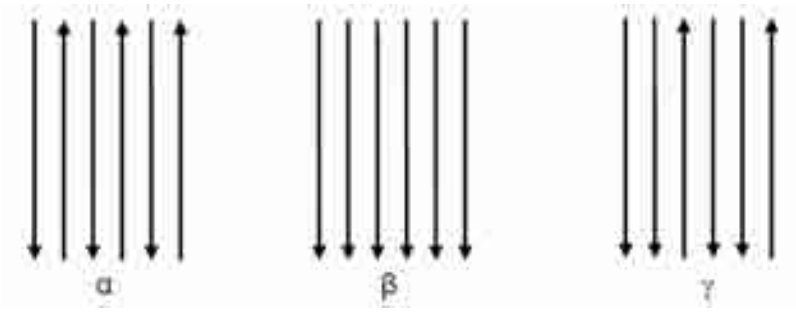
Dependendo da sua origem, da disposição das cadeias, da estrutura cristalina e da presença das moléculas de água que constituem o polímero, a quitina pode existir sob três formas: α, β e γ, [1], como mostra a Figura 2.

A quitina α tem como característica uma estrutura de arranjos alternados de cadeias paralelas e antiparalelas. É a forma mais estável, mais abundante e mais resistente desse biopolímero. Encontra-se em carapaças de crustáceos (camarões, lagostas e caranguejos), insetos e na parede celular dos fungos. A quitina β é predominante em lulas e algas marinhas microscópicas. Nessa quitina há um arranjo de cadeias paralelas [26].

As quitinas α e β são as mais conhecidas, sendo a α mais comum, mais resistente e também a mais estudada. Quitinas β e γ são caracterizadas por apresentarem simultaneamente flexibilidade e dureza. Ambas podem ser convertidas à forma α através de tratamento químico adequado [27]. Já a quitina γ (variante da família da quitina α) é pouco conhecida por ser encontrada raramente na natureza, como por exemplo, em casulos de insetos [28]. Não tem uma característica ainda bem definida, embora haja sugestões de que tenha duas cadeias paralelas e uma antiparalela.

Ambas as quitinas α e β são insolúveis em todos os solventes convencionais, apesar das variações de cristalinidade, o que dificulta o processamento desse material.

Figura 2 - Orientações das cadeias poliméricas nas diferentes formas de quitina.



Fonte: [2]

Embora não exista uma nomenclatura definitiva que estabeleça uma diferença entre quitina e quitosana, o termo quitosana geralmente representa copolímeros catiônicos, composto de unidades 2-amino-2-deoxi-β-D-glicose (60~100%) e 2-acetamino-2-deoxi-β-D-glicose (0~50%), unidos entre si por ligações ß (1→4) [29, 4, 20, 21]. É o principal derivado da desacetilação da quitina no qual o grau médio de desacetilação que representa a percentagem de grupos NH_2 livres, é maior que 60 % [30, 31].

2.1.1 Aplicações

As aplicações e a produção industrial da quitosana experimentaram um elevado crescimento a partir da década de 70. O Japão, os EUA e a China são os maiores produtores mundiais de quitina, mas o polímero também é produzido, embora em menor escala, na Índia, Noruega, Canadá, Itália, Polônia, Chile e Brasil, entre outros [32]. À frente do desperdício para indústrias de conserva em algumas partes do mundo, destaca-se os EUA (Oregon, Washington e Virginia) [3].

Durante os últimos anos, a quitina e quitosana, vêm despertando interesses na comunidade científica mundial, principalmente devido à ampla aplicação em diversas áreas devido a sua versatilidade [20]. Embora sendo uma fonte de matéria-prima bastante acessível e com muitas potencialidades, a quitina tem aplicação ainda muito reduzida, principalmente devido ao seu difícil tratamento e baixa solubilidade, resultantes da existência de fortes ligações por pontes de hidrogênio entre as cadeias poliméricas [33]. A quitosana tem despertado maior interesse, isso decorre do fato de ser mais solúvel que a quitina, ampliando as possibilidades de aplicações [34]

Um dos grandes empregos da quitosana está relacionado a regimes de emagrecimento e aspectos funcionais relativos à saúde humana. Por ser uma substância catiônica, a quitosana atrai moléculas com carga negativa, como gorduras e ácidos biliares. A estrutura formada é não digerível, sendo, portanto, eliminada sem ser metabolizada. Produtos à base do biopolímero podem ser utilizados na indústria médica, farmacêutica [35, 36, 37] indústria alimentícia, na agricultura, no tratamento de efluentes, no uso veterinário, bem como na área de engenharia de tecidos. A tendência das indústrias que utilizam quitina e quitosana é gerar produtos de alto valor econômico, tais como: cosméticos, aditivos alimentares, fibras têxteis e também como suporte de medicamentos e revestimento de fármacos. Além disso, pode ser usada na purificação de água e propriedades quelantes, conforme pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 - Áreas de emprego da quitina e quitosana.

ÁREA	EMPREGO
Biomédica	Membranas artificiais Suturas cirúrgicas Implantes dentários Reconstituição óssea Lentes de contato
Farmacêutica	Agente cicatrizante Controle de colesterol Pílulas e vacinas
Indústria alimentar	Aditivos alimentares Embalagem biodegradável para alimentos Película antimicrobiana Clarificação de sucos e vinhos Conservante para molhos
Agricultura	Fertilizantes Proteção de sementes
Engenharia de tecidos	Membranas para revestimentos Curativos
Tratamento de Efluentes	Remoção de íons metálicos Remoção de corantes
Cosméticos	Esfoliante para a pele Tratamento de acne Hidratante capilar Creme dental Protetor solar
Indústria têxtil	Tratamento de superfícies Fibras têxteis
Uso veterinário	Aditivo para alimento de animais Compósitos para ferimentos de animais

Fonte: [20]

A quitosana tem sido largamente usada devido às suas características de biodegrabilidade, biocompatibilidade, hidrofilidade, propriedades antibacterianas, bioatividade e por serem processadas em diferentes formas (soluções, blendas, esponjas, membranas, géis, pastas, tabletes, microesferas e micrograânulos, entre outros). Também por ser proveniente de recursos naturais e renováveis [36, 20, 38, 39].

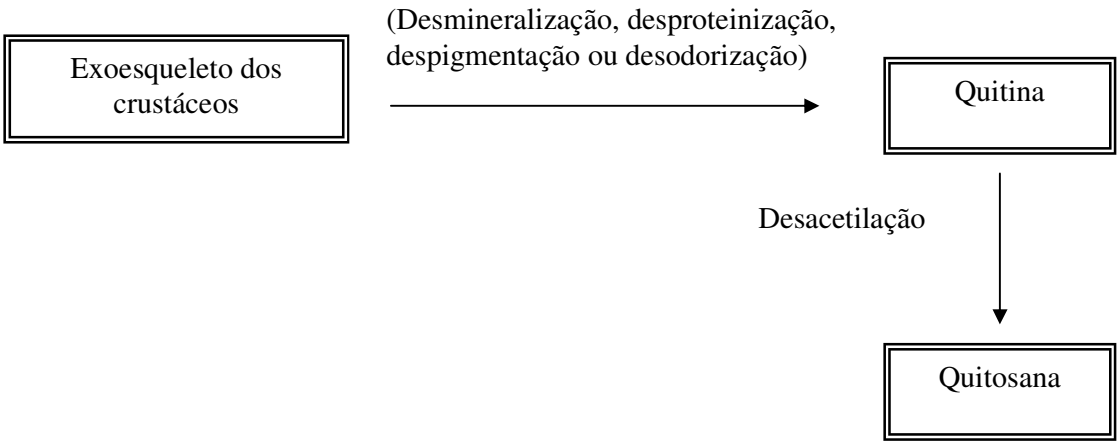
Alguns autores citam que a quitosana fomenta o crescimento celular, porque as células aderem fortemente ao polímero e proliferam mais rapidamente. Com isso, a aplicação da quitosana na confecção de peles artificiais promove cicatrização, regeneração de cartilagens, nervos e ossos. Membranas de quitosana são usadas como um suporte de crescimento que regeneram a pele humana de forma mais saudável e com menos cicatrizes. Pois, a quitosana possui capacidade de aumentar funções de células inflamatórias, promovendo assim a organização celular e atuando no reparo de feridas. Tudo isso, deve-se a unidade repetitiva da quitina, também presente na quitosana, N- acetil- D-glucosamina, a qual é um dos principais componentes dos tecidos epiteliais [40, 41].

Outro exemplo de aplicação importante da quitosana refere-se à fabricação de nanoestruturas para dispositivos óticos, entre outras aplicabilidades [42].

2.1.2 Processo de obtenção e extração

O processo de obtenção da quitina envolve normalmente três operações básicas: desmineralização, desproteinização e despigmentação ou desodorização. E para obtenção da quitosana é necessário à etapa de desacetilação da quitina, como mostra o Fluxograma 1.

Fluxograma 1- Etapas para obtenção de quitina e quitosana.



Fonte: Autor

O conteúdo mineral dos resíduos dos crustáceos oscila entre 30 e 55% e é constituído principalmente por carbonato de cálcio e, em menor proporção (10%), por fosfato de cálcio. A remoção desta matéria inorgânica é realizada através da etapa de desmineralização através do tratamento ácido a diferentes concentrações, com o HNO_3, H_2SO_3, CH_3COOH e HCOOH entre outros, sendo o HCl o mais utilizado e em concentrações diferentes. Etapa realiza-se a temperatura de 0-100ºC [43].

A etapa de desproteinização é executada para eliminação de proteínas. A matéria-prima é normalmente tratada com uma solução alcalina e levada a temperaturas que podem variar entre 65 a 100 ºC. Pode-se adotar soluções aquosas de Na_2CO_3, $NaHCO_3$, KOH, K_2CO_3, $Ca(OH)_2$, Na_2SO_3, $NaHSO_4$, $Ca(HSO_3)_2$, Na_3PO_4 e Na_2S, embora na maioria seja utilizado o NaOH, variando ligeiramente o intervalo de temperatura, a concentração, o tempo de duração da operação e o número de operações [44].

Os exoesqueletos dos crustáceos contêm pigmentos que não se encontram complexados com materiais inorgânicos ou proteínas, não sendo eliminados pelos tratamentos mencionados anteriormente. Estes pigmentos são eliminados na etapa de despigmentação ou desodorização com etanol ou acetona, depois do tratamento de desmineralização, ou através de $KMnO_4$, NaOCl, SO_2, $NaHSO_3$, $Na_2S_2O_4$ ou H_2O_2. Sendo o NaOCl mais usado constantemente nesse processo de desodorização.

A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em soluções alcalinas. Durante a reação de desacetilação, os grupamentos acetamido ($NHCOCH_3$) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino (NH_2), dando origem a quitosana. Nessa etapa utiliza-se a solução concentrada de NaOH em temperaturas relativamente altas e tempos relativamente prolongados.

A desacetilação da quitina raramente é completa, embora tal não constitua um problema na maioria dos casos, uma vez que um grau de desacetilação de aproximadamente 60 % já permite a solubilização do polímero em soluções ácidas diluídas. Aliás, tem sido este critério de solubilidade o parâmetro adaptado por muitos autores [45]. Alguns autores consideram quitosana com grau de desacetilação a partir de 50% [7].

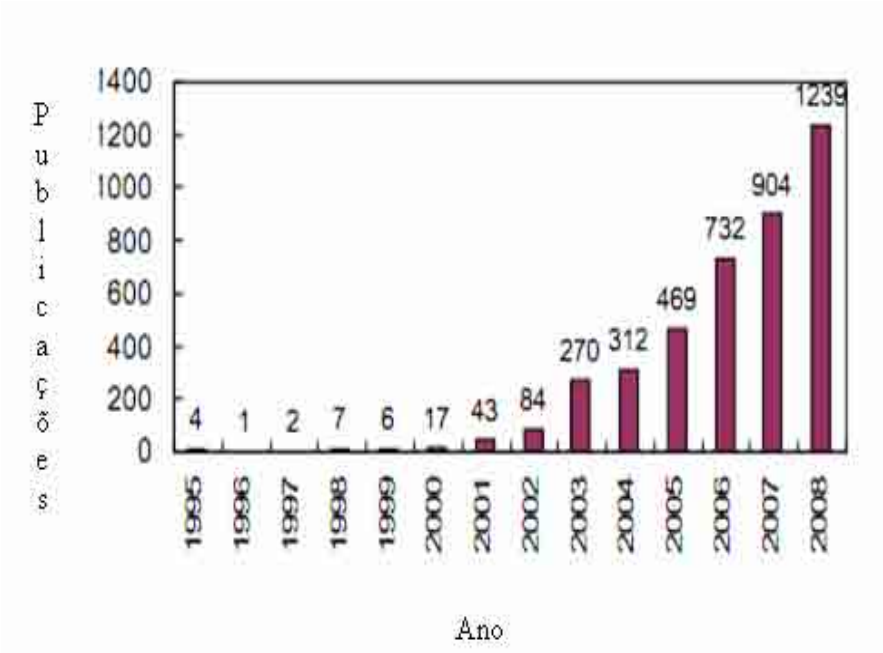
Algumas limitações são importantes destacar em relação à viabilidade do processo de obtenção da quitina e quitosana proveniente dos crustáceos: adaptação ao clima, sazonalidade, locais de confinamento e processamento em larga escala associado com a conversão química da quitina em quitosana [46].

A resistência mecânica e a maleabilidade do biopolímero quitosana às vezes são limitadas. Depende do procedimento utilizado, do rendimento, da qualidade da matéria-prima e das propriedades da quitosana, as quais são fortemente dependentes do controle de cada etapa utilizada para extração [47]. Pois, conforme a fabricação dos materiais a base do biopolímero pode-se alterar ou obter as propriedades de interesse.

2.2 ELETROFIAÇÃO

A eletrofiação é um processo que produz materiais poliméricos em escalas micrométricas e nanométricas [48]. Apesar de descoberta e patenteada em 1934 por Formhals, esta técnica ficou esquecida por um longo período de tempo [13]. Foi a partir dos anos 90, com o forte progresso da nanociência e nanotecnologia, que a eletrofiação voltou a ser explorada, graças à evolução dos conhecimentos e ferramentas em análise de estruturas de dimensões nanométricas. Foi possível compreender as potencialidades inerentes a esta técnica, como mostra o Gráfico 1, exemplificando o número de publicações em aumento exponencialmente pelos anos de 1995 a 2008.

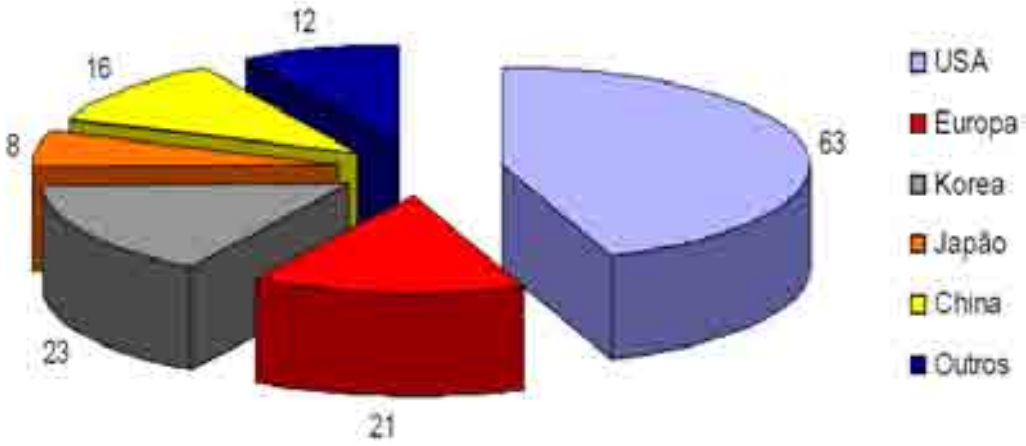
Gráfico 1 - Número anual de publicações no assunto de eletrofiação desde 1995.



Fonte: [49]

O número de Universidades e Centros de Pesquisas no mundo que estudam os diferentes aspectos do método de eletrofiação; assim como o número de patentes e aplicações têm também comprovado o crescimento nos últimos anos dessa técnica, como apresenta o Gráfico 2 [50].

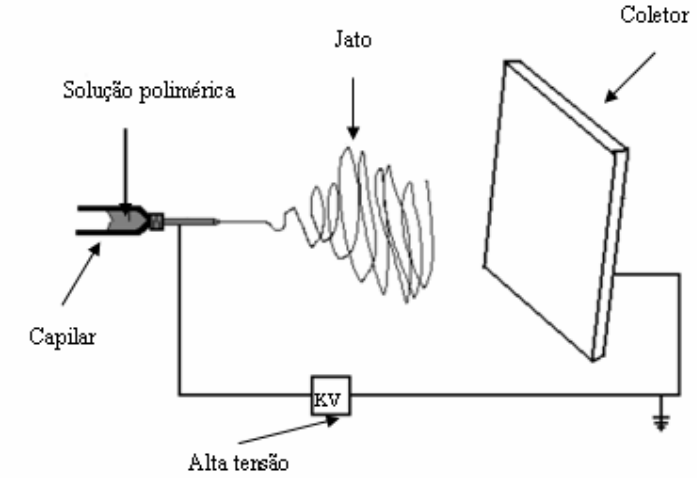
Gráfico 2 - Distribuição de Universidades trabalhando no método de eletrofiação ao redor de mundo.



Fonte: [50]

A eletrofiação é uma técnica versátil com aplicações em várias áreas como: têxtil, fármacos, biomédica, materiais funcionais, energia, eletrônica, cosméticos, compósitos, biomateriais, como: géis, membranas, filtros entre outros. A eletrofiação consiste na aplicação de forças eletrostáticas e de arraste. O sistema de eletrofiação é composto por uma fonte de alta tensão para polarização da solução polimérica, um tubo capilar para ejeção do jato e um coletor [51], como mostra a Figura 3.

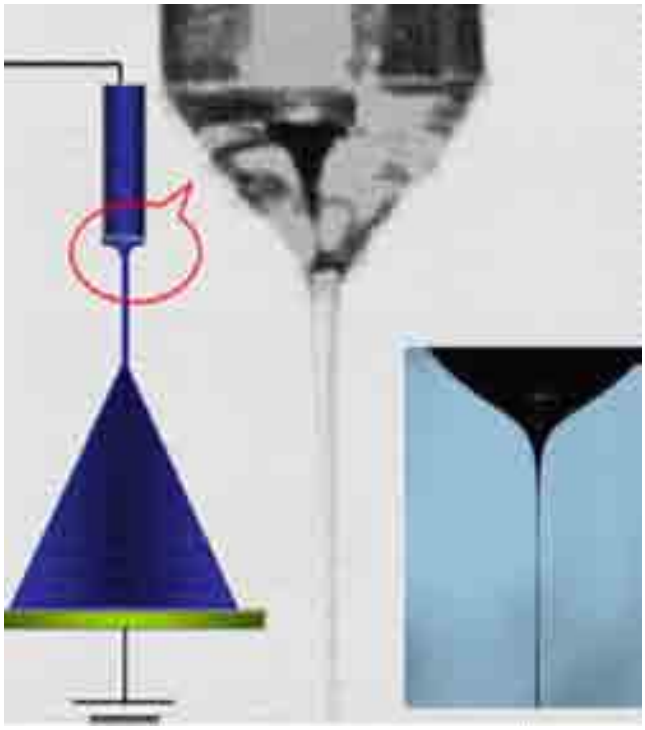
Figura 3 - Sistema de eletrofiação.



Fonte: [52]

Inicialmente a solução é mantida pela sua tensão superficial na forma de uma gota na extremidade do capilar. Com o aumento da tensão elétrica, a superfície da gota se alonga para formar um cone, conhecido como cone de Taylor, Figura 4. Quando o campo elétrico é suficientemente intenso (depende de cada polímero) para superar a tensão superficial de uma dada solução polimérica, um jato de solução é formado e acelerado pelo campo elétrico na direção do coletor.

Figura 4 - Formação do cone de Taylor



Fonte: [53]

O jato é acelerado e isto acontece por que o solvente evapora fazendo com que as cadeias fiquem mais juntas, ou seja, o polímero solidifica-se, formando os materiais que se depositam no coletor. Enquanto o jato viaja através do ar este não o faz percorrendo uma trajetória retilínea, mas passa por uma série de instabilidades que ainda não tem explicação satisfatória, nesse processo [53].

Algumas variáveis podem influenciar o processo: concentração polímero/solvente, tensão elétrica aplicada na solução, vazão de alimentação (saída da solução do capilar) e distância de trabalho entre o capilar e o coletor [15]. Além destas variáveis têm os parâmetros: umidade e temperatura do ambiente que desempenham um papel significante na determinação da morfologia dos materiais eletrofiados [12].

As membranas produzidas através desse processo oferecem características únicas de controle de tamanho dos poros, pois podem ser produzidas com grande potencial em aplicações onde a porosidade é desejável [54, 50], especialmente devido ao grande controle do fluxo da solução, podendo assim variar o capilar ou mesmo as agulhas das seringas, que permite obter superfícies porosas com membranas poliméricas consumindo uma pequena quantidade de material. Cada um destes parâmetros significativamente afeta a morfologia da membrana obtida e por própria manipulação destes parâmetros podem-se adquirir membranas de morfologias desejadas [55].

A eletrofiação de biopolímeros tem atraído grande atenção porque pode ser usada para fabricar estruturas biomédicas para engenharia de tecidos, curativos, entre outros. [56, 48]. Para uma membrana de uso biomédica, por exemplo é de grande interesse que tenha resistências química, mecânica, térmica e seja biodegradável [57]. A escassez de estudos de otimização e caracterização das propriedades mecânicas das membranas produzidas por eletrofiação constitui uma grande limitação para suas aplicações. A morfologia da membrana e a natureza do material que a constitui são alguns dos fatores que vão definir o tipo de aplicação e a eficiência de uso [58].

Diversos polímeros e biopolímeros já foram utilizados para fabricação de membranas por eletrofiação, o que demonstra a excepcional versatilidade desta técnica. A maioria apresenta uma série de atributos, tais como a hidrofilidade, não toxicidade e biocompatibilidade que os torna vantajosos em muitas aplicações. Estes compostos apresentam ainda a vantagem de serem normalmente menos poluentes e provenientes de fontes renováveis.

Alguns exemplos de biopolímeros a partir dos quais foram desenvolvidas membranas por eletrofiação são: quitosana [59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66], colágeno [56, 67, 68, 69], gelatina [70, 66, 71], seda [72], alginato [73], proteína da membrana do ovo [74], caseína [75], poteína de trigo [76] e dextrano [77].

Em relação aos polímeros sintéticos destacam-se o poli (tereftalato de etileno) (PET) [78], o poliestireno [79] e o álcool polivinílico [80].

.

3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

3.1 CÁLCULO DE RENDIMENTO

O cálculo de rendimento é utilizado a partir da massa inicial da matéria-prima que será utilizada no processo. Em seguida após obter o material a ser trabalhado, a partir da matéria-prima inicial, realiza-se a pesagem do mesmo e calcula-se a percentagem de rendimento em relação à massa inicial da matéria-prima utilizada.

3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A técnica por Microscopia Eletrônica de Varredura tem o objetivo de avaliar o aspecto morfológico das amostras, bem como as mudanças superficiais por detecção de elétrons secundários no microscópio eletrônico de varredura.

3.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS - X (DRX)

A técnica por Difração de Raios-X é realizada em Difratômetro de Raios-X. Através dessa técnica é possível realizar a caracterização microestrutural, determinar a cristalinidade do material, bem como o índice de cristalinidade do mesmo.

O índice de cristalinidade (I_{CR}) de um polímero expressa a relação entre as partes cristalinas e não cristalinas do material.

3.4 GRAU DE DESACETILAÇÃO (GD)

O grau de desacetilação (GD) é um parâmetro que define a fração de unidades desacetiladas existentes nas cadeias poliméricas [81].

Vários métodos são usados na literatura, para determinação do GD, dentre eles destacam-se a Titulação Potenciométrica [82], a Espectroscopia UV [83], a Espectroscopia na Região do Infravermelho-FTIR, a Espectroscopia de Massa [81] e a Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear [84]. No entanto, o melhor método para a determinação do GD ainda tem sido motivo de estudos.

A análise por Espectroscópica na Região do Infravermelho é mais adequada devido a sua rapidez e eficiência [85, 86].

3.5 ANÁLISE TÉRMICA (TG/DTG)

As análises dos polímeros por métodos térmicos podem fornecer informações referentes à transição de fases e estabilidade do material.

A análise Termogravimétrica (TG) consiste em analisar amostras em relação à transformação química (degradação, decomposição, formação de material carbonizado ou oxidado) em função do tempo ou temperatura [87].

A análise Termogravimétrica Derivada (DTG) é derivada das curvas (TG). Auxilia na visualização e esclarecimentos dos eventos que ocorrem na curva TG. Possibilita a determinação da temperatura de pico, temperatura inicial e final do processo [88].

As análises são realizadas com auxílio de um equipamento denominado termobalança.

3.6 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma técnica que mede as temperaturas associadas 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 [89].

Verifica o processo de decomposição, o perfil das curvas endotérmicas e exotérmicas das amostras, bem como a estabilidade térmica do material.

3.7 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A técnica por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier é um método analítico padrão, freqüentemente usado para caracterizar a estrutura dos polímeros. É utilizada para verificar a presença das bandas de absorção dos grupos funcionais presentes nas amostras. O espectro é obtido pela pesagem da radiação pela amostra, registrando os comprimentos de onda para os quais as bandas de absorção aparecem.

3.8 AVALIAÇÃO QUALITATIVA - ASPECTOS VISUAIS

Na avaliação qualitativa pode-se verificar o aspecto visual, aparência e a coloração do material obtido.

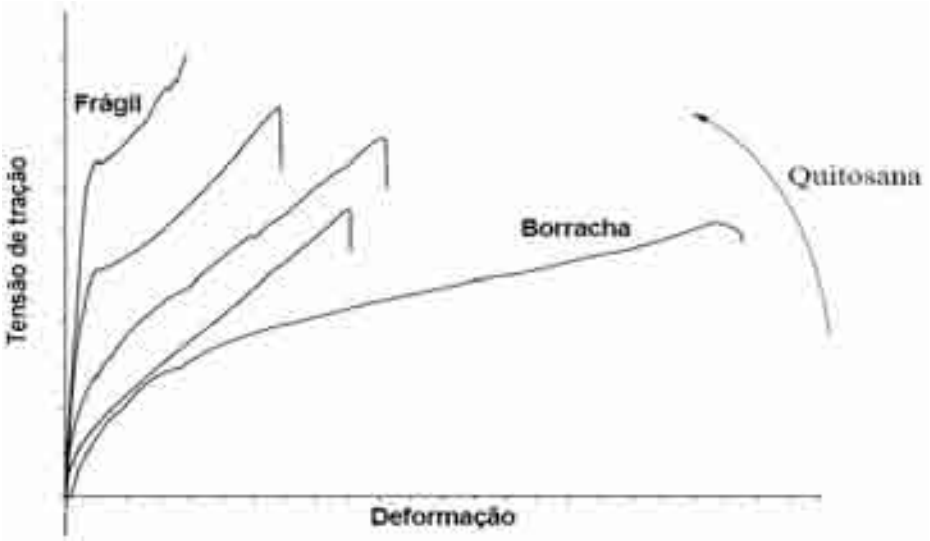
3.9 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA POR TRAÇÃO

A caracterização mecânica por tração é amplamente utilizada para o levantamento de informações básicas sobre a resistência dos materiais. É uma maneira simples e rápida para avaliar o comportamento mecânico. Essa técnica fornece informações importantes a respeito das amostras, onde o ensaio de tração relaciona-se as características dos polímeros através da resposta dos mesmos quando submetidos a diferentes tensões e deformações [90].

As propriedades mecânicas de um polímero podem ser caracterizadas pelo seu comportamento de resposta a aplicação de uma carga. As avaliações das tensões de ruptura e deformações são importantes para a aplicabilidade e seleção dos polímeros, Gráfico 3. A tensão máxima de um polímero é a tensão no ou próxima ao colapso do material.

Os ensaios mecânicos de tração são realizados em corpos de prova que se deseja analisar com dimensões específicas, submetidos às normas técnicas, onde são realizadas de acordo com as características de cada material obtido.

Gráfico 3 - Propriedades mecânicas de um polímero



Fonte: [91]

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

As matérias-primas utilizadas nesse trabalho foram os exoesqueletos de crustáceos: camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*), para extração de quitina, quitosana e produção de membranas, como mostra a Fotografia (1a, 1b e 1c). As mesmas foram adquiridas em feiras, barracas localizadas na praia de Ponta Negra e restaurante local em Natal/RN.

Fotografia 1a - Camarões *Litopenaeus vannamei*

Fonte: Autor

Fotografia 1b - Camarões *Aristeus antennatus*

Fonte:Autor

Fotografia 1c - Caranguejos *Ucides cordatus*

Fonte: Autor

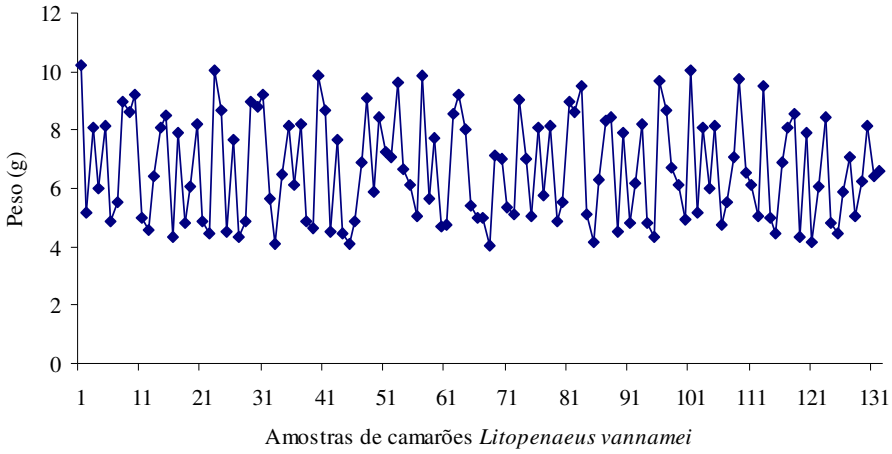
Para obter dados com relação à quantidade de camarões em 1 kg realizou-se algumas medições. Para os camarões *Litopenaeus vannamei,* cerca de 132 amostras foram encontradas e apresentaram comprimentos variando de 75 mm a 130 mm, tendo como comprimento médio

86,12 mm. A Fotografia 2, mostra alguns tamanhos dos camarões *Litopenaeus vannamei* utilizados. Em relação ao peso (carne + casca), os camarões variaram entre 4,34 a 10,21 g, tendo peso médio 6,71 g, Gráfico 4. Quanto ao peso das cascas variaram entre 0,34 a 3,17 g e peso médio 0,956 g, Gráfico 5.

Fotografia 2 - Tamanhos de camarões *Litopenaeus vannamei* utilizados.

