



Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais



PAULO GIBSON FARIAS BEZERRA

FILMES NANOESTRUTURADOS A BASE DE QUITOSANA ORIUNDA DA CASCA DE
CAMARÃO REFORÇADOS COM NANOFIBRILAS DE CELULOSE EXTRAIDAS DO
RESÍDUO DE AÇAÍ

MACAPÁ - AP

2021

PAULO GIBSON FARIAS BEZERRA

FILMES NANOESTRUTURADOS A BASE DE QUITOSANA ORIUNDA DA CASCA DE
CAMARÃO REFORÇADOS COM NANOFIBRILAS DE CELULOSE EXTRAIDAS DO
RESÍDUO DE AÇAÍ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) da Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Dra. Lina Bufalino
Co-orientador: Dr. Tiago Marcolino de Souza

MACAPÁ - AP

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Aline Farias Bandeira Couto – CRB-2 0017/O

B574f Bezerra, Paulo Gibson Farias
Filmes nanoestruturados a base de quitosana oriunda da casca de camarão reforçados com nanofibrilas de celulose extraídas do resíduo de açaí. [recurso eletrônico] / Paulo Gibson Farias Bezerra - Macapá, 2021.
74 f.

Orientadora: Lina Bufalino
Coorientador: Tiago Marcolino de Souza
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. 2021.

Modo de acesso: World Wide Web.
Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Resíduos agroindustriais. 2. Filmes biodegradáveis. 3. Camarão amazônico. 4. Açaí. I. Bufalino, Lina, orientadora. II. Universidade Federal do Amapá - UNIFAP. III. Título.

CDD 23. ed. – 664.0285

BEZERRA, Paulo Gibson Farias. **Filmes nanoestruturados a base de quitosana oriunda da casca de camarão reforçados com nanofibrilas de celulose extraídas do resíduo de açaí.** Orientadora: Lina Bufalino. Coorientador: Tiago Marcolino de Souza. 2021. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2021.

PAULO GIBSON FARIAS BEZERRA

FILMES NANOESTRUTURADOS A BASE DE QUITOSANA ORIUNDA DA CASCA DE
CAMARÃO REFORÇADOS COM NANOFIBRILAS DE CELULOSE EXTRAIDAS DO
RESÍDUO DE AÇAÍ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) da Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Aprovada em 30 de Julho de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Lina Bufalino

Dra. Lina Bufalino – Presidente
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

Pedro Ivo Cunha Claro

Dr. Pedro Ivo Cunha Claro – 1º Examinador
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA EM ENERGIA E MATERIAIS - CNPEM

Maria Alice Martins

Dra. Maria Alice Martins – 2º Examinadora
EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO

Documento assinado digitalmente
 Caio Pinho Fernandes
Data: 10/09/2021 14:54:58-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Dr. Caio Pinho Fernandes – 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ - UNIFAP

Aos meus queridos avós, Maria e
Bernardo (*in memoriam*) e aos meus pais,
Janete e Gildemar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo que Ele tem feito por mim. Por sempre ter colocado pessoas queridas em minha vida.

Agradeço aos meus avós (*in memoriam*) por todos os ensinamentos, carinho e amor que me passaram.

Agradeço aos meus pais pelos ensinamentos, pelo amparo e por sempre acreditarem em mim.

Agradeço aos meus irmãos, Aline, Gil, Antônio, Cildemar e José Nildo pelo amor e carinho e por encontrarem em mim um referencial.

Agradeço ao meu querido Pablo por todos os momentos compartilhados, carinho, confiança e apoio ao longo dessa jornada.

Agradeço as minhas mães de coração, Raquel e Delma, pelo carinho, amor e apoio.

Agradeço aos meus amigos, Diego Belo, Patrik Ferreira, Paulo Marvão e Leandro Bentes, pela parceria e bons momentos.

Agradeço aos meus amigos da UFRA, Fernanda, Fábio, Thaianne, Catarina e Larissa por todo apoio e companheirismo que desenvolvemos ao longo das nossas pesquisas.

Agradeço à minha orientadora, Lina Bufalino, por todo apoio e por ter confiado a mim a execução desse trabalho.

Agradeço ao meu co-orientador, Tiago Marcolino, pelo apoio e confiança.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pela oportunidade oferecida.

RESUMO

BEZERRA, P. G. F. **Filmes nanoestruturados a base de quitosana oriunda da casca de camarão reforçados com nanofibrilas de celulose extraídas do resíduo de açai**. 75 f. Dissertação – Departamento de Meio Ambiente e Desenvolvimento, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2021.

