

**ANAMÉLIA SALES DE ASSIS**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO BIOFILME  
DE QUITOSANA COMO  
ENVOLTÓRIO PROTETOR EM MORANGOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Tânia Lúcia Montenegro Stamford

Co-orientadora: Profa. Dra. Thayza Christina Montenegro Stamford

Recife  
2009

**Assis, Anamélia Sales de**

**Produção e caracterização do biofilme de quitosana como envoltório protetor em morangos / Anamélia Sales de Assis. – Recife : O Autor, 2009. 88 folhas ; il., fig. e tab.**

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2009.**

**Inclui bibliografia e anexos.**

**1. Conservação de alimentos. 2. Bioconversão. 3. Litopenaeus vannamei. 4. Quitosana. 5. Grau de desacetilação. I. Título.**

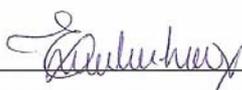
<b>664</b>	<b>CDU (2.ed.)</b>	<b>UFPE</b>
<b>664.028</b>	<b>CDD (22.ed.)</b>	<b>CCS2009- 28</b>

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO BIOFILME DE  
QUITOSANA COMO ENVOLTÓRIO PROTETOR EM  
MORANGOS**

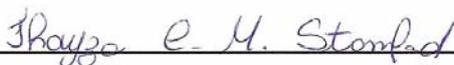
**ANAMÉLIA SALES DE ASSIS**

Aprovada em 20 de fevereiro de 2009

**Banca Examinadora**



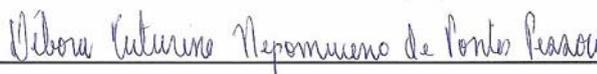
Profª Drª. Erilane de Castro Lima Machado



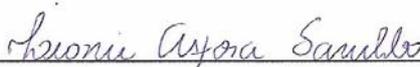
Profª. Drª. Thayza Christina Montenegro Stamford



Profª. Dr. Eduardo José Nepomuceno Montenegro



Profª. Drª. Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa



Profª. Drª. Leonie Asfora Sarubbo

## **DEDICAÇÃO**

*A Deus, pelos ensinamentos.*

*A João e João Lucas, meu marido e meu filho.*

*A Olga, minha eterna inspiração.*

*As professoras, Tânia e Thayza, minhas orientadoras.*

*A Chistiane Melo, minha amiga.*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, por colocar pessoas para me guiarem no caminho certo, nas horas certas, e obstáculos para aprender que o triunfo vem das dificuldades, contribuindo para uma vitória final.*

*À minha mãe, **Olga Sales**, que mesmo não estando presente, quando viva foi capaz de me ensinar a persistir e que me ensinou que o futuro quem faz somos nós, levantando sempre cedo “pro dia ficar maior”.*

*Ao meu pai, **Juraci Assis**, que me forçou a lutar pela vida, procurar meu caminho profissional para sobreviver.*

*Ao meu marido, **João Macedo**, pelo apoio nos momentos de angústia e sofrimento e por ser o melhor pai do mundo.*

*Ao meu filho, **João Lucas**, que foi gerado com muito amor e apesar de surpresa sua chegada foi enviado por Deus para dar direcionamento na minha vida.*

*À minha orientadora, **Tânia Lúcia Montenegro Stamford**, por ter me confortado como mãe nos piores momentos da minha vida e assim mesmo me incentivado a ser a profissional que sou hoje.*

*À **Thaíza Christina Montenegro Stamford**, minha co-orientadora, pelo apoio científico, por me orientar entre as análises e pelas doces palavras de incentivo e apoio.*

*À pessoa responsável por essa realização, **Erilane Castro**, que desde antes da seleção para o doutorado me ajudou e acreditou no meu potencial como pesquisadora. Foi amiga, fiel, e incentivadora. Até o fim de minha vida vou rezar por seu sucesso pessoal.*

*A minha grade amiga **Christiane Melo**, pelo apoio nos momentos pessoais mais difíceis, que foram nesse intervalo do doutorado, me ajudando a levantar, a continuar e acreditar que tudo passa e que mais na frente tem a recompensa.*

*Aos meus colegas do LEAAL, **Moises, Vivaldo, Alexandre, Arthur, Camilo, D. Lurdes, Silvinha, Laércio, Solange**, por me receberem na instituição e colaborarem indiretamente com minha pesquisa.*

*À **Marilene Lima Silva**, amiga e companheira nos concursos, nos almoços, nos fins de semana de experimento. Incentivando a escrever, a repetir quando não dava certo. Nem sei como agradecer todo apoio que me deu durante esse último ano.*

*Ao Grupo de pesquisa: **Tânia, Erilane, Celiane, Emanuella, Carlos, Adriana, Elizabeth, Danielle, Marilene, Geiza, Eduardo, Roberta, Amanda,***

*Teresa, pelos incentivos e apoios nos momentos difíceis e pelas alegrias dos momentos de distração.*

*Aos **Membros da banca**, por ter aceitado o convite, e pelas sugestões para melhoria do meu trabalho.*

*A **CAPES**, pela apoio financeiro para realização desse estudo.*

*A **Neci**, pelo apoio didático e que mesmo do jeitinho dela, sempre me ajudou nos momentos em que precisei.*

*Aos **amigos que fiz em Recife**, sempre serão lembrados como os melhores momentos que vivi em Recife.*

*A todos os **meus familiares e amigos** de João Pessoa que entenderam meu afastamento por esses anos de estudo e vibraram pela sucesso dessa realização.*

# SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> -----	11
<b>LISTA DE TABELAS</b> -----	12
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> -----	13
<b>RESUMO</b> -----	14
<b>ABSTRACT</b> -----	15
<b>1 – INTRODUÇÃO</b> -----	17
<b>OBJETIVOS</b> -----	18
<b>HIPÓTESES</b> -----	19
<b>2 - REVISÃO DA LITERATURA</b> -----	21
<b>ARTIGO DE REVISÃO</b> -----	22
<b>RESUMEN</b> -----	22
<b>RESUMO</b> -----	23
<b>ABSTRACT</b> -----	23
<b>1. INTRODUÇÃO</b> -----	24
<b>2. DESENVOLVIMENTO</b> -----	25
2.1 Produção de camarão e geração de resíduos -----	25
2.2 Quitina e quitosana -----	27
2.3 Filmes e coberturas -----	29
<b>3. CONCLUSÃO</b> -----	32

<b>4. AGRADECIMENTOS</b> .....	32
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	32
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	38
<b>3.1 Material</b> .....	38
<b>3.2 Metodologia</b> .....	38
<b>3.2.1 Obtenção de quitina e quitosana a partir de carapaças de camarão</b> .....	38
<b>3.2.2 Caracterização da quitosana</b> .....	39
3.2.2.1 Difração de raios-x .....	39
3.2.2.2 Análise Termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial .....	39
3.2.2.3 Espectroscopia em Infravermelho .....	39
3.2.2.4 Ressonância Magnética Nuclear .....	40
3.2.2.5 Viscosidade .....	40
<b>3.3 Preparo da cobertura comestível</b> .....	41
<b>3.4 Análises físicas e químicas dos morangos</b> .....	42
3.4.1 Perda de massa .....	42
3.4.2 pH .....	42
3.4.3 Acidez total titulável (ATT) .....	42
3.4.4 Sólidos solúveis (SS) .....	42
3.4.5 Umidade .....	42
<b>3.5 Análise sensorial</b> .....	43
<b>3.6 Análise Estatística</b> .....	43
<b>4 RESULTADOS – ARTIGOS ORIGINAIS</b> .....	45
<b>4.1 Síntese e caracterização da quitosana do <i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone, 1931)</b> .....	46

<b>Resumo</b> .....	46
<b>Abstract</b> .....	46
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	47
<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	49
<b>Obtenção de quitina e quitosana a partir de carapaças de camarão</b> .....	49
<b>Caracterização da quitosana</b> .....	49
<i>Difração de raios-x</i> .....	49
<i>Análise termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial</i> .....	50
<i>Espectroscopia em Infravermelho</i> .....	50
<i>Ressonância Magnética Nuclear</i> .....	50
<i>Viscosidade</i> .....	51
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	52
<b>Rendimento de quitina e quitosana</b> .....	52
<b>Difração de Raio X</b> .....	53
<b>Análise termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial</b> .....	54
<b>Espectroscopia na região do infravermelho</b> .....	55
<b>Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H</b> .....	56
<b>Viscosidade</b> .....	57
<b>CONCLUSÕES</b> .....	59
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	59
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	60

<b>4.2 Conservação de morango por cobertura comestível de quitosana</b> -----	62
<b>RESUMO</b> -----	62
<b>ABSTRACT</b> -----	63
<b>1. INTRODUÇÃO</b> -----	64
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> -----	66
<b>2.1 Material</b> -----	66
<b>2.2 Métodos</b> -----	66
Aplicação da cobertura de quitosana no morango -----	66
Tratamentos utilizados -----	67
Análises físicas e químicas -----	67
<i>Perda de massa</i> -----	68
<i>pH</i> -----	68
<i>Acidez total titulável (ATT)</i> -----	68
<i>Sólidos solúveis (SS)</i> -----	68
<i>Umidade</i> -----	69
Análise sensorial -----	69
Análise Estatística -----	69
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> -----	71
<b>3.1 Análises físico químicas</b> -----	71
Sólidos solúveis (°Brix) -----	71
pH e Acidez Total Titulável (ATT) -----	72
Umidade e Perda de Massa -----	73

<b>3.2 Análise sensorial</b> .....	75
<b>CONCLUSÃO</b> .....	77
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	77
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	82
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	84
<b>ANEXOS</b> .....	85
<b>A – COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	86
<b>B – TRABALHO APRESENTADO EM CONGRESSO</b> .....	87
<b>C – ENVIO DE TRABALHO PARA CONGRESSO INTERNACIONAL DE QUITINA</b> .....	88

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

## RESULTADOS

### Artigo 1 - Síntese e caracterização da quitosana do *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Difrátoma de raio X da amostra de quitosana do <i>L. vannamei</i> -----	53
Figura 2 Curva de Termogravimetria da quitosana do <i>L. vannamei</i> -----	54
Figura 3 Curva de Calorimetria Exploratória Diferencial da quitosana do <i>L. vannamei</i> -----	54
Figura 4 Espectro de absorção na região infravermelho (IV) da amostra de quitosana <i>L. vannamei</i> -----	55
Figura 5 Espectro de Ressonância Magnética Nuclear <sup>1</sup> H da quitosana de <i>L. vannamei</i> -----	56
Figura 6 Viscosidade reduzida em função da concentração para a determinação da viscosidade intrínseca -----	58

### Artigo 2 – Conservação de morango por cobertura comestível de quitosana

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Imersão de morangos em cobertura de quitosana -----	67
Figura 2 Morangos controle (a) e com quitosana (b) -----	68
Figura 3 Teor de umidade em morangos com e sem quitosana -----	74
Figura 4 Perda de massa em morangos com e sem quitosana -----	74
Figura 5 Projeção bidimensional de Análise de Componentes Principais dos termos descritos das amostras de Morango. A: controle (sem quitosana); B: com quitosana -----	76

# LISTA DE TABELAS

## RESULTADOS

### Artigo 1 - Síntese e caracterização da quitosana do *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

	<b>Pág.</b>
Tabela 1    Valores referentes à viscosidade específica e reduzida das soluções de quitosana na temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ -----	57

### Artigo 2 – Conservação de morango por cobertura comestível de quitosana

	<b>Pág.</b>
Tabela 1    Variação do teor de sólidos solúveis em morangos controle e com quitosana -----	71
Tabela 2    Variação do pH e da acidez em morangos controle e com quitosana -----	73
Tabela 3    Média dos atributos sensoriais que caracterizam as amostras -----	75

## LISTA DE ABREVIATURAS

TGA – Termogravimetria;

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial;

RMN<sup>1</sup>H – Ressonância Magnética Nuclear de Próton;

IV- Espectroscopia Eletrônica de Infravermelho;

GD – Grau de Desacetilação

D<sub>2</sub>O – Água Deuterada

% I<sub>CR</sub> – Índice de Cristalinidade relativa

IC – Intensidade Cristalina

IA – Intensidade Amorfa

H<sub>2-6</sub> – Núcleos dos hidrogênios ligados aos carbonos 2, 3, 4, 5 e 6

pH – Potenciometria de Hidrogênio

ATT- Acidez Total Titulável

SS – Sólidos Solúveis

## RESUMO

O camarão *Litopenaeus vannamei* é nativo do Oceano Pacífico e foi introduzido na década de 80, no Brasil. A evolução do desempenho da carcinicultura brasileira, passou de 7 mil para 65 mil ton./ano. Esta produção tem gerado grandes quantidades de resíduos sólidos, tendo em vista que cabeça e casca correspondem aproximadamente 40% do seu peso total, culminando num forte impacto ambiental em aterros sanitários, mares e rios. O objetivo deste estudo foi produzir e caracterizar quitosana, obtida pela desacetilação da quitina do resíduo de camarão, para ser usada como envoltório protetor em morangos. A caracterização da quitosana foi avaliada quanto ao grau de desacetilação (%GD): Espectroscopia em Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear  $^1\text{H}$ ; cristalinidade (difração de raios-X) e resistência térmica (Termogravimetria e Calorimetria Exploratória Diferencial). Este polímero foi utilizado como cobertura em morangos e comparado com os frutos controle quanto aos aspectos físico-químicos: pH, Acidez Total Titulável (ATT), Sólidos solúveis (SS), perda de massa e umidade durante 15 dias de armazenamento e sua aceitação através de análises sensoriais. Os resultados obtidos da caracterização da quitosana comprovaram %GD entre 73 a 83%, cristalinidade de 23% (quitosana) e 76% (quitina) e estabilidade térmica a 120°C. A cobertura de quitosana foi eficiente, pois controlou a perda de água em morangos, manteve acidez total titulável e pH constantes e sólidos solúveis mais baixo. Assim, a quitosana promoveu uma atmosfera modificada, reduziu o metabolismo do fruto e retardou a senescência. Houve diferença estatística nos atributos sensoriais entre controle e cobertura de quitosana, sendo essa última mais desejável. Portanto, a quitosana pode ser utilizada como uma alternativa rentável e promissora em sistemas de conservação de alimentos.

*Palavras-chaves: bioconversão; Litopenaeus vannamei; quitosana; grau de desacetilação; morango.*

## ABSTRACT

The shrimp *Litopenaeus vannamei* is native of the Pacific Ocean and was introduced in the 80s in Brazil. The evolution of the performance of the Brazilian shrimp (1998-2007), increased from 7 thousand to 65 thousand ton./year. This study aimed to produce and characterize chitosan, obtained by desacetilação of chitin from shrimp waste, to be used as a protective wrap on strawberries. The characterization of chitosan was evaluated as the degree of deacetylation (% GD): in Infrared Spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance 1H; crystallinity (X-ray diffraction) and thermal resistance (thermogravimetry and differential scanning calorimetry). This polymer was used as mulch in strawberry fruit and compared with the control as to the physical-chemical: pH, total titratable acidity (TTA), soluble solids (SS), weight loss and humidity during 15 days of storage and its acceptance by sensory testing. The results of the characterization of chitosan showed GD between 73% to 83%, crystallinity of 23% (chitosan) and 76% (chitin) and thermal stability to 120° C. The coverage of chitosan was efficient, because the loss of water control in strawberries, maintained total acidity and pH and soluble solids in the lower. The coverage of chitosan was efficient, because the loss of water control in strawberries, ATT and pH remained constant and lower SS. Thus, the chitosan promoted a modified atmosphere, reduced the metabolism of the fruit and delayed senescence. There were statistical differences in sensory attributes between control and coverage of chitosan, the latter being more desirable. Therefore, chitosan can be used as a viable and promising alternative to systems for storage of food.

Keywords: bioconversion; *Litopenaeus vannamei*; chitosan, degree of desacetilação; strawberry.

# ***INTRODUÇÃO***

---

---

# 1 - INTRODUÇÃO

---

Atualmente, o agronegócio e a agroindústria estão despontando no Brasil como atividades de grande potencialidade econômica e social. A criação de camarão ou carcinicultura é um exemplo dessas atividades e que atualmente é considerada como um próspero negócio no Brasil, principalmente na região Nordeste do país, onde os produtores estão apostando no cultivo de camarões em cativeiro. Porém, a captura e o processamento do camarão têm gerado uma grande quantidade de cascas, que não servem para a fabricação de ração animal, devido ao elevado conteúdo em fibras. Esses resíduos gerados pela manufatura das indústrias e são enterrados ou jogados clandestinamente em rios ou no mar, ocasionando graves problemas de poluição.

A casca de camarão, com baixíssimo valor comercial, além de ser uma fonte de poluição ambiental, gera custos adicionais durante seu descarte, reduzindo a margem de lucro do sistema de produção. Uma possível alternativa de grande agregação de valor para este material é a sua utilização para extração de quitina e quitosana.

