



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**

GLENDÁ SANTOS DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE QUITOSANA
ADICIONADOS DE RETICULANTES IÔNICOS**

FORTEZA

2017

GLENDÁ SANTOS DE OLIVEIRA

**SÍNTSESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE QUITOSANA
ADICIONADOS DE RETICULANTES IÔNICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química

Orientadora: Profa. Dra. Nágila Maria PontesSilva Ricardo

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O47s Oliveira, Glenda.
Síntese e caracterização de filmes à base de quitosana adicionados de reticulantes iônicos / Glenda Oliveira. –
2017.
42 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Química, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.
Coorientação: Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.

1. Quitosana . 2. Reticulação. 3. TPP. 4. EDTA. I. Título.

CDD 540

GLENDÁ SANTOS DE OLIVEIRA

**SÍNTSE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE QUITOSANA
ADICIONADOS DE RETICULANTES IÔNICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química

Orientadora: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo

Aprovada em: ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Embrapa Agroindústria Tropical

Dra. Arcelina Pacheco Cunha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

“Sacrifice doesn't always mean giving up something. Sometimes it means giving something back to make a difference.“

Yue

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra Nágila M. P. S. Ricardo pela orientação. Aos outros participantes da banca examinadora: Profa. Dra. Henriette Azeredo e A Dra. Arcelina Pacheco pelo tempo, pelas colaborações e sugestões.

A todos os colegas de trabalho da EMBRAPA, em especial Michael, Lilian e Celso e aos colegas do LABPIM e do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica.

Agradecimento mais que especial aos familiares mais próximos, meus irmãos, pai, tias e avô. Não há palavras o suficiente para agradecer à minha mãe, pois sem ela nada nesse (*meu*) mundo seria possível. Mesmo longe a sua presença, motivação, exemplo de força e perseverança estão/estarão sempre por perto.

Aos verdadeiros amigos, pelo suporte, tempo e colaborações valiosas que foram, além de importantes, essenciais pra a realização deste trabalho. De forma mais embasada em minha vida se encontram os amigos mais que especiais (Victor Cunha e Marcos Vinícius), que estiveram quase diariamente em praticamente toda a minha vida acadêmica e pessoal desde 2012, compartilhando tudo que há nessa vida que nos faz vivos: angústias, alegrias, derrotas e principalmente as vitórias.

Ao Victor por, além de um grande amigo, ser para mim companheiro para a vida inteira e um suporte para todos os momentos. Sou grata por toda a sua compreensão, confiança sempre no melhor que a vida pode oferecer mesmo em momentos difíceis, amabilidade em algum lugar perdido em seu interior. Especialmente sou grata pela paciência e positividade inexplicáveis que iluminam minha vida e tentam mostrar que o mais complicado da vida é perceber o quanto simples ela pode ser.

Aos todos os colegas de curso, alguns são passageiros, outros ficam para sempre, mas o aprendizado que se ganha em cada experiência fica para sempre e fazem parte do que somos e de onde chegamos.

Aos professores maravilhosos que me ensinaram não somente químicas lições sobre a vida.

Por último, mas não menos importante, gostaria de ser grata à Cristine, por todos os dias nesses últimos meses em que compartilhamos *every single day*: trabalho árduo, estudo, leve desespero, stress, compreensão, cumplicidade, aceitação das diferenças, momentos de descontração, felicidade por cada pequena vitória, (MUITA) paciência e, ao fim, compartilhamos também juntas o nosso sucesso. Sem ela esse trabalho teria sido (talvez) não impossível, mas algo bem próximo disso.

RESUMO

A quitosana é um polissacarídeo bastante abundante derivado da N-desacetilação da quitina, muitas vezes considerado resíduo pela indústria pesqueira. Esse polímero é bastante visado pela sua versatilidade de aplicações como na indústria biomédica, farmacêutica, cosmética e de alimentos.

Sua diversa aplicabilidade é resultado de seus grupamentos reativos (-OH, -CHONH₂ e -NH₂) favorecendo interações e reações com diversos outros compostos e materiais. Apresenta propriedades físico-químicas variadas, tais como: biocompatibilidade, atoxicidade e biodegradabilidade.

Entretanto, a quitosana apresenta baixa solubilidade em soluções aquosas sem a adição de ácidos diluídos. O desenvolvimento desse trabalho visa modificar quitosana comercial a fim de aumentar sua hidrofilicidade, tornando desnecessária a utilização de ácidos diluídos em sua dissolução. Na indústria alimentícia é crescente a preocupação com o meio ambiente utilizando-se cada vez mais de embalagens biodegradáveis e processos mais brandos que tentem minimizar a produção de resíduos. A importância do trabalho se dá pelo desenvolvimento de meios para empregar o biopolímero obtido de uma biomassa residual para a síntese de filmes para embalagens alimentícias. Tendo em vista que a quitosana pode ter seu grupamento amino facilmente protonado, percebe-se que a interação com reticulantes carregados negativamente é favorecida.

Os filmes obtidos foram adicionados de ácido etilenodiaminotráctico (EDTA) e o tripolifosfato de sódio (TPP) como reticulantes. Os filmes obtidos nesse trabalho foram caracterizados e tiveram suas propriedades estudadas, tais como permeação a vapor de água, elongação, módulo de Young e resistência à tração.

Através de FTIR foi possível avaliar interações do agente reticulante ao filme. A reticulação com EDTA e TPP apresentou modificações em suas propriedades havendo decréscimo da permeação ao vapor de água, elongação e aumento do módulo de Young.

Palavras-chave: Quitosana. Reticulação. TPP. EDTA

ABSTRACT

Chitosan is a fairly abundant polysaccharide derived from the N-deacetylation of chitin, often considered a waste from the fishing industry. This polymer is highly targeted for its versatility of applications as in the biomedical, pharmaceutical, cosmetic and food industry.

Their diverse applicability is result of their reactive groups (-OH, -CHONH₂ e -NH₂) favoring interactions and reactions with various other compounds and materials. It presents diverse physical-chemical properties, such as: biocompatibility, atoxicity and biodegradability.

However, chitosan presents low solubility in aqueous solutions with no added dilute acids. The development of the work aims to modify commercial chitosan in order to increase its hydrophilicity, making unnecessary the use of diluted acids in its dissolution. In the food industry is growing the concern about the environment, using more and more biodegradable packaging and milder processes that try to minimize residues. The importance of this work is the development of means to use a polymer obtained from residual biomass in the synthesis of films for food packaging, increasing its hydrophilicity and, consequently, eliminating the need to use diluted acids in its dissolution.

The films obtained were added with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and sodium tripolyphosphate (TPP) as crosslinkers. The films obtained in the work were characterized and had their properties studied, such as water vapor permeation and mechanical tests, such as elongation, Young's modulus and tensile strength. Through FTIR it was possible to study interactions of the crosslinking agent to the film matrix. The crosslinking with EDTA and TPP showed modifications in their properties, such as decreasing water vapor permeation, elongation and increase of Young's modulus.

Chitosan is easily protonated in its amine group which facilitates interaction with negatively charged crosslinkers. The films obtained may have their properties improved with the use of crosslinking agents and those adopted for the development of this work were ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and sodium tripolyphosphate (TPP). After obtaining the crosslinked films their properties were analyzed by water vapor permeation, elongation, Young's module and tensile strength.

Keywords: Chitosan. Crosslinking. TPP. EDTA

SUMÁRIO

1.	<i>INTRODUÇÃO</i>	11
2.	OBJETIVOS	13
3.	<i>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</i>	14
3.1	Quitosana	14
3.2	Filmes e reticulação	18
4.	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	22
4.1	Purificação e caracterização da quitosana	22
4.1.1	Ressonância Magnética Nuclear 1H e ^{13}C	22
4.1.2	Termogravimetria	22
4.1.3	Viscosidade intrínseca	23
4.1.4	Espectroscopia de infravermelho (FTIR)	23
4.2	Síntese dos filmes não reticulados	23
4.3	Preparo dos filmes reticulados por gotejamento	24
4.4	Caracterização físico- química dos filmes com e sem reticulação	25
4.4.1	Espessuras dos Filmes	25
4.4.2	Permeabilidade a vapor de água (PVA)	25
4.4.3	Análises mecânicas	25
4.4.4	Espectroscopia de infravermelho (FTIR)	26
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	Purificação e caracterização da quitosana	27
5.1.1	Espectroscopia de infravermelho (FTIR)	28
5.1.2	Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN 1H)	30
5.1.3	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (^{13}C)	31
5.1.4	Termogravimetria	32
5.1.5	Viscosimetria	33
5.2	Caracterização dos filmes CS com e sem reticulantes	33

<i>5.2.1 Espessuras dos Filmes</i>	33
<i>5.2.2 Espectroscopia de infravermelho (FTIR).....</i>	34
<i>5.2.3 Permeabilidade a vapor de água (PVA)</i>	37
<i>5.2.4 Resistência à tração.....</i>	38
<i>5.2.3 Módulo de Young.....</i>	39
<i>5.2.4 Elongação.....</i>	40
5.3 Preparo dos filmes CSM com e sem reticulantes	40
6.CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

A quitosana é um polissacarídeo obtido pela N-desacetilação da quitina, um dos polímeros naturais mais abundantes da natureza, sendo encontrado principalmente no exoesqueleto de crustáceos. (BEZERRA, 2011) A quitosana apresenta uma vasta gama de aplicabilidades estando presente nos campos farmacêutico (BANSAL et al., 2011), biomédico (DOUNIGHI 2012), cosmético e alimentício (BRITO, 2013).

A presença de nitrogênio na estrutura da quitosana sob forma de grupamento amino justifica algumas de suas utilidade como agente quelante de íons metálicos e para a formação de filmes (BEZERRA, 2011) (THEVARAJAH et al., 2017). Esse biopolímero possui diversas propriedades físico-químicas tais como atoxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de ser facilmente obtida por processo de baixo custo (BEZERRA, 2011) (THEVARAJAH et al., 2017) (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

A indústria farmacêutica visa cada vez mais o desenvolvimento de novas embalagens biodegradáveis (VELICKOVA et al., 2015), percebendo a importância da preservação ambiental. A utilização de filmes à base de quitosana, além de reutilizar uma biomassa considerada residual, pode ser uma boa solução para a substituição de filmes plásticos e não facilmente degradáveis. Entretanto há algumas dificuldades acerca da síntese dos filmes citados, dentre elas a baixa solubilidade da quitosana em soluções aquosas. Sua dissolução é realizada com a adição de ácidos diluídos (SIGNINI; CAMPANA, 2001), o que não é muito interessante para a produção de filmes com fins de embalar alimentos. Esse trabalho visa modificações da quitosana a fim de aumentar a sua hidrofilicidade, eliminando a necessidade de adição de ácidos mesmo que diluídos no processo de formação dos filmes. A presença de uma alta porcentagem de grupos amino reativos distribuídos na matriz polimérica permite inúmeras interações químicas, tais como agentes quelantes, carboxilação, acilação, sulfonação, amidação e formação de complexo polieletrolítico. A protonação desse grupamento amino permite a interação favorável da quitosana com compostos carregados negativamente ou que possuem pares de elétrons disponíveis (bases) (GIERSZEWSKA; OSTROWSKA-CZUBENKO, 2016), podendo esses compostos serem utilizados com agentes reticulantes na formulação de filmes, potencializando algumas de suas propriedades, tais como permeação ao vapor de água, elongação, resistência à tração e rigidez.

