UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DE RESÍDUOS DE CAMARÃO: ANÁLISE DO PROCESSO E DA OPERAÇÃO DE SECAGEM

Lucia de Moraes Batista

Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto

ORIENTADOR

Rio Grande, RS

2009

Resumo

A quitina é encontrada principalmente nos exoesqueletos de crustáceos, insetos e na parede celular de fungos. O biopolímero quitosana é obtido através da hidrólise alcalina da quitina. A despolimerização da quitosana é realizada para se obter um produto com valores baixos de massa molecular. O uso da quitosana em diversas áreas é diretamente relacionada com a massa molecular e o grau de desacetilação do polímero. Os objetivos deste trabalho foram o estudo da cinética de secagem de quitina em camada delgada utilizando um modelo difusivo, considerando a resistência externa à transferência de massa; a determinação do comportamento da massa molecular média viscosimétrica da quitosana, durante a secagem convectiva, em camada delgada; a otimização das etapas de desacetilação e despolimerização da quitosana. A quitina foi obtida de resíduos de camarão. Os experimentos da secagem de quitina e da quitosana foram em secador de bandejas, a 60°C, sendo que para a quitina foram utilizadas duas velocidades do ar de 0,5 e 1,5 m/s. A estimativa da viscosidade intrínseca foi através da equação de Huggins e a massa molecular da quitosana foi calculada pela equação de Mark-Houwink-Sakurada. As otimizações da reação de desacetilação e despolimerização foram realizadas utilizando a metodologia da superfície de resposta. Para a reação de desacetilação foram variados o tempo e a temperatura. Para a reação de despolimerização foram analisados a concentração de ácido clorídrico, a temperatura e o tempo de reação. O modelo difusivo com difusividade efetiva variável, utilizado para analisar a secagem de quitina, apresentou concordância com os dados experimentais, onde foi observado o efeito da resistência externa à transferência de massa, quando utilizada a menor velocidade do ar. A condição ótima da reação de desacetilação para massa molecular foi observada na temperatura de 130°C em 90 min, e correspondeu a massa molecular de 150 kDa e um grau de desacetilação de 90%. A operação de secagem da quitosana causou um aumento na massa molecular média viscosimétrica de 27% e este aumento foi linear com o tempo e a umidade do polímero, apresentando duas regiões. As condições da reação de despolimerização para alcançar 50 kDa foram à temperatura de reação de 65°C, concentração de ácido clorídrico de 35% v/v. Nestas condições a cinética de despolimerização foi de pseudo-primeira ordem, apresentando duas fases.

Palavras-chave: quitina, quitosana, secagem convectiva, desacetilação, despolimerização.

Abstract

Chitin is commonly found in the exoskeleton of crustaceans, insects and in the cell walls of fungi. Chitosan biopolymer is obtained by the alkaline deacetylation from chitin. The depolymerization of chitosan is carried out to obtain a product with low molecular weight. The use of the chitosan in several areas is directly related with the molecular weight and deacetylation degree of the polymer. The aims of this work were: the study of chitin drying kinetics in the thin layer, using diffusive model, considering external resistance to the mass transfer; the behavior determination of the viscosimetric avarage molecular weight of the chitosan, during drying, in thin layer; optimization of the deacetylation and depolymerization steps of the chitosan. Chitin was obtained of shrimp residues. The experiments of chitin and chitosan drying was in the tray dryer, at 60°C, and for chitin two velocities was used 0.5 and 1.5 m/s. The estimate of chitosan intrinsic viscosity was through Huggins' equation and the molecular weight of chitosan was calculated by Mark-Houwink-Sakurada's equation. The otimization of the deacetylation and depolymerization reactions was realized using response surface methodology. For deacetylation reaction time and temperature were varied. For depolymerization the acid concentration, the temperature and time of the reaction were analised. The diffusive model with variable effective diffusivity, used to analyze the chitin drying, was in agreement with experimental data, when the effect of the external resistance to the mass transfer was observed. The best condition to the deacetylation reaction was observed in the temperature of 130°C in 90 min, and corresponded a molecular weight of 150 kDa and a deacetylation degree of 90%. The chitosan drying operation induced a increase in the molecular weight of 25% and it was linear with the time and the polymer moisture, presents two regions. The depolymerization reaction conditiond, to reach 50 kDa was in the hydrochloride acid concentration of 35% v/v at 65°C. In this conditions the depolymerization kinects was in the pseud-first order, presenting two phases.

Key-words: chitin, chitosan, drying, deacetylation, depolymerization.

SUMÁRIO

Resumo.....i
Abstract.....ii
Sumário.....iii
Lista de Figuras.....vi
Lista de Tabelas.....viii

CAPÍTULO I

1 Introdução.....1
1.1 Objetivo geral.....2
1.2 Objetivos específicos.....3

CAPÍTULO II

2 Revisão bibliográfica 5
2.1 Quitina.....5
2.2 Quitosana..... 8
2.2.1 Método de determinação da massa molecular 10
2.2.2 Método de determinação do grau de desacetilação 11
2.2.3 Despolimerização da quitosana.....11
2.3 Secagem de Materiais Sólidos 12
2.3.1 Conceitos e mecanismos.....12
2.3.2 Períodos de secagem.....15
2.3.2.1 Período de taxa constante.....15
2.3.2.2 Período de taxa decrescente.....15
2.3.3 Cinética de secagem:modelos.....16
2.3.3.1 Modelo difusivo.....16
2.3.4 Isotermas de equilíbrio 17
2.3.5 Secagem de quitosana 18

CAPÍTULO III

SECAGEM CONVECTIVA DE QUITINA: EFEITO DA RESISTÊNCIA EXTERNA À TRANSFERÊNCIA DE MASSA

Resumo 21

1 Introdução.....22
2 Materiais e Métodos 25
2.1 Matéria-prima 25
2.2 Procedimento experimental..... 25
2.3 Modelagem da secagem 27
3 Resultados e Discussão 29
3.1 Matéria-prima 29
3.2 Caracterização da secagem.....29
4 Conclusão.....34
5 Referências 35

OTIMIZAÇÃO DA DESACETILAÇÃO NA PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DE RESÍDUOS DE CAMARÃO: USO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Resumo 40
1 Introdução.....40
2 Materiais e Métodos 42
2.1 Matéria-prima. …….42
2.2 Obtenção da quitina……..42
2.3 Estudo da reação de desacetilação.....……..42
2.4 Purificação da quitosana ... ……..43
2.5 Determinação do grau de desacetilação da quitosana . 43
2.6 Determinação da massa molecular média viscosimétrica ..... …...44
2.7 Tratamento estatístico ..... ……..45
3 Resultados e Discussão 46
4 Conclusão.....50
5 Referências 51

AVALIAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DA QUITOSANA DURANTE A OPERAÇÃO DE SECAGEM EM CAMADA DELGADA

Resumo 54
1 Introdução.....55
2 Materiais e Métodos 57

2.1 Produção de quitosana..... ……..57
2.2 Caracterização da quitosana ..... ……..58
2.3 Procedimento experimental ..... ……..58
2.4 Caracterização da secagem ..... ……..59
2.5 Procedimento analítico ..... ……..59
3 Resultados e Discussão 60
4 Conclusão.....65
5 Referências 66

ESTUDO DA DESPOLIMERIZAÇÃO DE QUITOSANA UTILIZANDO ÁCIDO CLORÍDRICO

Resumo 70
1 Introdução.....71
2 Materiais e Métodos 73
2.1 Produção e purificação de quitosana..... ……73
2.2 Reação de despolimerização..... ……..74
2.3 Metodologia analítica..... ……..74
2.3.1 Grau médio de desacetilação .... ……..74
2.3.2 Massa molecular média viscosimétrica .....…… ……74
2.4 Metodologia Estatística..... ……76
3 Resultados e Discussão 77
3.1 Caracterização da quitosana ..... ……..77
3.2 Análise estatística da reação de despolimerização ..... ……..78
3.3 Cinética da reação de despolimerização ..……81
4 Conclusão.....83
5 Referências.....84

CAPITULO IV

5 Conclusão Geral.....89
6 Perspectivas futuras.....90
7 Referências Bibliográficas.....91
APÊNDICE.....106

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO II

Figura 2.1: Estrutura química da quitina 6
Figura 2.2: Estrutura química da celulose 6
Figura 2.3: Processo de obtenção de quitina a partir de resíduos de camarão. 7
Figura 2.4: Estrutura química da quitosana 8
Figura 2.5: Esquema do comportamento da quitosana em meio ácido 9
Figura 2.6: Esquema do processo de secagem de material sólido..... 14

CAPITULO III

SECAGEM CONVECTIVA DE QUITINA: EFEITO DA RESISTÊNCIA EXTERNA À TRANSFERÊNCIA DE MASSA

Figura 1: Curvas de secagem de quitina à 60 ºC, em escala semi-log. 30
Figura 2: Gráfico da taxa de secagem em função do conteúdo de umidade média da quitina, na temperatura de 60 ºC. 30
Figura 3: Gráfico da isoterma de equilíbrio da quitina, à 60ºC. 31
Figura 4: Gráfico da difusividade efetiva de umidade em função do conteúdo de umidade adimensional, para o período de taxa decrescente. 32
Figura 5: Gráfico da umidade média adimensional em função do tempo de secagem (T = 60°C e v_{ar} = 1,5m/s). 33
Figura 6: Gráfico da umidade média adimensional em função do tempo de secagem (T = 60°C e v_{ar} = 0,5m/s). 34

OTIMIZAÇÃO DA DESACETILAÇÃO NA PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DE RESÍDUOS DE CAMARÃO: USO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Figura 1: Gráfico do ajuste da equação de Huggins para os valores da viscosidade reduzida e concentração da solução do experimento número 3 da matriz do planejamento. 46
Figura 2: Gráfico dos efeitos principais na forma codificada para a massa molecular da quitosana. 49

Figura 3: Superfície de resposta para a massa molecular média viscosimétrica da quitosana.....49

AVALIAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DA QUITOSANA DURANTE A OPERAÇÃO DE SECAGEM EM CAMADA DELGADA

Figura 1: Adimensional de umidade em função do tempo de secagem.....61
Figura 2: Gráfico da taxa de secagem em função do conteúdo de umidade da quitosana. 61
Figura 3: Gráfico da viscosidade reduzida em função da concentração, quitosana in natura.....62
Figura 4: Gráfico da variação da massa molecular em função do tempo de secagem. 64
Figura 5: Gráfico da variação da massa molecular viscosimétrica média em função do conteúdo de umidade do material. 64

ESTUDO DA DESPOLIMERIZAÇÃO DE QUITOSANA UTILIZANDO ÁCIDO CLORÍDRICO

Figura 1: Gráfico da viscosidade reduzida em função da concentração. 78
Figura 2: Superfície de resposta e curva de níveis para a resposta massa molecular média viscosimétrica versus temperatura e concentração de ácido.81
Figura 3: Gráfico do comportamento dos valores de massa molecular obtidos durante a reação de despolimerização da quitosana. 82
Figura 4: Gráfico do logaritmo neperiano da massa molecular de quitosana em função do tempo de reação. 83

LISTA DE TABELAS

CAPITULO III

OTIMIZAÇÃO DA DESACETILACÃO NA PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DE RESÍDUOS DE CAMARÃO: USO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Tabela1: Fatores e níveis utilizados para o estudo da reação de desacetilação.....43
Tabela 2: Matriz do planejamento experimental fatorial para o estudo da reação de desacetilação.....45
Tabela 3: Resultados da matriz do planejamento experimental para o parâmetro de ajuste [η] da equação de Huggins e massa molecular média viscosimétrica da quitosana.....47
Tabela 4: Análise de variância para os dados da resposta massa molecular média viscosimétrica da quitosana.....48

AVALIAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DA QUITOSANA DURANTE A OPERAÇÃO DE SECAGEM EM CAMADA DELGADA

Tabela 1: Massa molecular viscosimétrica média e viscosidade intrínseca das amostras de quitosana, nos intervalos de tempo estudados. 63

DESPOLIMERIZAÇÃO DE QUITOSANA UTILIZANDO ÁCIDO CLORÍDRICO

Tabela 1: Matriz do planejamento experimental com os valores codificados e reais dos fatores independentes para o estudo da reação de despolimerização de quitosana.....76
Tabela 2: Resultados de viscosidade intrínseca e massa molecular obtidos em cada experimento da reação de despolimerização, da matriz do planejamento.....79
Tabela 3: Análise de variância da massa molecular média viscosimétrica dos resultado de quitosana da matriz do planejamento experimental.....79

CAPÍTULO I

1 Introdução

A quitina, sintetizada por alguns organismos vivos, é um polímero encontrado como componente estrutural de exoesqueletos de crustáceos, de cutículas de insetos e de paredes celulares de fungos e leveduras. Para a obtenção da quitina a partir de resíduos de camarão são observadas as seguintes: desmineralização, desproteinização, desodorização e secagem (SOARES et al., 2003).

O tratamento da quitina em presença de álcalis ou enzimas de maneira controlada produz quitosana com diferentes graus de desacetilação e características físico-químicas (GUPTA & JABRAIL, 2006). As etapas de purificação da quitosana consistem na preparação de um sal de quitosana, seguido por centrifugação, precipitação da quitosana com uma solução de NaOH, neutralização, e centrifugação, que resulta em quitosana purificada úmida (SOARES et al., 2003). A massa molecular da quitosana comercial varia de 50 a 2000 kDa, sendo que a variação destes valores se deve ao processamento não controlado da quitina in natura que envolve desacetilação e a polimerização (REGE & BLOCK, 1999).

O mecanismo de degradação do polímero quitosana consiste na despolimerização do radical livre por redução oxidativa, hidrólises ácida ou alcalina e catálise enzimática. A degradação do polissacarídeo ocorre via clivagem das cadeias glicosídicas. O controle da despolimerização da quitosana é utilizado para o ajuste das propriedades viscosidade, solubilidade e atividade biológica (REGE & BLOCK, 1999 e GALED et al. 2005). Devido às propriedades promissoras de quitosana de baixa massa molecular (≈50 kDa), no campo farmacêutico é essencial estabelecer um método economicamente viável e rápido para gerar este produto (MAO et al., 2004).

A quitosana é um material disponível comercialmente, cuja estabilidade, propriedades químicas e biocompatibilidade têm levado a aplicação na agricultura, indústrias farmacêutica e de alimentos. Sendo utilizada na preservação de alimentos, clarificação de sucos de frutos, recobrimento de sementes, tratamento de água, particularmente na retirada de íons e metais pesados e na sorção de tinturas, onde atua como agente floculante; em

adesivos biológicos por sua propriedade de formação hidrogel, e também na indústria de cosméticos (CHATTERJEE et al., 2005).

O processo de secagem na produção de alimentos é importante uma vez que esta etapa garante que seja alcançada a umidade necessária de armazenamento de forma a manter as características do produto (DOYMAZ et al., 2006). A secagem convectiva é considerada um processo de remoção de água livre de um material por evaporação. Nos processos de secagem, o material úmido entra em contato com ar insaturado resultando numa diminuição do conteúdo de umidade do material e na umidificação do ar (Mc. CORMICK, 1983; STRUMILO & KUDRA, 1986).

O estudo da secagem de materiais sólidos em camada delgada é utilizado para a determinação experimental dos parâmetros que caracterizam a operação, resultando num melhor domínio do processo, como também em maior conhecimento dos fundamentos e mecanismos envolvidos. As propriedades físicas e de transporte e o encolhimento do material, também são parâmetros importantes para a formulação e resolução de modelos físico-matemáticos que explicam o comportamento de transferências de massa e de calor ao longo da operação de secagem (FORTES & OKOS, 1980).

Na secagem convectiva, a temperatura, umidade e a velocidade do ar têm efeito na cinética de secagem e na qualidade dos produtos alimentícios (CHOU & CHUA, 2001). Portanto, segundo BABALIS & BELESSIOTIS (2004) e MARTYNENKO (2006) é necessário considerar a resistência externa à transferência de massa na secagem utilizando baixas velocidades do ar de secagem.

1.1 Objetivo geral

Analisar as operações de secagem de quitina e quitosana em camada delgada, avaliando as condições operacionais e as alterações no produto final; bem como otimizar as etapas de desacetilação e de despolimerização na produção de quitosana.

1.2 Objetivos específicos

Realizar a modelagem físico-matemática da secagem em camada delgada de quitina, comparando os valores obtidos pelos modelos teóricos com os dados experimentais.

Determinar as propriedades físicas do material e de transporte entre o material e o fluído de secagem, durante a operação.

Otimizar a etapa de desacetilação da quitina, para a produção de quitosana, avaliando o tempo e temperatura de reação.

Caracterizar a secagem de quitosana em camada delgada, bem como a variação da massa molecular, durante a operação de secagem.

Otimizar a etapa de despolimerização química para a obtenção de uma quitosana com valor de massa molecular, para fins farmacêuticos ($\cong$ 50 kDa).

CAPÍTULO II

2 Revisão bibliográfica

Nesta revisão são apresentadas as características das matérias-primas utilizadas no presente estudo. Assim como, os fundamentos da secagem de materiais sólidos, descrevendo-se os mecanismos de migração de umidade no interior dos sólidos durante a operação de secagem. São definidos os períodos de taxa constante e decrescente, além das propriedades físicas e o modelo difusivo utilizado na secagem de produtos sólidos.

2.1 Quitina

A quitina é um polímero β-(1-4) N-acetilglucosamina, mais abundante e facilmente encontrado e, o segundo após a celulose (TOLAIMATE et al., 2000). O termo quitina é derivado do grego, da palavra Chiton, significando um revestimento protetor para invertebrados (SAHIDI et al., 1999). Este polímero é o principal protetor da carapaça de crustáceos, como caranguejo, camarão e lagosta, insetos e parede celular de alguns fungos (TOLAIMATE et al., 2000; METHACANON et al., 2003; GALED et al., 2005; MUN et al., 2006; GUPTA & JABRAIL, 2006; TAKAHASHI et al., 2007; YOUN et al. 2007; ZIANI, 2008).

Durante o processamento do camarão, através da etapa de descasque, são geradas grandes quantidades de resíduos sólidos, tendo em vista que cabeça e casca do animal correspondem a aproximadamente 40% de seu peso total, sendo tal resíduo composto por 70 a 75% de água (GILDBERG & STENBERG, 2001). Este resíduo é em geral clandestinamente enterrado ou jogado no mar ou em rios, causando problemas ambientais, principalmente em países grandes produtores de camarão onde não há rigor na fiscalização ambiental, a disposição final desde resíduos tem se tornado um grande desafio. Tendo em vista que tal resíduo é constituído por quitina (ZAKARIA et al., 1998), tem havido grande interesse em seu reaproveitamento, buscando alternativa à sua disposição final, com vistas ao desenvolvimento de produtos de alto valor agregado.

Uma das propriedades da quitina é de ser um sólido cristalino ou amorfo, insolúvel em água, solventes orgânicos, ácidos diluídos e álcalis (TAKAHASHI et al., 2007). Solúvel em ácidos minerais concentrados com simultânea degradação do polímero (FURLAN, 1993).

A fibra natural quitina, precursora da quitosana, possui uma estrutura química semelhante à celulose. Sua massa molecular, na natureza, é normalmente acima de 1.000.000 Dáltons, sendo que a diferença estrutural entre as duas fibras se deve ao grupo hidroxila localizado na posição 2, que na quitina estão substituídos por grupos acetamino (CRAVEIRO et al., 1999). Isto pode ser visto através das Figuras 2.1 e 2.2.

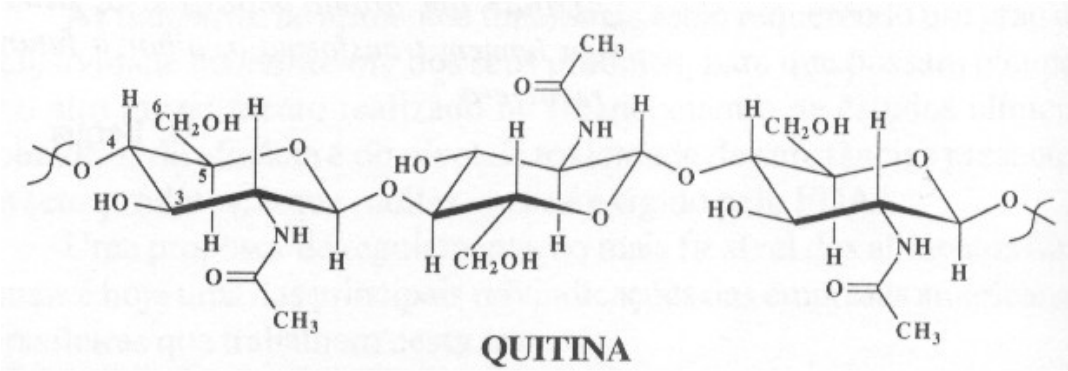

Figura 2.1: Estrutura química da quitina (CRAVEIRO et al., 1999).

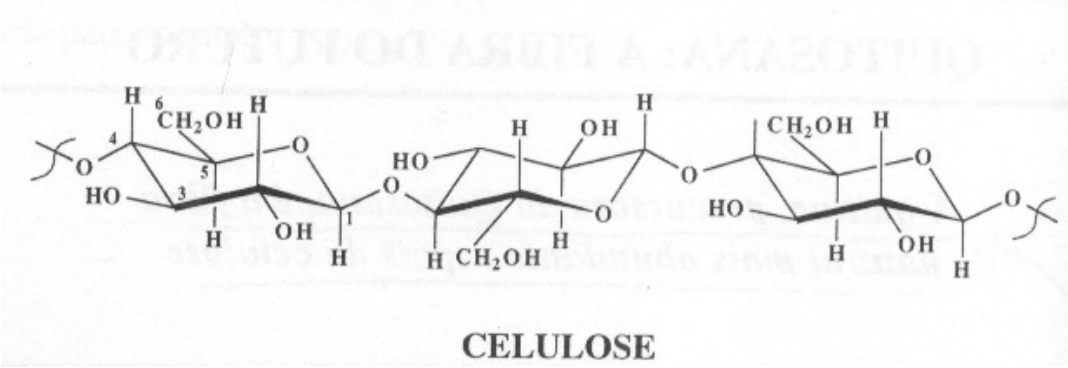

Figura 2.2: Estrutura química da celulose (CRAVEIRO et al., 1999).

TOLAIMATE et al. (2003) apresentaram estudos de processos de produção de quitina obtidas de diferentes fontes. Neste trabalho foram mostradas as diferentes concentrações, temperaturas e tempos de reação das etapas de desproteinização e desmineralização, com soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico, respectivamente. AYE & STEVENS (2004) estudaram as etapas de desproteinização e desmineralização, tanto para a obtenção de

quitina, quanto para o aproveitamento da proteína retirada durante o processo. YOUN et al. (2007) obtiveram a quitina utilizando três etapas: desmineralização, desproteinização e despigmentação.

A Figura 2.3 apresenta as operações utilizadas na obtenção de quitina, no Laboratório de Operações Unitárias – FURG, segundo SOARES et al. (2003).

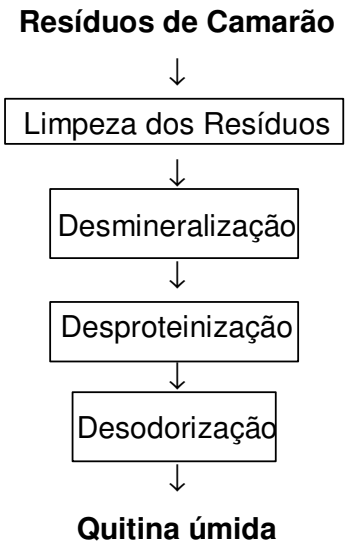

Figura 2.3: Processo de obtenção de quitina a partir de resíduos de camarão (SOARES et al., 2003).

Os resíduos de camarão, obtidos de indústrias pesqueiras locais, são recebidos e inicialmente passam pela etapa de limpeza com água corrente. A etapa de desmineralização consiste na agitação dos resíduos com HCl (2,5% p/v) por duas horas, visando a redução do conteúdo de cinzas presente nos resíduos de camarão. A desproteinização consiste na agitação dos resíduos com NaOH (5%p/v) por duas horas, tendo por objetivo a redução do conteúdo protéico da matéria-prima. A desodorização consiste na agitação com hipoclorito de sódio (0,35% p/v), por três horas, sendo essa etapa necessária para a redução do odor e cor característicos de camarão. Entre cada uma das etapas de obtenção são feitas sucessivas lavagens para a retirada dos reagentes. Após essas etapas é obtida a quitina úmida.

Segundo CHIANDOTTI (2005), a quitina é utilizada como acelerador para cicatrizes de feridas, formação de pele artificial, fibra para sutura absorvível, tecidos, substrato para quitinase e lisozima (quitina coloidal),

membrana para auto-falante, etc. No tratamento de efluentes é usada principalmente na remoção de metais pesados, corantes, efluentes orgânicos nitrogenados, e derivados de petróleo (RHEE, et al. 1998; TAKAHASHI et al., 2005).

2.2 Quitosana

A quitosana é obtida pela desacetilação da quitina. Durante a desacetilação alcalina, parte das ligações N-acetil do polímero são rompidas com formação de unidades de D-Glucosamina que contém um grupo amino livre. Entretanto, a quitosana não se caracteriza por possuir uma estrutura química polimérica uniforme, mas sim é constituída por um grupo de polímeros parcialmente desacetilados (KIANG et al., 2004; TAKAHASHI et al., 2007), como apresentado na Figura 2.4.

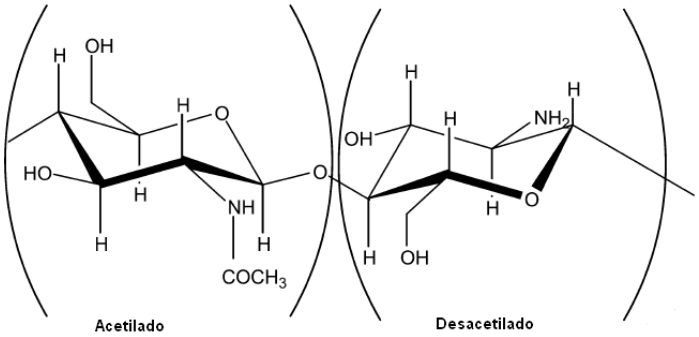

Figura 2.4: Estrutura química da quitosana (TOLAIMATE et al., 2003).

O processamento da quitosana é realizado normalmente de crustáceos, porque uma grande quantidade de seus exoesqueletos é disponível como um sub-produto do processamento de alimentos (GALED et al., 2005).

A desacetilação da quitina leva a exposição dos grupos amino que confere a quitosana suas cargas positivas em soluções aquosas ácidas. A quitosana tende a ser insolúvel em soluções aquosas onde a sua carga não predomina (pH > 6,5) ou em soluções que contém concentrações suficientemente altas de ânions multivalentes (MUN, 2006). Essas aminas quando protonadas, Figura 2.5, (-NH3+) habilitam a quitosana a ligar-se a cargas carregadas negativamente (KIANG et al., 2004), nas quais estão incluídos os ácidos graxos (lipídios), os ácidos biliares, as proteínas, os

corantes e polímeros, íons de metais de transição, entre outros (SAHIDI et al., 1999).

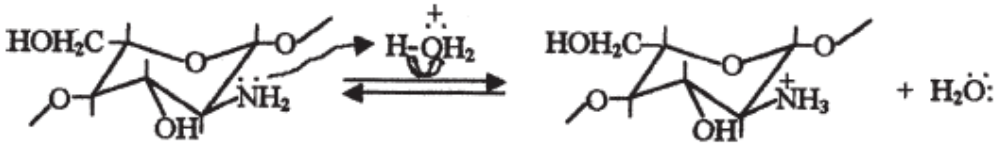

Figura 2.5: Esquema do comportamento da quitosana em meio ácido (Fonte: RUDRAPTANAM et al., 2003).

Os grupos amino livres são determinados pelo grau de desacetilação, a massa molecular e fatores extrínsecos (força iônica, pH, temperatura, solvente) (WANG et al., 2006). A massa molecular e o grau de desacetilação da quitosana podem variar pelo método de extração da quitina e pelas condições de tratamento (KIANG et al., 2004; MUN, 2006).

A quitosana é um biopolímero bastante útil para o desenvolvimento de materiais com atividade biológica específica, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Além da ampla faixa de aplicação em muitas áreas tais como tratamento de efluentes, formulação de alimentos, cosméticos e emprego na agricultura (TAN et al., 1998).

Segundo CAMPANA FILHO et al. (2007), algumas de suas mais importantes aplicações são, principalmente na medicina, como biomateriais, na área farmacêutica, como vetores de medicamentos e vacinas e em dispositivos para liberação controlada de fármacos, e também nas indústrias alimentícia e cosmética.

Diversos métodos alcalinos de desacetilação foram propostos a maioria envolvendo o uso de soluções de hidróxido de sódio ou potássio (TOLAIMATE et al., 2003; SOARES et al., 2003 & GALED et al., 2005) ou desacetilação enzimática (MARTINOU et al., 1995).

Segundo ROBERTS & DOMSZY (1982), a purificação de quitosana é feita pela eliminação das partículas sólidas e possíveis impurezas. As etapas de purificação da quitosana, segundo SOARES et al. (2003), consistem em primeiro se preparar um sal de quitosana, com ácido acético (1% v/v). A solução é centrifugada para a retirada de impurezas. A quitosana é precipitada

com NaOH (10% p/v) e após é neutralizada até pH 6,5. A separação é feita por centrifugação e se obtém a quitosana purificada úmida.

Uma dificuldade do uso da quitosana comercial é que esta possui uma larga faixa de valores de massa molecular (Mv) e grau de desacetilação (GD). Com o aumento da disponibilidade de produtos de quitosana comerciais como pós, soluções, géis, filmes e a diversidade de fontes de quitosana, cada uma das quais tem um efeito nas propriedades da quitosana (ALSARRA et al., 2002).

Os parâmetros de qualidade dos produtos da quitosana, como a pureza, viscosidade, grau de desacetilação, distribuição dos grupos acetil e massa molecular podem variar amplamente por causa de muitos fatores no processo de produção da quitosana (TSAIH & CHEN, 1997 e ZIANI, 2008;).

De acordo com REGE et al. (2003), MUN (2006) e YOUN et al. (2007), as faixas de variação da massa molecular da quitosana comercial variam de 50 a 2000 kDa, 100 a 1000 kDa e 4 a 2000 kDa, respectivamente.