A quitosana apresenta potencial em pesquisas devido às suas aplicações nas áreas médica, farmacêutica e em indústrias alimentícias. A atividade antimicrobiana de quitosana tem sido apontada como uma das mais interessantes aplicações em alimentos. Logo, os objetivos deste estudo foram avaliar o rendimento da quitosana da espécie *Litopenaeus vannamei*; estudar o grau de desacetilação deste biopolímero e investigar sua aplicação como cobertura para revestimento em frutas controlando sua senescência.

---

## OBJETIVOS

---

*Geral:*

Produzir e caracterizar físico-quimicamente a quitosana obtida pela desacetilação da quitina da casca do camarão *Litopenaeus vannamei* para ser usada como envoltório protetor em morangos, assim como avaliar físico-quimicamente e sensorialmente os morangos.

*Específicos:*

- Extrair quitina do resíduo;
- Promover a desacetilação da quitina em quitosana;
- Caracterizar quitosana físico-quimicamente;
- Produzir a cobertura de quitosana;
- Avaliar a atividade protetora da cobertura em frutos;
- Verificar aceitabilidade do fruto com cobertura.

---

## **HIPÓTESES**

---

- O excedente do resíduo de camarão pode ser usado como alternativa para produção de biopolímeros.
- O estudo das propriedades físico-químicas deste biopolímero revela seu potencial para inúmeras aplicações na indústria alimentícia.
- O biopolímero (quitosana) pode ser preparado em diferentes formas, tais como géis, filmes e membranas.
- A quitosana é benéfica e segura para o consumo humano.
- A quitosana pode ser usada na conservação de morangos.

# ***REVISÃO DA LITERATURA***

---

---

## **2 - REVISÃO DA LITERATURA**

---

### **ARTIGO DE REVISÃO**

A revisão da literatura foi publicada na Revista “Iberoamericana de Polímeros”, intitulada “BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS DE CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) PARA PRODUÇÃO DE BIOFILME DE QUITOSANA”. A revista é classificada como qualis C internacional.

ASSIS, A.S; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. Revista Iberoamericana de Polímeros, v. 9, n. 5, p. 480-491, 2008 (ANEXO A).

# BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS DE CAMARÃO *LITOPENAEUS VANNAMEI* (BOONE, 1931) PARA PRODUÇÃO DE BIOFILME DE QUITOSANA

*Anamélia Sales de Assis*<sup>1\*</sup>; *Thayza Christina Montenegro Stamford*<sup>2</sup>;

*Tânia Lúcia Montenegro Stamford*<sup>1</sup>.

1) Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, Brasil

2) Departamento de Odontologia da Faculdade Integrada de Patos, Patos – PB, Brasil

\* Correio eletrônico: [anameliavet@hotmail.com](mailto:anameliavet@hotmail.com)

## RESUMEN

Los camarones *Litopenaeus vannamei* es originario del Océano Pacífico y ha introducido en Brasil como cultura de camarones marino desde los años de 1980. Su productividad ha sido incrementada en la región Nordeste de Brasil por las características favorables y bien como por su aceptabilidad en función de condiciones climáticas regionales. La expansión de la industria del camarón ha generado impacto ambiental en consecuencia de los residuos orgánicos que son puestos en aterramientos sanitarios, en los mares y en los ríos. En búsqueda de alternativas para nuevos productos y el aprovechamiento de residuos, pesquisadores testaran los polímeros chitin y chitosan en distintas áreas como: medicina, farmacia, industria química y alimenticia. El chitin es un componente del esqueleto de crustáceos, y pelo proceso de desacetilación alcalina es transformada en chitosan. Además, hay que tener en cuenta que estudios teóricos traerán subsidios para el efectivo aprovechamiento Del chitosan visando la reducción de impactos ambientales y favoreciendo la bioconversión de residuos de la industria de camarones en biofilmes semipermeables, biodigestibles, biocompatibles, biodegradables y con características de protección con acción antimicrobiana, que puede ser utilizado como alternativa económica y prominente en sistemas de conservación de alimentos.

*Palabras-claves: bioconversion; resíduos; Litopenaeus vannamei; chitosan; biofilme.*

## RESUMO

O camarão *Litopenaeus vannamei* é uma espécie nativa do Oceano Pacífico introduzida na carcinicultura marinha brasileira desde a década de 80 e tem sua produtividade crescente no nordeste, por possuir características de manejo favorável e ótima aceitação a diversidade de clima e região. A expansão da indústria de camarão gerou um impacto ambiental em decorrência dos resíduos industriais jogados em aterros sanitários, mares e rios. Buscando alternativas para criar novos produtos e o aproveitamento desses resíduos, pesquisadores testaram os polímeros quitina e quitosana em várias áreas como: medicina, farmácia, na indústria química e de alimentos. A quitina é um componente da carapaça de crustáceos e através da desacetilação alcalina transforma-se em quitosana. Assim, acredita-se que estudo teórico dessa natureza trará subsídios para o efetivo aproveitamento da quitosana, reduzindo o impacto ambiental e favorecendo a bioconversão do resíduo da indústria de camarão em biofilme semipermeável, biodigestível, biocompatível, biodegradável, e com características protetoras de ação fungicida e bactericida, que pode ser utilizado como uma alternativa rentável e promissora em sistemas de conservação de alimentos.

*Palavras-chaves: bioconversão; resíduos; Litopenaeus vannamei; quitosana; biofilme.*

## ABSTRACT

The shrimp *Litopenaeus vannamei* is native from the Pacific Ocean and was introduced in the Brazilian sea shrimp culture since the decade of the 80's. It has had its productivity increased in the northeast for presenting favorable handling characteristics and excellent adaptation to the climate and regional diversities. The expansion of the shrimp industry has generated environmental impacts as a result of the disposal of industrial residues in sanitary embankments, seas and rivers. In order to find alternative products to reprocess those residues, researches have been trying to test chitin and chitosan in many different areas, such as: medicine, pharmacology, chemical and food industries. Chitin is a component of the shrimp shell and chitosan is the product of chitin's alkaline deacetylation. Therefore, the theoretical study of this problem will subsidize an effective exploitation of chitosan, reducing the environmental damage and favoring the bioconversion of the residue from the shrimp industry into semi-permeable, biodigestive, biocompatible and biodegradable biofilms, presenting protective characteristics by acting as bactericides and fungicides, which could be used as a promising and profitable alternative to food preservation.

*Keyword: bioconversion; residues; Litopenaeus vannamei; chitosan, biofilm.*

## 1. INTRODUÇÃO

A criação de camarões marinhos teve sua origem no Mediterrâneo, no Século XV. A partir dos anos 30, em condições controladas o japonês Dr. Motosaku Fujinaga obteve a desova do *Penaeus japonicus* permitindo a produção das técnicas de cultivo comercial de pós-larvas. Nos anos 80, houve a propagação das técnicas de cultivo comercial em países de regiões tropicais [1].

A atratividade pela produção de camarões marinhos deve-se aos fatores relacionados ao avanço tecnológico, tanto em termos de melhoria de manejo quanto na melhor compreensão comportamental das espécies. Na década de 80, foi introduzida no Brasil a espécie exótica do Oceano Pacífico *Litopenaeus vannamei* e disseminou-se por todo o nordeste após sua excelente adaptação às condições climáticas locais, contribuindo de imediato para um melhor desempenho das criações [2].

Dados estatísticos da Associação Brasileira de Criadores de Camarão [3] demonstram que a produção brasileira de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* cresceu entre os anos 1998 a 2005; e sua produtividade subiu, entre esses anos, de 7 mil para 65 mil toneladas por ano. Esta elevada produção de camarões tem gerado grandes quantidades de resíduos sólidos, tendo em vista que cabeça e casca do animal correspondem a aproximadamente 40% do seu peso total, culminando num forte impacto ambiental.

O resíduo da produção de camarões (casca e cabeça) contém: 15 a 20% de quitina, 25 a 40% de proteínas e 40 a 55% de carbonato de cálcio. Em crustáceos, a quitina encontra-se associada aos demais constituintes do exoesqueleto. Por esse motivo, são necessárias três etapas para se isolar esse polímero: desproteinização, desmineralização e despigmentação [4]. Esta última etapa pode ou não ser realizada dependendo da espécie de crustáceos. No caso do *L. vannamei* não se faz necessário devido a pouca pigmentação.

*Canella e Garcia* [5] descreveram a extração dos componentes protéicos, ligados covalentemente à matriz polimérica, através do tratamento com solução aquosa de NaOH 3% com agitação constante à 70° C, durante três horas. Depois, lavaram até neutralidade do produto. Em seguida, desmineralizaram em solução HCl 0,10 mol/dm<sup>3</sup>, com adição de L-octanol para evitar o transbordamento do material, por três horas, sob agitação constante à temperatura ambiente, filtraram e lavaram até pH neutro. Na última etapa (despigmentação) utilizaram solução de NaOCl contendo 3% de cloro ativo, por duas horas.

A quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fonte naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos [6].

A quitina é um polímero linear natural, composto por unidade de 2-desoxi-2-acetoamido-D-glucopiranosose. É encontrada em carapaças de crustáceos [7], insetos e moluscos [8], fungos e leveduras [9].

Biofilmes são preparados de materiais biológicos, que agem como barreira a elementos externos e, conseqüentemente, pode proteger o produto e aumentar a sua vida de prateleira [10], controlando a perda de umidade, a troca de oxigênio, etileno e dióxido de carbono dos tecidos de frutas. Dessa forma, controla a respiração do produto e aumenta sua durabilidade, funcionando como uma alternativa ao tratamento por atmosfera controlada [11].

Dados recentes demonstram o sucesso da aplicação de filmes obtidos a partir de derivados de proteínas e lipídios como coberturas semipermeáveis revestindo frutas tropicais [10]. Além das proteínas, os polissacarídeos têm sido avaliados como uma alternativa consideravelmente econômica e eficiente para esse fim, sendo a quitosana o sacarídeo mais estudado [12]. Logo, este ensaio teórico demonstra a potencialidade da utilização da quitosana na indústria de alimentos, buscando alternativas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Produção de camarão e geração de resíduos**

O Brasil possui um vasto litoral e potencial hídrico, com várias bacias hidrográficas, além de uma biodiversidade de fauna marinha, e um grande potencial pesqueiro de camarões. Porém, seguindo a tendência mundial, a produção de camarão por captura está em declínio no Brasil, enquanto a produção do camarão em cativeiro (carcinicultura) tem aumentado. A principal razão do crescimento da criação destes animais (aquicultura) foi gerada pela dificuldade de abastecer a demanda mundial de pescados apenas com a pesca extrativista. A produção brasileira de camarão por captura está estimada em cerca de 22 mil toneladas anuais [13-14].

O litoral nordestino é considerado ideal para a criação de camarões, pois possui extensas áreas costeiras com águas de temperatura morna durante todo o ano. As primeiras

tentativas para a criação experimental de camarões marinhos no país começaram nos anos 70 com a espécie *P. japonicus*. No início da década de 80, órgãos do governo federal começaram a promover a exploração racional dos recursos marinhos, através de incentivos e créditos financeiros. A construção dos projetos pioneiros de carcinicultura na Região Nordeste foi criada como forma alternativa de aproveitamento de áreas costeiras abandonadas pela atividade salineira [1].

O Nordeste possui cerca de 300 mil hectares propícios para a exploração da carcinicultura marinha e que poderão produzir até 1 milhão de toneladas/ano. Em 2003, a produção de camarão criado no Brasil foi a maior dos últimos anos, cerca de 90 mil toneladas das quais aproximadamente 95% foram originadas na Região Nordeste aonde a carcinicultura vem se desenvolvendo em ritmo acelerado, desde 1996 [15].

Segundo *Barbieri Júnior e Ostrensky Neto* [16], a carcinicultura é uma alternativa de investimento produtivo capaz de acelerar o crescimento econômico das regiões onde está inserida, em função de sua alta remuneração. É uma atividade de ciclo curto, que pode ser realizada durante todo o ano e tem seu retorno de investimento rápido. Cada hectare de viveiro permite a obtenção de níveis de produtividade de 3.900 Kg de camarão, permitindo o acesso a pequenos, médios e grandes produtores. É uma produção de caráter sócio-econômica viável, além de reduzir a marginalidade do homem do campo, retendo esse na terra e valorizando as cidades litorâneas.

O camarão é um alimento rico em proteína, cálcio, vitaminas e vários componentes extraíveis e tem sido usado como um dos mais populares e importantes ingredientes para preparações alimentares, em vários países. Os hábitos alimentares mudaram e houve um rápido crescimento da indústria de “fast food”, acarretando, conseqüentemente, um volume bem maior das partes não comestíveis (cabeça, casca e cauda), ocasionando problemas ambientais [17].

Este resíduo é em geral clandestinamente enterrado ou jogado no mar ou em rios, causando problemas ambientais, principalmente em países produtores de camarão onde não há rigor na fiscalização ambiental. Porém, no mundo, as exigências impostas por órgãos de gerenciamento e conservação ambiental ao controle de poluição dos recursos naturais tem sido crescente, devido a escassez de água potável e ao maior entendimento dos efeitos ambientais ocorridos [18-19].

A produção anual de resíduos das indústrias de crustáceos é de aproximadamente 39 mil toneladas. Esses são biodegradáveis, por isso não provocam acúmulo excessivo na natureza, apesar de causarem grande problema de ordem social por serem desagradáveis no cheiro e atraírem insetos, podendo acarretar danos a saúde humana [8,15].

A geração de resíduos da indústria de pescado é um grande desafio para os empresários do setor que precisam destinar esses resíduos e não poluírem o ambiente. Por outro lado, a comunidade científica especializada está recebendo essa fonte de resíduos e buscando alternativas para o aproveitamento desses; e assim tornar uma atividade aquícola sustentável e viável ecologicamente [20].

Tendo em vista que o resíduo proveniente do beneficiamento de camarão é constituído por quitina, proteína e carbonato de cálcio, tem havido grande interesse em seu reaproveitamento, buscando alternativas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado, aumentando a produtividade do setor e garantindo a preservação ambiental. Estudos têm sido realizados no sentido de encontrar um destino adequado para esses resíduos de modo que as agressões ao meio ambiente sejam cada vez mais reduzidas [21].

## 2.2 Quitina e quitosana

A quitina é largamente distribuída na natureza, sendo o principal componente estrutural do exoesqueleto dos invertebrados marinhos. Também é encontrada na cutícula dos insetos, e na parede celular de alguns fungos e leveduras [9].

A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em solução alcalina [22]. Durante essa reação, os grupamentos acetoamido ( $-\text{NHCOCH}_3$ ) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino ( $-\text{NH}_2$ ), dando origem a quitosana [23]. Esta, quando diluída em ácidos orgânico (ácido acético, fórmico, cítrico) e inorgânico (ácido clorídrico), resulta em soluções viscosas capazes de formar filmes.

Neste sentido, a quitosana vem sendo estudada com sucesso em uma grande variedade de aplicações por ser biocompatível [24], biodegradável [25,10] e apresenta propriedade antimicrobiana [26], emulsificante [27-29], quelante de metais [30], usada no tratamento de efluentes [23] e por formar gel [31]. Em razão da quitosana formar facilmente filmes e membranas em soluções ácidas diluídas, várias aplicações estão sendo sugeridas, dentre elas a

formação de um filme semi-permeável, que pode ser utilizado como envoltório protetor de alimentos [32].

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da hidrólise da quitina, em meio alcalino, por meio de reação de desacetilação em temperaturas elevadas. A desacetilação também ocorre na natureza através de enzimas específicas como a quitinase ou pela ação de microrganismos. Essa ação de desacetilação é incompleta, formando um copolímero constituído de repetições de unidades de 2-acetamida-2-deoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glucopiranosose associadas a ligações glicosídicas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). A quitosana assemelha-se quimicamente com o biopolímero original quitina tendo no carbono 2 uma amina primária (-NH<sub>2</sub>). O produto totalmente desacetilado é raramente obtido, pois pode sofrer despolimerização de sua cadeia, devido ao tempo de reação necessária para completa desacetilação [5].

Atualmente, a presença de grupos amino desacetilado permite maior reatividade da quitosana em relação à quitina. Por isso, a quitosana desperta muito interesse para aplicações médicas e farmacêuticas. Sua propriedade intrínseca, a biocompatibilidade com células humanas, permite seu uso em várias aplicações médicas [33]. Além disso, a quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, o que lhe confere a característica de ser considerada biodegradável [26,34].

Muitas são as possíveis aplicações da quitosana, devido à sua versatilidade. A lista de aplicações da quitosana é ainda mais extensa quando são incluídos os vários derivativos de quitosana obtidos por meio de reações químicas através das quais são inseridos diferentes grupos funcionais às suas moléculas, conferindo diferentes propriedades e aplicações [35,27].

A quitosana pode ser usada na oftalmologia como película ocular protetora na recuperação de tecido submetido a cirurgias intraoculares ou em casos de comprometimento crônico da córnea pois não necessita de remoção, pois é biodegradável [36]. Para pacientes com insuficiência renal a aplicação da membrana de quitosana ajuda na filtração renal [37]. Por suas propriedades fungicidas, bactericidas e ativador de sistema imunológico e cicatrizante, a quitosana é usada como pele artificial, para regeneração de tecido epitelial, reparando e normalizando o tecido lesado [38].