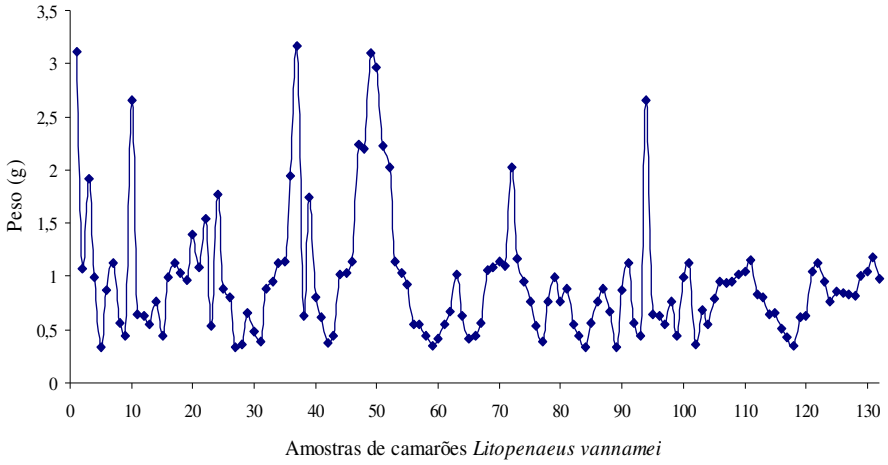
Fonte: Autor

Gráfico 4 - Variabilidade do peso (carne + casca) de camarões *Litopenaeus vannamei.*



Fonte: Autor

Gráfico 5 - Variabilidade do peso (casca) de camarões *Litopenaeus vannamei.*



Fonte: Autor

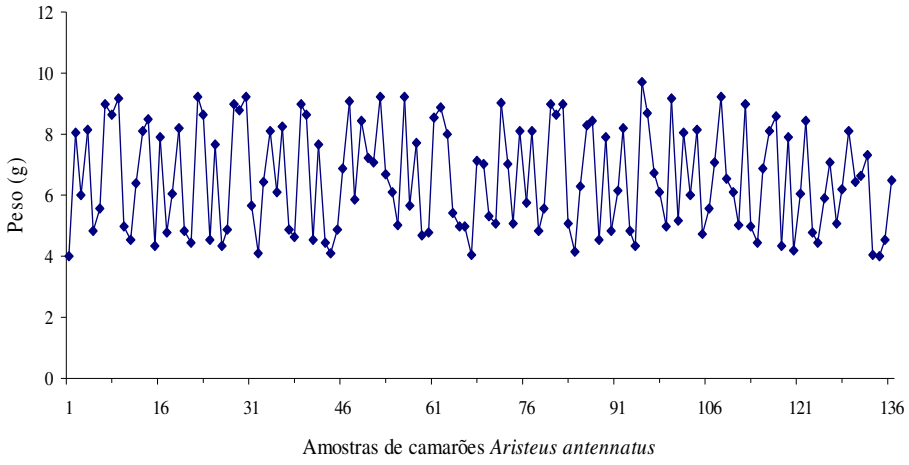
Para os camarões *Aristeus antennatus*, cerca de 136 amostras foram encontradas em 1Kg e apresentaram comprimentos variando de 68 mm a 119 mm, tendo como comprimento médio 85,87 mm. A Fotografia 3, mostra os tamanhos dos camarões *Aristeus antennatus* utilizados. Em relação ao peso (carne + casca), os camarões variaram entre 4,02 a 9,93 g, tendo peso médio 6,55 g, Gráfico 6. Quanto ao peso das cascas variaram entre 0,32 a 3,04 g e peso médio 1,05 g, Gráfico 7

.

Fotografia 3 - Tamanhos de camarões *Aristeus antennatus* utilizados.

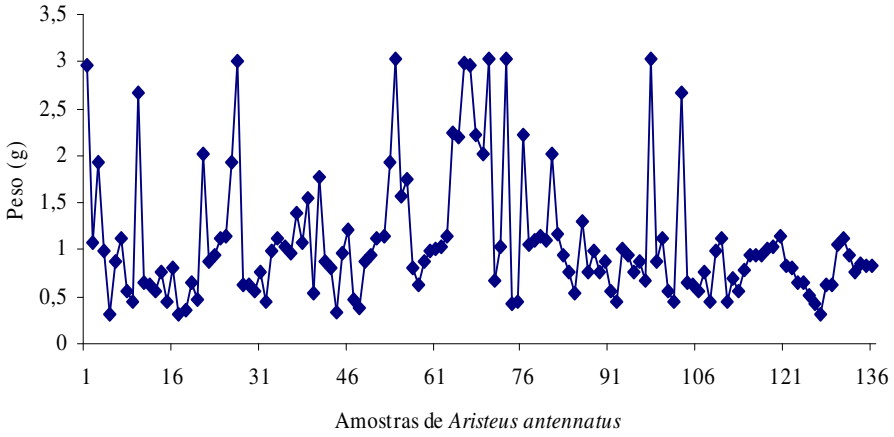
Fonte: Autor

Gráfico 6 - Variabilidade do peso (carne + casca) de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

Gráfico 7 - Variabilidade do peso (casca) de camarões *Aristeus antennatus.*

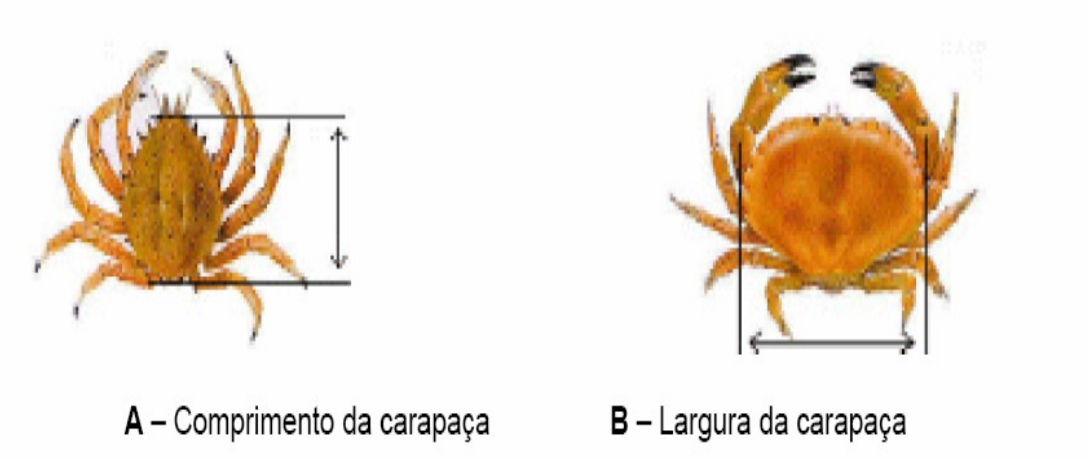


Fonte: Autor

Carapaças de caranguejos *Ucides cordatus* em amostragem de 100 correspondendo a 454 g, tiveram seus respectivos comprimentos e larguras medidos conforme a Figura (5a e 5b). Os mesmos apresentaram comprimentos variando de 44 mm a 55,3 mm, tendo como comprimento médio 50,20 mm, Gráfico 8. Quanto à largura apresentaram variação entre 58,5 mm a 74 mm, tendo largura média de 65,41 mm, Gráfico 9.

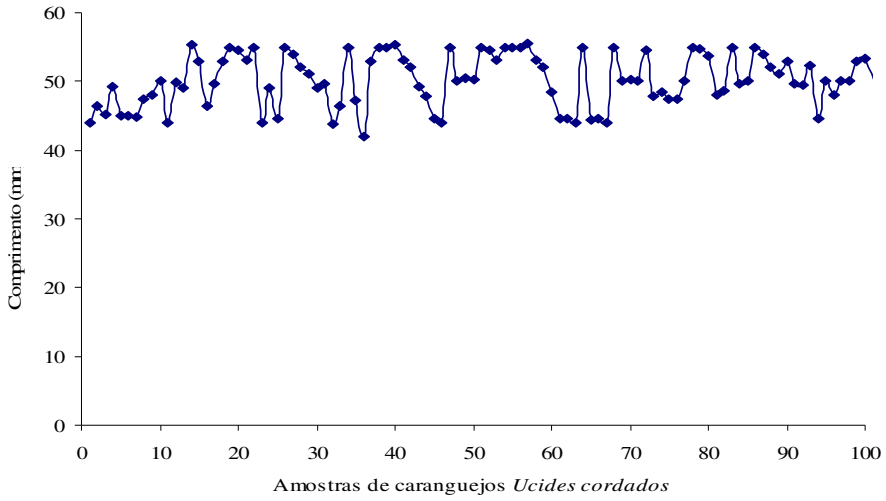
As carapaças dos caranguejos tiveram variação de peso entre 3,72 g a 6,30 g e como peso médio 4,36 g, como pode ser observado no Gráfico 10.

Figura 5a - Medição de comprimentos e b - larguras das carapaças dos caranguejos *Ucides cordatus*.



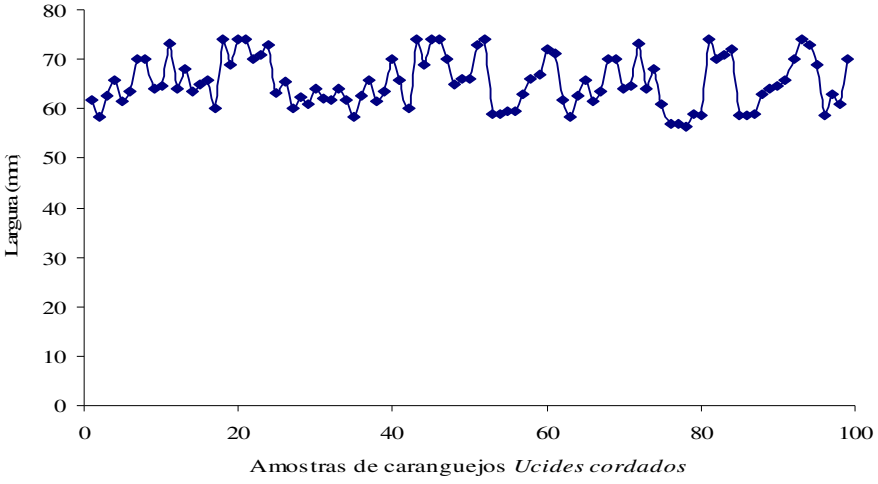
Fonte: [92]

Gráfico 8 - Comprimento das carapaças de caranguejos *Ucides cordatus*.



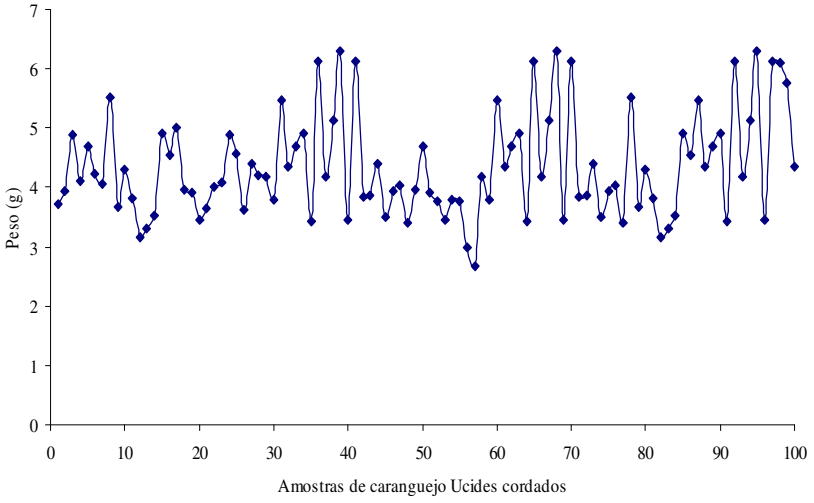
Fonte: Autor

Gráfico 9 - Largura das carapaças de caranguejos *Ucides cordatus*.



Fonte: Autor

Gráfico 10 - Variabilidade do peso das amostras de caranguejos *Ucides cordatus*.



Fonte: Autor

No Quadro 2 encontra-se o total das matérias-primas utilizadas para extração de quitina e quitosana em secagem de estufa a temperatura de 80ºC.

Quadro 2 - Quantidade das matérias-primas usadas para extração de quitina e quitosana.

Matéria - prima	Amostras	Número de repetições (n)	Total	Tempo (h)	T (ºC) secagem
Litopenaeus vannamei	132	3	396	1	80
Aristeus antennatus	136	2	272	1	80
Ucides cordatus	100	2	200	1	80
Total	368	7	868	-	-

Fonte: Autor

Todos reagentes utilizados nessa etapa do trabalho foram de grau analítico para análise (P.A). Os mesmos encontram-se descritos no Quadro 3, com nome, simbologia e procedência.

Quadro 3 - Reagentes utilizados nesse trabalho.

REAGENTES	SIMBOLOGIA	PROCEDÊNCIA
Hidróxido de sódio micropérolas P.A	NaOH	Vetec
Ácido clorídrico P.A	HCl	Quimex
Hipoclorito de sódio P.A	NaOCl	QM
Ácido acético P.A	CH_3COOH	Vetec
Acetona P.A	$(CH_3)_2CO$	Vetec
Ácido trifluoracético P.A	$C_2HF_2O_2$	Vetec
Cloreto de metileno (Diclorometano) P.A	CH_2Cl_2	Vetec

Fonte: Autor

4.2 MÉTODOS

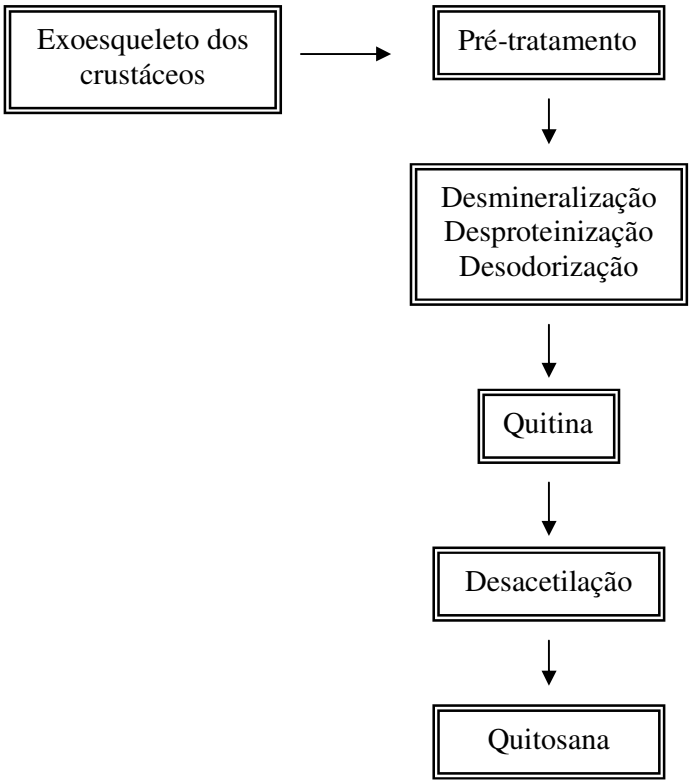
4.2.1 Processo para extração da quitina e quitosana

O processo para a extração de quitina e quitosana a partir de exoesqueletos de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides Cordatus*) foi semelhante ao utilizado por Soares et al., 2003 [93].

A primeira etapa para extração da quitina seguiu as etapas de pré-tratamento. A segunda etapa envolveu os processos de: desmineralização, desproteinização e desodorização ou despigmentação. Na terceira etapa realizou-se o processo de desacetilação e secagem para obtenção da quitosana, como mostra o fluxograma simplificado da síntese de quitina e quitosana, Fluxograma 2.

Taís etapas foram executadas no laboratório de Engenharia têxtil da UFRN/LABTEX. As análises foram realizadas no CTPETRO-INFRA, FINEP/LIEM e CSIR.

Fluxograma 2 - Fluxograma de produção de quitina e quitosana.



Fonte: Autor

Uma das operações preliminares à obtenção de quitina empregada aos resíduos dos crustáceos foi o pré-tratamento: limpeza, separação, secagem, trituração, moagem e peneiramento.

Inicialmente lavou-se as amostras com água corrente, uma a uma, para eliminação de materiais residuais como: carne, ovas, sais, matérias vegetais, orgânicos e outros materiais que eventualmente pudessem acompanhar os resíduos. As amostras de caranguejos foram medidas com auxílio de um paquímetro supertool (Fotografia 4a) e pesadas em uma balança Tecnal (Fotografia 4b e 4c), em seguida secas ao sol por 6 horas. As amostras de camarões também foram medidas (Fotografia 5a) e pesadas (Fotografia 5b).

Em seguida as amostras foram colocadas em estufa Tecnal modelo 394/1 a temperatura de 80º C por 4 horas. Todas as amostras já secas foram trituradas após essa etapa em moinho de facas, (Fotografia 5c) a fim de obter menor granulometria. O material resultante foi peneirado em peneira granulométrica de abertura de 0,297 mm (48 mesh), (Fotografia 5d).

Fotografia 4a - Medida da largura da carapaça de caranguejo *Ucides cordatus*

Fonte: Autor

Fotografia 4b - Peso de carapaça de caranguejo *Ucides cordatus*

Fonte: Autor

Fotografia 4c - Peso das amostras

Fonte: Autor

Fotografia 5a - Medida do exoesqueleto
Litopenaeus vannamei

Fonte: Autor

Fotografia 5b - Peso das amostras

Fonte: Autor

Fotografia 5c - Exoesqueletos de camarões secos, triturados em moinho de facas

Fonte: Autor

Fotografia 5d - Granulométrica
48 mesh

Fonte: Autor

No processo de desmineralização para eliminar carbonatos e fosfatos realizou-se um estudo preliminar do efeito da concentração de HCl nas amostras dos exoesqueletos de camarões e caranguejos, a fim de verificar os perfis das curvas de (TG/DTG) para a escolha da relação na extração do biopolímero e assim obter um processo mais eficiente. Realizou-se três relações: 1:3, 1:6 e 1:10, com ácido clorídrico (HCl) 2,5 % (v/v) para camarões e 7 % (v/v) para caranguejos, como descreve o Quadro 4.

Quadro 4 - Etapa de desmineralização com exoesqueletos de camarões (*Litopenaeus vannamei e Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) nas relações de 1:3, 1:6 e 1:10.

Crustáceos	PROCESSO	PESO (g)	HCl (%)	T (ºC)	TEMPO (h)	RELAÇÃO Sol/Liq		
Camarões	Desmineralização	10	2,5	23	1	1:3	1:6	1:10
Caranguejos	Desmineralização	10	7,0	23	1	1:3	1:6	1:10

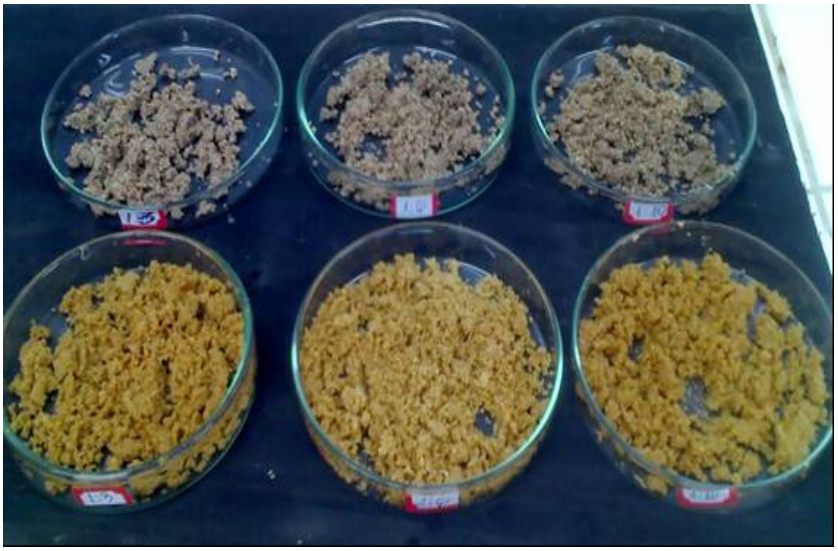
Fonte: Autor

A Fotografia 6, mostra os exoesqueletos de camarões e caranguejos na etapa de desmineralização nas relações de 1:3, 1:6 e 1:10. As amostras após serem lavadas até pH neutro foram filtradas e secas em estufa na temperatura de 80 ºC, por 1h e 25 min, (Fotografia 7). Em seguida foram dessecadas por 30 min até peso constante, (Fotografia 8).

Fotografia 6 - Amostras na etapa de desmineralização com ácido clorídrico (HCl) 2,5% v/v, para camarões e 7,0% v/v para caranguejos.

Fonte: Autor

Fotografia 7 - Amostras de caranguejos e camarões secas em estufa a 80ºC.



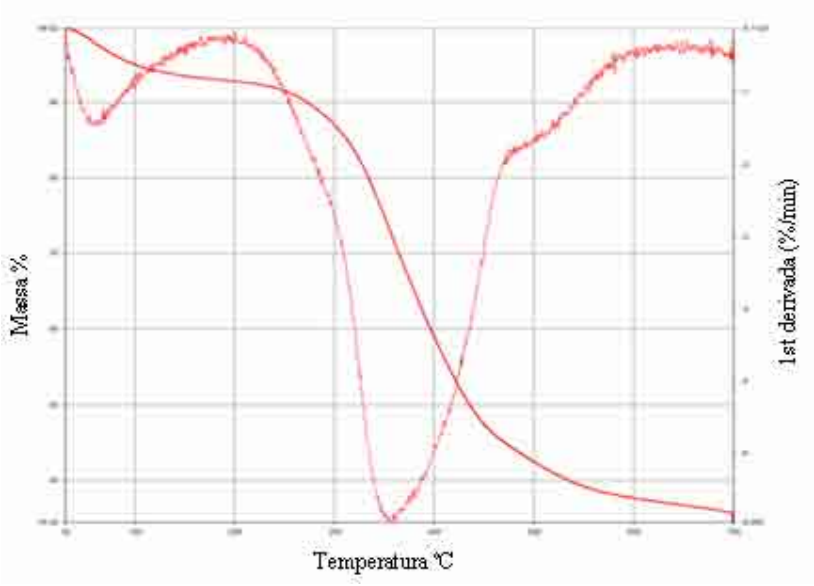
Fonte: Autor

Fotografia 8 - Dessecador utilizado para dessecar as amostras.

Fonte: Autor

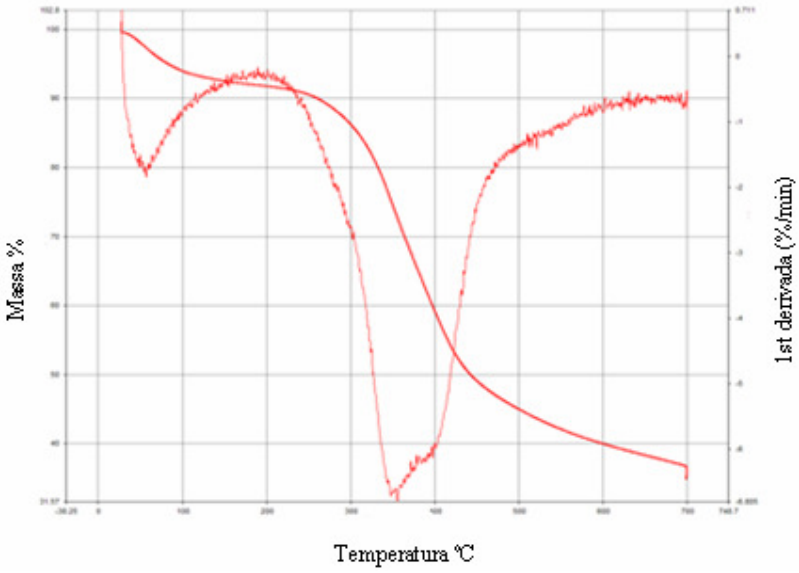
O processo referente à perda do material orgânico para camarões (*Litopenaeus vannamei*) na relação com concentração de 1:3 ocorreu à temperatura de 358,81ºC, (Gráfico 11a). Com a concentração de 1:6 ocorreu à temperatura de 358,79 ºC, (Gráfico 11b) e na relação com concentração de 1:10 ocorreu à temperatura de 364, 94 ºC, (Gráfico 11c).

Gráfico 11a - TG/DTG em desmineralização de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação de HCl 1: 3.



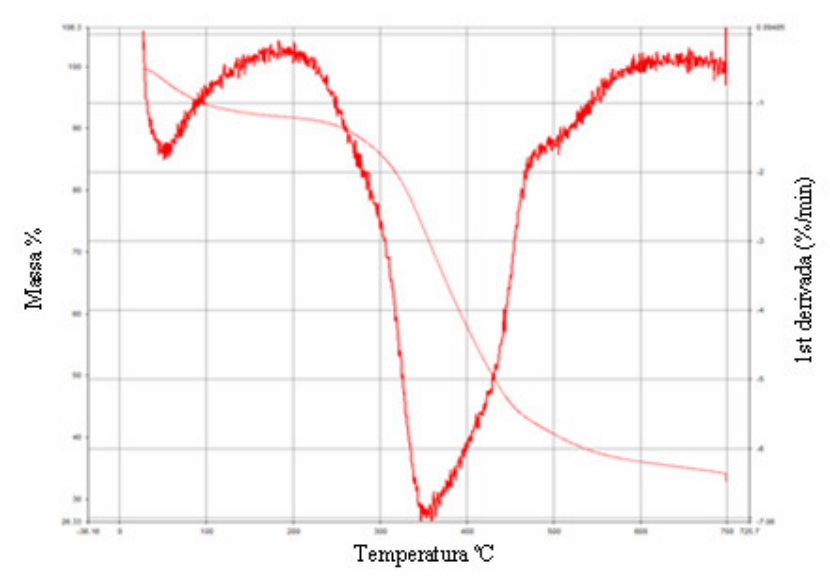
Fonte: Autor

Gráfico 11b - TG/DTG em desmineralização de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação de HCl 1: 6.



Fonte: Autor

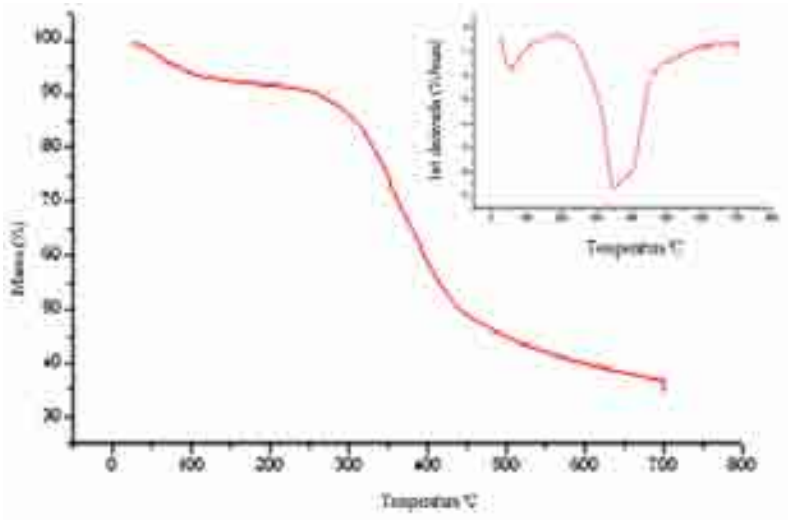
Gráfico 11c - TG/DTG em desmineralização de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação de HCl 1: 10.



Fonte: Autor

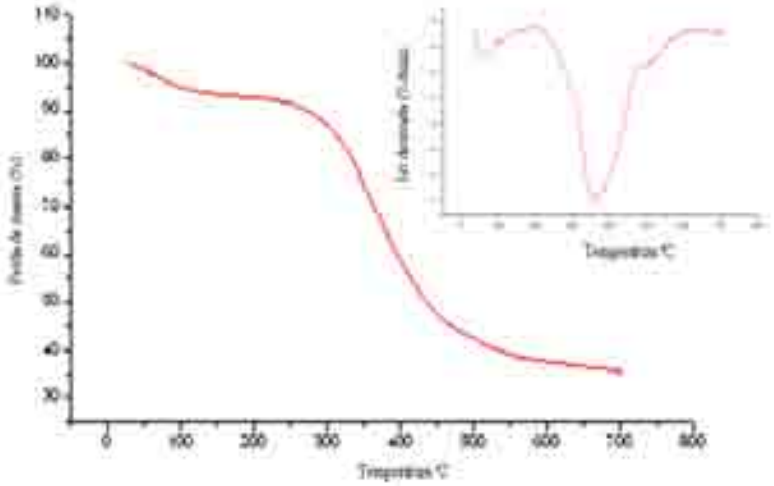
Na desmineralização referente à perda do material orgânico para camarões (*Aristeus antennatus*) com concentração de 1:3 ocorreu à temperatura de 350, 27ºC, (Gráfico 12a). Com a concentração 1:6 ocorreu à temperatura de 350, 42ºC, (Gráfico 12b) e na relação com concentração de 1:10 ocorreu à temperatura 367, 93ºC, (Gráfico 12c).

Gráfico 12a - TG/DTG em desmineralização de camarões *Aristeus antennatus* na relação de HCl 1:3.



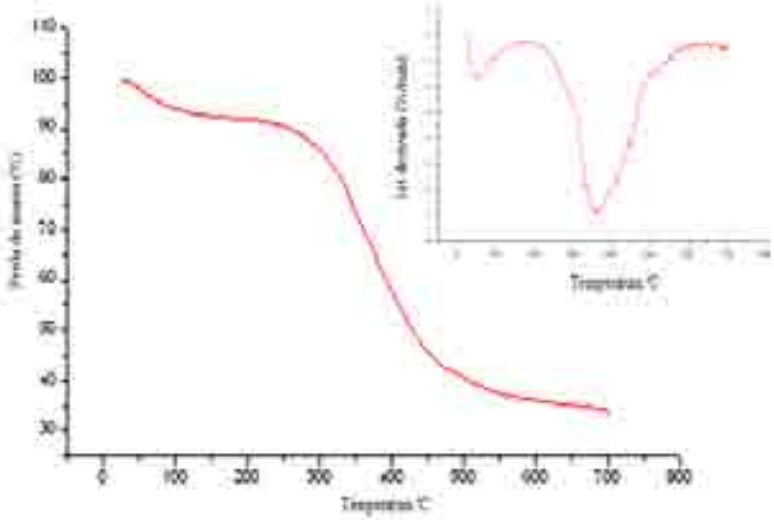
Fonte: Autor

Gráfico 12b - TG/DTG em desmineralização de camarões *Aristeus antennatus* na relação de HCl 1:6.