O grau de desacetilação permite a definição do termo quitosana e quitina, a quitosana é usualmente definida como um derivado que é solúvel em soluções ácidas diluídas. O menor grau de desacetilação corresponde a vários tipos de quitosana segundo a literatura na faixa a partir de 40%, passando por 50 até 60%. A maioria das amostras de quitosana comercial tem grau de desacetilação média de 70 a 90% e em alguns processos podem ser atingidas até 95% (BALÁZS & SIPOS, 2007). Segundo REGE & BLOCK (1999) e MUN (2006), o grau de desacetilação das quitosanas disponíveis comercialmente estão na faixa de 60 a 95%.

Na escolha da aplicação da quitosana, a massa molecular e o grau de desacetilação são importantes, porque influenciam na solubilidade e propriedades físico-químicas (SYNOWIECKI & KHATEEB, 2003; TOLAIMATE et al., 2003).

2.2.1 Método de determinação da massa molecular

Apesar de a massa molecular poder ser determinada por vários métodos, como cromatografia de permeação em gel (CPG) e dispersor de luz

(JUMAA, et al., 2002; METHACANON, et al., 2003), a viscosimetria é o mais simples, rápido e provavelmente o mais preciso método de determinação (ZHANG & NEAU, 2001).

A massa molecular média viscosimétrica de polímero linear, como a quitosana, pode ser determinado utilizando a equação empírica de Mark-Houwink-Sakurada que relaciona que a viscosidade intrínseca à massa molecular do polímero (CHEN & TSAIH, 1998).

2.2.2 Método de determinação do grau de desacetilação

Segundo TAN et al. (1998), JIANG et al. (2003) e LAVERTU et al. (2003) os métodos mais utilizados na determinação do grau de desacetilação da quitosana são espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de ultravioleta, ressonância magnética nuclear, titulação coloidal e titulação potenciométrica.

O método de titulação potenciométrica proposta por Broussignac é um dos métodos mais simples para a determinação do grau de desacetilação. Equipamentos e reagentes requeridos são normalmente disponíveis em laboratórios químicos de rotina. Neste método a quitosana é dissolvida em um excesso conhecido de ácido clorídrico e a solução é titulada potenciometricamente com hidróxido de sódio (JIANG et al., 2003).

2.2.3 Despolimerização da quitosana

Quitosana é um polissacarídeo suscetível a uma variedade de mecanismos de degradação, incluindo despolimerização do radical livre por redução oxidativa, e hidrólises ácida, alcalina ou catalisadas enzimaticamente. A degradação do polissacarídeo ocorre via clivagem das ligações glicosídicas (GALED et al., 2005).

O processo de despolimerização da quitosana pode ser realizado de três maneiras: química, física ou enzimática. A despolimerização química pode ser através de ácidos (ácido clorídrico, ácido nítrico, etc.). A utilização de radiação, ultra som, microondas e tratamento térmico são os tipos de despolimerização física mais utilizadas. Enquanto que na despolimerização esta pode ser

específica com quitinase e quitosanase ou com enzimas não especificas como é o caso de lípases, proteases, lisozima e carbohidrases.

Oligossacarídeos de quitosana podem ser obtidos por hidrólise química ou enzimática das cadeias de quitosana. A hidrólise química pode ocorrer por dois métodos alternativos: a hidrólise com ácidos concentrados ou a degradação oxidativa com peróxido de hidrogênio. Ambos os métodos tem sido aplicados com resultados satisfatórios para a degradação da quitosana.

Apesar das várias biofuncionalidades da quitosana, seus efeitos in vivo são ambíguos, por causa da baixa absorção no organismo, devido à sua alta massa molecular, a qual confere alta viscosidade, até mesmo em baixas concentrações (TOLAIMATE, 2003). Portanto, uma utilização eficiente in vivo da quitosana exige sua despolimerização em vários produtos de baixa massa molecular.

2.3 Secagem de Materiais Sólidos

2.3.1 Conceitos e mecanismos

A secagem convectiva de ar é frequentemente utilizada em alimentos, onde mudanças físicas, químicas e biológicas podem ocorrer nos alimentos (CHIRIFE, 1983). A secagem convectiva é considerada um processo de remoção de água livre de um material por evaporação (Mc. CORMICK, 1983). Nos processos de secagem convectiva, o material úmido entra em contato com ar insaturado resultando uma diminuição do conteúdo de umidade do material e a umidificação do ar (STRUMILO & KUDRA, 1986).

A otimização do processo de secagem requer o conhecimento sobre os mecanismos e condições de contorno da transferência de massa. Segundo MARTYNENKO (2006), que estudou a secagem de vegetais e cogumelos, um número de estudos utilizou a transferência de massa controlada pela difusão para explicar a operação de secagem de grãos, cenoura, talo de brócolis, fatias de cebola.

Modelos de simulação da operação de secagem são utilizados para um novo planejamento e aperfeiçoamento de sistemas de secagem existentes ou

até para o controle destes processos. Todos os parâmetros (coeficientes de transporte, constante de secagem, etc.) utilizados para a solução de modelos são diretamente relacionados com as condições de secagem, como por exemplo, temperatura e velocidade média da secagem dentro do secador mecânico (BABALIS & BELESSIOSTIS, 2004). Estes parâmetros são obtidos por meio da cinética de secagem obtidas através de experimentos, em escala de laboratório (CHIRIFE, 1983).

Reconhecendo o efeito da velocidade do ar na secagem de vegetais, MULET et al. (2002) propuseram considerar a difusividade efetiva como uma parte da resistência convectiva. Esses autores levaram em consideração dois tipos de fenômenos diferentes – difusão dentro do material e convecção na camada de contorno do ar – podendo ser dificultada a separação e quantificação destes efeitos parciais na secagem. Isto torna critico o planejamento tecnológico, porque a difusão é dependente da temperatura e da umidade, enquanto a convecção depende da velocidade do ar (MARTYNENKO, 2006).

A resistência externa à transferência de massa é relatada na taxa de escoamento do ar e temperatura do ar pela média dos coeficientes de transferência de massa, entre o ar e o sólido. O coeficiente de transferência de massa pode ser obtido por correlações empíricas encontradas na literatura. Em geral, estas correlações são baseadas na analogia das transferências de calor e massa com relação à forma da partícula (BON, et al. 2007).

O conteúdo de umidade de um sólido pode ser expresso em termos da massa seca. Quando o calor necessário para evaporar a água é fornecido ao material, ocorrem transferências simultâneas de calor e de massa, conforme está esquematizado na Figura 2.6. Uma vez que o produto é colocado em contato com ar aquecido, ocorre uma transferência de calor do ar ao produto sob efeito da temperatura existente entre eles. Simultaneamente, a diferença de pressão parcial de vapor da água existente entre o ar e a superfície do produto determina uma transferência de massa para o ar, na forma de vapor de água (PARK et al., 1996).

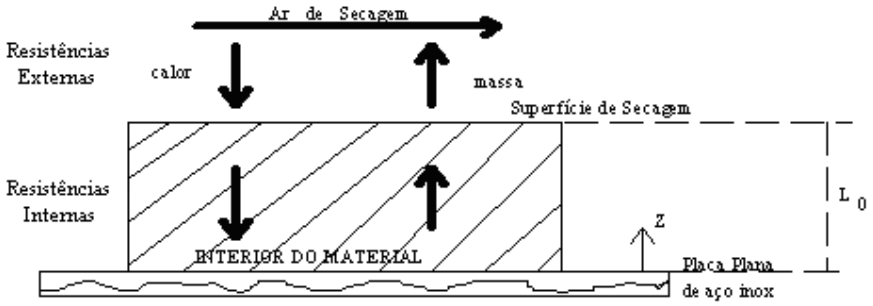

Figura 2.6: Esquema do processo de secagem de material sólido (PINTO, 1996).

O conhecimento dos mecanismos de transferência de água, do interior do material para a sua superfície, é de fundamental importância para a descrição do fenômeno da secagem (BRUIN & LUYBEN, 1980). Entre os mecanismos pelos quais pode ocorrer a migração de umidade através do sólido, é possível citar a difusão em termos de gradiente de concentração, para o transporte de vapor de água, e a difusão em termos de gradiente de umidade e escoamento capilar, para o transporte de água líquida. Estes três mecanismos são os mais importantes na secagem de alimentos.

De acordo com o apresentado na literatura por Mc. CORMICK (1983), a secagem pode ser dividida em dois períodos: o período de taxa constante de secagem e o período de taxa decrescente de secagem.

2.3.2 Períodos de secagem

2.3.2.1 Período de taxa constante

No período de taxa constante, o movimento da umidade no interior do sólido é suficientemente rápido para manter a condição de saturação na superfície, e a velocidade da secagem é controlada pela rapidez com que ocorre a transferência de calor para a superfície evaporante. As resistências às transferências de calor e massa apresentam-se somente na corrente de ar, assim a taxa de evaporação da água não muda em relação ao tempo (CHIRIFE, 1983).

O término do período de taxa constante é alcançado quando a taxa de migração interna de água para a superfície não consegue mais suprir a taxa de evaporação da água livre da superfície. O valor da umidade deste estado é denominado de umidade crítica, nesta condição inicia-se o período de taxa decrescente (CHIRIFE, 1983; BRUIN & LUYBEN, 1980).

A taxa de evaporação de água de superfície, durante o período de taxa constante, é expressa como uma função das condições do ar (velocidade, depressão de bulbo úmido e umidade relativa), da forma, da área da superfície e da direção da corrente de ar e variam muito pouco pelas características do produto que está sendo seco. Os valores da umidade crítica não são somente característicos de cada material alimentício, mas também dependem de outros fatores que controlam a migração de umidade (interna/externa), tais como espessura do material e condições do ar (velocidade, temperatura de bulbo seco e umidade relativa do ar) (CHIRIFE, 1983).

2.3.2.2 Período de taxa decrescente

Este período inicia quando a migração interna de umidade começa a controlar o processo de secagem e pode ser constituído por duas etapas. Para a primeira fase do período de taxa decrescente da secagem de alimentos sólidos, os principais mecanismos de transporte são: escoamento capilar,

difusão de líquido e difusão de vapor. É observado que um mecanismo não exclui o outro, podendo acontecer transporte por diversos mecanismos simultaneamente. Na segunda fase deste período, a difusão de vapor é, provavelmente, o mecanismo predominante de transporte de umidade. No fim da secagem, a pressão de vapor iguala-se à pressão parcial de vapor no ar seco, não ocorrendo mais secagem. O teor de umidade deste estágio é conhecido como umidade de equilíbrio termodinâmico (XE) (CHIRIFE, 1983).

2.3.3 Cinética de secagem: modelos

2.3.3.1 Modelo difusivo

A segunda lei de Fick, da difusão em estado não estacionário, é utilizada para representar a cinética de secagem convectiva de alimentos, e resulta da desconsideração dos efeitos dos gradientes de temperatura e de pressão total. Esta lei pode descrever o transporte de água durante o processo de desidratação de alimentos que ocorre no período de taxa decrescente (CHIRIFE, 1983; FORTES & OKOS, 1980).

A teoria de migração de água por difusão, expressa em termos do gradiente de umidade, teve preferência no estudo da secagem de diferentes produtos alimentícios por vários pesquisadores (IGBEKA, 1982; AGUERRE et al., 1985; BONAZZI et al., 1997 TEIXEIRA & TOBINAGA, 1998; SARSAVADIA et al., 1999; MOREIRA, 2000; CIHAN & ECE; 2001; RAMESH, et al., 2001, IBANOGLU, & MASKAN, 2002; MIDILLI et al,2002; MÁRQUEZ et al., 2006 BON, 2007), por apresentar uma boa concordância entre as distribuições de umidade experimental e a estimada pela solução da equação do modelo.

A difusividade efetiva volumétrica de umidade é uma importante propriedade de transporte na modelagem dos processos de secagem de alimentos, sendo uma função da temperatura do ar e da umidade do material. Porém, devido à complexa composição e estrutura física dos alimentos não são conseguidas estimativas precisas desta propriedade, sendo assim necessárias medidas experimentais, como observado nos trabalhos de SARAVACCOS &

ROUZEOUS (1984), VAGENAS & KARATHANOS (1993) e ZOGZAS et al.(1994).

Para superar o problema no caso de curvas de secagem não lineares, o método das tangentes foi proposto por PERRY & GREEN (1984) como método de estimar um valor efetivo da difusividade para todo o processo em determinadas condições. A aplicação do método consiste na comparação da curva de secagem experimental para teoricamente obter a curva de difusão, para uma determinada forma do material (BABALIS & BELESSIOSTIS, 2004).

A difusividade efetiva volumétrica de umidade, quando considerada variável, é calculada através da aplicação do método das tangentes, segundo VAGENAS & KARATHANOS (1993) e ZOGZAS et al. (1994).

2.3.4 Isotermas de equilíbrio

Os alimentos com alto teor de água se apresentam como um propício meio para o desenvolvimento de microrganismos, devido às soluções diluídas que esta forma com os seus demais constituintes (FENNEMA, 1985). A relação entre o conteúdo de umidade e a umidade relativa atmosférica em equilíbrio em produtos alimentícios é equivalente a atividade de água deste. O conceito termodinâmico de atividade de água é utilizado em secagem através das isotermas de sorção, que representam a mudança na atividade de água em função da mudança no conteúdo de umidade da amostra até o equilíbrio e uma determinada temperatura (SIMAL et al., 2007).

O conhecimento das isotermas de sorção é considerado importante para o planejamento e otimização de equipamentos de secagem, para a avaliação da interface entre os alimentos e o ar, na simulação do processo de secagem e também para determinar o limite da secagem em condições de ar constante (SIMAL et al., 2007)

Vários métodos tem sido estudados para determinar isotermas de sorção de umidade de materiais alimentícios e agrícolas. Existem três métodos básicos de determinar esta técnica: os métodos higrométrico, gravimétrico e outro especial (IGUAZ & VÍRSEDA, 2007).

No método higrométrico, a umidade do material é mantida constante, devido a variação da umidade relativa do ar circundante, até que esta umidade relativa atinja o valor constante de equilíbrio, sendo medida com um higrômetro. Já no método gravimétrico, a temperatura do ar e a atividade de água são mantidas constantes até que a umidade da amostra atinja o valor de equilíbrio termodinâmico. O ar pode ser circulado (método dinâmico) ou estar estagnado (método estático). O método estático possui vantagens de se obter condições termodinâmicas constantes com maior facilidade e permite o uso de soluções acidas ou soluções salinas saturadas (MORAES et al., 2007). Estes autores utilizaram modelos matemáticos para a descrição do comportamento da umidade de sorção de alimentos, onde alguns deles estavam baseados em teorias do mecanismo de sorção, outros modelos apresentados eram empíricos ou semi-empiricos.

O modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer) tem usualmente sido utilizada para ajustar dados experimentais de produtos alimentícios, com resultados satisfatórios. Como uma conseqüência de sua origem teórica, os parâmetros do modelo ajustado têm significado físico (SANNI et al., 1999; MULET et al., 2002).

2.3.5 Secagem de quitosana

A secagem de quitosana tem sido estudada para verificação da influência dessa operação nas características do produto final.

Utilizando planejamento experimental para a determinação da melhor condição de secagem em camada delgada de quitosana, através da resposta a constante de secagem, como melhor condição BATISTA (2004), obteve que este polímero deve ser desidratado na temperatura de 60°C, em espessura de 3mm. Também realizou a modelagem dessa operação considerando o encolhimento do material.

HALAL (2005) estudou técnicas de secagem em leito de jorro de quitosana, determinando as melhores condições de operação, como resposta foi analisada a alteração do polímero na operação de secagem, e observou que esta técnica não altera a coloração do produto obtido. Este autor também

estudou a alteração da cor na melhor condição de secagem de quitosana em camada delgada apresentada por BATISTA (2004) e observou que a secagem em camada delgada, nestas condições alterou a cor do produto final.

Segundo MOURA (2008) no estudo da secagem em camada delgada de quitosana, utilizando secagem pelos dois lados do material (bandeja perfurada), avaliou o comportamento da massa molecular média viscosimétrica da quitosana na operação de secagem. Este autor na temperatura de 60°C, com espessuras variando de 5 a 15 mm, observou um aumento nos valores de massa molecular da quitosana na faixa de 17 a 25%, em relação ao valor do inicial.

No estudo da secagem de quitosana em diferentes condições SRINIVASA et al. (2004), observaram que a secagem convectiva aumentou a força de cisalhante e alongamento deste polímero, estas duas propriedades estão diretamente ligadas ao aumento da massa molecular da quitosana.

Para obtenção de membrana de quitosana desacetilada, LEI et al. (2003) realizaram a secagem na temperatura de 60°C, por aproximadamente 4 h. LOPES et al. (2003) prepararam membranas de quitosana adicionando o gel formado em camada delgada, com 0,1mm de espessura, secando esta na temperatura de 60 °C.

CAPÍTULO III

SECAGEM CONVECTIVA DE QUITINA: EFEITO DA RESISTÊNCIA EXTERNA À TRANSFERÊNCIA DE MASSA

Resumo

A quitina é encontrada principalmente nos exoesqueletos de invertebrados. O objetivo deste trabalho foi o estudo cinético da secagem de quitina em camada delgada através de um modelo difusivo com difusividade efetiva variável, considerando a resistência externa à transferência de massa, através das mudanças da distribuição do conteúdo de umidade do sólido com o tempo. Os experimentos foram realizados, em um secador de bandejas, com escoamento perpendicular do ar de secagem, a 60 °C, utilizando velocidades de escoamento do ar de 0,5 e 1,5 m/s. O modelo difusivo com difusividade efetiva variável apresentou concordância com os dados experimentais. Entretanto, foi observado o efeito da resistência externa à transferência de massa, quando utilizada a velocidade do ar de 0,5 m/s.

Palavras-chave: quitina, modelo difusivo, taxa de secagem, difusividade efetiva, resistência externa.

Nomenclatura

C	constante na Equação 9	adimensional
C_G	constante na Equação 4	adimensional
D_{EF}	difusividade efetiva de umidade	m^2/s
Fo	número de Fourier, $Fo = \frac{D_{EF}\, t}{L^2}$	adimensional
k	constante na Equação 4	adimensional
K_Y	coeficiente de transferência de massa (base mássica), Equação 2	$kg/s\, m^2$
k_y	coeficiente de transferência de massa (base molar), Equação 6d	$kgmol/s\, m^2$
K_X	parâmetro variável, Equação 9	1/s
L	espessura da amostra	m
M_{ar}	massa molar do ar	kg/kgmol
N_A	taxa de secagem por unidade de área	$kg_{H2O}/min\, m^2$

	de secagem	
UR	umidade relativa do ar	adimensional
t	tempo	s
T	temperatura	°C
v_{ar}	velocidade do ar	m/s
X	conteúdo de umidade local (em base seca)	kg_{H2O}/kg_{ss}
$\overline{X}$	conteúdo de umidade média (em base seca)	kg_{H2O}/kg_{ss}
X*	conteúdo de umidade adimensional (em base seca.)	adimensional
z	coordenada espacial	m
z^*	coordenada espacial adimensional	adimensional
W	adimensional de água livre, $W = \frac{\overline{X} - X_E}{X_0 - X_E}$	adimensional
Y_S	umidade absoluta do ar, na superfície	kg_{H2O}/kg_{as}
Y_G	umidade absoluta no escoamento de ar	kg_{H2O}/kg_{as}
Subscritos		
0	inicial	
C	crítica	
ss	sólido seco	
E	equilíbrio	
M	monocamada	
TRANS	transição	

1 Introdução

A quitina é um dos mais abundantes polissacarídeos naturais, usualmente encontrada como um componente de carapaças de crustáceos. Seu derivado mais comum é a quitosana, obtida a partir da desacetilação parcial da quitina (TOLAIMATE et al., 2003). Considerada um material bastante

rígido quimicamente a quitina é insolúvel em muitos solventes como a água, álcool, acetona, hexano, ácidos diluídos e álcalis diluídos e concentrados (CHANDUMPAI et al., 2004). O biopolímero quitina oferece uma ampla faixa de aplicações incluindo a clarificação e purificação de água e bebidas; aplicações na indústria farmacêutica e cosmética, e usos na agricultura, alimentos e biotecnologia (SHAHIDI et al., 1999).

A operação de secagem é importante na produção da quitina, e é realizada em secadores de bandejas (AYE & STEVENS, 2004). Esta operação deve garantir que o conteúdo de umidade necessário seja alcançado para o armazenamento, sem causar alterações no produto. Os dados da cinética de secagem são importantes para o planejamento e simulação de secadores, e usualmente podem ser representados por um modelo matemático satisfatório (BON et al., 2007).

O modelo difusivo utilizado para o estudo da secagem em camada delgada, é obtido da equação do balanço de massa em estado não estacionário que representa a migração do conteúdo de umidade do material para o ar de secagem (KEEY, 1972; CHIRIFE, 1983). Este modelo tem tido preferência em várias pesquisas na área de secagem de produtos alimentícios (IGBEKA, 1982; AGUERRE et al., 1985; BONAZZI et al., 1997; TEIXEIRA & TOBINAGA, 1998; CIHAN & ECE; 2001; RAMESH et al., 2001, IBANOGLU & MASKAN, 2002; MIDILLI et al,2002; MÁRQUEZ et al., 2006).

Na Equação 1, é apresentado a equação do modelo difusivo, com as seguintes considerações: material homogêneo e isotrópico, geometria cartesiana, lâmina infinita, não ocorre variação nas dimensões da amostra durante a secagem, a difusividade efetiva é uma função do conteúdo de umidade do material, a evaporação ocorre na superfície da amostra, a temperatura no material varia apenas no tempo (processo quase isotérmico).

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z}\left(D_{EF}\frac{\partial X}{\partial z}\right) \qquad (1)$$

Em alguns processos de secagem, a resistência externa à transferência de massa não é desprezível principalmente devido à baixa velocidade do ar. Neste caso, a concentração na superfície do sólido é determinada por

considerar um coeficiente de transferência de massa entre o sólido e o fluído. Deste modo, considerando que o efeito da resistência externa é importante, a condição de contorno apropriada para a solução do modelo difusivo pode ser escrita como apresentado na Equação 2 (SIMAL et al., 2003).

$$-D_{EF}\rho_{ss}\frac{\partial X}{\partial z} = K_Y\left(Y_S - Y_G\right) \tag{2}$$

A difusividade efetiva de umidade é uma importante propriedade de transporte na modelagem dos processos de secagem de alimentos, sendo uma função da temperatura do ar e da umidade do material. Porém, devido a composição complexa e estrutura física dos alimentos não são conseguidas estimativas precisas desta propriedade, sendo assim necessárias medidas experimentais, como observado nos trabalhos de VAGENAS & KARATHANOS (1993) e PINTO & TOBINAGA (2006). Segundo estes autores, os valores da difusividade efetiva de umidade podem ser obtidos pelo uso do método das tangentes, Equação 3.

$$D_{EF} = \left[\frac{\left(\frac{dW}{dt}\right)_{exp}}{\left(\frac{dW}{dFo}\right)_{Teo}}\right]L_0^2 \tag{3}$$

onde $(dW/dt)_{exp}$ é calculado a partir da derivação numérica das curvas experimentais do conteúdo de umidade livre adimensional $[(X-X_E)/(X_C-X_E)]$ em relação ao tempo de secagem, e $(dW/dFo)_{Teo}$ é obtido a partir da curva de difusão de água teórica, apresentada por KEEY (1972).

A estimativa do conteúdo de umidade no equilíbrio entre o ar e os alimentos é importante, pois este afeta suas propriedades e sua vida de prateleira. As isotermas de equilíbrio, que apresentam o conteúdo de umidade de equilíbrio e a umidade relativa a uma dada temperatura e pressão, fornecem um modo de descrever as propriedades higroscópicas (DELGADO & SUN, 2002). O modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer), Equação 4, tem usualmente sido utilizada para ajustar dados experimentais de produtos alimentícios, com resultados satisfatórios. Como uma conseqüência de sua origem teórica, os parâmetros do modelo ajustado apresentam significado físico (SANNI et al., 1999; MULET et al., 2002).

$$X_E = \frac{X_m \, C_G \, k \, UR}{(1 - k \, UR)(1 - k \, UR + C_G \, k \, UR)} \tag{4}$$

onde, X_m é a umidade da monocamada (b.s.), C_G e k são constantes relacionadas a temperatura do ar de secagem.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a secagem de quitina em camada delgada, com escoamento perpendicular do ar e determinar os parâmetros do processo, utilizando um modelo difusivo simplificado, com difusividade efetiva variável, considerando a resistência externa à transferência de massa na superfície.

2 Materiais e Métodos

2.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada foi quitina, obtida de resíduos de camarão, no Laboratório de Operações Unitárias/ DQ/FURG, de acordo com SOARES et al. (2003). Esta foi obtida através das etapas de desmineralização, que consiste na redução das cinzas da matéria-prima; desproteinização, que é a redução do nitrogênio protéico dos resíduos de camarão; e na desodorização, para a redução do odor característico de camarão.

A composição química centesimal da quitina foi determinada através de métodos analíticos de N-total, cinzas e conteúdo de umidade, de acordo com os métodos oficiais da A.O.A.C. (1995). Os fatores de correção da análise de N-total para quitina (N-quitina) e para proteína (N-proteína) são 14 e 6,25, respectivamente. Esses fatores foram estimados pela quantidade de nitrogênio presente nas moléculas de quitina e proteína.

2.2 Procedimento experimental

A operação de secagem foi realizada em um secador de bandejas descontínuo, equipado com um ventilador centrífugo (1/2 hp) que fornece a distribuição homogênea do escoamento perpendicular do ar de secagem.

A quitina úmida foi acondicionada em uma bandeja perfurada (26 cm de largura e 19,5 cm de comprimento), e abertura da malha de 2 mm. A carga de material na bandeja foi de 4 kg/m^2 para garantir a camada delgada (MARTINS & PINTO, 2003). Inicialmente a bandeja foi pesada, depois preenchida com o material e inserida no secador. A espessura das amostras foi de 0,001 m, medida com um paquímetro digital (MITUTOYO CD-6CS, E.U.A.). A temperatura do ar de secagem foi de 60°C e a umidade absoluta foi de 0,020 $kg_{H2O}/kg_{ar\ seco}$.

As medidas de massa e temperatura do ar foram feitas a cada 3 minutos. As temperaturas foram verificadas na entrada do secador, antes e depois das amostras, assim como a temperatura de bulbo úmido do ar de secagem. Os experimentos foram realizados em duas velocidades de ar, 0,5 m/s e de 1,5 m/s, medidas com um anemômetro (Windmesser Mit Thermometer, TFA, Alemanha). A determinação da massa das amostras foi feita com uma balança eletrônica (Marte AS2000C, Brasil) semi-analítica, com precisão de 0,01 g. As temperaturas foram obtidas com o uso de termopares (cobre-constantan), acoplados a um milivoltímetro (Tecnolog N 1400 Novus, Brasil), com precisão de 1°C.

O conteúdo de umidade de equilíbrio das amostras de quitina, na temperatura de 60°C, foram determinados por método gravimétrico estático, de acordo com a metodologia citada por MORAES et al. (2007). Foram utilizadas soluções de ácido sulfúrico em diferentes concentrações (20 a 70% p/p) para garantir umidade relativa de 5 a 89% nos frascos de vidro. O aparato experimental consistiu em onze fracos de vidro (foi realizada triplicata dos pontos), com 7 cm de altura e 6 cm de diâmetro, hermeticamente fechado, garantindo atmosfera constante. Para cada experimento, 3 g de amostra foi pesada em balança eletrônica (KERN, 430-21, Alemanha) semi-analítica, com precisão de 0,001 g, e depois de colocada em cada pote. Estes foram acondicionados sob temperatura controlada, por quatorze dias. Medidas dos valores de massa foram tomadas no primeiro, sétimo, décimo e décimo quarto dias, até atingirem três medidas de peso constante. Posteriormente, a análise do conteúdo de umidade foi realizada em tréplica.

2.3 Modelagem da secagem:

A Equação 1 foi adimensionalizada em relação ao conteúdo de umidade local e a coordenada espacial, de acordo com a Equação 5.

$$\frac{\partial X^*}{\partial t} = \frac{1}{L_0^2}\frac{\partial}{\partial z^*}\left[D_{EF}\frac{\partial X^*}{\partial z^*}\right] \tag{5}$$

onde

$$X^* = \frac{X}{X_C}; \qquad z^* = \frac{z}{L_0}$$

Para a solução da Equação 5, foi considerado a secagem por dois lados (bandeja perfurada) e aplicado as condições inicial e de contorno, representadas pelas Equações 6a, 6b, 6c e 6d.

A condição inicial assume que em qualquer posição do material, o conteúdo de umidade da amostra é o mesmo e, igual ao conteúdo de umidade crítica.

Para $t=0 \rightarrow 0 \leq z^* \leq 0{,}5 \rightarrow X^* = 1$ (6a)

Condições de contorno:

Para $t>0 \rightarrow z^* = 0 \rightarrow \quad \left(\frac{\partial X^*}{\partial z^*}\right) = 0$ (6b)

Para $t>0 \rightarrow z^* = 0{,}5$: $\quad X_E^* = \frac{X_E}{X_C}$ (6c)

$$N_A = -\frac{D_{EF}\rho_{ss}X_C}{L_0}\frac{\partial X^*}{\partial z^*} = k_Y M_{ar}\left(Y_S - Y_G\right) \tag{6d}$$

Na condição de contorno da Equação 6b, no centro do material, não existe acúmulo de massa, a variação da umidade na posição é igual para ambos os lados (condição de simetria). Na condição da Equação 6c, foi assumido equilíbrio termodinâmico na superfície do material.

A condição de contorno, considerando a resistência externa à transferência de massa, é representada pela Equação 6d, onde a quantidade de massa de água que sai da superfície do sólido por difusão, é transferida para o ar por convecção. Na Equação 6d, N_A é a taxa de secagem, em kg/s m^2, k_Y é o coeficiente de transferência de massa, em kgmol/s m^2, M_{ar} é a massa

molecular do ar, em kg/kgmol, Ys é a umidade absoluta do ar na superfície (em base seca) e Y_G é a umidade absoluta no escoamento principal de ar (em base seca).