Na região Amazônica, os subprodutos gerados na cadeia produtiva do açai e da pesca do camarão são fontes de fibras naturais e quitina, respectivamente, mas que necessitam de alguma transformação para gerar novos produtos e materiais. Nanofibrilas de celulose (CNF) obtidas a partir dos resíduos do processamento do açai podem ser utilizadas como reforço de matrizes poliméricas como a quitosana, a fim de garantir melhorias nas suas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. Este trabalho tem como objetivo investigar o efeito da adição de CNFs oriundas dos resíduos do açai nas propriedades físicas e mecânicas de filmes a base de quitosana de duas espécies de camarão Amazônicos, *M. amazonicum* (QMA) e *M. carcinus* (QMC). A quitosana foi isolada através do método químico e a CNF foi obtida por desfibrilação mecânica das fibras do caroço do açai. Os filmes puros e nanoestruturados foram preparados através da técnica *casting* e caracterizados em relação à taxa de permeabilidade do vapor d'água (TPVA), permeabilidade ao vapor d'água (PVA), solubilidade em água (SA), absorção de água (AA). Também foram analisadas as superfícies dos filmes por meio de microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A quitosana foi caracterizada em função do grau de desacetilação (GD) e o rendimento dos processos quantificados. Os resultados mostraram que a quitosana obtida a partir das cascas do *M. amazonicum* apresentou GD superior a obtida do *M. carcinus*. A superfície dos filmes puros de CNFs apresentou maior rugosidade e menos homogênea em comparação aos filmes puros de QMA e QMC, conforme indicaram as imagens de AFM. A adição de reforço CNF na matriz de quitosana conferiu aos filmes nanoestruturados melhorias nas suas propriedades mecânicas e físicas. Por outro lado, o aumento da concentração do reforço tendeu a formação de aglomerados.

Palavras-chave: *M. amazonicum*, *M. carcinus*, Grau de desacetilação.

ABSTRACT

BEZERRA, P. G. F. **Nanostructured films based on chitosan from shrimp shell reinforced with cellulose nanofibrils from açai residue.** p. 75. Master Thesis – Department of Environment and Development, Federal University of Amapá, Macapá, 2021.

In the Amazon region, there are numerous subproducts from extractivism economic (e.g., fibers from açai fruit and chitosan by shrimp shells) that have been showed a great potential for sustainable products development. Considering this scenario, cellulose nanofibrils (CNFs) obtained from açai processing residues can be used as reinforcement in polymeric matrices such as chitosan applied as polymer matrix, in order to guarantee improvements on mechanical, thermal and barrier properties of nanocomposites. This work aims to investigate the effect of adding CNFs from açai residues on physical and mechanical properties of chitosan-based nanocomposite films from two Amazon shrimp species: *M. amazonicum* (QMA) and *M. carcinus* (QMC). Chitosan was isolated from these two species through the chemical method and CNF was obtained by mechanical defibrillation of the açai stone fibers. The pure and composite formulations were prepared using the casting technique and characterized in relation to water vapor permeability rate (WVPR), water vapor permeability (WVP), water solubility (WS), water absorption (WA). Film surfaces were also analyzed using atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM). Chitosan was characterized as a function of the degree of deacetylation (DD) and the yield of the quantified processes. The results showed that the chitosan obtained from the shells of *M. amazonicum* presented a DD higher than that obtained from *M. carcinus*. Neat CNF films showed a surface with greater roughness and less homogeneous compared to neat QMA and QMC films, as indicated by AFM images. The nanostructured films exhibited an improvement on physical properties (WVPR, WVP, WS and WA) after the CNF addition. On the other hand, the increase in the concentration of the reinforcement tended to form agglomerates.

Keywords: *M. amazonicum*, *M. carcinus*, Degree of Deacetylation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
	2.1 Quitina	13
	2.1.1 <i>Características físico-químicas, propriedades e aplicações</i>	14
	2.1.2 <i>Obtenção</i>	16
	2.1.3 <i>Desacetilação da quitina</i>	17
	2.2 Quitosana	18
	2.3 Celulose	19
	2.4 Nanofibras de celulose	21
	2.5 Biocompósitos e filmes a base de polissacarídeos	22
	2.6 Resíduos da pesca e agrofloretais	24
3	OBJETIVOS	26
	3.1 Geral	26
	3.2 Específicos	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
	4.1 Obtenção, pré-tratamento e caracterização dos resíduos do camarão	27
	4.1.1 <i>Desmineralização</i>	29
	4.1.2 <i>Desproteínização</i>	30
	4.1.3 <i>Despigmentação</i>	31
	4.1.4 <i>Extração da quitosana</i>	32
	4.2 Caracterização da quitosana	32
	4.2.1 <i>Grau médio de desacetilação</i>	32
	4.3 Obtenção das fibras do resíduo do açaí	33
	4.4 Tratamentos químicos das fibras do açaí	34
	4.5 Produção dos filmes de celulose, quitosana e biocompósitos	35
	4.6 Caracterização dos filmes	37
	4.6.1 <i>Análise Microestrutural por Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV</i>	38
	4.6.2 <i>Microscopia de Força Atômica – AFM</i>	38
	4.6.3 <i>Medidas de Espessura dos Filmes</i>	38
	4.6.4 <i>Taxa de Permeabilidade e Permeabilidade ao Vapor D'água</i>	38
	4.6.5 <i>Absorção de Água</i>	41
	4.6.6 <i>Solubilidade em Água</i>	42
	4.6.7 <i>Resistência à Tração e Módulo de Young</i>	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
	5.1 Isolamento e caracterização da quitosana	44