Posteriormente à síntese dos filmes à base de quitosana comercial e de quitosana modificada, suas propriedades podem ser melhoradas pela adição de os

agentes reticulantes, como o ácido etilenodiaminotetrácetico (EDTA) (SINGH et al., 2012) e o tripolifosfato de sódio (TPP) (GIERSZEWSKA; OSTROWSKA-CZUBENKO, 2016), (SHU; ZHU, 2002),

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

- Estudar a influência de reticulantes iônicos (tripolifosfato de sódio e ácido etilenodiaminotetracético) sobre as propriedades de filmes de quitosana comercial e cloridrato de quitosana.

Objetivos específicos

- Verificar grau de acetilação (GA) da quitosana comercial (CS) por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H)
- Caracterizar por Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)
- Determinar a massa molar da quitosana comercial por viscosimetria
- Modificar a quitosana em cloridrato de quitosana (CSM)
- Sintetizar filmes com matrizes de quitosana comercial e com cloridrato de quitosana com e sem reticulantes tripolifosfato de sódio (TPP) e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)
- Caracterizar os filmes obtidos com foco nas suas propriedades mecânicas e permeabilidade a vapor de água.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Quitosana

Estuda-se cada vez mais sobre polímeros naturais e biodegradáveis, tendo em vista que estes podem ser utilizados nas mais diversas áreas (Figura 1), dentre elas: cosméticos, biomédica (BERGER et al., 2004), farmacêutica (BANSAL et al., 2011), (JAYAKUMAR et al., 2010) e alimentícia (CHEN et al., 2016) (AZEREDO; DE BRITTO; ASSIS, 2010). Além da abundância natural, estes polímeros podem ser vantajosos quando se trata da fácil obtenção, biocompatibilidade, especialmente renovabilidade e biodegradabilidade (AZEVEDO et al., 2007).

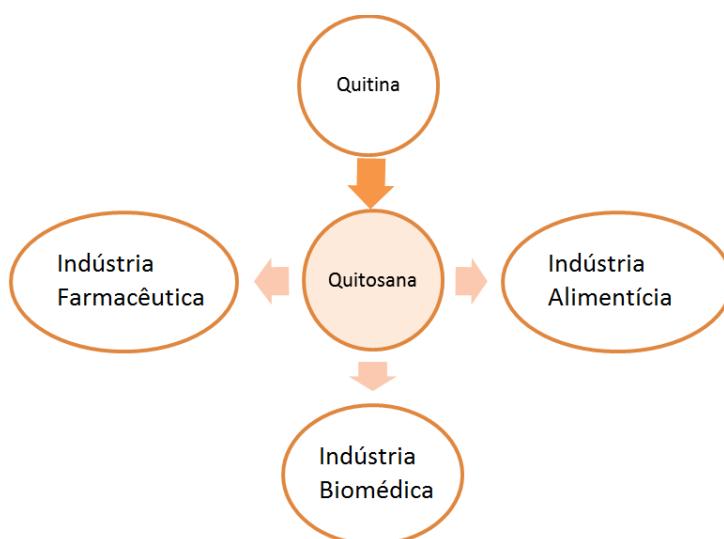
A quitosana é uma matéria-prima de baixo custo derivado da N-desacetilação da quitina, sendo proveniente principalmente do exoesqueleto de crustáceos e da parede celular de fungos (Tabela 1), na maioria das vezes, considerado resíduos pela indústria pesqueira. (AZEVEDO et al., 2007).

Tabela 1: Quantidade aproximada de quitina em cada espécie

<i>Espécie</i>	<i>% de Quitina</i>
Fungos	5-20 %
Camarão	22 %
Escorpiões	30 %
Baratas	35 %
Aranhas	38 %
Bicho da seda	44 %
Caranguejo	70 %

Fonte: (BEZERRA, 2011)

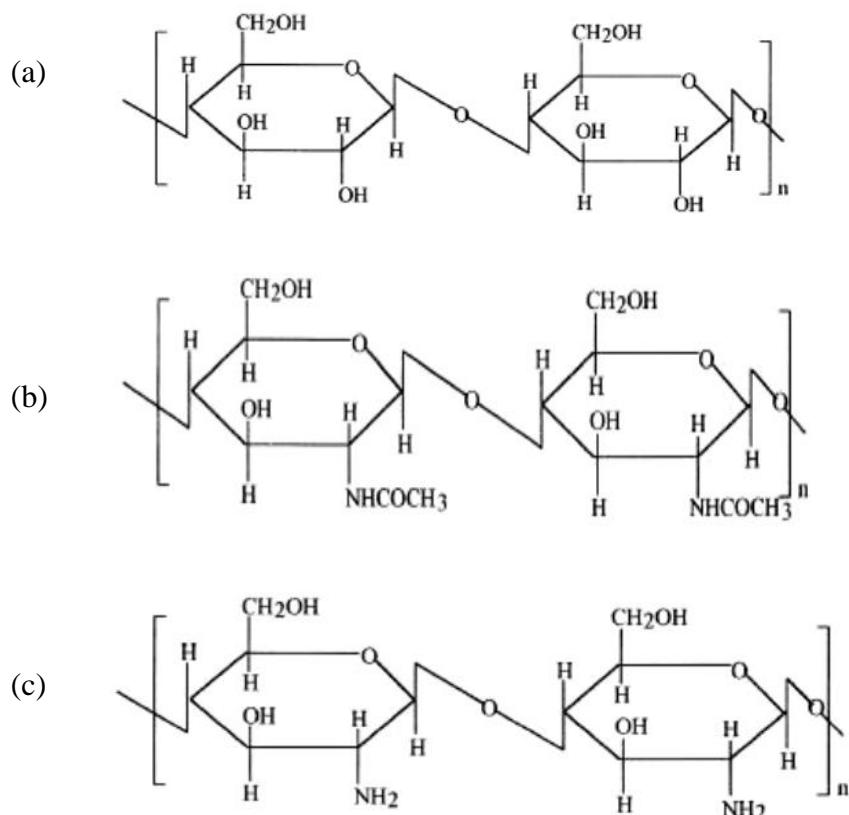
Figura 1 - Algumas aplicações da quitosana.



Fonte: Autora

A quitina e derivados são classificados como alguns dos mais abundantes polímeros naturais, seguidas apenas pela celulose (AZEVEDO et al., 2007). Pode-se observar a semelhança entre esses três biopolímeros (Figura 2).

Figura 2 - (a) Estrutura da celulose (b) Estrutura quitina (c) Estrutura quitosana



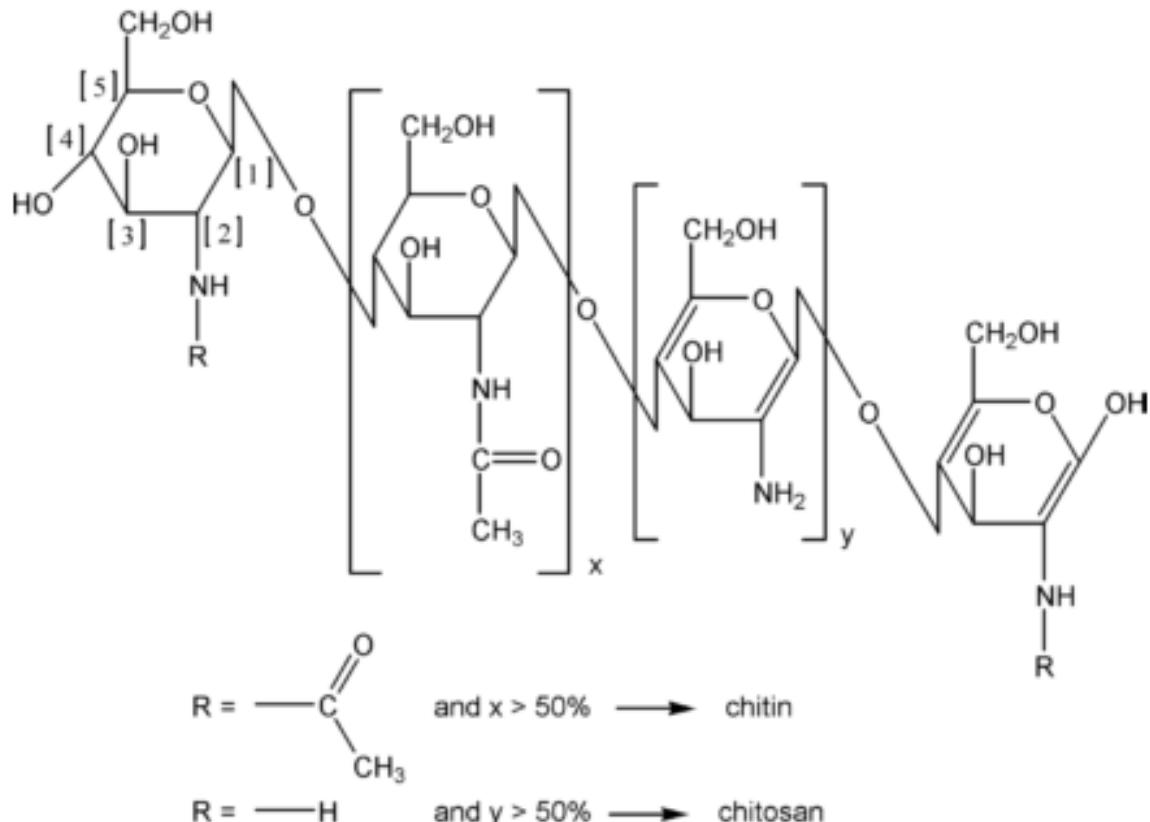
Fonte: Azevedo et al., 2007

Observa-se a semelhança das estruturas, diferindo-se pela substituição dos grupos funcionais ligados diretamente ao carbono β (C_2) do anel glicosídico. Na celulose este carbono está diretamente ligado a uma hidroxila, na quitina a um grupamento amida enquanto que na quitosana em um grupamento amino.

Quitosana, derivada da N-desacetilação do grupamento amida ligado ao C_2 do anel glicosídico resulta em uma estrutura polimérica distribuída em partes randomicamente acetiladas e desacetiladas. Existem diversas formas de se determinar o grau de acetilação ou desacetilação da quitosana. Dentre elas, está a técnica de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN 1H), pela relação entre as áreas dos picos do hidrogênio ligado ao carbono β de quitosana e do hidrogênio no grupamento metila diretamente ligado à carbonila da função amida. Essa determinação indica o quão efetiva foi a modificação do polissacarídeo de quitina para quitosana. É possível observar (Figura 3) a representação do polissacarídeo

indicando quando o mesmo encontra-se na forma de quitina e quitosana de acordo com seu grau de desacetilação.

Figura 3 - Representação da cadeia polimérica e grupamentos característicos de quitina e quitosana.



Fonte: (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009)

A massa molecular da quitosana pode ser determinada através de viscosimetria e permite classificá-la como sendo de alta, média e baixa massa molar. A massa molar média da quitina encontrada na natureza é geralmente maior do que 10^6 g/mol, enquanto a quitosana comercial tem uma massa molar na faixa de $1,0 \times 10^5 - 1,2 \times 10^6$ g/mol (FÁVERE, 2009).

Tendo em vista as principais características estruturais acerca da quitosana, pode-se observar algumas outras propriedades desse biopolímero.

Esse polissacarídeo é uma molécula bastante funcional, possuindo importantes propriedades farmacológicas biológicas, tais como: cicatrizante, antimicrobiana e antitumoral e anticoagulante, antifúngica e liberação controlada de fármacos (JAYAKUMAR et al., 2010) (AZEVEDO et al., 2007).