A Equação 6d foi apresentada com as condições do ar (externas). A taxa de secagem pode ser determinada não apenas com base na cinética de secagem, mas também com base na dinâmica de secagem, utilizando as mudanças da distribuição do conteúdo de umidade do sólido com o tempo. Assim, uma mudança foi feita na condição de contorno na superfície (Equação 6d), e está apresentada nas Equações 7 e 8.

A taxa de secagem (N_A) é definida como a quantidade de umidade removida do material seco por unidade de tempo e unidade de superfície de secagem. Para a descrição do movimento de umidade líquida no material, a taxa também pode ser calculada na operação de secagem utilizando escoamento perpendicular do ar a partir da Equação 7.

$$N_A = \frac{L_0}{2}\rho_{ss} X_C K_X (X^* - X_E^*) \tag{7}$$

Igualando a Equação 6d com a Equação 7, a condição de contorno, considerando a resistência externa, pode ser representada pela Equação 8.

$$\frac{\partial X^*}{\partial z^*} = -\frac{L_0^2 K_X (X^* - X_E^*)}{2D_{EF}} \tag{8}$$

onde ρ_{ss} é a massa específica do sólido seco, em kg/m^3, X_E^* é o conteúdo de umidade de equilíbrio adimesional da quitina nas condições do ar de secagem, K_X é um parâmetro função do conteúdo de umidade, em 1/s, D_{EF} é a difusividade efetiva de umidade, em m^2/s e L_0 é a espessura inicial da amostra, em m.

O parâmetro variável K_X é determinado por correlação exponencial, de acordo com a equação 9.

$$\frac{X - X_E}{X_C - X_E} = C\exp(-K_X t) \tag{9}$$

onde X é o conteúdo de umidade (em base seca), X_C é o conteúdo de umidade crítica (em base seca), X_E é o conteúdo de umidade de equilíbrio (em base seca), C é o parâmetro de ajuste e t é o tempo de secagem.

O conteúdo de umidade média adimensional, para cada intervalo de tempo, foi calculado utilizando o método de Simpson, como apresentado na Equação 10.

$$\overline{X}^*(t) = 2\int_0^{0,5} X^* dz^* \tag{10}$$

3 Resultados e Discussão

3.1 Matéria-prima

A caracterização da matéria-prima quitina (em base úmida) apresentou: conteúdo de umidade de 80,0±1,0%, N-quitina de 10,5±0,8%, N-proteína de 7,5±1,0% e cinzas 2,0±0,2%.

3.2 Caracterização da secagem

As amostras apresentaram um conteúdo de umidade média inicial (X_0) de 4,1±0,2 kg_{H2O}/kg_{ss}. Na Figura 1, do conteúdo de umidade média (X) em função do tempo de secagem, em escala semi-log, e na Figura 2, da taxa de secagem (N_A) em função do conteúdo de umidade, observa-se a existência de dois períodos de secagem distintos: o período de taxa constante e o período de taxa decrescente, como observado por PINTO & TOBINAGA (2006) e BON et al. (2007).

O conteúdo de umidade crítica (X_C) de 2,6±0,2 kg_{H2O}/kg_{ss}, apresentado nas Figuras 1 e 2 é o conteúdo de umidade no final do período de taxa constante. Neste ponto, a massa de de líquido em movimento em direção à superfície do sólido se torna insuficiente para repor a massa de líquido que é evaporado (CHIRIFE, 1983).

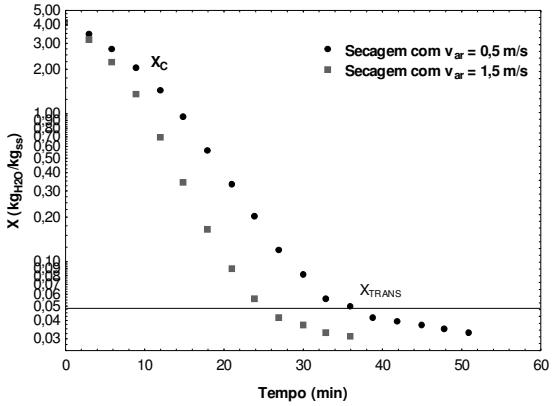

Figura 1: Curvas de secagem de quitina à 60 ºC, em escala semi-log.

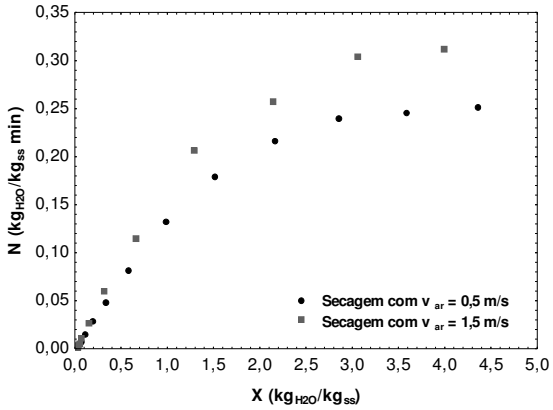

Figura 2: Gráfico da taxa de secagem em função do conteúdo de umidade média da quitina, à 60 ºC.

Nestas figuras, duas curvas foram apresentadas e em ambas, foi observado o mesmo conteúdo de umidade crítica, porque este parâmetro é uma função do material e da temperatura do ar, e não sendo observada a influência da velocidade do ar de secagem, nestas condições. Os tempos do período de taxa constante foram de 6 min para v_{ar} = 1,5 m/s e 12 min para v_{ar} = 0,5 m/s (Figura 1). A velocidade do ar de secagem é muito importante no período de taxa constante de secagem, e torna-se menos pronunciado quando a taxa de secagem decresce (CHIRIFE, 1983).

O período de taxa decrescente foi dividido em duas diferentes fases, conforme apresentado na Figura 1. A segunda fase inicia a partir do conteúdo de umidade de transição do sólido (X_{TRANS}). Este valor foi em torno de 0,045±0,005 kg_{H2O}/kg_{ss}. O valor do conteúdo de umidade de transição foi na faixa do conteúdo de umidade comercial da quitina (5 a 7%, em base úmida).

Deste modo, foi verificado que a secagem deste material ocorre no período de taxa constante e na primeira fase do período de taxa decrescente.

Os valores de umidade de equilíbrio da quitina (X_E) em função da umidade relativa do ar (UR) são apresentados na Figura 3, para a temperatura de 60 °C.

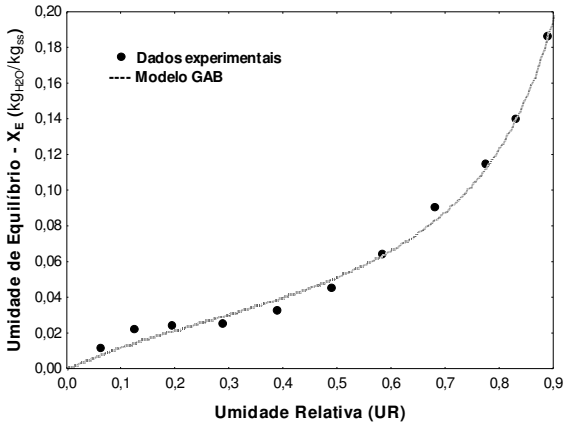

Figura 3: Gráfico da isoterma de equilíbrio da quitina, à 60ºC.

A forma sigmoidal, que é característica de isotermas de alimentos, pode ser observada na Figura 3. O modelo GAB (Equação 4) foi utilizado para o ajuste dos dados experimentais através de regressão não linear, na temperatura de 60°C. O coeficiente de correlação obtido pelo ajuste do modelo de GAB foi de 99%. Os parâmetros calculados foram X_m = 0,035±0,004 kg_{H2O}/kg_{ss}, C_G = 4,63±1,05, k = 0,923±0,02.

Utilizando os valores dos parâmetros de GAB (Equação 4), sob as condições do ar de secagem experimental (UR=17% e 60°C), foi determinado o conteúdo de umidade de equilíbrio da quitina. O valor calculado foi de X_E=0,02 kg_{H2O}/kg_{ss}.

Valores dos parâmetros de K_X foram calculados de acordo com a Equação 9, para as duas condições de velocidade do ar. Os resultados de K_X ajustados em função do conteúdo de umidade adimensional utilizando uma correlação do tipo linear estão apresentados nas Equações 11 e 12, para as velocidades de secagem do ar de 0,5 m/s e 1,5 m/s, com correlações de 85% e 89% , respectivamente.

$$K_X = 0{,}135 - 0{,}054X^* \qquad (11)$$

$$K_X = 0{,}191 - 0{,}098X^* \quad (12)$$

Os valores da difusividade efetiva de umidade foram calculados para a secagem, sem considerar a resistência externa, através do método das tangentes (Equação 3). A Figura 4 apresenta os valores de difusividade efetiva de umidade em relação ao conteúdo de umidade adimensional para o período de taxa decrescente.

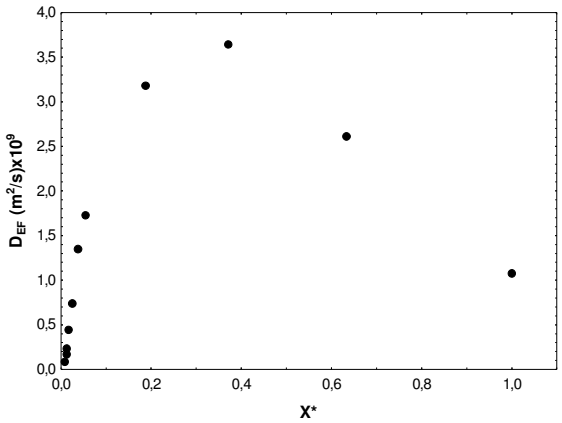

Figura 4: Gráfico da difusividade efetiva de umidade em função do conteúdo de umidade adimensional, para o período de taxa decrescente.

Na Figura 4, a difusividade efetiva de umidade inicialmente aumenta com o decréscimo conteúdo de umidade adimensional até 0,35 kg_{H2O}/kg_{ss}, após, apresenta um decréscimo até o conteúdo de umidade adimensional de 0,05 kg_{H2O}/kg_{ss}, quando a segunda fase do período de taxa decrescente inicia, caracterizado por um decréscimo acentuado no valor da difusividade. Este comportamento é similar ao apresentado por VAGENAS & KARATHANOS (1993), para a Hylon 7, por PINTO & TOBINAGA (2006), para músculo de pescado e por BATISTA et al. (2007) para quitosana.

A difusividade efetiva de umidade do material (D_{EF}) aumenta com o aumento da temperatura (CHIRIFE, 1983). Na faixa de temperatura utilizada no presente estudo este efeito não foi considerado devido a temperatura do ar não ser elevada. Porém, como a quitosana apresentou alto conteúdo inicial de umidade, a difusividade efetiva foi fortemente dependente do conteúdo de umidade do material. A Equação 13 representa o ajuste dos dados da difusividade efetiva de umidade em relação ao conteúdo de umidade adimensional apresentados na Figura 4, utilizando análise de regressão não linear (R^2 = 98,0%).

$$D_{EF} = 3{,}33x10^{-8} X^{*} \exp\left(-3{,}35X^{*}\right) \quad (13)$$

Os valores do perfil local do conteúdo de umidade adimensional (X*), para o período de taxa decrescente foram calculados com base no modelo difusivo na forma adimensionalizada (Equação 5), considerando ou não a resistência externa à transferência de massa. A equação do modelo foi discretizada na posição pelo uso da técnica de diferenças finitas.

Os valores do perfil médio do conteúdo de umidade adimensional em função do tempo, para o período de taxa decrescente, calculados através da Equação 10, que considera ou não a resistência externa, e os valores experimentais, na velocidade do ar de 1,5 m/s, são apresentados na Figura 5. Nesta figura foi observada a concordância dos dados experimentais com as duas soluções do modelo, com e sem considerar a resistência externa. Isto foi devido ao fato de, quando a velocidade do ar de secagem é alta, a resistência externa à transferência de massa é desprezível.

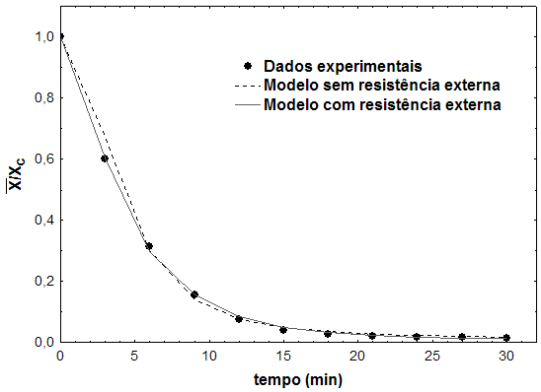

Figura 5: Gráfico da umidade média adimensional em função do tempo de secagem (T = 60°C e var = 1,5m/s).

A Figura 6 apresenta os dados experimentais e os valores calculados pelo modelo do perfil médio do conteúdo de umidade adimensional utilizando a menor velocidade do ar de secagem (v_{ar}= 0,5 m/s), considerando ou não a resistência externa.

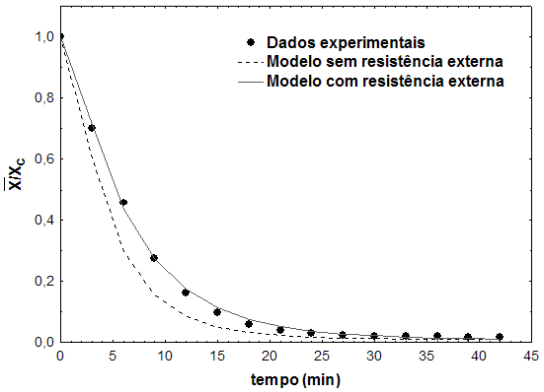

Figura 6: Gráfico da umidade média adimensional em função do tempo de secagem (T = 60°C e var = 0,5m/s).

O modelo difusivo proposto considerando a influência da resistência externa à transferência de massa, simulou de forma adequada a curva de secagem da quitina, com a menor velocidade do ar de secagem, conforme apresentado no Figura 6. O modelo sem considerar a resistência externa não foi satisfatório para representar os dados experimentais, demonstrando que o processo de evaporação ocorrido na superfície foi afetado diretamente pela velocidade. Assim utilizando a menor velocidade do ar, o controle do conteúdo de umidade transferida do sólido é também devido a resistência externa do ar à transferência de massa (componente convectivo). Este comportamento na utilização de velocidades baixas do ar de secagem também foi observado por VAGENAS & MARINOS (1991); BABALIS & BELESSIOTIS (2004) e MARTYNENKO (2006).

4 Conclusões

A secagem da quitina em camada delgada nas condições utilizadas, ocorreu no período de taxa constante e principalmente na primeira fase do período de taxa decrescente, para alcançar a umidade comercial, de 5 a 7%, em base úmida.

A isoterma da quitina apresentou forma sigmoidal, característica de isotermas de alimentos. O modelo de GAB apresentou um bom ajuste em

relação aos dados experimentais (R^2 = 99%). O valor do conteúdo de umidade de equilíbrio encontrado, para as condições de secagem foi de 0,02 kg_{H2O}/kg_{ss}.

Foi possível o uso de um modelo difusivo com difusividade efetiva variável para a secagem de quitina em camada delgada, considerando na condição de contorno (na superfície), utilizando as mudanças da distribuição do conteúdo de umidade no sólido com o tempo para a determinação da taxa de transferência de umidade. Através da solução do modelo apresentado foi verificado que pode ser desprezada a influência da resistência externa à transferência de massa para a velocidade do ar de secagem de 1,5 m/s. Porém, foi necessário considerar essa resistência externa na operação de secagem na velocidade do ar de 0,5 m/s.

5 Referências

Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). **Official Methods of Analysis** Ed. 16, v.1, Arligton/USA, 1995.

AGUERRE, R. J.; GABITTO, J. F. & CHIRIFE, J. Utilization of Fick's second law for the evaluation of diffusion coefficients in food process controlled by internal diffusion. *Journal of Food Technology*, v. 20, n. 5, p. 623-629, 1985.

AYE, K. N. & STEVENS, W. S. Technical note: Improved chitin production by pretreatment of shrimp shells. *Journal of Chemical Technological and Biotechnological*, v. 79, n. 4, p. 421-425, 2004.

BABALIS, S. J. & BELESSIOTIS, V. B. Influence of the drying conditions on the drying constants and moisture diffusivity during the thin-layer drying of figs. *Journal of Food Engineering*, v. 65, n. 3, p. 449–458, 2004.

BATISTA, L. M.; ROSA, C. A. & PINTO, L. A. A. Diffusive model with variable effective diffusivity in the thin layer drying of chitosan. *Journal of Food Engineering*, v. 81, n. 1, p. 127-132, 2007.

BON, J.; ROSSELLÓ, C.; FEMENIA, A.; EIM, V. & SIMAL, S. Mathematical Modeling of Drying Kinetics for Apricots: Influence of the External Resistance to Mass Transfer. *Drying Technology*, v. 25, n. 11, p. 1829 – 1835, 2007.

BONAZZI, C.; ROPOCHE, A. & MICHON, C. Moisture diffusion in gelatin slabs by modeling drying kinetics. *Drying Technology*, v. 15, n. 6-8, p. 2045-2059, 1997.

CHANDUMPAI, A.; SINGHPIBULPORN, N.; FAROONGSARNG, D. & SORNPRASIT, P. Preparation and physico-chemical characterization of chitin and chitosan from the pens of the squid species, Loligo lessoniana and Loligo formosana. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, n. 4, p. 467–474, 2004.

CHIRIFE, J. **Fundamentals of the drying mechanism during air dehydration of foods**. In Advances in drying; Mujumdar, A.; Ed. Hemisphere Publishing Co: New York, v. 2, p. 73-102, 1983.

CIHAN, A. & ECE; M. C. Liquid diffusion model for intermittent drying of rough rice. *Journal of Food Engineering*, v. 49, n. 4, p. 327-331, 2001.

DELGADO, A. E. & SUN, D. W. Desorption isotherms for cooked and cured beef and pork. *Journal of Food Engineering*, v. 51, n. 2, p. 63-170, 2002.

IBANOGLU, S. & MASKAN, M. Effect of cooking on the drying behavior of tarhana dough, a wheat flour-yoghurt mixture. *Journal of Food Engineering*, v. 54, n. 2, p. 119-123, 2002.

IGBEKA, J.C. Simulation of moisture movement during drying a starch food products-cassaca. *Journal of Food Technology*, v. 17, n. 1, p. 27-36, 1982.

KEEY, R. B. Drying. **Principles and practice. In Danckwerts PV, editor. International Series of Monographs in Chemical Engineering**, Pergamon Press, v.13, New York, 1972.

MÁRQUEZ, C. A.; MICHELIS, A. & GINER, S. A. Drying kinetics of rose hip fruits (Rosa eglanteria L.). *Journal of Food Engineering*, v. 77, n. 3, p. 566-574, 2006.

MARTINS, P. C. & PINTO, L.A.A. Caracterização da Secagem de Cebola (Allium cepa L.) em Camada Delgada e da Reidratação do Produto Desidratado. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.6, n.2, p.143-151, 2003.

MARTYNENKO, A. I. Evaluation of Mass Transfer Resistances from Drying Experiments. *Drying Technology*, v. 24, n. 12, p. 1569–1582, 2006.

MIDILLI, A.; KUCUK, H. & YAPAR, Z. A. New model for single-layer drying. *Drying Technology*, v. 20, n. 7, p. 1503-1513, 2002.

MORAES, M. A.; ROSA, G. S. & PINTO, L. A. A. Isotermas de Equilíbrio para Quitina: Determinação do Calor de Dessorção. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 10, n. 3, p. 212-219, 2007.

MULET, A.; GARCIA-PASCUAL, P.; SANJUÁN, N. & GARCIA-REVERTER, J. Equilibrium isotherms and isosteric heats of morel (Morchella esculenta). *Journal of Food Engineering*, v. 53, n. 1, p. 75-81, 2002.

PINTO, L.A.A. & TOBINAGA, S. Diffusive model with shrinkage in the thin layer drying of fish muscles. *Drying Technology*, v. 25, n. 4, p. 509-516, 2006.

RAMESH, M.N.; WOLF, W.; TEVINI, D. & JUNG, G. Influence of processing on the drying of spice paprika. *Journal of Food Engineering*, v. 49, n. 1, p. 63-72, 2001.

SAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V. & JEON, Y. J. Food applications of chitin chitosans. *Trends and Food Science & Technology*, v. 10, n. 2, p. 37-51, 1999.

SANNI, L.O.; KOLAWOLE, A. G.; AKINGBALA, J. O. & KUYE, A. Effect of drying methods on moisture sorption isotherms of fufu at three temperatures. *Drying Technology*, v. 17, n. 1-2, p. 285-297, 1999.

SIMAL, S.; FEMENIA, A.; GARCIA-PASCUAL, P. & ROSSELLO, C. Simulation of the drying curves of a meat-based product: effect of the external resistance to mass transfer. *Journal of Food Engineering*, v. 58, n. 2, p. 193-199, 2003.

SOARES, N.M., MOURA, C., VASCONCELOS, S., RIZZI, J., & PINTO, L.A.A. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. *Revista Univap*, v. 10, n. 18, p. 88-92, 2003.

TEIXEIRA, M. & TOBINAGA, S. A diffusion model for describing water transport in round squid mantle during drying with a moisture-dependent effective diffusivity. *Journal of Food Engineering*, v. 36, n. 2, p. 169-181, 1998.

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES J.; RHAZI M. & ALAGUI A. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, v. 44, n. 26, p. 7939–7952, 2003.

VAGENAS, G. K. & KARATHANOS, V. T. Prediction of effective moisture diffusivity in gelatinized food systems. *Journal of Food Engineering*, v. 18, n. 2, p. 159-179, 1993.

VAGENAS, G. K. & MARINOS, D. Drying kinetics of apricots. *Drying technology*, v. 9, n. 3, p. 735-752, 1991.

Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology

R.F. Weska, J.M. Moura, L.M. Batista, J. Rizzi*, L. A. A. Pinto*

*Universidade Federal do Rio Grande
Laboratório de Operações Unitárias
Escola de Química e de Alimentos
Rua Eng. Alfredo Huch, 475, Caixa Postal 474 – Centro
Rio Grande – RS – CEP 96201-900, Brasil

Publicado na Journal of Food Engineering, v. 81, n. 1, p. 127-132, 2007
(apêndice 1)

OTIMIZAÇÃO DA DESACETILAÇÃO NA PRODUÇÃO DE QUITOSANA A PARTIR DE RESÍDUOS DE CAMARÃO: USO DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Resumo

O uso da quitosana em diversas áreas está diretamente relacionado com a massa molecular e o grau de desacetilação do polímero. O objetivo do presente estudo consistiu na otimização da etapa de desacetilação na produção de quitosana, utilizando a metologia da superfície de resposta, para a massa molecular do polímero. A quitina foi obtida de resíduos de camarão e o estudo da desacetilação feito através de um planejamento experimental fatorial, onde foram variados o tempo e a temperatura. A estimativa da viscosidade intrínseca da quitosana foi através de regressão linear com os valores de viscosidade reduzida e concentração, utilizando a equação de Huggins para polímeros. A massa molecular média viscosimétrica da quitosana foi calculada para cada experimento pela equação de Mark-Houwink-Sakurada que relaciona a viscosidade intrínseca com a massa molecular do polímero. A condição ótima da reação de desacetilação para massa molecular foi observada na temperatura de 130°C em 90 min, e correspondeu a massa molecular de 150 kDa e um grau de desacetilação de 90%.

Palavras- chave: quitosana, desacetilação, planejamento experimental, massa molecular

1 Introdução

Quitosana, β-(1→4)D-glucosamina, é uma forma parcialmente desacetilada da quitina, β-(1→4)N-acetil-D-glucosamina, uma substância encontrada naturalmente em exoesqueletos de insetos, carapaça de crustáceos, e parede celulares de fungos (KUMAR, 2000).

A quitina pode ser convertida em quitosana por métodos enzimáticos e desacetilação alcalina, sendo este último o método mais utilizado. Durante a desacetilação, parte das ligações N-acetil do polímero são quebradas com a

formação de unidades de D-glucosamina, que contém um grupo amina livre, aumentando a solubilidade do polímero em meio aquoso (CHEN & TSAIH, 1998).

As variações nos métodos de preparação da quitosana resultam em diferenças nos seus graus de desacetilação, na distribuição dos grupos acetil, na viscosidade e nas suas massas moleculares (CHEN & HWA, 1996; BERGER et al., 2005). Essas variações influenciam na solubilidade, na atividade microbiana entre outras propriedades, sendo que a quitosana comercial usualmente tem um grau de desacetilação variando de 70 a 95% e uma massa molecular variando de 50 a 2000 kDa (REGE et al., 2003).

A quitosana tem muitas aplicações na agricultura, medicina, meio ambiente e alimentos. Porém, em muitas áreas, especialmente na medicina e na indústria de alimentos, a aplicação desse polissacarídeo é limitada pela sua alta massa molecular resultando em sua baixa solubilidade em meio aquoso (ILYINA et al., 2000). Quitosana é utilizada em alimentos como agente clarificante e inibidor do escurecimento enzimático em maçãs e sucos de pêra e em batatas, e como antioxidantes em salsichas. Pode também ser utilizada como um filme antimicrobiano na cobertura de frutas frescas e vegetais (DEVLIEGHERE et al., 2004).

A distribuição da massa molecular da quitosana é influenciada por fatores como o tempo, concentração de reagentes e condições atmosféricas da reação de desacetilação (TOLAIMATE et al., 2000).

Apesar da massa molecular poder ser determinada por vários métodos, como cromatografia de permeação em gel (CPG) e dispersor de luz (JUMAA, et al., 2002; METHACANON et al., 2003), a viscosimetria é o mais simples, rápido e provavelmente o mais preciso método de determinação (ZHANG & NEAU, 2001). A massa molecular média viscosimétrica de polímeros lineares, como a quitosana, pode ser determinada utilizando a equação empírica de Mark-Houwink-Sakurada que relaciona a viscosidade intrínseca com a massa molecular do polímero (CHEN & TSAIH, 1998).

O objetivo do presente trabalho foi a otimização da etapa de desacetilação na produção de quitosana a partir de resíduos de camarão

utilizando a metodologia da superfície de resposta, tendo como variáveis a temperatura e o tempo de reação, para a resposta massa molecular do polímero.

2 Materiais e Métodos

2.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada foi resíduos de camarão obtidos de indústrias pesqueiras da cidade de Rio Grande, RS, Brasil.

2.2 Obtenção da quitina

A quitina foi obtida em escala piloto, de acordo com o procedimento de SOARES et al. (2003), através das etapas de desmineralização, que consistiu na redução das cinzas da matéria-prima; desproteinização, onde ocorreu a redução do nitrogênio protéico nos resíduos de camarão; e a desodorização, para a redução dos odores característicos de camarão. A quitina foi seca em um secador de bandejas até alcançar o conteúdo de umidade comercial (5,0 a 7,0%, em base úmida).

2.3 Estudo da reação de desacetilação

A quitina seca, para cada experimento, foi colocada em um reator de pequena escala, sob aquecimento e agitação, onde foi adicionado uma solução de hidróxido de sódio (45°Bé).

Um planejamento experimental fatorial completo (3^2), com dois fatores de estudo e em três níveis de variação, foi utilizado para o estudo da reação de desacetilação, sendo analisado pela metodologia da superfície de resposta, obtendo um modelo estatístico de segunda ordem para a massa molecular média viscosimétrica da quitosana (MYER, 1976).

Os fatores de estudo foram temperatura (T) e tempo de reação (t). Estes fatores foram escolhidos por serem dois dos principais fatores das condições experimentais para alcançar massas moleculares adequadas para a quitosana. A variação dos níveis na forma codificada (X_T) e (X_t), baseados na literatura, estão apresentados na Tabela 1 (CHEN & TSAIH, 1998; KUMAR, 2000; TOLAIMATE et al., 2000; PRASHANTH et al., 2002; CERVERA, et al., 2004).

Tabela1: Fatores e níveis utilizados para o estudo da reação de desacetilação.

	Níveis		
Fatores	-1	0	1
T (°C)	120	125	130
t (min)	90	120	150

2.4 Purificação da quitosana

A quitosana, obtida de cada experimento da matriz do planejamento experimental, foi purificada de acordo com o procedimento a seguir: dissolução em ácido acético diluído, centrifugação para a separação do material insolúvel, precipitação até pH 12,5; neutralização até pH 6,5 e centrifugação para separar o sobrenadante.

2.5 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação da quitosana foi determinada pelo método potenciométrico descrito por Broussignac, apresentado por TOLAIMATE et al. (2000). A quitosana foi dissolvida em um excesso conhecido de ácido clorídrico. A partir da titulação dessa solução com 0,1 M de hidróxido de sódio, foi obtida uma curva com dois pontos de inflexão. A diferença entre os volumes destes dois pontos de inflexão correspondeu ao consumo de ácido para a salinização dos grupos amina e permitiu a determinação do grau de desacetilação da quitosana, através da Equação 1.

$$\%NH_2 = 16{,}1\,(V_2 - V_1)\ x\ M_b\ /\ W \qquad (1)$$

onde (V_1) e (V_2) são os volumes de base referidos aos primeiro e segundo pontos de inflexão, respectivamente, em mL, (M_b) é a molaridade da base, em g/mol, e (W) é a massa original do polímero, em g.

2.6 Determinação da massa molecular média viscosimétrica

As amostras de quitosana foram dissolvidas em um sistema solvente constituído de ácido acético (0,1 M), cloreto de sódio (0,2 M) e água destilada. A viscosidade das amostras foi medida em um viscosímetro capilar Cannon-Fenske (Modelo Schott Gerate, GMBH-D65719, Alemanha), em cinco diferentes concentrações (0,001g/mL; 0,003 g/mL; 0,006 g/mL; 0,009 g/mL e 0,012 g/mL), na temperatura de 25±0,1 °C.

Os capilares foram preenchidos com 10 mL de amostra, a qual passou três vezes pelo capilar, onde o tempo de escoamento foi medido. As amostras foram feitas em tréplica. Os tempos de escoamento da solução e do solvente obtidos através do capilar e a constante nominal do capilar foram utilizados para calcular a viscosidade cinemática (CHEN & TSAIH, 1998). A relação entre a viscosidade cinemática e a viscosidade dinâmica é apresentada na Equação 2.