5.2 Isolamento da quitina	46
5.2.1 <i>Desmineralização</i>	46
5.2.2 <i>Desproteínização</i>	47
5.2.3 <i>Despigmentação</i>	48
5.3 Desacetilação da quitina	49
5.3.1 <i>Grau de desacetilação</i>	50
5.4 Caracterização dos filmes a base de CNF e quitosana	53
5.4.1. <i>Espessura dos filmes</i>	57
5.4.2. <i>Taxa de Permeabilidade e Permeabilidade ao Vapor D'água</i>	59
5.4.3. <i>Absorção de água</i>	61
5.4.4. <i>Solubilidade em água</i>	63
5.4.5. <i>Módulo de Young (MY) e resistência à tração (RT)</i>	64
6 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos derivados do petróleo, por exemplo, os polímeros não biodegradáveis e de baixo custo econômico, tem trazido grandes prejuízos ao meio ambiente, acarretando em uma pressão ecológica para sua substituição por fontes que sejam ambientalmente corretas e apresentem certa viabilidade econômica. Neste cenário, pesquisas científicas e tecnológicas vêm sendo desenvolvidas a fim de propor novos insumos renováveis e biodegradáveis para a indústria química (CARVALHO, 2017).

Produtos naturais como proteínas, lipídeos e polissacarídeos têm se apresentado como uma alternativa à substituição dos polímeros sintéticos para o desenvolvimento de novos materiais de baixo custo. Estes produtos podem ser encontrados em diferentes fontes de resíduos, por exemplo, agroindustriais, agrofloretais, alimentícios e da pesca (NASCIMENTO, 2013).

O Brasil apresenta grande disponibilidade de fontes vegetais, sendo muitas delas geradas pela agroindústria e subutilizadas, transformando-se em rejeitos agroindustriais. Igualmente, a indústria do pescado é responsável pela produção de milhares de toneladas de resíduos por ano, os quais apresentam uma grande potência para o reaproveitamento (ANEESH et al., 2020).

Na região Amazônica, os subprodutos gerados a partir da cadeia produtiva do açaí e da pesca do camarão são fontes de fibras naturais e quitina, respectivamente, mas que necessitam de algumas transformações tecnológicas para gerar novos produtos e materiais de alto valor agregado.

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart) é um fruto de grande apreciação regional e que tem ganhado cada vez mais espaço no mercado internacional. No entanto, sua cadeia produtiva gera grandes quantidades de subprodutos que são tratados como rejeitos. Estes são compostos em sua maioria por sementes envoltas de fibras lignocelulósicas. Dentre as principais destinações dadas para estes resíduos estão a geração de energia (COSTA et al., 2020), formulação de produtos utilizados na construção civil (MARVILA et al., 2020; AZEVEDO et al., 2021) e biocarvão (*biochar*) (SATO et al., 2019).

No estado do Amapá, não há produção de camarão advinda da carcinicultura ou pesca industrial. Os recursos pesqueiros são provenientes da pesca artesanal no estuário amazônico por comunidades e povos tradicionais que residem naquela região (FUNDO VALE, 2018). As espécies de maior interesse econômico para o estado são o camarão-da-Amazônia

(*Macrobrachium amazonicum* HELLER, 1862) e o camarão pitú (*Macrobrachium carcinus*) (PINTO, 2014; LIMA; SANTOS, 2015).

Os resíduos oriundos do processamento do camarão são ricos em componentes como proteínas e quitina. Diversos trabalhos têm mostrado diferentes formas de reaproveitamento desses resíduos: produção de ração animal (CUNHA et al., 2006); fertilizantes ou adubos orgânicos, e utilização de biorrefinarias para reaproveitamento de compostos de maior valor agregados presentes nos resíduos (SEABRA et al., 2014; ANEESH et al., 2020).