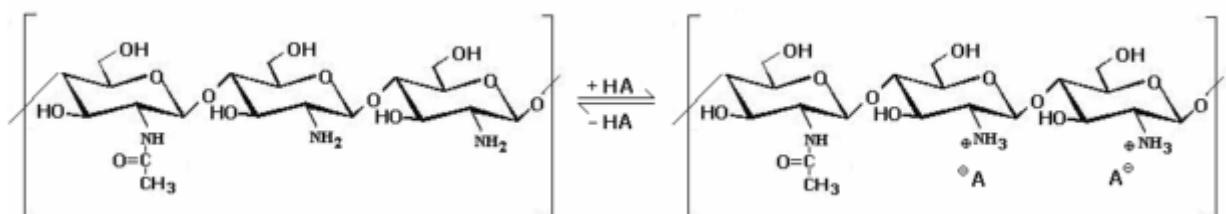
A quitosana é um polissacarídeo de cadeia linear praticamente insolúvel em água. Entretanto, apresenta certa solubilidade em soluções ácidas diluídas, como ácido clorídrico

(HCl) ou ácido acético (CH_3COOH) (Figura 4a) (AZEVEDO et al., 2007), (SIGNINI; CAMPANA, 2001), (SIGNINI; CAMPANA FILHO, 1998). Modificações que visam introduzir grupamentos carregados negativamente aumentam a sua solubilidade em água, o que é de grande interesse industrial, especialmente para a indústria alimentícia, pois torna possível, dessa forma, explorar suas propriedades de polieletrolitos derivados de polissacarídeos (SIGNINI; CAMPANA, 2001)

Modificações na quitosana são favorecidas em seus grupamentos reativos: hidroxila, amino e amida (Figura 5).

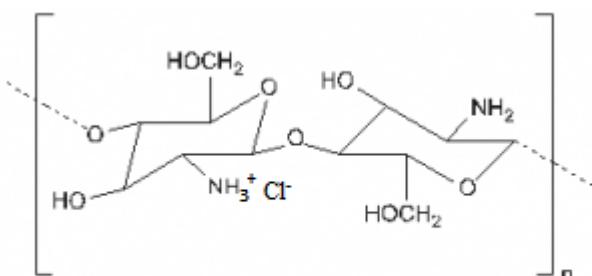
Figura 4:

a) Protonação dos Grupos Aminas em Meio Ácido



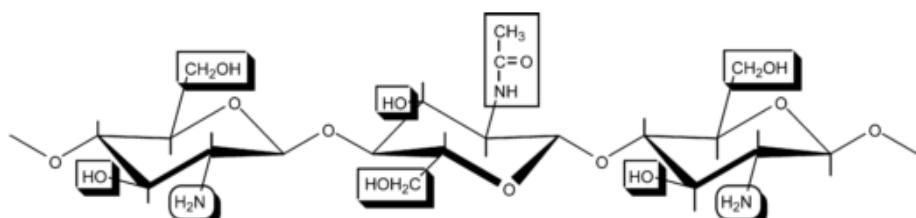
Fonte: (ZANIN et al., 2015)

b) Cloridrato de quitosana



Fonte: Autora

Figura 5 Grupamentos reativos favoráveis à modificações.



Fonte: (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009)

A dissolução de quitosana em ácidos resulta na formação de sais, produto da reação entre o ácido em questão e a quitosana, que possui em sua estrutura pares de elétrons

disponíveis, agindo como base. No caso da diluição com ácido acético e em ácido clorídrico, há, através da protonação do grupamento amino, a formação de acetato e cloridrato de quitosana (Figura 4b), respectivamente.

3.2 Filmes e reticulação

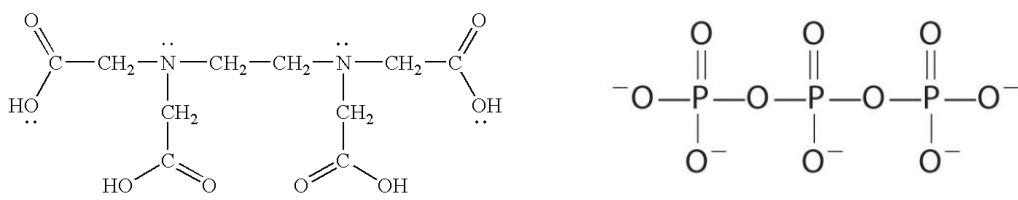
A indústria alimentícia explora cada vez mais o desenvolvimento de materiais inovadores e provenientes de fontes naturais, uma forma muito comum da aplicação desse tipo de material é em forma de filmes (BRITO, 2013). Esses compostos podem ser aplicados na formação de embalagens de acordo com a seu comportamento ao interagir com o produto e o ambiente. Filmes poliméricos são materiais renováveis, geralmente biodegradáveis, constituídos praticamente por polímeros naturais. Na conservação de alimentos se faz necessário a utilização de embalagens não somente flexíveis, mas com certa resistência mecânica, capazes de resistir ou limitar transferência de gases e vapor de água entre o alimento embalado e o meio ambiente em que este possivelmente será armazenado (BRITO, 2013).

Contudo, a formação de filmes poliméricos envolve forças coesivas que podem resultar em filmes muito quebradiços e com propriedades mecânicas não desejáveis, tais como flexibilidade e resistência à tração. No entanto, estas limitações podem ser superadas através da adição de agentes plastificante e reticulantes à formulação do filmes. Evitando quebra e enrugamento do filme durante o manuseio e armazenamento, o que poderia prejudicar suas propriedades de barreira (BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009)

Esses compostos irão interagir com o polímero, alterando a sua disposição tridimensional, modificando suas propriedades, tais como , solubilidade, estabilidade, e rigidez (BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009).

A quitosana apresenta pKa aproximadamente 6,3; sendo favorecida a formação dos filmes em solução ácida, quando a quitosana se apresenta na forma protonada, favorecendo a reação com reticulantes iônicos, especialmente os carregados negativamente, como EDTA e TPP (Figura 6) (BHUMKAR; POKHARKAR, 2006).

Figura 6 - Estrutura química EDTA (esquerda) e TPP (direita)



Fonte: -www.google.com/patents/US7678367 acesso: 05.07.17 (EDTA)

-www.text_general-chemistry-principles-patterns-and-applications-v1.0/s21-solubility-and-complexation.com Acesso 05.07.17 (TPP)

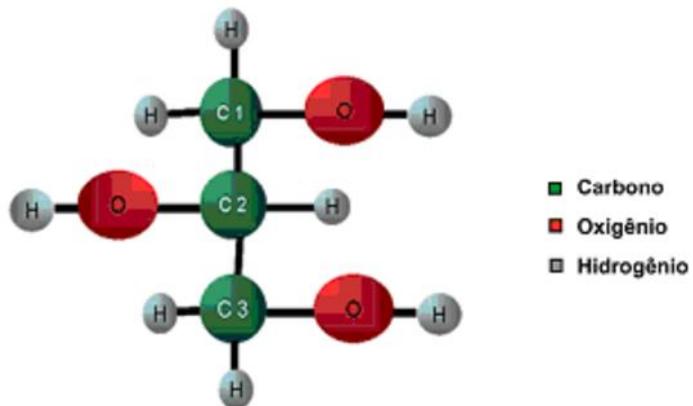
Dependendo do tipo do agente reticulante utilizado, a interação com a malha polimérica da quitosana pode ser realizada através de ligações covalentes ou iônicas. A reticulação covalente se dá pela formação de ligações covalentes estáveis entre o agente de reticulação e as cadeias do polímero, a interação se dá de tal forma que não é possível a reversão (JÓŽWIAK et al., 2017). Alguns agentes de reticulação covalentes bastante reportados na literatura são: Gluraldaído (JÓŽWIAK et al., 2017), (BEPPU et al., 2007), dialdeído de amido (MIKHAILOV et al., 2016) (MENDES et al., 2011) e ácido tântico (RUBENTHEREN et al., 2015) (RIVERO; GARCÍA; PINOTTI, 2010).

A reticulação iônica resulta na formação de interação eletrostática entre as cadeias de quitosana e o agente de reticulação (JÓŽWIAK et al., 2017), sendo um processo reversível.

Outra dificuldade encontrada para a produção de filmes à base de polímeros naturais é a fragilidade do filme resultante, podendo gerar dificuldades no processo de produção de embalagens (SHIMAZU; MALI; VICTÓRIA, 2007). Uma das formas de reduzir a fragilidade é a adição de plastificantes na síntese de filmes (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993).

É de suma importância a compatibilidade entre o plastificante e o filme a ser sintetizado, para que a interação seja efetiva (SHIMAZU; MALI; VICTÓRIA, 2007). Sendo o glicerol um poliol, mais especificamente um triol (Figura 7). O reticulante age de forma a diminuir as forças intermoleculares existentes na estrutura polimérica da quitosana, aumentando a mobilidade das cadeias, melhorando a flexibilidade e o alongamento do filme. Por outro lado, plastificantes geralmente tendem a aumentar a permeabilidade à gases, à solutos e ao vapor de água dos filmes o que pode ser contornado pela adição de reticulantes (BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009).

Figura 7: Estrutura molecular do glicerol



Fonte:

www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1mqgo602wyiv802hvm3j818huet.html acesso: 07.07.17

Sabe-se que a quitosana é razoavelmente sensível à variação de pH do meio em que se encontra, sendo instável a valores de pH muito baixos ($\text{pH} < 4$). Segundo JÓZWIAK e colaboradores (2017), 4 é um pH ideal para se utilizar em soluções de quitosana.

O processo de formação dos filmes nesse trabalho é realizado por *casting* (disposição em uma superfície seguida pela evaporação do solvente). A solução filmogênica consiste de quitosana (comercial ou modificada), glicerol (agindo como plastificante), solvente, que consiste em solução diluída de ácido acético e água destilada para CS e CSM respectivamente e, por fim, TPP e EDTA (separadamente) como agentes de reticulação.

Após o processo de obtenção dos filmes se faz necessário a avaliação de suas propriedades mecânicas. É preciso que os filmes sejam resistentes de forma a proteger a integridade sem que ocorram danos ao alimento durante o manuseio, transporte e armazenamento (BRITO, 2013).

A embalagem deve limitar a transferência de vapores entre o ambiente e o alimento, resistindo à evaporação ou absorção de gases, e à permeação de lipídeos (BRITO, 2013). É possível que haja o revestimento do filme com componentes hidrofóbicos, como alcanos e ceras, a fim de diminuir mais ainda a permeação ao vapor de água (VELICKOVA et al., 2015).

Análises mecânicas podem ser realizadas, tais como: elongação na ruptura, módulo de elasticidade, também conhecido como módulo de Young e resistência à tração.

A flexibilidade a capacidade de estiramento do filme é determinada pela elongação

na ruptura e é expressa em porcentagem da mudança do comprimento original da amostra.

O módulo de elasticidade, também conhecido como módulo de Young é um indicador da rigidez do filme, sendo que quanto maior o seu valor, mais rígido o material será. Para sua determinação deve-se traçar uma tangente a curva tensão de tração versus a deformação do material, na região linear inicial da mesma, na qual se escolhe qualquer ponto sobre a tangente nesta região linear e calcula-se a razão entre a elongação e a tensão correspondente (BRITO, 2013).