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \tag{2}$$

onde (ν) é a viscosidade cinemática em stokes, (η) é a viscosidade dinâmica em poise, e (ρ) é a massa específica em g/mL. A viscosidade da solução e do solvente foram utilizadas para calcular a viscosidade específica (η_{sp}), utilizando a Equação 3.

$$\eta_{sp} = \frac{\left(\eta_{\text{solução}} - \eta_{\text{solvente}}\right)}{\eta_{\text{solvente}}} \tag{3}$$

A equação de Huggins, Equação 4, foi utilizada para a estimativa da viscosidade intrínseca (η), de acordo com SIMAL (2002).

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k[\eta]^2 c \tag{4}$$

onde (η_{sp}/c) é a viscosidade reduzida em mL/g, (c) é a concentração da solução em g/mL, (k) é a constante válida para cada polímero e [η] é a viscosidade intrínseca em mL/g.

O gráfico da viscosidade reduzida (η_{sp}/c) em função da concentração (c) prevê a viscosidade intrínseca da solução, pela extrapolação da linha reta obtida, por regressão linear em c = 0 (ALSARRA et al., 2002)

A massa molecular média viscosimétrica da quitosana (M_V) foi determinada pela equação empírica de Mark-Houwink-Sakurada, apresentada por ROBERTS & DOMSZY (1982) que relaciona a viscosidade intrínseca com a massa molecular do polímero na forma apresentada na Equação 5.

$$[\eta] = KM_V^{\alpha} \quad (5)$$

onde (K), em mL/g, e (α), adimensional, são as constantes que dependem do sistema polímero-solvente.

2.7 Tratamento estatístico

Tabela 2: Matriz do planejamento experimental fatorial para o estudo da reação de desacetilação.

Tratamentos	Temperatura codificada (X_T)	Tempo codificado (X_t)
1	-1	-1
2	0	-1
3	1	-1
4	-1	0
5	0	0
6	1	0
7	-1	1
8	0	1
9	1	1

A equação da função resposta (massa molecular média viscosimétrica, M_V), foi de forma polinomial, onde os termos são constituídos pelas variáveis de estudo na forma codificada, pela combinação entre elas, pelo coeficiente de

cada termo, e uma constante que corresponde a média dos valores , e estes são apresentados na Equação 6.

$$M_V = A + B\,X_T + C\,X_t + D\,(X_T)^2 + E\,(X_t)^2 + F\,(X_T\,X_t) \qquad (6)$$

O procedimento experimental do estudo da reação de desacetilação seguiu a matriz do planejamento experimental, na forma codificada, apresentado na Tabela 2, onde os experimentos foram realizados em duplicata para a confirmação da reprodutibilidade.

3 Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta a representação gráfica da viscosidade reduzida (η_{sp}/c) em relação a cinco concentrações diferentes utilizada para o experimento número 3 da matriz do planejamento experimental apresentado na Tabela 2. Os valores obtidos para as tréplicas de cada valor de concentração mostraram-se adequados ao planejamento experimental utilizado para a determinação da viscosidade intrínseca.

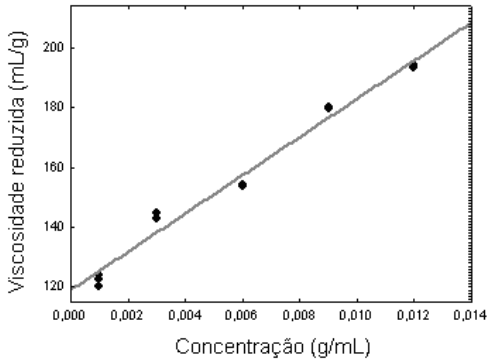

Figura 1: Gráfico do ajuste da equação de Huggins para os valores da viscosidade reduzida e concentração da solução do experimento número 3 da matriz do planejamento.

A estimativa da viscosidade intrínseca, utilizando a equação de Huggins (Equação 4), para todos os experimentos da matriz do planejamento experimental fatorial, é apresentado na Tabela 3. Foi verificada a concordância da equação de ajuste com os dados experimentais através do valor do

coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,99$), como mostrado na Figura 1, para o experimento número 3.

A massa molecular média viscosimétrica da quitosana foi calculada utilizando a Equação 5, assumindo valores de $K = 1,81 \times 10^{-3}$ em mL/g, e $\alpha = 0,93$, apresentado por ROBERTS & DOMSZY (1982), para um sistema solvente constituído por ácido acético 0,1M, cloreto de sódio 0,2M, a uma temperatura de 25°C. Os valores estimados de massa molecular média viscosimétrica para cada experimento da matriz do planejamento experimental fatorial utilizado são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Resultados da matriz do planejamento experimental para o parâmetro de ajuste [η] da equação de Huggins e massa molecular média viscosimétrica (M_V) da quitosana.

Tratamentos	[η] (mL/g)	M_V (kDa)
1	151,7	196,8
1’	153,6	199,4
2	140,7	181,4
2’	138,1	177,8
3	121,0	154,3
3’	119,7	152,5
4	162,1	211,3
4’	163,8	213,7
5	153,2	198,8
5’	151,7	196,8
6	144,4	186,6
6’	142,3	183,6
7	146,0	188,8
7’	144,4	186,6
8	128,7	164,8
8’	130,8	167,8
9	137,4	176,8
9’	138,5	178,4

(‘): duplicata.

Uma análise estatística foi realizada com os valores de massa molecular média viscosimétrica da quitosana obtida em cada experimento (Tabela 3), para a determinação das condições ótimas da reação de desacetilação.

Na Tabela 4 foram apresentados os resultados da análise de variância para a resposta massa molecular média viscosimétrica.

Tabela 4: Análise de variância para os dados da resposta massa molecular média viscosimétrica da quitosana.

Parâmetros	Quadrado médio	Teste de F	Nível de significância P
XT	2252,28	76,21	<0,001
Xt	0,08	<0,01	0,959
(XT)2	81,00	2,74	0,126
(Xt)2	1823,29	61,69	<0,001
(XT),(Xt)	598,58	20,25	0,001
Blocos	0,50	0,02	0,899
Erro	29,55	-	-

Na Tabela 4 é observado através dos valores de *P*, que o efeito principal da temperatura (X_T) e o efeito quadrático do tempo $(X_t)^2$ foram os fatores que mais influenciaram os valores de massa molecular média viscosimétrica, seguidos pela interação dos efeitos entre os fatores principais (X_T X_t). O efeito principal tempo (X_t) não foi significante na análise, e este não foi considerado no modelo teórico estatístico.

A Figura 2 apresenta a análise dos fatores principais tempo e temperatura, na forma codificada, para a massa molecular média viscosimétrica do polímero. Os efeitos temperatura e tempo apresentaram comportamento não linear, e os valores baixos de massa molecular foram encontrados na combinação de menor tempo (-1) e maior temperatura (+1). Nesta condição, a substituição dos grupos acetil por grupos amina na cadeia do polímero predominou, além disso ocorreu despolimerização devido às condições de reação. De acordo com PRASHANTH et al. (2002), os grupos acetil da quitina não podem ser removidos na presença de álcalis sem a

degradação da cadeia do polissacarídeo, resultando em uma despolimerização, devido a temperatura alta dos reagentes e o tempo de reação requerido para ocorrer a completa desacetilação.

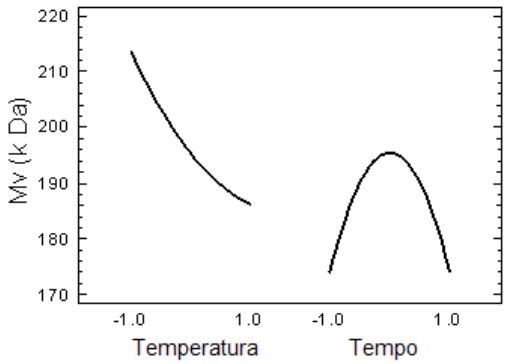

Figura 2: Gráfico dos efeitos principais na forma codificada para a massa molecular da quitosana.

A Equação 6 representa o modelo estatístico obtido através da análise de regressão, para a resposta massa molecular média viscosimétrica da quitosana, considerando os efeitos principais e de segunda ordem dos fatores e a interação entre os fatores, na forma codificada. Foi observado um ajuste com coeficiente de determinação de 94%.

$$M_V = 195{,}5 - 13{,}7\,X_T - 4{,}5\,(X_T)^2 - 21{,}4\,(X_t)^2 + 8{,}7\,(X_T\,X_t) \qquad (6)$$

A Figura 3 apresenta a superfície de resposta para a massa molecular média viscosimétrica da quitosana, obtida a partir da Equação 6.

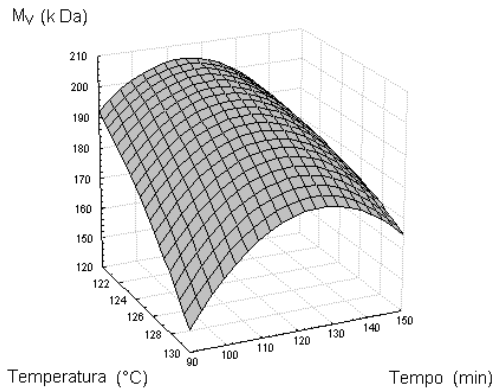

Figura 3: Superfície de resposta para a massa molecular média viscosimétrica da quitosana.

A Figura 3 apresenta a linearidade da massa molecular média viscosimétrica com a temperatura e a não linearidade com o tempo. As condições ótimas de operação foram definidas na região de menor valores de massa molecular, porque esta está relacionada com um maior grau de desacetilação (CHEN & HWA, 1996) e despolimerização (ILYINA et al., 2000), uma vez que as aplicações da quitosana são limitadas pelo seu alto valor de massa molecular, resultando em uma baixa solubilidade em meio aquoso.

TOLAIMATE et al. (2000) relatou que o decréscimo da temperatura de 120°C para 95°C, mantém a mesma composição do meio de reação e um aumento da massa molecular viscosimétrica de 150 kDa a 490 kDa, assim confirmando a influência da temperatura.

A condição que apresenta o menor valor de massa molecular (Figura 3) foi na maior temperatura (130°C) e no menor tempo (90 min), com valor de massa molecular de 150 kDa, e um grau de desacetilação de 90%, calculado pela Equação 1.

4 Conclusão

A metodologia experimental utilizada para calcular a viscosidade intrínseca mostrou-se adequada, pela reprodutibilidade das tréplicas das medidas dos experimentos. O uso da equação de Huggins, para a estimativa da viscosidade intrínseca, apresentou um ajuste com coeficiente de correlação de 0,99.

Utilizando a metodologia da superfície de resposta, foi observada uma grande influência do efeito principal temperatura e do efeito quadrático do tempo. Através da análise de regressão não linear dos resultados, obtidos a partir dos experimentos para a determinação da massa molecular média viscosimétrica da quitosana, foi estabelecido um modelo estatístico de segunda ordem com interações, com um coeficiente de determinação de 94%. A condição ótima da reação de desacetilação foi obtida na temperatura de 130 °C e no tempo de 90 min, apresentando o menor valor de massa molecular de 150 kDa, com grau de desacetilação de 90%.

5 Referências

ALSARRA, I.A.; BETIGERI, S.S.; ZHANG, H.; EVANS, B.A. & NEAU, S.H. Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics. *Biomaterials*, v. 23, n. 17, p. 3637-3644, 2002.

BERGER, J.; REIST, M.; CHENITE, A.; FELT-BAEYENS, O.; MAYER, J.M. & GURNY, R. Pseudo-thermosetting chitosan hydrogels for biomedical application. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 288, n. 2, p. 197-206, 2005.

CERVERA, M.F.; HEINÄMÄKI, J.; RÄSÄNEN, M.; MAUNU, S.L.; KARJALAINEN, M.; NIETO ACOSTA, O.M.; IRAIZOZ COLARTE, A. & YLIRUUSI, J. Solid-state characterization of chitosans derived from lobster chitin. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, n. 4, p. 401-408, 2004.

CHEN, R.H. & HWA, H.D. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of prepared membrane. *Carbohydrate Polymers*, v. 29, n. 4, p. 353-358, 1996.

CHEN, R.H. & TSAIH, M.L. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 23, n. 2, p. 135-141, 1998.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A. & DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, v. 21, n. 6, p. 703-714, 2004.

ILYINA, A.V.; TIKHONOV, V.E.; ALBULOV, A.I. & VARLAMOV, V.P. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*, v. 35, n. 6, p. 563-568, 2000.

JUMAA, M.; FURKERT, F.H. & MÜLLER, B.W. A new lipid emulsion with high antimicrobial efficacy using chitosan. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 53, n. 1, p. 115-123, 2002.

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

METHACANON, P.; PRASITSILP, M.; POTHSREE, T. & PATTARAARCHACHAI, J. Heterogeneous N-deacetylation of squid chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Polymers*, v. 52, n. 2, p. 119-123, 2003.

MYER, R.H. *Response Surface Methodology*. Library of Congress, U.S.A., 1976.

PRASHANTH, K.V.H.; KITTUR, F.S. & THARANATHAN, R.N. Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions. *Carbohydrate Polymers*, v. 50, n. 1, p. 27-33, 2002.

REGE, P.R.; GARMISE, R.J. & BLOCK, L.H. Spray-dried chitinosans Part I: preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 252, n. 1-2, p. 41-51, 2003.

ROBERTS, G.A.F. & DOMSZY, J.G. Determination of the viscosimetric constants for chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 4, n. 6, p. 374-377, 1982.

SIMAL, A.L. *Estrutura e Propriedades dos Polímeros*. Gráfica UFSCar, São Carlos, SP, Brasil, 2002.

SOARES, N.M.; MOURA, C. M.; VASCONCELOS, S.; RIZZI, J. & PINTO, L.A.A. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. *Revista Univap*, São José dos Campos, SP, Brasil, v. 10, n. 18, p. 88-92, 2003.

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A.; VINCENDON, M. & VOTTERO, P. On the influence of deacetylation process on the

physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, v. 41, n. 7, p. 2463-2469, 2000.

ZHANG, H, & NEAU, S.H. In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation. *Biomaterials*, v. 22, n. 12, p. 1653-1658, 2001.

AVALIAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DA QUITOSANA DURANTE A OPERAÇÃO DE SECAGEM EM CAMADA DELGADA

Resumo

A quitosana é um biopolímero derivado da quitina, que é encontrada na carapaça e exoesqueleto de crustáceos, insetos e fungos. Um dos parâmetros mais importantes para a caracterização deste biopolímero é a sua massa molecular. O objetivo deste trabalho foi determinar o comportamento da massa molecular média viscosimétrica da quitosana em função do tempo, durante a secagem convectiva, em camada delgada. A secagem da quitosana foi realizada em um secador de bandejas descontínuo, à temperatura de 60°C. Para a realização dos experimentos foi utilizado o método destrutivo, sendo que a retirada do material, para as determinações de umidade e da massa molecular média viscosimétrica foi a cada 20 min, durante 260 min de operação. A metodologia utilizada para a determinação da massa molecular foi o método viscosimétrico. A estimativa da viscosidade intrínseca através da equação de Huggins e a massa molecular da quitosana foi calculada pela equação de Mark-Houwink-Sakurada. A massa molecular da quitosana purificada foi de 212 kDa, e o da quitosana final desidratada foi de 268 kDa, ocasionando um aumento de 27%. O aumento dos valores da massa molecular da quitosana ocorreu de forma linear com o tempo de secagem e com a umidade do material, apresentando duas regiões, sendo que a primeira correspondeu aos períodos de taxa constante e primeira fase de taxa decrescente de secagem. A segunda região apresentou um aumento mais acentuado da massa molecular, correspondente a segunda fase do período de taxa decrescente de secagem, onde a temperatura do material se aproxima da temperatura do ar de secagem, favorecendo a polimerização da quitosana.

Palavras-chave: quitosana, massa molecular, polimerização, secagem convectiva.

1 Introdução

Quitosana é um polissacarídeo natural com grupos aminos primários (HUANG et al., 2005). Quitina é um co-polímero de N-acetil-glucosamina e unidades de N-glucosamina ocasionais ou blocos distribuídos ao longo da cadeia do biopolímero, dependendo do método de processamento. Quando o número de unidades de N-acetil-glucosamina é maior que 50%, o biopolímero é chamado de quitina. Reciprocamente, quando o número de unidades de N-glucosamina é maior, o termo usado é quitosana. Esse polímero tem sido estudado por sua solubilidade em ácidos diluídos, tornando mais acessível sua utilização e reações químicas (KHOR & LIM, 2003).

A quitosana é um biopolímero hidrofílico, insolúvel em condições de pH neutro e assim é resistente e permeável em água (YOON et al., 2006). Uma membrana de quitosana pode manter sua estabilidade química e térmica até 200°C com uma força mecânica aceitável. Além disso, a presença de grupos hidroxil e amino na cadeia da quitosana também dispõe a esta membrana um nível mais alto de capacidade hidrofílica (WAN et al., 2006).

O polímero quitosana é uma pasta efetiva, que possibilita adesão das partículas na superfície e previne rachaduras. Os fatores que determinam a capacidade de adsorção de metais por quitosana são pH, concentração, temperatura, porcentagem de desacetilação, tempo de interação e comprimento da cadeia (SCHAUER et al., 2003). Devido à natureza catiônica e propriedade de formação de filme, a quitosana pode ser independentemente depositada para formar depósitos insolúveis de polímero puro (GRANDFIELD & ZHITOMIRSKY, 2008). YOON et al. (2006) estudaram a capacidade da quitosana no aumento de permeação de membranas de filtração.

A secagem é uma das técnicas mais antigos de preservação de alimentos e representa um aspecto muito importante no processamento. Na secagem convectiva, a temperatura, a umidade e a velocidade do ar tem efeito significativo na cinética da secagem e na qualidade de produtos alimentícios (CHOU & CHUA, 2001)

Na análise da secagem em camada delgada, as propriedades de transporte são determinadas em condições constante do ar de secagem, em

um determinado intervalo de tempo, para que todas as variações ocorram no interior do produto e assim os parâmetros da secagem possam ser relacionados nessas condições constantes do ar. As conclusões obtidas em camada delgada devem ser consistente para permitir a simulação e planejamento de equipamentos (MÁRQUEZ et al., 2006).

No início da secagem, a superfície de alimentos sólidos se comporta como uma superfície saturada. Este estágio da secagem é conhecido como período de taxa constante e é função da velocidade do ar, do conteúdo de umidade inicial, da área e da forma das amostras. O período de taxa decrescente começa quando a migração do conteúdo de umidade inicia a controlar a secagem, e esse período pode ser dividido em duas fases. Na primeira fase do período de taxa decrescente na secagem de alimentos, os mecanismos de transporte propostos pela literatura são a difusão de líquido, a difusão de vapor e o escoamento capilar. Na segunda fase do período de taxa decrescente a difusão de vapor é o mecanismo predominante de transporte de umidade (CHIRIFE, 1983).

A secagem em camada delgada de polímeros representa um importante papel em situações industriais como: a confecção de filmes funcionais, impressões de efeito especial e camadas de pintura (YOSHIDA & MIYASHITA, 2002). Vários autores utilizaram a secagem na preparação da quitosana para sua utilização. JIANG et al. (2000) secaram a quitosana em uma câmara à vácuo, à temperatura de 55°C, por 4 h, para a produção de filmes. Na secagem de quitosana desacetilada, não purificada, LAUTO et al. (2001), utilizaram uma placa de espessura de 2,4mm, temperatura ambiente, durante uma noite. KHOR & LIM (2003) observaram que a secagem por atomização (spray drying) é uma técnica de obtenção de microesferas de quitosana com partículas de pequeno tamanho e alta esfericidade, LEI et al. (2003), para obtenção de membrana de quitosana desacetilada, realizaram a secagem na temperatura de 60°C, por 4 h. LOPES et al. (2003) prepararam membranas de quitosana adicionando o gel formado em camada delgada, com 0,1mm de espessura, secando esta à 60 °C. Na secagem de quitosana em camada delgada,

BATISTA et al. (2004) encontraram a melhor condição na temperatura do ar de 60°C e espessura na faixa de 3 a 5 mm, sem alteração do produto.

O efeito da massa molecular da quitosana nas propriedades térmicas, mecânicas e permeabilidade foi estudado por CHEN & HWA (1996), que encontraram aumento na força de cisalhamento e de seu alongamento com o aumento da massa molecular.

O objetivo deste trabalho foi determinar o comportamento da massa molecular da quitosana ao longo da secagem convectiva em camada delgada, com escoamento paralelo do ar. Realizar a caracterização da secagem deste material, através das curvas experimentais de secagem.

2 Materiais e Métodos

2.1 Produção de quitosana

A quitina foi obtida de resíduos de camarão através das etapas de desmineralização, desproteinização e desodorização, segundo TOLAIMATE et al. (2003), com modificações apresentadas por WESKA et al. (2007).

A desacetilação da quitina, para a produção de quitosana, foi realizada em reator de aço inoxidável, com capacidade de 35 L, com agitação (60 rpm) e aquecimento elétrico, utilizando solução alcalina concentrada de hidróxido de sódio (42,1% p/v), na faixa de temperatura de 125 a 130°C, durante 1,5 h.

A purificação da quitosana foi realizada de acordo com procedimento similar descrito por ROBERTS & DOMSZY (1982). A quitosana foi dissolvida em uma solução de ácido acético por 1,5 hora, sob agitação constante 45 rpm, centrifugada a 6650×g em uma centrifuga (Modelo Sigma 6-15, D-37520 Osterode, Alemanha) para que o material não dissolvido fosse removido. A quitosana foi precipitada com adição de hidróxido de sódio até pH 12,5, neutralizada com ácido acético até alcançar pH 6,5 e posteriormente centrifugada a 6650×g, para a remoção do sobrenadante.

2.2 Caracterização da quitosana

Determinou-se a composição química proximal da quitosana purificada úmida, através dos métodos analíticos de Nitrogênio-total (N-total), cinzas e umidade segundo as normas oficiais da A.O.A.C (1995). Sendo o fator de conversão para N-quitosana de 11,5 segundo SOARES et al. (2003).

2.3 Procedimento experimental

Nos experimentos da secagem foi utilizado um secador de bandejas, com escoamento paralelo do ar, permitindo secagem por apenas um lado do material. A temperatura do ar de secagem foi de 60 °C. A umidade relativa do ar ambiente foi determinada com um termohigrômetro (COLE PARMER, 3310-00, EUA), com precisão de 0,4%. A velocidade do ar foi de que 1,5 m/s, medida com um anemômetro digital portátil (Windmesser mit thermometer, TFA, Alemanha), com precisão de 0,1 m/s. Foram acompanhadas as temperaturas de bulbo seco e bulbo úmido dentro do secador e das condições ambientes. Essas foram obtidas com auxílio de termopares de cobre-constantan conectados a um milivoltímetro (Tecnolog N 1400 Novus, Brasil) com precisão de 1 ºC. A umidade absoluta durante os experimentos foi de 0,009$kg_{água}$/ kg_{arseco}.

As amostras foram acondicionadas em treze bandejas circulares de plástico com raio de 7,25 cm e espessura de 5 mm, com carga de 6 kg/ m^2.

As massas das bandejas para os experimentos foram determinadas vazias e com o material, em balança eletrônica (Marte AS2000C, Brasil) com precisão de 0,01g. As bandejas foram acondicionadas dentro do secador. Os materiais foram secas até peso constante para obtenção da umidade de equilíbrio dinâmico.

A retirada de cada bandeja foi realizada a cada 20 min, através do método destrutivo e destas foram medidas as massas das amostras e determinadas as massas moleculares média viscosimétricas da quitosana. Os experimentos foram realizados em duplicata.

2.4 Caracterização da secagem

Para a caracterização da secagem foi realizada a determinação dos períodos de taxa constante e de taxa decrescente de secagem, através das curvas experimentais de secagem.

Para o estudo do comportamento massa molecular média viscosimétrica durante a operação de secagem foram analisados os gráficos da massa molecular viscosimétrica média da quitosana em função do tempo e em função do conteúdo de umidade da amostra.

2.5 Procedimento analítico

As amostras de quitosana foram dissolvidas em uma mistura de solventes constituída por ácido acético (0,1 M), cloreto de sódio (0,2 M) e água destilada. A viscosidade das amostras foi medida em um viscosímetro capilar Cannon-Fenske, capilares número 50 e 75 (Modelo Schott Gerate, GMBH-D65719, Alemanha), em cinco diferentes concentrações (0,001g/mL; 0,003 g/mL; 0,006 g/mL; 0,009 g/mL e 0,012 g/mL), à 25,0±0,1 °C. Os capilares foram preenchidos com 10 mL de amostra, a qual passou três vezes pelo capilar, onde o tempo de escoamento foi medido. As amostras foram feitas em triplicata. O tempo de escoamento da solução de amostra e do solvente obtidos através do capilar e a constante nominal do capilar foram utilizados para calcular a viscosidade cinemática (CHEN & TSAIH, 1998). A relação entre a viscosidade cinemática e a viscosidade dinâmica é apresentada na Equação 1.

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \tag{1}$$

A viscosidade da solução de amostra e da mistura de solventes foram utilizadas para calcular a viscosidade específica (η_{sp}), utilizando a Equação 2.

$$\eta_{sp} = \left(\eta_{solução} - \eta_{solvente}\right) / \eta_{solvente} \tag{2}$$

A equação de Huggins, Equação 3, foi utilizada para estimar a viscosidade intrínseca [η]. Esta foi encontrada pela extrapolação da linha reta obtida, por regressão linear em c = 0, ajustando a viscosidade reduzida (η_{sp}/c) em função da concentração (c) (ALSARRA et al., 2002).

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k[\eta]^2 c \quad (3)$$

A massa molecular média viscosimétrica da quitosana (M_V) foi determinada pela equação empírica de Mark-Houwink-Sakurada, apresentada por ROBERTS & DOMSZY (1982) que relaciona a viscosidade intrínseca com a massa molecular do polímero (Equação 4). Foram assumidos os valores de K = $1{,}81\times10^{-3}$ em mL/g, e de α = 0,93, para um sistema solvente constituído por ácido acético 0,1M, cloreto de sódio 0,2 M, a uma temperatura de 25°C.

$$[\eta] = KM_V^{\alpha} \quad (4)$$

onde K e α são constantes viscosimétricas empíricas, que são específicas para cada polímero, solventes e temperatura (KHAN et al., 2000). O expoente Mark-Houwink é usualmente utilizado como um indicador da conformação da quitosana em solução.

3 Resultados e Discussão

A composição centesimal da quitosana utilizada nos experimentos de secagem, em base úmida, foi de 94,5±0,5% de umidade, de 0,6±0,1% de cinzas e de 5,5±0,2% de N-Quitosana.

As amostras úmidas de quitosana apresentaram um conteúdo inicial de umidade de 21,7±0,2 kg_{H2O}/kg_{ss}. A Figura 1 apresenta o adimensional de umidade do material em função do tempo de secagem, em escala semi-log, onde se observa através das duplicatas a repetibilidade do método destrutivo utilizado na análise dos experimentos. No tempo de 80 min ocorreu a mudança do período de taxa constante para o de taxa decrescente, apresentando um conteúdo de umidade de 6,5±0,2 kg_{H2O}/kg_{ss}, chamado de umidade crítica (X_C). Também pode ser observado nessa figura duas fases no período de taxa decrescente a primeira e a segunda de taxa decrescente, onde a transição ocorreu no tempo de 180 min, em um conteúdo de umidade de 0,07±0,01 kg_{H2O}/kg_{ss}. O conteúdo de umidade de transição (X_{TRANS}) está na faixa do conteúdo de umidade comercial (7 a 10%, em base úmida), não sendo

necessário a segunda fase de taxa decrescente para a secagem comercial da quitosana em camada delgada.

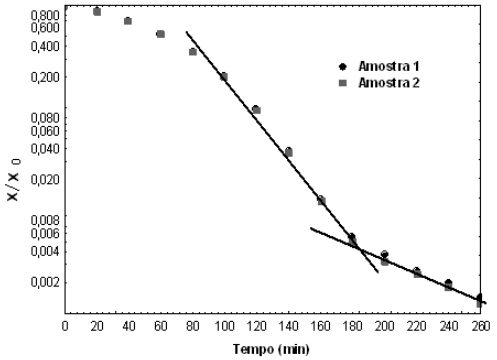

Figura 1: Adimensional de umidade em função do tempo de secagem.

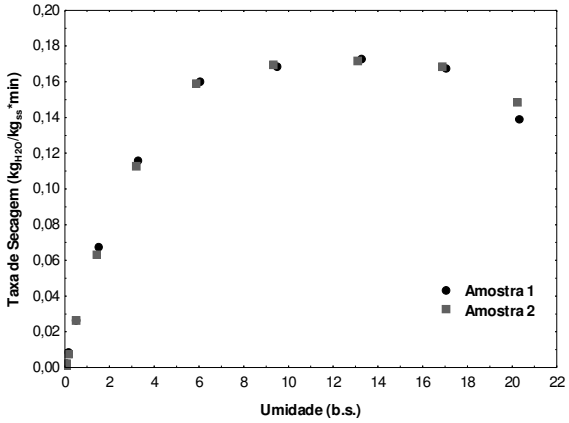

Figura 2: Gráfico da taxa de secagem em função do conteúdo de umidade da quitosana.

Na Figura 2, que apresenta a curva da taxa de secagem em função do conteúdo de umidade da quitosana, é possível observar o período inicial de secagem, que corresponde ao aquecimento do material até temperatura de bulbo úmido do ar de secagem. Também pode ser observado neste gráfico os períodos de taxa constante e de taxa decrescente. O valor da taxa de secagem, durante o período de taxa decrescente foi de 0,16±0,01 kg_{H2O}/kg_{ss}min, esse valor foi similar ao encontrado por BATISTA et al. (2004) de 0,15±0,01 kg_{H2O}/kg_{ss} min, quando secaram quitosana na mesma temperatura e com espessura de amostra de 3mm.

A Figura 3 apresenta o ajuste dos dados da viscosidade reduzida em função da concentração das amostras in natura, utilizando a equação de Huggins, segundo SIMAL (2002), onde foi obtida uma viscosidade intrínseca de 163,8±3,1 mL/g, com um coeficiente de correlação de 99%. A massa molecular média viscosimétrica da quitosana, calculada pela equação de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 4) apresentou um valor de 212,0±3,0 kDa.