A enzima responsável pela degradação da quitosana, a lisozima, está presente em tecidos, órgãos e fluidos corporais de mamíferos, inclusive no fluido lacrimal com teores

acima de 1%. Algumas propriedades biológicas tais como, atividades antimicrobianas e cicatrizantes, têm sido atribuídas aos fragmentos (oligossacarídeos) resultantes da degradação enzimática da quitosana [26]. Os produtos da degradação enzimática da quitosana são oligômeros de N-acetil-D-glicosamina, que, além de apresentarem propriedades cicatrizantes, antimicrobianas, são totalmente absorvíveis pelo organismo [39].

Na indústria farmacêutica é utilizada na liberação de fármacos e seu sucesso maior está na absorção de gordura, pois quando ingerida, antes da refeição, é solubilizada. A quitosana (carga positiva) ao entrar em contato com o ácido estomacal é transformada em gel, e atrai moléculas de gorduras (cargas negativas), formando um grupo que é arrastado até o intestino e se solidifica, e assim é excretado junto com as fezes. Assim, a gordura não é absorvida pelo organismo, ajudando também no controle do colesterol [8].

Na indústria alimentícia, a quitosana oferece em amplo espectro de possíveis aplicações, como seja: formação de filmes biodegradáveis, recuperação de resíduos, purificação de água, clarificação de sucos, emulsificante de aromas, agente antioxidante, emulsificante e estabilizante, destacando-se sua eficácia quanto à preservação da qualidade microbiológica do alimento [40].

Segundo *Assis e Silva* [32], a quitosana possui características físico-químicas que resultam em propriedades como fácil formação de gel, e com propriedades de barreiras mecânicas. *Santos et al.* [41] relataram em seus estudos que esse polímero tem características de solubilidade muito diferenciadas, dependendo do pH do meio em que se encontra, sendo possível formar filmes comestíveis com a simples adição de determinados solventes.

### 2.3 Filmes e coberturas

Emulsões derivadas de óleos minerais têm sido empregadas desde o século XIII, na China, na conservação de frutas cítricas e em outros produtos para o transporte a longa distância por via marítima. Na década de 50, a cera de carnaúba foi introduzida para esse fim, mas, devido à aparência fosca resultante de sua aplicação, foram misturados com polietileno e parafina. Nos anos 60, ceras e vernizes processados a partir de goma solúvel em água se tornaram populares no revestimento de cítricos e frutas em geral [42].

As coberturas denominadas “comestíveis” são mais recentes e criadas nas décadas finais do século passado, quando seu interesse aumentou devido à expansão da oferta de produtos processados e pelo impacto ambiental provocado pela degradação muito lenta das

embalagens convencionais de alimento. Seu principal papel é atuar como uma barreira à perda de umidade, controlar a respiração do fruto e evitar contaminações microbiológicas e químicas [31]. Os autores comentam ainda, que os revestimentos comestíveis sobre os alimentos devem apresentar certas peculiaridades como serem invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alterações no gosto.

Filmes finos de quitosana têm sido, há algum tempo, objeto de avaliações práticas. A ausência ou não de poros e suas dimensões tornam-se fundamentais para definição de suas aplicações. Macro e microporos apresentam uma relação “tamanho-exclusão” apropriados ao emprego em montagem de membranas filtrantes sob baixa pressão, adequadas a sistemas de purificação de água ou separação de resíduo [43-44]. Os biofilmes possuem estruturas nanoporosas que podem ser aplicados em sistemas de controle de troca de gases, para liberação de drogas ou compostos moleculares e como cobertura comestível sobre alimentos processados e embalagens genéricas [45].

*Rathke e Hudson* [46] citam que as preparações dos biofilmes de quitosana, na grande maioria, são feitas de maneira rudimentar. O polímero é dissolvido em meio ácido e vertido sobre uma superfície plana e, após a evaporação do solvente, o filme é removido por destacamento. Porém, a maioria dos filmes processados dessa forma é irregular quanto a sua espessura e heterogeneidade. Mas, *Paterno et al.* [47] estudaram uma alternativa viável para obtenção de filmes poliméricos com um maior controle estrutural pela técnica de automontagem (self-assembly), que tem como base à adsorção resultante de interações eletrostática. A simples imersão de um substrato sólido carregado em uma solução rica de um material carregado contrariamente a este, produzirá a adsorção inicial de uma monocamada sobre a superfície, caracterizando o processo de automontagem. Considerando que a quitosana em meio ácido apresenta cargas positivas devido à protonação dos grupos amino ( $\text{NH}_3$ ), um substrato com alta densidade de sítios negativos imerso nessa solução se comportará como um suporte adequado à atração, e subsequente formação de um filme homogêneo.

Contudo, as quitosanas disponíveis, principalmente no Brasil, são de procedências diversas e apresentam diferentes graus de pureza e densidade molar. Por outro lado, não há industrialmente um procedimento comum de desacetilação entre as indústrias, o que torna os produtos comercializados diferentes entre si. Esse fato tem dificultado o estabelecimento de um processamento padrão de géis e a obtenção de filmes e revestimentos com características reprodutíveis [45].

A utilização do biofilme de quitosana pode ampliar a vida de prateleira das frutas, promovendo uma atmosfera modificada. Esse tratamento modifica o ar circulante e interno das frutas, reduzindo os níveis de O<sub>2</sub> e aumentando os níveis de CO<sub>2</sub>, conseqüentemente, reduzem o metabolismo do vegetal, retardando a senescência [48-50].

Quando se pensa no desempenho para estocagem de frutos, o ponto relevante é o pico climatérico retardado. Esta condição pode ser atingida pela redução da tensão de oxigênio na atmosfera de armazenagem. Quando a concentração de oxigênio é reduzida para valores abaixo da concentração normal do ar, a taxa de evolução de CO<sub>2</sub> é marcadamente afetada, com o pico climatérico retardado e diminuído em sua magnitude. Além disso, o teor de oxigênio reduzido tende a retardar a síntese endógena do etileno [51].

*Qiuping e Wenshui* [52] pesquisando novas técnicas de preservação e manutenção da qualidade de cerejas da Índia (*Ziziphus mauritina*, cv. Cuim) à temperatura ambiente, constataram que o uso de biofilme combinando quitosana e 1-metilciclopropeno foi eficaz para incrementar a vida útil desse fruto em oito dias, diminuiu sua taxa respiratória e de produção de etileno e poligalacturonase, e observou também redução da perda de peso, maior conservação da coloração verde e níveis mais altos de ácido ascórbico e sólidos solúveis totais.

Segundo *Medina* [53], a perda de água de produtos armazenados não só resulta numa perda de peso, mas também na perda de qualidade principalmente por causa da textura mais pobre. Alguma perda de água pode ser tolerada, mas aquelas responsáveis pelo murchamento ou enrugamento devem ser evitadas.

*Chien et al.* [54] reportaram a eficiência do biofilme de quitosana para retardar o escurecimento, a deterioração e a perda de água em pitayas vermelhas (*Hylocereus undatus*) fatiados, pois manteve o conteúdo de sólidos solúveis totais, acidez titulável e ácido ascórbico, e ainda, que este revestimento não influenciou em sua qualidade sensorial, e assim sugeriu o uso de coberturas de quitosana para preservar frutas minimamente processadas de forma geral.

A técnica da atmosfera modificada consiste no envolvimento das frutas em filmes flexíveis. Essa técnica tem um problema na sua aplicação decorrente à alta umidade que se forma dentro do envoltório fechado o que favorece o crescimento de fungos. Contudo, isto pode ser evitado com o uso do biofilme da quitosana devido a sua ação fungicida [31].

### 3. CONCLUSÃO

O aumento das pesquisas nessa área tem recebido fundamental importância no mundo, sendo uma alternativa viável e lucrativa para a indústria beneficiadora de camarão. Pesquisadores estão bioconvertendo esses resíduos (cascas) em produtos úteis nas áreas médicas e indústrias de alimentos. A quitosana, através de suas propriedades bactericidas naturais, filtradora de efluentes, ativadora do sistema imunológico e biofilme para alimentos, está sendo o polímero mais pesquisado nos últimos anos.

Em virtude da viabilidade econômica das indústrias beneficiadoras de crustáceos que produzem resíduos (casca), que é matéria prima de baixo custo para produção de quitina e quitosana, e das mudanças nos padrões nutricionais e os benefícios creditados a uma alimentação saudável, uma grande força impulsionadora dos filmes comestíveis de quitosana tem refletido, em âmbito mundial, na atenção para novas pesquisas de materiais e agentes com propriedades preservativas e bactericidas naturais que possam ser convenientemente empregados como material para revestimento de alimentos.

### 4. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e ao CNPq pelo apoio dado para realização dessa pesquisa.

### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NUNES, A.J.P. Carcinicultura – Panorama do cultivo de camarões marinhos no Brasil. *Revista Brasileira de Agropecuária*, **12**, p.40-41, (2001)
2. MADRI, R.M. Camarões – Como está o agronegócio “camarão marinho”. *Revista Brasileira de Agropecuária*, **11**, p.66-80, (2001)
3. ABCC – Associação Brasileira de Criadores de Camarão. Capturado em 07 de jan. 2006. Online. Disponível na internet: <http://www.abccam.com.br>.
4. MATHUR, N.K.; NARANG, C.K. Chitin and Chitosan: versatile Polysaccharides from marine animals. *Journal of Chemical Education*, **67**(11), p. 938-944, (1990)

5. CANELLA, K.M.N.C; GARCIA, R.B. Caracterização de quitosana por Cromatografia de Permeação em Gel – Influência do método de preparação e do solvente. *Química Nova*, **24**(1), p. 13-17, (2001)
6. GILDBERG, A.; STENBERG, E. A new process for advanced utilization of shrimp waste. *Process Biochemistry*, **36**, p. 809-812, (2001)
7. ABAZINGE, M. D. A. et al. Ensiling characteristics of crab waste and wheat straw treated with different additives. *Journal Agriculture Food Chemistry*, **41**(4), p. 657-661, (1993)
8. CRAVEIRO, A. A. et al. Quitosana: A fibra do futuro. Editora Universitária, 111 p, (1998)
9. FRANCO, L.O et al. *Cunnigamella elegans* (IFM 46109) como fonte de quitina e quitosana. *Revista Analytica*, **14**, p. 40-44, (2005)
10. TANADA-PALMU, P. Et al. Filmes biodegradáveis: extensão da vida útil de frutas tropicais. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Brasília, **26**, p.12-17. (2002)
11. AVENA-CUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate based edible films as affected by pH, calcium cross linking and lipid content. *Journal Food Science*, **58**, p. 904-907, (1993)
12. COMA, V. Et al. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, Chicago, **67**(3), p.1162-1169, (2002)
13. BNDES – BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. Apóia exportação de camarões e lagostas no Nordeste. 2001. Capturado em 27 de maio. 2002. Online. Disponível na internet: <http://www.bndes.gov.br/noticias/financia/not455.asp>.
14. FAO – FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Fishery country profile: the Federative Republic of Brazil. Capturado em 12 abril de 2002. Online. Disponível na internet: [http://www.fao.org/fi/fcp/FICP\\_BRA\\_E.asp](http://www.fao.org/fi/fcp/FICP_BRA_E.asp). (2002)
15. ROCHA, I.P. et al. A carcinicultura brasileira em 2003. *Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão*, p. 30-36, (2004)
16. BARBIERI JÚNIOR, R. C.; OSTRENSKY NETO, A. Camarões marinhos – Engorda. Editora: Aprenda Fácil. **2**, 370 p., (2002)
17. HEU, M.S. et al. Componentes and nutricional qalyti of shrimp processing by-products. *Food Chemistry*, **82**(2), p. 235-242, (2003)

18. CIRA, L.A. et al. Pilot scale lactic acid fermentaiois of shrimp waste for chitin recovery. *Process in Biochemistry*, **37**, p. 1359-1366, (2002)
19. BRASIL. Resolução nº 20 de 18 de junho de 1986. Regulamenta classificação das águas, poluição e seu uso. Brasília, DF: CONAMA, (1986)
20. BEZERRA, R. S. et al. Partial purification and characterization of thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Journal Food of Biochemistry*, **25**(3), p. 199-210, (2001)
21. ZAKARIA, Z. et al. Lactic acid fermentation of scampi waste in a rotating horizontal bioreactor for chitin recover. *Process Biochemistry*, **33**(1), p. 1-6, (1998)
22. DENKBAS, E.B. et al. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterizations, *Reactive & Functional Polymers*, **50**, p. 225-232, (2002)
23. KIMURA, I.Y. et al. Efeito do pH e do tempo de contato na adsorção de corantes reativos por microesferas de quitosana. *Polímeros*, **9**(3), p. 51-57, (1999)
24. ROBERTS, G.A.F. Chitin chemistry. *The Macmillan Press*, London, (1992)
25. TANADA-PALMU, P. Et al. Recobrimento de sementes de brócolis e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis. *Bragantia*, **64**(2), p. 291-297, (2005)
26. BERGER, J. et al. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **57**(1), p.35-52, (2004)
27. KUMAR, M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, **46**(1), p. 1-27, (2000)
28. TENG, L.W. et al. Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. *Carbohydrate Research*, **332**, p.305-316, (2001)
29. JAAFARI, K. et al. Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protonated cross-linked chitosan. *Water SA Research Comission*, **27**(1) p. 9-13, (2001)
30. KHOR, E.; LIM, L.Y., Implantable applications of chitin and chitosan, *Biomaterials*, **24**(13), p. 2339-2349, (2003)
31. ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana: Ação biofúngica sobre frutas fatiadas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, **30**, p. 33-38, (2003)

32. ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização Estrutural e da Capacidade de Absorção de Água em Filmes Finos de Quitosana Processados em Diversas Concentrações. *Polímeros*, **13**(4), p. 223-228, (2003)
33. IKINCI, G. et al. Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *International Journal of Pharmaceutics*, **235**, p. 121-127, (2002)
34. FINISIE, M.R. et al. Synthesis of calcium-phosphate and chitosan bioceramics for bone regeneration, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **73**(4), p. 525-532, (2001)
35. GAMZAZADE, A.I. et al. Study of lipoprotein sorption by some sulfoderivatives of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, **34**(4), p. 381-384, (1998)
36. SHI XIN-YUAN; TAN TIAN-WEI. New Contact Lens Based on Chitosan/Gelatin Composites. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, **19**; p. 467-479, (2004)
37. BYUNG K. K. et al. Chitin-based Embolic Materials in the Renal Artery of Rabbits: Pathologic Evaluation of an Absorbable Particulate Agent. *Radiology*, **236**, p. 151-158, (2005)
38. GINGRAS, M. Et al. Nerve regeneration in a collagen-chitosan tissue-engineered skin transplanted on nude mice. *Biomaterials*, **24**(9), p. 1653-1661, (2003)
39. LIA, JIN et al. Preparation and Characterization of low molecular weight chitosan and chito-oligomers by a commercial enzyme. *Polymer Degradation and Stability*, **87**, p.441-448, (2005)
40. BORGOGNONI, C. F. et al. Estabilidade de emulsões de d-limoneno em quitosana modificada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **26**(3), p. 502-508, (2006)
41. SANTOS, J.E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polímeros*, **13**(4). p. 242-249, (2003)
42. MARTINEZ, M.F. et al. Modified atmosphere packaging of minimally processed mango and pineapple fruits. *Journal of Food Scienci*, **67**(9), 3365 p. (2002)
43. ASSIS, O. B. G. et al. Formed-in-place chitosan-carboxymethylcellulose supported microfiltration membranes for water purification. In: International Symposium on Natural Polymers and Composites, S. Pedro, SP. *Anais...* 1 CD, (2002)
44. WANG, X.; SPENCER, H. G. Formation and characterization of chitosan formed-in-place ultrafiltration membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, **67**(3), p. 513-519, (1998)

45. ASSIS, O.B.G., ALVES, H.C. Metodologia mínima para produção de filmes comestíveis de quitosanas e avaliação preliminar de seu uso como revestimento protetor em maçãs cortadas. *Comunicado Técnico – Embrapa Instrumentação Agropecuária*. 5 p. (2002)
46. RATHKE, T. D.; HUDSON, S. M. Review of chitin and chitosan as fiber and film formers. *Journal Macromolecules Science*, **34**(3) p. 375-437. (1994)
47. PATERNO, L. G. et al. Filmes ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. *Química Nova*, **24** (2), p. 228-235, (2001)
48. CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. ESAL/FAEPE, 320 p. (1990)
49. GORRIS, L.G.M.; PEPPELENBOS, H.W. Modified atmosphere and vacuum packaging to extend the shelf life of respiring food products. *HortTechnology*, **2**(3), p.303-309, (1992)
50. LANA, M.M.; FINGER, F.L. Atmosfera modificada e controlada: aplicação na conservação de produtos hortícolas. *EMBRAPA Hortaliças – Comunicação para Transferência de Tecnologia*, 34 p. (2000)
51. PTAFFENBACH, L. B. et al. Efeito da atmosfera modificada e da refrigeração na conservação pós-colheita de manga espada vermelha. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **25** (3), p. 410-413, (2003)
52. QIUPING, Z. WENSHUI, X. Effect of 1-methylcyclopropene and quality maintenance of India jujube fruit. *Food Science and Technology*, **40**, p. 404-441, (2007)
53. MEDINA, P.V.L. Alguns aspectos da fisiologia pós-colheita e a qualidade dos produtos perecíveis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. *Palestras*. Brasília. EMBRAPA/DDT, p. 150-158, (1984)
54. CHIEN, P. J. et al. Quality assessment of low molecular weight chitosan coating on sliced red pitayas. *Journal of Food Engineering*, **79**, p. 736-740, (2007)



## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

---

### **3.1 Material**

---

**3.1.1** Cascas de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei* foram cedidas pela Empresa Netuno S/A, localizada em Recife/Pernambuco, e levadas ao Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos – LEAAL/UFPE. Foram secas em estufa a 70°C por 18 horas, e em seguida moídas em moinho elétrico.