Fonte: Autor

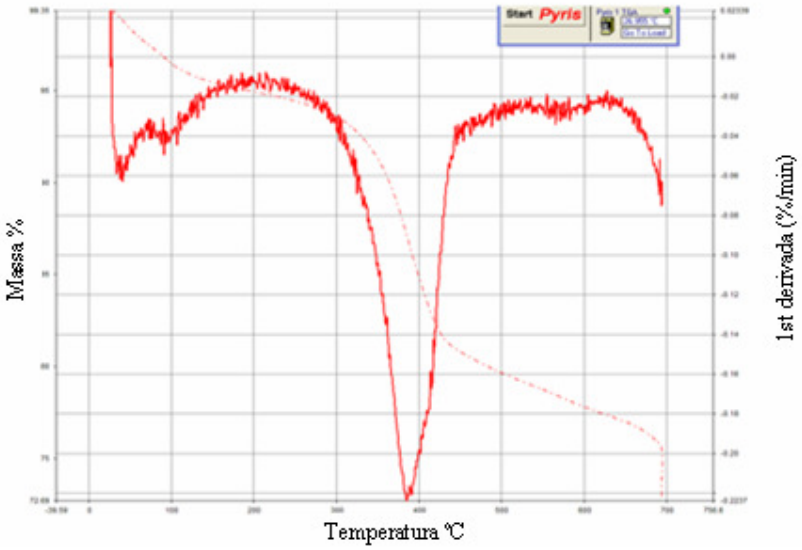
Gráfico 12c - TG/DTG em desmineralização de camarões *Aristeus antennatus* na relação de HCl 1:10.



Fonte: Autor

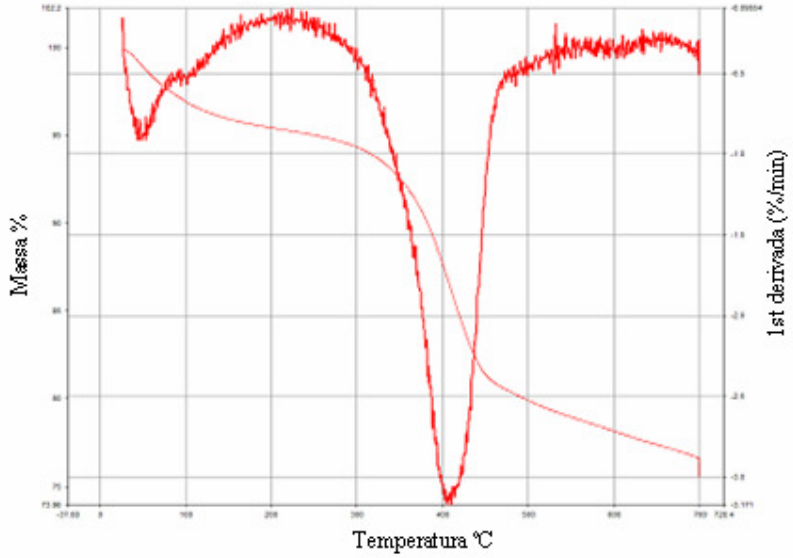
O processo de desmineralização referente à perda do material orgânico para caranguejos (*Ucides cordatus*) com concentração de 1:3 ocorreu à temperatura de 398,69 ºC, (Gráfico 13a). Com a concentração de 1:6 ocorreu à temperatura de 404,67 ºC, (Gráfico 13b) e na relação com concentração de 1:10 ocorreu à temperatura de 417,23ºC, (Gráfico 13c).

Gráfico 13a - TG/DTG em desmineralização de caranguejos *Ucides cordatus* na relação de HCl 1:3.



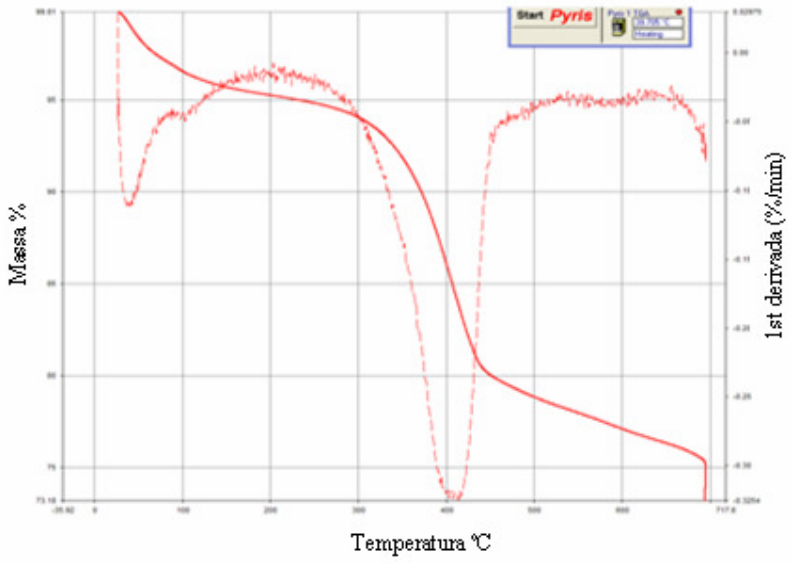
Fonte: Autor

Gráfico 13b - TG/DTG em desmineralização de caranguejos *Ucides cordatus* na relação de HCl 1:6.



Fonte: Autor

Gráfico 13c - TG/DTG em desmineralização de caranguejos *Ucides cordatus* na relação de HCl 1:10.



Fonte: Autor

No Quadro 5 estão os resultados obtidos no processo de desmineralização das amostras de camarões e caranguejos.

Quadro 5 - Resultados obtidos no processo de desmineralização para camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*).

Relação Sol/Liq	Processo	T (ºC) de degradação	T (ºC) de degradação	T (ºC) de degradação
		Litopenaeus vannamei	*Aristeus antennatus*	*Ucides cordatus*
1:3	Desmineralização	358,81	350,27	398,69
1:6	Desmineralização	358,79	350,42	404,67
1:10	Desmineralização	364,94	367,93	417,23

Fonte: Autor

Observou-se que os perfis das curvas termogravimétricas (TG/DTG) no processo de desmineralização para as amostras analisadas tiveram comportamentos semelhantes. De acordo com os resultados obtidos optou-se por utilizar a concentração 1:6 de HCl no processo de desmineralização para camarões e caranguejos, evitando assim, condições rigorosas em concentrações maiores, pois essas devem ser evitadas por provocar degradações das

propriedades macromoleculares da quitina a degradação do polímero [19]. A relação com concentração de 1:3 poderia ser utilizada, embora tendo apresentado menor estabilidade térmica quando comparada à temperatura de degradação da concentração de 1:6 de HCl.

A etapa de desproteinização teve a função de reduzir o teor de nitrogênio protéico e usou-se a solução de NaOH 5% (p/v) sob agitação e lavagem até pH neutro. Na etapa de despigmentação ou desodorização a matéria-prima desproteinizada foi colocada sob agitação e adicionou-se a solução de NaOCl 0,36% (v/v). O objetivo dessa operação foi reduzir o odor e retirar os pigmentos. Realizou-se lavagem com água para retirar o NaOCl nas amostras despigmentadas até pH neutro, em seguida realizou-se a filtragem. Após ocorreu à secagem em estufa (Fotografia 9) da quitina úmida à temperatura de 80ºC por quatro horas.

Fotografia 9 - Quitina de camarão e caranguejo em estufa para secagem.

Fonte: Autor

No processo de desacetilação da quitina, para obter a quitosana, utilizou-se a solução de NaOH 45°Bé (42,3%). A reação ocorreu sob agitação e aquecimento, por duas horas. Ao término do tempo da reação foi realizada a lavagem com água retirando o excesso do reagente, verificada por meio da medição até pH neutro. Adicionou-se a quitosana em solução de 1% ácido acético, até pH aproximadamente 6,0. Precipitou-se em soluções alcalinas de NaOH até pH 12,5 em seguida neutralizou-se com ácido acético até pH 7,0. A secagem foi realizada em estufa a uma temperatura de 80 ºC e após dessecada até peso constante.

4.2.2 Processo para preparação das membranas de quitosana

Para a formação das membranas preparou-se soluções de 5% e 7% (m/v) de quitosana em mistura de solventes (TFA/DCM) 70:30 e 100:00 (v/v), Fotografias (10a e 10b). Também trabalhou-se com soluções de 7 % de quitosana em 60 e 90 % de CH_3COOH, agitada por 12 hs em temperatura ambiente, Fotografias (10c e 10d). As soluções foram preparadas dissolvendo a massa exata de polímero no solvente ou mistura de solventes, sob agitação. Todas as soluções foram utilizadas num período de tempo máximo de duas horas após dissolução completa do polímero.

Fotografia 10a - Solução (TFA/DCM) 70:30

Fonte: Autor

Fotografia 10b - Solução (TFA/DCM) 100:00

Fonte: Autor

Fotografia 10c - Soluções 60% de CH_3COOH

Fonte: Autor

Fotografia 10d - Soluções 90% de CH_3COOH

Fonte: Autor

No Quadro 6 encontra-se as amostras com soluções e concentrações de quitosana utilizadas para formação das membranas.

Quadro 6 - Amostras utilizadas com as soluções e concentrações de quitosana.

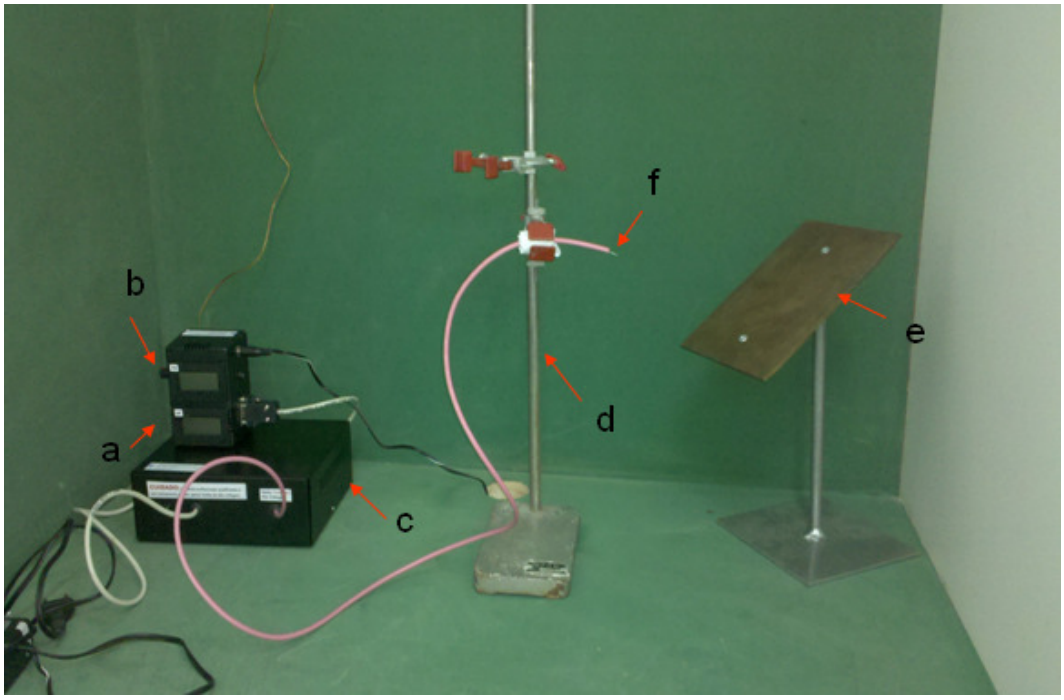
Amostras	Quitosana (m/v)	Soluções (v/v)	
		TFA/DCM	CH_3COOH
Litopenaeus vannamei, Aristeus antennatus e *Ucides cordatus*	5%	70:30	-
	7%	100:00	60 e 90 %

Fonte: Autor

4.2.3 Processo de eletrofiação para formação de membranas

O processo de eletrofiação foi realizado a temperatura de 23ºC e umidade 49%. A montagem do aparato para fabricação das membranas de quitosana constituiu de tubo capilar, uma fonte de alta tensão e um coletor, como mostra a Fotografia 11.

Fotografia 11 - Aparato de eletrofiação com suporte para o tubo capilar, coletor e fonte.



Fonte: Autor

O Tubo capilar utilizado para formação das membranas eletrofiadas foi à pipeta de Pasteur de diâmetro 1,2 mm (Fotografia 12a) e o coletor utilizado no processo de eletrofiação foi revestido em papel de alumínio, (Fotografia 12b).

Fotografia 12a - Tubo capilar (pipeta de Pasteur)

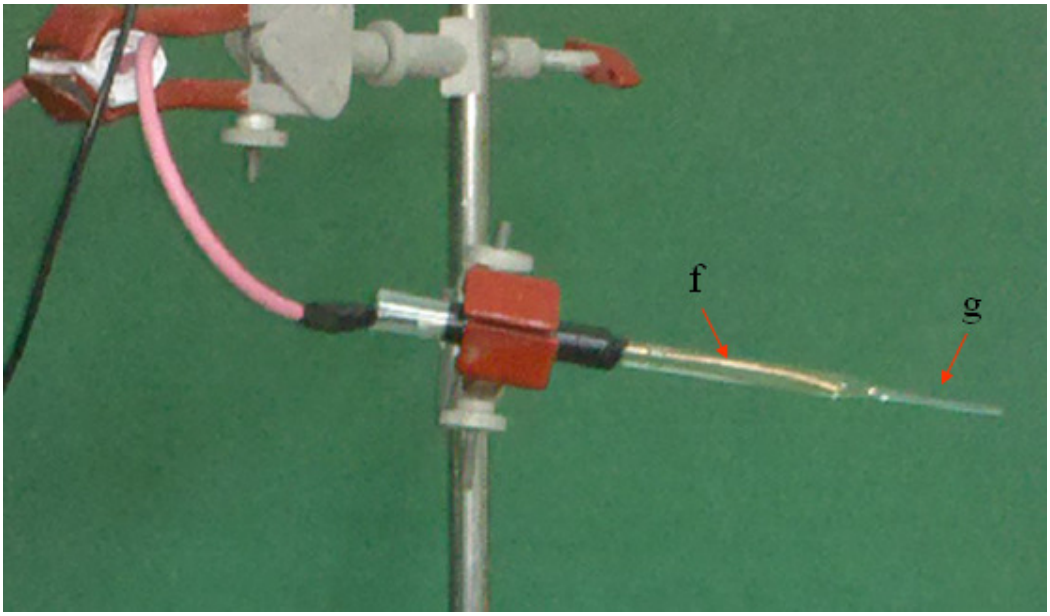
Fonte: Autor

Fotografia 12b - Coletor

Fonte: Autor

Na Fotografia 13 encontra-se pipeta de Pasteur anexada ao suporte e no interior da mesma foi inserido o eletrodo utilizado para produzir as membranas eletrofiadas.

Fotografia 13 - Tubo capilar e elétrodo.



Fonte: Autor

No Quadro 7 encontra-se as descrições dos materiais que compõem o aparato de eletrofiação, com suas características

Quadro 7 - Descrição dos materiais do aparato de eletrofiação.

Descrição	Material	Características
a. Botão Liga/desliga	-	-
b. Tensão	-	kV
c. Fonte	-	30 kV
d. Suporte para capilar	Ferro	17 cm
e. Coletor	Cobre	15 x 20 cm
f. Elétrodo	Cobre	-
g. Pipeta de Pasteur	vidro	1,2 mm

Fonte: Autor

As condições operacionais de eletrofiação efetuaram-se sob observações quanto à tensão aplicada, a distância capilar-coletor e o fluxo da solução, os quais foram favoráveis à formação das membranas, como mostra o Quadro 8. A escolha desses parâmetros foi sempre observada de acordo com o polímero/solvente usado no trabalho para a formação das membranas TFA/DCM e o CH_3COOH.

A escolha da distância entre o capilar e o coletor foi feita com base em observações visuais e imagens microscópicas das membranas obtidas, com auxílio do MEV.

A distância capilar-coletor usada no trabalho foi de 5 e 10 cm, a de 5 cm levou a perda da solução polimérica por deposição fora do coletor. O fluxo da solução durante o processo de eletrofiação foi de 0,4 mL/min. Aplicou-se valores de tensões de 20, 25 e 30 kV para formação das membranas. Valores inferiores a 20 kV não contribuíram para formação de membranas.

Quadro 8 - Parâmetros usados no trabalho.

Membranas	Distância capilar-coletor (cm)	Tensão (kV)	Fluxo (mL/min)
Litopenaeus vannamei Aristeus antennatus e *Ucides cordatus*	5	20	0,4
	10	25	0,4
	10	30	0,4

Fonte: Autor

As soluções poliméricas foram transferidas de uma seringa de 5 ml para o capilar (pipeta de Pasteur). Após a solução polimérica ser transferida da seringa para a pipeta de Pasteur, ligou-se a fonte, selecionou-se a tensão na qual operou e a solução polimérica escoou até formar uma gota na ponta do capilar. Quando a tensão foi aplicada entre o capilar e o coletor, a gota adquiriu a forma de um cone, formando uma estrutura denominada de cone de Taylor. Após ocorreu a formação de um jato aleatório da solução polimérica que se dirigiu para o coletor (revestido por papel de alumínio). Durante a trajetória deste jato o solvente evaporou-se formando as membranas por eletrofiação que foram recolhidas no coletor.

Em seguida as membranas foram cuidadosamente secas em estufa, a 50ºC durante 4hs, para completa evaporação do solvente. Depois de retiradas da estufa as membranas de quitosana formadas ficaram imersas em uma solução aquosa de NaOH, para melhor hidratação das mesmas. Em seguida as mesmas foram lavadas com água destilada em abundâncias para remoção dos resíduos e foram secas em temperatura ambiente.

4.2.4 Caracterização de Quitina, Quitosana e Membranas

Análises morfológicas das amostras foram realizadas com uso de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raios-X (DRX). As propriedades térmicas foram realizadas por análise Termogravimétrica (TG), Termogravimetria Derivada (DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Também foi realizado análise por Espectroscopia na Região de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e ensaio mecânico por tração.

4.2.4.1 Cálculo de rendimento percentual de quitina e quitosana

A partir da massa inicial dos resíduos de camarões e caranguejos pesou-se os materiais sólidos obtidos (quitina e quitosana) em balança analítica Tecnal e calculou-se a percentagem de rendimento no processo obtido.

4.2.4.2 Análise morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras de quitina e quitosana em forma de pó e em forma de membranas foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura. As análises das microestruturas das amostras de quitina, quitosana e membranas foram realizadas em um microscópio Philips XL 30 ESEM.

4.2.4.3 Análise por Difração de Raios-X (DRX)

As análises por Difração de Raios-X foram realizadas em Difratômetro Universal de raios-X, modelo Shimadzu XRD-6000, com radiação de Cu, com potência de 30 kV e corrente de 30 mA. As amostras foram submetidas à difratometria de raios-X, com varredura angular 2θ de 10 a 80º.

A partir dos dois picos de maior intensidade da difratometria de raios-X desse material foi determinado os índices de cristalinidade (I_{CR}). O índice de cristalinidade pôde ser determinado com o emprego da Eq (1) [94].

$$I_{CR} = \frac{I_C - I_A}{I_C} \times 100 \qquad (1)$$

Sendo: I_C as Intensidades dos sinais das regiões cristalinas ($2\theta \approx 20º$) e I_A Intensidade dos sinais amorfos ($2\theta \approx 10$ a 13º), respectivamente.

4.2.4.4 Determinação do Grau de desacetilação (GD)

O grau de desacetilação obtido definiu o número de grupos amino percentualmente relacionados aos grupos amida da cadeia polimérica da quitosana.

Diante da rapidez e eficiência, disponibilidade de equipamentos, facilidade de operação, dentre outros, a Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi o método escolhido neste trabalho para determinação do grau de desacetilação (GD).

Esse parâmetro define se o polímero é quitina ou quitosana. Arbitrariamente, quando o grau de desacetilacão é (GD > 60%) o polímero é definido como quitosana [31, 30].

O grau de desacetilação influencia na solubilidade da quitosana, pois quanto maior a quantidade dos grupos amino, maior é a repulsão eletrostática entre as cadeias e, consequentemente, maior é a solvatacão em água.

Os valores de grau de desacetilação (GD) foram obtidos de acordo com a equação 2.

$$GD = 97{,}67 - [26{,}486\ (A_{1655} / A_{3450})] \qquad (2)$$

Onde: A_{1655} é atribuído à banda carbonila.

A_{3450} é atribuído à banda amida

4.2.4.5 Análise Térmica (TG/DTG)

As amostras de quitina e quitosana foram caracterizadas por análise térmica (TG e DTG). As curvas Termogravimétricas (TG) e curvas de Termogravimetria Derivada (DTG) foram obtidas com razão de aquecimento de 10ºC min^{-1} sob atmosfera dinâmica de ar, no intervalo de temperatura de 25-700ºC com amostras de 5 mg.

As curvas de TG das amostras foram obtidas para verificar o perfil da decomposição térmica e 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.

4.2.4.6 Calorimetria Exploratória Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos biopolímeros foram realizadas com o objetivo de verificar o processo de decomposição, verificar o perfil das curvas endotérmicas e exotérmicas obtidas pelas amostras. As curvas de DSC das amostras de quitina e quitosana, como as membranas de quitosana foram analisadas sob fluxo de nitrogênio de 50 mL/min^{-1}, massa das amostras para análise foram cerca de 5 mg, com razão de aquecimento constante de 10ºC min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de ar, no intervalo de temperatura de 0-500ºC.

4.2.4.7 Análise por Espectroscopia de Infravermelho e Transformada de Fourier (FTIR)

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.

Utilizou-se um espectrofotômetro Perkin Elmer FTIR Spectrum 1000 ASCII, através da resolução de 4 $cm-^{1}$.

4.2.4.8 Aspectos visuais das membranas de quitosana

Pode-se verificar o aspecto visual das membranas de quitosana obtidas com soluções de (TFA/DCM) e CH_3COOH.

4.2.4.9 Caracterização mecânica

Para caracterização mecânica por tração de cada membrana de quitosana foram testadas amostras para maior representatividade dos dados obtidos. Os ensaios de tração foram submetidos à norma ASTM D882 utilizando velocidade de 5 mm/min. As membranas foram analisadas em forma retangular de 50 x 10 mm em cortes aleatórios e a espessura das amostras variou de 100 μm a 600 μm.. Para cada membrana de quitosana foram obtidos valores médios de 6 amostras.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CÁLCULO DE RENDIMENTO PERCENTUAL DE QUITINA E QUITOSANA

O percentual de rendimento foi calculado sobre a concentração da massa inicial dos exoesqueletos de camarões e caranguejos. O rendimento da quitina apresentado para camarões (*Litopenaeus vannamei*) foi de 51,25%, para camarões (*Aristeus antennatus*) foi 50,42 % e para os caranguejos (*Ucides cordatus*) foi 53,93%.

No Quadro 9 encontra-se o percentual de rendimento para a extração de quitina e quitosana.

Quadro 9 - Percentual de rendimento de quitina e quitosana

Etapas	Massa (g)			Rendimento (%)		
	Litopenaeus vannamei	*Aristeus antennatus*	*Ucides cordatus*	*Litopenaeus vannamei*	*Aristeus antennatus*	*Ucides cordatus*
Matéria-prima	320	238	840	-	-	-
Quitina	164	120	453	51,25	50,42	53,93
Quitosana	68,21	50	310	21,31	21,00	37

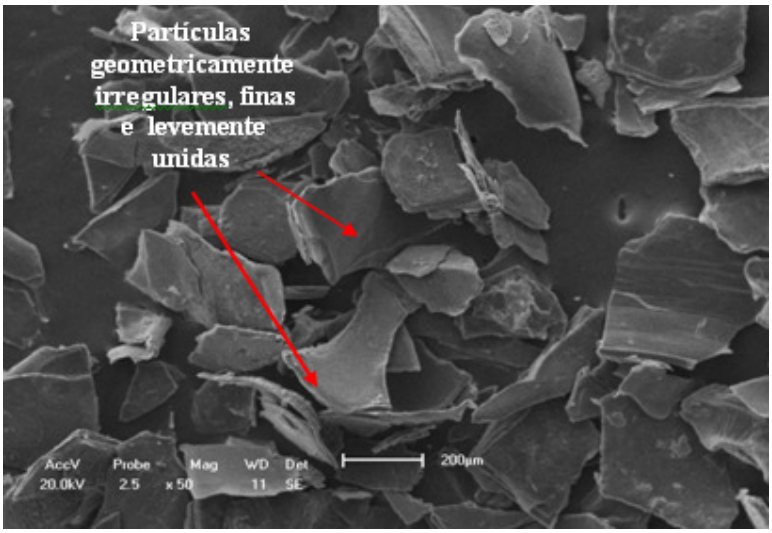
Fonte: Autor

A reação de desacetilação de quitina é mais agressiva devido à alta alcalinidade e temperatura empregada. O resultado do rendimento percentual da quitosana nessa etapa para camarões *Litopenaeus vannamei* foi de 21,31%, camarões *Aristeus antennatus* foi 21% e para caranguejos *Ucides cordatus* foi 37%. Percebeu-se uma redução em massa na produção de quitosana, provavelmente devido a retirada do grupo acetil da quitina [95]. Os resultados apresentados foram semelhantes aos encontrados na literatura [95].

5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

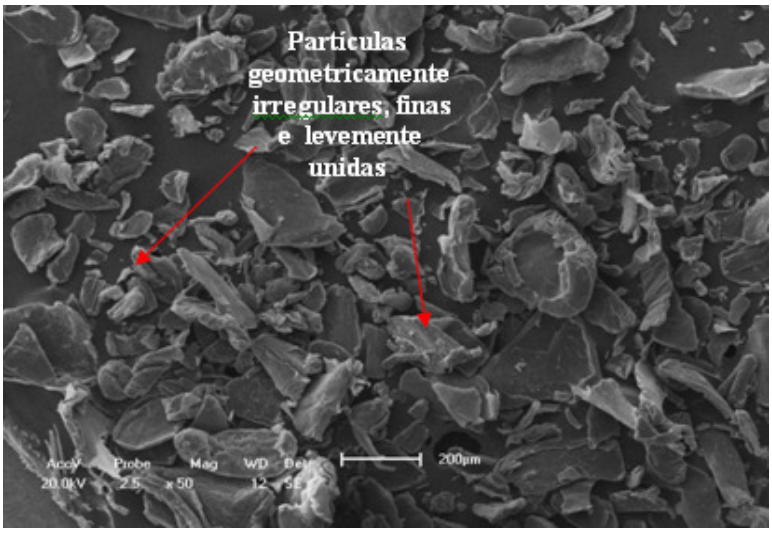
As características morfológicas dos sólidos estudados (quitina e quitosana) de *Litopenaeus vannamei* mostraram resultados de estruturas similares com aspectos de várias partículas geometricamente irregulares, finas e levemente unidas e ainda apresentam uma superfície heterogênea. Como pode ser observado nas micrografias de camarões *Litopenaeus vannamei*, (Imagens 1a e 1b).

Imagem 1a - Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*.



Fonte: Autor

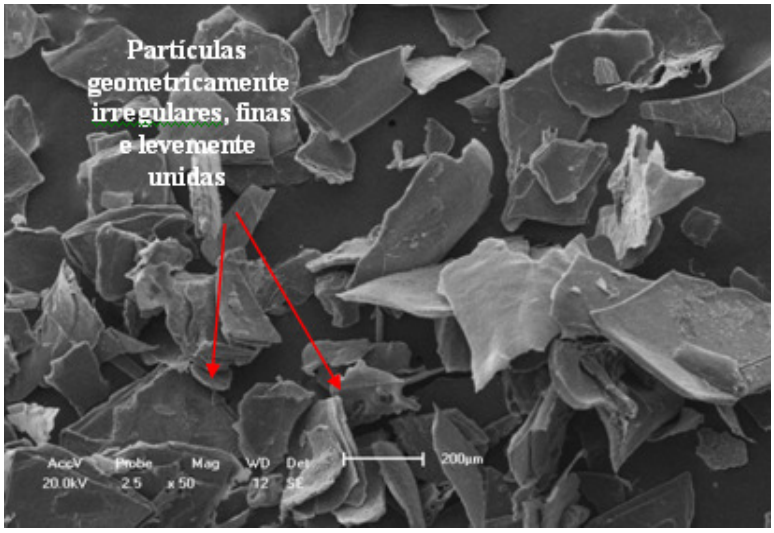
Imagem 1b.- Micrografia de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*



Fonte: Autor

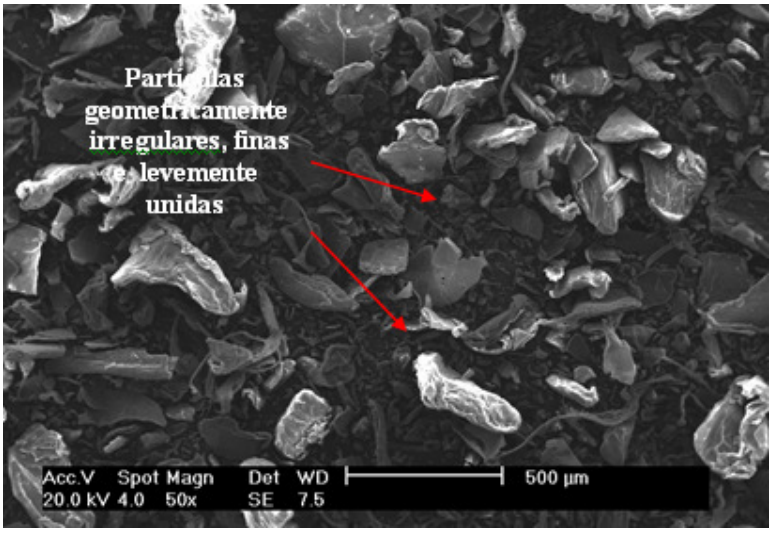
As micrografias de quitina e quitosana dos camarões *Aristeus antennatus* mostraram características morfológicas similares as encontrados em quitina e quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei,* (Imagens 2a e 2b).