A quitosana pode ser isolada por métodos biológicos e químicos (HUANG et al., 2108; DOAN et al., 2019; TOLESA; GUPTA; LEE, 2019). Dentre as propriedades de interesse deste copolímero estão sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioatividade, o que garante seu uso nas mais diferentes áreas, tais como a agricultura, cosméticos, medicina (ANDRADE et al., 2012; SRINIVASAN; KANAYAIRAM; RAICHANDRAN, 2018), indústria alimentícia e tratamento de água (ALI e al., 2018; BOUDOUAIA; BENGHAREZ; JELLALI, 2019).

Filmes produzidos com quitosana têm sido há algum tempo objeto de avaliações práticas. No entanto, a maioria dos processos de obtenção desses filmes ainda é rudimentar, conferindo irregularidades quanto sua forma e heterogeneidade (ASSIS et al., 2009). Além disso, eles apresentam propriedades físicas e mecânicas inadequadas, como fragilidade, baixa permeabilidade e deformação térmica, fatores que limitam sua aplicação (NASCIMENTO et al., 2013).

A incorporação de micro e nanofibras de celulose em várias matrizes poliméricas, incluindo a quitosana, fornecem materiais com propriedades mecânicas, térmicas e de barreira superiores e transparência (ALMEIDA et al., 2010; FERNANDES et al., 2010; STEFANESCU; DALY; NEGULESCU, 2012; FALAMRZPOUR; BEHZAD; ZAMANI, 2017). Estas podem ser obtidas de diferentes fontes vegetais e bactérias específicas (TAOKAEW et al., 2013; WIDIYANTI; JABBAR; RUDYARDJO, 2017; ADEL et al., 2019; BAGHERI et al., 2019; VENTURA-CRUZ; TECANTE, 2019).

Estudos envolvendo nanofibras de celulose a partir dos resíduos do açaí ainda são escassos. Braga et al. (2021) mostraram que essas estruturas quando adicionadas a matriz de quitosana conferem melhorias nas propriedades físicas e mecânicas dos nanoestruturados dependendo da concentração de reforço aplicada.

De igual forma, filmes de quitosana a partir de resíduos de camarão de água doce ainda são limitados. Em se tratando do gênero *Macrobrachium*, a literatura destaca as

espécies *M. jelskii* e *M. rosebergiil*, por exemplo (CAMPANA-FILHO et al., 2007; ASSIS, 2009; HENNING, 2009).

Assim, a produção de filmes nanoestruturados a partir de resíduos de camarões do estuário amazônico e resíduos do açaí processados no Amapá apresenta-se como uma alternativa para redução dos impactos gerados pela sua disposição incorreta, além de contribuir para a geração de renda ao agregar valores a esses subprodutos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Quitina

O termo quitina é derivado da palavra grega “χιτων” (*Quiton*) que significa túnica ou cobertura, justamente por fazer parte da estrutura da carapaça de alguns artrópodes. Registros mostram que em 1811, o cientista francês Henri Braconnot isolou quitina a partir de leveduras. Mais tarde, em 1823, outro cientista francês isolou quitina da carapaça de caranguejo, sugerindo que esse polissacarídeo fazia parte da estrutura do exoesqueleto desses animais (SALABERRIA; LABIDI; FERNANDES, 2015).

Depois da celulose, a quitina é considerada o polissacarídeo mais abundante na natureza. Contudo, por ter solubilidade limitada em muitos solventes orgânicos, foi um recurso subutilizado por muitos anos, em comparação a outros polissacarídeos (SALABERRIA; LABIDI; FERNANDES, 2015). Estas duas moléculas apresentam estruturas similares (Figura 1), com diferenças no grupo presente no C-2. Na quitina, o grupo acetamida (NH-CO-CH_3) está ligado a esse carbono, enquanto que na celulose está o grupo hidroxila (OH) (Figura 1) (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

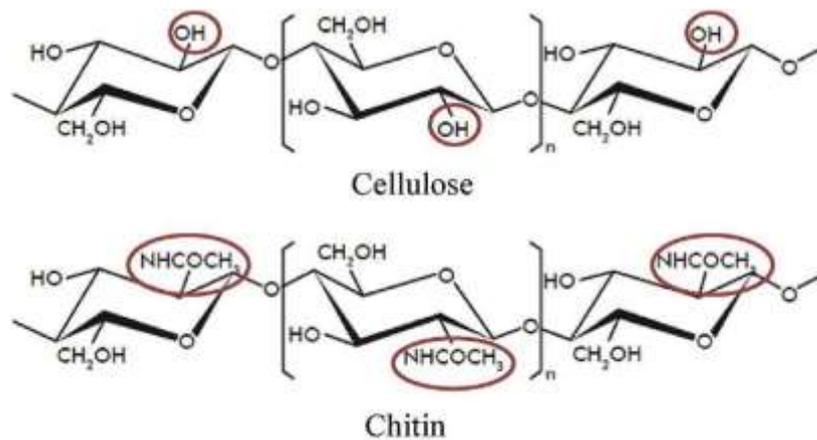


Figura 1 - Comparação entre as estruturas das cadeias poliméricas da quitina e da celulose. Fonte: (PINTO, 2014).