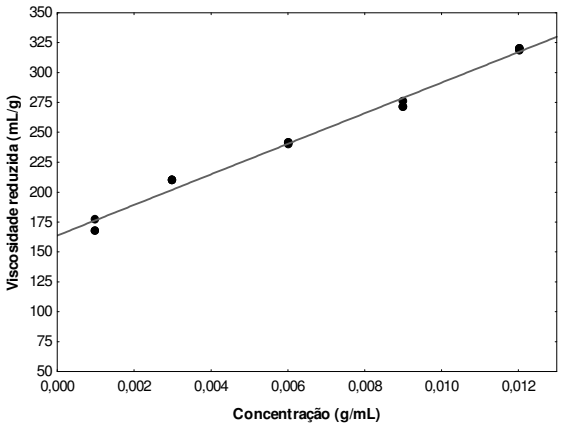

Figura 3: Gráfico da viscosidade reduzida em função da concentração, quitosana in natura.

O procedimento, para encontrar a viscosidade intrínseca e a massa molecular viscosimétrica média foi realizado para todos os tempos de secagem e está apresentado na Tabela 1.

Durante a secagem da quitosana foi observado um aumento na massa molecular média viscosimétrica de 27%. Estudando a secagem de quitosana MOURA (2008) avaliou o aumento no valor da massa molecular da quitosana, utilizando a mesma temperatura em diferentes espessuras e alcançando a umidade final do produto de 0,095 kg_{H2O}/kg_{ss}. Este autor utilizou um secador de bandejas com escoamento paralelo do ar de secagem, com bandejas perfuradas, o que ocasiona a secagem pelos dois lados do material, reduzindo o tempo de secagem (120 a 150 min) e correspondentemente menor polimerização do material. Os aumentos na massa molecular foram de 17% (5mm), 17,7% (10 mm) e 24,4% (15 mm).

Tabela 1: Massa molecular viscosimétrica média e viscosidade intrínseca das amostras de quitosana, nos intervalos de tempo estudados.

Tempo (min)	Viscosidade intrínseca (mL/g)	Massa Molecular viscosimétrica média (kDa)
0	163,83	212,0
20	169,36	221,1
40	171,74	224,4
60	172,30	225,2
80	177,76	232,9
100	179,65	235,5
120	181,69	238,4
140	182,61	239,7
160	184,56	242,5
180	187,3	246,4
200	192,30	253,4
220	195,6	258,1
240	199,81	264,1
260	203,16	268,8

Nas Figuras 4 e 5 pode se observar o aumento da massa molecular com o tempo de secagem e o conteúdo de umidade da quitosana ao longo da secagem deste material. YOUN et al. (2007) no estudo da variação da coloração da quitosana durante a secagem à 60 °C também observou um aumento na massa molecular da quitosana durante as 4 horas de secagem.

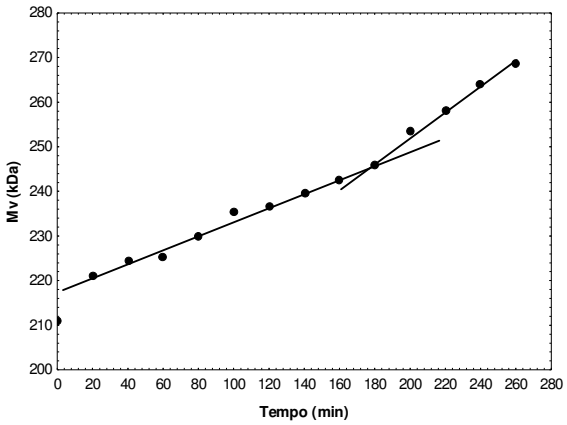

Figura 4: Gráfico da variação da massa molecular em função do tempo de secagem (T = 60°C).

Na Figura 4 constata-se que a massa molecular para o período de taxa constante e na primeira fase do período de taxa decrescente apresentaram valores de massa molecular que variaram linearmente com o tempo (0 a 180 min). Além de ser observado um aumento mais pronunciado no final da secagem (segunda fase do período de taxa decrescente). Esta observação é confirmada pelo comportamento da massa molecular com a umidade do material (Figura 5).

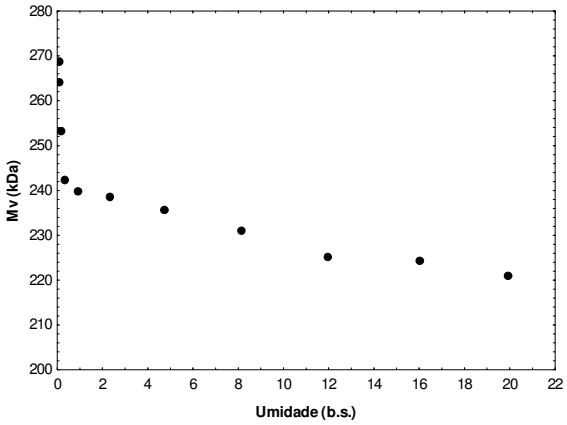

Figura 5: Gráfico da variação da massa molecular média viscosimétrica em função do conteúdo de umidade do material (T = 60°C).

Quando se alcança a segunda fase do período de taxa decrescente ocorre a elevação da temperatura do material até praticamente o mesmo valor

da temperatura do ar de secagem, causando maior polimerização do material. Esta pode ser devido à distância intermolecular pequena que facilita as interações intermoleculares, aumentando o valor da massa molecular do polímero (CHEN & HWA, 1996). Foi citado ainda, que na preparação da membrana de quitosana, na temperatura de 50°C, as moléculas menores tenderam a se ordenar, polimerizando o material.

No estudo da secagem de quitosana em diferentes condições SRINIVASA et al. (2004), observaram que a secagem convectiva aumentou a força de cisalhamento e o alongamento. Como estas duas propriedades estão diretamente ligadas com o aumento da massa molecular da quitosana, segundo CHEN & HWA (1996), pode-se dizer que a secagem convectiva ocasionou o aumento do valor da massa molecular.

4 Conclusão

A massa molecular da matéria prima foi de 212,0 kDa, e o da quitosana ao final da secagem (260 minutos) foi de 268,8 kDa, ocasionando um aumento de 27% no valor da massa molecular no produto final.

A massa molecular da quitosana durante a secagem apresentou um comportamento linear em função do tempo e do conteúdo de umidade do material. Foram observadas duas regiões, uma composta pelo período de taxa constante e primeira fase do período de taxa decrescente e a outra composta pelo segundo período de taxa decrescente.

O maior aumento da massa molecular ocorreu no segundo período de taxa decrescente, quando a temperatura do material se aproxima da temperatura do ar de secagem, responsável pela polimerização do produto.

5 Referências

ALSARRA, I. A., BETIGERI, S. S., ZHANG, H., EVANS, B. A., & NEAU, S. H. Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics. *Biomaterials*, v. 23, n. 17, p.3637–3644, 2002.

Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). Official Methods of Analysis, Edição 16, v. 1, Arligton/USA, 1995.

BATISTA, L. M.; SOARES, N. M.; ROSA, C. A. & PINTO, L. A. A. Secagem em camada delgada de quitosana purificada: estudo da operação através da superfície de resposta. *Revista Vetor*, v. 14, n. 1/2, p.39-56, 2004.

CHEN, R. H. & HWA, H. D. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane. *Carbohydrate Polymers*, v. 29, n. 4, p. 353-358, 1996.

CHEN, R. H., & TSAIH, M. L. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 23, n. 2, p. 135–141, 1998.

CHIRIFE, J. **Fundamentals of the drying mechanism during air dehydration of foods**. In Advances in drying; Mujumdar, A.; Ed. Hemisphere Publishing Co: New York, v. 2, p. 73-102, 1983.

CHOU, S.K. & CHUA, K.J. New hybrid drying technologies for heat sensitive foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, v. 12, n. 10, p. 359–369, 2001.

DOYMAZ, I.; TUGRUL, N. & PALA, M. Drying characteristics of dill and parsley leaves. Journal of Food Engineering, v. 77, n. 3, p. 559–565, 2006.

GRANDFIELD, K. & ZHITOMIRSKY, I. Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite–silica–chitosan coatings. Materials Characterization, v. 59, n. 1, p. 61-67, 2008.

HUANG, H.; YUAN Q. & YANG X. Morphology study of gold–chitosan nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 282, n. 1, p. 26–31, 2005.

JIANG, H.; SUB, W.; HAZELC, J.; GRANTC, J.T.; TSUKRUKD, V.V.; COOPERE, T.M. & BUNNING, T.J. Electrostatic self-assembly of sulfonated C_{60}-porphyrin complexes on chitosan thin films. *Thin Solid Films*, v. 372, n. 1-2, p. 85–93, 2000.

KHAN, T. A.; PEH, K. K. & CHANG, H. S. Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan films for Wound Dressing. Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science. v. 3, n. 3, p. 303-311, 2000.

KHOR, E. & LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v. 24, n. 13, p. 2339–2349, 2003.

LAUTO, A.; OHEBSHALOM, M.; ESPOSITO, M.; MINGIN, J.; LI, P.S.; FELSEN, D.; GOLDSTEIN, M. & POPPAS, D.P. Self-expandable chitosan stent: design and preparation. *Biomaterials*, v. 22, n. 13, p. 1869-1874, 2001.

LEI, C.; GONGA, F.; SHEN, G. & YU, R. Amperometric immunosensor for Schistosoma japonicum antigen using antibodies loaded on a nano-Au monolayer modified chitosan-entrapped carbon paste electrode. *Sensors and Actuators B*, v. 96, n. 3, p. 582–588, 2003.

LOPES, E. C. N.; ANJOS, F. S. C.; VIEIRA, E. F.S. & CESTARI, A. R. An alternative Avrami equation to evaluate kinetic parameters of the interaction of Hg (II) with thin chitosan membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 263, n. 2, p. 542–547, 2003.

MÁRQUEZ, C. A.; MICHELIS, A. & GINER, S. A. Drying kinetics of rose hip fruits (Rosa eglanteria L.). *Journal of Food Engineering*, v. 77, n. 3, p. 566–574, 2006.

MOURA, C. M. Avaliação da reação de desacetilação da quitina e estudo da secagem de pellets de quitosana para aplicação em filmes poliméricos, Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, 2008.

ROBERTS, A. F., & DOMSZY, J. G. Determination of the viscometric constants for chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 4, n. 6, p. 374-377, 1982.

RONCAL, T.; OVIEDO, A.; ARMENTIA, I. L., FERNÁNDEZ, L. & VILLARÁN, M. C. High yield production of monomer-free chitosan oligosaccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan. Carbohydrate Research, v. 342, n. 18, p. 2750–2756, 2007.

SCHAUER, C. L.; CHEN, M-S.; CHATTERLEY, M.; EISEMANN, K.; WELSH, E. R.; PRICE, R. R.; SCHOEN, P. E. & LIGLER, F. S. Color changes in chitosan and poly(allyl amine) films upon metal binding. *Thin Solid Films*, v. 434, n. 1-2, p. 250–257, 2003.

SIMAL, A.L. *Estrutura e Propriedades dos Polímeros*. Gráfica UFSCar, São Carlos, SP, Brasil, 2002.

SOARES, N.M., MOURA, C., VASCONCELOS, S., RIZZI, J., & PINTO, L.A.A. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. *Revista Univap*, v. 10, n. 18, p. 88-92, 2003.

SRINIVASA P. C., RAMESH M. N., KUMAR K. R. & THARANATHAN R. N. **Properties of chitosan films prepared under different drying conditions,** Journal of Food Engineering, v. 63, n. 1, p. 79-85, 2004.

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES J.; RHAZI M. & ALAGUI A. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, v. 44, n. 26, p. 7939–7952, 2003.

WAN, Y.; PEPPLEY, B.; CREBER, K. A. M.; TAM BUI, V. & HALLIOP E. Preliminary evaluation of an alkaline chitosan-based membrane fuel cell. *Journal of Power Sources*, v. 162, n. 1, p. 105–113, 2006.

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J. & PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology; *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 3, p. 749–753, 2007.

YOON, K.; KIM, K.; WANG, X.; FANG, D.; HSIAO, B. S. & CHU, B. High flux ultrafiltration membranes based on electrospun nanofibrous PAN scaffolds and chitosan coating. *Polymer*, v. 47, n. 7, p. 2434–2441, 2006.

YOSHIDA, M. & MIYASHITA, H. Drying behavior of polymer solution containing two volatile solvents. *Chemical Engineering Journal*, v. 86, n. 1-2, p. 193–198, 2002.

YOUN, D. K.; NO, H. K. & PRINYAWIWATKUL, W. Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. *Carbohydrate Polymers*, v. 69, n. 4, p. 707–712, 2007.

DESPOLIMERIZAÇÃO DE QUITOSANA UTILIZANDO ÁCIDO CLORÍDRICO

Resumo

O biopolímero quitosana é obtido através da hidrólise alcalina da quitina. A utilização da quitosana está relacionada diretamente com a massa molecular (polimerização) e o grau de desacetilação do polímero, sendo que estes determinam sua aplicabilidade. A despolimerização é realizada para se obter um produto com valores baixos de massa molecular (≅ 50 kDa), para utilizações específicas como no caso de produtos farmacêuticos e biomédicos. O objetivo deste trabalho foi estudar a reação de despolimerização da quitosana, produzida a partir de resíduos de camarão, para obter-se um produto com baixos valores de massa molecular. Para o estudo da reação de despolimerização foi utilizado um planejamento experimental fatorial. Os fatores foram a concentração de ácido clorídrico (25 a 45% v/v), temperatura de reação (45 a 85°C) e tempo de reação (30 a 60 min). Os valores de massa molecular da quitosana foram determinados utilizando o método viscosimétrico. As condições de operação para alcançar 50 kDa foram à temperatura de reação de 65°C, concentração de ácido clorídrico de 35% v/v em um tempo de reação de 45 min. Nestas condições de concentração de ácido clorídrico e temperatura de reação, a cinética de despolimerização foi de pseudo-primeira ordem, apresentando duas fases.

Palavras-chave: quitosana, massa molecular, despolimerização ácida.

Nomenclatura

c	concentração da solução	(g/mL)
k	constante da Equação 3	(adimensional)
K	constante que depende do sistema polímero-solvente, na Equação 4	(mL/g)
M_V	massa molecular média viscosimétrica	(kDa)
X_C	concentração de ácido clorídrico codificada	(adimensional)
X_t	tempo de reação de despolimerização codificado	(adimensional)
X_T	temperatura de reação de despolimerização codificada	(adimensional)

Letras gregas

α	expoente Mark-Houwink da Equação 4	(adimensional)
$\beta 0$	constante dos fatores codificados da Equação 5	(kDa)
βi	efeito linear dos fatores codificados da Equação 5	(kDa)
βij	efeito da interação dos fatores da Equação 5	(kDa)
$[\eta]$	viscosidade intrínseca	(mL/g)
η	viscosidade dinâmica	(Poise)
ηsp	viscosidade específica	(adimensional)
$\eta sp/c$	viscosidade reduzida	(mL/g)
ν	viscosidade cinemática	(Stokes)
ρ	massa específica	(g/mL)

1 Introdução

Quitosana, polissacarídeo β-(1-4)-D-glucosamina, é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina. A quitina pode ser encontrada em uma diversidade de fontes naturais como crustáceos, fungos, insetos e algumas algas. No processamento de crustáceos (caranguejo, camarão, krill e lagosta), a quitina é obtida em grande quantidade de seus exoesqueletos, disponível como um subproduto deste processamento (GALED et al., 2005).

Atualmente, a quitosana por causa de sua propriedade hidrogel tem sido utilizada na agricultura, indústrias farmacêuticas e cosméticas, na preservação de alimentos, clarificação de sucos de frutas, no tratamento de efluentes (adsorção de pigmentos, agente floculante, remoção de íons e metais pesados) e adesivos biológicos (TOLAIMATE et al., 2003; NO et al., 2002).

A faixa de massa molecular da quitosana é de 50 a 2000 kDa, e a variação dos valores da massa molecular é possivelmente devido a falta de controle no processamento da quitina para produção de quitosana, que envolve a desacetilação e a polimerização (REGE & BLOCK, 1999). Em muitos casos é desejável a redução de quitosana altamente desacetilada com baixos graus de

despolimerização. Além disso, o grau de acetilação influencia não somente em características físico-químicas, mas também em sua biodegradabilidade e atividade imunológica (TOLAIMATE et al., 2003).

Os métodos de despolimerização da quitosana podem ser químico, físico e enzimático. A despolimerização química é feita com ácidos e radicais livres. Os métodos físicos utilizados são: radiação, ultra-som, microondas e tratamento térmico. Os métodos enzimáticos usam quitinases, quitosanases e enzimas não específicas (lipases, proteases, lisoenzimas e carbohidrases) (PRASHANTH & THARANATHAN, 2007).

A despolimerização tem sido estudada com a utilização de ácido clorídrico (REGE & BLOCK, 1999; KATO et al., 2002; CABRERA & CUTSEM, 2005), ácido nítrico (ALLAN & PEYRON, 1995; GALED et al., 2005), ácido fosfórico (ZENG & ZHENG, 2002), peróxido de hidrogênio (TIAN et al., 2004), fluoreto de hidrogênio (DEFAYE et al., 1994), radiação (HAI et al., 2003) e métodos enzimáticos (MUZZARELLI et al., 1995; CABRERA & CUTSEM, 2005; LI et al., 2007).

Os métodos enzimáticos são específicos e de fácil controle, mas sua utilização comercial é limitada devido ao custo e à disponibilidade de quitinases. (CABRERA & CUTSEM, 2005). Realizando a despolimerização de um subproduto de quitosana com uma solução de ácido clorídrico KATO et al. (2002) observaram que a metodologia utilizada era mais barata que o método enzimático. Os métodos ácidos são muito simples com um bom rendimento, mas são dificultados por não ter um fácil controle de remoção do ácido e de subprodutos das reações concomitantes.(CABRERA & CUTSEM, 2005). A despolimerização de quitosana com ácido nítrico, seguida por tratamento com ácido clorídrico, previamente foi estudada por ALLAN & PEYRON (1995). Porém, o método desses autores necessitou o uso de quitosanas com um maior grau de desacetilação para alcançar dissolução. Além disso, a remoção de ácido nitroso residual e de seus produtos de decomposição complicou o processo.

Devido as propriedades promissoras da quitosana com baixa massa molecular (≈50 kDa) para a indústria farmacêutica é essencial estabelecer um

método rápido, viável e econômico para gerar uma quitosana de baixa massa molecular (MAO et al., 2004).

O objetivo deste trabalho consistiu em estudar os efeitos concentração de ácido clorídrico, tempo e temperatura da reação de despolimerização química da quitosana, obtida de resíduos de camarão, resultando em uma quitosana despolimerizada de baixa massa molecular (≈50 kDa), e analisar a cinética de reação na melhor condição de despolimerização, obtida através do planejamento experimental utilizado.

2 Materiais e Métodos

2.1 Produção e purificação de quitosana

A quitina foi obtida de resíduos de camarão através das etapas de desmineralização, desproteinização e desodorização, segundo TOLAIMATE et al. (2003), com modificações apresentadas por WESKA et al. (2007).

A desacetilação da quitina, para a produção de quitosana, foi realizada em um reator de aço inoxidável, com capacidade de 35 L, com agitação (60 rpm) e aquecimento elétrico, utilizando solução alcalina concentrada de hidróxido de sódio (42,1% p/v), na faixa de temperatura de 125 a 130°C, durante 1,5 h.

A purificação da quitosana foi realizada de acordo com procedimento similar descrito por ROBERTS & DOMSZY (1982). A quitosana foi dissolvida em uma solução de ácido acético por 1,5 hora, sob agitação constante de 45 rpm, centrifugada a 6650×g em uma centrifuga (Modelo Sigma 6-15, D-37520 Osterode, Alemanha) para que o material não dissolvido fosse removido. A quitosana foi precipitada com adição de hidróxido de sódio até pH 12,5, neutralizada com ácido acético até alcançar pH 6,5 e posteriormente centrifugada a 6650×g, para a remoção do sobrenadante.

Os ácidos e bases utilizados (ácido acético, hidróxido de sódio e ácido clorídrico) foram de padrão analítico. Para a produção de quitosana, na etapa de desacetilação, foi utilizado hidróxido de sódio comercial com uma pureza de 60%.

2.2 Reação de despolimerização

Quitosana purificada úmida (5 g, em base seca) foi dissolvida em solução 1% de ácido acético. A concentração de ácido clorídrico, a temperatura e o tempo de reação foram segundo o planejamento experimental utilizado apresentado na Tabela 1. Após cada reação, a quitosana despolimerizada obtida foi resfriada em um banho com gelo e as amostras de quitosanas despolimerizadas obtidas foram precipitadas com solução de hidróxido de sódio 10 M, até pH 6,5 e centrifugadas a 6650×g, por 30 minutos.

Para o estudo da cinética de reação da despolimerização foi utilizado o experimento que obteve a melhor condição para alcançar a massa molecular média viscosimétrica de 50 kDa. Esta resposta foi encontrada pela análise estatística da matriz do planejamento experimental. Durante a reação, as amostras foram coletadas em intervalos de tempo pré-determinados. A massa molecular média viscosimétrica foi calculada para avaliar o comportamento da cadeia polimérica (despolimerização), durante 4 h.

2.3 Metodologia analítica

2.3.1 Grau médio de desacetilação

A determinação do grau médio de desacetilação da quitosana foi realizada segundo o método potenciométrico, descrito por JIANG et al. (2003), pela adição de 20 mL de ácido clorídrico 0,1 N em 0,25 g de quitosana e avolumada a 100 mL com água destilada. O pH da solução foi medido em um pHmetro (Modelo MB10-Marte-Brasil), sob constante agitação com um agitador magnético à 600 rpm, e esta foi ajustada a pH 2,0 com uma solução padrão de hidróxido de sódio 0,1 M. Este ponto foi considerado o início da titulação, e finalizada quando o pH da solução alcançou o valor de 6,0 (a faixa de não protonação da quitosana).

2.3.2 Massa molecular média viscosimétrica

As amostras de quitosana foram dissolvidas em um sistema solvente de ácido acético (0,1 M), cloreto de sódio (0,2 M) e água destilada. A viscosidade

das amostras foi medida em um viscosímetro capilar Cannon-Fenske, capilares número 50 e 75 (Modelo Schott Gerate, GMBH-D65719, Alemanha), em cinco diferentes concentrações (0,001g/mL; 0,003 g/mL; 0,006 g/mL; 0,009 g/mL e 0,012 g/mL), à 25,0±0,1°C. Os capilares foram preenchidos com 10 mL de amostra, a qual passou três vezes pelo capilar, onde tempo de escoamento foi medido. As amostras foram feitas em triplicata. O tempo de escoamento da solução de amostra e do solvente obtidos através do capilar e a constante nominal do capilar foram utilizados para calcular a viscosidade cinemática (CHEN & TSAIH, 1998). A relação entre a viscosidade cinemática (ν) e a viscosidade dinâmica (μ) é apresentada na Equação 1.

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \tag{1}$$

A viscosidade da solução de amostra e do solvente foram utilizadas para calcular a viscosidade específica (η_{sp}), utilizando a Equação 2.

$$\eta_{sp} = \left(\eta_{solução} - \eta_{solvente}\right) / \eta_{solvente} \tag{2}$$

A equação de Huggins, Equação 3, foi utilizada para a estimação da viscosidade intrínseca [η]. Esta é encontrada pela extrapolação da linha reta obtida, por regressão linear em c = 0, ajustando a viscosidade reduzida (η_{sp}/c) em função da concentração (c) (ALSARRA et al., 2002).

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k[\eta]^2 c \tag{3}$$

A massa molecular média viscosimétrica da quitosana (M_V) foi determinada pela equação empírica de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 4), que relaciona a viscosidade intrínseca com a massa molecular do polímero. Foram assumidos os valores de K = $1{,}81\times10^{-3}$ em mL/g, e de α = 0,93, para um sistema solvente constituído por ácido acético 0,1M, cloreto de sódio 0,2 M, a uma temperatura de 25°C (ROBERTS & DOMSZY, 1982).

$$[\eta] = KM_V^{\alpha} \tag{4}$$

onde K e α são constantes viscosimétricas empíricas, que são específicas para cada polímero, solventes e temperatura (KHAN et al., 2000). O expoente Mark-Houwink é usualmente utilizado como um indicador da conformação da quitosana em solução.

2.4 Metodologia Estatística

Para a definição da melhor condição da reação de despolimerização da quitosana, foi utilizado um planejamento experimental fatorial, com três fatores de estudo em dois níveis de variação, com pontos centrais (MYER, 1976; BOX et al., 1978).

A Tabela 1 apresenta os fatores de estudo com os níveis de variação, em valores reais e codificados, utilizados no planejamento experimental. Cada experimento foi feito em duplicata e os resultados foram expressos com as médias e os desvios padrões das médias.

Tabela 1: Matriz do planejamento experimental com os valores codificados e reais dos fatores independentes para o estudo da reação de despolimerização de quitosana.

Tratamentos	Concentração de HCl		Tempo		Temperatura	
	(% v/v)	X_C*	(min)	X_t*	(ºC)	X_T*
1	35	0	45	0	65	0
2	25	-1	30	-1	45	-1
3	45	1	30	-1	45	-1
4	25	-1	60	1	45	-1
5	45	1	60	1	45	-1
6	35	0	45	0	65	0
7	25	-1	30	-1	85	1
8	45	1	30	-1	85	1
9	25	-1	60	1	85	1
10	45	1	60	1	85	1
11	35	0	45	0	65	0

*Fatores na forma codificada

Os valores utilizados na Tabela 1, para os níveis dos fatores do planejamento experimental, foram definidos em estudos prévios e também baseados em faixas de valores mencionados na literatura (REGE & BLOCK, 1999; KATO et al., 2002; CABRERA & CUTSEM, 2005).

A análise dos resultados foi realizada segundo a metodologia da superfície de resposta (MSR), obtendo um modelo estatístico para a resposta

massa molecular média viscosimétrica. MSR é uma coletânea de técnicas estatística e matemática utilizadas em estudos empíricos na relação e otimização, onde várias variáveis independentes influenciam a resposta da variável dependente (MYER, 1976; BOX et al., 1978).

O modelo estatístico, Equação 5, foi aplicado para avaliar o efeito das variáveis independentes na resposta massa molecular média viscosimétrica (M_V) com fatores codificados (X), utilizando um modelo polinomial associado com o planejamento experimental. O coeficiente β_0 representa a média, β_i os efeitos lineares e β_{ij} os efeitos de interação dos fatores codificados. O programa estatístico utilizado foi Statistica 5.0 for Windows (Statsoft, EUA) para as análises de regressão e ANOVA.

$$M_V = \beta_0 + \sum_{i=1}^{n} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{n} \sum_{j=i+1}^{n} \beta_{ij} X_i X_j \qquad (5)$$

Os gráficos de superfície de resposta foram obtidos das equações de regressão (modelo estatístico) dos fatores em níveis codificados, mantendo a função resposta em z e nos eixos x e y as variáveis independentes, enquanto mantém a outra constante variável no ponto central (SRINIVASA et al., 2007).

3 Resultados e Discussão

3.1 Caracterização da quitosana

O valor do grau médio de desacetilação da quitosana utilizada nos experimentos da despolimerização, determinado pelo método potenciométrico, foi de 87±1%. Este valor indica que esta quitosana é solúvel em ácidos orgânicos diluídos, devido ao valor de grau de desacetilação ser superior a 65-70% (REGE & BLOCK, 1999).

Os valores de massa molecular média viscosimétrica da quitosana purificada, utilizada nos experimentos do planejamento, foram calculados a partir do método da viscosidade reduzida em função da concentração, Equação 3, como apresentado na Figura 1. Foi obtido um valor de viscosidade intrínseca de 163,8±3,1 mL/g, com um coeficiente de correlação de 99%. A massa

molecular média viscosimétrica da quitosana, calculada pela equação de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 4) apresentou um valor de 212,0±3,0 kDa.

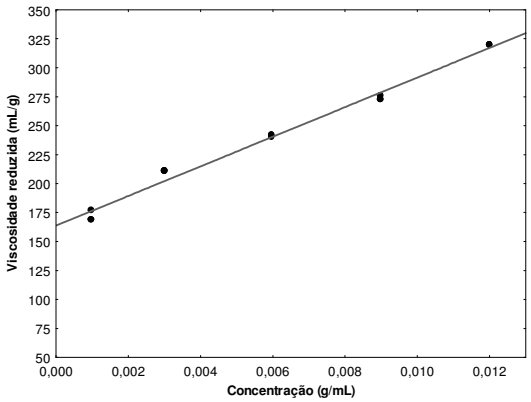

Figura 1: Gráfico da viscosidade reduzida de quitosana em função da concentração.

3.2 Análise estatística da reação de despolimerização

O mesmo procedimento de determinação da massa molecular média viscosimétrica da matéria-prima foi utilizado para calcular os valores da massa molecular média viscosimétrica final das quitosanas despolimerizadas, obtidas após os experimentos da matriz do planejamento experimental fatorial, como apresentado na Tabela 2. Todas as regressões apresentaram valores de coeficientes de correlação maiores que 99%.

De acordo com CABRERA & CUTSEM (2005), as quitosanas são polissacarídeos lineares relativamente rígidos, por isso qualquer mudança em sua viscosidade significa modificações em seu grau de polimerização. Este comportamento é confirmado pelos valores apresentados na Tabela 2, cuja mudança da viscosidade da amostra reflete na massa molecular da quitosana despolimerizada.

A Tabela 3 apresenta a análise de variância (ANOVA), obtida através dos valores de massa molecular média viscosimétrica da quitosana despolimerizada da matriz do planejamento experimental (Tabela 2), tendo como fatores codificados estudados a concentração de ácido clorídrico (X_C), tempo (X_t) e temperatura de reação (X_T).

Tabela 2: Resultados de viscosidade intrínseca e massa molecular obtidos em cada experimento da reação de despolimerização, da matriz do planejamento.