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Purificação e caracterização da quitosana

Foram dissolvidas 2,0 g de quitosana em 100 mL de ácido acético diluído (1%) e a dispersão foi mantida por agitação permanente por aproximadamente 24 h (SIGNINI et al., 1998). No processo de purificação foi utilizado um total de 120g de CS. Após agitação constante, foi realizada filtração a vácuo a fim de eliminar possíveis impurezas ou excesso do polissacarídeo não dissolvido. Em seguida realizou-se diálise em membrana de celulose 76 mm (Sigma-Aldrich Ltda.), em solução salina de NaCl 0,2 mol L⁻¹ com 3 trocas da solução a cada 12 h, seguido de 3 lavagens a cada 12 h com água destilada (SIGNINI et al., 1998) tendo o controle da retirada do excesso de sal feita por com condutivímetro da TECNOPON, modelo MCA-150.

Após 72 h de diálise, a quitosana na forma salina (CSM) foi liofilizada e devidamente armazenada, evitando absorção de umidade do próprio ambiente, visto que o produto final tem grande afinidade pela água.

4.1.1 Ressonância Magnética Nuclear ¹H e ¹³C

Os espectros foram obtidos no equipamento Agilent DD2 de 600MHz (para núcleo de ¹H), equipado com sonda One Probe de 5 mm de diâmetro (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”. Aproximadamente 10 mg de CS foram solubilizadas em solução DCl /D₂O 1% (v/v), sob agitação por 24 h. Alíquotas dessa solução foram analisadas a 70 °C seguindo o procedimento realizado por Campana Filho (2001). A quitosana utilizada no trabalho foi obtida pela Polymar Ltda. Determinou-se o grau de acetilação e desacetilação da mesma por ressonância magnética nuclear de próton (RMN ¹H) seguindo o mesmo procedimento de Roberta Signini (SIGNINI et al., 1998). Aproximadamente 10 mg de CS foram solubilizados em 1 mL de solução HCl/D₂O 1% (v/v), sob agitação por 24 h. Alíquotas dessa solução foram analisadas a 70 °C.

4.1.2 Termogravimetria

Pelas curvas termogravimétricas é possível analisar a perda de massa das amostras (aproximadamente 10 mg) de acordo com o aumento da temperatura. As análises foram realizadas em gás nitrogênio (fluxo 20 mL/min), com taxa de aquecimento 10 °C /min e no intervalo 20 °C < T < 700 °C no equipamento Perkin Elmer STA6000.

4.1.3 Viscosidade intrínseca

É possível calcular a massa molar da quitosana (CS) por viscosimetria. Utilizou-se para a análise viscosímetro SCOTT CT 52 sob banho termostático a $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1\ ^{\circ}\text{C}$, capilar Cannon Fenske ($\phi = 1.26\ \text{mm}$) e uma solução tampão de ácido acético e acetato de sódio ($\text{pH} \sim 4.5$). A viscosidade intrínseca foi obtida utilizando-se da equação de Mark-Houwink-Sakurada

$$\text{Equação 1: } [\eta] = K M v^a$$

Onde K e a são constantes específicas dos solventes utilizados, e foram adotados valores propostos por Rinaudo (1993) e $K = 0,082$ e $a = 0,76$.

4.1.4 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Equipamento espectrofotométrico de marca VERTEX 70 utilizando acessório Golden Gate Single Reflection Diamond ATR System na região entre $500\text{-}4000\ \text{cm}^{-1}$ e resolução de $4\ \text{cm}^{-1}$.

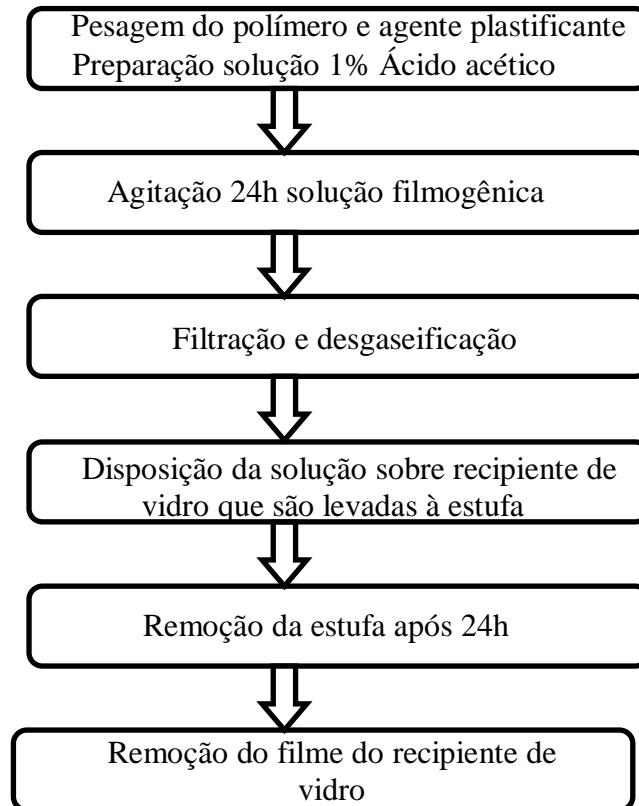
4.2 Síntese dos filmes não reticulados

A solução filmogênica foi preparada utilizando 3% (m/m) Quitosana (CS ou CSM), 30 % (m/m) glicerol, 3 % (v/v) ácido acético para o filme tendo como matriz a quitosana comercial e 1 % (m/m) Tween 80.

A solução filmogênica (pH ácido entre 4-5) foi mantida por agitação a $40\ ^{\circ}\text{C}$ por 1 h. Foi preparada a partir da dissolução de quitosana em ácido acético (250 mL de solução), com proporção quitosana/ácido acético 1:1. Adicionou-se glicerol (30% em relação à massa de quitosana e 0,9% com relação à solução) como plastificante e Tween 80 como agente surfactante.

Para os filmes de CSM, executou-se o mesmo procedimento, tendo, contudo, o solvente sendo água destilada. Após a agitação, a solução filmogênica foi filtrada, desgaseificada e depositadas em recipiente de vidro *pyrex* com bordas. A secagem foi feita à temperatura ambiente ou em estufa (até $35\ ^{\circ}\text{C}$) por 24 horas ou até a total evaporação do solvente. A metodologia pode ser observada a seguir (Figura 6).

Figura 6 - Metodologia da obtenção do filme



Fonte: Autora

4.3 Preparo dos filmes reticulados por gotejamento

I. Reticulantes iônicos (TPP e EDTA)

- *Tripolifosfato de sódio (TPP)*

Adicionou-se 300 mL de TPP 0,1% (m/m) à solução contendo 6g de quitosana de forma a se ter 5% de TPP em relação à massa de CS/CSM por gotejamento e agitação constante às soluções filmogênica preparadas no procedimento descrito acima para filmes sem adição de reticulante. O pH da solução de TPP foi previamente ajustado para 3 (BHUMKAR; POKHARKAR, 2006). Após a adição, a solução foi devidamente filtrada, desgaseificada com bomba de vácuo e em seguida posta em forma de *pyrex* para a secagem na estufa.

- *Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)*

O mesmo procedimento foi realizado. Adicionou-se 300 mL da solução EDTA 0,1 % (m/m) à solução contendo 6 g de quitosana de forma a se ter 5 % de EDTA em relação à massa de CS/CSM por gotejamento e agitação constante às soluções filmogênica preparadas no procedimento descrito para filmes sem adição de reticulante. Após a adição, a solução foi devidamente filtrada, desgaseificada com bomba de vácuo e em seguida posta em forma *pyrex* para a secagem na estufa.

4.4 Caracterização físico- química dos filmes com e sem reticulação

4.4.1 Espessuras dos Filmes

A espessura dos filmes foi determinada calculando-se a média de 10 medições realizadas para cada filme através de medidor de espessura AKROM, KR1250 (margem de erro do equipamento: $\pm 1\mu\text{m}$).

4.4.2 Permeabilidade a vapor de água (PVA)

A análise de permeabilidade ao vapor de água foi feita em 8 replicatas, conduzida segundo o método padrão E0096-00 (ASTM, 2000) a 25 °C usando sílica gel como agente dessecante em dessecador vertical Arsec DCV040 e água dentro das células de permeação. As amostras foram cortadas em forma de discos de diâmetro 24 mm contendo 2 mL de água destilada, fixadas em células de permeação utilizando graxa de silicone para otimizar a fixação e, por fim, acondicionadas em dessecador a 20-25 °C e 45 - 55 % de umidade relativa.

A partir da perda de massa da água contida no interior da célula, sendo realizadas 8 medidas ao longo de 24 horas, com intervalo mínimo entre as mesmas de 1h, foi possível determinar a permeabilidade do filme ao vapor de água.

4.4.3 Análises mecânicas

As análises mecânicas (resistências à tração, módulo de Young e elongação) foram realizadas em 5 replicatas cada, em corpos de prova obtidos por prensa estampadora *Ceast* nas dimensões 125 mm x 12,5 mm. As amostras foram acondicionadas por 48h em ambiente com temperatura e umidade relativa controladas ($23 \pm 1^\circ\text{C}$ e $50 \pm 5\%$) e as medidas foram feitas baseado no método D882-01 (ASTM, 2001), usando um Emic DL-3000 Universal Testing Machine com célula de carga de 10 N, separação inicial entre as garras de 100 mm e

velocidade de deformação de 12.5 mm/min.

4.4.4 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

A análise foi realizada em equipamento espectrofotométrico de marca VERTEX 70 utilizando acessório Golden Gate Single Reflection Diamond ATR System na região entre 500-4000 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

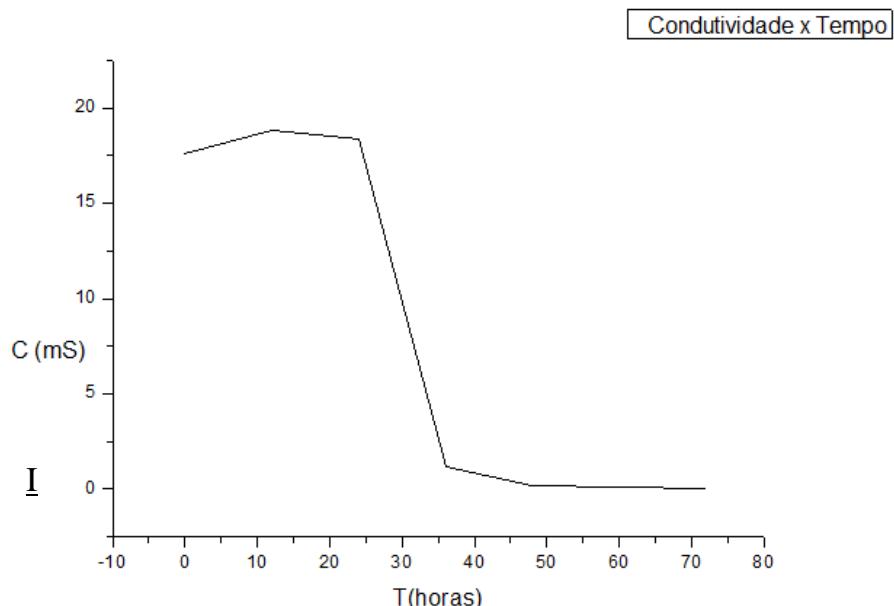
5.1 Purificação e caracterização da quitosana

Após a purificação foi possível obter quitosana modificada em cloridrato (CSM) em flocos brancos de baixa densidade e maior solubilidade em água. O processo de purificação e modificação da quitosana partiu de 120 g de CS e resultou em 97 g de quitosana solúvel o que significa que o rendimento foi de 80,8%. Pode-se assumir que o rendimento obtido se dá em decorrência de perdas na própria manipulação do material, perda nas filtrações e/ou diálises.