A quitina pode ser encontrada em diferentes fontes na natureza como na matriz esquelética de invertebrados, como *Arthropoda*, *Annelida*, *Mollusca* e *Coelenterata*, em algas *Diatomáceas*, e paredes celulares de alguns fungos, como *Ascomycetos*, *Zigomycetes*, *Eusomycetes* e *Deuteromycetos* (PINTO, 2014; VIÉGAS, 2016).

Toda quitina produzida comercialmente é obtida a partir de resíduos da indústria de processamento de crustáceos (cascas de camarão e carapaças de caranguejos) em várias partes do mundo, incluindo os EUA, Japão e Antártica. O polímero também é produzido em escala na Índia, Noruega, Canadá, Itália, Polônia, Chile e Brasil (ANDRADE et al., 2012). A quitina encontra-se associada a outros materiais, tais como proteínas, materiais inorgânicos, pigmentos e lipídeos (PINTO, 2014; RIBEIRO, 2017). Em seu estado puro apresenta-se com coloração branca ou amarelada, sendo também inodora e insípida (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

Os resíduos da indústria do camarão podem chegar até 50% do volume total da matéria-prima. Tem-se, portanto, que a reutilização da quitina oriunda do resíduos da indústria do pescado é muito importante do ponto de vista ambiental e econômico, uma vez que elimina os resíduos do ambiente e contribui na redução do custo final de produção em até 60%. A parte do camarão comumente utilizada para a extração da quitina é o cefalotórax que apresentam em sua composição 15 a 25% de quitina, 40 a 45% de carbonato de cálcio e 25 a 40% de proteínas (ANTONINO, 2007; PINTO, 2014).

2.1.1 Características físico-químicas, propriedades e aplicações

A quitina é um polissacarídeo que consiste em ligações glicosídicas de forma linear ou ramificada entre dois monossacarídeos adjacentes 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-glicose, unidos por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$. A presença de grupos acetil, amino e hidroxil na cadeia polissacarídica torna a quitina altamente agregada, devido à formação de ligações de hidrogênio intramolecular, tornando-a insolúvel em todos os solventes comuns, como água, solventes orgânicos, soluções ácidas ou básicas (ROY et al., 2017). No entanto, pode ser solubilizada em alguns solventes, como hexafluoroisopropanol, hexafluoroacetona e cloroalcoois em conjunto com soluções aquosas de ácidos minerais e dimetilacetamida contendo cloreto de lítio a 5% (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

Três diferentes polimorfos da quitina podem ser encontrados na natureza, de acordo com o organismo fornecedor e da função que desempenham: α -, β - e γ - (EL KNIDRI et al., 2018). Na α -quitina, as cadeias poliméricas estão dispostas de forma antiparalela, o que favorece o estabelecimento de numerosas ligações inter e intramoleculares, além das ligações inter e intrafolhas, gerando denso empacotamento. Esse tipo de quitina é geralmente isolada

do exoesqueleto de crustáceos, particularmente de camarões e caranguejos, a qual está associada a proteínas e materiais inorgânicos (AL SAGHEER et al., 2009).

Na conformação β , todas as cadeias estão na mesma direção e paralela. A conformação γ é uma variante da família α em que duas cadeias paralelas, adjacentes e unidirecionais são dispostas com uma cadeia direcional oposta (WANG et al., 2013). β -quitina e γ -quitina podem ser encontrados em estruturas mais flexíveis e com menor rigidez, como gládios de lulas e paredes celulares de alguns fungos e leveduras, respectivamente (CUONG et al., 2016). Na Figura 2 são exemplificados os três diferentes polimorfismos da quitina.

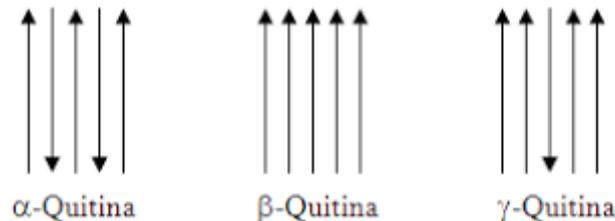


Figura 2 - Diferentes conformações da estrutura da quitina.
Fonte: Adaptado de Roy et al. (2017).