**3.1.2** Morangos da cultivar “Oso Grande”, oriundos do Paraná, adquiridos na CEASA/PE foram selecionados por tamanho e cor desejados para o consumo, em seguida higienizados em solução desinfetante de hipoclorito de sódio a 50 ppm por 15 minutos, e deixados secar naturalmente.

---

### **3.2 Metodologia**

---

#### **3.2.1 Obtenção de quitina e quitosana a partir de carapaças de camarão**

Inicialmente, testamos três metodologias publicadas para obtenção de quitina e quitosana e escolhemos a de melhor rendimento. O procedimento para obtenção de quitina e quitosana foi feito de acordo com Assenhaimer e Rúbio (2003), com modificações de tempo e temperatura de obtenção e desacetilação. A quitina foi extraída do resíduo de camarão que foram inicialmente secos em estufa a 70°C por 18 horas. Após secagem e moagem do resíduo (220 g) foi realizada a extração da quitina utilizando 2.000 mL de solução HCl a 5%, e deixado sob agitação eventual durante uma hora à temperatura ambiente, para desmineralização. O material resultante desse processo foi filtrado e lavado diversas vezes com água para eliminação dos sais de cálcio. A extração de proteínas foi feita através de tratamento com 500 mL de solução NaOH 50%, sob agitação constante, a 55°C, durante duas horas. Após este período, o material quitinoso foi lavado em peneira até pH neutro, e seco em estufa a 45°C por 18 horas e estocado em sacos plásticos, sob temperatura de refrigeração.

O material quitinoso foi colocado em contato com aproximadamente 250 mL de solução NaOH 50% a uma temperatura de 85° C por seis horas, sob agitação eventual, para

desacetilação em quitosana. Após esse período, a amostra foi lavada exaustivamente até pH neutro e colocada para secar em estufa a 45° C por 18 horas.

### **3.2.2 Caracterização da quitosana**

Para caracterizar a quitosana foram realizadas análises de: cristalinidade (difração de raios-x); resistência térmica (termogravimetria - TGA e calorimetria exploratória diferencial - DSC); estrutura do polímero (espectroscopia em infravermelho - IV) e ressonância magnética nuclear  $^1\text{H}$  – RMN $^1\text{H}$ ) e massa molar (viscosidade).

#### **3.2.2.1 Difração de raios-x**

As amostras de quitosana foram analisadas através da medida de difração de raio-x, de acordo com Signini e Campana Filho (1998). Utilizou-se difratômetro Rigaku com tubo de cobre ( $\lambda = 1,54\text{\AA}$ ), empregando voltagem de 40kV e corrente de 40mA, no intervalo de  $5^\circ < 2\theta < 60^\circ$ , com varredura em etapas de  $0,02^\circ$  e velocidade de varredura de  $1^\circ\text{C}/\text{min}$ .

#### **3.2.2.2 Análise Termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial**

As medidas foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Antonino (2007) no laboratório de materiais vítreos e nanodispositivos fotônicos do Departamento de Química da UFPB, em um termoanalisador da Shimadzu, modelo 50WS e um DSC da Shimadzu, modelo DSC-50WS. As curvas foram obtidas, para a quitosana com uma massa 4,0 mg, dentro da faixa de 22 a 600° C para TGA e de 22 a 315°C, para DSC, com uma taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , sob fluxo de nitrogênio de  $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

#### **3.2.2.3 Espectroscopia em Infravermelho**

O grau de desacetilação da quitosana foi determinado por espectroscopia de raio infravermelho, segundo metodologia descrita por Santos et al. (2003). Alíquotas de 2,0 mg de quitosana foram submetidas a secagem em estufa a vácuo por 15 horas a 60 °C. Após este período, 100 mg de KBr foram adicionados e a mistura homogeneizada em almofariz de

ágata. As pastilhas foram preparadas e mantidas em estufa a vácuo, à 110 °C por 24 horas. Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro transformada de Fourier (FTIR), BRUKER Mod. IFS66. Esta técnica é utilizada para a determinação do grau de desacetilação, a vantagem desse método é que não depende da solubilidade da amostra.

#### 3.2.2.4 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram obtidos em um espectrômetro Varian Unity Plus em 300MHz. Todos os espectros foram obtidos a partir de um procedimento descrito por Signini e Campana-Filho (1998). Aproximadamente 10 mg de amostra de quitosana foi solubilizada em 1mL de solução de HCl/D<sub>2</sub>O 1% (v/v), com agitação durante 24 horas formando uma solução viscosa. Uma alíquota dessa solução foi colocada em tubos de 5 mm de diâmetro para a análise a 70 °C. Como referência externa foi usado ácido 3-(trimetilsilil)-1-propano sulfônico-d4 (TSPA da Aldrich).

#### 3.2.2.5 Viscosidade

O massa molar foi determinado por viscosidade, segundo a metodologia proposta por Santos et al. (2003). A medida de viscosidade foi realizada utilizando um capilar de vidro tipo Cannon-Fenske ( $d_{\text{interno}} = 1,26 \text{ mm}$ ) termostatizado a  $(25 \pm 0,01)^\circ\text{C}$ , em um viscosímetro AVS-350 da Schott-Geräte. Para a determinação da viscosidade intrínseca,  $[\eta]$ , foram preparadas soluções de quitosana (utilizando tampão de ácido acético como solvente) com concentrações variando de 0,5 a 2,5  $\text{mg.L}^{-1}$ . Os tempos de escoamento foram determinados em segundos. As amostras foram feitas em cinco replicatas e a média das medidas foi calculada.

A razão do tempo de escoamento da solução do polímero pelo tempo de escoamento da solução do solvente é chamada de viscosidade relativa. A viscosidade específica é o aumento fracionário em viscosidade e foi calculada aplicando a média dos tempos de escoamento na expressão descrita abaixo (equação 1).

$$\eta_{\text{esp}} = \left( \frac{t - t_0}{t} \right) \quad \text{equação 1}$$

Onde:

$\eta_{esp}$  = viscosidade específica da amostra

t = tempo de escoamento da solução no viscosímetro

$t_0$  = tempo de escoamento do solvente puro no viscosímetro

Viscosidade reduzida é a viscosidade específica dividida pela concentração e tem como dimensão o inverso da concentração.

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{esp}}{C} \quad \text{equação 2}$$

Onde:  $\eta_{red}$  = viscosidade reduzida da amostra; C = concentração em gramas de polímero em 100 mL de solução.

A viscosidade intrínseca foi encontrada pela extrapolação do gráfico de viscosidade reduzida versus concentração à diluição infinita, com base na equação 3 de Huggins (1942) e a massa molar viscosimétrica foi calculada através da equação 4 de Mark-Houving proposta por Rinaudo et al (2001), mostradas abaixo:

$$\eta_{red} = [\eta] + K_H [\eta]^2 C \quad \text{equação 3}$$

$$[\eta] = K \left( \bar{M}_v \right)^a \quad \text{equação 4}$$

### 3.3 Preparo da cobertura comestível

A cobertura comestível de quitosana foi preparada por homogeneização de 10 mg de quitosana por mL de ácido acético a 1%. Essa solução foi colocada sob agitação por 24 horas e depois deixada em repouso por mais 24 horas, obtendo-se o gel de quitosana.

### **3.4 Análises físicas e químicas dos morangos**

Os frutos foram triturados, obtendo-se o extrato, e as amostras analisadas quanto ao pH, acidez total titulável, teor de sólidos solúveis e umidade durante o período de 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento, sob refrigeração de 8°C. As análises foram realizadas de acordo com normas preconizadas pelo Instituto Adolf Lutz (2005).

#### **3.4.1 Perda de massa**

Trinta morangos foram colocados em bandejas separadas em proporções iguais (controle e com quitosana) para acompanhamento da diferença de peso do início do experimento até o final. Essa análise foi obtida por meio da diferença entre as pesagens dos frutos em cada intervalo de tempo e o tempo zero, sendo o resultado expresso em porcentagem.

#### **3.4.2 pH**

Determinado por pHmetro digital da marca MICRONAL B474.

#### **3.4.3 Acidez total titulável (ATT)**

Determinada por titulometria com NaOH 0,1 N em titulador automático LABEMATE. Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico por 100 g<sup>-1</sup>.

#### **3.4.4 Sólidos solúveis (SS)**

Determinados por meio da leitura em refratômetro de bancada modelo MODEII ausJENA, com os resultados expressos em °Brix.

#### **3.4.5 Umidade**

O teor de umidade foi determinado desidratando os frutos em estufa a vácuo à 70°C até a obtenção de massa constante.

### **3.5 Análise sensorial**

Para a realização das análises sensoriais, trinta provadores não treinados foram selecionados de forma aleatória entre alunos e professores do Departamento de Nutrição da UFPE. Pela ordem foram realizados os seguintes testes sensoriais: teste de comparação pareada (monocaudal); teste afetivo de preferência pareada e teste de aceitabilidade utilizando uma escala hedônica com 3 categorias: 1 - Desgostei extremamente; 3 - não gostei/ nem desgostei e 5 - gostei extremamente, para os atributos Aparência, Odor, Cor, Textura e Sabor.

### **3.6 Análise Estatística**

O delineamento estatístico das análises físico-químicas dos frutos foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (com e sem quitosana) em 5 tempos de avaliação, com 3 repetições. Os dados foram submetidos ANOVA e ao Teste de Toker e as médias comparadas pelo teste T-student 5% de probabilidade.

Os dados do teste de aceitabilidade foram avaliados pelo teste T-student ao nível de 5% de significância. Para verificar as relações entre os produtos obtidos e os atributos sensoriais foi realizada a Análise de Componente Principal. Utilizou-se o programa “STATISTICA FOR WINDOWS” (STATSOFT, 1997).

## ***RESULTADOS***

---

---

## **4 RESULTADOS – ARTIGOS ORIGINAIS**

---

### **4.1 Primeiro artigo**

Artigo Científico enviado para publicação ao periódico Química Nova, intitulado “Síntese e caracterização da quitosana do *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)”. A revista é classificada como qualis A nacional.

### **4.2 Segundo artigo**

Artigo científico a ser enviado para publicação em periódico internacional, intitulado “Conservação de morango por cobertura comestível de quitosana”.

---

## 4.1 Síntese e caracterização da quitosana do *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

---

Anamélia Sales de Assis; Thayza Christina Montenegro Stamford\*; Thatiana Montenegro Stamford Arnaud; Tânia Lúcia Montenegro Stamford.

Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife – PE, Brasil

### Resumo

O camarão *Litopenaeus vannamei* é a espécie mais cultivada no Brasil, e seus resíduos geram problemas ambientais. Quitosana representa alternativa rentável, promissora e ambientalmente satisfatória para o aproveitamento destes resíduos. Assim, esta pesquisa teve como objetivo extrair e caracterizar quitosana obtida pela extração de quitina dos resíduos e depois sua desacetilação. A quitosana foi caracterizada por Difração Raio-X, Espectroscopia em infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear  $^1\text{H}$ , Termogravimetria e Calorimetria Exploratória Diferencial, e viscosidade. A caracterização da quitosana comprovou Grau de Desacetilação (73-83%), cristalinidade (23%) e estabilidade térmica a 120°C. Foi concluído que esse resíduo apresenta potencial de bioconversão, apresentando características físico-químicas que sugerem sua aplicação nas áreas biotecnológica e industrial.

Palavras-chaves: *Litopenaeus vannamei*, quitosana, grau de desacetilação.

### Abstract

The shrimp *Litopenaeus vannamei* is the species most cultivated in Brazil, and their waste produce environmental problems. Chitosan is profitable alternative, environmentally satisfactory and promising for the use of wastes. Thus, this research aims to extract and characterize chitosan obtained by extraction of chitin and then waste their desacetilação. The chitosan was characterized by X-ray Diffraction, Infrared Spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance  $^1\text{H}$ , thermogravimetry and differential scanning calorimetry, and viscosity. The characterization of chitosan showed the degree of desacetilação (73-83%), crystallinity (23%) and thermal stability to 120° C. It was concluded that this residue has a potential for bioconversion, presenting physical and chemical characteristics that suggest its application in biotechnology and industrial areas.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, chitosan, degree of desacetilação.

## INTRODUÇÃO

O agronegócio e a agroindústria estão despontando no Brasil como atividades de grande potencialidade econômica e social. A criação de camarão ou carcinicultura é um exemplo dessas atividades e que atualmente é considerada como um próspero negócio no Brasil, principalmente na região Nordeste do país, a qual detém 95,2% da produção nacional de camarão.<sup>1</sup> Após a introdução da espécie de camarão *Litopenaeus vannamei* no Brasil, a indústria pesqueira tornou-se um dos setores mais organizados da aquicultura brasileira, quase que exclusivamente responsável pelo giro da balança comercial da pesca brasileira nos últimos cinco anos.<sup>2,3</sup>

O camarão é um alimento rico em proteína, cálcio, vitaminas e vários componentes extraíveis e tem sido usado como um dos mais populares e importantes ingredientes para preparações alimentares, em vários países.<sup>4</sup> A captura e o processamento do camarão têm gerado uma grande quantidade de cascas, que não servem para a fabricação de ração animal, devido ao elevado conteúdo em fibras. Esses resíduos gerados pela manufatura das indústrias são enterrados ou jogados clandestinamente em rios ou no mar, ocasionando graves problemas de poluição.<sup>5,6</sup> A produção anual de resíduos das indústrias de crustáceos é de aproximadamente 39 mil toneladas. Esses são biodegradáveis, por isso não provocam acúmulo excessivo na natureza, apesar de causarem grande problema de ordem social por serem desagradáveis no cheiro e atraírem insetos, podendo acarretar danos a saúde humana.<sup>7,2</sup> Uma possível alternativa de grande agregação de valor para este material é a sua utilização para extração de quitina e quitosana.<sup>8</sup>

A quitina é uma matéria prima de farta disponibilidade através do aproveitamento de resíduos da carcinicultura. Sua bioconversão deve ser vista como uma atividade de reciclagem extremamente benéfica, haja vista que minimiza o impacto de toneladas de carapaças de camarão, que sem utilidade são fatalmente descartadas no ambiente, causando sério impacto ecológico.<sup>9</sup>

A quitosana é obtida a partir da reação de desacetilação da quitina em solução alcalina.<sup>10</sup> Durante essa reação, os grupamentos acetoamido (-NHCOCH<sub>3</sub>) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino (-NH<sub>2</sub>), dando origem a quitosana.<sup>11</sup> Quitosana possui baixa solubilidade em água e comporta-se como um polieletrólito catiônico na presença de soluções ácidas diluídas.<sup>8</sup> O grau de desacetilação (número percentual de

glucosaminas na molécula do polímero) é um importante parâmetro da estrutura molecular da quitosana e determina seu potencial de solubilidade e reatividade.<sup>12</sup>

Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos.<sup>13-15</sup> As principais propriedades deste polissacarídeo são: bioatividade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, reatividade do grupo amino desacetilado, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, habilidade em formar gel e filme, habilidade de quelação e capacidade adsortiva.<sup>16,17,11</sup>

Neste sentido, frente ao reconhecido potencial de diversas propriedades da quitosana e considerando a obtenção deste polímero a partir de resíduos do camarão como uma alternativa rentável, promissora e ambientalmente satisfatória, esta pesquisa teve como objetivo extrair e caracterizar a quitosana obtida da carapaça de camarão *Litopenaeus vannamei*.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **Obtenção de quitina e quitosana a partir de carapaças de camarão**

O procedimento para obtenção de quitina e quitosana foi feito de acordo com Assenhaimer<sup>18</sup>, com modificações. A quitina foi extraída do resíduo de camarão que secos em estufa a 70°C por 18 horas. E, em seguida, foi realizada a extração da quitina utilizando solução HCl a 5%, e deixado sob agitação durante uma hora à temperatura ambiente, para desmineralização. O material resultante desse processo foi filtrado e lavado diversas vezes com água para eliminação dos sais de cálcio. A extração de proteínas foi feita através de tratamento com NaOH 50%, sob agitação constante, a 55°C, durante duas horas. Após este período, o material quitinoso foi lavado em peneira até pH neutro, e seco em estufa a 45°C por 18 horas e estocado em sacos plásticos, sob temperatura de refrigeração.