Após a diálise em solução salina se faz necessária a lavagem com água destilada para a retirada do excesso de sal. A condutividade da solução de NaCl foi, aproximadamente, (a 28 °C) 18,91 mS enquanto que a condutividade da água destilada, aproximadamente, 5 µS. Ao final do processo de lavagem a condutividade da água encontrou-se abaixo de 50 µS.

Através das medidas de condutância é possível controlar a lavagem da solução pela diálise com água destilada. A condutância cai bruscamente nas últimas 36 h quando é feita a substituição da solução salina ($\text{NaCl } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$) por água destilada no processo de diálise (Figura 8).

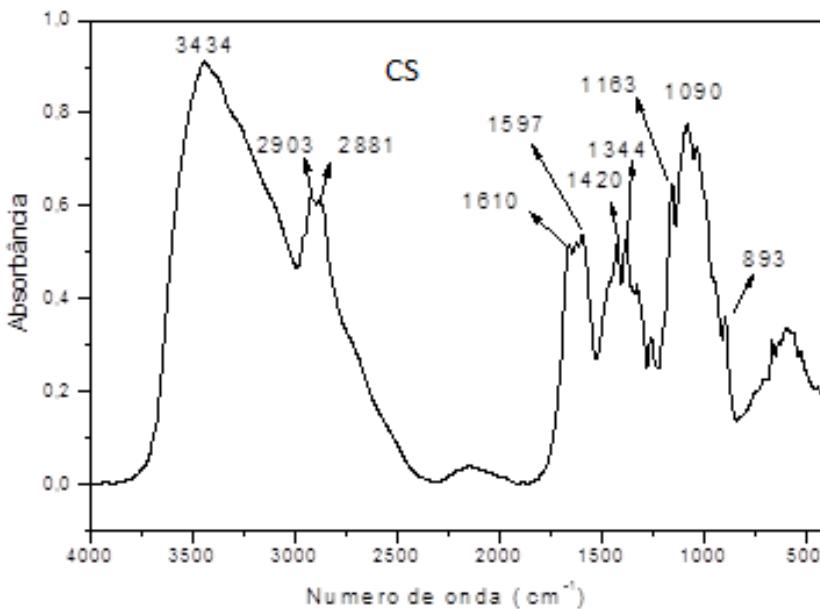
Figura 8 - Medida condutância x tempo no processo de diálise.



Fonte: Autora

5.1.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Figura 9 - Principais bandas de absorção no infravermelho da quitosana comercial



Fonte: Autora

As bandas em 3434 cm^{-1} e 3424 cm^{-1} no espectro de quitosanas comercial e modificada (Figura 9), respectivamente, podem ser atribuídas aos estiramentos O-H e N-H. Em 2903 cm^{-1} e 2881 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos simétricos e assimétricos C-H (HUANG et al., 2015) da quitosana comercial enquanto que na quitosana modificada foram em 2909 e em 2892 cm^{-1} (Tabela 2 e 3).

Tabela 2 - Grupos funcionais correspondentes aos estiramentos obtidos por infravermelho da quitosana comercial (CS).

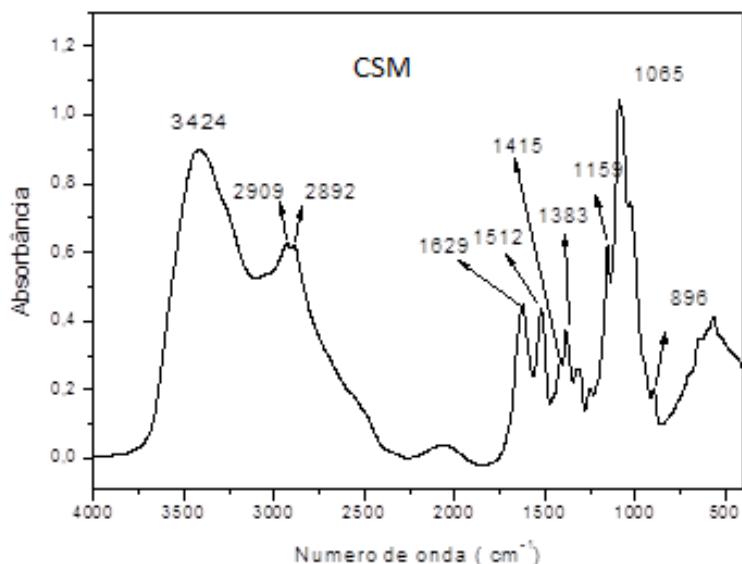
(cm^{-1})	<i>Grupo funcional</i>
3434	ν O-H e ν N-H
2903 e 2881	ν C-H simétrico e assimétrico
1610	ν C=O (Amida)
1420	δ CH ₂
1344	ν C-N (amida)
1163	ν C-N (amina)
1090 e 893	ν C-O-C (anel glicosídico)

Fonte: (BISPO; MANSUR; MANSUR, [s.d.]); (CHEN et al., 2016)

Deformação angular referente ao metileno foi observada em 1420 cm^{-1} . Em 1163 cm^{-1} está representado o estiramento C-N confirmando a presença de grupamento amina, ν C=O

em 1610 cm^{-1} referente à função amida e estiramento C-O em 1090 cm^{-1} indicando a função éter presente no anel glicosídico (BRANCA et al., 2016) (Figura 10).

Figura 10 - Principais bandas de absorção no infravermelho da quitosana modificada (CSM)



Fonte: (BISPO; MANSUR; MANSUR, [s.d.]); (CHEN et al., 2016)

Tabela 3 - Grupos funcionais correspondentes aos estiramentos obtidos por infravermelho da quitosana modificada (CSM).

(cm^{-1})	<i>Grupo funcional</i>
3424	$\nu\text{ O-H e } \nu\text{ N-H}$
2909 e 2882	$\nu\text{ C-H}$
1629	$\nu\text{ C=O (amida)}$
1415	$\delta\text{ CH}_2$
1383	$\nu\text{ C-N (amida)}$
1159	$\nu\text{ C-N (amina)}$
896	$\nu\text{ C-O-C (anel glicosídico }-\beta-$

Fonte: (BISPO; MANSUR; MANSUR, [s.d.]); (CHEN et al., 2016)

As bandas de absorção em 1629 cm^{-1} (CSM), e 1383 cm^{-1} (CSM) podem caracterizar a presença de amida na estrutura (BRANCA et al., 2016). A banda absorção em 1159 cm^{-1} pode ser atribuídas ao estiramento C-N da amina. Já a absorção em 1065 cm^{-1} é atribuída ao grupamento éter C-O-C no anel glicosídico (HUANG et al., 2015) (Figura 10).

As bandas de 893 cm^{-1} (CS) e 896 cm^{-1} (CSM) podem ser atribuídas à ligação β - (1,4) -glicosídica da quitosana (HUANG et al., 2015), indicando que a presença dos grupamentos funcionais característicos ao polissacarídeos continuam presentes.

Entretanto, através da análise comparativa das bandas de absorção, observa-se deslocamento das bandas de absorção no espectro de FTIR referente ao cloridrato de quitosana, podendo ser atribuído às interações eletrostáticas existentes na cadeia após a modificação da quitosana comercial em um composto salino, ou seja, carregado positiva e negativamente, afetando as bandas de absorção.

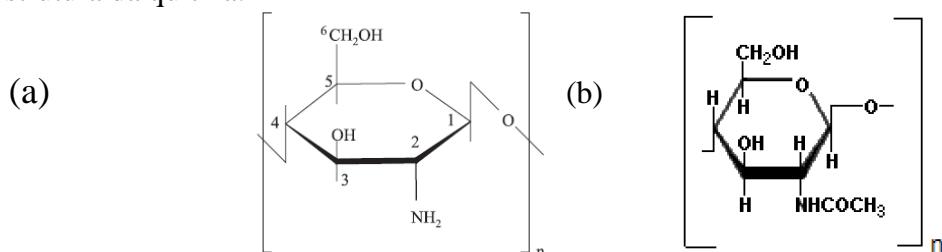
5.1.2 Ressonância Magnética Nuclear de Próton ($\text{RMN } ^1\text{H}$)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de próton das amostras CS e CSM foram bastante semelhantes, corroborando a conclusão obtida por FTIR de que não houve alteração na estrutura química da quitosana. Para a determinação do grau de acetilação de CS utilizou-se o espectro dessa amostra, que é o mesmo para CSM. Através da equação 2, seguindo o procedimento de Signini et al (SIGNINI,1998) é possível determinar o grau de acetilação (GA):

$$\text{Equação 2: } \% \overline{GA} = \left(\frac{A_{\text{CH}_3}}{3A_{\text{H}_2}} \right) \times 100$$

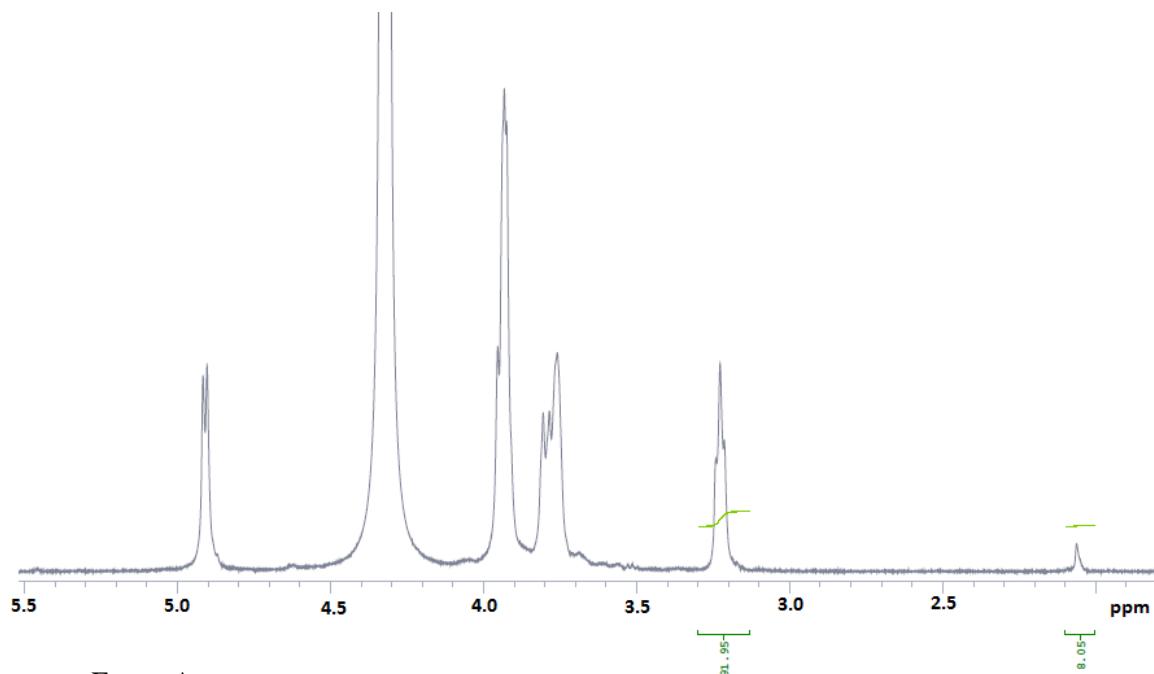
Sendo A_{CH_3} (Figura 11) a área do pico correspondente ao grupamento metila ligado à carbonila da função amida em 2,05 ppm, referente à quitina enquanto que A_{H_2} corresponde à área do pico referente ao átomo de hidrogênio ligado ao C_2 (Figura 12) do anel glicosídico em 3,2 ppm.