Imagem 2a - Micrografia da quitina de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

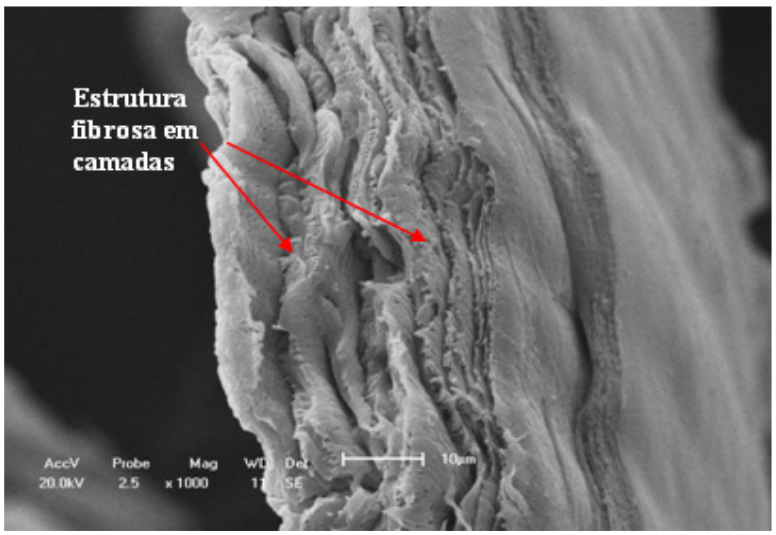
Imagem 2b - Micrografia da quitosana de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

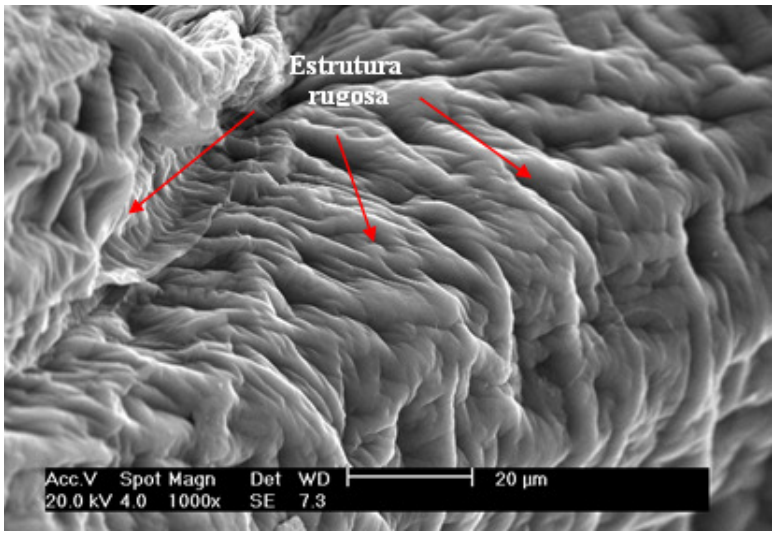
As micrografias de quitina e quitosana dos camarões *Litopenaeus vannamei* em análise mostraram ainda morfologias de superfícies claramente dispostas na estrutura rugosas e fibrosas em camadas, como observou na (Imagens 3a e 3b).

Imagem 3a - Micrografia de quitina camarões *Litopenaeus vannamei*.



Fonte: Autor

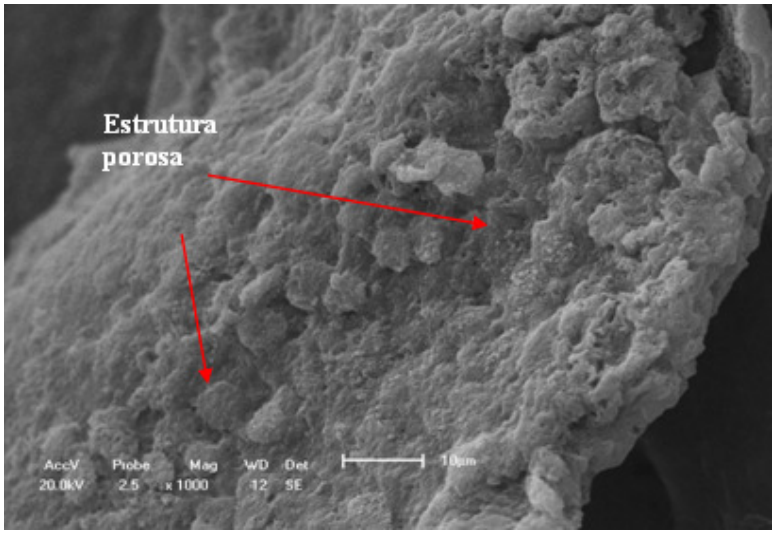
Imagem 3b - Micrografia de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*



Fonte: Autor

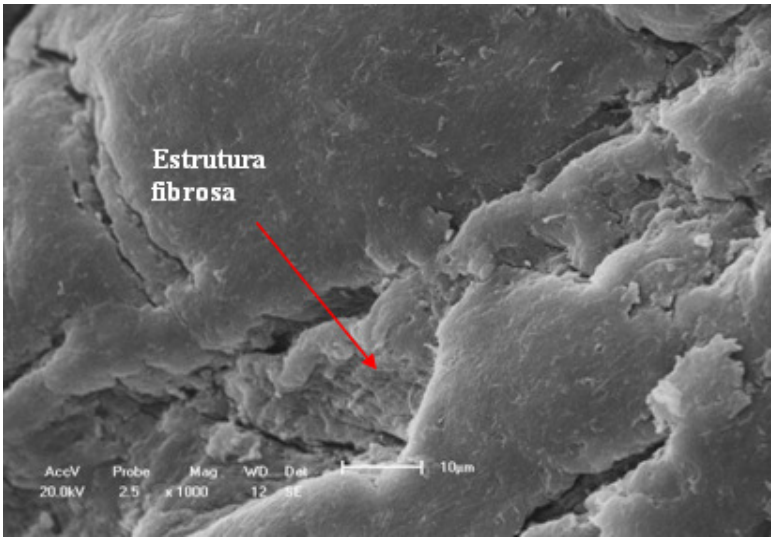
Na micrografia da quitina de camarões *Aristeus antennatus* verificou-se o aspecto poroso e na micrografia da quitosana apresentou aspecto fibroso, (Imagens 4a e 4b).

Imagem 4a - Micrografia da quitina e quitosana de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

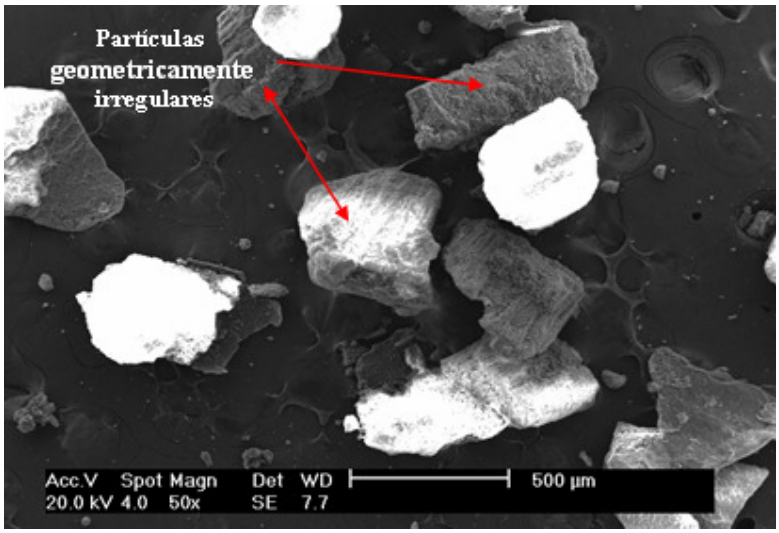
Imagem 4b - Micrografia da quitina e quitosana de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

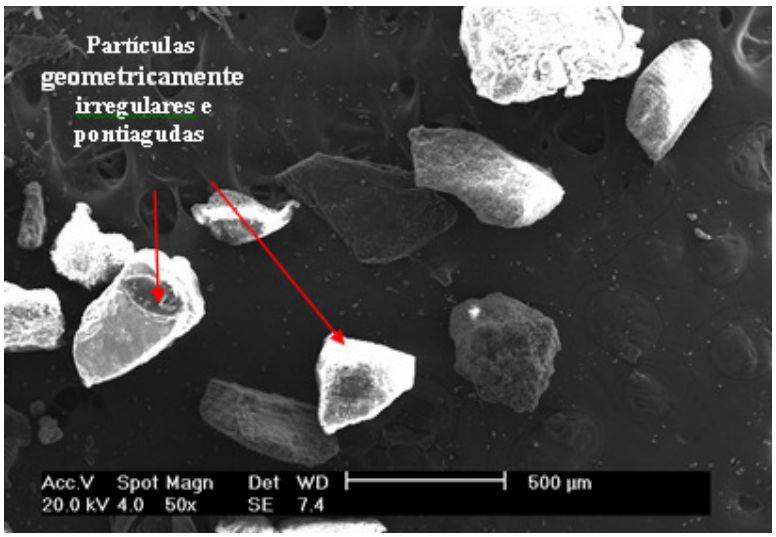
As características morfológicas da quitina dos caranguejos *Ucides cordatus* apresentaram também estruturas com várias partículas geometricamente irregulares, porém mais espessas, com características mais porosas, comparadas às apresentadas nas micrografias de quitina de camarões. Além disso, apresentaram-se levemente unidas e superfície heterogênea. A micrografia da quitosana apresentou estruturas similares, diferenciadas nas suas partículas geometricamente irregulares com formato mais pontiagudos, (Imagens 5a e 5b).

Imagem 5a - Micrografia de quitina e quitosana de caranguejo *Ucides cordatus.*



Fonte: Autor

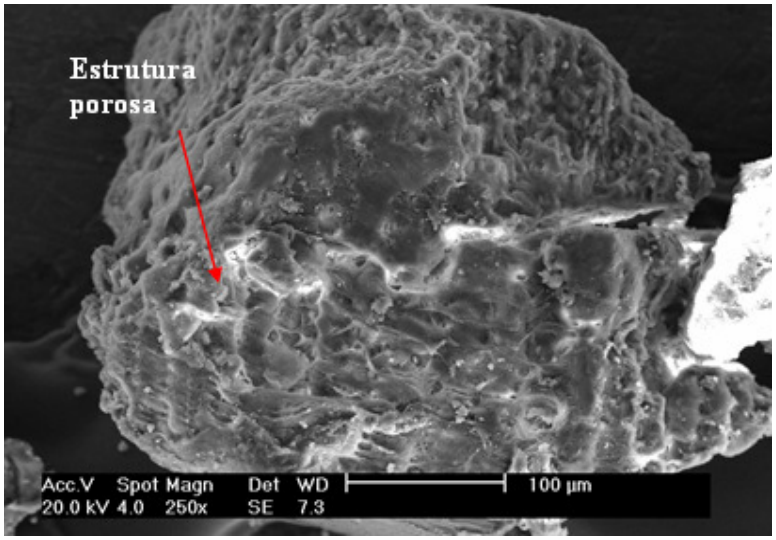
Imagem 5b - Micrografia de quitina e quitosana de caranguejo *Ucides cordatus.*



Fonte: Autor

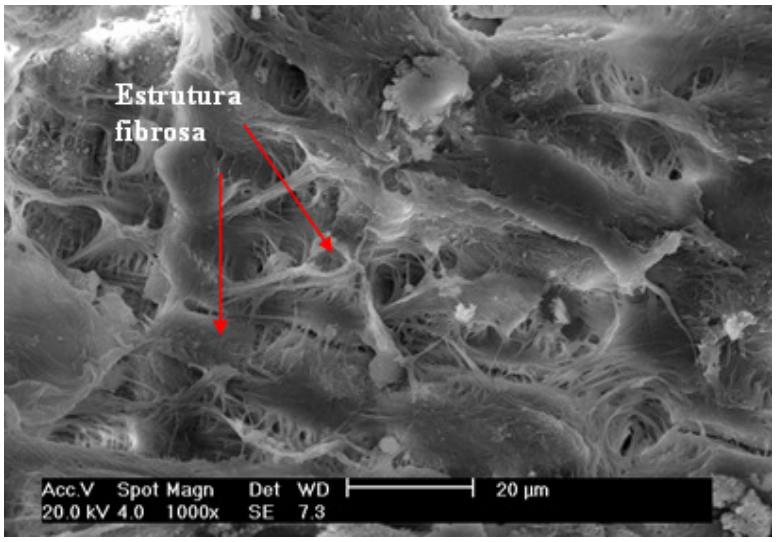
Percebeu-se que as micrografias da quitina e quitosana de caranguejos *Ucides cordatus* apresentaram-se mais porosas e fibrosas, (Imagens 6a e 6b) comparadas com as micrografias de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*).

Imagem 6a - Micrografia de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*.



Fonte: Autor

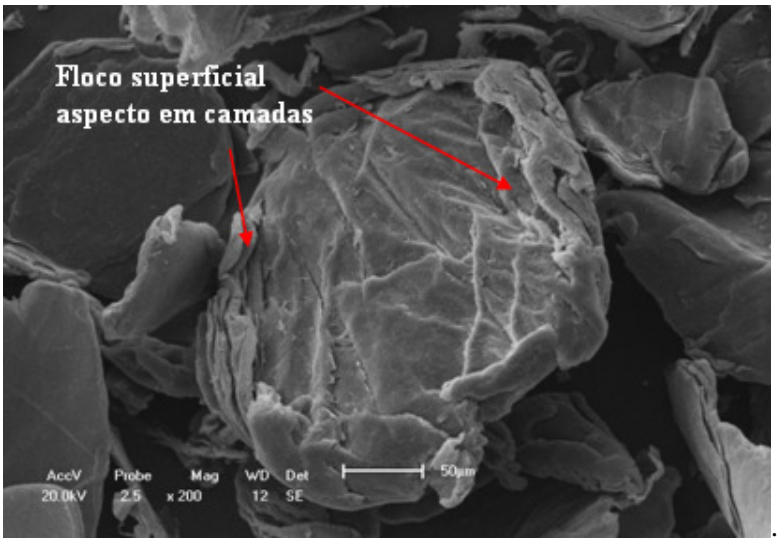
Imagem 6b - Micrografia de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*.



Fonte: Autor

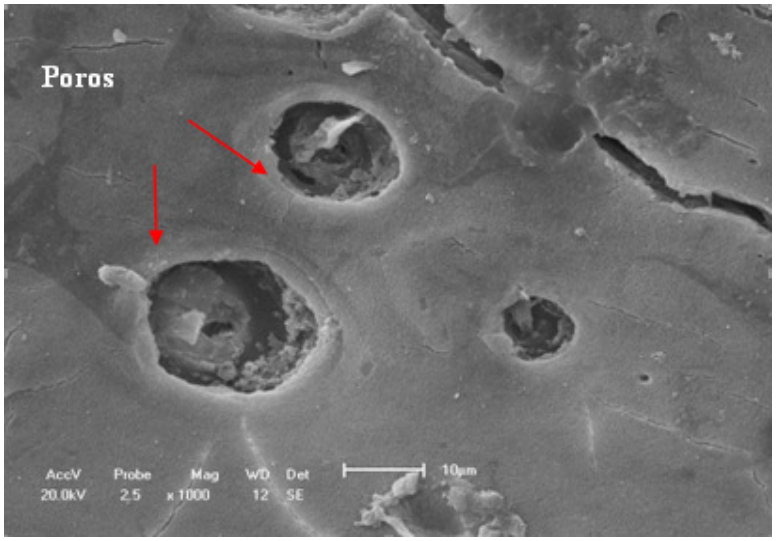
Na micrografia de quitosana de camarões *Litopenaeus Vannamei* pode-se observar o aspecto superficial em camadas de um floco de quitosana, bem como alguns poros podendo ser devido a concentrações de NaOH, (Imagens 7a e 7b).

Imagem 7a - Micrografia do floco de quitosana de camarões *Litopenaeus Vannamei*.



Fonte: Autor

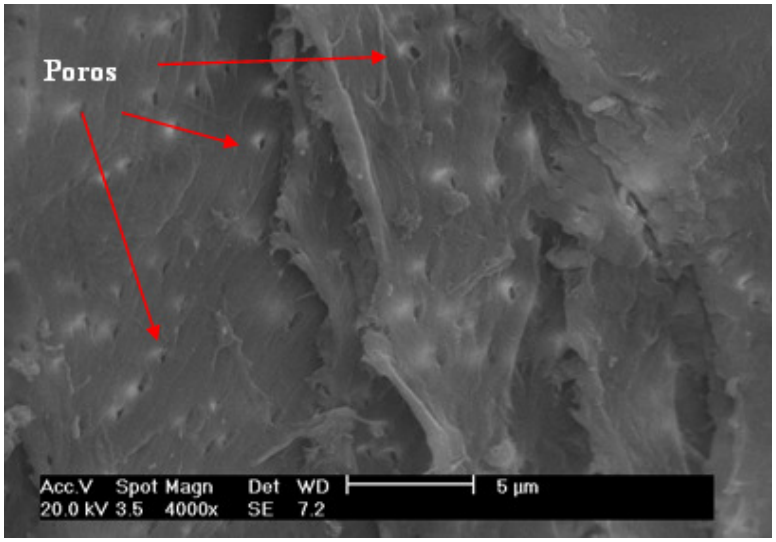
Imagem 7b - Micrografia de quitosana de camarões *Litopenaeus Vannamei*.



Fonte: Autor

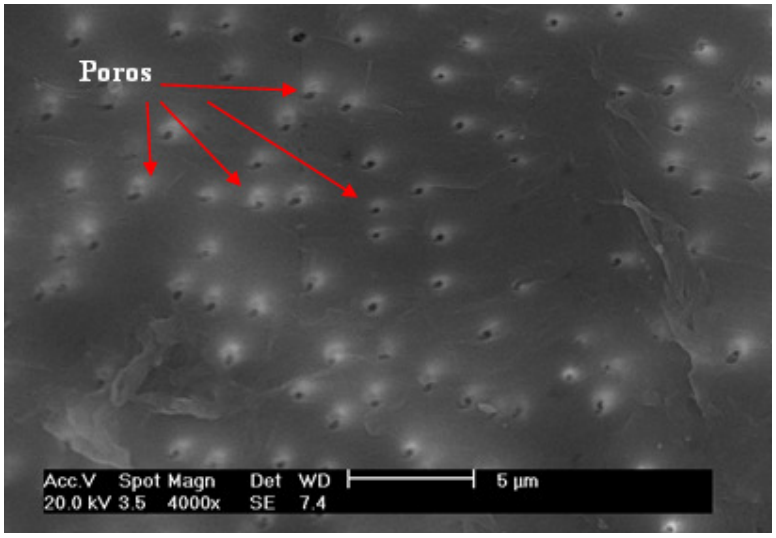
Na Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*.observou-se vários poros acentuados possivelmente ocorridos na etapa de desodorização ou despigmentação, (Imagens 8a e 8b).

Imagem 8a - Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*.



Fonte: Autor

Imagem 8b - Micrografia de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*



Fonte: Autor

5.3 ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

5.3.1 Índice de cristalinidade e grau de desacetilação

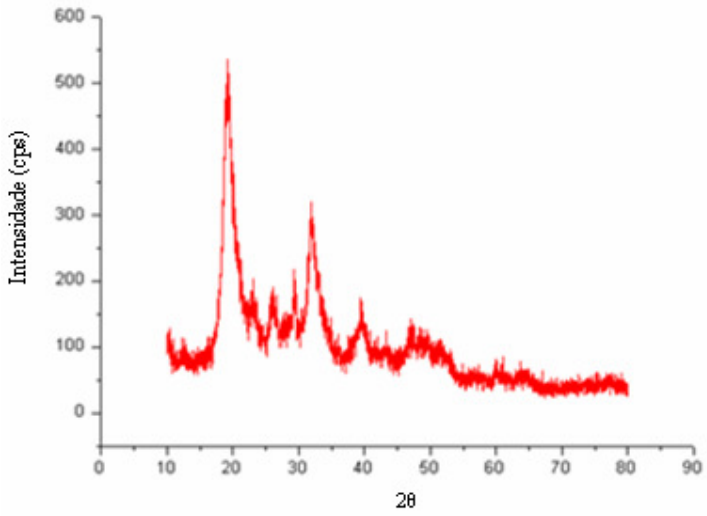
O emprego da técnica por difração de raios-X permitiu distinguir claramente a quitina de seu derivado desacetilado (quitosana). De fato, os difratogramas de quitina de camarões e caranguejos apresentaram picos mais resolvidos e em maior número do que os observados nos difratogramas das quitosanas. O que atribui-se à existência de domínios cristalinos maiores e em maior número, no caso da quitina [16, 96].

O Gráfico 14a mostra o espectro da quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*, onde os picos cristalinos mais intensos relativos às intensidades de (531) e (314) cps são correspondentes a 2θ =19,14º e 2θ =31,60º.

No Gráfico 14b, o espectro da quitina de *Aristeus antennatus* observa-se picos cristalinos mais intensos relativos às intensidades de (2428) e (1521) cps correspondentes a 2θ = 19,7º e 2θ = 26, 47º.

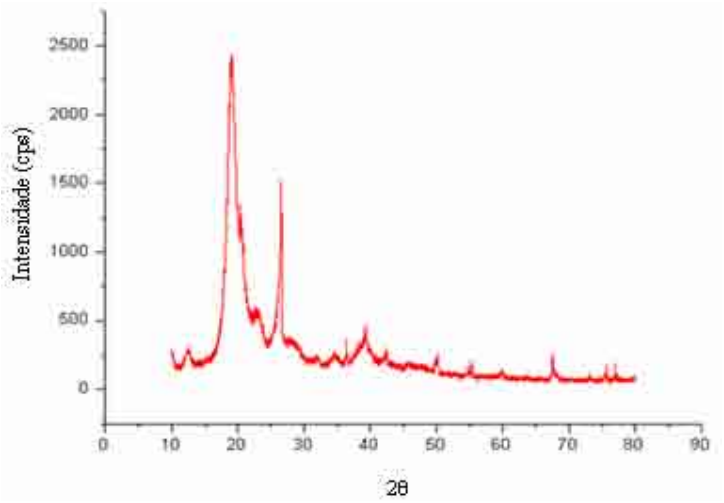
O Gráfico 14c observa-se o espectro da quitina de caranguejos *Ucides cordatus* com picos cristalinos, os mais intensos relativos às intensidades de (669) cps, (422) cps, (342) cps, (274) cps correspondentes a 2θ=17, 98º, 2θ=19,32º, 2θ =23, 26º, 2θ = 33, 98º.

Gráfico 14a - Difratograma de raio-X de quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*.



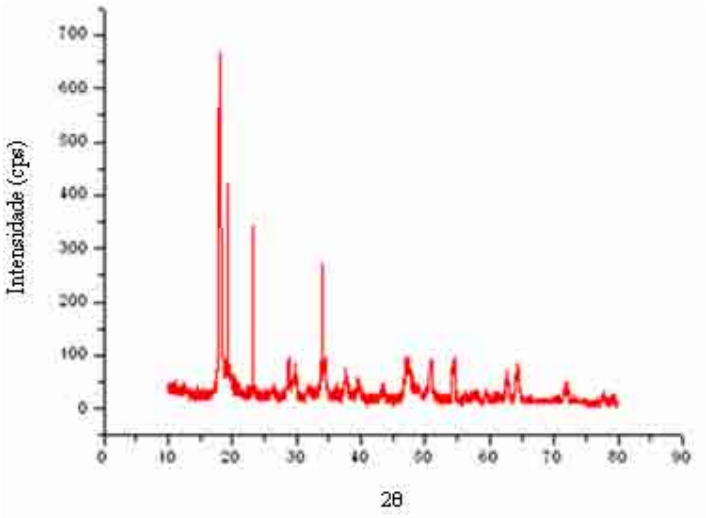
Fonte: Autor

Gráfico 14b - Difratograma de raio-X de quitina de camarões *Aristeus antennatus*



Fonte: Autor

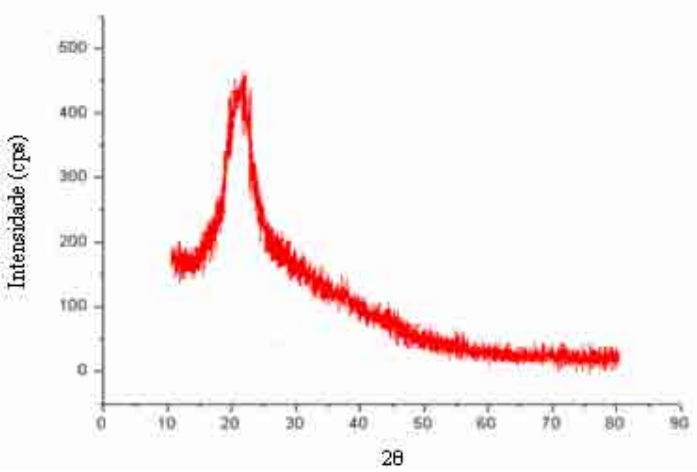
Gráfico 14c - Difratograma de raio-X de quitina de caranguejos *Ucides cordatus*



Fonte: Autor

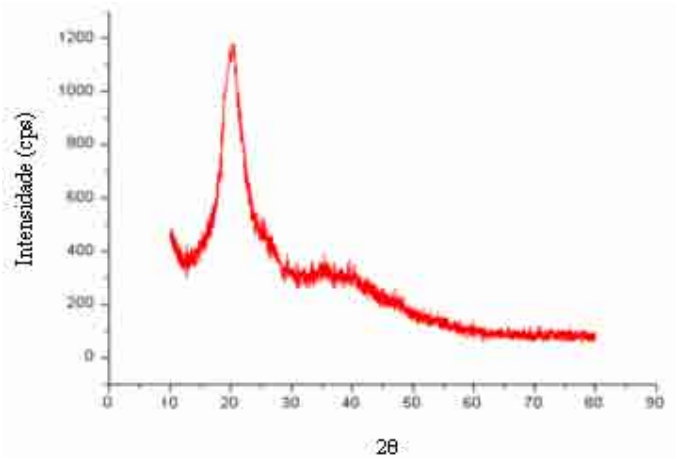
No Gráfico 15a, o espectro por difração de raios-X da quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei* mostrou pico cristalino de maior intensidade de (474) cps correspondente a 2θ =21,00º. No Gráfico 15b, o espectro da quitosana de camarões *Aristeus antennatus*, apresentou pico cristalino mais intenso em 2θ =20,30º relativo à intensidade (1176) cps. No Gráfico 15c, o espectro da quitosana de caranguejos *Ucides cordatus* apresentou pico cristalino mais intenso em 2θ = 19,40º relativo à intensidade (176) cps.

Gráfico 15a - Difratograma de raio-X de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*



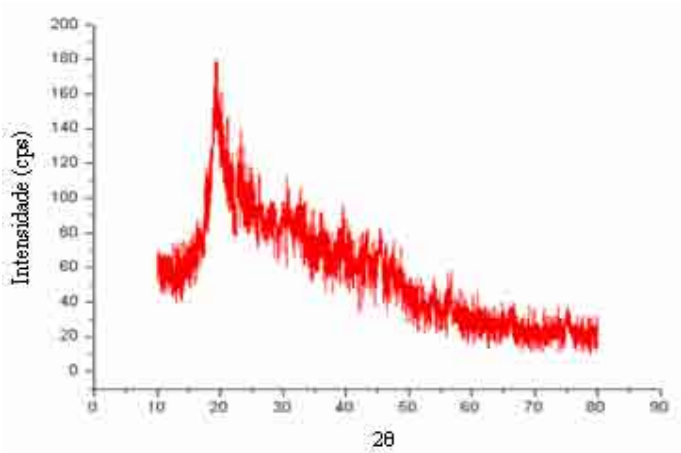
Fonte: Autor

Gráfico 15b - Difratograma de raio-X de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*



Fonte: Autor

Gráfico 15c - Difratograma de raio-X de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*



Fonte:Autor

A quitosana por si só não apresenta padrão de cristalinidade absoluta, por isso a partir dos dois picos de maior intensidade da difratometria de raio-X desse material foi determinado os índices de cristalinidade. O índice de cristalinidade (I_{CR}) pôde ser determinado com o emprego da Eq (1) [94].

$$I_{CR} = \frac{I_C - I_A}{I_C} \times 100 \qquad (1)$$

Sendo: I_C e I_A as intensidades dos sinais das regiões cristalinas (2θ≈20º) e amorfas (2θ≈10 a 13º), respectivamente. A relação entre o grau de desacetilação (GD) 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. No Quadro 10 encontra-se dados relacionados as amostras analisadas com seus índices de cristalinidade e grau de desacetilação.

Quadro 10 - (I_{CR}) e (GD) da quitina e quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e Aristeus *antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*).

Amostras	I_A	I_C	% I_{CR}	%GD
Quitina de camarões ***Litopenaeus vannamei***	94,00	531,53	82,31	-
Quitina de camarões **Aristeus *antennatus***	290,00	2427,92	88,05	-
Quitina de caranguejos ***Ucides cordatus***	39,90	669,59	94,04	-
Quitosana de camarões ***Litopenaeus vannamei***	210,03	473,88	55,68	80,36
Quitosana de camarões ***Aristeus antennatus***	403,10	1176,05	65,72	71,00
Quitosana de caranguejos ***Ucides cordatus***	66,56	176,15	62,21	74,65

Fonte: Autor

Os resultados dos índices de cristalinidade (I_{CR}) mostraram valores próximos para a quitina. A quitina conduziu a baixa cristalinidade da quitosana, bem como as condições dos tratamentos promovidos para a quitina e quitosana. Deve ser ainda salientado que a cristalinidade das amostras dependeu de vários fatores, como a natureza do organismo do qual foi extraída e as condições empregadas na extração do polímero. Dessa maneira, amostras de

quitina obtidas possuem um padrão de difração com picos bem definidos e cristalinidade elevada, enquanto a quitosana apresentou estrutura semicristalina.

A quitosana extraída das carapaças de caranguejos *Ucides cordatus* exibiu índice de cristalinidade 62,21% e grau de desacetilação 74,65%, enquanto o índice de cristalinidade para camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) foi 55,68 e 65,72% e grau de desacetilação 80,36 e 71,00%. Esses valores são similares aos apresentados na literatura [97]. Isso prova que o processo de desacetilação foi eficiente e que os grupos acetil foram removidos da estrutura da quitina e com isso há uma maior presença dos grupos aminos na quitosana.

Logo, a cristalinidade foi reduzida durante o processo de desacetilação. Os grupos aminos terminais da estrutura de quitosana também contribuíram para a estrutura amorfa, pois, o hidrogênio une como ligações secundárias e contribui à mudança no ângulo da ligação entre as moléculas de quitosana [98].

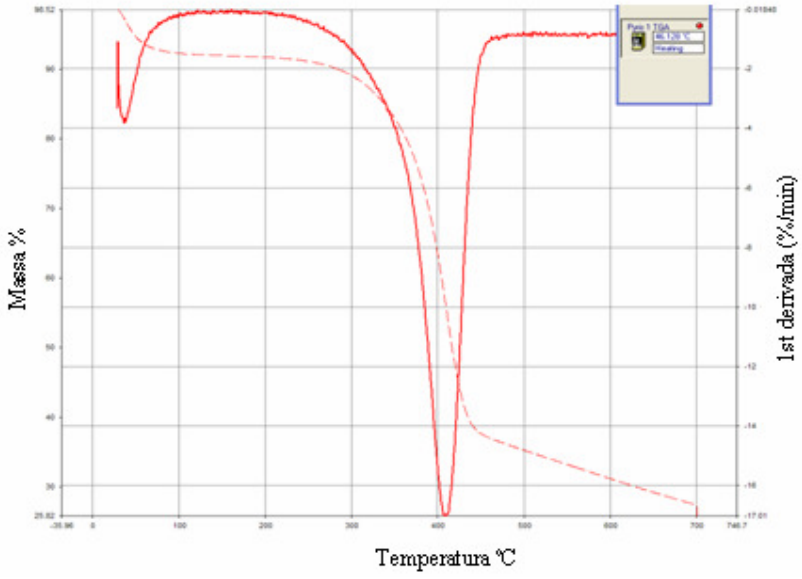
Os laços de hidrogênio geram zonas amorfas em polímeros com uma capacidade maior que a inchação das zonas cristalinas, devido em parte à alta afinidade aos grupos aminos primários.