O material quitinoso foi colocado em contato com NaOH 50% a uma temperatura de 85° C por seis horas, sob agitação eventual, para desacetilação em quitosana. Após esse período, a amostra foi lavada exaustivamente até pH neutro e colocada para secar em estufa a 45° C por 18 horas.

### **Caracterização da quitosana**

Para caracterizar a quitosana foram realizadas análises de: cristalinidade (difração de raios-x); grau de umidade (termogravimetria e colorimetria exploratória); estrutura do polímero (espectroscopia em infravermelho e ressonância magnética nuclear <sup>1</sup>H) e massa molar (viscosidade).

#### *Difração de raios-x*

As amostras de quitosana foram analisadas através da medida de difração de raio-x, de acordo com Signini e Campana Filho.<sup>19</sup> Utilizou-se difratômetro Rigaku com tubo de cobre ( $\lambda = 1,54\text{\AA}$ ), empregando voltagem de 40kV e corrente de 40mA, no intervalo de 5°<20<60°, com varredura em etapas de 0,02° e velocidade de varredura de 1°C/min.

$$I_{CR}\% = I_c - I_a/I_c \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

### *Análise termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial*

As medidas foram realizadas no laboratório de materiais vítreos e nanodispositivos fotônicos do Departamento de Química da UFPB, em um termoanalisador da Shimadzu, modelo 50WS e um DSC da Shimadzu, modelo DSC-50WS. As curvas foram obtidas, para as quitosanas e seus filmes com uma massa 4,19 mg, dentro da faixa de 22 a 600° C para TGA e de 22 para 315°C, para DSC, com uma taxa de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>, sob fluxo de nitrogênio de 50 mL.min<sup>-1</sup>.

### *Espectroscopia em Infravermelho*

O grau de desacetilação da quitosana foi determinado por espectroscopia de raio infravermelho, segundo metodologia descrita por Santos et al.<sup>20</sup> Alíquotas de 2,0 mg de quitosana foram submetidas a secagem em estufa a vácuo por 15 horas a 60 °C. Após este período, 100 mg de KBr foram adicionados e a mistura homogeneizada em almofariz de ágata. As pastilhas foram preparadas e mantidas em estufa a vácuo, à 110 °C por 24 horas. Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro com transformada de Fourier da Bruker modelo IF66. Esta técnica pode ser utilizada para a determinação do grau de desacetilação, a vantagem desse método é que não depende da solubilidade da amostra.

### *Ressonância Magnética Nuclear*

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H foram obtidos em um espectrômetro Varian Unity Plus em 300MHz. Todos os espectros foram obtidos a partir de um procedimento descrito por Signini e Campana-Filho.<sup>19</sup> Aproximadamente 10 mg de amostra de quitosana foi solubilizada em 1mL de solução de HCl/D<sub>2</sub>O 1% (v/v), com agitação durante 24 horas formando uma solução viscosa. Uma alíquota dessa solução foi colocada em tubos de 5 mm de diâmetro para a análise a 70 °C. Como referência externa foi usado ácido 3-(trimetilsilil)-1-propano sulfônico-d<sub>4</sub> (TSPA da Aldrich).

## Viscosidade

A massa molar foi determinado por viscosidade, segundo a metodologia proposta por Santos et al.<sup>20</sup> A medida de viscosidade foi realizada utilizando um capilar de vidro tipo Cannon-Fenske ( $d_{\text{interno}} = 1,26 \text{ mm}$ ) termostaticado a  $(25 \pm 0,01)^\circ\text{C}$ , em um viscosímetro AVS-350 da Schott-Geräte. Para a determinação da viscosidade intrínseca,  $[\eta]$ , foram preparadas soluções de quitosana (utilizando tampão de ácido acético como solvente) com concentrações variando de 0,5 a 2,5  $\text{g.L}^{-1}$ . Os tempos de escoamento foram determinados em segundos. As amostras foram feitas em cinco replicatas e a média das medidas foi calculada.

A razão do tempo de escoamento da solução do polímero pelo tempo de escoamento da solução do solvente é chamada de viscosidade relativa. A viscosidade específica é o aumento fracionário em viscosidade e foi calculada aplicando a média dos tempos de escoamento na expressão descrita abaixo (equação 1).

$$\eta_{\text{esp}} = \left( \frac{t - t_0}{t} \right) \quad \text{equação 2}$$

Onde:  $\eta_{\text{esp}}$  = viscosidade específica da amostra;  $t$  = tempo de escoamento da solução no viscosímetro;  $t_0$  = tempo de escoamento do solvente puro no viscosímetro

Viscosidade reduzida (equação 2) é a viscosidade específica dividida pela concentração e tem como dimensão o inverso da concentração.

$$\eta_{\text{red}} = \frac{\eta_{\text{esp}}}{C} \quad \text{equação 3}$$

Onde:  $\eta_{\text{red}}$  = viscosidade reduzida da amostra;  $C$  = concentração em gramas de polímero em 100 mL de solução.

A viscosidade intrínseca (equação 4) foi encontrada pela extrapolação do gráfico de viscosidade reduzida versus concentração à diluição infinita, com base na equação de Huggins<sup>21</sup> mostrada abaixo:

$$\eta_{\text{red}} = [\eta] + K_H [\eta]^2 C \quad \text{equação 4}$$

A massa molar foi calculada através da equação 5 de Mark-Houving, a seguir:

$$[\eta] = K \left( \bar{M}_v \right)^a \quad \text{equação 5}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Rendimento de quitina e quitosana

No presente estudo observou-se rendimentos médio de quitina e quitosana a partir da casca de camarão *L. vannamei* de  $21\% \pm 1,0$  e  $15,5\% \pm 0,5$ , respectivamente. Estes resultados foram próximos dos obtidos pela literatura<sup>22</sup> que obtiveram 19 a 25 % de quitina em diferentes partes de resíduos do camarão *Macrobrachium rosenbergii*, assim como próximos aos resultados dos rendimentos de quitina e quitosana em fungos realizados por Andrade et al.<sup>23</sup> que obtiveram 8,9 a 23% de quitina e 8% de quitosana, em *Mucor rouxii* e *M. javanicus*, respectivamente; e por Franco et al.<sup>24</sup> com *Cunninghamella elegans* que obtiveram 23 a 40% e 5 a 8% de quitina e quitosana, respectivamente, com a utilização de meios de cultura alternativos e de baixo custo econômico. Estes resultados não concordam com rendimentos de quitina e quitosana de siri (9,4% e 5,0%) e camarão (4,8% e 2,4%), respectivamente, obtidos por Moura et al.<sup>25</sup>

Campana Filho et al.<sup>26</sup> ressaltam que a quitina de carapaças de espécies diferentes de camarões, como é explorada comercialmente, é um produto de composição variável quanto ao comprimento das cadeias, conteúdo de unidades de glicosamina acetiladas e desacetiladas e sua distribuição ao longo das cadeias.

O rendimento de quitina também foi semelhante a citação de Kurita et al.<sup>27</sup>, onde as cascas secas de crustáceos possuem 15-20% de quitina, 25-40% de proteína e 40-55% de carbonato de cálcio, além de pigmentos e lipídeos em pequena quantidade.

## Difração de Raio X

Os difratomas analisados localizam os principais picos de intensidade das regiões cristalinas (Ic) e amorfas (Ia) da quitosana em  $2\theta=20^\circ$  e  $2\theta=9^\circ$  (Figura 1) e da quitina em  $2\theta=20^\circ$  e  $2\theta=12^\circ$ . Sendo assim, observamos que os índices de cristalinidade ( $I_{CR}\%$ ) calculado através da equação 4, descrita por Signini e Campana Filho<sup>28</sup>, foi de 23% e 76% para quitosana e quitina, respectivamente. Estes valores foram melhores do que os resultados com quitosana não purificada de *M. rosenbergii* apresentados por Batisti e Campana-Filho<sup>22</sup>, que obtiveram o  $I_{CR}$  inferior a 68%.

Segundo Antonino<sup>9</sup> a relação entre o grau de desacetilação e o índice de cristalinidade relativo é inversa, ou seja, quanto maior o índice de cristalinidade menor será o seu grau de desacetilação, confirmando assim outras análises realizadas neste estudo.

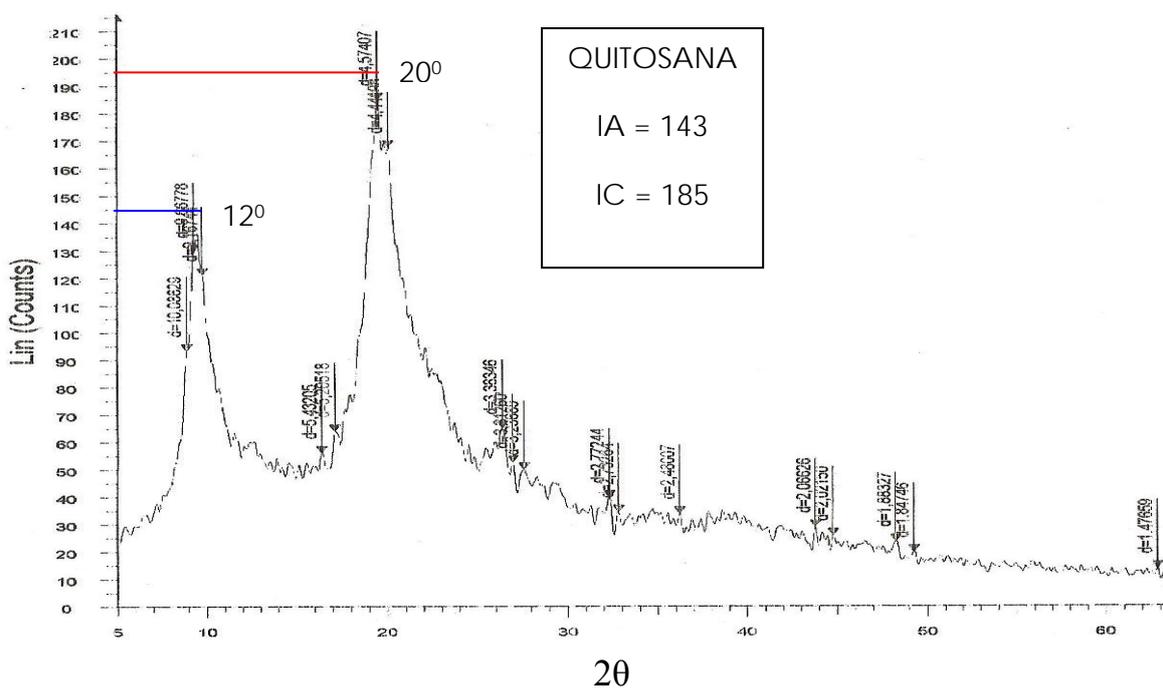
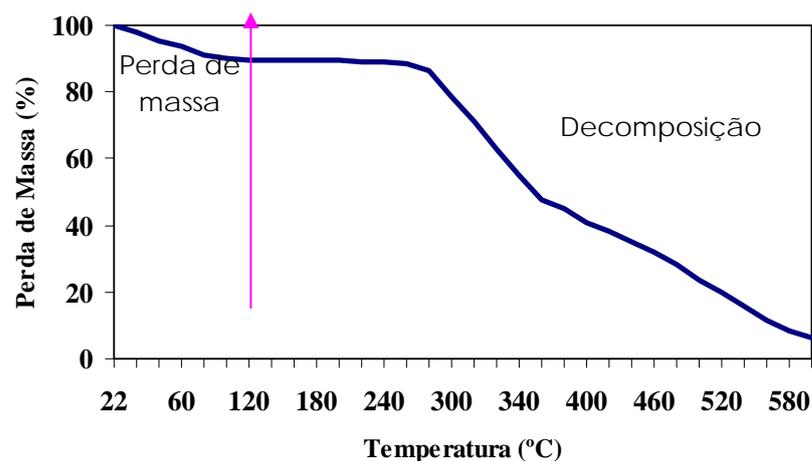


Figura 1 – Difratoma de raio X da amostra de quitosana do *L. vannamei*

## Análise termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise de termogravimetria ilustrada na figura 2 indica a perda de água e massa, que ocorreu num primeiro pico à temperatura de 62°C, com perda de massa de 6,10%. O segundo pico indica a perda de material orgânico, que ocorreu numa temperatura de 367°C, com perda de massa de 52,29%. No terceiro pico, referente ao material carbonizado, que ocorreu numa temperatura de 503°C, com perda de massa de 76,27%. Esta técnica foi realizada para avaliar a estabilidade térmica dessa quitosana e poder indicar tratamentos térmicos, mantendo a integridade do polímero, numa temperatura utilizando para esterilização comercial em alimentos, 120°C.

A curva de DSC obtida, conforme figura 3, apresenta dois picos principais. O primeiro representa uma curva endotérmica a 90°C e a segunda curva um pico exotérmico a 290°C.



21

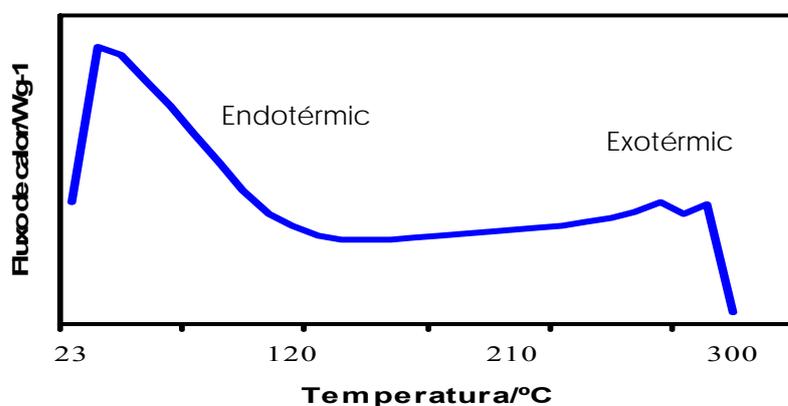


Figura 3 – Curva de Calorimetria Exploratória Diferencial de quitosana do *L. vannamei*

## Espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho permitiu observar e classificar algumas bandas relativas a vibrações características dos grupos funcionais presentes na estrutura desse polímero. A banda observada em  $1375\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao grupo  $\text{CH}_3$ . A deformação angular do grupamento NH (amida II) ocorreu na banda  $1545\text{ cm}^{-1}$ , e a deformação axial da banda amida (C=O) foi observada na vibração  $1620\text{ cm}^{-1}$ . As bandas entre  $3330\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento vibracional dos grupos hidroxilas (OH). Os resultados da espectroscopia em infravermelho estão ilustrados na figura 4 e são semelhantes aos estudos de Paulino<sup>29</sup> com quitosana do bicho da seda e Garcia et al.<sup>30</sup> com quitosana modificada e Franco et al.<sup>24</sup> com quitosana de fungo.