Dentre as propriedades de interesse desse polissacarídeo, estão sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioatividade, que garantem seu uso nas mais diferentes áreas, tais como a agricultura, cosméticos, medicina e tratamento de efluentes. Wang et al. (2013) analisando as propriedades térmicas e cristalinidade da quitina presente nas cascas do camarão da Antártica (*Euphausia superba*) verificaram que o seu potencial de aplicação está relacionado à sua estrutura cristalina e propriedades térmicas. Visto que essas macromoléculas possuem grande capacidade de retenção de água e força da interação água-polímero. As moléculas de água formaram fortes ligações de hidrogênio com cadeia de polissacarídeo e eram difíceis de evaporar, conferindo maior estabilidade térmica a quitina (WANG et al., 2013). O uso industrial da quitina em larga escala é pequeno quando comparado aos da celulose. No entanto, alguns segmentos do mercado já aproveitam derivados desta, como a quitosana (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

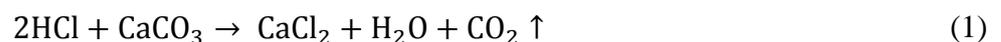
2.1.2 Obtenção

A quitina pode ser isolada de diferentes fontes na natureza pelos mais diferentes métodos. Geralmente, a extração desse polissacarídeo a partir das cascas de camarão compreende três etapas sequenciais de tratamento químico, a fim de remover substâncias associadas: desmineralização, desproteíntização e despigmentação/desodorização (ALCALDE; FONSECA, 2016). O isolamento da quitina do crustáceo requer a remoção dos dois principais constituintes da casca, proteínas por desproteíntização e carbonato de cálcio inorgânico por desmineralização, juntamente com pequenas quantidades de pigmentos e lipídios que geralmente são removidos durante as duas etapas anteriores.

Muitos trabalhos têm descrito a extração da quitina sob as mais diversas condições (EL SAGHEER et al., 2009; BIROLI; DELEZUK; CAMPANA-FILHO, 2016; ZAHEDI; SAFAEI GHOMI; SHAHBAZI-ALAVI, 2018). A desmineralização e a desproteíntização podem ser realizadas por meio de tratamentos químicos ou enzimáticos. De acordo com Younes e Rinaudo (2015), a ordem dos processos pode ser invertida com algum benefício, principalmente quando o tratamento enzimático é considerado. A fermentação microbiana também é empregada, mas, nesse caso, as etapas de desproteíntização e desmineralização são processadas simultaneamente.

O maior problema encontrado na extração da quitina é seu modo de preparo, pois é difícil obter quitina com as mesmas características da sintetizada anteriormente, como exemplo, a massa molar e o grau de acetilação (ANTONINO, 2007).

A desmineralização ocorre por meio de tratamento ácido, com reagentes como ácido clorídrico (HCl), ácido nítrico (HNO₃), ácido sulfuroso (H₂SO₃), ácido acético (CH₃COOH) e ácido fórmico (HCOOH), sendo o HCl o mais utilizado em diferentes concentrações (ANTONINO, 2007; YOUNES; RINAUDO, 2015). Esta etapa é facilmente alcançada porque envolve a decomposição do carbonato de cálcio nos sais de cálcio solúveis em água com a liberação do dióxido de carbono (Equação 1).



Os tratamentos de desmineralização são geralmente empíricos e variam com o grau de mineralização de cada casca, tempo de extração, temperatura, tamanho de partícula, concentração de ácido e razão soluto/solvente (YOUNES; RINAUDO, 2015). A

desproteção é realizada por meio de soluções alcalinas, incluindo hidróxido de sódio (NaOH), carbonato de sódio (Na₂CO₃), bicarbonato de sódio (NaHCO₃), hidróxido de potássio (KOH), carbonato de potássio (K₂CO₃), hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂), sulfito de sódio (Na₂SO₃), bissulfito de sódio (NaHSO₃), bissulfito de cálcio (CaHSO₃), fosfato trissódico (Na₃PO₄) ou sulfureto de sódio (Na₂S). As condições reacionais variam em cada estudo, porém o NaOH é o reagente mais utilizado nessa etapa. O seu uso invariavelmente resulta em desacetilação parcial de quitina e hidrólise do biopolímero, diminuindo seu peso molecular.

A despigmentação consiste na retirada de substâncias como astaxantina, conteúdo carotenoide presente na estrutura esquelética de crustáceos (PINTO, 2014; RIBEIRO, 2017). Esta etapa pode ser realizada por meio de soluções de permanganato de potássio (KMnO₄), hipoclorito de sódio (NaClO), dióxido de enxofre (SO₂), NaHSO₃, Na₂SO₃ ou peróxido de hidrogênio (H₂O₂).

2.1.3 *Desacetilação da quitina*

O grau de desacetilação é geralmente definido como a razão glucosamina/N-acetilglucosamina, que aumenta à medida que a quitina é convertida em quitosana. A medida do grau de desacetilação (GD) auxilia na definição do polímero como quitina ou quitosana. Quando o GD é superior a 50% a quitina torna-se solúvel em solução aquosa ácida e é chamada de quitosana (ROY et al., 2017).