5.4 ANÁLISE TÉRMICA (TG/DTG)

Os Gráficos de TG/DTG descrevem os perfis de decomposição térmica das amostras de quitina e quitosana de camarões (*Litopenaus vanammei* e Aristeus *antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*).

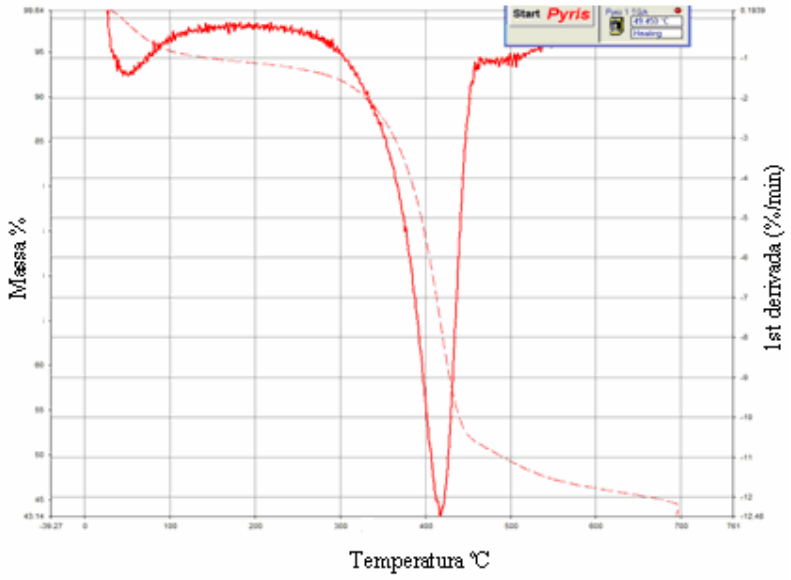
Nos termogramas da quitina de camarões e caranguejos, pôde-se observar dois estágios de decomposição, o primeiro ocorreu na faixa de 50-100ºC, atribuído à evaporação de moléculas de água. O segundo estágio de decomposição ocorreu na faixa de 400-500ºC, atribuído à degradação da estrutura sacarídea da molécula, incluindo a desidratação dos anéis sacarídeos, decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas da quitina, (Gráficos 16a, 16b e 16c).

Gráfico 16a - TG/DTG em quitina de camarões *Litopenaus vanammei*.



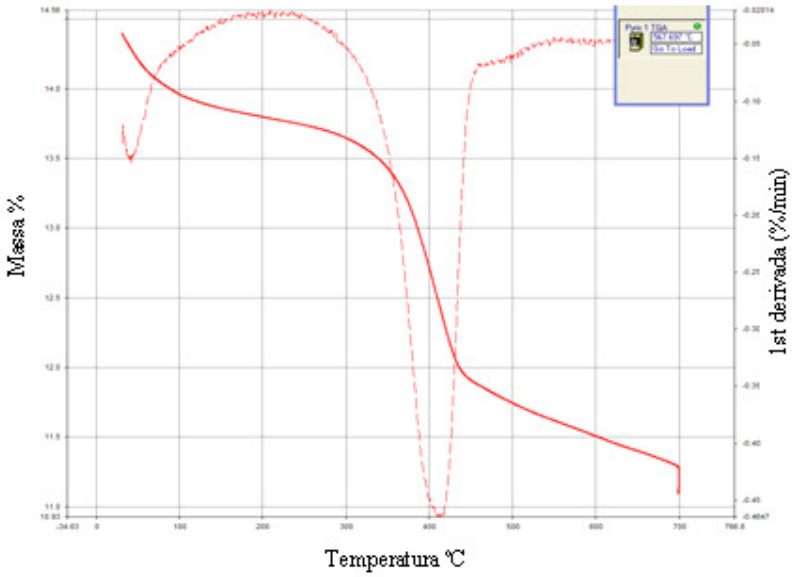
Fonte: Autor

Gráfico 16b - TG/DTG em quitina de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

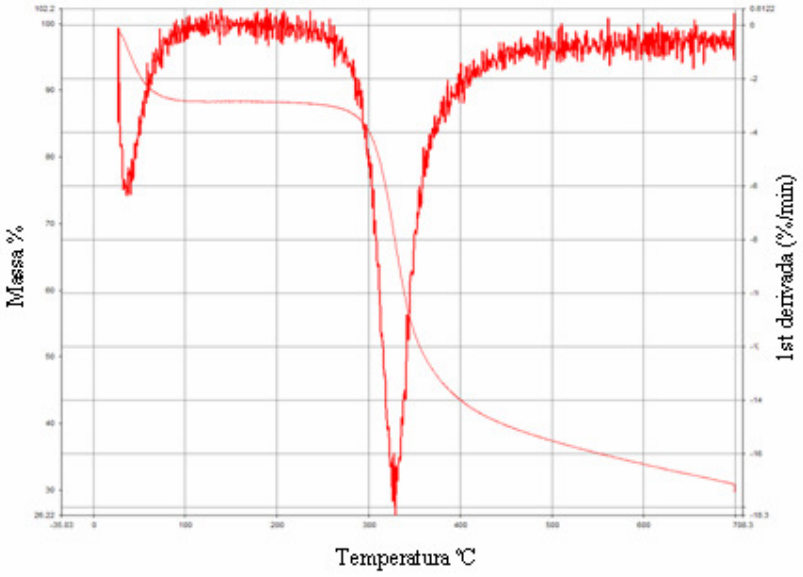
Gráfico 16c - TG/DTG em quitina de caranguejos *Ucides cordatus.*



Fonte: Autor

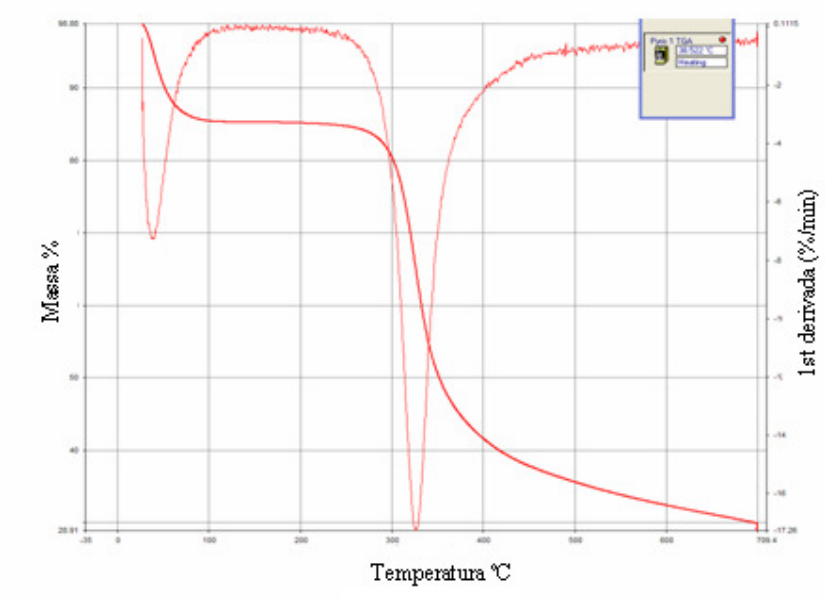
Nos Termogramas de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei*, observa-se dois estágios, na faixa de 40 a 100ºC e na faixa de 300-400ºC, (Gráfico 17a). No termograma da quitosana *Aristeus antennatus* observa-se dois estágios de decomposição, semelhantes ao encontrado na quitina, ocorrendo respectivamente nas faixas de 40-100ºC e 300-400ºC, (Gráfico 17b). Na quitosana de caranguejos *Ucides cordatus,* observa-se quatro estágios, nas faixas de 40-100ºC, 300-400ºC, 400-500ºC e 600-700ºC, (Gráfico 17c).

Gráfico 17a - TG/DTG em quitosana de camarões *Litopenaus vanammei*.



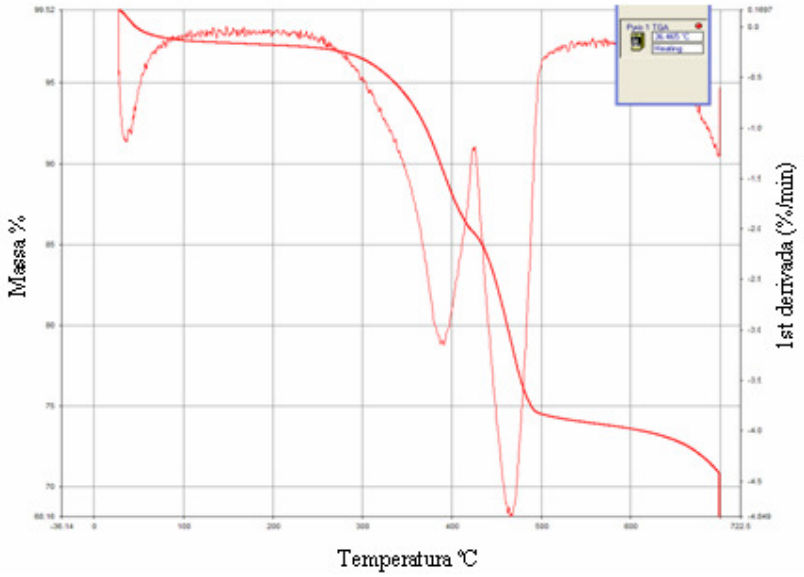
Fonte: Autor

Gráfico 17b - TG/DTG em quitosana de camarões *Aristeus antennatus*



Fonte: Autor

Gráfico 17c - TG/DTG em quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*.



Fonte: Autor

É importante relatar que nos termogramas (TG/DTG), o segundo estágio de decomposição da quitosana de camarões e caranguejos ocorreu em uma temperatura menor do que a observada para a decomposição da quitina, como é exemplificado no Quadro 11. Isso pode sugerir que a quitosana possui uma menor estabilidade térmica.

Quadro 11 - Comparação das curvas térmicas (TG/DTG) obtidas na quitina e quitosana no segundo estágio.

Amostras	Crustáceos	Curvas (TG/DTG)	Picos (2º estágio)
Quitina	*Litopenaus vanammei*	400-500ºC	411,85 ºC
Quitosana		300-400ºC	329,30 ºC
Quitina	*Aristeus antennatus*	400-500ºC	417,66 ºC
Quitosana		300-400ºC	326,63 ºC
Quitina	*Ucides cordatus*	400-500ºC	415,63 ºC
Quitosana		300-400ºC	391,23 ºC

Fonte: Autor

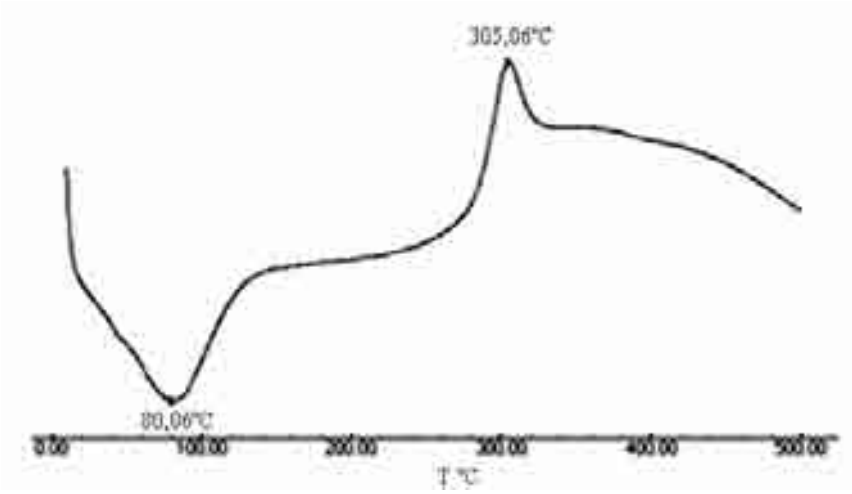
Os picos que apareceram nos termogramas das quitosanas de (*Litopenaus vanammei Aristeus antennatus* e *Ucides cordatus*) foram em torno de 329,30ºC, 326,63ºC e 391,23ºC respectivamente pode ser devido à degradação de parte da molécula que foi desacetilada. Assim, percebe-se que as amostras apresentaram processo de desidratação, seguido da decomposição do biopolímero, com geração de material carbonizado.

5.5. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

O Gráfico 18a descreve o comportamento térmico das curvas DSC da amostra de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei*. A curva apresentou no primeiro aquecimento, uma alteração endotérmica na linha base a partir da temperatura ambiente com a formação de um pico endotérmico, centrado em 80,06ºC, que pode ser atribuído à evaporação de substâncias voláteis, como água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana.

Com o prosseguimento do aquecimento, um deslocamento da linha base no sentido exotérmico emergiu pico centrado em 305,06ºC, sugerindo que outros eventos térmicos podem estar acontecendo. Aparentemente, este pico pode estar relacionado à decomposição do polímero, mas existem relatos na literatura que explicitam este evento como estando relacionado à capacidade deste biopolímero em reter partículas de água remanescentes [82].

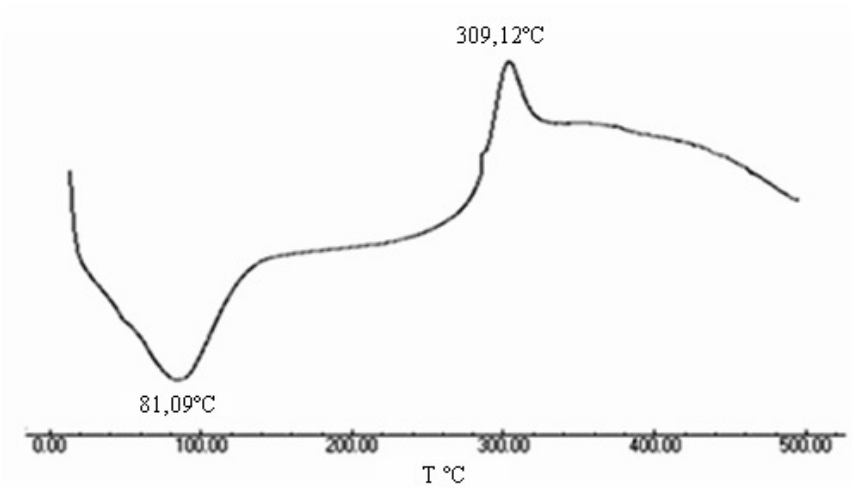
Gráfico 18a - DSC de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei*



Fonte: Autor

O Gráfico 18b descreve o comportamento térmico das curvas DSC da amostra de quitosana de camarões de *Aristeus antennatus.* A curva apresentou um evento endotérmico na linha base a partir da temperatura ambiente com a formação de um pico endotérmico, centrado em 81,09ºC, que pode ser atribuído à evaporação de substâncias voláteis, como água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com formação de pico exotérmico com temperatura de pico em 309,12ºC.

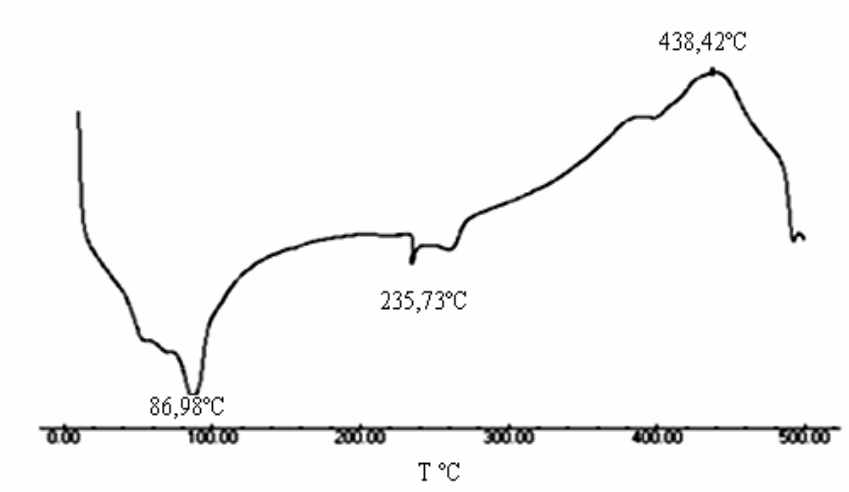
Gráfico18b - DSC de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*.



Fonte: Autor

O Gráfico 18c descreve o comportamento térmico das curvas DSC da amostra de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*. A curva apresentou dois eventos endotérmicos, no primeiro aquecimento, uma alteração endotérmica a partir da temperatura ambiente com a formação de um pico endotérmico, centrado em 86,98ºC pode ser atribuído à evaporação de substâncias voláteis, como água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva com formação de pico endotérmico centrada em 235,73ºC e apresentou um evento exotérmico com temperatura de pico em 438,42ºC.

Gráfico 18c - DSC de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*.



Fonte: Autor

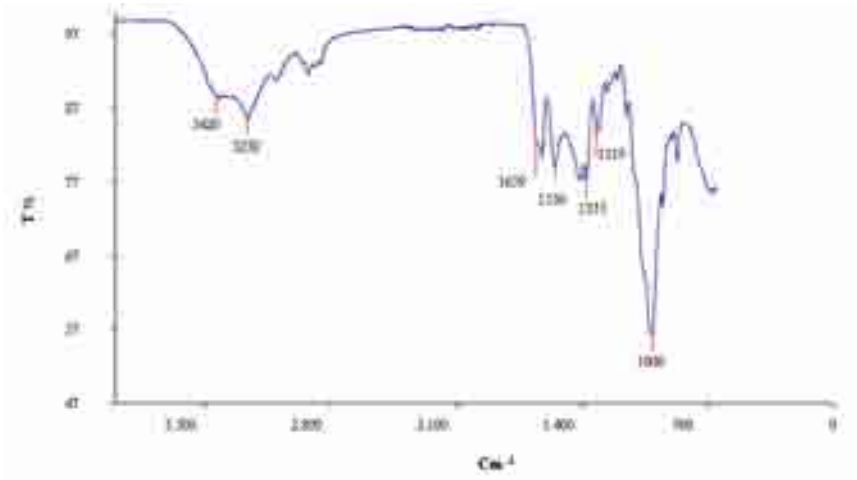
Os processos foram coerentes com os eventos observados na literatura [99]. Observou-se que o segundo processo de decomposição da amostra de caranguejo apresentou-se com perfil térmico diferente das demais. Isso pode evidenciar a presença de materiais, tais como, proteínas residuais que não podem ser eliminados.

Os picos endotérmicos (80,06ºC, 81,09ºC, 86,98ºC e 235,73ºC) corresponderam ao processo de desidratação, cuja área depende do histórico de secagem da amostra. Os picos exotérmicos (305,06ºC e 309,12ºC) corresponderam ao processo de decomposição e o último evento exotérmico (438,42ºC) correspondeu ao início da queima do material carbonizado.

5.6. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO E TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho foi uma das técnicas utilizadas para a caracterização de quitina e quitosana. O Gráfico 19a mostra bandas características da quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*. Observa-se a banda em 3250 cm^{-1} atribuída à vibração de estiramento NH e a banda em 3420 cm^{-1} atribuída ao estiramento OH. A região 1659 cm^{-1} teve grande intensidade e atribuí-se a banda carbonila (C=O), conhecida como banda amida I. A banda 1550 cm^{-1} corresponde a modos vibracionais NH e estiramento CH, chamada amida II e 1319 cm-^{1} atribuí-se à deformação CO-NH e ao grupo CH_2, denominada banda amida III. A banda 1375 cm^{-1} é atribuída à deformação do grupo CH_3.

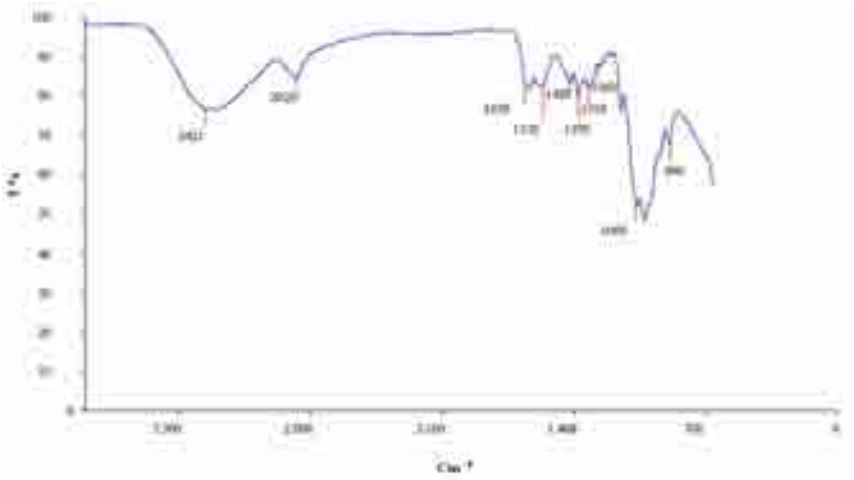
Gráfico 19a - Espectro-FTIR da quitina de camarões *Litopenaeus vannamei*



Fonte: Autor

O Gráfico 19b mostra bandas características da quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*, onde a região 3.425 cm^{-1} corresponde ao estiramento OH e a banda 1659 cm^{-1} associada ao estiramento C=O, conhecida como banda amida I. Nessa banda percebe-se a diminuição, mostrando que ocorreu desacetilação da quitina. Em 2920 cm-^{1}, corresponde ao alongamento do CH. A região 1.420 cm-^{1} corresponde à deformação angular do CH_2. Os picos em torno de 1319 cm-^{1}, 1360 cm-^{1}, 1379 cm-^{1} correspondem às vibrações fortes de flexão da ligação NH primário, secundário e terciário, respectivamente. A região entre 896 a 1060 cm^{-1} corresponde às bandas de estruturas polissacarídicas.

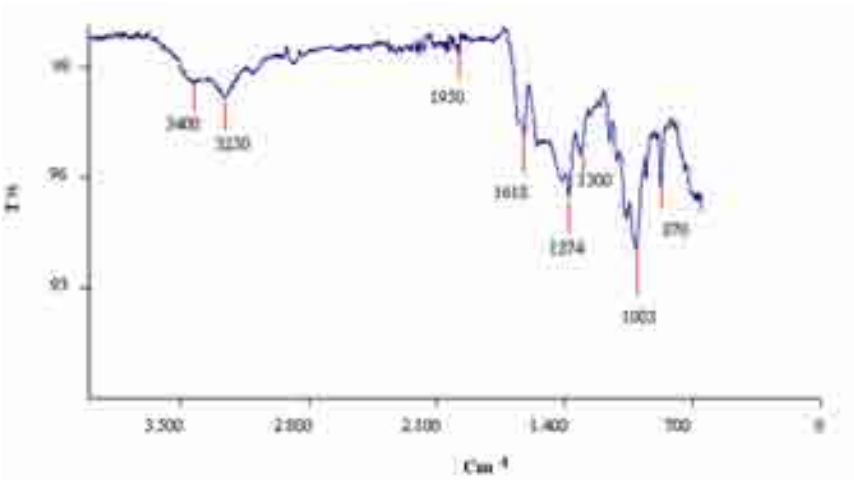
Gráfico 19b - Espectro-FTIR de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*



Fonte: Autor

No Gráfico 19c mostra bandas características da quitina de camarões *Aristeus antennatus*. Observa-se duas bandas em cerca de 3250 e 3400 cm^{-1} atribuídas ao grupo NH de amida e ao estiramento OH. A região 1618 cm^{-1} é atribuída à banda carbonila C=O presente na quitina denominada amida I. Em 1374 cm-^{1} atribui-se à deformação angular do grupo CH_3 e a banda 1300 cm-^{1} atribuiu-se as ligações CN e CH_2. Os picos em 870 cm-^{1} a 1003 cm-^{1} referem-se às bandas de estruturas polissacarídicas.

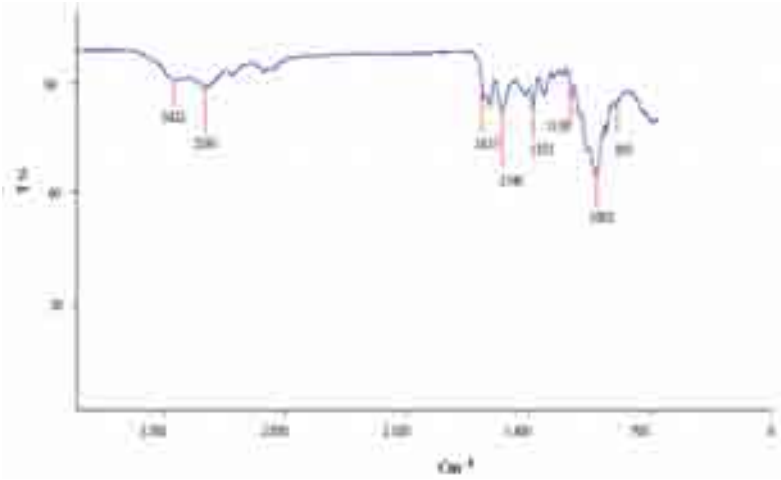
Gráfico 19c - Espectro- FTIR de quitina de camarões *Aristeus antennatus.*



Fonte: Autor

O espectro da quitosana de camarões *Aristeus antennatus* é mostrado no Gráfico 19d. É notado as bandas de estiramento axial OH entre 3245 e 3422 cm-^{1}, sobreposta à banda de estiramento NH. A região 1655 cm-^{1} atribuí-se ao estiramento C=O, de amida I. Deformação angular de NH em aproximadamente 1546 cm-^{1}; deformação axial de CN de amida por volta de 1400 cm-^{1}; deformação angular simétrica de CH_3 em 1373 cm-^{1}; deformação axial de CN de grupos amino entre 1323 a 1373 cm-^{1} e bandas de estruturas polissacarídicas na região entre 895 a 1003 cm-^{1}.

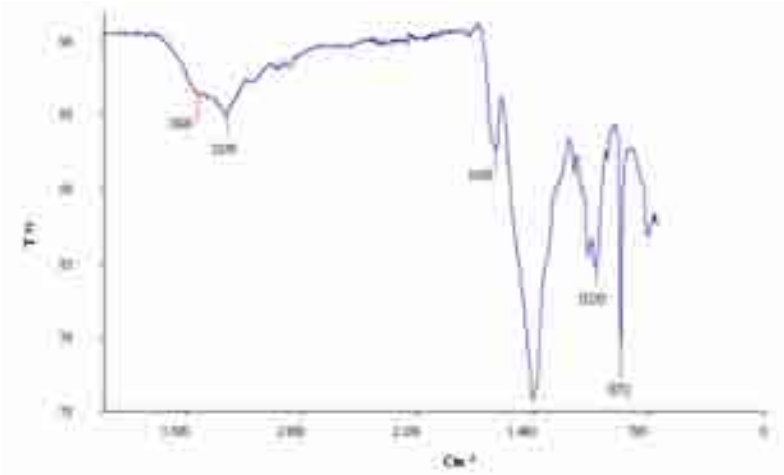
Gráfico 19d - Espectro- FTIR de quitosana de camarões *Aristeus antennatus.*



Fonte: Autor

O espectro da quitina de caranguejos *Ucides cordatus* é mostrado no Gráfico 19e, onde observa-se duas bandas em cerca de 3250 e 3420 cm^{-1} atribuídas respectivamente ao grupo NH de amida e ao estiramento do grupo OH. Observa-se que a banda em torno de 1620 cm^{-1} tem grande intensidade e é atribuída à banda carbonila C=O de amida I. Por volta de 1400 cm-^{1} observou-se grande intensidade referente deformação axial de CN de amida. A presença da banda de absorção 870 cm^{-1} indica estrutura polissacarídica.

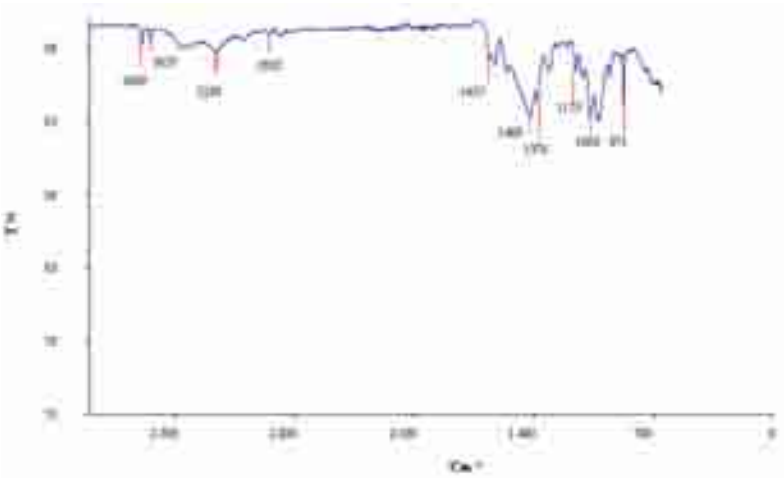
Gráfico 19e - Espectro-FTIR de quitina de caranguejos *Ucides cordatus.*



Fonte:Autor

No Gráfico 19f, o espectro de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus* observa-se mudança significativa na região de 1400 cm-^{1}, uma redução no pico. A banda 1655 cm-^{1} associada à carbonila (C= O) diminuiu, diante da desacetilação da quitosana. A região de 3000 cm-^{1} a 3700 cm-^{1} correspondente ao estiramento do OH e grupos de NH. Os picos em 870 cm-^{1} a 1153 cm-^{1} referem-se às bandas de estruturas polissacarídicas e entre 1323 a 1379 cm -^{1} refere-se à deformação de grupos amino CN e deformação de CH_3. A banda de 2.923 cm-^{1} atribuiu-se ao alongamento CH.

Gráfico 19f - Espectro-FTIR de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus.*



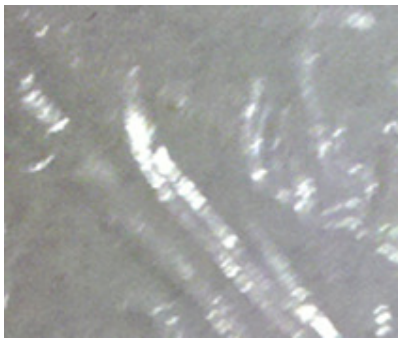
Fonte: Autor

Os espectros de (FTIR) de quitina e quitosana apresentaram semelhanças, sendo possível observar algumas diferenças e todas as bandas observadas são semelhantes àquelas descritas na literatura [83, 84].

5.7 ASPECTOS VISUAIS DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA

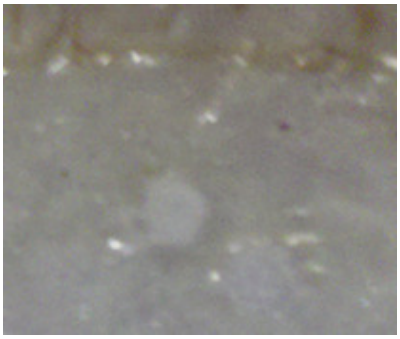
O aspecto visual das membranas de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) obtidas com solução de 7% (m/v) de quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) é mostrado nas Fotografias 14a, 14b e 14c.