Segundo Signini e Campana Filho<sup>28</sup>, o espectro obtido no infravermelho fornece um agregado muito rico de bandas de absorção. A análise das bandas características de determinados grupos funcionais de uma molécula fornece, através de um simples exame do espectro, um conjunto valioso de informações sobre a estrutura da molécula.<sup>20</sup>

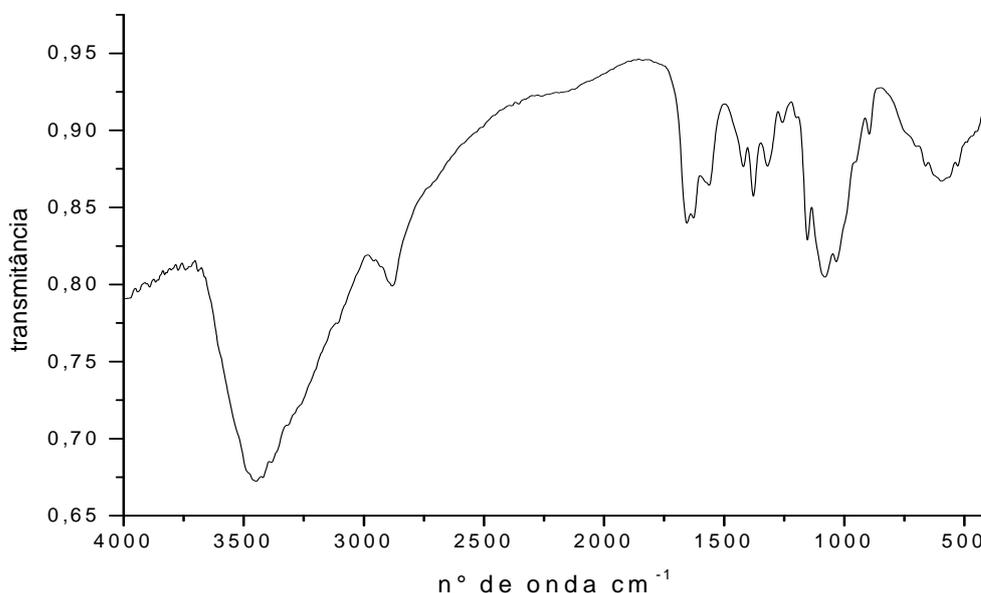


Figura 4 – Espectro de absorção na região infravermelho (IV) da amostra de quitosana *L. vannamei*

## Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$

A determinação do grau de desacetilação por RMN  $^1\text{H}$  da quitosana foi realizada utilizando a área do pico na região 2 ppm (H 2-6) e os picos do grupamento acetil (HAc) nos picos entre 3 e 4 ppm, e aplicando esses valores na equação (2) descrita por Hirai et al.<sup>31</sup> As estruturas de desacetilação da quitosana estão representados pela figura 5 e são semelhantes aos espectros obtidos por Lavertu et al.<sup>32</sup> O valor de %GD obtidos em RMN $^1\text{H}$  foi 73%. Este valor foi semelhante à quitosana da Fluka (77%) e menor do que a quitosana da Aldrich e Polymar (90%) apresentados por Santos et al.<sup>20</sup>

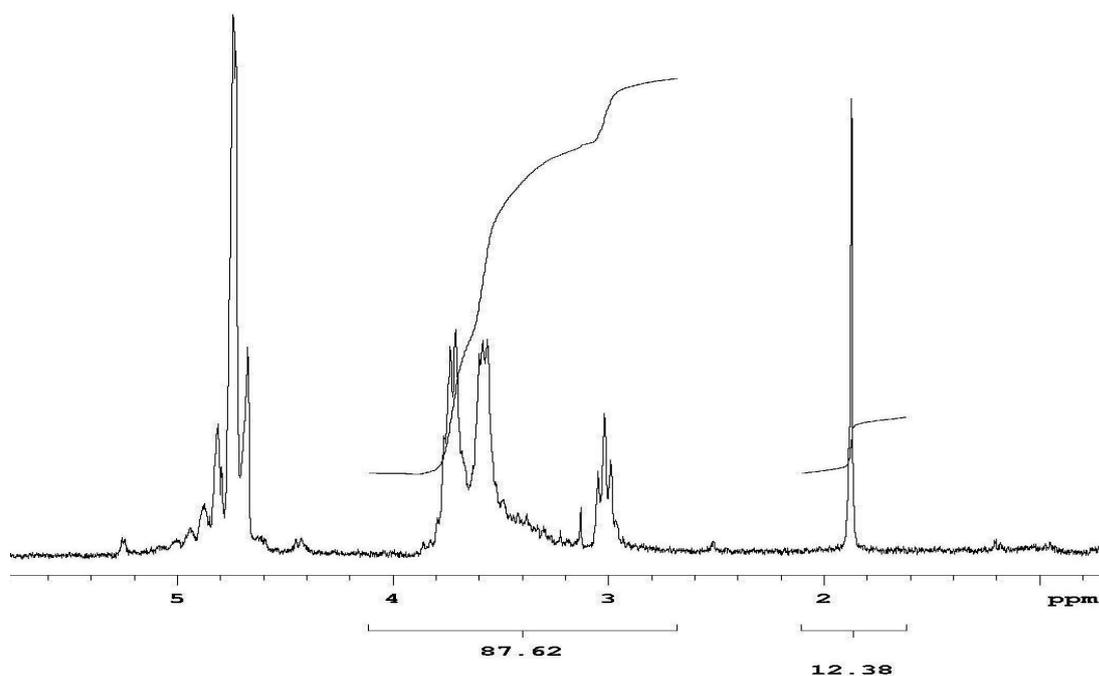


Figura 5 – Espectro de Ressonância Magnética Nuclear  $^1\text{H}$  da quitosana de *L. vannamei*

## Viscosidade

A viscosidade polimérica é o resultado da comparação entre o tempo de escoamento do solvente em um capilar e o tempo de escoamento da solução polimérica a determinada concentração e temperatura. Embora seja um método não absoluto, a medida de viscosidade pode ser utilizada para estimar/determinar a massa molar média de polímeros utilizando-se um viscosímetro e um capilar tipo Cannon-Fenske.<sup>33</sup>

A medida de viscosidade foi realizada com soluções de quitosana de concentrações na faixa de 0,5 a 2,5 mg.mL<sup>-1</sup> e para o cálculo foram utilizadas as viscosidades específica e reduzida, conforme tabela 1.

Tabela 1 - Valores referentes a viscosidade específica e reduzida das soluções de quitosana na temperatura de  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ .

<b>Concentração de quitosana</b> $10^{-3}$ (g.mL <sup>-1</sup> )	<b>Viscosidade específica</b> (adimensional)	<b>Viscosidade reduzida</b> (mL.g <sup>-1</sup> )
0,0005	0,68	1360
0,001	0,80	800
0,0015	0,90	600
0,002	0,95	480
0,0025	0,97	390

A reta obtida na figura 6 apresenta um bom coeficiente de correlação ( $r > 0,85$ ); sendo possível determinar o valor da constante de Huggins ( $K_H$ ) de acordo com a equação 4. Para calcular a constante de Huggins foram utilizados os valores do ponto mais próximo à progressão linear (concentração de quitosana igual a 0,0005 g/mL e a  $\eta_{\text{red}} = 1360$  mL/g). O  $K_H$  encontrado foi ( $K_H = 0,076$ ) relativamente pequeno indicando que as soluções preparadas foram de boa qualidade.

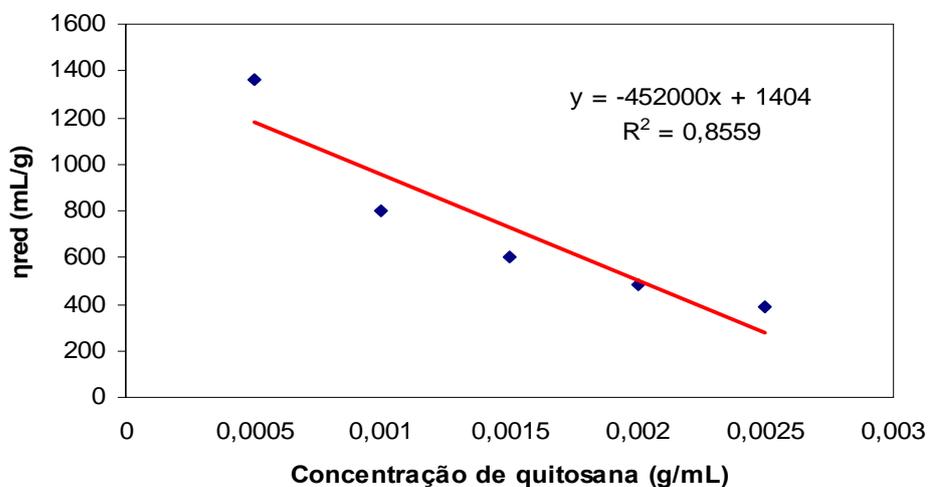


Figura 6 - Viscosidade reduzida em função da concentração para a determinação da viscosidade intrínseca.

A massa molar viscosimétrica foi calculada através da equação 5 de Mark-Houving. O valor da constante  $K$  e  $a$  dependem do polímero, do solvente e da temperatura. Neste trabalho foram utilizados os valores propostos por Rinaudo et al.<sup>34</sup>, de 0,076 e 0,76 para  $K$  e  $a$ , respectivamente.

O valor da massa molar média da quitosana estudada foi de  $4,6 \times 10^4$  g/mol, e está de acordo com o encontrado por Santos et al.<sup>20</sup> que obteve quitosana  $6,9 \times 10^4$  g/mol.

O estudo da viscosidade de soluções poliméricas tem grande importância prática pelo uso de polímeros em diversos produtos industriais, alimentícios ou farmacêuticos, em muitos casos, justamente como controlador da viscosidade. Além disto, do ponto de vista molecular, o estudo viscosimétrico de soluções de polímeros permite avaliar informações importantes sobre massa molar média do polímero, dimensões da cadeia polimérica em solução e, como conseqüência, da qualidade deste solvente para este polímero.<sup>9</sup>

## **CONCLUSÕES**

Resíduo de *Litopenaeus vannamei* apresenta grande potencial de bioconversão para produção de quitina e quitosana;

A quitosana obtida apresenta um grau de desacetilação médio, baixa massa molar e uma boa estabilidade térmica, tais características sugerem sua aplicação nas áreas biotecnológica e industrial.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq e CAPES que apoiaram os trabalhos dos autores concedendo bolsas e auxílios à pesquisa.

## REFERÊNCIAS

1. FAO, State of world Fisheries and Aquaculture, Rome, 2006, 147.
2. ROCHA, I. P.; RODRIGUES, J.; AMORIM L.; *R. ABCC*, **2004**, *1*, 30.
3. FAO - [http://bdtd.furg.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=120](http://bdtd.furg.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=120), Acessada em dezembro 2008.
4. HEU, M.S.; KIM, J. S.; SHAHIDI, F.; *Food Chemist.*, **2003**, *82*, 235.
5. BRASIL. *Regulamenta classificação das águas, poluição e seu uso*. CONAMA: Brasil, 1986.
6. CIRA LA, HUERTA S, HALL GM, SHIRAI K.; *Proc. Biochem.*, **2002**, *37*, 1359.
7. CRAVEIRO, A.A., CRAVEIRO, A.C., QUEIROZ, D.C. *Quitosana: A fibra do futuro*; PADETEC: Brasil, 1999, p. 124.
8. ASSIS, A.S; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M.; *R. Iberoamericana Polímeros*, **2008**, *9*, 480.
9. ANTONINO, N. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, 2007.
10. DENKBAS E.B., KILICAY E., BIRLIKSEVEN C., OZTURK E.; *Reac. Funct. Polym.*, **2002**, *50*, 225.
11. FIGUEIREDO, M. V. B; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C.E.R.S. *Microrganismos e agrobiodiversidade: novo desafio para agricultura*. Guaíba: Brasil, 2008, p. 568.
12. CHO J., HEUZEY M.-C., BEGIN A, CARREAU P. J.; *J. Food Eng.*, **2006**, *74*, 500.
13. ROBERTS, G. A. F.; *Mac Millan Press*, **1992**, *14*, 166.
14. GOOSEN, M. E. A. *Applications of chitin and chitosan*, Technomic Publishing Company: Lancaster , 1996.
15. FAI, A.E.C; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. *R.; Iberoamericana Polímeros*, **2008**, *9*, 435.
16. SYNOWIECKI, J.; AL-KHATTEB, N. A.A. *Food Scien. Nutrit.*, **2003**, *43*, 144.
17. THARANATHAN, R, N.; KITTUR, F. S. *Food Scien. Nutrit.*, **2003**, *43*, 61.
18. ASSENHAIMER, C.; [http://www6.ufrgs.br/ltn/attachments/115\\_Cristiane.pdf](http://www6.ufrgs.br/ltn/attachments/115_Cristiane.pdf). Acessado em 25 junho 2005.
19. SIGNINI, R; CAMPANA FILHO, S.P. *Polímeros*, **1998**, *4*, 63.
20. SANTOS, J.E., SOARES, J.P., DOCKAL, E.R., CAMPANA, S.P; CAVALHEIRO, E.T., *Polímeros*, **2003**, *13*, 242.

21. HUGGINS, M.L.; *J. Americ. Chemic. Society*, **1942**, *64*, 2716.
22. BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P.; *Quím. Nova*, **2008**, *31*, 2014.
23. ANDRADE, V.S; NETO, B.B; FUKUSHIMA, K.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; *R. Iberoamericana Micologia*, **2003**, *20*, 149.
24. FRANCO L.O, STAMFORD T.C.M, STAMFORD N.P, TAKAKI G.M.C.; *R. Analyt.*, **2005**, *14*, 40.
25. MOURA, C; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C; ALMEIDA, J.; PINTO, L.; *Vetor*, **2006**, *16*, 37.
26. CAMPANA-FILHO, S.P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F.R.; CARDOSO, M.B.; BATTISTI, M.V.;SIM, P.C.; GOY, R.C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R.L.; *Quím. Nova*, **2007**, *30*, 644.
27. KURITA, K.; TOMITA, K.; TADA, T.; ISHII, S.; NISHIMURA, S. I.; SHIMODA, K.; *J. Polym. Scien.*, **1993**, *31*, 485.
28. SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P.; *Polímeros*, **2001**, *11*, 58.
29. PAULINO, A.T.; SIMIONATO, J.I.; GARCIA, J.C.; NOZAKI, J.; *Carbohydr. Polym.*, **2006**, *64*, 98.
30. GARCIA, R.B.; SILVA, D. L. P.; COSTA, M.; *Quím. Nova*, **2008**, *31*, 486.
31. HIRAI, A.; ODANI, H.; NAKAJIMA, A.; *Polym. Bulletin*, **1991**, *26*, 87.
32. LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQUI, A.N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.; WANG, D.; BUSCHMANN, M. D; GRUPTA, A.; *J. Pharmac. Biomed. Analysis*, **2003**, *32*, 1149.
33. ARNAUD, T.M.S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2008.
34. RINAUDO, M.; DESBRIÈRES, J.; DUNG, P. LÊ.; BINH THUY, P.; DONG, N.T.; *Carbohydr. Polym.*, **2001**, *46*, 339.

---

## 4.2 Conservação de morango por cobertura comestível de quitosana

---

### RESUMO

O morango é um fruto de clima temperado e têm atração peculiar por sua coloração vermelha brilhante, odor característico, textura macia e sabor levemente acidificado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade físico química e sensorial de morangos sem e com cobertura de quitosana. Morangos da cultivar Oso Grande, oriundos do Paraná, foram comprados na CEASA de PE, selecionados de acordo com a cor (maturação) e higienizados com hipoclorito a 50 ppm por 15 minutos. Foram imersos em solução filmogênica (10mg de quitosana por mL de ácido acético a 1%) e colocados para secar naturalmente, em ambiente refrigerado. O delineamento estatístico das análises físico químicas dos frutos foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (controle e com quitosana) em 5 tempos de avaliação, com 3 repetições. Os frutos foram utilizados para análises físico químicas quanto à perda de massa, pH, acidez titulável, sólidos solúveis e umidade, durante 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento. Trinta provadores não treinados foram selecionados para os seguintes testes sensoriais: comparação pareada; afetivo de preferência pareada e de aceitabilidade. Para verificar as relações entre os produtos obtidos e os atributos sensoriais foi realizada a Análise de Componente Principal. A cobertura de quitosana foi eficiente, pois controlou a perda de água em morangos, manteve acidez total titulável e pH constantes e sólidos solúveis mais baixo. Assim, a quitosana promoveu uma atmosfera modificada, reduziu o metabolismo do fruto e retardou a senescência. Houve diferença estatística nos atributos sensoriais entre os frutos sem e com cobertura de quitosana, sendo essa última mais desejável. Portanto, a cobertura comestível de quitosana pode ser utilizada como uma alternativa rentável e promissora em sistemas de conservação de alimentos.

Palavras-chave: morango, quitosana, preservação.

## ABSTRACT

The strawberry is a fruit of temperate climate and have special attraction for its bright red color, odor, texture soft and slightly sour taste. This study aimed to evaluate the physical, chemical and sensory quality of strawberries with and without coverage of chitosan. Strawberry cultivar Oso Grande, from the Paraná, were purchased in CEASA of PE, selected according to color (maturity) and cleaned with hypochlorite at 50 ppm for 15 minutes. Filmogenic were immersed in solution (10 mg of chitosan per mL of a 1% acetic acid) and placed to dry naturally in cool environment. The statistical design of the physicochemical analysis of the fruit was completely randomized, with 2 treatments (control and chitosan) at 5 days of assessment, with 3 replicates. The fruits were used for physicochemical analysis on weight loss, pH, acidity, soluble solids and moisture, for 3, 6, 9, 12 and 15 days of storage. Thirty untrained panelists were selected for the following sensory tests: paired comparison, affective preferably paired and acceptability. To verify the relationships between products and sensory attributes was performed Principal Components Analysis. The coverage of chitosan was efficient, because the loss of water control in strawberries, maintained total acidity and pH and soluble solids in the lower. Thus, the chitosan promoted a modified atmosphere, reduced the metabolism of the fruit and delayed senescence. There were statistical differences in sensory attributes among the fruits with and without coverage of chitosan, the latter being more desirable. Therefore, the coverage of edible chitosan can be used as a viable and promising alternative to systems for storage of food.

Keywords: strawberry, chitosan, preservation.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutos, juntamente com a Índia, Paquistão, México, Egito e Venezuela (SOUZA et al., 2005). De acordo com o Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF), o Brasil, em 2007, exportou 918 mil toneladas de frutos frescos. A base agrícola da cadeia produtiva de frutos abrange 2,2 milhões de hectares, gera 4 milhões de empregos diretos e um PIB agrícola de US\$ 11 bilhões. Por outro lado, o volume de exportação ainda é pequeno, principalmente em vista do elevado volume de perdas, estimado em 10 milhões de toneladas/ano, o que corresponde a 30-40% da produção (IBRAF, 2008).

Os frutos são órgãos que apresentam alto teor de água e nutrientes e, mesmo depois da colheita até a senescência, mantêm vários processos biológicos em atividade, apresentando desta forma maior predisposição a distúrbios fisiológicos, danos mecânicos e ocorrência de podridões (KADER, 2002).