A quitosana pode ser obtida em diferentes formas, tais como soluções de viscosidade controlada, géis, filmes e membranas, microesferas e nanopartículas (VIÉGAS, 2016). Quitosanas comerciais apresentam GD variando entre 66% e 95%, o que influencia nas suas propriedades físico-químicas e biológicas. Portanto, faz-se necessário sua determinação para o conhecimento do teor dos grupos N-desacetilados e de grupos amino presentes na cadeia polimérica (CARVALHO, 2017).

A desacetilação pode ocorrer por meio do método químico ou enzimático. Contudo, os métodos químicos são amplamente utilizados devido ao seu baixo custo e adequação à produção em massa (YOUNES; RINAUDO, 2015). Neste caso, é utilizada solução alcalina, geralmente NaOH, sob temperaturas elevadas, acima de 100 °C (MOURA, 2014; RIBEIRO, 2017).

No mecanismo de desacetilação (Figura 3), os grupos N-acetila são quebrados em contato com a solução alcalina e ocorre a formação das unidades de D-glucosamina, as quais contêm grupos amínicos livres. A desacetilação é controlada por alguns fatores, tais como a velocidade da desacetilação, a distribuição das unidades desacetiladas ao longo da cadeia e a massa molar. Além disso, a concentração alcalina, a relação entre quantidade de solução e a quantidade de quitina, o tempo e a temperatura também são relevantes (MOURA, 2013)

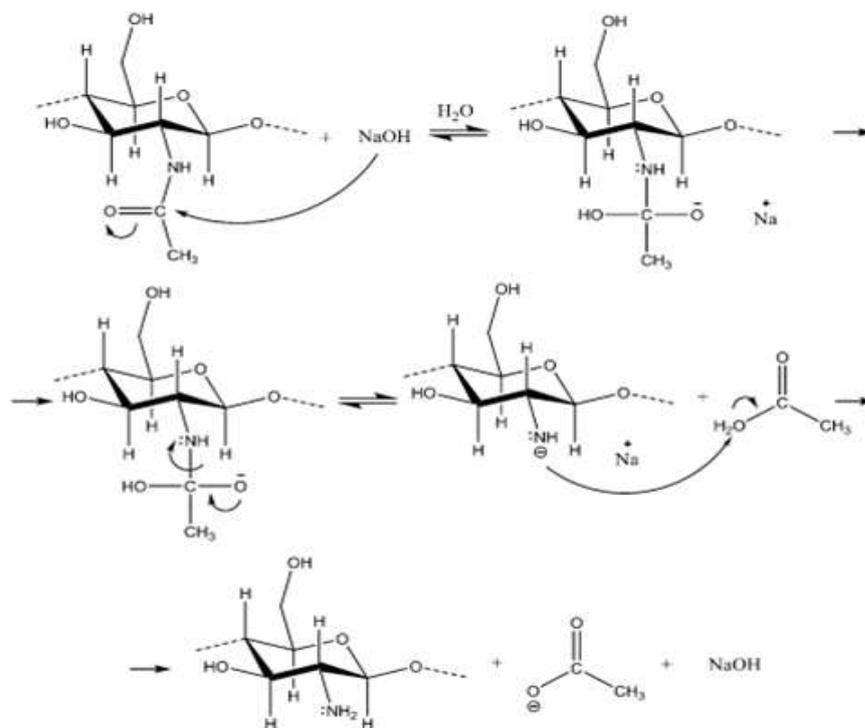


Figura 3 - Mecanismo de desacetilação da quitina por hidrólise alcalina. Fonte: (RIBEIRO, 2017).

2.2 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo linear que contém copolímeros de D-glucosamina (unidades desacetiladas) e N-acetil-D-glucosamina (unidades acetiladas) ligadas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ (Figura 4). Ela é obtida a partir da desacetilação parcial da quitina (ALVARENGA, 2011; HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

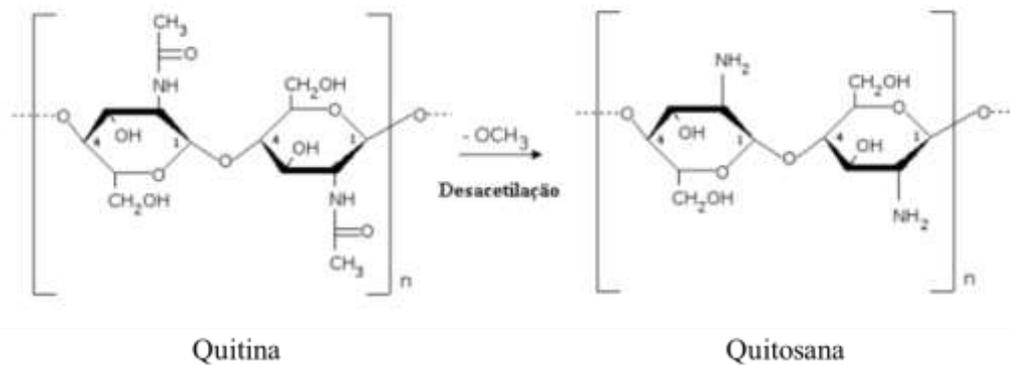


Figura 4 - Estrutura da quitina e quitosana.
 Fonte: (Adaptado de Regattieri e Sena e Filho (2016)).