Figura11: estrutura (a) quitosana indicando a numeração dos carbonos e (b) a estrutura da quitina.



Fonte: própria autora

Figura 12 - RMN ^1H de quitosana em 1% DCl a 70 °C

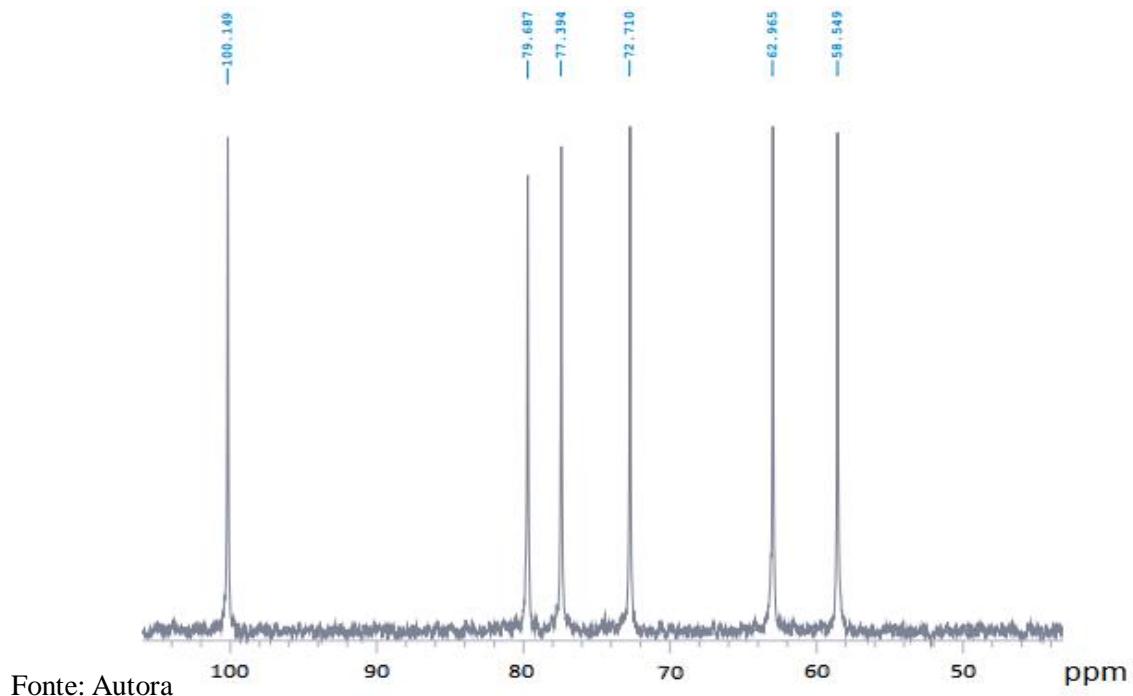


Fonte: Autora

Determinou-se que o grau de desacetilação da quitosana em estudo é de 97,08%, o que revela a alta pureza da mesma (Figura 12).

5.1.3 Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (^{13}C)

Figura 13: Espectro ressonância magnética referente à quitosana comercial.



Fonte: Autora

Tabela 4 - Deslocamentos RMN ^{13}C

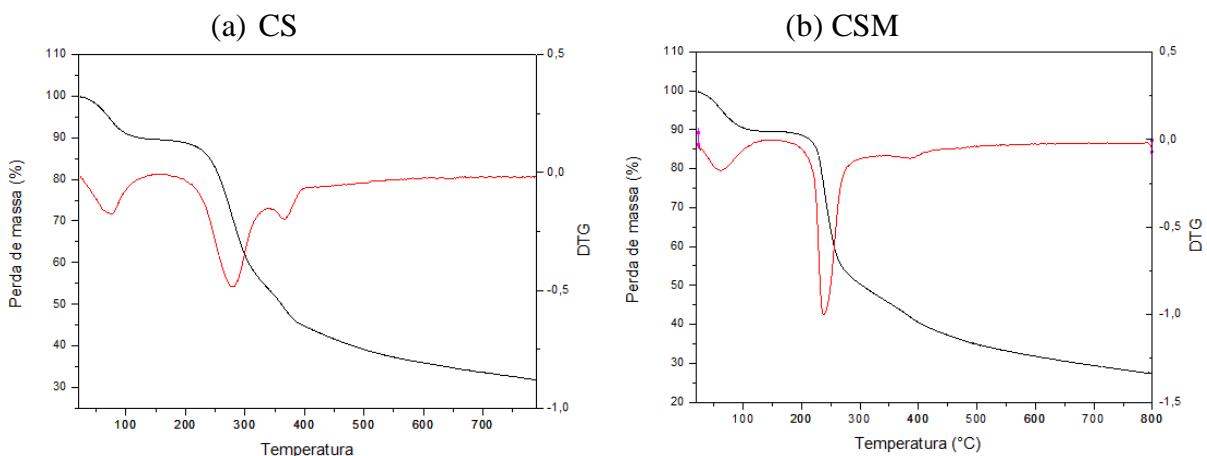
<i>ppm</i>	<i>Quitosana</i>
100,15	C ₁
79,67	C ₄
77,39	C ₃
72,71	C ₅
63,96	C ₆
58,55	C ₂

Fonte: (GARCIA et al., 2006)

A partir do espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (Figura 13), pode-se corroborar que o composto analisado trata-se da quitosana (Tabela 4) pela determinação de seus grupamentos funcionais característicos, tais como a presença da ligação C-O-C do anel glicosídico (C₁ e C₅) e C₂ ligado diretamente a um átomo de nitrogênio.

5.1.4 Termogravimetria

Figura 14 – Espectros de TGA e DTG. em N₂ a) CS e b)CSM



Fonte: Autora.

A análise termogravimétrica da quitosana comercial (CS) (Figura 14) resulta em 3 eventos de perda de massa. O primeiro ocorre na faixa de 80 - 108 °C, sendo atribuída à evaporação de água. O segundo evento na faixa de 250 - 290 °C é atribuído à degradação da parte desacetilada da estrutura do polímero (degradação do grupamento amina e amida) enquanto que o terceiro, na faixa de 360 - 400 °C, é atribuído à quebra do anel glicosídico (GARCIA et al., 2006). A análise termogravimétrica da quitosana modificada também

resulta em 3 perdas de massa. A primeira perda ocorre 60 - 110 °C, sendo atribuída também à evaporação de água, a segunda na faixa 200 - 250 °C é atribuída à mesma degradação em CS no segundo evento de perda de massa. A terceira perda de massa, embora menos visível também ocorre, sendo esta na faixa de 350 – 400 °C, referente à degradação do anel glicosídico do polissacarídeo (GARCIA et al., 2006). Observa-se que apesar de ambas as amostras possuírem os 3 eventos de perda de massa característicos ao biopolímero em questão, há o decréscimo da temperatura de degradação, especialmente nas duas últimas usas perdas, na quitosana modificada. Sugerindo-se que o produto da modificação é menos resistente à degradação. A 800 °C CS apresenta maior quantidade de resíduos (35%) enquanto que CSM (abaixo de 30%), sugerindo-se que o processo de diálise resultou em uma amostra mais pura.

5.1.5 Viscosimetria

De acordo com os resultados obtidos pela viscosimetria, a quitosana comercial utilizada nesse trabalho foi de $2,82 \times 10^4$ g/mol , de acordo como Bezerra (2011) em seus estudos, sendo considerada, portanto, de baixo peso molecular. Os valores da viscosidade intrínseca das amostras de quitosana foram calculados através do método da viscosidade reduzida, pelo uso da equação de Mark-Houwink-Sakurada (equação 1). O valor da viscosidade intrínseca obtido foi aproximadamente de $1,7564 \text{ mL.g}^{-1}$, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9953.

5.2 Caracterização dos filmes CS com e sem reticulantes

5.2.1 Espessuras dos Filmes

Tabela 5: Valores de espessura média dos filmes CS com e sem reticulação.

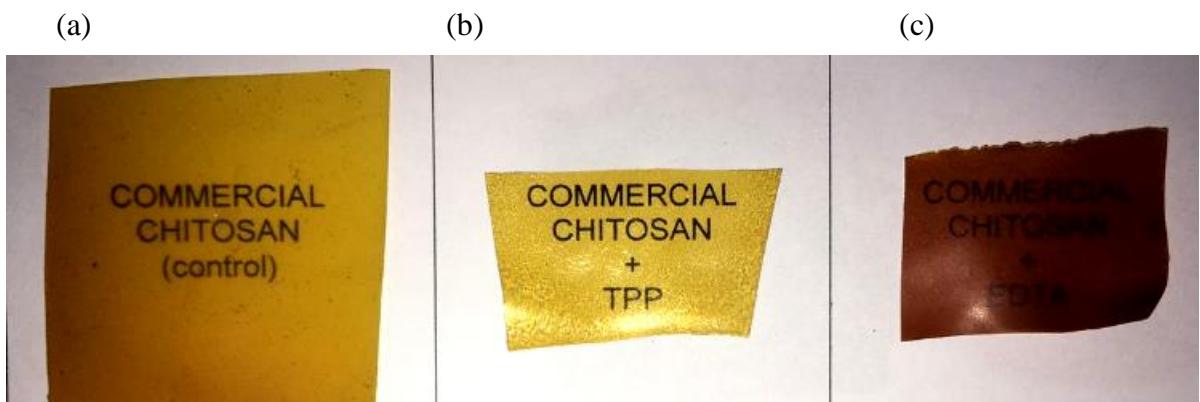
Filme	CS-BRANCO	CS-TPP	CS-EDTA
Espessura média	0,2438 mm	0,17206 mm	0,191125 mm

Fonte: Autora

Os filmes apresentaram-se de fácil manuseio após a secagem completa podendo ser manipulados sem haver rupturas, mas com certa dificuldade para serem destacados do recipiente de vidro. As espessuras dos filmes variaram de 0,17-0,25 mm (Tabela 5). Os filmes obtidos apresentaram variação de colocação (Figura 15) em relação à amostra controle (CS-BRANCO), indicando que houve a modificação do filme.

Figura 15 - Coloração dos filmes (a) Quitosana sem reticulante (CS-BRANCO)

(b) Quitosana com TPP (CS-TPP) e (c) Quitosana com EDTA (CS-EDTA)

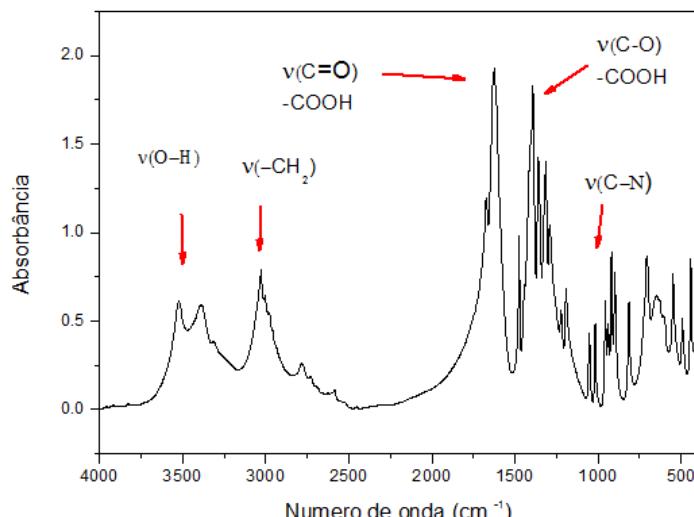


Fonte: Autora

Pode-se observar diferenças na coloração dos filmes em relação ao filme controle (CS-BRANCO), sendo a coloração que apresentou maior alteração foi o filme CS-EDTA. Apesar de ser o filme com menor espessura média, apresentou coloração mais escurecida e menor transparência.