Fotografia 14a - Membrana de camarões
Litopenaeus vannamei



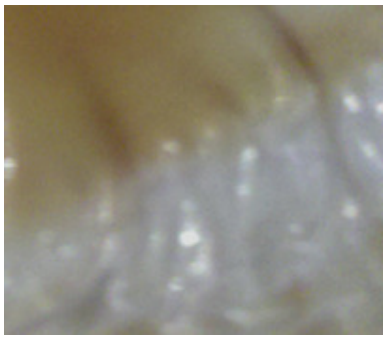
Fonte: Autor

Fotografia 14b - Membrana de camarões
Aristeus antennatus



Fonte: Autor

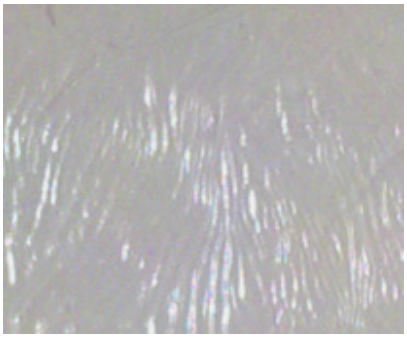
Fotografia 14c - Membrana de caranguejos
Ucides cordatus



Fonte: Autor

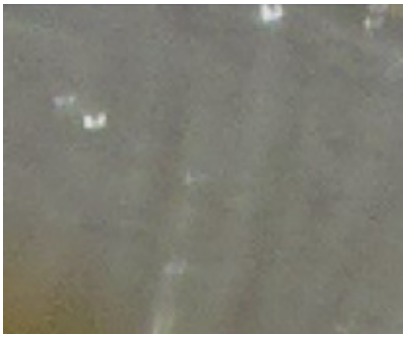
O aspecto visual das membranas de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) obtidas com solução de 5% (m/v) de quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) é mostrado nas Fotografias 14d, 14e e 14f.

Fotografia 14d - Membrana de camarões
Litopenaeus vannamei



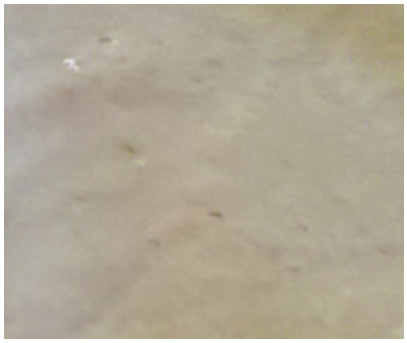
Fonte: Autor

Fotografia 14e - Membrana de camarões
Aristeus antennatus



Fonte: Autor

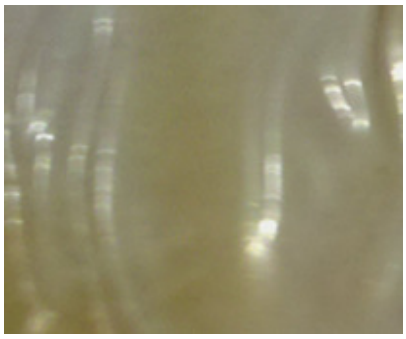
Fotografia 14f - Membrana de caranguejos
Ucides cordatus



Fonte: Autor

O aspecto visual das membranas de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) obtidas com solução de 7% (m/v) de quitosana em 60% CH_3COOH é mostrado nas Fotografias 14g, 14h e 14i.

Fotografia 14g - Membrana de camarões
Litopenaeus vannamei



Fonte: Autor

Fotografia 14h - Membrana de camarões
Aristeus antennatus

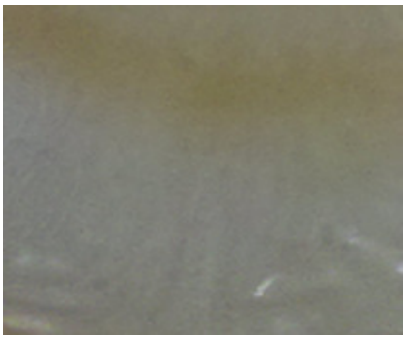
Fonte: Autor

Fotografia 14i - Membrana de caranguejos
Ucides cordatus

Fonte: Autor

O aspecto visual das membranas de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) obtidas com solução de 7% (m/v) de quitosana em 90% CH_3COOH é mostrado nas Fotografias 14j, 14l e 14m.

Fotografia 14 j - Membrana de camarões
Litopenaeus vannamei

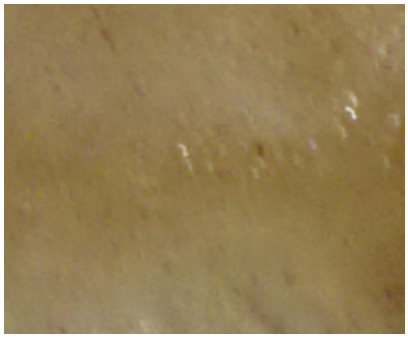


Fonte: Autor

Fotografia 14l - Membrana de camarões
Aristeus antennatus

Fonte: Autor

Fotografia 14m - Membrana de caranguejos
Ucides cordatus



Fonte: Autor

Com o aumento da concentração de quitosana nas soluções, as membranas apresentaram uma coloração amarela mais intensa, o que pode estar relacionado à presença do grupo C=N. As membranas com essa característica também tiveram diminuição da mobilidade das cadeias poliméricas pela concentração da quitosana.

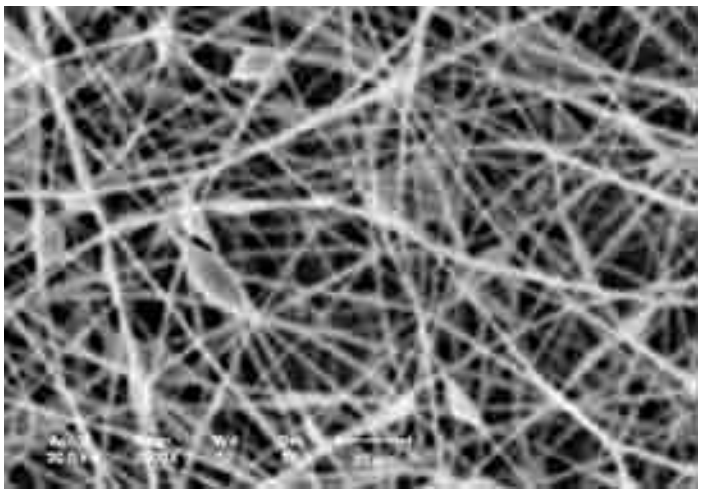
As membranas em solução de (TFA/DCM) apresentaram-se mais translúcidas em comparação com as membranas em solução de CH_3COOH.

5.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA.

A partir da análise morfológica realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi possível verificar as características superficiais e distribuição de diâmetros das membranas de quitosana de camarões e caranguejos. Ambas foram constituídas por jatos aleatórios, depositados pelo fluxo da solução no capilar utilizado no processo de eletrofiação. Os diâmetros médios dos nanofilamentos das membranas obtidas apresentaram-se entre 138 a 163 nm.

As Imagens (9a e 9b e 9c) mostram micrografias das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*) com 7% (m/v) de quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM). Verificou-se a presença de aglomerados poliméricos, obtidos a uma distância capilar-coletor de 5 cm e tensão aplicada de 20 kV.

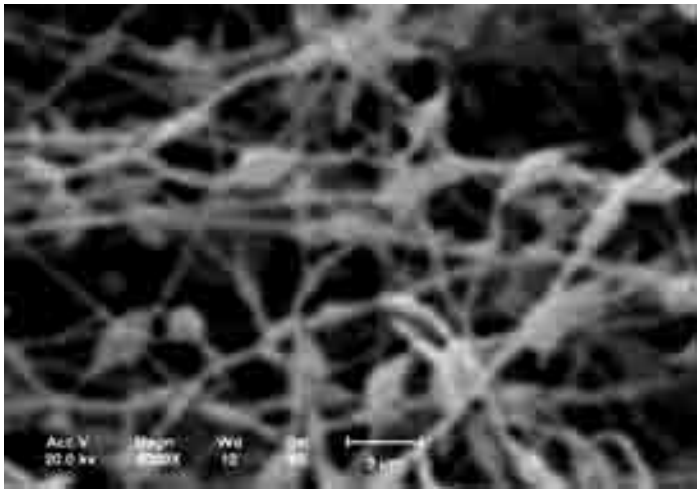
Imagem 9a - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* - 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 7% (TFA/DCM): 100:0 (v/v) Distância capilar-coletor: 5 cm Tensão aplicada: 20 kV Diâmetro médio: 146 ± 0,65 nm

Fonte: Autor

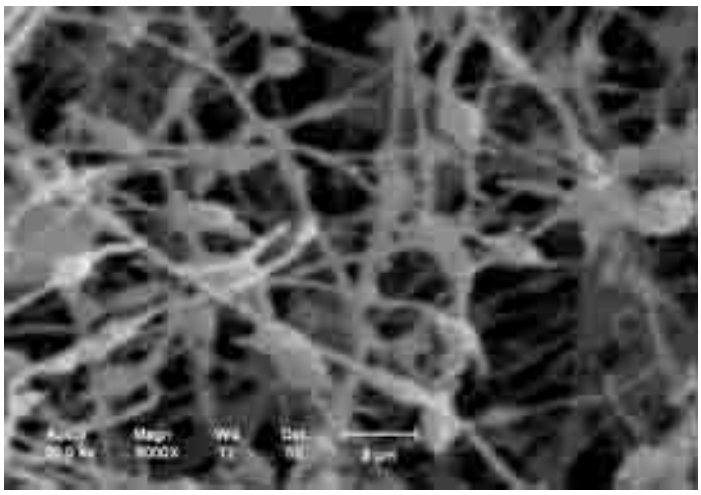
Imagem 9b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* - 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 7% (TFA/DCM): 100:0 (v/v) Distância capilar-coletor: 5 cm Tensão aplicada: 20 kV Diâmetro médio: 156 ± 0,69 nm

Fonte: Autor

Imagem 9c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus* - 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) TFA/DCM.

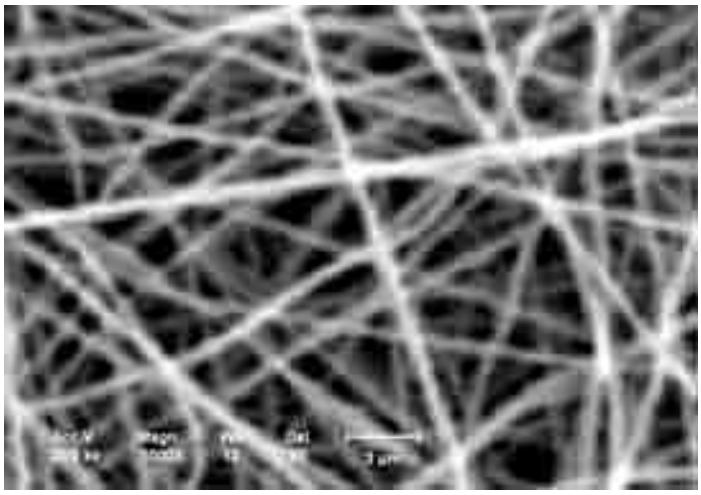


Parâmetros
Quitosana: 7% (TFA/DCM): 100:0 (v/v) Distância capilar-coletor: 5 cm Tensão aplicada: 20 kV Diâmetro médio: 163 ± 0,72 nm

Fonte: Autor

As imagens (10a 10b e 10c) mostram micrografias das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*), com 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) com distância capilar-coletor de 10 cm e tensão de 25 kV.

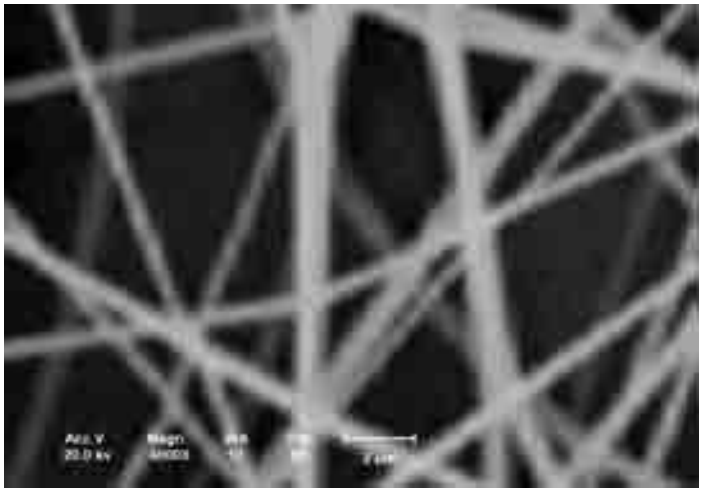
Imagem 10a - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* - 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 5% (TFA/DCM): 70:30 (v/v) Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 25 kV Diâmetro médio: 147 ± 0,42 nm

Fonte: Autor

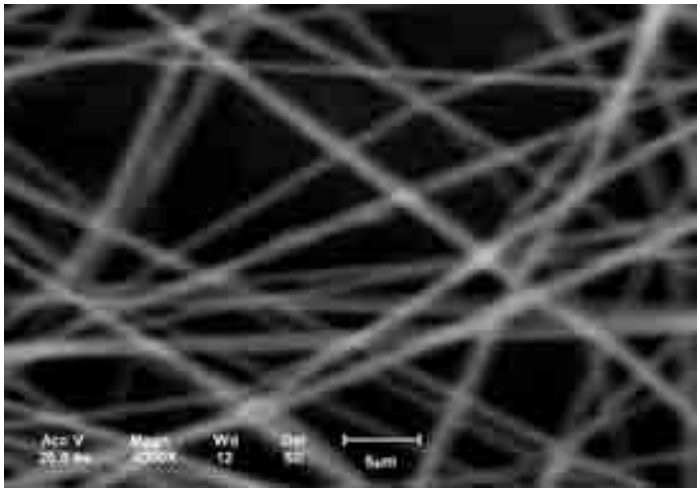
Imagem 10b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* - 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 5% (TFA/DCM): 70:30 (v/v) Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 25 kV Diâmetro médio: 152 ± 0,54 nm

Fonte: Autor

Imagem 10c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus* - 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 5% (TFA/DCM): 70:30 (v/v) Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 25 kV Diâmetro médio: 150 ± 0,51 nm

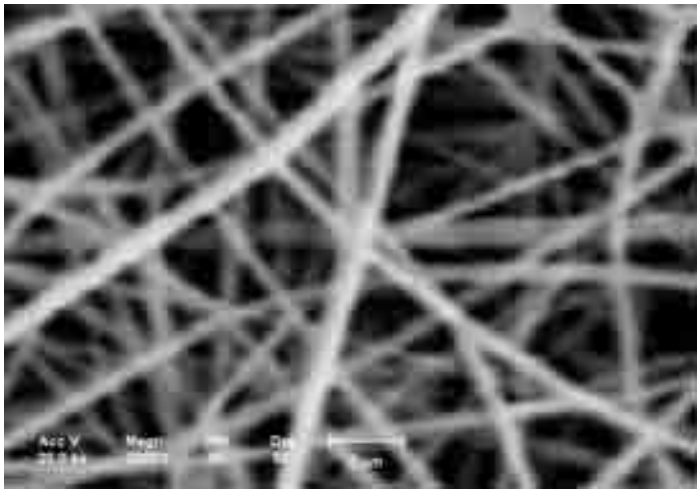
Fonte: Autor

Percebeu-se que a distância capilar-coletor de 10 cm em 70:30 (v/v) (TFA/DCM), com tensão aplicada de 25 kV contribuíram para diminuição dos diâmetros dos nanofilamentos das membranas e não ocorreu formação de aglomerados. Logo concluí-se que a distância 10 cm contribuiu para a vaporização do solvente e facilitação na formação das membranas eletrofiadas.

A utilização do TFA puro (100:0) contribuiu para a evaporação incompleta do solvente durante o trajeto entre o capilar e o coletor, levando a formação de aglomerados poliméricos, mesmo a solução tendo sido dissolvida de forma homogênea permitindo assim a solubilidade por completo da quitosana. Fato esse que pôde ser observado nas micrografias vistas em Imagens (9a, 9b e 9c) para as diferentes concentrações soluto/solvente, bem como a distância capilar-coletor. A evaporação incompleta do solvente e a distância capilar coletor de 5 cm contribuiu para formação dos aglomerados. Além disso; o TFA é um solvente menos volátil que o DCM. A presença do DCM na solução promoveu o aumento da volatilidade do sistema, contribuindo deste modo para a diminuição do número de aglomerados e facilitação na formação das membranas. [85,86].

As Imagens (11a, 11b e 11c) mostram micrografias das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*) em 7% de quitosana em 60% de CH_3COOH com distância capilar-coletor igual a 10 cm e tensão de 30 kV.

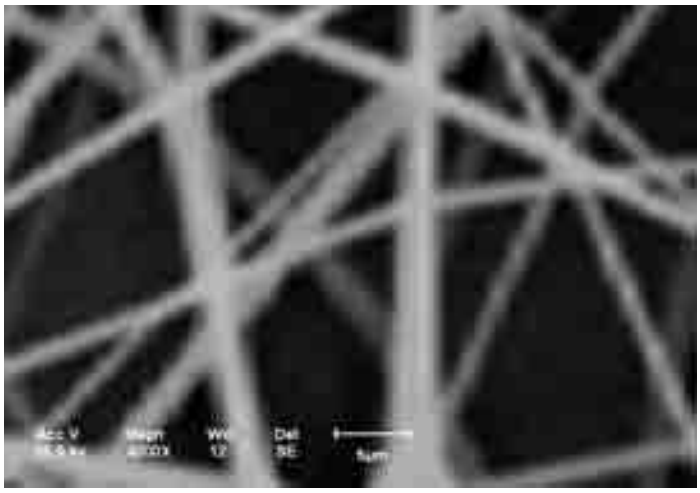
Imagem 11a - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* - 7% quitosana em solução de 60 % de CH_3COOH.



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 60% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 149 ± 0,38 nm

Fonte: Autor

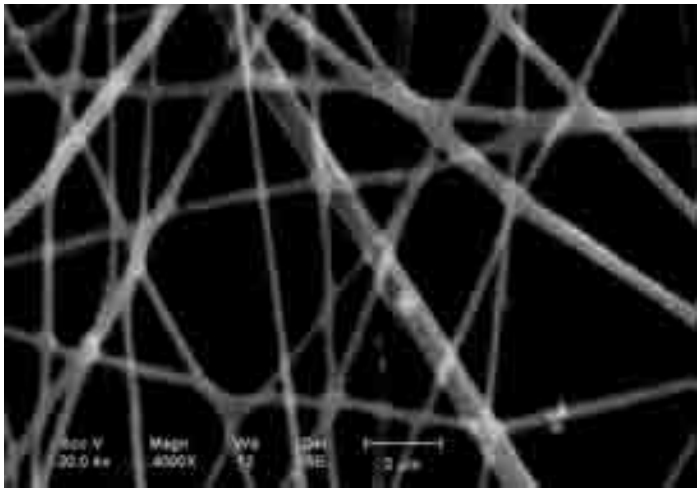
Imagem 11b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* - 7% quitosana em solução de 60 % de CH_3COOH.



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 60% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 150 ± 0,44 nm

Fonte: Autor

Imagem 11c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus* -7% quitosana em solução de 60 % de CH_3COOH.

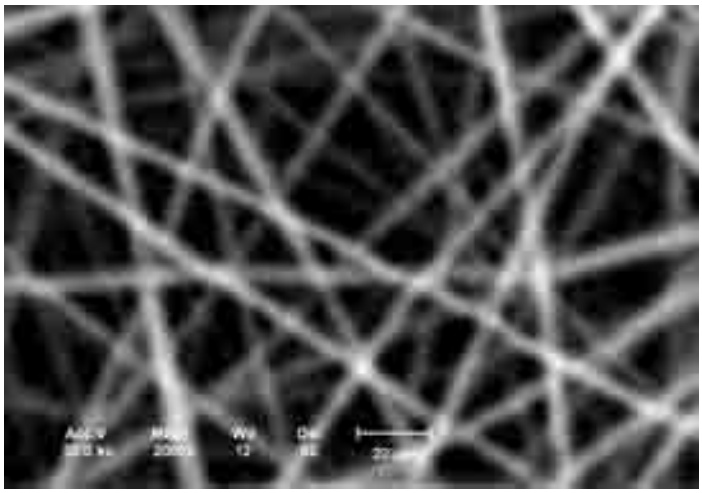


Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 60% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 148 ± 0,53 nm

Fonte: Autor

As Imagens (12a, 12b e 12c) mostram micrografias das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*) em 7% de quitosana em 90 % de CH_3COOH com distância capilar-coletor de 10 cm e tensão de 30 kV.

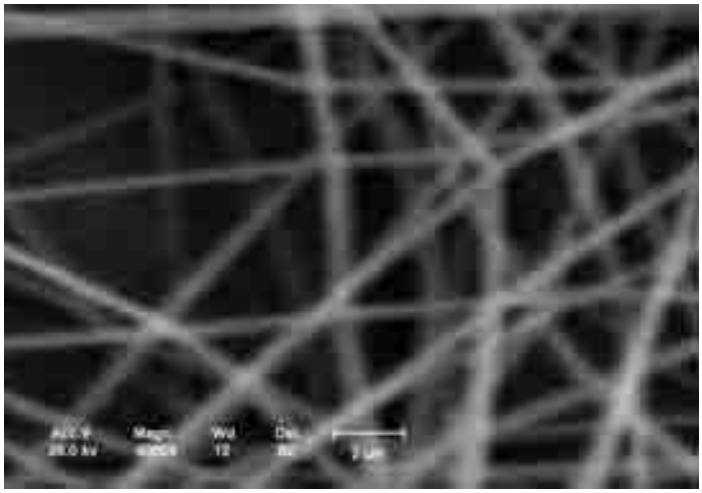
Imagem 12a - Membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* -7% quitosana em solução de 90 % de CH_3COOH.



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 90% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 138 ± 0,33 nm

Fonte: Autor

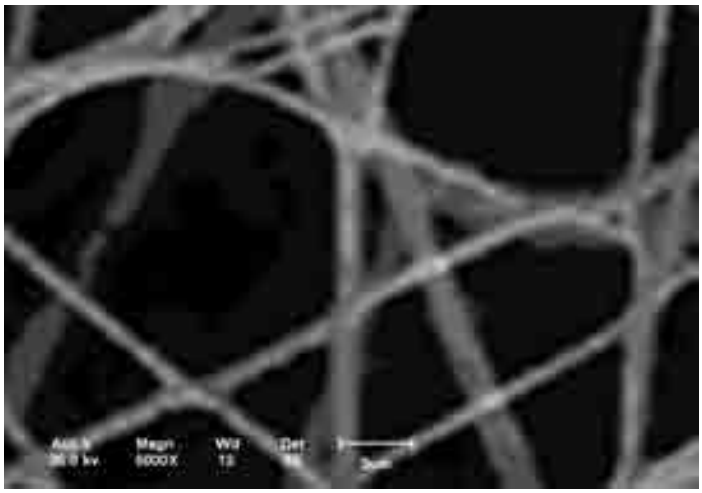
Imagem 12b - Membrana de camarões *Aristeus antennatus* -7% quitosana em solução de 90 % de CH_3COOH.



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 90% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 140 ± 0,46 nm

Fonte: Autor

Imagem 12c - Membrana de caranguejos *Ucides cordatus* -7% quitosana em solução de 90 % de CH_3COOH.



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 90% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 143 ± 0,49 nm

Fonte: Autor

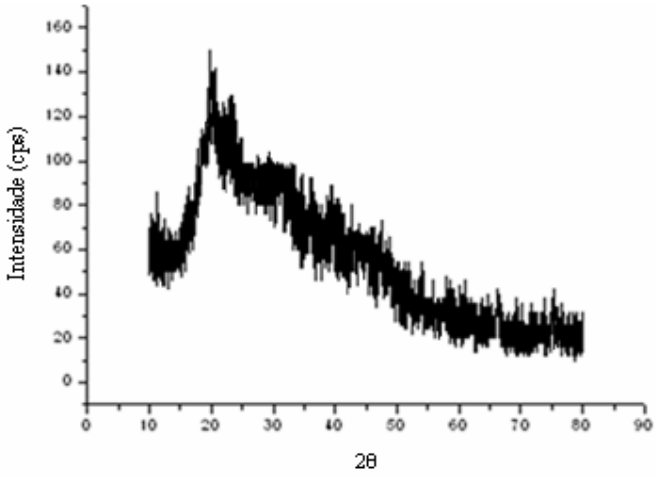
A distância capilar-coletor de 10 cm em 90 % de CH_3COOH com tensão de 30 kV contribuiu para diminuição dos diâmetros dos nanofilamentos das membranas de quitosana. Enquanto que a mesma distância do capilar-coletor e tensão aplicada em 60% de CH_3COOH apresentou nanofilamentos das membranas com diâmetros maiores.

5.9 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA (DRX)

A caracterização por difração de raios-X foi realizada para as membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) obtidas com solventes (TFA/DCM) e (CH_3COOH), a qual mostra os espectros de DRX com picos de maior intensidade.

No Gráfico 20a, o espectro por difração de raios-X da membrana quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei* obtida com 7% (m/v) de quitosana em 100:00 (v/v) (TFA/DCM) exibiu pico de maior destaque em 2θ =19,75º relativo à intensidade de (139,73) cps devido à presença do plano cristalográfico (486). No Gráfico 20b, a membrana de quitosana de camarões *Aristeus antennatus* apresentou picos mais intensos em 2θ = 21,52º relativo à intensidade de (198,80) cps devido à presença do plano cristalográficos (546) e em 2θ = 20,28º relativo à intensidade de (188,10) cps devido à presença do plano cristalográfico (482). No Gráfico 20c, a membrana de quitosana de caranguejos de *Ucides cordatus* exibiu pico de maior destaque em 2θ =19,33º relativo à intensidade de (191,25) cps, devido à presença do plano cristalográfico (446).

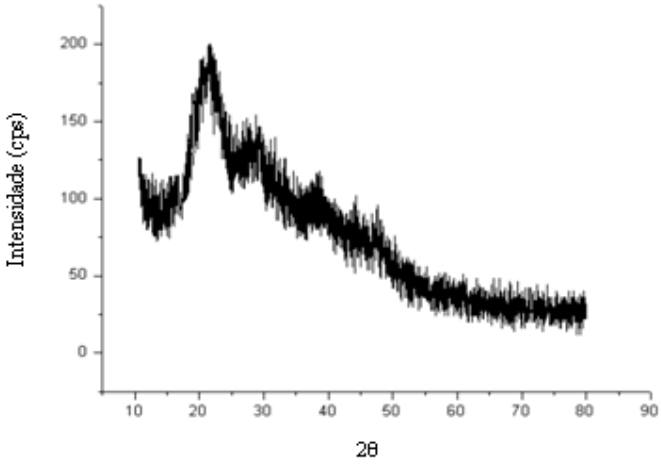
Gráfico 20a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 7% (TFA/DCM): 100:0 (v/v) Distância capilar-coletor: 5 cm Tensão aplicada: 20 kV Diâmetro médio: 146 ± 0,65 nm

Fonte: Autor

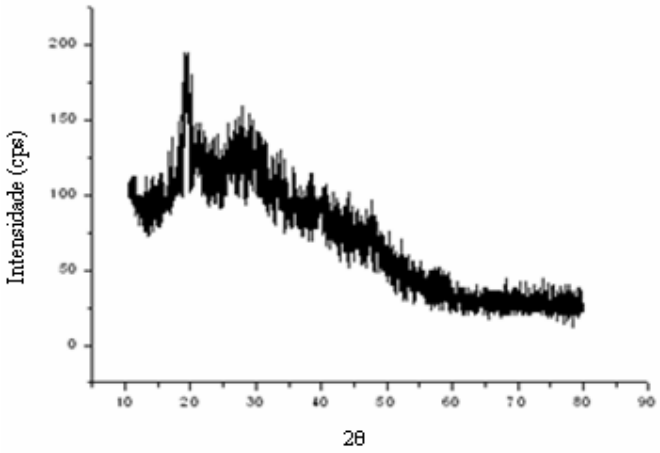
Gráfico20b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 7% (TFA/DCM): 100:0 (v/v) Distância capilar-coletor: 5 cm Tensão aplicada: 20 kV Diâmetro médio: 156 ± 0,69 nm

Fonte: Autor

Gráfico 20c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus* 7% (m/v) quitosana em solução de 100:0 (v/v)



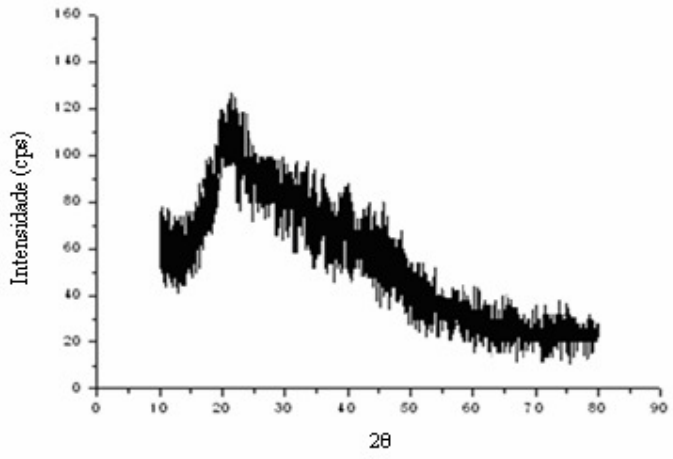
Parâmetros
Quitosana: 7% (TFA/DCM): 100:0 (v/v) Distância capilar-coletor: 5 cm Tensão aplicada: 20 kV Diâmetro médio: 163 ± 0,72 nm

Fonte: Autor

No Gráfico 21a, o espectro por difração de raios-X da membrana de quitosana de camarões de *Litopenaeus vannamei* obtida com 5% (m/v) de quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) exibiu pico de maior destaque em 2θ =21,40º relativo à intensidade de (129,11) cps devido à presença do plano cristalográfico (570). No Gráfico 21b, a membrana de quitosana de camarões de *Aristeus antennatus* apresentou pico mais intenso em 2θ=20,38º relativo à intensidade de (98,12) cps devido à presença do plano cristalográfico (469). No Gráfico 21c, a membrana de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus* apresentou pico mais

intenso em 2θ =20,49º relativo à intensidade de (123,96) cps, devido à presença do plano cristalográfico (527).