Tratamentos	Viscosidade intrínseca* (mL/g)	Massa molecular (M_V)* (kDa)
1	42,9 ± 0,8	50,6 ± 1,0
2	57,1 ± 2,3	68,8 ± 3,0
3	48,7 ± 0,8	58,0 ± 1,0
4	59,6 ± 1,9	72,0 ± 2,5
5	52,4 ± 3,1	62,7 ± 4,0
6	42,7 ± 0,8	50,3 ± 1,0
7	35,7 ± 2,8	41,5 ± 3,5
8	19,8 ± 1,7	22,0 ± 2,0
9	30,0 ± 1,2	34,5 ± 1,5
10	19,8 ± 2,9	22,1 ± 3,5
11	43,9 ± 0,8	51,8 ± 1,0

*valores médios ± erro padrão (em duplicata).

Tabela 3: Análise de variância da massa molecular média viscosimétrica dos resultados de quitosana da matriz do planejamento experimental.

Efeitos	Quadrado médio	$F_{calculado}$	Nível de significância (*P*)
Modelo	5782,80	77,29	<0,001
X_C	675,99	65,33	<0,001
X_t	0,25	0,02	0,878
X_T	4998,49	483,05	<0,001
$(X_C)(X_t)$	18,49	1,78	0,200
$(X_C)(X_T)$	34,81	3,36	0,090
$(X_t)(X_T)$	54,76	5,29	0,038
Falta de ajuste	52,52	2,53	0,117
Erro	134,52	-	-
Total	5969,84	-	-

$F_{Tabelado\ (0,05,\ 6,\ 15)}$ = 2,79 (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

Pode ser observado na Tabela 3 que os efeitos lineares de temperatura de reação (X_T) e concentração de ácido clorídrico (X_C) foram altamente significativos na análise ($P \leq 0{,}001$), porém o efeito linear do tempo de reação não foi significativo ($P = 0{,}893$). Os fatores de interação do tempo e da temperatura de reação com a concentração de ácido clorídrico, (X_C X_t) e (X_C X_T) foram significativos aos níveis de 80% e 90%, respectivamente ($P = 0{,}20$ e $P = 0{,}09$). Enquanto que a interação da temperatura com o tempo de reação foi significativa ao nível de 95% ($P \leq 0{,}05$).

Para a resposta massa molecular média viscosimétrica da quitosana despolimerizada, a Equação 6 representa o modelo estatístico obtido pela análise de regressão, considerando a constante, os efeitos lineares dos fatores significativos e as interações dos fatores. O coeficiente de correlação foi de 97%.

$$M_V = 48{,}6 - 6{,}5X_C - 17{,}7X_T + 1{,}1X_C\,X_t - 1{,}5X_C\,X_T - 1{,}8X_t\,X_T \qquad (6)$$

Através dos coeficientes obtidos na Equação 6 observa-se que a temperatura de reação e a concentração de ácido clorídrico tem efeito negativo na variável dependente massa molecular média viscosimétrica. REGE & BLOCK (1999) encontraram o mesmo comportamento da temperatura de reação na massa molecular da quitosana, na despolimerização com ácido clorídrico (concentração fixa), em temperatura que variaram de 60 a 100°C.

O valor do $F_{calculado}$ pelo modelo estatístico apresentado na Tabela 3 foi superior a dez vezes o valor do $F_{Tabelado}$, o que torna o modelo preditivo, podendo assim ser utilizado para gerar a superfície de resposta (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

A Figura 2 apresenta a superfície de resposta e as curva de níveis para a massa molecular média viscosimétrica da quitosana despolimerizada, obtida através da Equação 6, considerando os fatores principais significativos da análise estatística.

De acordo com a Figura 2, a melhor condição para obter quitosana despolimerizada com valores de massa molecular média viscosimétrica de 50 kDa foi: 65 ºC (ponto central da temperatura de reação), 35% v/v (ponto central

da concentração de ácido clorídrico), para qualquer tempo de reação, na faixa considerada.

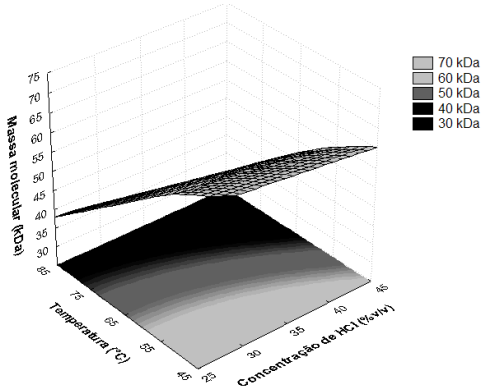

Figura 2: Superfície de resposta e curva de níveis para a resposta massa molecular média viscosimétrica versus temperatura e concentração de ácido clorídrico.

Ao estudar o comportamento da reação de despolimerização de quitosana utilizando peróxido de hidrogênio TIAN et al. (2004), observaram que a temperatura de reação não pode ser muito alta durante a reação de despolimerização (entre 40 e 60°C). Os autores encontraram que se a temperatura de reação de despolimerização é elevada, a despolimerização da quitosana ocorre de maneira rápida e severa. Segundo REGE & BLOCK (1999), ocorreram alterações drásticas nas quitosanas que foram submetidas à temperaturas de reação elevadas (100°C). Confirma-se este comportamento da temperatura de reação observando a Figura 2, onde na região acima de 70°C, os valores de massa molecular média viscosimétrica foram inferiores a 50 kDa, para qualquer valor de concentração de ácido na faixa considerada do presente estudo.

3.3 Cinética da reação de despolimerização

O estudo cinético do comportamento da cadeia polimérica durante o tempo de reação de despolimerização foi realizado de acordo com as condições de concentração de ácido clorídrico e temperatura determinadas pela análise estatística (35% v/v e 65ºC).

A Figura 3 apresenta o comportamento da massa molecular média

viscosimétrica em função do tempo de reação da despolimerização, durante quatro horas. Este tempo foi utilizado para a estabilização do comportamento da cadeia polimérica durante a reação.

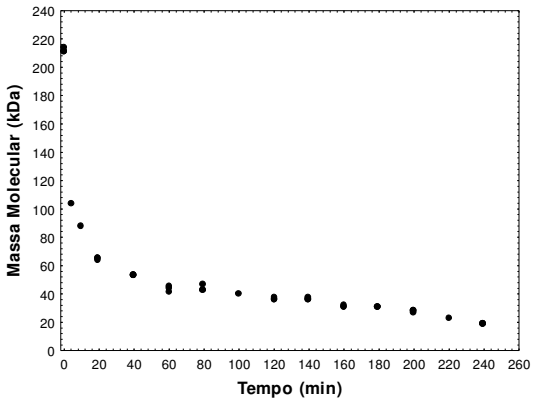

Figura 3: Gráfico do comportamento dos valores de massa molecular, durante a reação de despolimerização da quitosana.

Na Figura 3, os valores da massa molecular média viscosimétrica decrescem rapidamente no início da reação, alcançando um valor de 50 kDa, nos primeiros 60 min da reação de despolimerização. O decréscimo acentuado do valor de massa molecular média viscosimétrica, ocorrido principalmente na primeira hora de reação, sob diferentes condições de reação de despolimerização, foi também observado por MAO et al. (2004); TIAN et al. (2004) e LI et al. (2007).

Utilizando nitrato de sódio MAO et al. (2004), observaram que a despolimerização ocorreu principalmente em uma hora de reação, reduzindo o valor de massa molecular média de 600 kDa à valores menores que 100 kDa, sendo essa redução no valor de 80%. Essa redução foi similar ao apresentado no gráfico da Figura 3, com redução de 212 para 41 kDa. Utilizando peróxido de hidrogênio para a despolimerização, com grau de desacetilação de 91%, TIAN et al. (2004) constataram redução de massa molecular de 1200 à 700 kDa, na primeira hora de reação. LI et al. (2007) verificaram que o tratamento enzimático resultou em uma redução significativa na viscosidade da solução de quitosana, indicando uma despolimerização, e esta aconteceu muito rapidamente durante os trinta minutos iniciais de reação, continuando sua degradação até uma hora de reação.

O comportamento da cinética de despolimerização da quitosana pode ser observado no gráfico da Figura 4, do logaritmo neperiano da massa molecular média viscosimétrica da quitosana (ln M_V) em função do tempo de reação.

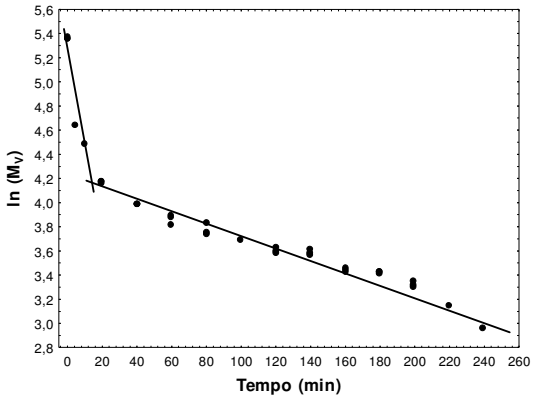

Figura 4: Gráfico do logaritmo neperiano da massa molecular de quitosana em função do tempo de reação.

A cinética de reação apresentou duas fases, e este comportamento também foi observado por GALED et al. (2005), na despolimerização de quitosana com ácido nítrico.

Para o ajuste do logaritimo neperiano da massa molecular de quitosana em função do tempo de reação de despolimerização, foi utilizado equação de pseudo-primeira, devido ao excesso de ácido clorídrico em relação à quitosana, pseudo-primeira ordem, para os 12 min iniciais e para o intervalo dos 12 aos 240 min restantes. Os valores da constante cinética para os primeiros 12 min de reação foi 0,0948 ± 0,0157 min^{-1} (R^2 = 92,4%) e para o tempo restante após os 12min de reação foi 0,0044 ± 0,0002 min^{-1} (R^2 = 93,4%). Verificou-se que a constante da cinética da reação dos minutos iniciais é vinte vezes maior que o da segunda fase. REGE & BLOCK (1999) e GALED et al. (2005) também observaram que a cinética de despolimerização da quitosana foi de pseudo-primeira ordem no estudo da reação de despolimerização ácida de quitosana.

4 Conclusão

A quitosana produzida a partir da hidrólise alcalina da quitosana obtida de resíduos de camarão apresentou um grau de desacetilação de 87±1% e

uma massa molecular média viscosimétrica de 212±3,0 kDa.

No estudo da reação de despolimerização química da quitosana utilizando ácido clorídrico ocorreu a significância ($P < 0,05$) dos fatores temperatura e concentração de ácido clorídrico na resposta massa molecular média viscosimétrica. O efeito linear do tempo de reação não foi significativo ($P > 0,05$) na faixa dos valores utilizados no planejamento experimental. Porém, sua interação com a temperatura foi significativo ($P < 0,05$).

As melhores condições estabelecidas pela análise estatística para obter quitosana despolimerizada com valores de massa molecular média de 50 kDa (para fins farmacêuticos) foram a 65°C e 35% v/v de ácido clorídrico em um tempo de reação de 45 minutos.

O comportamento da cinética da reação de despolimerização da quitosana acompanhada durante 4 h, foi de pseudo-primeira ordem, e apresentou duas fases. A constante da cinética da primeira fase foi vinte vezes maior do que a da segunda fase.

5 Referências

ALLAN, G. G. & PEYRON, M. Molecular weight manipulation of chitosan II: prediction and control of extent of depolymerization by nitrous acid, *Carbohydrate Research*, v. 277, n. 2, p. 273-282, 1995.

ALSARRA, I. A.; BETIGERI, S. S.; ZHANG, H.; EVANS, B. A. & NEAU, S. H. Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics. *Biomaterials*, v. 23, n. 17, p. 3637–3644, 2002.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G. & HUNTER, J. S. Statistic for experiments: An introduction to design, Data analysis and model building (pp. 510-539). John Wiley & Sons, New York, 1978.

CABRERA, J. C. & CUTSEM, P. V. Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of chitosan. *Biochemical Engineering Journal*, v. 25, n. 2, p. 165-172, 2005.

CHEN, R. H. & TSAIH, M. L. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 23, n. 2, p. 135–141, 1998.

DEFAYE, J.; GADELLE, A. & PEDERSEN, C. A. convenient access to β- (1→4) linked 2-amino-2-deoxy-d-glucopyranosyl fluoride oligosaccharides and β-(1→4)-linked 2-amino-2-deoxy-d-glucopyranosyl oligosaccharides by fluorolysis and fluorohydrolysis of chitosan. *Carbohydrate Research*, v. 261, n. 2, p. 267–277, 1994.

GALED, G.; MIRALLES, B.; PAÑOS, I.; SANTIAGO, A. & HERAS, A. N-Deacetylation and depolymerization reactions of chitin/chitosan: Influence of the source of chitin. *Carbohydrate Polymers*, v. 62, n. 4, p. 316–320, 2005.

HAI, L.; DIEP, T. B.; NAGASAWA, N.; YOSHII, F. & KUME, T. Radiation depolymerization of chitosan to prepare oligomers. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Sect. B*, v. 208, p. 466–470, 2003.

JIANG, X.; CHEN, L. & ZHONG, W. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, p. 54, n. 4, p. 457–463, 2003.

KATO, Y.; ONISHI, H. & MACHIDA, Y. Depolymerization of N-succinyl-chitosan by hydrochloric acid. *Carbohydrate Research*, p. 337, n. 6, p. 561–564, 2002.

KHAN, T. A.; PEH, K. K. & CH'NG, H. S. Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan films for Wound Dressing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*, v. 3, n. 3, p. 303-311, 2000.

LI, J.; DU, Y. & LIANG, H. Influence of molecular parameters on the degradation of chitosan by a commercial enzyme. *Polymer Degradation and Stability*, v. 92, n. 3, p. 515-524, 2007.

MAO, S.; SHUAI, X.; UNGER, F.; SIMON, M.; BI, D. & KISSEL, T. The Polymerization of chitosan: effects on physicochemical and biological properties. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 281, n. 1-2, p. 45-54, 2004.

MUZZARELLI, R. A. A.; XIA, W.; TOMASETTI, M. & ILARI, P. Depolymerization of chitosan and substituted chitosans with the aid of a wheat germ lipase preparation. *Enzyme and Microbial Technology*, p. 17, n. 6, p. 541-545, 1995.

MYER, R. H. Response surface methodology (pp. 107-125). Library of Congress, New York, 1976.

NO, H. K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H. & MEYERS, S. P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, v. 74, n. 1-2, p. 65-72, 2002.

PRASHANTH, K. V. H. & THARANATHAN, R. N. Chitin/Chitosan: modifications and their unlimited application potential – an overview. *Trends Food Science &. Technology*, v. 18, n. 3, p. 117-131, 2007.

REGE, P. R. & BLOCK, L. H. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydrate Research*, v. 321, n. 3-4, p. 235–245, 1999.

ROBERTS, A. F. & DOMSZY, J. G. Determination of the viscometric constants for chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 4, n. 6, p. 374-377, 1982.

RODRIGUES, M. I. & IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos uma estratégia seqüencial de planejamentos, Editora Casa do Pão, Brasil, 2005.

SRINIVASA, P. C.; RAVI, R. & THARANATHAN, R. N. Effect of storage conditions on the tensile properties of eco-friendly chitosan films by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 1, p. 184-189, 2007.

TIAN, F.; LIU, Y.; HU, K. & ZHAO, B. Study of the depolymerization behavior of chitosan by hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*, v. 57, n. 1, 31-37. (2004).

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES, J.; RHAZ, I. M. & ALAGUI, A. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, v. 44, n. 26, p. 7939–7952, 2003.

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J. & PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology; *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 3, p. 749–753, 2007.

ZENG, J. & ZHENG, L. Studies on Penicillium sp. ZDZ1 chitosanase immobilized on chitin by cross-linking reaction. *Process Biochemistry*, v. 38, n. 4, p. 531-535, 2002.

CAPÍTULO IV

5 Conclusão Geral

A secagem da quitina em camada delgada nas condições utilizadas, ocorreu no período de taxa constante e principalmente na primeira fase do período de taxa decrescente, para alcançar a umidade comercial. Um modelo difusivo com difusividade efetiva variável foi utilizado com a condição de contorno na superfície considerando mudanças da distribuição do conteúdo de umidade no sólido com o tempo para a determinação da taxa de transferência de umidade. A solução deste modelo apresentou concordância com os dados experimentais de secagem da quitina. Através da solução do modelo não foi verificada a influência da resistência externa à transferência de massa para a velocidade do ar de secagem de 1,5 m/s. Porém, foi necessário considerar essa resistência externa na operação de secagem na velocidade do ar de 0,5 m/s.

Na otimização da etapa de desacetilação, utilizando a metodologia da superfície de resposta, foi observado uma grande influência do efeito principal temperatura e o efeito quadrático do tempo. Foi estabelecido um modelo estatístico de segunda ordem com interações, com um coeficiente de determinação de 94%. A condição ótima da reação de desacetilação foi obtida na temperatura de 130℃ e no tempo de 90 min, apresentando o menor valor de massa molecular, de 150 kDa, com grau de desacetilação de 90%.

A secagem da quitosana ocorreu em dois períodos de secagem, o de taxa constante e o de taxa decrescente. O período de taxa descrescente apresentou duas fases. A variação da massa molecular da quitosana durante a secagem apresentou comportamentos lineares em função do tempo e do conteúdo de umidade do material. Foram observadas duas regiões, no aumento da massa molecular, uma correspondendo ao período de taxa constante e primeira fase de taxa descrescente e a outra correspondendo ao a segunda fase do período de taxa decrescente, sendo que o maior aumento da massa molecular ocorreu nesta última região. O produto final obtido apresentou um aumento no valor de sua massa molecular média viscosimétrica de 27%, em relação ao seu valor inicial.

No estudo da reação de despolimerização química da quitosana observou-se a significância estatística dos fatores temperatura e concentração de ácido clorídrico na resposta massa molecular média viscosimétrica. As melhores condições estabelecidas pela metodologia da superfície de reposta para obter uma quitosana despolimerizada com valores de massa molecular média de 50 kDa (para fins farmacêuticos) foram a 65□C e 35% v/v de HCl em um tempo de reação de 45 minutos. O comportamento da cinética da reação foi de pseudo-primeira ordem, e esta apresentou duas fases. A constante da cinética da primeira fase foi vinte vezes maior do que a da segunda fase.

6 Perspectivas Futuras

- Aplicação da quitosana como filme polimérico, visando a conservação de alimentos;
- Utilização da quitosana no tratamento de efluentes, na retirada de metais pesados, compostos orgânicos, etc.;
- Estudar o comportamento da quitosana despolimerizada como veículo de medicamentos.

7 Referências Bibliográficas

Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). **Official Methods of Analysis** Ed. 16, v.1, Arligton/USA, 1995.

AGUERRE, R. J.; GABITTO, J. F. & CHIRIFE, J. Utilization of Fick's second law for the evaluation of diffusion coefficients in food process controlled by internal diffusion. *Journal of Food Technology*, v. 20, n. 5, p. 623-629,1985.

ALLAN, G. G. & PEYRON, M. Molecular weight manipulation of chitosan II: prediction and control of extent of depolymerization by nitrous acid, *Carbohydrate Research*, v. 277, n. 2, p. 273-282, 1995.

ALSARRA, I.A.; BETIGERI, S.S.; ZHANG, H.; EVANS, B.A. & NEAU, S.H. Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics. *Biomaterials*, v. 23, n. 17, p. 3637-3644, 2002.

AYE, K. N. & STEVENS, W. S. Technical note: Improved chitin production by pretreatment of shrimp shells. *Journal of Chemical Technological and Biotechnological*, v. 79, n. 4, p. 421-425, 2004.

BABALIS, S. J. & BELESSIOTIS, V. B. Influence of the drying conditions on the drying constants and moisture diffusivity during the thin-layer drying of figs. *Journal of Food Engineering*, v. 65, n. 3, p. 449–458, 2004.

BALÁZS, N. & SIPOS, P. Limitations of pH-potentiometric titration for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. Carbohydrate Research, v. 342, n. 1, p. 124–130, 2007.

BATISTA, L. M.; ROSA, C. A. & PINTO, L. A. A. Diffusive model with variable effective diffusivity in the thin layer drying of chitosan *Journal of Food Engineering*, v. 81, n. 1, p. 127-132, 2007.

BATISTA, L. M.; SOARES, N. M.; ROSA, C. A. & PINTO, L. A. A. Secagem em camada delgada de quitosana purificada: estudo da operação através da superfície de resposta. *Revista Vetor*, v. 14, n. 1/2, p.39-56, 2004.

BATISTA, L. M. Secagem de quitosana obtida a partir de resíduos de camarão: análise da cinética de secagem considerando encolhimento. 121f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2004.

BERGER, J.; REIST, M.; CHENITE, A.; FELT-BAEYENS, O.; MAYER, J.M. & GURNY, R. Pseudo-thermosetting chitosan hydrogels for biomedical application. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 288, n. 2, p. 197-206, 2005.

BON, J.; ROSSELLÓ, C.; FEMENIA, A.; EIM, V. & SIMAL, S. Mathematical Modeling of Drying Kinetics for Apricots: Influence of the External Resistance to Mass Transfer. *Drying Technology*, v. 25, n. 11, p. 1829 – 1835, 2007.

BONAZZI, C.; ROPOCHE, A. & MICHON, C. Moisture diffusion in gelatin slabs by modeling drying kinetics. *Drying Technology*, v. 15, n. 6-8, p. 2045-2059, 1997.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G. & HUNTER, J. S. Statistic for experiments: An introduction to design, Data analysis and model building (pp. 510-539). John Wiley & Sons, New York, 1978.

BRUIN, S. & LUBYEN, K. C. A. M. **Drying of food materials: a review of recents developments**. In: MUJUMDAR, A. Advances in Drying. Washington/ New York/ London, Ed. Hemisphere Publishing Corporation, v.3, 1980.

CABRERA, J. C. & CUTSEM, P. V. Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of chitosan. *Biochemical Engineering Journal*, v. 25, n. 2, p. 165-172, 2005.

CAMPANA-FILHO, S.P., BRITTO, D., CURTI, E., ABREU, F.R., CARDOSO, M.B., BATTISTI, P.C.S., GOY, R.C., SIGNINI, R., LAVALL, R.L. Extração, estruturas e propriedades de α- e β- quitina. *Química Nova*, v. 30, p. 644-650, 2007.

CERVERA, M.F.; HEINÄMÄKI, J.; RÄSÄNEN, M.; MAUNU, S.L.; KARJALAINEN, M.; NIETO ACOSTA, O.M.; IRAIZOZ COLARTE, A. & YLIRUUSI, J. Solid-state characterization of chitosans derived from lobster chitin. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, n. 4, p. 401-408, 2004.

CHANDUMPAI, A.; SINGHPIBULPORN, N.; FAROONGSARNG, D. & SORNPRASIT, P. Preparation and physico-chemical characterization of chitin and chitosan from the pens of the squid species, Loligo lessoniana and Loligo formosana. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, n. 4, p. 467–474, 2004.

CHATTERJEE, S., ADHYA, M., GUHA, A.K., CHATTERJEE, B.P. Chitosan from *Mucor rouxii*: production and physico-chemical characterization. *Process Biochemistry*, v.40, n. 1, p.395–400, 2005.

CHEN, R.H. & HWA, H.D. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of prepared membrane. *Carbohydrate Polymers*, v. 29, n. 4, p. 353-358, 1996.

CHEN, R.H. & TSAIH, M.L. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 23, n. 2, p. 135-141, 1998.

CHIANDOTTI, R. S. **Síntese e propriedades de derivados de quitosana: lauroil –quitosana.** 73f. Dissertação (Mestrado em Química) Química – Universidade Federal do Paraná , 2005.

CHIRIFE, J. **Fundamentals of the drying mechanism during air dehydration of foods**. In Advances in drying; Mujumdar, A.; Ed. Hemisphere Publishing Co: New York, v. 2, p. 73-102, 1983.

CHOU, S.K. & CHUA K. J. New hybrid drying technologies for eat sensitive foodstuffs. Trends in Food Science & Technology, v. 12, n. 10, p. 359–369, 2001.

CIHAN, A. & ECE; M. C. Liquid diffusion model for intermittent drying of rough rice. *Journal of Food Engineering*, v. 49, n. 4, p. 327-331, 2001.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C. & QUEIROZ, D. C.. **Quitosana: a fibra do futuro**. Parque de Desenvolvimento Tecnológico - PADETEC, Fortaleza, Ceará, 1999.

DEFAYE, J.; GADELLE, A. & PEDERSEN, C. A convenient access to β- (1→4) linked 2-amino-2-deoxy-d-glucopyranosyl fluoride oligosaccharides and β-(1→4)-linked 2-amino-2-deoxy-d-glucopyranosyl oligosaccharides by fluorolysis and fluorohydrolysis of chitosan. *Carbohydrate Research*, v. 261, n. 2, p. 267–277, 1994.

DELGADO, A. E. & SUN, D. W. Desorption isotherms for cooked and cured beef and pork. *Journal of Food Engineering*, v. 51, n. 2, p. 63-170, 2002.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A. & DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, v. 21, n. 6, p. 703-714, 2004.

DOYMAZ, I.; TUGRUL, N. & PALA, M. Drying characteristics of dill and parsley leaves. *Journal of Food Engineering*, v. 77, n. 3, p. 559–565, 2006.

FENNEMA, O. R. **Introducción a la ciencia de los alimentos**. Ed. Reverté, S.A., España. 1985.

FORTES, M. & OKOS, M. R. **Drying theories: Their bases and limitations as applied to food and grain**, In: MUJUMDAR, A. Advances in drying, Washington, ed. Hemisphere Publishing Corporation. v. 1, p. 119-154, 1980.

FURLAN, L. Copolímeros grafitizados de quitina e quitosana com monômeros acrílicos, estudos de adsorção de Ca(II) e aplicações na tecnologia do papel. Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis, SC, 1993.

GALED, G.; MIRALLES, B.; PAÑOS, I.; SANTIAGO, A. & HERAS, A. N-Deacetylation and depolymerization reactions of chitin/chitosan: Influence of the source of chitin. *Carbohydrate Polymers*, v. 62, n. 4, p. 316–320, 2005.

GILDBERG, A.; STENBERG, E. A new process for advanced utilization of shrimp waste. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 809-812, 2001.

GRANDFIELD, K. & ZHITOMIRSKY, I. Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite–silica–chitosan coatings. *Materials Characterization*, v. 59, n. 1, p. 61-67, 2008.

GUPTA, K.C. & JABRAIL, F. H. Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres. Carbohydrate Polymers, v. 66, n. 1, p. 43–54, 2006.

HAI, L.; DIEP, T. B.; NAGASAWA, N.; YOSHII, F. & KUME, T. Radiation depolymerization of chitosan to prepare oligomers. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Sect. B*, v. 208, p. 466–470, 2003.

HALAL, C.Y. Secagem do biopolímero quitosana em camada delgada e leito de jorro: análise das condições operacionais e das características do produto final, 90f, Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2005.

HUANG, H.; YUAN Q. & YANG X. Morphology study of gold–chitosan nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 282, n. 1, p. 26–31, 2005.

IBANOGLU, S. & MASKAN, M. Effect of cooking on the drying behaviour of tarhana dough, a wheat flour-yoghurt mixture. *Journal of Food Engineering*, v. 54, n. 2, p. 119-123, 2002.

IGBEKA, J.C. Simulation of moisture movement during drying a starch food products-cassaca. *Journal of Food Technology*, v. 17, n. 1, p. 27-36, 1982.

IGUAZ, A. & VÍRSEDA, P. Moisture desorption isotherms of rough rice at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, v. 79, n. 3, p. 794-802, 2007.

ILYINA, A.V.; TIKHONOV, V.E.; ALBULOV, A.I. & VARLAMOV, V.P. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*, v. 35, n. 6, p. 563-568, 2000.

JIANG, X.; CHEN, L. & ZHONG, W. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, p. 54, n. 4, p. 457–463, 2003.

JIANG, H.; SUB, W.; HAZELC, J.; GRANTC, J.T.; TSUKRUKD, V.V.; COOPERE, T.M. & BUNNING, T.J. Electrostatic self-assembly of sulfonated C_{60}-porphyrin complexes on chitosan thin films. *Thin Solid Films*, v. 372, n. 1-2, p. 85–93, 2000.

JUMAA, M.; FURKERT, F.H. & MÜLLER, B.W. A new lipid emulsion with high antimicrobial efficacy using chitosan. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 53, n. 1, p. 115-123, 2002.

KATO, Y.; ONISHI, H. & MACHIDA, Y. Depolymerization of N-succinyl-chitosan by hydrochloric acid. *Carbohydrate Research*, p. 337, n. 6, p. 561–564, 2002.

KEEY, R. B. Drying. **Principles and practice. In Danckwerts PV, editor. International Series of Monographs in Chemical Engineering**, Pergamon Press, v.13, New York, 1972.

KHAN, T. A.; PEH, K. K. & CH'NG, H. S. Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan films for Wound Dressing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*, v. 3, n. 3, p. 303-311, 2000.

KHOR, E. & LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v. 24, n. 13, p. 2339–2349, 2003.

KIANG, T.; WEN, J. LIM, H. W.; LEONG, K. W. The effect of the degree of chitosan deacetylation on the efficiency of gene transfection. Biomaterials, v. 25, n. 22, p. 5293–5301, 2004.

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

LAUTO, A.; OHEBSHALOM, M.; ESPOSITO, M.; MINGIN, J.; LI, P.S.; FELSEN, D.; GOLDSTEIN, M. & POPPAS, D.P. Self-expandable chitosan stent: design and preparation. *Biomaterials*, v. 22, n. 13, p. 1869-1874, 2001.

LAVERTU, M. XIA, Z.; SERREQI, A.N.; BERRADA, M.; RODRIGUES,A.; WANG, D.; BUSCHMANN, M. D. & GUPTA, A. A validated ^{1}H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 32, n. 6, p. 1149-1158, 2003.

LEI, C.; GONGA, F.; SHEN, G. & YU, R. Amperometric immunosensor for Schistosoma japonicum antigen using antibodies loaded on a nano-Au monolayer modified chitosan-entrapped carbon paste electrode. *Sensors and Actuators B*, v. 96, n. 3, p. 582–588, 2003.

LOPES, E. C. N.; ANJOS, F. S. C.; VIEIRA, E. F.S. & CESTARI, A. R. An alternative Avrami equation to evaluate kinetic parameters of the interaction of Hg(II) with thin chitosan membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 263, n. 2, p. 542–547, 2003.

LI, J.; DU, Y. & LIANG, H. Influence of molecular parameters on the degradation of chitosan by a commercial enzyme. *Polymer Degradation and Stability*, v. 92, n. 3, p. 515-524, 2007.