O amadurecimento de frutos é acompanhado por uma série de processos físicos e bioquímicos que resultam em síntese e degradação de pigmentos, conversão de amido em açúcar, perda de firmeza, produção de voláteis (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os principais fatores que influenciam a qualidade são: os fatores genéticos (seleção de cultivares), os fatores ambientais na pré-colheita (condições climáticas e práticas culturais); a maturidade na colheita; o método de colheita e o manuseio pós-colheita. A maturação é um dos fatores que mais influencia na qualidade de frutos e hortaliças (CARMO, 2004).

O morango é uma hortaliça de clima temperado e tem apelo peculiar por sua coloração vermelha brilhante, odor característico, textura macia e sabor levemente acidificado e esses são atributos que atraem os consumidores (SILVA, 2004). Dada a sua grande demanda na culinária nacional e internacional, é desejável o desenvolvimento de tecnologia para prolongamento da sua conservação, através da cobertura de quitosana. A perda de água resulta em enrugamento dos tecidos, amaciamento da polpa e perda de massa fresca. Desse modo, a perda de água é um importante fator econômico na comercialização feita com base na massa fresca (VILA, 2004).

A atividade respiratória do fruto provoca modificações profundas nos constituintes químicos, principalmente em condições não controladas, levando a rápida senescência do fruto, interferindo assim, na qualidade do mesmo (WILLS et al., 1981).

De acordo com Fachinello et al. (2002) para reduzir a perda de água deve-se elevar a umidade do ar do ambiente reduzir a temperatura do produto, adequar a ventilação, ou utilizar embalagem adequada ou mesmo a aplicação de soluções filmogênicas.

O uso de revestimentos e coberturas em frutos tem como objetivo aumentar seu período de preservação, visando minimizar a perda de umidade e reduzir as taxas de respiração, além de conferir aparência brilhante e atraente (AZEREDO, 2003). O uso de películas com esse propósito constitui vantagem econômica, evitando a necessidade de estocagem em atmosfera controlada que implicaria em custos operacionais e de equipamento. (MAIA et al., 2000).

As propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis são: transporte de gases (oxigênio e gás carbônico) e de solutos, retenção de compostos aromáticos e incorporação de aditivos alimentícios, tais como: nutrientes, aromas, pigmentos ou agentes antioxidantes e antimicrobianos (PALMU et al., 2005).

A quitosana como cobertura para frutos é utilizada pela sua capacidade de atuar como: barreira à perda de umidade, controlar a respiração do fruto, apresentar alto potencial antimicrobiano, além de prevenir o escurecimento enzimático (BORDERÍAS et al., 2005; CHIEN et al., 2007).

À demanda dos consumidores por alimentos de alta qualidade associado às preocupações ambientais, em relação ao acúmulo de embalagens não biodegradáveis, tem criado oportunidade de alternativas de mercado para produção de coberturas de frutas utilizadas como fontes renováveis. Assim, o presente estudo teve como objetivo utilizar cobertura de quitosana para preservação de morangos e verificar as características físico químicas e sensorial dos morangos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Morangos da cultivar Oso Grande oriundas do Paraná adquiridos na CEASA/PE foram selecionados por tamanho e cor desejados para o consumo. Em seguida, higienizados em solução desinfetante de hipoclorito de sódio a 50 ppm por 15 minutos, e deixados para secar naturalmente.

### **2.2 Métodos**

Aplicação da cobertura de quitosana no morango

Pesou-se 1 g de quitosana e homogeneizou-se com 100 mL de ácido acético a 1%. Essa solução foi colocada sob agitação por 24 horas e depois deixada em repouso por mais 24 horas, formando assim uma cobertura de concentração 10 mg/mL. Essa foi mantida sob refrigeração para aplicação posterior no fruto.

Os morangos foram imersos na cobertura por três minutos (figura 1). Após o tempo de contato, o fruto foi colocado em bandejas vazadas para secagem natural, em ambiente refrigerado. Após secagem, formou-se uma película aderente ao fruto e este foi pesado e armazenado sob refrigeração ( $\pm 8^{\circ}\text{C}$ ).



Figura 1 – Imersão de morangos em cobertura de quitosana

#### Tratamentos utilizados

Foi testado o comportamento dos frutos, sob temperatura de refrigeração, com quitosana e sem quitosana (controle). Para isso, foram usados frutos em triplicatas, distribuídos em pratos descartáveis. Foram retirados aleatoriamente no início do experimento e após 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento para avaliação das condições de preservação do fruto. No total foram utilizados cento e vinte frutos.

#### Análises físicas e químicas

Para as análises de pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e umidade foi obtido um extrato por meio de trituração dos morangos. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com normas preconizadas pelo Instituto Adolf Lutz (2005).

### *Perda de massa*

Trinta morangos foram colocados em bandejas separadas em proporções iguais (controle e com quitosana) para acompanhamento da diferença de peso do início do experimento até o final (figura 2). Essa análise foi obtida por meio da diferença entre as pesagens dos frutos em cada intervalo de tempo e o tempo zero, sendo o resultado expresso em porcentagem.

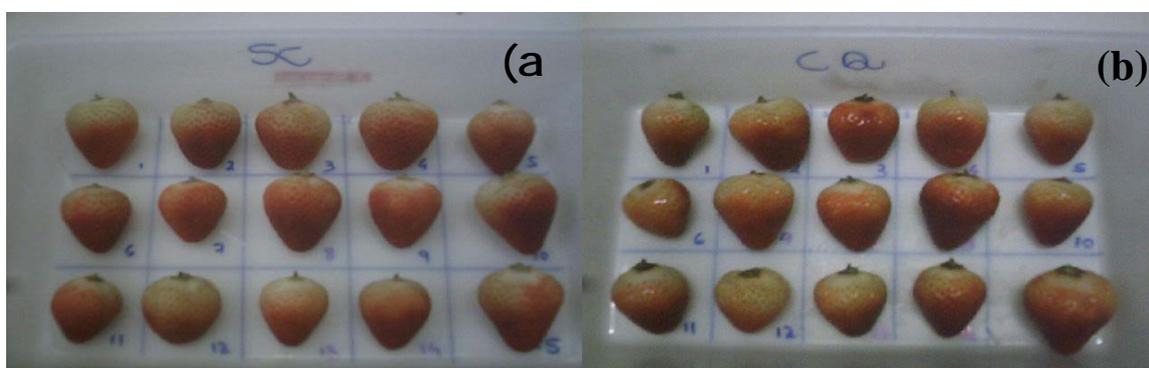


Figura 2 – Morangos controle (a) e com quitosana (b)

### *pH*

Determinado por pHmetro digital da marca MICRONAL B474.

### *Acidez total titulável (ATT)*

Determinada por titulometria com NaOH 0,1 N em titulador automático LABEMATE. Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico por 100 g<sup>-1</sup>.

### *Sólidos solúveis (SS)*

Determinados por meio da leitura em refratômetro de bancada modelo MODEII ausJENA, com os resultados expressos em °Brix.

### *Umidade*

O teor de umidade foi determinado desidratando os frutos em estufa a vácuo à 70°C até a obtenção de massa constante.

### *Análise sensorial*

As análises foram realizadas em laboratório de análise sensorial do Departamento de Nutrição. Foi solicitado ao comitê de ética uma permissão para realização dessa análise e aprovado, sob registro no SISNEP de nº 212859 (ANEXO A). Os testes foram realizados com trinta estudantes universitários e funcionários públicos de ambos os sexos e com idades entre 17 e 50 anos, instruídos para a participação. As amostras foram servidas aleatoriamente aos julgadores em pratos de plásticos, e codificadas com 3 dígitos, obtidos de uma tabela de números aleatórios. Foi fornecida água mineral para limpeza do palato entre a avaliação das amostras. Os testes foram realizados entre 9 e 11 h. Pela ordem foram realizados os seguintes testes sensoriais: teste de comparação pareada (monocaudal); teste afetivo de preferência pareada e teste de aceitabilidade utilizando uma escala hedônica com 3 categorias: 1 - Desgostei extremamente; 3 - não gostei/ nem desgostei e 5 - gostei extremamente, para os atributos Aparência, Odor, Cor, Textura e Sabor.

### *Análise Estatística*

O delineamento estatístico das análises físico-químicas dos frutos foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (controle e com quitosana) em 5 tempos de avaliação, com 3 repetições. Os dados foram submetidos à análise da ANOVA e submetidas ao Teste de Tukey e as médias comparadas pelo teste T-student 5% de probabilidade.

Os dados do teste de aceitabilidade foram avaliados pelo teste “t” de student ao nível de 5% de significância. Para verificar as relações entre os produtos obtidos e os atributos sensoriais foi realizada a Análise de Componente Principal. Utilizou-se o programa “STATISTICA FOR WINDOWS” (STATSOFT, 1997).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análises físico químicas

##### Sólidos solúveis (°Brix)

Os teores de sólidos solúveis variaram ao longo do armazenamento entre 5,27 a 9,46° Brix (Tabela 1). Foram observadas diferenças significativas durante o tempo de conservação nos tratamentos controle e com quitosana, exceto no 3° dia de armazenamento.

Os valores encontrados no presente trabalho estão próximos aos encontrados por Malgarim et al., (2006) que obtiveram 6,4 a 7,48° Brix e Scalón et al., (1996) que encontraram valores entre 7,66 a 9,57° Brix.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), os valores de sólidos solúveis aumentam durante o armazenamento devido à maturação dos frutos pela biossíntese de polissacarídeos. Podemos observar que os frutos com quitosana obtiveram valores menores durante todo período estudado, agindo assim no retardo do amadurecimento do fruto.

Tabela 1 – Variação do teor de sólidos solúveis em morangos controle e com quitosana.

Sólidos Solúveis (°Brix)												
Tratamento	Início		3 dias		6 dias		9 dias		12 dias		15 dias	
Controle	5,86 <sup>bc;A</sup>	±0,18	5,69 <sup>bc;A</sup>	±0,23	6,42 <sup>bcd;A</sup>	±0,31	7,70 <sup>b;A</sup>	±0,24	7,82 <sup>b;A</sup>	±0,25	9,46 <sup>a;A</sup>	±0,26
Com Quitosana	5,27 <sup>bcd;B</sup>	±0,37	5,77 <sup>bc;A</sup>	±0,31	6,02 <sup>bc;B</sup>	±0,20	6,53 <sup>b;B</sup>	±0,28	6,61 <sup>b;B</sup>	±0,16	7,47 <sup>a;B</sup>	±0,17

Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de probabilidade no teste de Tukey (n=9); Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de probabilidade no teste t de student. (n=9)

## pH e Acidez Total Titulável (ATT)

Houve efeito significativo da interação entre os tratamentos e o tempo de armazenamento para variável pH e acidez total titulável. Os valores de pH variaram de 3,21 a 3,72 (Tabela 2). Nos frutos controle houve um aumento acentuado do pH no 12º que pode ser explicado pela concentração de ácidos (ATT), observado na tabela 2, devido à respiração do fruto. Essa variação demonstra a aceleração do metabolismo do fruto controle e uma estabilidade nos frutos com quitosana a partir do 6º dia de armazenamento.

A acidez total titulável dos frutos mantidos com quitosana manteve-se constante até o 15º dia de armazenamento. Esses resultados estão de acordo com Moraes et al., (2008) que obtiveram valores mais alto de ATT em morangos mantidos sob atmosfera ambiente do que atmosfera controlada.

Nos estudos de Zaicovski et al., (2006) e Malgarim et al., (2004) houve diferença significativa dos resultados de ATT entre morangos tratados com e sem resveratrol. Nos morangos sem tratamento verificou-se uma maior acidez titulável como nesse presente estudo.

Tabela 2 – Variação do pH e da acidez total titulável em morangos controle e com quitosana

<b>pH</b>						
Tratamento	Início	3 dias	6 dias	9 dias	12 dias	15 dias
Controle	3,64 <sup>a:A</sup> ±0,02	3,26 <sup>b:A</sup> ±0,12	3,21 <sup>bc:A</sup> ±0,10	3,26 <sup>b:A</sup> ±0,12	3,70 <sup>a:A</sup> ±0,14	3,41 <sup>b:A</sup> ±0,11
Com Quitosana	3,72 <sup>a:B</sup> ±0,03	3,22 <sup>b:A</sup> ±0,08	3,41 <sup>bc:B</sup> ±0,14	3,43 <sup>bc:A</sup> ±0,21	3,47 <sup>bc:B</sup> ±0,07	3,56 <sup>abc:B</sup> ±0,05

<b>Acidez Total Titulável (mg ácido cítrico 100g<sup>-1</sup>)</b>						
Tratamento	Início	3 dias	6 dias	9 dias	12 dias	15 dias
Controle	0,62 <sup>bcd:A</sup> ±0,07	0,85 <sup>bc:A</sup> ±0,05	0,96 <sup>b:A</sup> ±0,16	1,06 <sup>b:A</sup> ±0,07	1,23 <sup>a:A</sup> ±0,06	0,87 <sup>bc:A</sup> ±0,07
Com Quitosana	1,58 <sup>b:B</sup> ±2,01	0,62 <sup>b:B</sup> ±0,07	0,73 <sup>ab:B</sup> ±0,05	0,76 <sup>ab:B</sup> ±0,10	0,73 <sup>ab:B</sup> ±0,10	0,84 <sup>a:A</sup> ±0,08

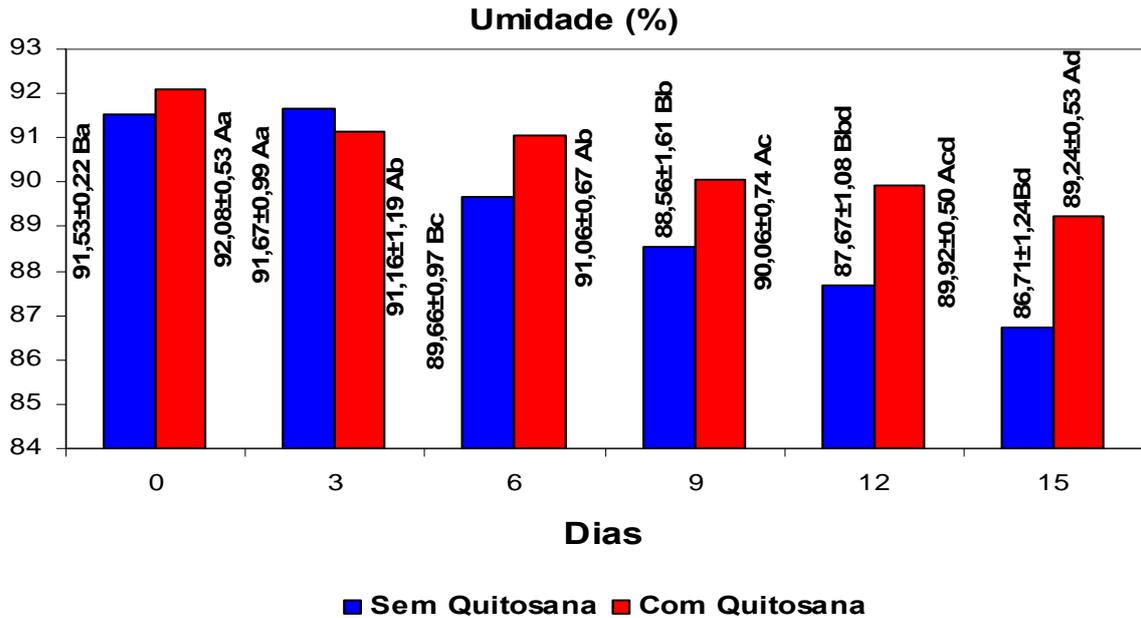
Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de probabilidade no teste de Turkey. (n=9); Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças estatísticas ao nível de 5% de probabilidade no teste T-student. (n=9)

#### Umidade e Perda de Massa

Os frutos mantidos com cobertura de quitosana apresentaram teores maiores de umidade do que os frutos controle, exceto no 3º dia de armazenamento (Figura 3).