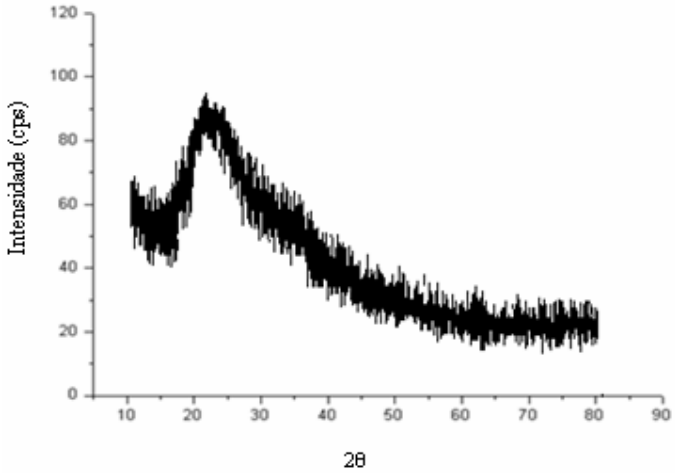
Gráfico 21a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 5% (TFA/DCM): 70:30 (v/v) Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 25 kV Diâmetro médio: 147 ± 0,42 nm

Fonte: Autor

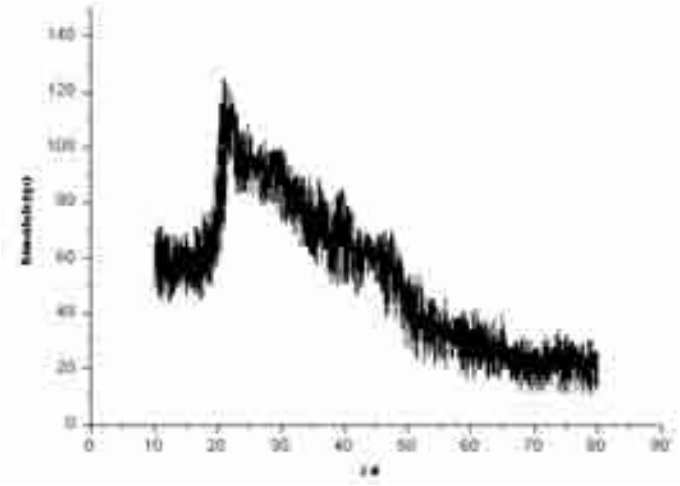
Gráfico 21b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus* 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM).



Parâmetros
Quitosana: 5% (TFA/DCM): 70:30 (v/v) Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 25 kV Diâmetro médio: 152 ± 0,54 nm

Fonte: Autor

Gráfico 21c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus* 5 % (m/v) quitosana em solução de 70:30 (v/v) (TFA/DCM).



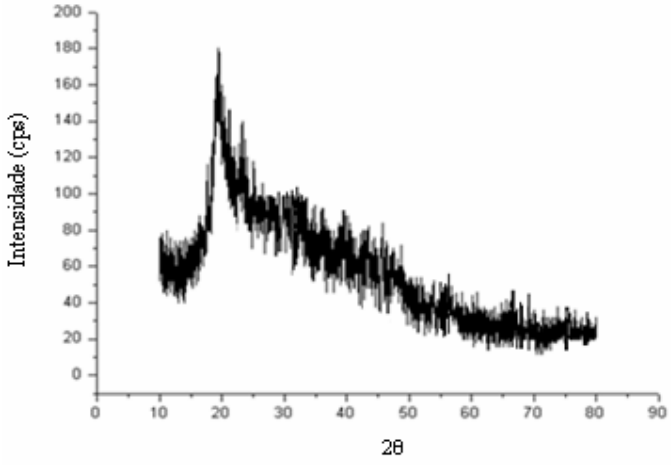
Parâmetros
Quitosana: 5% (TFA/DCM): 70:30 (v/v) Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 25 kV Diâmetro médio: 150 ± 0,51 nm

Fonte: Autor.

Os espectros das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) obtidos com 7% de quitosana em 60% de CH_3COOH estão nos Gráficos 22a, 22b e 22c.

No Gráfico 22a, o espectro por difração de raios-X da membrana de quitosana de camarões de *Litopenaeus vannamei* exibiu pico de maior destaque em 2θ =19,37º relativo à intensidade de (180,31) cps devido à presença do plano cristalográfico (469). No Gráfico 22b, o espectro da membrana de quitosana de camarões de *Aristeus antennatus* apresentou pico mais intenso em 2θ = 18,88º relativo à intensidade de (102,79) cps devido à presença do plano cristalográfico (439). No Gráfico 22c, o espectro da membrana de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus* mostrou pico mais intenso em 2θ = 19,66º relativo à intensidade de (169) cps devido à presença do plano cristalográfico (451).

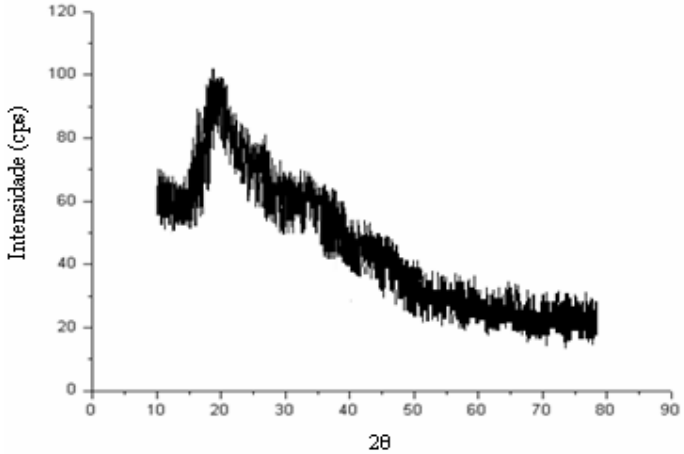
Gráfico 22a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*
7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH



Parâmetros
Quitosana: 7%
CH_3COOH: 60%
Distância capilar-coletor: 10 cm
Tensão aplicada: 30 kV
Diâmetro médio: 149 ± 0,38 nm

Fonte: Autor

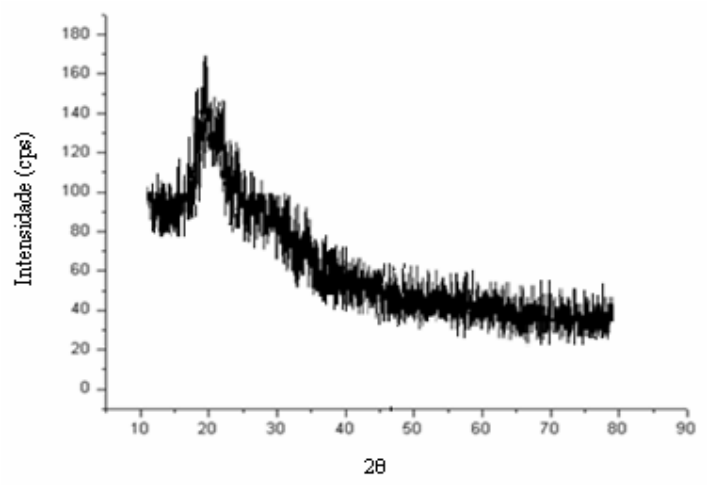
Gráfico 22b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus.*
7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH



Parâmetros
Quitosana: 7%
CH_3COOH: 60%
Distância capilar-coletor: 10 cm
Tensão aplicada: 30 kV
Diâmetro médio: 150 ± 0,44 nm

Fonte: Autor

Gráfico 22c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus*
7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH



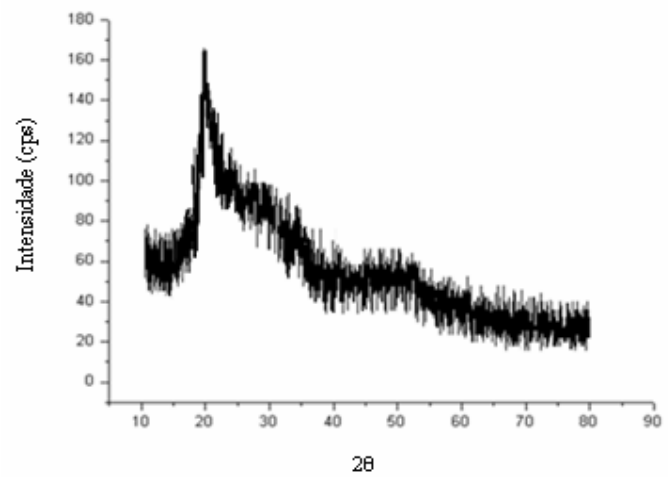
Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 60% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 148 ± 0,53 nm

Fonte: Autor

Os espectros das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e de caranguejos (*Ucides cordatus*), obtidas com 7% de quitosana em 90% de CH_3COOH estão nos Gráficos 23a, 23b e 23c.

No Gráfico 23a, o espectro por Difração de Raios-X da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei* exibiu pico cristalino de maior destaque em 2θ =20,11º relativo à intensidade de (164,22) cps devido à presença do plano cristalográfico (468). No Gráfico 23b, da membrana de *Aristeus antennatus* exibiu pico cristalino mais intenso em 2θ = 19,72º relativo à intensidade de (136) cps devido à presença do plano cristalográfico (487). No Gráfico 23c, o espectro da membrana de *Ucides cordatus* apresentou pico de maior destaque em 2θ = 20,46º relativo à intensidade de (163,73) cps devido à presença do plano cristalográfico (483).

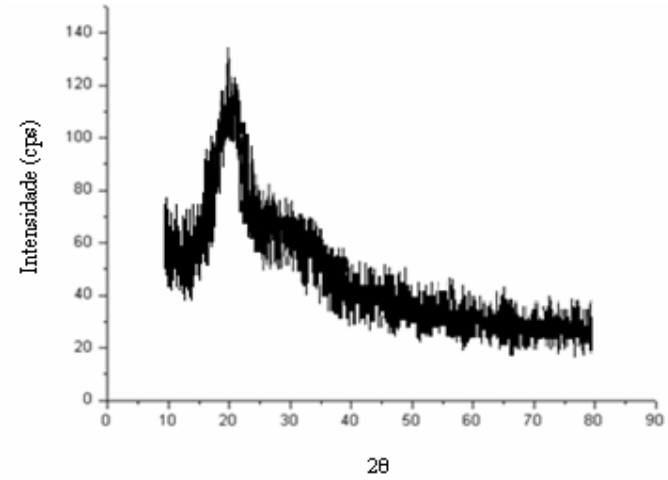
Gráfico 23a - DRX da membrana de camarões *Litopenaeus vannamei*
7% (m/v) quitosana em solução de 90% CH_3COOH



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 90% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio 138 ± 0,33 nm

Fonte: Autor

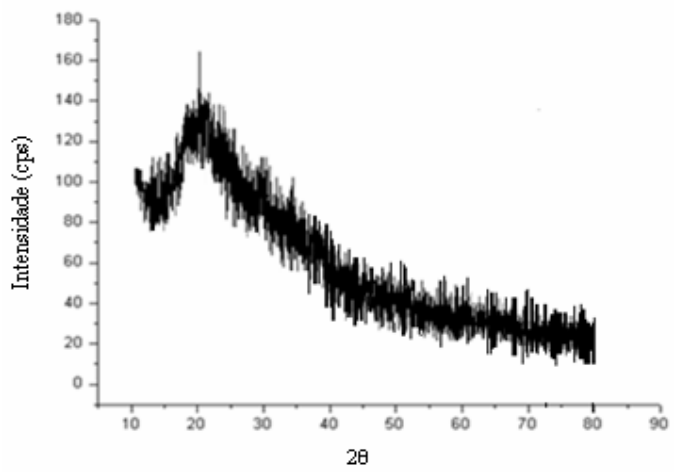
Gráfico 23b - DRX da membrana de camarões *Aristeus antennatus.*
7% (m/v) quitosana em solução de 90% CH_3COOH



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 90% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio: 140 ± 0,46 nm

Fonte: Autor

Gráfico 23c - DRX da membrana de caranguejos *Ucides cordatus*
7% (m/v) quitosana em solução de 60% CH_3COOH



Parâmetros
Quitosana: 7% CH_3COOH: 90% Distância capilar-coletor: 10 cm Tensão aplicada: 30 kV Diâmetro médio 143 ± 0,49 nm

Fonte: Autor

Os resultados apresentados nos espectros das membranas de quitosana por difração de raios-X mostraram redução da região cristalina comparados com os espectros de quitosana de camarões e caranguejos, apresentados anteriormente nos Gráficos 15a, 15b e 15c.

Os picos de maior intensidade das membranas de quitosana de camarões e caranguejos apresentaram-se entre 18 a 21,5º, indicando que a base polimérica é característica do polímero quitosana, pois a quitosana apresentou picos ente 19 e 21º, (Gráficos 15a, 15b e 15c). Além disso, nas membranas de quitosana ocorreram diminuição e alargamento de picos, indicando aumento da região amorfa.

5.10 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA DAS MEMBRANAS

Os Gráficos (24a, 24b, 24c e 24d) apresentam o comportamento térmico da curvas (DSC) das membranas de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei.*

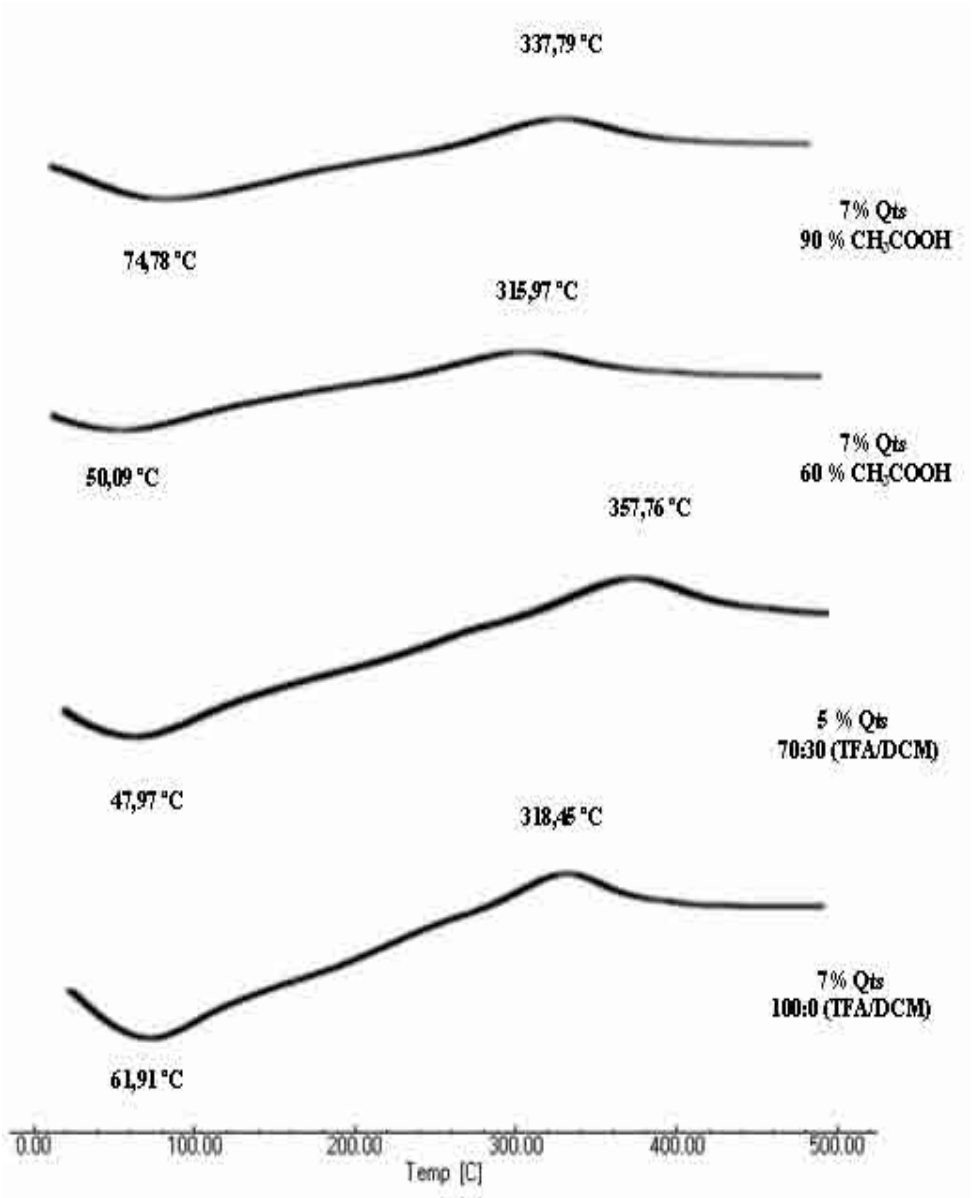
O Gráfico (24a) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei* 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM). A curva apresentou um evento endotérmico com pico em 61,91ºC, que pode ser atribuído à evaporação de substâncias voláteis, como água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 318,45ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (24b) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei* 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM). A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 47,97ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 357,76ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (24c) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarão *Litopenaeus vannamei* obtida com 7% de quitosana em 60% de CH_3COOH. A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 50,09ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com formação de evento exotérmico foi com temperatura de pico em 315,97ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (24d) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarão *Litopenaeus vannamei* obtida com 7% de quitosana em 90% de CH_3COOH. A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 74,78ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana, na qual representa a energia necessária para vaporização da água presente na membrana de quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura 337,79ºC, correspondente à decomposição.

Gráfico 24 - DSC das membranas de camarões *Litopenaus vanammei.* a. 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) b. 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) c. 7% quitosana em 60% CH_3COOH d. 7% quitosana em 90 % CH_3COOH



Fonte: Autor

Os Gráficos (25a, 25b, 25c e 25d) apresentam o comportamento térmico da curvas (DSC) das membranas de quitosana de camarões *Aristeus antennatus.*

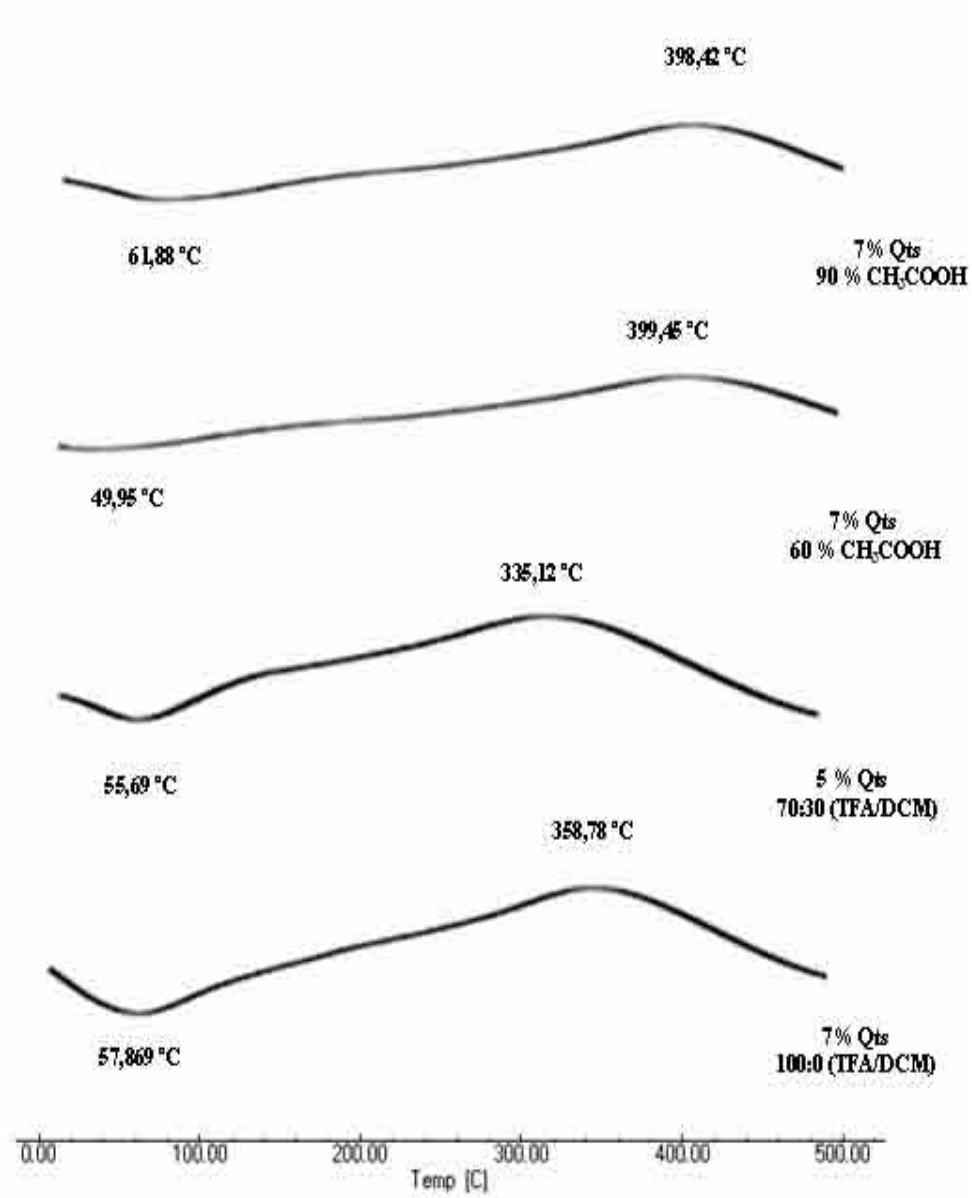
O Gráfico (25a) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarão *Aristeus antennatus* 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM). A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 57,86ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana, na qual representa a energia necessária para vaporização da água presente na membrana de quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 358,78ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (25b) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarão *Aristeus antennatus* 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM). A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 55,69ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 335,12ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (25c) o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarão *Aristeus antennatus* obtida com 7% de quitosana em 60% de CH_3COOH. A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 49,95ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 399,45ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (25d) o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de camarão *Aristeus antennatus* obtida com 7% de quitosana em 90% de CH_3COOH. A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 61,88 ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 398,42ºC, correspondente à decomposição.

Gráfico 25 - DSC de membrana de camarões *Aristeus antennatus.* a. 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) b. 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) c. 7% quitosana em 60% CH_3COOH d. 7% quitosana em 90% CH_3COOH



Fonte: Autor

Os Gráficos (26a, 26b, 26c e 26d) apresentam o comportamento térmico da curvas (DSC) das membranas de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus.*

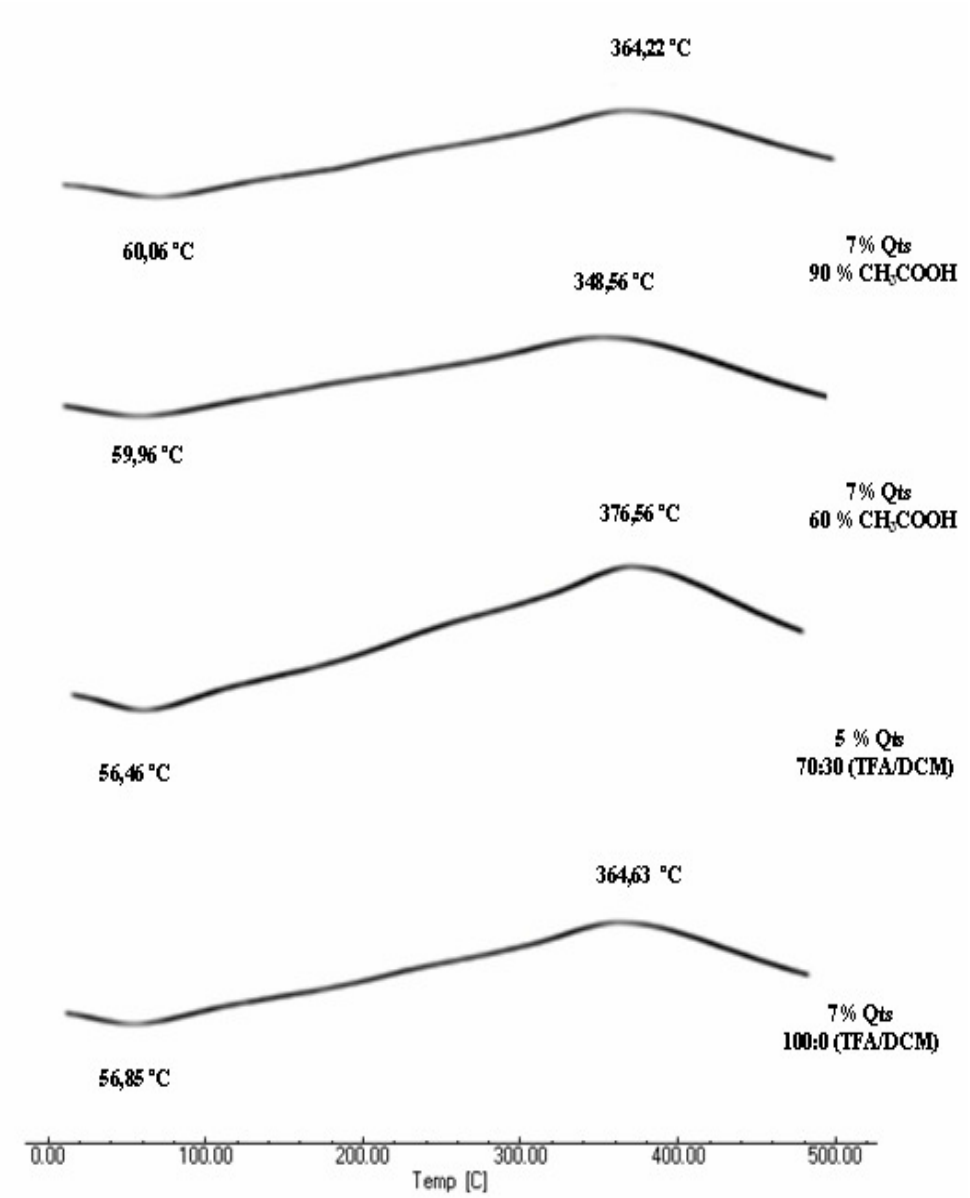
O Gráfico (26a) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus* 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM). A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 56,85ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 364,63ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (26b) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus* 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM). A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 56,46ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 376,56ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (26c) o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus* obtida com 7% de quitosana em 60 % de CH_3COOH. A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 59,96ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 348,56ºC, correspondente à decomposição.

O Gráfico (26d) apresenta o comportamento térmico da curva DSC da membrana de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus* obtida com 7% de quitosana em 90% de CH_3COOH. A curva apresentou um pico endotérmico, centrado em 60,06ºC, que pode ser atribuído à perda de água ligada a pontes de hidrogênio com grupos hidroxila da quitosana. Outra curva apresentada com evento exotérmico foi na temperatura de 364,22ºC, correspondente à decomposição.

Gráfico 26 - DSC de membrana de camarões *Ucides cordatus*. a. 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) b. 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) c. 7% quitosana em 60% CH_3COOH d. 7% quitosana em 90 % CH_3COOH



Fonte: Autor

O comportamento térmico apresentado pelas curvas DSC das membranas de quitosana de camarões (*Litopenaus vanammei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*) apresentaram estruturas similares em se tratando de mesmas soluções com pouca variabilidade e valores de picos próximos.

Alguns picos apresentaram-se mais largo diante de mesma razão de aquecimento utilizado. Nas curvas DSC das membranas de *Litopenaeus vannamei*, pode-se observar que o pico endotérmico, correspondente à perda de substâncias voláteis como a água, foi deslocado de 80,06ºC, (observado anteriormente no Gráfico 18a-DSC de quitosana de camarões *Litopenaus vanammei*), para 61,91ºC, 47,97ºC, 50,09ºC e 74,78ºC. Nas curvas DSC das membranas de *Aristeus antennatus,* pode-se observar que o pico endotérmico, correspondente à perda de substâncias voláteis como a água, foi deslocado de 81,09ºC (observado anteriormente no Gráfico18b-DSC de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*) para 57,86ºC, 55,69 ºC, 49,95ºC e 61,88ºC.

Nas curvas DSC das membranas de *Ucides cordatus,* pode-se observar que o pico endotérmico, correspondente à perda de substâncias voláteis como a água, foi deslocado de 86,98ºC (observado anteriormente no Gráfico 18c-DSC de quitosana de caranguejo *Ucides cordatus*) para 56,85ºC, 56,46ºC, 59,96ºC, e 60,06ºC.

Em algumas membranas de camarões *Aristeus antennatus* pode-se observar um pico exotérmico próximo à temperatura de 400°C, provavelmente relacionado à quebra de ligações eletrostáticas entre os grupos carboxila e amina das membranas [100].

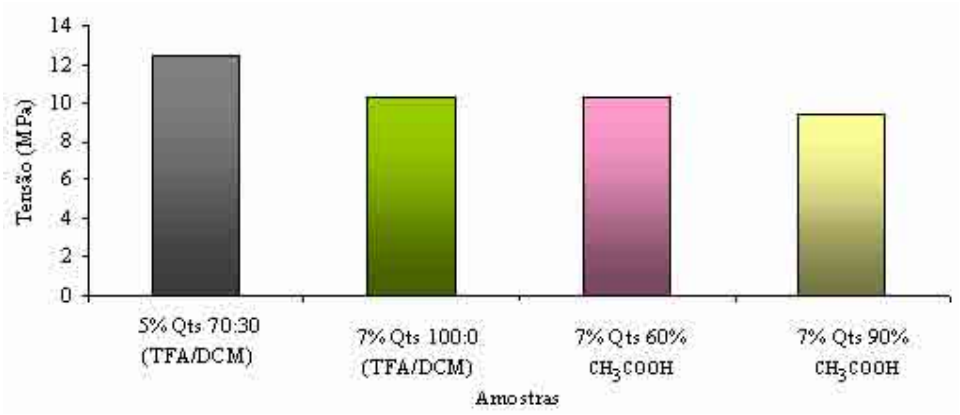
5.11 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA

A caracterização mecânica das membranas por tração constituiu um estudo complementar, tendo sido avaliado as amostras das membranas de quitosana obtidas.

Os Gráficos (27a, 27b e 27c) apresentam os diagramas de tensão/amostras para as membranas de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei* na relação 5% e 7% (m/v) quitosana dissolvida em solventes 70:30 (v/v) (TFA/DCM), 100:0 (v/v) (TFA/DCM) e 7% quitosana dissolvida em 60 e 90 % de CH_3COOH.

A tensão de ruptura foi determinada como a última tensão na qual a membrana suportou a tensão aplicada. No Gráfico 27a, a tensão de ruptura para as membranas de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei* na concentração de 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM) foi 12,44 MPa e deformação de ruptura 82 %. Para concentração 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) foi 10,32 MPa e deformação de ruptura 66%. Com a concentração 7% quitosana em 60% de CH_3COOH foi 10,34 MPa e deformação de ruptura 69%. Na concentração 7% quitosana em 90% de CH_3COOH foi 9,44 MPa e deformação de ruptura 78 %.

Gráfico 27a - Tensão máxima de ruptura das membranas de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei.*

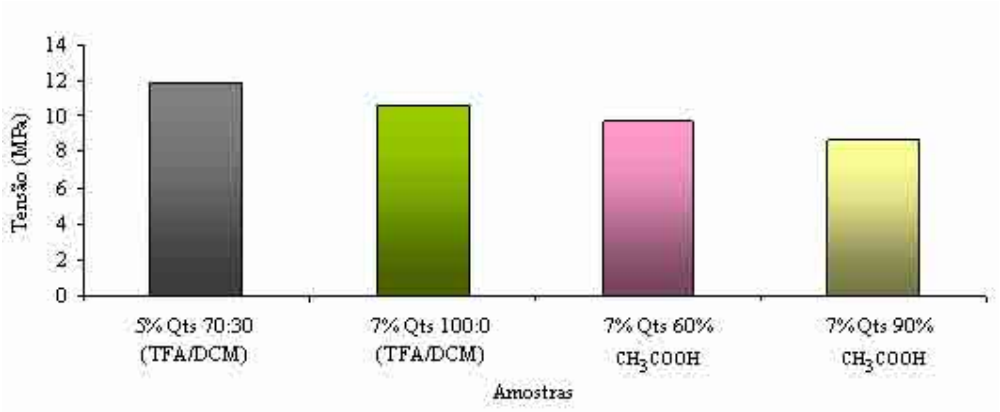


Fonte: Autor

No Gráfico 27b, a tensão de ruptura para as membranas de quitosana de camarões *Aristeus antennatus* na concentração 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM), foi 11,87 MPa e deformação de ruptura 52%. Para concentração 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM) foi 10,66 MPa e deformação de ruptura 48%. Com a concentração 7% quitosana em 60% de CH_3COOH foi 9,77 MPa e deformação de ruptura 55%. Com a

concentração 7% quitosana em 90% de CH_3COOH foi 8,64 MPa e deformação de ruptura 66 %.