MAO, S.; SHUAI, X.; UNGER, F.; SIMON, M.; BI, D. & KISSEL, T. The Polymerization of chitosan: effects on physicochemical and biological

properties. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 281, n. 1-2, p. 45-54, 2004.

MÁRQUEZ, C. A.; MICHELIS, A. & GINER, S. A. Drying kinetics of rose hip fruits (Rosa eglanteria L.). *Journal of Food Engineering*, v. 77, n. 3, p. 566-574, 2006.

MARTINOU, A., KAFETZPOULOS, D., BOURIOTIS, V. Chitin deacetylation by enzymatic means: monitoring of deacetylation processes. *Carbohydrate Research*, v.273, p.235-242, 1995.

MARTINS, P. C. & PINTO, L.A.A. Caracterização da Secagem de Cebola (Allium cepa L.) em Camada Delgada e da Reidratação do Produto Desidratado. *Brazilian Journal of Food technology*, v.6, n.2, p.143-151, 2003.

MARTYNENKO, A. I. Evaluation of Mass Transfer Resistances from Drying Experiments. *Drying Technology*, v. 24, n. 12, p. 1569–1582, 2006.

Mc.CORMICK, P. Y. **Solids drying fundamentals**. PERRY, R. H. and CHILTON, C. H., Chemical Engineer's Handbook, Mc Graw-Hill. Co. 5 ed., 1983.

METHACANON, P.; PRASITSILP, M.; POTHSREE, T. & PATTARAARCHACHAI, J. Heterogeneous N-deacetylation of squid chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Polymers*, v. 52, n. 2, p. 119-123, 2003.

MIDILLI, A.; KUCUK, H. & YAPAR, Z. A. New model for single-layer drying. *Drying Technology*, v. 20, n. 7, p. 1503-1513, 2002.

MORAES, M. A.; ROSA, G. S. & PINTO, L. A. A. Isotermas de Equilíbrio para Quitina: Determinação do Calor de Dessorção. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 10, n. 3, p. 212-219, 2007.

MOREIRA, M. F. P. **Secagem de gel ágar**. Dissertação de Mestrado, UFSCar, São Carlos, SP, 2000.

MOURA, C. M. Avaliação da reação de desacetilação da quitina e estudo da secagem de pellets de quitosana para aplicação em filmes poliméricos, Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), FURG, 2008.

MULET, A.; GARCIA-PASCUAL, P.; SANJUÁN, N. & GARCIA-REVERTER, J. Equilibrium isotherms and isosteric heats of morel (Morchella esculenta). *Journal of Food Engineering*, v. 53, n. 1, p. 75-81, 2002.

MUN, S.; DECKER, E. A. & MCCLEMENTS, D. J. Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant–chitosan membranes. Journal of Colloid and Interface Science, v. 296, n. 2, p. 581–590, 2006.

MUZZARELLI, R. A. A.; XIA, W.; TOMASETTI, M. & ILARI, P. Depolymerization of chitosan and substituted chitosans with the aid of a wheat germ lipase preparation. *Enzyme and Microbial Technology*, p. 17, n. 6, p. 541-545, 1995.

MYER, R. H. **Response surface methodology** (pp. 107-125). Library of Congress, New York, 1976.

NO, H. K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H. & MEYERS, S. P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, v. 74, n. 1-2, p. 65-72, 2002.

PARK, K. J.; BROD, F. P. R. & SILVA, J. E. A. R. Estudo comparativo de secagem de cebolinha (allium sp. cv. galega) utilizando secadores vertical e horizontal. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 2, n. 16, 1996.

PERRY, R. H. & GREEN, D. W. **Perry's chemical engineers handbook**. 6$^{a.}$ edição, New York: Mc Graw-Hill, 1984.

PINTO, L.A.A. & TOBINAGA, S. Diffusive model with shrinkage in the thin layer drying of fish muscles. *Drying Technology*, v. 25, n. 4, p. 509-516, 2006.

PINTO, L. A. A. Cinética de secagem de filés de peixe: uso de um modelo difusivo com variação de volume. Tese de Doutorado. UFSCar, São Carlos, SP, p. 154, 1996.

PRASHANTH, K.V.H.; KITTUR, F.S. & THARANATHAN, R.N. Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions. *Carbohydrate Polymers*, v. 50, n. 1, p. 27-33, 2002.

PRASHANTH, K. V. H. & THARANATHAN, R. N. Chitin/Chitosan: modifications and their unlimited application potential – an overview. *Trends Food Science &. Technology*, v. 18, n. 3, p. 117-131, 2007.

RAMESH, M.N.; WOLF, W.; TEVINI, D. & JUNG, G. Influence of processing on the drying of spice paprika. *Journal of Food Engineering*, v. 49, n. 1, p. 63-72, 2001.

REGE, P. R. & BLOCK, L. H. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydrate Research*, v. 321, n. 3-4, p. 235–245, 1999.

REGE, P.R.; GARMISE, R.J. & BLOCK, L.H. Spray-dried chitinosans Part I: preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 252, n. 1-2, p. 41-51, 2003.

RHEE, J-S; JUNG, M-W. & PAENG, K-J Evaluation of Chitin and Chitosan as a Sorbent for the Preconcentration of Phenol and Chlorophenols in Water. Analitical Sciences, v. 14, p. 1089-, 1998.

ROBERTS, G.A.F. & DOMSZY, J.G. Determination of the viscosimetric constants for chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 4, n. 6, p. 374-377, 1982.

RODRIGUES, M. I. & IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos uma estratégia seqüencial de planejamentos, Editora Casa do Pão, Brasil, 2005.

RONCAL, T.; OVIEDO, A.; ARMENTIA, I. L., FERNÁNDEZ, L. & VILLARÁN, M. C. High yield production of monomer-free chitosan oligosaccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan. *Carbohydrate Research*, v. 342, n. 18, p. 2750–2756, 2007.

RUDRAPTANAM N. THARANATHAN & FAROOQAHMED S. KITTUR Chitin — The Undisputed Biomolecule of Great Potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, p. 61–87, 2003.

SCHAUER, C. L.; CHEN, M-S.; CHATTERLEY, M.; EISEMANN, K.; WELSH, E. R.; PRICE, R. R.; SCHOEN, P. E. & LIGLER, F. S. Color changes in chitosan and poly(allyl amine) films upon metal binding. *Thin Solid Films*, v. 434, n. 1-2, p. 250–257, 2003.

SAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V. & JEON, Y. J. Food applications of chitin chitosans. *Trends and Food Science & Technology*, v. 10, n. 2, p. 37-51, 1999.

SANNI, L.O.; KOLAWOLE, A. G.; AKINGBALA, J. O. & KUYE, A. Effect of drying methods on moisture sorption isotherms of fufu at three temperatures. *Drying Technology*, v. 17, n. 1-2, p. 285-297, 1999.

SARAVACCOS, G. D. & ROUZEOUS, G. S. **Diffusivity of moisture in air-drying of starch gels**. In: McKENNA, B. M. Engineering and Food. London, New York, ed. Elsevier Applied Science Publishes, v.1, p. 493-507, 1984.

SARSAVADIA, P. N.; SAWHNEY, R. L.; PANGAVHANE, D. R. & SINGH, S. P. Drying behaviour of brined onion slices. *Journal of Food Engineering*, v. 40, p.219-226, 1999.

SIMAL, A.L. **Estrutura e Propriedades dos Polímeros**. Gráfica UFSCar, São Carlos, SP, Brasil, 2002.

SIMAL, S.; FEMENIA, A.; GARCIA-PASCUAL, P. & ROSSELLO, C. Simulation of the drying curves of a meat-based product: effect of the external

resistance to mass transfer. *Journal of Food Engineering*, v. 58, n. 2, p. 193-199, 2003.

SIMAL, S.; FEMENIA, A.; CASTELL-PALOU, A. & ROSSELLÓ, C. Water desorption thermodynamic properties of pineapple. Journal of Food Engineering, v. 80, n. 4, p. 1293-1301, 2007.

SOARES, N.M., MOURA, C., VASCONCELOS, S., RIZZI, J., & PINTO, L.A.A. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. *Revista Univap*, v. 10, n. 18, p. 88-92, 2003.

SRINIVASA P. C., RAMESH M. N., KUMAR K. R. & THARANATHAN R. N. Properties of chitosan films prepared under different drying conditions, *Journal of Food Engineering*, v. 63, n. 1, p. 79-85, 2004.

SRINIVASA, P. C.; RAVI, R. & THARANATHAN, R. N. Effect of storage conditions on the tensile properties of eco-friendly chitosan films by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 1, p. 184-189, 2007.

STRUMILO, C. & KUDRA, T. **Drying: principles, applications and design**. In: Hughes, R. Topics in Chemical Engineering. v. 3, Universidade de Salford, UK. 1986.

SYNOWIECKI, J. & AL-KHATEEB, N.A. Production, and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.43, p. 145-171, 2003.

TAKAHASHI, T; IMAI, M. & SUZUKI, I. Water permeability of chitosan membrane involved in deacetylation degree control. Biochemical Engineering Journal, v. 36, p. 43–48, 2007.

TAKAHASHI, T; IMAI, M. & SUZUKI, I. High-potencial molecular properties of chitosan and reaction conditions for removing *p*-quinone from the aqueous phase. Biochemical Engineering Journal, v. 25, p. 7-13, 2005.

TAN, S. C.; KHOR, E., TAN, T. K. & WONG, S. M. The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivative UV-spectrophotometry method of determination. Talanta, v. 45, n. 4, p. 713–719, 1998.

TEIXEIRA, M. & TOBINAGA, S. A diffusion model for describing water transport in round squid mantle during drying with a moisture-dependent effective diffusivity. *Journal of Food Engineering*, v. 36, n. 2, p. 169-181, 1998.

TIAN, F.; LIU, Y.; HU, K. & ZHAO, B. Study of the depolymerization behavior of chitosan by hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*, v. 57, n. 1, 31-37. (2004).

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A.; VINCENDON, M. & VOTTERO, P. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, v. 41, n. 7, p. 2463-2469, 2000.

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES J.; RHAZI M. & ALAGUI A. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, v. 44, n. 26, p. 7939–7952, 2003.

TSAIH, M. L. & CHEN, R.H. Effect of molecular weight and urea on the conformation of chitosan molecules in dilute solutions. International Journal of Biological Macromolecules, v.20, n. 3, p. 233-240, 1997.

VAGENAS, G. K. & KARATHANOS, V. T. Prediction of effective moisture diffusivity in gelatinized food systens. *Journal of Food Engineering*, v. 18, n. 2, p. 159-179, 1993.

VAGENAS, G. K. & MARINOS, D. Drying kinetics of apricots. *Drying technology*, v. 9, n. 3, p. 735-752, 1991.

WAN, Y.; PEPPLEY, B.; CREBER, K. A. M.; TAM BUI, V. & HALLIOP E. Preliminary evaluation of an alkaline chitosan-based membrane fuel cell. *Journal of Power Sources*, v. 162, n. 1, p. 105–113, 2006.

WANG, Q. Z.; CHEN, X. G; LIU, N.; WANG, S. X.; LIU, C. S.; MENG, X. H & LIU, C. G. Protonation constants of chitosan with different molecular weight and degree of deacetylation. Carbohydrate Polymers, v. 65, n. 2, p. 194–201, 2006.

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J. & PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology; *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 3, p. 749–753, 2007.

YOON, K.; KIM, K.; WANG, X.; FANG, D.; HSIAO, B. S. & CHU, B. High flux ultrafiltration membranes based on electrospun nanofibrous PAN scaffolds and chitosan coating. *Polymer*, v. 47, n. 7, p. 2434–2441, 2006.

YOSHIDA, M. & MIYASHITA, H. Drying behavior of polymer solution containing two volatile solvents. *Chemical Engineering Journal*, v. 86, n. 1-2, p. 193–198, 2002.

YOUN, D. K.; NO, H. K. & PRINYAWIWATKUL, W. Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. *Carbohydrate Polymers*, v. 69, n. 4, p. 707–712, 2007.

ZAKARIA, Z.; HALL, G.M.; SHAMA, G. Lactic acid fermentation of scampi waste in a rotating horizontal bioreactor for chitin recovery. *Process Biochemistry*, v.33, p. 1-6, 1998.

ZENG, J. & ZHENG, L. Studies on Penicillium sp. ZDZ1 chitosanase immobilized on chitin by cross-linking reaction. *Process Biochemistry*, v. 38, n. 4, p. 531-535, 2002.

ZHANG, H, & NEAU, S.H. In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation. *Biomaterials*, v. 22, n. 12, p. 1653-1658, 2001.

ZIANI, K.; OSES, J; COMA, V. & MATÉ, J. I Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on

chitosan with different degree of deacetylation. LWT - Food Science and Technology v. 41, n. 10, p. 2159-2165, 2008.

ZOGZAS, N. P.; MAROULIS, Z. B. & MARINOS-KOURIS D. Moisture diffusivity methods of experimental determination a review, *Drying Technology*, v. 12, p. 483-515, 1994.

APÊNDICE

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Journal of Food Engineering 81 (2007) 127–132
JOURNAL OF FOOD ENGINEERING
www.elsevier.com/locate/jfoodeng

Diffusive model with variable effective diffusivity considering shrinkage in thin layer drying of chitosan

Lucia M. Batista [a], Cezar A. da Rosa [b], Luiz A.A. Pinto [c,*]

[a] Food Engineering, Fundação, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, P.O. Box 474, 96201900 – Rio Grande, RS, Brazil
[b] Chemical Engineering, Fundação, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, P.O. Box 474, 96201900 – Rio Grande, RS, Brazil
[c] Department of Chemistry – Fundação, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, P.O. Box 474, 96201900 – Rio Grande, RS, Brazil

Received 5 April 2005; received in revised form 23 August 2006; accepted 24 October 2006
Available online 14 December 2006

Abstract

In the thin layer drying of chitosan, a diffusive model considering the material volume change was used, due to the occurrence of shrinkage during the operation. The samples were placed in a rectangular tray with 4 mm of thickness, and inserted in the discontinuous dryer, with parallel air flow at 60 °C of temperature and air speed of 1.5 m/s. The sample shrinkage occurred in the thickness, and the linear shrinkage coefficient was constant. In the model, variable moisture effective diffusivity and equilibrium conditions at the material surface were considered. The dimensionless second order non linear partial differential equation, resulting from the model, was solved numerically by the finite differences technique. A good agreement between the numerical data of the average moisture content, obtained by the model, and the experimental data was observed.
© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Chitosan; Shrinkage; Diffusive model; Drying

1. Introduction

Chitosan is a commercially available material, whose stability, chemical properties, and biocompatibility have led to many industrial applications. These include pharmaceutical, biomedical and food material and waste water treatment (Ayers & Hunt, 2001; Chen & Hwab, 1996). The cationic characteristic of the chitosan offers an opportunity to take advantage of its electrostatic interaction properties. Chitosan films are used in the separation of ethanol from water by evaporation, water purification and controlled release of pharmaceuticals (Srinivasa, Ramesh, Kumar, & Tharanathan, 2004). The drying operation is important in chitosan production since this step shall guarantee that the necessary moisture content for the product storage be reached (6–8% w.b.) without causing alterations in the material.

Study of drying in the food products processing has been used more and more aiming at the production of the dehydrated foods of good characteristics (Ibanoglu & Maskan, 2002; Márquez, Michelis, & Giner, 2006; Ramesh, Wolf, Tevini, & Jung, 2001; Teixeira & Tobinaga, 1998; Waananen & Okos, 1996). The physical and transport properties and the shrinkage of the material are also very important parameters for the formulation and resolution of physical–mathematical models that explain the mass and heat transfers along the drying operation (Fortes & Okos, 1980).

The theory of water migration by diffusion represented by the Fick's second law, expressed in terms of moisture content gradient, is largely used when studying drying of different food products, for presenting a good agreement between experimental and predicted values (Chirife, 1983).

The moisture effective diffusivity is an important transport property in food drying processes modeling, being a function of temperature and material moisture content.

* Corresponding author. Tel.: +55 53 233 8648; fax: +55 53 233 8745.
E-mail addresses: lucia@vetorialnet.com.br (L.M. Batista), eqmcezar@click21.com.br (C.A. da Rosa), dqmpinto@furg.br (L.A.A. Pinto).

0260-8774/$ - see front matter © 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.10.014

Notation

A	drying area (m^2)
D^S_{EF}	moisture effective diffusivity of the solid (m^2/s)
D^V_{EF}	volumetric moisture effective diffusivity (m^2/s)
Fo	number of Fourier (dimensionless)
L	sample thickness (m)
L_S	sample thickness of the dry solid (m)
m_{ss}	dry solid mass (kg_{dS})
t	time (s)
X	local moisture content of the sample (d.b.) (kg_{H2O}/kg_{dS})
X^*	dimensionless local moisture content of the sample (d.b.) (dimensionless)
$\bar{X}$	average moisture content of the sample (d.b.) (kg_{H2O}/kg_{dS})
X_C	critical moisture content of the sample (d.b.) (kg_{H2O}/kg_{dS})
X_E	equilibrium moisture content of the sample (d.b.) (kg_{H2O}/kg_{dS})
X_{TRANS}	transition moisture content of the sample (d.b.) (kg_{H2O}/kg_{dS})
Y	dimensionless free moisture content (dimensionless)

Greek letters

α	linear shrinkage coefficient (kg_{dS}/kg_{H2O})
α^*	dimensionless linear shrinkage coefficient (dimensionless)
ρ_{ds}	density of the dry solid (g/cm^3)
ξ	space coordinate (m)
ξ^*	dimensionless space coordinate (dimensionless)

However, due to the complex food composition and physical structure, accurate estimates of this property are difficult to obtain, thus leading to the need of experimental measurements, as reported by Vagenas and Karathanos (1993). According to these authors, when the parameter is considered to vary, it is calculated through the application of the slopes method.

For materials that present shrinkage, the use of Fick's second law solutions is not possible as integration domain is not constant. A model equation considering material shrinkage, for the local moisture content profile, was used by Kechaou and Roques (1989) and Bonazzi et al. (1997). The authors used this model in the study of the gel slabs drying, with 2.0 mm and 1.2 cm of thickness, respectively, determining the local profile of moisture content in function of the thickness, which was variable with time.

Viollaz and Suarez (1991) and Pinto and Tobinaga (1994) presented a diffusive model including shrinkage in the dimensionless form, considering the volumetric effective diffusivity constant and equilibrium at the material surface (Eq. (1)).

$$\left(\frac{\partial X^*}{\partial Fo}\right) = \frac{\partial}{\partial \xi^*}\left(\frac{1}{(1+\alpha^* X^*)^2}\frac{\partial X^*}{\partial \xi^*}\right) \quad (1)$$

Viollaz and Suarez (1991) used this procedure in the potato drying, while Pinto and Tobinaga (1994) used this model for the study of fish muscle drying.

Volume variation of food during drying is analyzed through the coefficient of linear shrinkage (α), that is related to the material thickness, similar to the equation of thermal expansion determination, as described in Pinto and Tobinaga (2006). The authors determined the linear shrinkage coefficient for fish muscle, which was practically constant during the constant rate period and the first phase of the falling rate of drying.

The aim of this work was to study the thin layer drying modeling of purified chitosan, in paste form, considering shrinkage along the process and to determine the physical and transport properties of this material.

2. Material and methods

The raw material used was purified chitosan obtained from shrimp residuals, in the Laboratory of Unit Operations/DQ/FURG.

Raw material characterization of moisture content and Nitrogen-total was performed according to analytical methods of AOAC (1995). The factor of correction of the analysis of Nitrogen-total for chitosan, (N-chitosan) was an 11.5 value. This factor is the relationship of present nitrogen in the chitin monomer.

Drying of chitosan was performed in thin layer, using a discontinuous tray dryer, having the tray a rectangular form (12 cm of width and 14 cm of length) with thickness of 4 mm. Air drying conditions were: temperature of 60 °C and air velocity of 1.5 m/s. Two replicates were run to verify the reproducibility of the results.

The determining of the sample mass was done through an electronic scale adapted to the drier with 0.01 g precision. Dry bulb temperatures before and after the tray and the wet bulb temperature at the dryer exit were measured by (copper–constantan) thermocouples, with precision of 1.0 °C. Air velocity was measured by an anemometer of 0.1 m/s of accuracy.

Measurements of mass and temperature were taken every 5 min, during the drying experiments. The samples were dried until constant weight, to obtain the dynamic equilibrium moisture content. Sample thickness was verified every 30 min, with the use of a digital caliper (MITUTOYO, model CD-6 CS).

Drying curves of dimensionless moisture content in function of the time and the drying rate in function of the material moisture content were used for the determination of the constant and the falling rate periods of the drying.

A linear fit for the thickness variation with moisture content was performed, according to Eq. (2), to calculate the linear shrinkage coefficient.

$$L = L_S(1 + \alpha X) \tag{2}$$

Moisture effective diffusivity values evaluated through slopes method (Eq. (3)), were adjusted as a function of the moisture, so that it could be used in the model.

$$D_{EFF} = \left[\frac{(dY/dt)_{exp}}{(dY/dF_o)_{Teo}}\right] L^2 \tag{3}$$

where, $(dY/dt)_{exp}$ is calculated from the plot of dimensionless free moisture content in function of time, obtained from drying experimental data, and $(dY/dFo)_{Teo}$ from the theoretical curve of the diffusion of moisture content, presented by Keey (1972).

A procedure suggested by Crank (1975) was used to analyze the shrinkage phenomenon during drying of purified chitosan. The continuity equation given by Eq. (4) is used for rectangular geometry, infinite slab, quasi-isothermal process, unidirectional transport and density of the sample during drying independent of the position.

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial \xi}\left(D^S_{EFF}\frac{\partial X}{\partial \xi}\right) \tag{4}$$

where ξ is considered along the diffusion path, and measured from the initial position of the sample, so that an increment of ξ includes an equal increment in the amount of dry solid, and as this remains constant, the integration domain is constant.

As the shrinkage was only considered in the normal direction, the effective diffusivity based on the dry solid mass can be written in function of the volumetric effective diffusivity, in the form of Eq. (5), according to Crank (1975):

$$D^S_{EFF} = D^V_{EFF}\left[\frac{\rho_b}{\rho_{ds}(1+X)}\right]^2 \tag{5}$$

Considering shrinkage only in the thickness, the definition of L and L_S is presented by Eqs. (6) and (7):

$$L = \frac{m_{ds}(1+X)}{A\rho_b} \tag{6}$$

$$L_s = \frac{m_{ds}}{A\rho_{ds}} \tag{7}$$

Substituting Eqs. (6) and (7) in Eq. (2), then Eq. (5) can also be written in the form of Eq. (8).

$$D^S_{EF} = D^V_{EF}\left[\frac{1}{(1+\alpha X)}\right]^2 \tag{8}$$

Substituting Eq. (8) into Eq. (4), in the dimensionless form, according to Pinto and Tobinaga (2006), Eq. (9), used for the falling rate period of the drying, was obtained.

$$\frac{\partial X^*}{\partial t/L_S^2} = \frac{\partial}{\partial \xi^*}\left[\frac{D^V_{EF}(X^*)}{(1+\alpha X)^2}\frac{\partial X^*}{\partial \xi^*}\right] \tag{9}$$

With the following initial and boundary conditions, considering equilibrium at the surface.

$$\text{initial}: t = 0 \quad 0 < \xi < 1.0 \Rightarrow X^* = 1.0$$

$$\text{boundary}: \xi^* = 0; \quad t > 0 \Rightarrow \left(\frac{\partial X^*}{\partial \xi^*}\right) = 0$$

$$\xi^* = 1.0; \quad t > 0 \Rightarrow X^* = \frac{X_E}{X_C} : \xi^* = 1;$$

$$t > 0 \Rightarrow X^* = \frac{X_E}{X_C}$$

The average moisture content is given by Eq. (10).

$$\bar{X}^*_{(t)} = \int_0^{1.0} X^* d\xi^* \tag{10}$$

where the dimensionless variables X^*, ξ^* and α^* are defined in Eqs. (11)–(13):

$$X^* = (X/X_C) \tag{11}$$

$$\xi^* = (\xi/L_{(S)}) \tag{12}$$

$$\alpha^* = \alpha X_C \tag{13}$$

The technique of finite differences and fourth order Runge–Kutta method with variable step were used, for local profile moisture content determination, and the Simpson's method was used to obtain the average moisture content profile.

3. Results and discussion

Raw material results of characterization of purified chitosan were N-chitosan equal to $9.1 \pm 1.0\%$.

Chitosan initial moisture content used for the drying experiments was of 8.8 ± 0.2 (dry basis). Dimensionless moisture content as a function of time and drying rate as a function of the moisture content (Figs. 1 and 2),

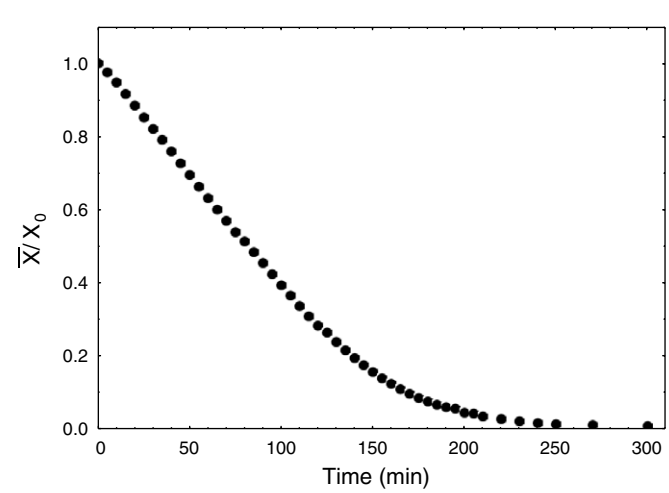

Fig. 1. Drying curve of the dimensionless moisture content as a function of time.

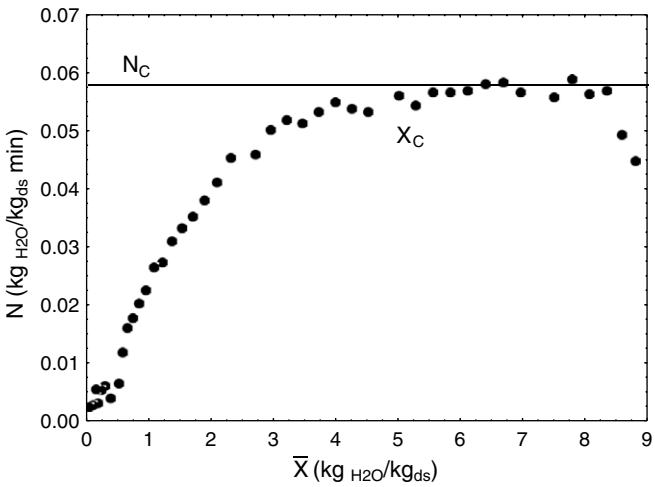

Fig. 2. Drying rate curve in function of the average moisture content.

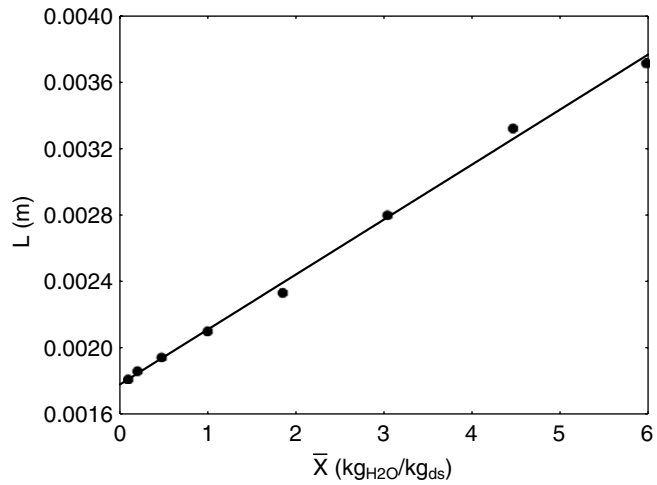

Fig. 4. Thickness of the samples in function of the moisture content.

respectively, show two different drying periods: the constant and falling rate periods.

The last point fitting the horizontal line in Fig. 2 corresponds to the critical moisture content (X_C), of 5.0 ± 0.5 (d.b.).

The falling rate period can be divided in two phases, the first and second falling rate periods, as can be seen in Fig. 3. The transition moisture content is where phase changes happen, it has $X_{TRANS} = 0.10$ (d.b.). Equilibrium moisture content (X_E=0.04 d.b.) was reached when the mass remained constant.

Experimental data of the thickness as a function of the moisture content (d.b.) were fitted by Eq. (2), where L_S was 0.00173 m. The data can be observed in Fig. 4. The equation used presented a correlation of 99.76%, and the obtained value of α was of 1.57. The linear shrinkage coefficient obtained in this work was very close to the one obtained by Viollaz and Suarez (1991), equal to 1.55, for the potato slabs.

The volumetric effective diffusivity was correlated with the dimensionless material moisture content, for the falling rate period, through a linear-exponential equation (Eq. (14)).

$$D^{V}_{EF}(X^*) = D_0 + aX^* \exp(bX^*) \tag{14}$$

where D_0 is the effective diffusivity of the dry solid (m^2/s), "a" is adjust parameter (m^2/s) and "b" is adjust parameter (dimensionless).

A good fit was reached, with a correlation coefficient of 0.996, obtained by non linear regression method, as presented in Fig. 5, and the values of the parameters are presented in Eq. (15).

$$D^{V}_{EF}(X^*) = 1.26 \times 10^{-11} + 1.52 \times 10^{-8} X^* \exp(-4.93X^*) \tag{15}$$

Fig. 6 presents the results of the solution of the diffusive model considering linear shrinkage, with variable volumetric effective diffusivity (Eq. (9)) given as the local profile of the dimensionless moisture content of the material, during the falling rate period, for different drying times.