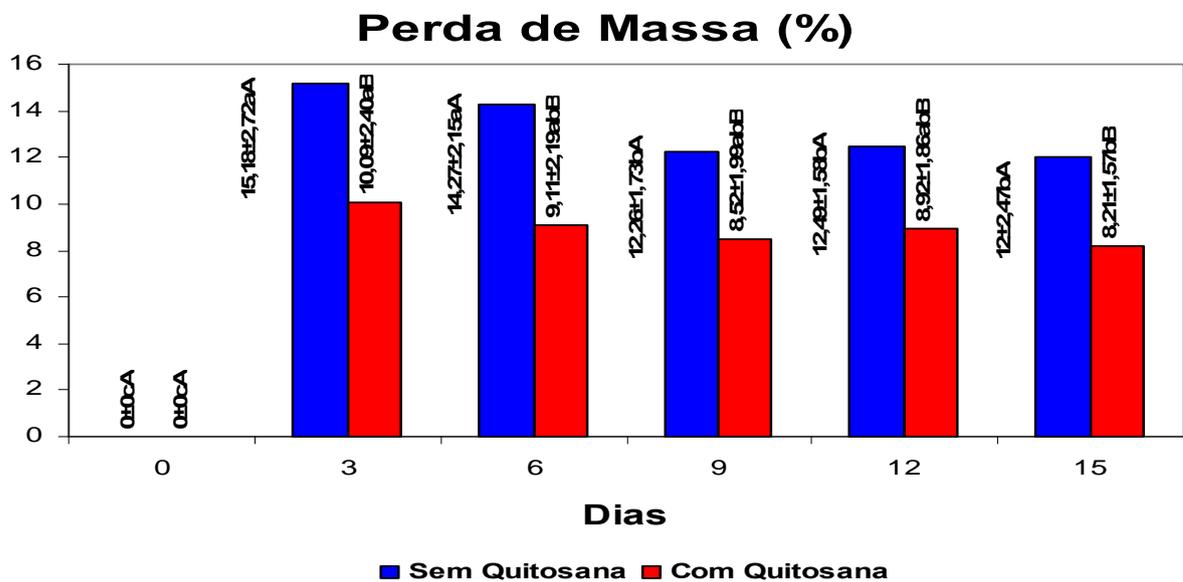
Aliado a isso, houve diferença significativamente entre os tratamentos para a variável perda de massa, e os frutos controle tiveram maior perda do que os frutos com cobertura de quitosana (Figura 4). Calegare et al., (2002) mencionaram que o morango, por não possuir uma camada protetora, que dificulte a perda de água, sofre naturalmente desidratação. Isso explica a atuação da cobertura de quitosana agindo contra esse efeito natural.

Segundo Vila (2004), a intensidade da perda de matéria fresca pelo processo transpiratório pode ter importância substancial durante o armazenamento e comercialização dos frutos, pois em alguns casos, as elevadas perdas de massa resultam no murchamento e perda de qualidade dos frutos. Desse modo, a perda de massa é um importante fator econômico na comercialização de frutos.



Letras iguais minúsculas da mesma amostra em diferentes dias não diferem significativamente ao nível de 5% pela ANOVA; letras iguais maiúsculas em diferentes amostras no mesmo dia de armazenamento não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste “t”.

Figura 3 – Teor de umidade em morangos com e sem quitosana



Letras iguais minúsculas da mesma amostra em diferentes dias não diferem significativamente ao nível de 5% pela ANOVA; e as letras iguais maiúsculas em diferentes amostras no mesmo dia de armazenamento não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste “t”.

Figura 4 - Perda de massa em morangos com e sem quitosana

### 3.2 Análise sensorial

Ao aplicar o teste de comparação pareada, dos 30 provadores, 24 deles perceberam a diferença sensorialmente entre as amostras. De acordo com Meilgaard et al. (1991) para 30 provadores são necessários 20 para detectar a diferença ( $\alpha < 0,05$ ), ou seja, o resultado foi significativo ao nível de 5% ( $24 > 20$ ). No teste afetivo de preferência obtivemos 16 provadores pelo produto B e 14 pelo A, conforme citado pelo autor acima as amostras não obtiveram diferença significativa ( $\alpha > 0,05$ ) ( $16 < 20$ ).

Na figura 8, observamos os pesos nas duas primeiras componentes principais, que representam aproximadamente 99% das informações contidas nos valores médios das 05 variáveis sensoriais. Ao analisar a primeira componente principal, que reproduz 79,11%, constata-se que o morango coberto com quitosana possui escores negativos, sendo, portanto melhor representada pelos atributos sensoriais Cor, Odor, Sabor e Textura, sendo confirmado pelas maiores e significativas ( $p < 0,05$ ) notas obtidas nestes atributos por este produto (Tabela 1). Com relação a segunda componente principal (PC2), figura 8, esta representa 20,36% das informações, o qual podemos observar que ambas as amostras de morango possuem escores positivos, ou seja, as duas amostras não tiveram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no atributo aparência, confirmado pela tabela 1.

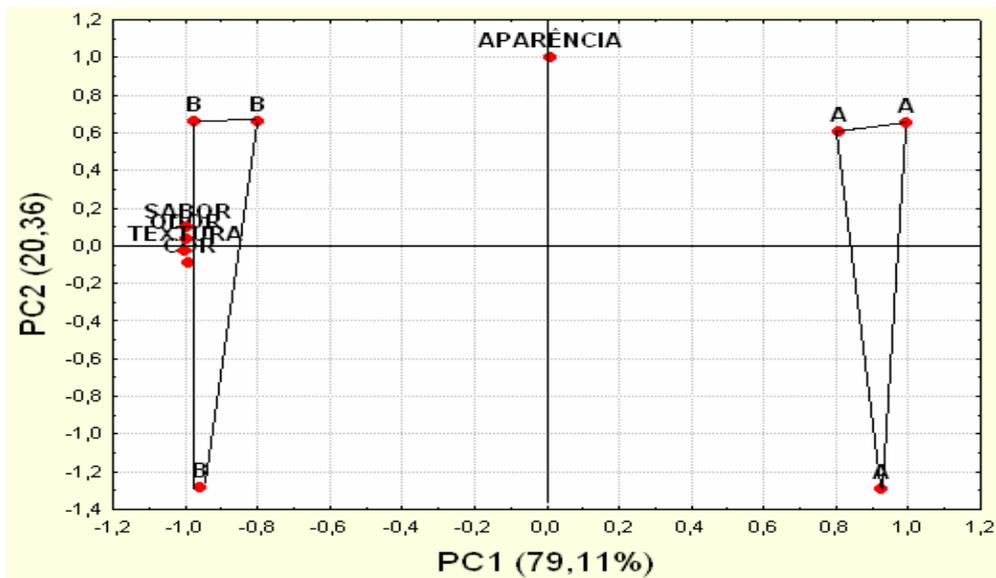


Figura 5. Projecção bidimensional de Análise de Componentes Principais dos termos descritores das amostras de Morango. A: controle (sem quitosana); B: com quitosana.

Tabela 3 - Média dos atributos sensoriais que caracterizaram as amostras

Atributos	Amostra A	Amostra B
Aparência	3,80±1,26a	3,80±1,26a
Cor	2,47±1,41b	4,07±1,03a
Odor	2,87±1,77b	4,20±1,01a
Sabor	3,13±1,19b	4,20±1,26a
Textura	3,53±1,41b	4,47±0,91a

Medias na horizontal acompanhada da mesma letra não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste “t” de student. A: morangos sem cobertura de quitosana; B: morangos cobertos com quitosana.

## CONCLUSÃO

A cobertura comestível de quitosana atuou como barreira à perda de umidade, controlou a respiração do fruto, manteve o teor de sólidos solúveis com menores valores, e a acidez total titulável e o pH constante, agindo dessa forma no retardo do amadurecimento do fruto.

Os atributos sensoriais da cobertura de quitosana apontam que essa pode ser usada para melhorar sua qualidade comercial, além de promover uma barreira protetora.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZEREDO, H. M. C. de. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **Boletim do CEPPA**. Curitiba, v. 21, n.2, 2003.
2. BINOTTI, C. S. Avaliação quantitativa do método de resfriamento rápido com ar forçado para morangos (*Fragaria x ananassa Duch.*), in natura. 2000. 96 p. **Dissertação (mestrado)**, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2000.
3. BORDERIAS A.J., SANCHEZ-ALONSO I.; PEREZ-MATEOS M. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. **Trends Food Science**, v. 16, p. 458-465, 2005.
4. CALEGARO, J.M.; PEZZI, E.; BENDER, R.J. Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.8, p.1049-1055, 2002.
5. CARMO, S.A. Conservação pós-colheita de pimentão amarelo 'Zarco HS'. 2004. 127 p. **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2004.

6. CHIEN P.J, SHEU F.; LIN H.R. Quality assessment of low molecular weight chitosan coating on sliced red pitayas, **Journal Food Engineering**, v. 79, n. 2, p. 736-742, 2007.
7. CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: **ESAL-FAEPE**, 2005. 785 p
8. IBRAF. **Estatísticas**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: <[http://www.ibraf.org.br/x-es/pdf/CEBFF\\_2004\\_2005.pdf](http://www.ibraf.org.br/x-es/pdf/CEBFF_2004_2005.pdf)>. Acesso em: 08 maio 2008.
9. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 5. ed., São Paulo: Instituto Adolf Lutz, v. 1, 2005, 1017p.
10. KADER, A. Postharvest Technology of Horticultural Crops. 3 ed. **Riverside**: UC Regents, 2002. 535 p.
11. FACHINELLO, J.C.; KLUGE, R.A.; NATCHIGAL, J.C.; BILHALVA, A. B. Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado. Pelotas: UFPel, ed Rural, 2002. 214 p.
12. MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. de. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e o oxigênio. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.18, n.1, 2000.
13. MALGARIM, M.B.; CANTILLANO, R.F.F.; FRANCHINI, E.R.. Utilização de resveratrol na conservação pós-colheita de morango. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, **Anais...** Pelotas: EMBRAPA, 2004.
14. MALGARIM, M.B; CANTILLANO, R. F. F; COUTINHO, E.F. Sistemas e condições de colheita e armazenamento na qualidade de morangos cv. Camarosa. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, n. 2, p. 185-189, 2006.

15. MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Sensory evaluation techniques. 2º ed. **Boca Raton: CRS Press**, 1991. 354 p.
16. MORAES, I.V.M; CENCI, S.A; BENEDETTI, B.C.; MAMEDE, A.M.G.N.; SOARES, A. G.; BARBOZA, H. T.G. Características físicas e químicas de morango processado minimamente e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 274-281, 2008.
17. PALMU, P. S. T.; PROENÇA, P. S. P; TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; GROSSO, C. R. F. Recobrimento de sementes de brócolos e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis. **Bragantia**, v. 64, n.2, p.291-297, 2005.
18. SCALON, S. P. Q.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; ABREU, M. S. Conservação de morangos (*Fragaria ananassa* Duch) cv. Sequóia em atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 18, n. 3, p. 431-436, 1996.
19. SILVA, A.P. Qualidade e conservação pós-colheita do morango, tratado com cloreto de cálcio em pré-colheita. 2002. 132 p. **Tese** (doutorado), Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu.
20. SOUZA, O.P.; MANCINI, C.A.; MELO, B. Cultura da goiaba. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/goiabao.html>. Acesso em: 25 dez. 2008.
21. STATSOFT. Statistic for Windows 5.1. **CD ROM**. Tulsa, StatSoft Inc. 1997.
22. VILA, M.T.R. Qualidade pós colheita de goiabas *Pedro sato* armazenadas sob refrigeração e atmosfera modificada por biofilme de fécula de mandioca. 2004. 66 p. **Dissertação**, Universidade Federal de Lavras, Lavras.
23. WILLS, R.H.H.; LEE, T.H.; GRAHAM, D.; McGLASSON, W.B.; HALL, E.G. **Postharvest**: an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. Westport, Connecticut: AVI, 1981. 161p.

24. ZAICOVSKI, C.B; TIBOLA, C.S; MALGARIM, M.B., V.C.; CAMILA PEGORARO, C.; DAL CERO, J.; SILVA, P.R. Resveratrol na qualidade pós-colheita de morangos “Camarosa”. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 12, n. 4, p. 443-446, 2006.

## ***\_\_\_\_\_CONSIDERAÇÕES FINAIS***

---

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Resíduo de *Litopenaeus vannamei* apresenta grande potencial de bioconversão para produção de quitina e quitosana.

A quitosana obtida apresenta um médio grau de desacetilação, baixo massa molar e uma boa estabilidade térmica, tais características sugerem sua aplicação nas áreas biotecnológica e industrial.

A cobertura comestível de quitosana atuou como barreira à perda de umidade, controlou a respiração do fruto, manteve o teor de sólidos solúveis com menores valores, e a acidez total titulável e o pH constante, agindo dessa forma no retardo do amadurecimento do fruto.

Os atributos sensoriais da cobertura de quitosana apontam que essa pode ser usada para melhorar sua qualidade comercial, além de promover uma barreira protetora.

## ***REFERÊNCIAS***

---

---

## 6. REFERÊNCIAS

---

1. ANTONINO, N. A. Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundo da indústria pesqueira paraibana. Dissertação, Universidade Federal da Paraíba, 2007. 88 p.
2. ASSENHAIMER, C.; RUBIO, J. **Purificação de águas contendo íons sulfato usando resíduos do processamento do camarão.** XIX Prêmio Jovem Cientista – 2003 – Água - Fonte da Vida, 2003, p. 42.
3. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 5. ed., São Paulo: Instituto Adolf Lutz, v. 1, 2005, 1017p.
4. RINAUDO, M.; DESBRIÈRES, J.; DUNG, P. LÊ.; BINH THUY, P.; DONG, N.T. NMR investigation of chitosan derivatives formed by the reaction of chitosan with levulinic acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 4, p. 339–348, 2001.
5. SANTOS, J.E., SOARES, J.P., DOCKAL, E.R., CAMPANA, S.P; CAVALHEIRO, E.T., Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.
6. SIGNINI, R; CAMPANA FILHO, S.P. Purificação e caracterização de quitosana comercial. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 4, n 4, p.63-68, 1998.
7. STATSOFT. Statistic for Windows 5.1. **CD ROM.** Tulsa, StatSoft Inc. 1997.

## ***ANEXOS***

---

## A – COMITÊ DE ÉTICA



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 292/2008 - CEP/CCS

Recife, 12 de setembro de 2008

Registro do SISNEP FR – 212859

CAAE – 0243.0.172.000-08

Registro CEP/CCS/UFPE N.º 250/08

**Título: "Produção e caracterização do biofilme de quitosana como envoltório protetor de alimentos".**

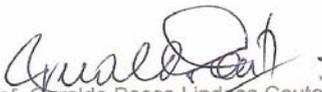
Pesquisador Responsável: Anamélia Sales de Assis

Senhor Pesquisador:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 03 de setembro de 2008.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório ao final da pesquisa (31/01/2010).

Atenciosamente

  
Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto  
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

A  
Doutoranda Anamélia Sales de Assis  
Programa de Pós-Graduação em Nutrição – CCS/UFPE

Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cid. Universitária, 50670-901, Recife - PE, Tel/fax: 81 2126 8588; cepccs@ufpe.br



IV Simposio Iberoamericano de Quitina  
6-9 de mayo de 2007, Natal, Brasil

## CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

### ACREDITAMOS QUE EL TRABAJO

“GROWTH AND PRODUCTION OF CHITIN AND CHITOSAN BY  
*Mucor circinelloides* UCP 050 USING YAM BEAN MEDIUM”

A. E. C. FAJ, A. S. ASSIS, T. C. M. STAMFORD,  
G. M. CAMPOS-TAKAKI, T. L. M. STAMFORD

Fue presentado en forma de póster en el IV Simposio Iberoamericano de Quitina

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, se expide el  
presente en Natal, Brasil, 9 de mayo de 2007

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Waldo M. Argüelles Monal'.

Waldo M. Argüelles Monal

Presidente

Sociedad Iberoamericana de Quitina



Instrumentação Agropecuária



# C – ENVIO DE TRABALHO PARA CONGRESSO INTERNACIONAL DE QUITINA

Situação da Quota: 35,03MB / 150,00MB (23,35%)

**Inbox: Euchis 2009 - Abstract acceptance (43 de 195)**

Marcar como: Mover | Copiar Retornar para Inbox

Excluir | Responder | Encaminhar | Redirecionar | Ver Discussão | Lista de Recusados | Lista de Aceitos | Código Fonte da Mensagem | Salvar como | Imprimir

**Data:** Sat, 7 Mar 2009 17:25:00 +0100 [07-03-2009 13:25:00 BRT]  
**De:** Euchis 2009 Secretary <euchis2009@alisf1.univpm.it>  
**Para:** "Dr. Newton STAMFORD" <newtonps@depa.ufrpe.br>  
**Reply-To:** Euchis 2009 Secretary <euchis2009@alisf1.univpm.it>  
**Assunto:** Euchis 2009 - Abstract acceptance  
**Cabeçalhos:** Exibir Todos os Cabeçalhos

Dear Dra. Tânia Lucia Montenegro STAMFORD,

I am honored to inform you that the abstract "PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF CHITOSAN FROM SHRIMP *Litopenaeus vannamei*" submitted by you to the forthcoming Euchis 2009 - 9th International Conference of the European Chitin Society, San Servolo island, Venice, Italy, May 22-26, 2009, has been accepted for Poster presentation [Topic: Physico-chemical].

Please remember to provide us with the full manuscript by April 27, 2009.  
Instructions for the authors are available under the Euchis 2009 Conference web portal (<http://alisf1.univpm.it/euchis2009/full.php>).  
The length of the manuscript to be delivered is fixed in 6 pages.  
For any questions, please feel free to contact me anytime.

Arrivederci in Venice,  
Flavio Carsughi  
Euchis 2009 Secretary

Excluir | Responder | Encaminhar | Redirecionar | Ver Discussão | Lista de Recusados | Lista de Aceitos | Código Fonte da Mensagem | Salvar como | Imprimir

Marcar como: Mover | Copiar