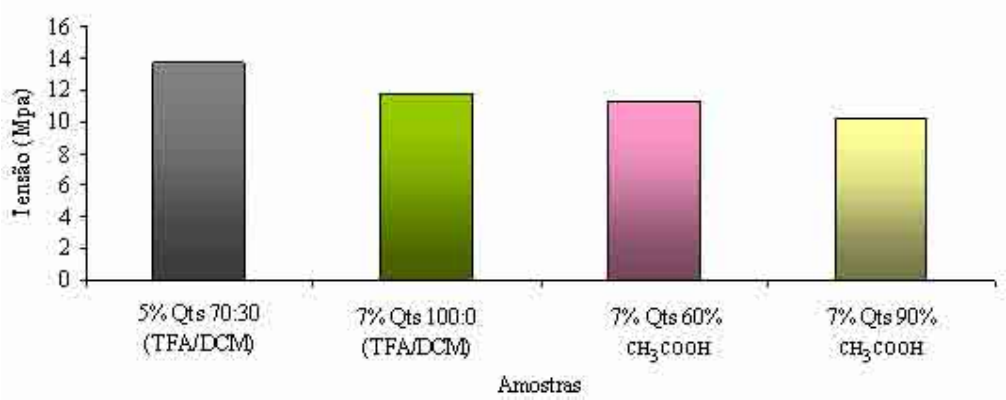
Gráfico 27b - Tensão máxima de ruptura das membranas de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*



Fonte: Autor

No Gráfico 27c, a tensão de ruptura para membranas de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus* na concentração 5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM), foi 13,75 MPa e deformação de ruptura 68%. Para concentração 7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM), foi 11,77 MPa e deformação de ruptura 36%. Com a concentração 7% quitosana em 60% de CH_3COOH foi 11,33 MPa e deformação de ruptura 44%. Com a concentração 7% quitosana em 90% de CH_3COOH foi 10,27 MPa e deformação de ruptura 64 %.

Gráfico 27c - Tensão máxima de ruptura das membranas de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*



Fonte: Autor

No Quadro 12a, 12b e 12c estão apresentadas às tensões de ruptura, deformações de ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana analisadas.

Quadro 12a - Tensão de ruptura, deformação até a ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana de camarões *Litopenaeus vannamei*

Amostras (*Litopenaeus vannamei)*	Tensão de ruptura (MPa)	Deformação até a ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM)	12,44 ± 0,40	82	20,44 ± 0,38
7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM)	10,32 ± 0,61	66	19,16 ± 0,47
7% quitosana em 60% de CH_3COOH	10,34 ± 0,38	69	14,41 ± 0,25
7% quitosana em 90% de CH_3COOH	9,44 ± 0,35	78	11,37 ± 0,23

Fonte: Autor

Quadro 12b - Tensão de ruptura, deformação até a ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana de camarões *Aristeus antennatus*

Amostras (*Aristeus antennatus)*	Tensão de ruptura (MPa)	Deformação até a ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM)	11,87 ± 0,39	52	25,85 ± 0,36
7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM)	10,66 ± 0,57	48	23,06 ± 0,44
7% quitosana em 60% de CH_3COOH	9,77 ± 0,36	55	13,89 ± 0,23
7% quitosana em 90% de CH_3COOH	8,64 ± 0,33	66	10,52 ± 0,21

Fonte: Autor

Quadro 12c - Tensão de ruptura, deformação até a ruptura e módulo de Young das membranas de quitosana de caranguejos *Ucides cordatus*

Amostras (*Ucides cordatus*)	Tensão de ruptura (MPa)	Deformação até a ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
5% (m/v) quitosana em 70:30 (v/v) (TFA/DCM)	13,75 ± 0,44	68	25,97 ± 0,41
7% (m/v) quitosana em 100:0 (v/v) (TFA/DCM)	11,77 ± 0,62	36	20,04 ± 0,54
7% quitosana em 60% de CH_3COOH	11,33 ± 0,39	44	17,45 ± 0,30
7% quitosana em 90% de CH_3COOH	10,27 ± 0,36	64	14,83 ± 0,33

Fonte: Autor

Com relação às membranas de concentração 7% quitosana em 60% CH_3COOH apresentaram maior tensão de ruptura e menor deformação comparadas as de concentração 7% quitosana em 90% CH_3COOH. As membranas de concentração 90% em ácido acético contribuíram para a diminuição das forças de interação entre as cadeias da quitosana e consequentemente a mobilidade aumentou, resultando em diminuição de tensão na ruptura e aumento da deformação.

As membranas de 5% (m/v) quitosana 70:30 (v/v) (TFA/DCM) apresentaram maior valor de tensão na ruptura e maior deformação, comparando com as membranas de 7% (m/v) quitosana em 100:00 (v/v) (TFA/DCM) que tiveram menor tensão de ruptura, mesmo tendo maior concentração de quitosana. Como o TFA é um solvente não aquoso, sendo menos volátil que DCM contribuiu para uma tensão mais baixa, quando em uso isolado.

Nos resultados obtidos de tensão por tração e deformação, foi observado que as membranas de quitosana de camarões e caranguejos apresentaram valores de tensão de ruptura entre 8,64 a 13,75 MPa. Na literatura apresentam algumas variações de tensão por tração das membranas que variam de 3MPa a 7MPa e deformação de 3% a 90%, respectivamente [101] Diante dos resultados, pode-se considerar as membranas obtidas adequadas para a aplicação como substituto ósseo e da pele, pois cotidianamente os ossos são submetidos a tensões de até 4 MPa [102].

No caso da pele, por exemplo, a literatura apresenta valores de referência para o módulo de Young e tensão por tração variando de 4,6MPa a 20MPa e 2,5MPa a 16MPa [103]. E as membranas obtidas apresentaram valores nessa faixa de referência.

6 CONCLUSÕES

De acordo com o objetivo do trabalho e com relação às etapas desenvolvidas e resultados obtidos, conclui-se que:

As etapas para extração do bioplímero quitosana mostraram-se eficientes, pois apresentaram grau de desacetilação (GD) acima de 60%, contribuindo para a solubilização e processo de eletrofiação dos nanofilamentos das membranas de quitosana.

Os eventos térmicos (TG/DTG) foram bastante semelhantes. As curvas de análises por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram coerentes com os eventos observados nas análises termogravimétricas (TG).

A análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi essencial para observação do formato e tamanho das partículas de quitina e quitosana, destacando suas características superficiais quanto ao aspecto das amostras dos biopolímeros e das membranas de quitosana.

Através das análises por Difração de Raios-X (DRX) foi possível confirmar a baixa cristalinidade do biopolímero quitosana comparado com a quitina, a qual teve alta cristalinidade, sendo observado nas intensidades da mesma nos espectros. Os espectros da quitina apresentaram maiores picos e em maior número do que os espectros da quitosana.

As identificações dos grupos funcionais através de Espectroscopia na Região de Infravermelho e Transformada de Fourier (FTIR) foram de grande importância para identificar a quitina e a quitosana contribuindo para determinação do grau de desacetilação (GD) da quitosana.

O ácido trifluoracético (TFA) puro contribuiu para má formação dos nanofilamentos das membranas de quitosana, apresentando aglomerados, pois a adição de diclorometano (DCM) promoveu a volatilidade, contribuindo deste modo para a diminuição do número de aglomerados e conseqüentemente melhorou a homogeneidade e formação dos nanofilamentos das membranas.

A adição de solventes: ácido acético (CH_3COOH) e trifluoracético/diclorometano (TFA/DCM) nas membranas de quitosana produzidas fizeram à intensidade dos picos apresentados nos espectros de Difratometria de Raios-X (DRX) diminuírem. Isso mostra que a incorporação desses solventes a quitosana, diminuiu a cristalinidade das amostras, provavelmente localizando-se entre as cadeias poliméricas, ligando-se aos grupos funcionais

da quitosana e assim provocando maior desordem entre as cadeias do polímero. Justificado também pelas técnicas de (FTIR e DSC).

A concentração em ácido acético (CH_3COOH) aquoso a 60% e 90%, bem como 70:30 (v/v) trifluoracético/diclorometano (TFA/DCM) contribuiu para a facilitação na formação de membranas de quitosana de camarões (*Litopenaeus vannamei* e *Aristeus antennatus*) e caranguejos (*Ucides cordatus*), como pôde ser verificado nas micrografias realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura no (MEV).

A distância capilar-coletor de 10 cm e tensões de 25 e 30 kV contribuíram para diminuição dos diâmetros dos nanofilamentos das membranas de quitosana e não ocorreu formação de aglomerados, como ocorreu na distância capilar-coletor de 5 cm e tensão de 20 kV. Logo concluí-se que a distância 10 cm e tensões de 25 e 30 kV contribuíram para a vaporização do solvente e facilitação na formação das membranas eletrofiadas.

De um modo geral, a presença da quitosana altera as propriedades mecânicas da membrana, sendo este efeito complexo e dependente, quer da concentração quer do solvente utilizado. Percebeu-se que a quitosana em menor concentração promoveu aumento da deformação na membrana. Este efeito pode ser devido ao posicionamento das moléculas de quitosana nos espaços existentes entre as moléculas de trifluoracético/diclorometano (TFA/DCM) causando maior flexibilidade ao material. Percebe-se que ainda que o aumento da concentração de ácido acético (CH_3COOH) contribuiu para aumentar a deformação de ruptura e diminuir tensão de ruptura da mesma.

Foi observado que as membranas apresentaram valores de tensão de ruptura entre 8,64 a 13,75 MPa, podendo considerar adequadas para a aplicação como substituto ósseo e de pele, pois cotidianamente os ossos são submetidos a tensões de até 4 MPa. E a pele varia de 2,5 a 16 MPa.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros foram identificados assuntos os quais se beneficiariam com a realização de futuras pesquisas.

1. Extrair o biopolímero quitina e quitosana a partir de outros tipos de crustáceos.

2. Investigação da evolução das propriedades mecânicas em função do tempo em estruturas nanométricas de quitosana com os outros tipos de solventes.

3. Análise microestrutural das estruturas nanométricas de quitosana após envelhecimento ao natural em tempos longos.

4. Considerando as possibilidades de aplicações biomédicas do material estudado, realizar análise da estrutura nanométrica em relação à biocompatibilidade, biodegradabilidade, entre outros durante a regeneração tecidual.

REFERÊNCIAS

[1] MOURA C.; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C.; ALMEIDA, J.; PINTO, L. Quitina e Quitosana produzida a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo a escala piloto. Vetor, Rio Grande, 1, p. 37-45, 2006.

[2] CAMPANA F. S.; CURTI, E.; ABREU, F.; CARDOSO, M.; BATTISTI, M.; SIM, P.; GOY, R..; SIGNINI, R.; LAVALL, R. Extração, estrutura e propriedades de a- e ß- quitina, **Química Nova**, 30, 3, p. 644-650. 2007.

[3] RINAUDO M. Chitin and Chitosan: properties and applications. Prog. Polym. Sci. 31, p. 603–632, 2006.

[4] SANTOS, J. E. Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de shiff biopoliméricas e seus complexos de cobre. Tese (Doutorado em Ciências – Área Química Analítica) - Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 124f.. 2004.

[5] RABEA, E. I.; BADAWY, M. E. T.; STEVENS, C. V.; SMAGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules, 4, p. 1457-1465. 1993.

[6] TENG, L. W.; KHOR, E.; TAN, T. K.; LIM, L. Y.; TAN, S. C. Concurrent production of chitosan: from shrimp shells and fungi. Carbohydrate research, v. 332, p. 305-316. 2001.

[7] CRAVEIRO A. A.; CRAVEIRO A. C.; QUEIROZ D. C. **Quitosana**: A fibra do futuro, Editora Universitária, 1998.

[8] SPILLERE, L. C.; BEAUMORD. A. C. Formulação de uma hipótese global de situação de impacto para o parque industrial pesqueiro instalado em Itajaí e Navegantes-SC. Engenharia Sanitária e ambiental, v.11, n.14. 2006.

[9] TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G.; Obtenção e caracterização de blendas colágeno- quitosana. **Quim. Nova**, 25: p. 943. 2002.

[10] AGARWAL, S. et al. Use of electrospinning technique for biomedical applications. **Polymer**. v. 49, p. 5603-5621, 2001.

[11] LIM, S. L. et al. Electrospun scaffolds for stem cell engineering. Advanced Drug Delivery Reviews. v. 61, p.1084-1096. 2009.

[12] LI D.; XIA Y. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel. Adv Mater;16:p. 1151–70. 2004.

[13] BOGNITZKI, M.; W. CZADO.; T. FRESE.; A. SCHAPER.; M. HELLWIG.; M. STEINHART.; A. GREINER.; J. H. WENDORFF. Nanostructured fibers via electrospinning. Advanced Materials 13(1): p. 70-72. 2001.

[14] HIRANO, S. Chitin biotechnology application. **Biotechnol.** Annu**.** Ver., v.2. p.237-258. 1996.

[15] CHEW, S Y.; WEN Y.; DZENIS Y.; LEONG K W. The role of electrospinning in the emerging field of nanomedicine, **Current Pharmaceutical Design**, 12: p. 4751-4770. 2006.

[16] ROBERT, G. A. F. Chtitin chemistry, Macmillan, London 14 (3) p.166-169, Jun, 1992.

[17] SANTOS, José E. Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de Shiff biopoliméricas e seus complexos de cobre. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2004. 112f. (Tese, Doutorado em Química analítica).

[18] VELÁSQUEZ, C.L.; **Revista Iberoamericana de Polímeros**; 2003; 4; 91

[19] ABDOU, E. S.; NAGY, K. S. A.; ELSABEE, M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. **Bioresourse Technology**, v. 99, p. 1359-1367. 2008

[20] CARVALHO T. Biomateriais à base de quitosana de camarão e bactérias para remoção de metais traços e petróleo, Universidade Federal do Ceará. 2006.

[21] AZEVEDO, V.; CHAVES, S.; BEZERRA, D.; LIA FOOK, M.; COSTA, A. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais, **Revista Eletrônica de Materiais e Processos** n. 2, p. 27-34. 2007.

[22] KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. React. & Funct. Polym. 46: 1, 2000.

[23] GOOSEN, M. E. A. Aplications of chitin and chitosan. **Technomic Publisshing Company**, Lancaster, 1996.

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

[25] ANTONIO, N. A. Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira de Paraibana. Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, Brasil, mar 2007.

[26] GAILL, F.; PERSSON, J.; SUGIYAMA, P.; VUONG, R.; CHANZY, H. The chitin system in the tubes of deep sea hydrothermal vent worms. J. Struct. Biol., 109, p.116-28, 1992.

[27] SIGNINI, R. Estudos de obtenção, purificação e caracterização de quitosana. Dissertação (mestrado), Instituto de química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 110f,1998.

[28] WU, C. H..; LO, S. L.; LIN, C. F.; KUO, C. Y. Modeling competitive adsorption of molybdate, sulfate and selenate on γ -Al_2CO_3 by the triple -layer model. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 233, p-259- 264, 2001.

[29] CANELLA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação do solvente. **Quimica Nova**, 24: 1, p.13-17 , 2001.

[30] NG, J. C. Y.; CHEUNG, W. H.; MCKAY, G. Equilibrium Studies of the Sorption of Cu (II) Ions onto Chitosan. J. Colloid. Interface Sci. 255, 64, 2002.

[31] VARMA, A. J.; DESHPANDE, S. V.; KENNEDY, J. F.; Carbohydr. Polym. 55, 77. 2004.

[32] ABRAM, A. P.; HIGUERA, I. Quitina y quitosano: obtencion, caracterizacion y aplicaciones. Programa Cyted - Pontificia Universidad Catolica del Peru/Fondo Editorial: Lima, cap 1, 2004.

[33] AOI, K.; SEKI, T.; OKADA, M.; SATO, H.; SHIN-ICHI, M.; OHTANI, H.; TSUGE, S.; SHIOGAI, Y.; **Macromolecular Chemistry and Physics**; 2000.

[34] DUTTA, K. P.; RAVIKUMAR, M. N. V.; DUTTA, J. Chitin and chitosan for versatile applications. **Journal Macromolecular Science,** v. 42 (3), p.307-354, 2003.

[35] CHO, Y. W.; HAN, S. S.; KO, S. W. PVA containing chito-oligosaccharide side Chain. Polymer, v.41, p.2033-2039, 2000.

[36] KUMAR, M. N. V. R.; MUZZARELLI, R.A.A.; MUZZARELLI, C.; SASHIWA, H.; DOMB, A.J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**, v.104, n.12, p.6017-6084, 2004.

[37] SARASAM, A. R. Antibacterial activity of chitosan-based matrices on oral pathogens. J. Mater. Sci.: Mater. Med., v.19, p.1083-1090, 2008.

[38] GÄLLSTEDT, M.; HEDENQVIST M. S, Packaging-related mechanical and barrier properties of pulp-fiber-chitosan sheets, Carbohydrate Polymers, 63, p. 46-53. 2006.

[39] PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation, **Progress in Polymer Science**, 34, p. 641-678. 2009.

[40] TANIGAWA, J.; MIYOSHI, N.; SAKURAI, K. Characterization of chitosan/citrate and chitosan/acetate films and applications for wound healing, **Journal of Applied Polymer Science**, v. 110, n. 1. p.608–615, 2008.

[41] CHEN, A.H.; LIU, S.C.; CHEN, C.Y.; CHEN, C.Y.; Comparative adsorption of Cu (II), Zn (II) and Pb (II) ions in aqueous solution on the crosslinked chitosan with epichlorohydrin. J. Hazard. Mat. 154: p.184, 2009.

[42] SIQUEIRA, J. R.; GASPAROTTO, L. H. S.; CRESPILHO, F. N.; CARVALHO, A. J. F.; ZUCOLLOTO , V.; OLIVEIRA, J. R. O. N. Physicochemical properties and sensing ability of metallophthalocyanines /chitosan nanocomposites. **Journal of Physical Chemistry B**. v. 110, n.45, p. 22690-22694, 2006.

[43] NO, H.K.; MEYERS, S.P. Preparation of chitin and chitosan in: Chitin Handbook; Muzzarelli, R.A.A.; Peter, M.G. (Ed.); European Chitin Society; p.475. 1997.

[44] GOYCOOLEA, F. M.; AGULLÓ, E.; MATO, R. Fuentes y procesos de obtencion en: Quitina y Quitosano . Pastor A. Ed.; Pontificia Universidad Católica del Perú-CYTED-CIAD; 105. 2004.

[45] RINAUDO, M.; PAVLOV, G.; DESBRIERES, J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. 1999.

[46] FRANCO L. O.; STAMFORD T. C. M.; STAMFORD N. P.; TAKAKI G. M. C.; Cunnigamella elegans (IFM 46109), **Revista Analytica**, p. 40, 2005.

[47] HIGUCHI, C. I. Chitosan- Xanthan Hydrogel: a matriz of inclusion and the delivery of drugs. Tese (Doutorado) Département de genie chimique, Université de Sherbrooke Quebéc, 189f, 2002.

[48] HUANG, Z. M., et al. Encapsulating drugs in biodegradable ultrafine fibers through co-axial, electrospinng. **Journal of biomedical Materials Research**, Part A.77A: p.169-79. 2003.

[49] GREINER, A.; Wendorff, J. H. Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. Angewandte Chemie International Edition, 46(30): 5670-5703. 2007.

[50] RAMAKRISHNA S. et al. An introduction to electrospinnig and nanofibers. Singapore, 2006.

[51] PHAM, Q. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A Review. Tissue Engineering. Vol.12, n. 5, p. 101-110, 2006.

[52] SUBBIAH, T. et al. Electrospinning of nanofibers. **Polymer Science**. 2005.

[53] CARDENAS J. R. Fabricação de Micro e Nano Fibras de Polianilina Pela Técnica de Electrospinning. Departamento de Física, UFPE. Cidade Universitária, 50670-901, Recife PE, Brasil.

[54] GOPAL, R.; S. KAUR.; Z. W. MA.; C. CHAN.; S. RAMAKRISHNA.; T. MATSUURA. Electrospun nanofibrous filtration membrane. **Journal of Membrane Science** 281(1-2): p.581-586. 2006.

[55] CHONG E. J. et**.** al. Evaluation of electrospun PCL /gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstituition. Acta Biomater , 3: p. 321 -330. 2007.

[56] MATTHEWS, J. A..; G. E. WNEK.; D. G. SIMPSON.; G. L. BOWLIN Electrospinning of collagen nanofibers. Biomacromolecules 3(2): p. 232-238. 2002.

[57] LAWRENCE, N. D.; HICKEY, M. W.; IYER, M. Storage of ultrafiltration membranes: effect of various chemicals on performance. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 52, p. 63-64, 1997.

[58] HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. Processos de separação com membranas**.** Rio de Janeiro: COPPE / UFRJ, 1997.

[59] DUAN, B.; C. H. DONG.; X. Y. YUAN.; K. D. YAO. Electrospinning of chitosan solutions in acetic acid with poly(ethylene oxide). **Journal of Biomaterials Science-Polymer**, Ed: 15(6): p. 797-811. 2004.

[60] MIN, B. M.; S. W. LEE.; J. N. LIM.; Y. YOU.; T. S. LEE.; P. H. KANG.; W. H. PARK. Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers." Polymer 45(21): p.7137-7142. 2004.

[61] OHKAWA, K.; D. I. CHA.; H. KIM.; A. NISHIDA.; H. YAMAMOTO. Electrospinning of chitosan. Macromolecular Rapid Communications 25(18): p. 1600-1605. 2004.

[62] PARK, W. H.; L. JEONG.; D. I. YOO.; S. HUDSON. Effect of chitosan on morphology and conformation of electrospun silk fibroin nanofibers." Polymer 45(21): p. 7151- 7157. 2004.

[63] SPASOVA, M.; N. MANOLOVA.; D. PANEVA.; I. RASHKOV. Preparation of chitosan- containing nanofibres by electrospinning of chitosan/poly (ethylene oxide) blend solutions. E-Polymers. 2004.

[64] GENG, X. Y.; O. H. KWON.; J. H. JANG. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. Biomaterials 26(27): p.5427-5432, 2005.

[65] SUBRAMANIAN, A.; D. VU, G. F. LARSEN.; H. Y. LIN. Preparation and evaluation of the electrospun chitosan/PEO fibers for potential applications in cartilage tissue engineering. **Journal of Biomaterials Science-Polymer** Ed: 16(7): p. 861-873. 2005.

[66] LI, L.; HSIEH, Y. L.. Chitosan bicomponent nanofibers and nanoporous fibers. Carbohydrate Research 341(3): p.374-381. 2006

[67] MATTHEWS, J. A..; BOLAND, E. D., WNEK, G. E.; SIMPSON, D. G.; BOWLIN, G. L.. Electrospinning of collagen type II: A feasibility study. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers** 18(2): p. 125-134.2003.

[68] BUTTAFOCO, L.; KOLKMAN, N. G..; ENGBER, B.P.; POOT, A. A..; DIJKSTRA, P. J.; VERMES, I.; FEIJEN, J. Electrospinning of collagen and elastin for tissue engineering applications. Biomaterials 27(5): p.724-734. 2006.

[69] RHO, K. S.; JEONG, L.; LEE, G.; SEO, B. M.; PARK, Y. J.; HONG, S. D.; ROH, S.; CHO, J. J.; PARK, W. H.; MIN, B. M. Electrospinning of collagen nanofibers: Effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. Biomaterials 27(8): p. 1452-1461, 2006.

[70] KI, C. S.; BAEK, D. H.; GANG, K. D.; LEE, K. H.; UMI. C.; PARK, Y. H. Characterization of gelatin nanofibers prepared from gelatin-formic acid solution. **Polymer** 46(14): p. 5094-5102. 2005.

[71] ZHANG, Y. Z.; VENUGOPAL, J.; HUANG, Z. M.; LIM, C. T.; RAMAKRISHNA, S. Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers. **Polymer** 47(8):p. 2911-2917.2006.

[72] OHGO, K.; ZHAO, C. H..; KOBAYASHI., M.; ASAKURA, T. Preparation of non-woven nanofibers of Bombyx mori silk, Samia cynthia ricini silk and recombinant hybrid silk with electrospinning method. Polymer 44(3): 841-846. 2003.

[73] BHATTARAI, N. Z. S.; EDMONDSON, L D.; ZHANG, M. Q. Alginate-based nanofibrous scaffolds: Structural, mechanical, and biological properties. Advanced Materials 18(11): p. 1463-1467. 2006.

[74] YI, F.; GUO, Z. X..; HU, P.; FANG, Z. X.; YU, J.; LI, Q. Mimetics of eggshell membrane protein fibers by electrospinning. Macromolecular Rapid Communications 25(10): p. 1038-1043. 2004.

[75] XIE, J. B.; HSIEH, Y. L. Ultra-high surface fibrous membranes from electrospinning of natural proteins: casein and lipase enzyme. **Journal of Materials Science** 38(10): p. 2125-2133. 2003.

[76] WOERDEMAN, D. L.; YE, P.; SHENOY, S.; PARNAS, R. S.; WNEK, G. E.; TROFIMOVA, O. Electrospun fibers from wheat protein: Investigation of the interplay between molecular structure and the fluid dynamics of the electrospinning process. Biomacromolecules 6(2): p. 707-712. 2005.

[77] JIANG, H. L.; FANG, D. F.; HSIAO, B. S.; CHU, B.; CHEN, W. L. Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. Biomacromolecules 5(2): p. 326-333. 2004.

[78] MA, Z.; KOTAKI, M.; YONG, T.; HE, W.; RAMAKRISHNA, S.. Surface engineering of electrospun polyethylene terephthalate (PET) nanofibers towards development of a new material for blood vessel engineering. Biomaterials 26(15): p. 2527-2536. 2005.

[79] WANNATONG, L.; SIRIVAT, A.; SUPAPHOL, P. Effects of solvents on electrospun polymeric fibers: preliminary study on polystyrene. Polymer International 53(11): 1851-1859. 2004.

[80] DING, B.; KIM, H. Y.; LEE, S. C.; SHAO, C. L.; LEE, D. R.; PARK, S. J.; KWAG, G. B.; CHOI, K. J. Preparation and characterization of a nanoscale poly(vinyl alcohol fiber aggregate produced by an electrospinning method. **Journal of Polymer Science.** Part B-Polymer Physics 40(13): p. 1261-1268. 2002.

[81] DUARTE, M. L.; FERREIRA, M. C.; MARVÃO, M. R.; ROCHA, J. Determination of the degree of acetylation of chitin materials by CCP/MASNMR spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, 28, p. 359-363, 2001.

[82] TORRES, M. A.; VIEIRA, R. S.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. Polímeros: Ciência e Tecnologia, 15, p.306-312, 2005.

[83] TAN, S. C.; KOR, E.; TAN, T. K.; WONG, S. M. The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivate UV- spectrophotometry meted of determination". Talanta 45, p. 713-719, 1998.

[84] LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQI, A. N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.; WANG, D.; BUSCHMANN, M. D.; GUPTA, A. A validated 1H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical** Analysis, 32, p.1149-1158, 2003.

[85] MOORE, G. K.; ROBERTS, G. A. E. Determination of the degree of acetylation of chitosan.Int. J. Biol. Macromol, v. 2, p. 115-116, 1980.

[86] DOMARD, A.; RINAUDO, M. Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. Int. J.Biol. Macromol., v. 5, n. 2, p. 49-52, 1983.

[87] WENDELANDT, W. W. Thermal Analysis, Third edition, John Wiley & Sons, New York, 58 (5) :1986.

[88] SILVA, C. L. M. Obtenção de Ésteres Etílicos a Partir da Transesterificação do Óleo de Andiroba com Etanol. Universidade Estadual de Campinas. Dissertação, 2005. p.78.

[89] MOTHÉ, C. G; AZEVEDO, A. D., **Análise térmica de materiais**. São Paulo: Editora, 2002.

[90] NIELSEN,L. Mechanical properties of polymers and composites. New York, N.Y: Marcel Decker, v . 1, p. 1-1.1988.

[91] JÚNIOR, E. S. C. Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial. 2008.

[92] LEITE, Alberto. Manual Prático-Medidas Técnicas de Conservação dos Recursos da Pesca-Continente. Tamanhos mínimos legais das espécies aplicáveis na pesca lúdica. p.8. 2006.

[93] SOARES, N. M et al. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. **Revista Univap**, São José dos Campos-SP, v.10, n°18, p.88-92, junho 2003.

[94] LI, J.; REVOL, J. F.; MARCHESSAULT, R. H. J. **Appl.Polym**. 16, p. 83.1998.

[95] MOURA, J. M.; FERREIRA, F. C.; Silva, F. M. M.; RIZZI, J.; PINTO, L.A.A. Obtenção de quitina a partir de carapaças de siri-Uso de um planejamento experimental na etapa de desmineralização. v. 15. p. 7-17, 2005.

[96] 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, p. 99–105, 2000.

[97] WESKA. R. F, MOURA, J. M, BATISTA, L. M, RIZZI, J. AND PINTO L. A. A. 2007. Optimization of Deacetylation in the Production of Chitosan from Shrimp Wastes- Use of Response Surface Methodology. **Journal of Food Engineering**, Vol. 80, pp. 749 - 753.

[98] BOSCHI, A. O. Mechanical Tests of Chitosan Membrane Coated with hydroxyapatite: Effect of Addition of Sodium Hydroxide. UFSCar, SP. 2006.

[99] SREENIVASAN, K. Thermal stability studies of some chitosan-metal ion complexes using differential scanning calorimetry. Polymer degradation and stability, v. 52, p. 85-87, 1996.

[100] MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. Journal of Colloid and Interface Science, v. 321, p. 477-483, 2008.

[101] ROCHA, M. B. Membranes for development of nanofibers by electrospinning. dqua, p. 99. 2007.

[102] RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; LEONG, K. W. Biomedical applications of polymer-composite materials: an review. Composites Science and Technology, p.1189-1224. 2001.

[103] MATTEI P. C., BEC, S.; ZAHOUANI, H. In vitro measurements of the elastic mechanical properties of human skin by indentation tests. Medical Engineering e Physics, v.30, p.599-606, 2008.