5.2.2 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Figura 16 - Espectro de infravermelho da amostra sólida de EDTA.

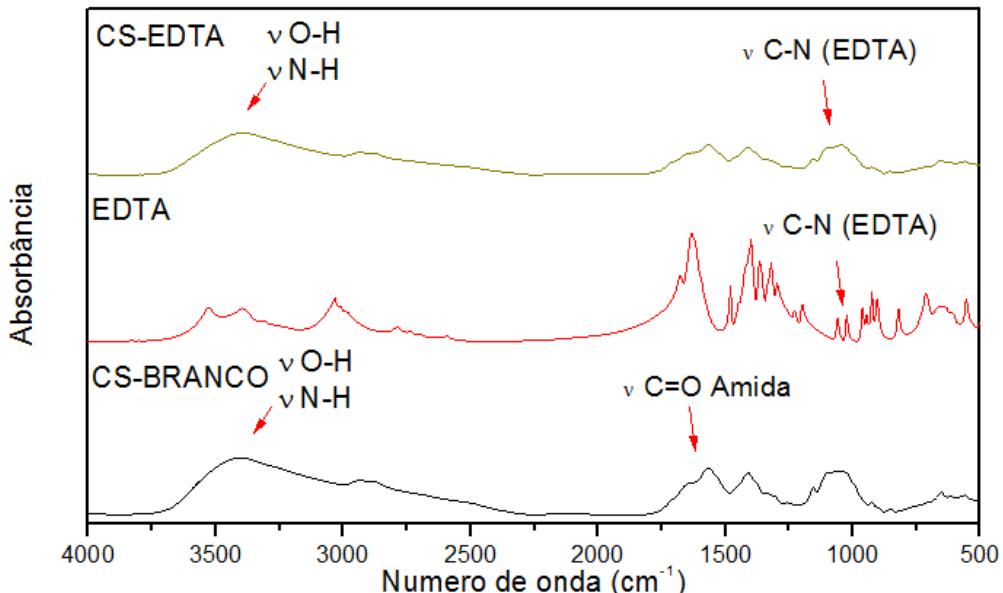


Fonte: Autora

O espectro do agente de reticulação EDTA (Figura 16) mostra bandas características desse composto em 1671 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=O, 1282 cm^{-1} referente ao estiramento C-O de ácido carboxílico, 1055 cm^{-1} referente ao estiramento C-N

de amina e na terciária e bandas no intervalo $2850 - 2980 \text{ cm}^{-1}$ correspondem aos estiramentos simétrico e assimétrico de $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$, em acordo com o estudo de Zaoh et al (2004).

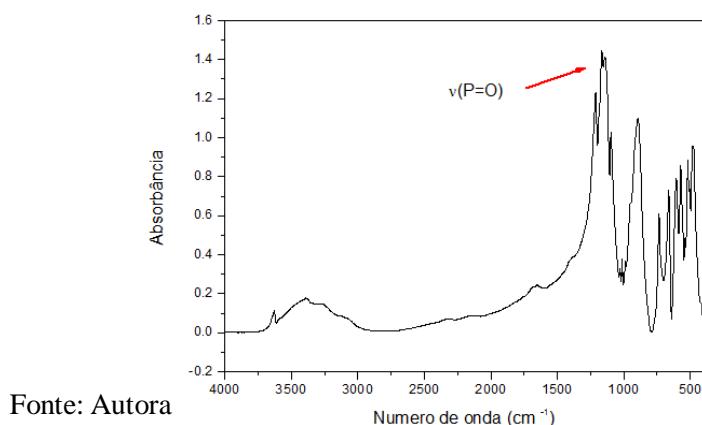
Figura 17: FTIR CS-BRANCO (preto), EDTA (vermelho) e CS-EDTA (Verde)



Fonte: Autora

Através do espectro FTIR do filme sem reticulação, do reticulante e do filme reticulado (Figura 17) é possível confirmar a interação do EDTA ao filme pelas bandas de absorção na em 1055 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-N de amina terciária presente no reticulante e da banda larga na faixa $3600-3200 \text{ cm}^{-1}$ presente no filme não reticulado referentes ao estiramento O-H e N-H presentes da quitosana (BISPO; MANSUR; MANSUR, [s.d.])

Figura 18 - FTIR amostra sólida de TPP



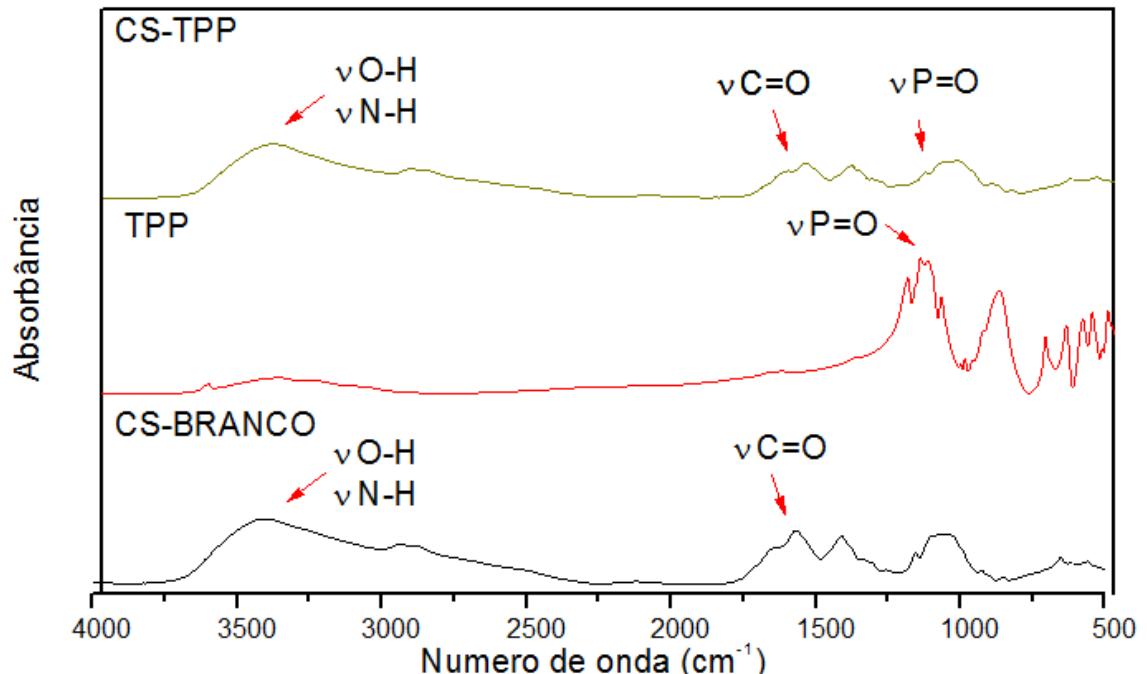
Fonte: Autora

Tripolifosfato de sódio é constituído predominantemente por ligações P-O, com absorções predominantemente na região abaixo de 1400 cm^{-1} . Através do espectro de FTIR

do TPP (Figura 18) é possível confirmar sua estrutura.

Na literatura se encontra banda de estiramento ($\text{P}=\text{O}$) na região de 1170 cm^{-1} (DOUNIGHI 2012) (BHUMKAR; POKHARKAR, 2006). A banda observada foi em 1168 cm^{-1} , bem próxima à citada na literatura.

Figura 19: FTIR CS-BRANCO (preto), TPP (vermelho) e CS-TPP (Verde)



Fonte: Autora

Através do espectro FTIR do filme sem reticulação, do reticulante e do filme reticulado (Figura 19) também é perceber a presença do TPP no filme pela banda de absorção característica na em 1168 cm^{-1} corresponde ao estiramento $\text{P}=\text{O}$.

5.2.3 Permeabilidade a vapor de água (PVA)

Tabela 6 - Valores obtidos pelo teste de permeabilidade a vapor de água

Trata- mento	Permeabilidade a vapor de água (g.mm.kPa⁻¹.h⁻¹.m⁻²)								Média	Desvio Padrão
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8		
CS- BRAN- CO	1,42 6	1,52 6	1,60 7	1,82 3	1,60 6	1,61 3	1,81 4	1,878	1,662 A	0,160
CS - TPP	1,08 3	1,25 2	1,25 8	1,15 3	1,17 7	1,25 6	1,02 1	1,189	1,374* C	0,086
CS - EDTA	1,38 8	1,37 5	1,45 8	1,38 4	1,46 6	1,26 4	1,37 4	1,209	1,364* B	0,087

*Amostras que apresentaram diferenças significativas nos valores de permeabilidade a vapor de água em relação ao controle – Teste de Dunnet

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si - teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: Autora

A permeabilidade ao vapor de água é de extrema importância para o desenvolvimento de filmes para embalagem de alimentos. Através dos resultados apresentados (Tabela 6), pode-se observar que o filme reticulado com TPP apresentou redução da permeação ao vapor de água de aproximadamente 17% enquanto que o filme reticulado com EDTA apresentou redução de aproximadamente 18%.

O resultado obtido pela análise de permeabilidade foi de $1,374 \pm 0,086$ g mm kPa⁻¹ h⁻¹ m² para o filme reticulado com TPP e $1,364 \pm 0,087$ g mm kPa⁻¹ h⁻¹ m² para os filmes reticulados com EDTA, confirmando a funcionalidade da adição de reticulantes na constituição do filme, visto que ambos os filmes reticulados apresentaram decréscimo significativo (segundo testes de Dunnet) quanto à permeabilidade a vapor de água, como o esperado. O teste de médias de Tukey, representado na tabela, indica que a diferença também é significativa entre os dois filmes.

5.2.4 Resistência à tração

Tabela 7 - Valores obtidos pelo teste mecânico de resistência à tração

Tratamento	Resistência à tração (MPa)					Médias	Desvio padrão
	R1	R2	R3	R4	R5		
CS - BRANCO	9,59	9,71	9,93	9,31	--	9,64 AB	0,26
CS - TPP	--	9,66	11,76	8,22	11,69	10,33 A	1,71
CS - EDTA	6,4	7,45	4,8	4,95	6,36	5,99* B	1,11

*Amostra que apresentou diferença significativa de resistência à tração em relação ao controle (CS-BRANCO) – Teste de Dunnet.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si - teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: Autora

Através do teste comparativo de Tukey (Tabela 7) é possível observar que os resultados de resistência à tração apresentam diferença significativa para os dois filmes reticulados, enquanto que para o teste comparativo de Dunnet, apenas o filme reticulado com EDTA apresentou diferença significativa em relação ao filme controle. O filme CS-EDTA apresentou redução de aproximadamente 38% em relação ao controle. A adição desse reticulante resultou na queda da resistência à tração do filme, não sendo o resultado desejado. Uma possível explicação para esse dado que pode ser suposta é que o reticulante (EDTA) não interagiu efetivamente ou de forma homogênea em toda a extensão do filme gerando pontos de fragilidade ao longo do filme, causando no filme menor resistência à tração.

5.2.3 Módulo de Young

Tabela 8 - Valores que representam a rigidez dos filmes.