The diffusive model considering linear shrinkage (Eq. (9)) represents well the mechanism of water migration of

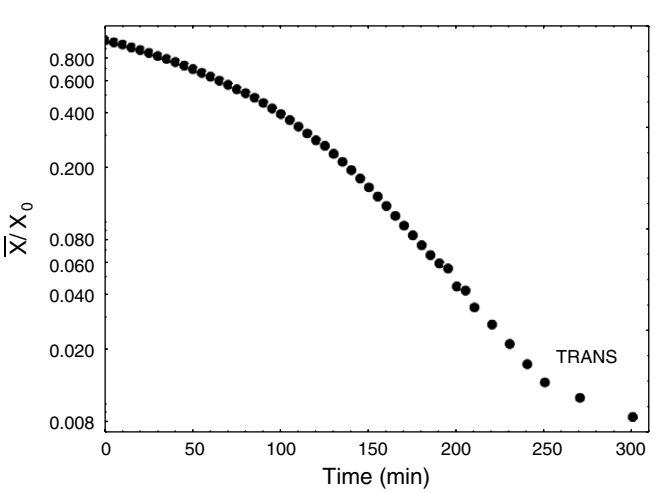

Fig. 3. Drying curve of the dimensionless moisture content as a function of time, in semi-log scale.

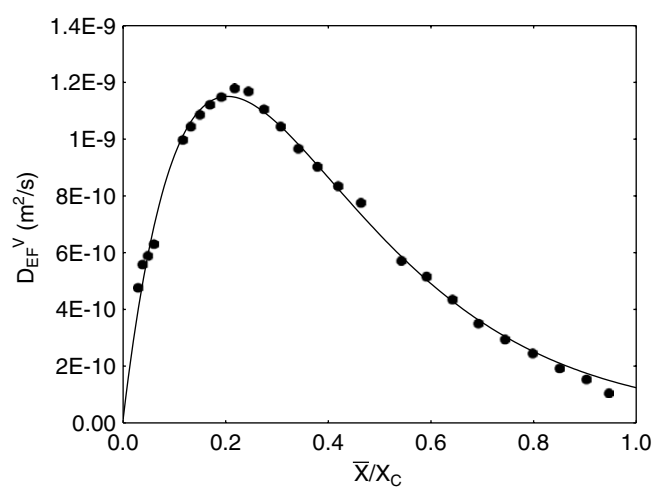

Fig. 5. Volumetric effective diffusivity as a function of the dimensionless moisture content.

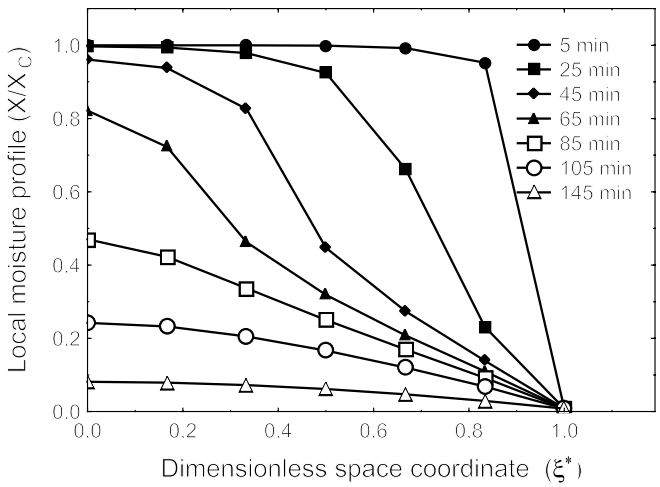

Fig. 6. Profile of local dimensionless moisture content of the material, for the falling rate period.

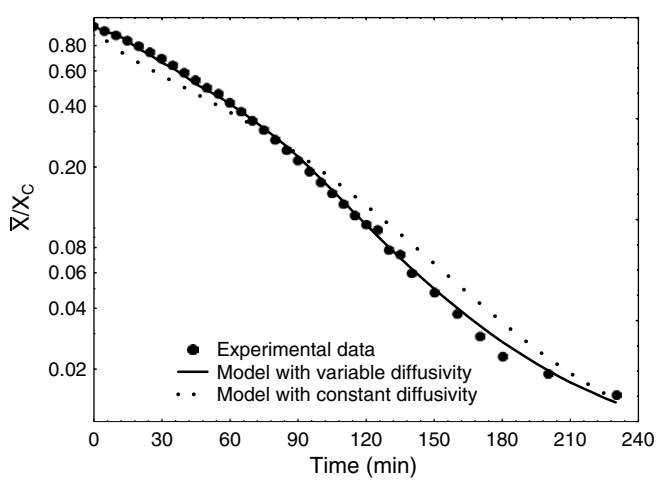

Fig. 7. Average moisture profile of the material, for the falling rate periods of drying; experimental data and the presented models.

the purified chitosan, in the falling rate period, as a good agreement with the experimental data (Fig. 7) was obtained. The solution of the diffusive model considering shrinkage with volumetric effective diffusivity as a function of the moisture content presented a better agreement with the experimental data than the diffusive model considering this transport parameter constant (Eq. (1)), as presented in Fig. 7.

4. Conclusion

The drying occurred during the constant rate period and mainly in the first phase of the falling rate period. It was observed that the transition moisture was close to the commercial moisture content of the chitosan. Thus, the second falling rate phase was neglected. A significant shrinkage took place in material thickness along the drying operation, presenting a linear behavior with material moisture content.

The diffusive model, considering shrinkage, presented a good agreement to the experimental data. The model considering the variable volumetric effective diffusivity presented better agreement with the average profile of the experimental data, when compared with the same model considering this parameter constant.

Acknowledgement

This work was supported by CAPES (Brazilian Agency for Improvement of Graduate Personnel), CNPq (National Council of Scientific and Technological Development) and FAPERGS (Fundation for Research Support from Rio Grande do Sul State).

References

Association of official Analytical Chemists (AOAC) (1995) (16th ed.). *Official methods of analysis* (Vol. 1). Arligton/USA: AOAC International.

Ayers, M. R., & Hunt, A. J. (2001). Synthesis and properties of chitosan–silica hybrid aerogels. *Journal of Non-Crystalline Solids, 285*, 123–127.

Bonazzi, C., Ropoche, A., & Michon, C. (1997). Moisture diffusion in gelatin slabs by modeling drying kinetics. *Drying Technology, 15*(6-8), 2045–2059.

Chen, R. H., & Hwab, H. D. (1996). Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane. *Carbohydrate Polymers, 29*, 353–358.

Chirife, J. (1983). Fundamentals of the drying mechanism during air dehydration of foods. In A. Mujumdar (Ed.). *Advances in drying* (Vol. 3, pp. 73–102). Washington/New York/London: Hemisphere Publishing Corporation.

Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion* (2nd ed.). Great Britain, Oxford: Claredon Press, p. 414.

Fortes, M., & Okos, M. R. (1980). Drying theories: their bases and limitations as applied to food and grain. In A. Mujumdar (Ed.). *Advances in drying* (Vol. 1, pp. 119–154). Washington: Hemisphere Publishing Corporation.

Ibanoglu, S., & Maskan, M. (2002). Effect of cooking on the drying behaviour of tarhana dough, a wheat flour–yoghurt mixture. *Journal of Food Engineering, 54*, 119–123.

Kechaou, N., & Roques, M. (1989). A variable diffusivity model for drying deformable. In A. S. Mujumdar & M. Roques (Eds.), *Drying 89* (pp. 332–338). New York: Hemisphere Publishing Company.

Keey, R. B. (1972). *Drying: principles and practice. International series of monographs in chemical engineering*. Pergamon Press, p. 13.

Márquez, C. A., Michelis, A., & Giner, S. A. (2006). Drying kinetics of rose hip fruits (*Rosa eglanteria* L.). *Journal Food Engineering, 77*, 566–574.

Pinto, L. A. A., & Tobinaga, S. A (1994). Diffusional model with shrinkage during drying of fish muscles. In: 9th international drying symposium, Gold Coast, Australia. (Vol. B, pp. 1069–1076).

Pinto, L. A. A., & Tobinaga, S. (2006). Diffusive model with shrinkage in the thin layer drying of fish muscles. *Drying Technology, 25*(4), 509–516.

Ramesh, M. N., Wolf, W., Tevini, D., & Jung, G. (2001). Influence of processing on the drying of spice paprika. *Journal of Food Engineering, 49*, 63–72.

Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., Kumar, K. R., & Tharanathan, R. N. (2004). Properties of chitosan films prepared under different drying conditions. *Journal of Food Engineering., 63*(1), 79–85.

Teixeira, M., & Tobinaga, S. (1998). A diffusion model for describing water transport in round squid mantle during drying with

a moisture-dependent effective diffusivity. *Journal of Food Engineering, 36*, 169–181.

Vagenas, G. K., & Karathanos, V. T. (1993). Prediction of the effective moisture diffusivity in gelatinized food systems. *Journal of Food Engineering, 18*, 159–179.

Viollaz, P., & Suarez, C. (1991). Shrinkage effect on drying behavior of potato slabs. *Journal of Food Engineering., 13*, 103–114.

Waananen, K. M., & Okos, M. R. (1996). Effect of porosity on moisture diffusion during drying of pasta. *Journal of Food Engineering, 28*, 121–137.

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Journal of Food Engineering 80 (2007) 749–753
JOURNAL OF FOOD ENGINEERING
www.elsevier.com/locate/jfoodeng

Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology

R.F. Weska, J.M. Moura, L.M. Batista, J. Rizzi, L.A.A. Pinto *

Unit Operations Laboratory, Department of Chemistry, Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rua Engenheiro Alfredo Huch, 475, CEP 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

Available online 15 December 2006

Abstract

The use of chitosan in diverse areas is directly related to the polymer's molecular weight and degree of deacetylation, which depends on the conditions of chitin deacetylation. The aim of the present study consisted of optimization of the deacetylation stage in the production of chitosan, using the response surface methodology for the polymer's molecular weight. Chitin was obtained from shrimp wastes and the study of deacetylation made through a factorial experimental design, where temperature and time were varied. The estimate of chitosan's intrinsic viscosity was made by linear regression with the values of reduced viscosity and concentration, using Huggins equation for polymers. The viscosity average molecular weight of chitosan was calculated for each experiment by the equation by Mark–Houwink–Sakurada that relates the intrinsic viscosity to the polymer's molecular weight. The optimum condition for the deacetylation reaction for molecular weight was observed at a temperature of 130 °C and in 90 min, and corresponded to a molecular weight of chitosan of about 150 kDa, and a deacetylation degree of 90%.
© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Chitosan; Deacetylation; Experimental design; Molecular weight

1. Introduction

Chitosan, β-(1 → 4)D-glucosamine, is a partially deacetylated form of chitin, β-(1 → 4)*N*-acetyl-D-glucosamine, a substance found naturally in the exoskeletons of insects, shells of crustaceans, and fungal cell walls (Ravi Kumar, 2000).

Chitin can be converted into chitosan by enzymatic means or alkali deacetylation, this being the most utilized method. During the course of deacetylation, part of polymer *N*-acetyl links are broken with the formation of D-glucosamine units, which contain a free amine group, increasing the polymer's solubility in aqueous means (Chen & Tsaih, 1998).

The variations in preparation methods of chitosan result in differences in its deacetylation degree, the distribution of acetyl groups, the viscosity and its molecular weight (Berger et al., 2005; Chen & Hwa, 1996). These variations influence the solubility, antimicrobial activity among other properties, being that commercial chitosan usually has a deacetylation degree varying from 70% to 95%, and a molecular weight ranging from 50 to 2000 kDa (Rege, Garmise, & Block, 2003).

Chitosan has many applications in agriculture, medicine, environment and food. However, in some fields, especially in medicine and the food industry, the application of this polysaccharide is limited by its high molecular weight resulting in its low solubility in aqueous media (Ilyina, Tikhonov, Albulov, & Varlamov, 2000). Chitosan is used in food as clarifying agent and enzymatic browning inhibitor in apple and pear juices and in potatoes, and as antioxidant in sausages. Chitosan can also be used as an antimicrobial film to cover fresh fruits and vegetables (Devlieghere, Vermeulen, & Debevere, 2004).

Chitosan's molecular weight distribution is influenced by factors such as time, temperature, reagent's concentration

* Corresponding author. Tel.: +55 53 3233 8648; fax: +55 53 3233 8745.
E-mail address: dqmpinto@furg.br (L.A.A. Pinto).

0260-8774/$ - see front matter © 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.02.006

and atmospheric conditions of the deacetylation reaction (Tolaimate et al., 2000).

Although molecular weight can be determined by several methods, such as gel permeation chromatography (GPC) and light scattering (Jumaa, Furkert, & Müller, 2002; Methacanon, Prasitsilp, Pothsree, & Pattaraarchachai, 2003), viscometry is the most simple, fast and probably the most accurate determination method (Zhang & Neau, 2001). The viscosity average molecular weight of linear polymers, such as chitosan, can be determined using Mark–Houwink–Sakurada's empirical equation that relates the intrinsic viscosity to the polymer's molecular weight (Chen & Tsaih, 1998).

The aim of the present study consisted of optimizing the deacetylation stage in the production of chitosan from shrimp wastes using the response surface methodology, having as variables temperature and time of reaction, for the polymer's molecular weight.

2. Materials and methods

2.1. Raw material

The raw material used was shrimp wastes obtained from fish industries of the city of Rio Grande, RS, Brazil.

2.2. Obtainment of chitin

Chitin was obtained in pilot scale, according to the procedure of Soares, Moura, Vasconcelos, Rizzi, and Pinto (2003), through the stages of demineralization, that consists of the reduction of raw material's ashes; deproteinization, where there is a reduction of shrimp wastes' protein nitrogen; and deodorization, for the reduction of shrimp's characteristic odor. Chitin was dried in a tray drier until reaching commercial moisture content (5.0–6.0%, wet basis).

2.3. Study of the deacetylation reaction

Dried chitin for each carried out experiment was placed in a reactor, in small scale, under heating and stirring, where a sodium hydroxide solution (45°Bé) was added.

A complete factorial experimental design (3^2), with two study factors and three variation levels, was used for the study of the deacetylation reaction, being analyzed by the response surface methodology, obtaining a statistical model of second order for the average viscometric molecular weight of chitosan (Myer, 1976).

The study factors were temperature (T) and reaction time (t). These factors were chosen for being two of the main factors of the experimental conditions for attainment of adequate molecular weights for chitosan. The variation levels in the codified form (X_T) and (X_t), based on literature data, are presented in Table 1 (Cervera et al., 2004; Chen & Tsaih, 1998; Prashanth, Kittur, & Tharanathan, 2002; Ravi Kumar, 2000; Tolaimate et al., 2000).

Table 1
Factors and levels used for the study of deacetylation reaction

Factors	Levels		
	−1	0	1
T (°C)	120	125	130
t (min)	90	120	150

2.4. Purification of chitosan

Chitosan, obtained from each experiment of the design matrix, was purified according to the following procedure: dissolution in dilute acetic acid, centrifugation for separation of not dissolved material, precipitation until pH 12.5, neutralization until pH 6.5 and centrifugation to separate the suspended substance.

2.5. Determination of chitosan's deacetylation degree

The deacetylation degree of chitosan was determined by the potentiometric titration method described by Broussignac, reported by Tolaimate et al. (2000). Chitosan was dissolved in a known excess of hydrochloric acid. From the titration of this solution with a 0.1 M sodium hydroxide solution, a curve with two inflexion points was obtained. The difference between the volumes of these two inflexion points corresponded to the acid consumption for the salification of amine groups and permitted the determination of chitosan's acetylation degree, through Eq. (1):

$$\% \ NH_2 = 16.1(V_2 - V_1) \times M_b/W \quad (1)$$

where (V_1) and (V_2) are the base volumes referred to first and second inflexion points, respectively, in mL, (M_b) is the base molarity in g/mol, and (W) is the original weight of the polymer in g.

2.6. Determination of chitosan's viscosity average molecular weight

Chitosan samples were dissolved in a solvent system, constituted of acetic acid (0.1 M), sodium chloride (0.2 M) and water. The viscosity of the samples was measured in a Cannon–Fenske capillary viscometer (Schott Geraete, model GMBH – D65719, Germany), in five different concentrations (0.001 and 0.012 g/mL), at a temperature of 25 °C.

The capillary was filled with 10 mL of the sample that passed through the capillary twice before the running time was measured. Each sample was measured three times. The running times of the solution and solvent through the capillary and capillary's nominal constant were used to calculate the cinematic viscosity (Chen & Tsaih, 1998). The relationship between cinematic and dynamic viscosity is shown in Eq. (2):

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \quad (2)$$

where (ν) is the kinematic viscosity in stokes, (η) is the dynamic viscosity in poise, and (ρ) is the density in g/mL. The solution and solvent viscosities were used to calculate the specific viscosity (η_{sp}), using Eq. (3):

$$\eta_{sp} = (\eta_{solution} - \eta_{solvent})/\eta_{solvent} \quad (3)$$

Huggins equation (Eq. (4)) was used for the estimation of intrinsic viscosity, according to Simal (2002):

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k[\eta]^2 c \quad (4)$$

where (η_{sp}/c) is the reduced viscosity in mL/g, (c) is the solutions' concentrations in g/mL, (k) is a constant valid for each polymer in g/mL and [η] is the intrinsic viscosity in mL/g.

A graph of (η_{sp}/c) in relation to the solution's concentration (c) supplies the intrinsic viscosity of the solution, by extrapolation of the straight line obtained by linear regression for $c = 0$, as presented by Alsarra, Betigeri, Zhang, Evans, and Neau (2002).

The viscosity average molecular weight of chitosan (M_V) was determined by Mark–Houwink–Sakurada's empirical equation, reported by Roberts and Domszy (1982), that relates the intrinsic viscosity to the polymer's molecular weight, in the form presented in Eq. (5):

$$[\eta] = KM_V^{\alpha} \quad (5)$$

where (K) in mL/g, and (α) dimensionless, are the constants that depend on the solvent–polymer system.

2.7. Statistical treatment

The response function's equation (viscosity average molecular weight, M_V), was in polynomial form, where the terms are constituted by the studied variables in the codified form, by combinations between them, by the coefficients of each term, and a constant that corresponds to the average of the values, and it is presented in Eq. (6):

$$M_V = A + B \cdot X_T + C \cdot X_t + D \cdot (X_T)^2 + E \cdot (X_t)^2 + F \cdot (X_T \cdot X_t) \quad (6)$$

The experimental procedure of chitosan's deacetylation reaction study followed the experimental design matrix, in the codified form, presented in Table 2.

3. Results and discussion

Fig. 1 presents the representative graph of reduced viscosity (η_{sp}/c) in relation to the five solution concentrations used for experiment number 3 from the design matrix presented in Table 2. The values obtained for the triplicates of each concentration value demonstrate the adequateness of the experimental design used for the determination of intrinsic viscosity.

The intrinsic viscosity estimation, using Huggins equation (Eq. (4)), for all the experiments from the factorial design matrix, is presented in Table 3. A good adjustment of the equation to the experimental data was verified through the high determination coefficient values obtained ($R^2 \geqslant 0.99$), as shown in Fig. 1 for experiment number 3.

Table 2
Factorial experimental design matrix for the study of deacetylation reaction

Experiment number	Codified temperature (X_T)	Codified time (X_t)
1	−1	−1
2	0	−1
3	1	−1
4	−1	0
5	0	0
6	1	0
7	−1	1
8	0	1
9	1	1

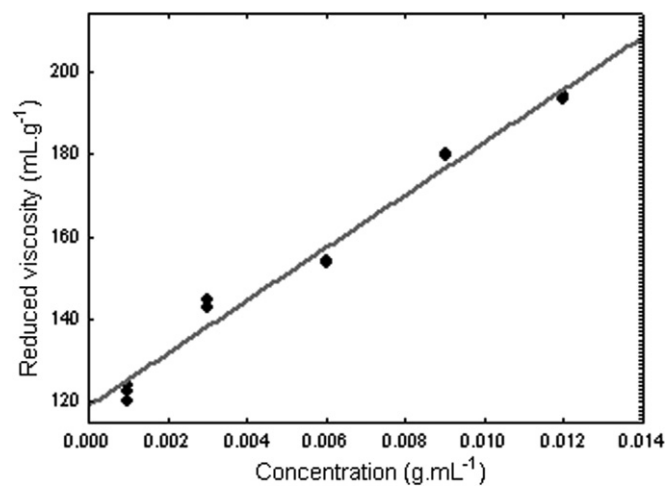

Fig. 1. Graph of the adjustment of Huggins for reduced viscosity values and solution concentration for experiment number 3 of the design matrix.

The viscosity average molecular weight of chitosan was calculated using Eq. (5), taking the values of $K = 1.81 \times 10^{-3}$ mL/g and $\alpha = 0.93$, reported by Roberts and Domszy (1982), for a solvent system constituting of acetic acid 0.1 M, sodium chloride 0.2 M, at a temperature of 25 °C. The estimated values for the viscosity average molecular weight from each experiment of the factorial design matrix used are presented in Table 3.

A statistical analysis of the viscosity average molecular weight of chitosan obtained in each experiment (Table 3) for determination of deacetylation reaction's optimum conditions was carried out.

In Table 4 the results of the analysis of variance for the response viscosity average molecular weight of chitosan (M_V) are presented.

It is observed through p-values in Table 4 that the main effect of temperature (X_T) and the quadratic effect of time $(X_t)^2$ were the factors that most influenced the molecular weight's value, followed by the interaction effect between the main factors $(X_T)(X_t)$. The main effect of time (X_t)

Table 3
Results of the experimental design matrix for Huggins equation's adjustment parameter [η] and viscosity average molecular weight of chitosan (M_V)

Experiment	[η] [mL/g]	M_V [kDa]
1	151.7	196.8
1′	153.6	199.4
2	140.7	181.4
2′	138.1	177.8
3	121.0	154.3
3′	119.7	152.5
4	162.1	211.3
4′	163.8	213.7
5	153.2	198.8
5′	151.7	196.8
6	144.4	186.6
6′	142.3	183.6
7	146.0	188.8
7′	144.4	186.6
8	128.7	164.8
8′	130.8	167.8
9	137.4	176.8
9′	138.5	178.4

(′): replicate.

Table 4
Analysis of variance from chitosan's data for response average viscosity molecular weight

Parameters	Mean square	F-ratio	p-Value
X_T	2252.28	76.21	<0.001
X_t	0.08	<0.01	0.959
$(X_T)^2$	81.00	2.74	0.126
$(X_t)^2$	1823.29	61.69	<0.001
$(X_T)(X_t)$	598.58	20.25	0.001
Blocks	0.50	0.02	0.899
Error	29.55	–	–

$R^2 = 94\%$.

was not significant in the analysis, and it was unconsidered from the theoretical statistic model.

Fig. 2 presents the analysis of the main factors time and temperature, in the codified form, for the viscosity average molecular weight of the polymer. The effects temperature and time presented a nonlinear behavior, and the lower values of molecular weight are found in the combination of lower time (−1) and higher temperature (+1). In this condition, the substitution of acetyl groups for amino groups in the polymeric chains predominated, besides the depolymerization due to the conditions of reaction. According to Prashanth et al. (2002), the acetyl groups of chitin cannot be removed in the presence of alkalis without the degradation of polysaccharide chains, resulting in depolymerization, due to the reagent's high temperature and the reaction times required to obtain a complete deacetylation.

Eq. (6) represents the statistic theoretical model obtained from the regression analysis for the response viscosity average molecular weight of chitosan, considering the main effects of factors and second order interactions, in the

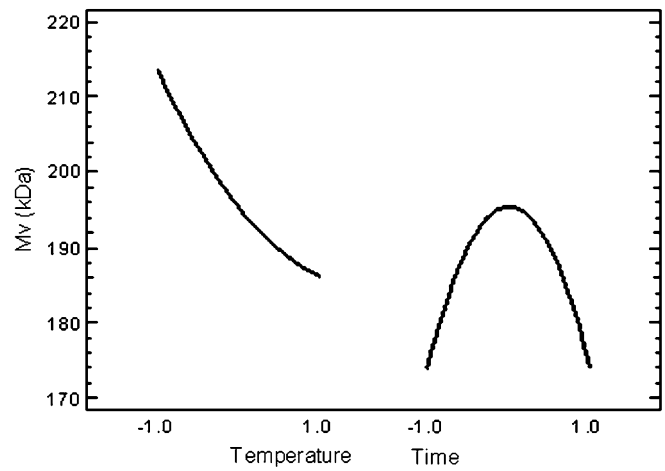

Fig. 2. Main effects in codified form for chitosan's molecular weight.

codified form. A good adjustment to this model was observed by the high determination coefficient ($R^2 = 94\%$).

$$M_V = 195.5 - 13.7 \cdot (X_T) - 4.5 \cdot (X_T)^2 - 21.4 \cdot (X_t)^2 + 8.7 \cdot (X_T) \cdot (X_t) \quad (6)$$

Fig. 3 presents the response surface for viscosity average molecular weight of chitosan, obtained from Eq. (6).

Fig. 3 shows the linearity of temperature and the nonlinearity of time. The optimum operation conditions were defined in the lower molecular weight region, because it is related to higher deacetylation degrees (Chen & Hwa, 1996) and depolymerization, once chitosan applications are limited by its high molecular weight, resulting in a low solubility in aqueous mean (Ilyina et al., 2000).

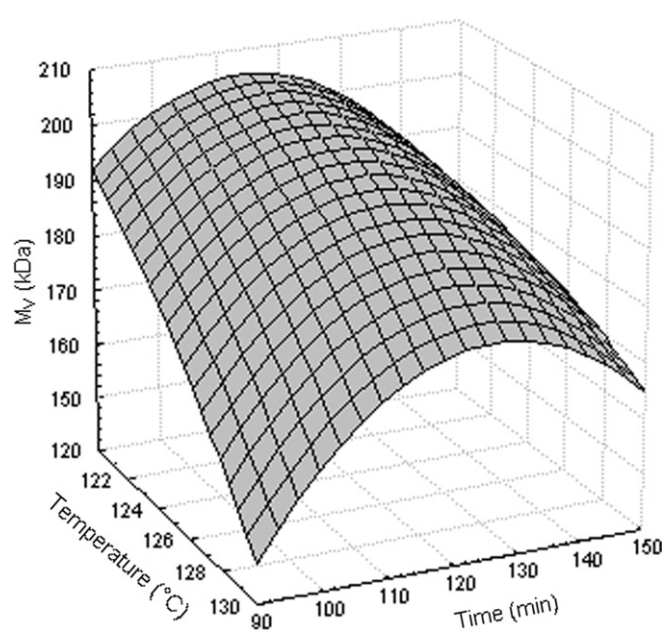

Fig. 3. Response surface for the polymer's viscosity average molecular weight.

Tolaimate et al. (2000) reported that a decrease of temperature from 120 °C down to 95 °C, keeping the same composition of the reaction medium, resulted in an increase in the viscosity molecular weight from 150 kDa to 490 kDa, thereby confirming the influence of temperature.

The condition that presented the lower molecular weight value was the one of higher temperature (130 °C) and lower time (90 min), with a molecular weight value of about 150 kDa, and a deacetylation degree of 90%, calculated by Eq. (2).

4. Conclusions

The experimental methodology used to calculate the intrinsic viscosity was evidently adequate, by the reproducibility of experiment's triplicates. The use of Huggin's equation for the estimation of intrinsic viscosity presented a good adjustment, with high correlations ($R \geqslant 0.99$).

Using the response surface methodology, great influence of the main effect of temperature and the quadratic effect of time were observed. Through the nonlinear regression analysis of the results obtained from the experiments for the determination of viscosity average molecular weight of chitosan, a second order statistical model with interactions was established, presenting a determination coefficient (R^2) of 94%. The optimum condition of the deacetylation reaction was obtained at a temperature of 130 °C and time of 90 min, by presenting a lower molecular weight value, about 150 kDa, with a deacetylation degree of 90%.

Acknowledgements

The authors thank the CNPq Brazil for the financial support conceded in the execution of this study.

References

Alsarra, I. A., Betigeri, S. S., Zhang, H., Evans, B. A., & Neau, S. H. (2002). Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics. *Biomaterials, 23*, 3637–3644.

Berger, J., Reist, M., Chenite, A., Felt-Baeyens, O., Mayer, J. M., & Gurny, R. (2005). Pseudo-thermosetting chitosan hydrogels for biomedical application. *International Journal of Pharmaceutics, 288*, 197–206.

Cervera, M. F., Heinämäki, J., Räsänen, M., Maunu, S. L., Karjalainen, M., Nieto Acosta, O. M., et al. (2004). Solid-state characterization of chitosans derived from lobster chitin. *Carbohydrate Polymers, 58*, 401–408.

Chen, R. H., & Hwa, H. D. (1996). Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical and permeability properties of prepared membrane. *Carbohydrate Polymers, 29*, 353–358.

Chen, R. H., & Tsaih, M. L. (1998). Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *International Journal of Biological Macromolecules, 23*, 135–141.

Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology, 21*, 703–714.

Ilyina, A. V., Tikhonov, V. E., Albulov, A. I., & Varlamov, V. P. (2000). Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry, 35*, 563–568.

Jumaa, M., Furkert, F. H., & Müller, B. W. (2002). A new lipid emulsion with high antimicrobial efficacy using chitosan. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 53*, 115–123.

Methacanon, P., Prasitsilp, M., Pothsree, T., & Pattaraarchachai, J. (2003). Heterogeneous *N*-deacetylation of squid chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Polymers, 52*, 119–123.

Myer, R. H. (1976). *Response surface methodology*. USA: Library of Congress.

Prashanth, K. V. H., Kittur, F. S., & Tharanathan, R. N. (2002). Solid state structure of chitosan prepared under different *N*-deacetylating conditions. *Carbohydrate Polymers, 50*, 27–33.

Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers, 46*, 1–27.

Rege, P. R., Garmise, R. J., & Block, L. H. (2003). Spray-dried chitinosans. Part I. Preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics, 252*, 41–51.

Roberts, G. A. F., & Domszy, J. G. (1982). Determination of the viscosimetric constants for chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules, 4*, 374–377.

Simal, A. L. (2002). *Estrutura e Propriedades dos Polímeros*. São Carlos, SP, Brasil: Gráfica UFSCar.

Soares, N. M., Moura, C., Vasconcelos, S., Rizzi, J., & Pinto, L. A. A. (2003). Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. *Revista Univap*, São José dos Campos, SP, Brasil, *10*(18), 88–92.

Tolaimate, A., Desbrières, J., Rhazi, M., Alagui, A., Vincendon, M., & Vottero, P. (2000). On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer, 41*, 2463–2469.

Zhang, H., & Neau, S. H. (2001). In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: Effect of molecular weight and degree of deacetylation. *Biomaterials, 22*, 1653–1658.