Módulo de Young (MPa)						
Tratamento	R1	R2	R3	R4	Médias	Desvio padrão
CS - BRANCO	243,12	232,74	279,58	239,96	248,85 B	20,94
CS – TPP	373,54	344,26	378,31	430,39	381,63* A	35,83
CS - EDTA	218,84	278,41	280,96	273,44	262,91 B	29,55

*Amostra que apresentara mudança significativa no módulo de Young em relação ao controle – Teste de Dunnet.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si - teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: Autora

Através do teste comparativo de Tukey (Tabela 8) é possível observar que os dois filmes reticulados com TPP e EDTA apresentaram diferença significativa entre si sendo o filme CS-TPP mais rígido que o CS-EDTA. Analisando as estruturas químicas dos reticulantes em questão, pode-se sugerir que a reticulação com o TPP resulte em um filme mais rígido e de cadeia polimérica mais estável quando comparado ao EDTA, pois a distribuição espacial do EDTA ao interagir com a cadeia polimérica da quitosana gera uma cadeia mais aberta, menos compacta, pelo próprio tamanho da molécula deste reticulante.

Enquanto que pelo teste comparativo de Dunnet apenas o filme CS-TPP apresentou diferença em relação ao filme controle, podendo ser observado que o filme controle apresenta módulo de Young cerca de 53% maior. Isso implica que o este filme apresenta maior rigidez em relação aos outros filmes.

5.2.4 Elongação

Tabela 9 - Valores que representam a maleabilidade dos filmes

Tratamento	Elongação (%)					Médias	Desvio padrão
	R1	R2	R3	R4	R5		
CS - BRANCO	14,93	19,54	19,37	16,72		17,64 A	2,22
CS – TPP	4,42	7,34	8,4	4,68	7,54	6,48* B	1,81
CS - EDTA	7,05	7,48	3,89	5,78	4,03	5,65* B	1,66

*Amostras que apresentaram mudanças significativas na elongação em relação ao controle – Teste de Dunnett
Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si - teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: Autora

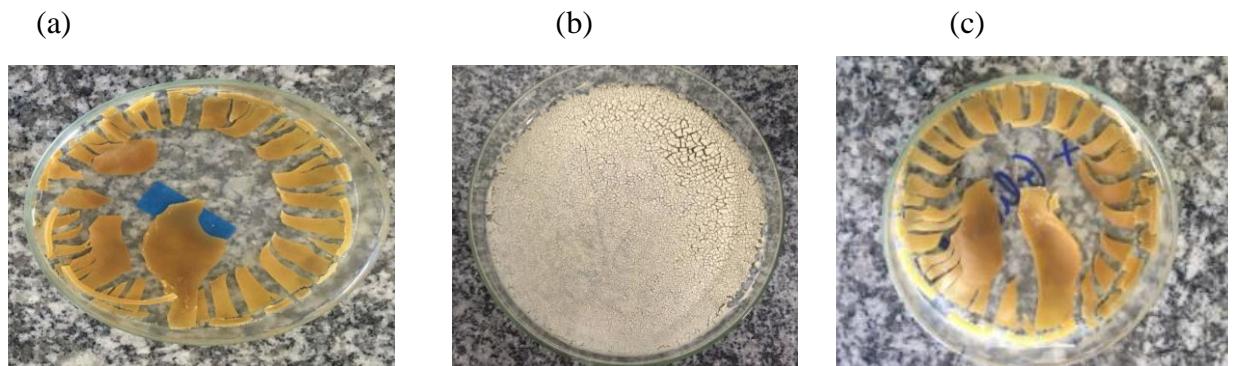
Também se utilizando do teste estatístico de Dunnett a partir dos dados obtidos pelos testes mecânicos, consta-se que ambos os filmes reticulados apresentaram mudanças significativas de elongação na ruptura em relação à amostra controle. O filme CS-TPP apresentou diminuição de aproximadamente 63% da elongação enquanto que o filme CS-EDTA apresentou diminuição de aproximadamente 68% da sua elongação, o que é uma desvantagem esperada da adição de agentes reticulantes. Pela análise comparativa de Tukey os filmes não apresentaram diferença significativa ao nível de 5 %.

5.3 Preparo dos filmes CSM com e sem reticulantes

Para o preparo do filme de CSM é desnecessária a utilização de ácido acético, visto que este material é de alta hidrofilicidade. Entretanto a produção do mesmo não foi igualmente bem sucedida (Figura 20). O processo foi seguido de acordo com o procedimento experimental analogamente ao procedimento para CS. Entretanto, após secagem completa, houve ruptura em diversas partes da extensão do filme. Alterou-se a superfície de disposição utilizando substrato de Myllar, porém a formação do filme não foi efetiva. Diversos testes foram realizados, alterando-se as condições de secagem (em estufa a temperaturas variadas e secagem à temperatura ambiente), superfície de disposição do filme e proporções tanto da quitosana, quanto dos constituintes das soluções filmogênica: quitosana

(nas proporções de 3% e 1%) e do agente plastificante glicerol (nas concentrações 30% e 40%), sabendo que plastificante tem como função principal melhorar a flexibilidade dos filmes e torná-los menos quebradiços (BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009)

Figura 20: (a) Filme CSM em condições de preparo igual a dos filmes de CS. (b) Filme concentração reduzida de quitosana. (c) Filme com aumento da concentração de glicerol.



Fonte: Autora

Sugere-se que o sólido obtido (cloridrato de quitosana) deve passar por mais processos de diálise a fim de eliminar excesso de sal presente em sua composição, podendo ser atribuído a esse fato a não formação dos filmes de quitosana modificada.

6. CONCLUSÃO

A quitosana de partida apresenta alto grau de desacetilação (acima de 97%) e baixo peso molecular.

O processo de modificação da quitosana é de alto rendimento e resulta em um sólido barnco e de baixa densidade. A apesar de eficiente, tendo em vista que gerou um sólido com maior pureza e hidrofilicidade, não foi concluído, pois se sugere que há excesso de cloreto em sua composição, sendo necessário ainda outro processo de diálise com água bidestilada. Através de técnicas de FTIR, RMN ^1H e ^{13}C , pode-se indicar que a modificação de CS para CSM apresenta modificações sem alterar seus grupamentos funcionais.

A adição de EDTA e TPP como agentes reticulantes apresentou resultado satisfatório quanto à diminuição da permeabilidade do filme ao vapor de água, mostrando que para esse parâmetro ambos se mostraram agentes de reticulação eficientes. Ambos apresentaram redução da elongação, mas somente o filme CS-TPP apresentou diferença significativa quanto ao módulo Young. Diante disso, devem-se estudar formas de aperfeiçoar o processo de reticulação do filme com o EDTA e TPP. A formação de filmes tendo como matriz CSM não foi bem sucedida, provavelmente devido a um teor remanescente de sais resultante de uma diálise incompleta. Entretanto esse material possui grandes aplicabilidades que deve ser exploradas. Tendo em vista a amplificação das diversas aplicações da quitosana após a sua modificação, esse material deve continuar sendo explorado e estudado para novos propósitos.

REFERÊNCIAS

- AZEREDO, H. M. C.; DE BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Chitosan Edible Films and Coatings – a Review. **Chitosan: Manufacture, Properties, and Usage**, p. 179–194, 2010.
- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2.3, p. 27–34, 2007.
- BANSAL, V. et al. Applications of Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery. **Biological Research**, v. 5, n. 1, p. 28–37, 2011.
- BEPPU, M. M. et al. Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption. **Journal of Membrane Science**, v. 301, n. 1–2, p. 126–130, 2007.
- BERGER, J. et al. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 19–34, 2004.
- BEZERRA, A. M. Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular. 2011.
- BHUMKAR, D. R.; POKHARKAR, V. B. Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note. **AAPS PharmSciTech**, v. 7, n. 2, p. E50, 2006.
- BIERHALZ, A. C. K.; KIECKBUSCH, T. G. Caracterização de Biofilmes de Alginato e Pectina Reticulados com Íons Ca +2 : Efeito da Concentração de Plastificante. **10º Congresso Brasileiro de Polímeros**, v. 2, n. 1, 2009.
- BISPO, V. M.; MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S. Caracterização por espectroscopia de infravermelho de filmes de quitosana com diferentes quantidades de agente reticulante. [s.d.].
- BRANCA, C. et al. Role of the OH and NH vibrational groups in polysaccharide-nanocomposite interactions: A FTIR-ATR study on chitosan and chitosan/clay films. **Polymer (United Kingdom)**, v. 99, p. 614–622, 2016.
- BYOPOLYMER, F.; BIOMEDICAL, W.; POTENTIAL, I. Quim. Nova., v. 32, n. 3, p. 672–678, 2009.
- CHEN, H. et al. Preparation, characterization, and properties of chitosan films with cinnamaldehyde nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 662–671, 2016.
- GARCIA, J. C. et al. Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. n. April, 2006.
- GIERSZEWSKA, M.; OSTROWSKA-CZUBENKO, J. Chitosan-based membranes with different ionic crosslinking density for pharmaceutical and industrial applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 501–511, 2016.

- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. -L. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206–211, 1993.
- HUANG, Y. et al. Synergistic degradation of chitosan by impinging stream and jet cavitation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 592–601, 2015.
- JAYAKUMAR, R. et al. **Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications**. **Biotechnology Advances**, 2010.
- JÓZWIAK, T. et al. Effect of ionic and covalent crosslinking agents on properties of chitosan beads and sorption effectiveness of Reactive Black 5 dye. **Reactive and Functional Polymers**, v. 114, p. 58–74, 2017.
- MENDES, A. A. et al. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 831–840, 2011.
- MIKHAILOV, S. N. et al. Crosslinking of Chitosan with Dialdehyde Derivatives of Nucleosides and Nucleotides. Mechanism and Comparison with Glutaraldehyde. **Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids**, v. 35, n. 3, p. 114–129, 2016.
- PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 7, p. 641–678, 2009.
- RINAUDO, M.; MILAS, M.; LE DUNG, P. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion . **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 15, p. 281–285, 1993.
- RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 270–276, 2010.
- RUBENTHEREN, V. et al. Processing and analysis of chitosan nanocomposites reinforced with chitin whiskers and tannic acid as a crosslinker. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 379–387, 2015.
- SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; VICTÓRIA, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca Plasticizing and antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol on biodegradable cassava starch films. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 79–88, 2007.
- SHU, X. ; ZHU, K. . The influence of multivalent phosphate structure on the properties of ionically cross-linked chitosan films for controlled drug release. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, n. 2, p. 235–243, 2002.
- SIGNINI, R.; CAMPANA, S. P. Características e Propriedades de Quitosanas Purificadas nas Formas Neutra, Acetato e Cloridrato. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 58–64, 2001.
- SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. Purificação e caracterização de quitosana comercial. **Polímeros**, v. 8, n. 4, p. 63–68, 1998.
- SINGH, K. et al. Chitosan films: Crosslinking with EDTA modifies physicochemical and

mechanical properties. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 23, n. 3, p. 687–695, 2012.

THEVARAJAH, J. J. et al. Determination of the distributions of degrees of acetylation of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 40–48, 2017.

VELICKOVA, E. et al. Characterization of multilayered and composite edible films from chitosan and beeswax. **Food Science And Technology International**, v. 21, n. 2, p. 83–93, 2015.

ASTM. (2000). Standard test method for water vapor transmission of materials. E96-00. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: **American Society for Testing and Materials**. p. 907-914.

ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-01. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. p. 162-170.