As propriedades físico-químicas da quitosana dependem da quantidade de grupos aminos protonados na cadeia polimérica e, portanto, da proporção de unidades acetiladas e não-acetiladas de D-glucosamina (ALVARENGA, 2011). Os grupos aminos (pKa de 6.2 a 7.0) são completamente protonados em ácidos com pKa menor que 6.2, tornando a quitosana solúvel. Dessa forma, esta é solúvel em soluções ácidas diluídas, como ácido acético, nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico. Por outro lado, é insolúvel em água, solventes orgânicos e bases aquosas (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

A presença de grupos aminos garante à quitosana carga positiva, que em conjunto com outras propriedades, tais como biodegradabilidade, atoxicidade, biocompatibilidade, alto peso molecular e atividades antimicrobiana e antitumoral, permitem que esta seja utilizada nas mais diversas áreas, tais como indústria alimentícia, biotecnologia, tratamento de efluentes, agricultura, setor farmacêutico e setor biomédico de imobilização enzimática (ARREBATO et al., 2010; KUMARI; RATH, 2014).

2.3 Celulose

A celulose é o polímero natural mais abundante na natureza e pode ser sintetizada por fungos (criaturas marinhas), fungos e bactérias em condições de cultura específicas, ou obtida das plantas. Portanto, é uma matéria prima de fonte renovável, atóxica e relativamente de baixo custo (GIBSON, 2012; NUNES, 2014). A unidade de repetição da celulose é a celobiose (Figura 5), um dissacarídeo representado por duas unidades de anidro-D-glicose ($C_6H_{10}O_5$) unidas por ligação glicosídica $\beta(1-4)$, com ângulos de 180° , que confere rigidez às

cadeias e as orienta convenientemente para o estabelecimento de ligações de hidrogênio intramolecular (GIBSON, 2012; NUNES, 2014; PORTELLA, 2018).

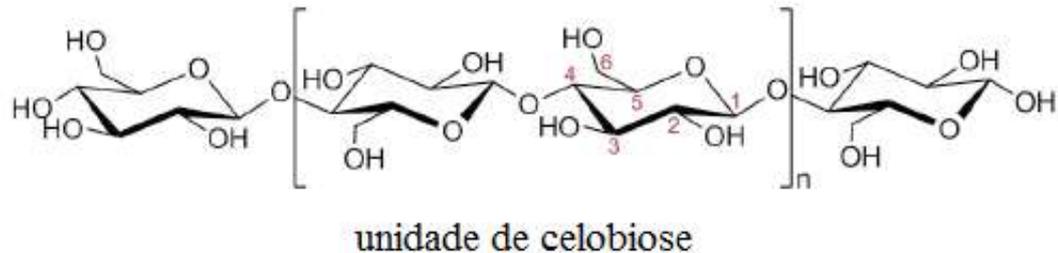


Figura 5 - Estrutura molecular da celulose com destaque para sua unidade de repetição, a celobiose.

Fonte: (BÖRJESSON; WESTMAN, 2015).

As cadeias de celulose são essencialmente lineares e contém cerca de 7.000 a 15.000 unidades de monômeros de glucose. As moléculas de celulose se alinham para formar microfibrilas, com diâmetros de cerca de 3-4 nm, as quais possuem regiões cristalinas em maior proporção interligadas por regiões não cristalinas (Figura 6). As microfibrilas, juntamente com outros materiais não celulósicos, se unem para formar as paredes celulares da fibra vegetal. Elas reforçam a matriz de hemiceluloses e lignina ou pectina em uma ou mais camadas, com a fração volumétrica e a orientação variando em cada uma destas (EICHHORN et al., 2010; GIBSON, 2012; NUNES, 2014).

As regiões cristalinas apresentam elevada ordenação, estabilizadas por ligações de hidrogênio intramoleculares, sendo uma área da fibra com maior dificuldade de acesso de catalisadores em processos hidrolíticos. Além disso, conferem rigidez, aumento de densidade e resistência à tração às fibras. Já as regiões amorfas apresentam uma estrutura desorganizada, o que proporciona acesso facilitado de agentes hidrolíticos na desconstrução desse material (SIMPLICIO, 2017; PORTELLA, 2018).

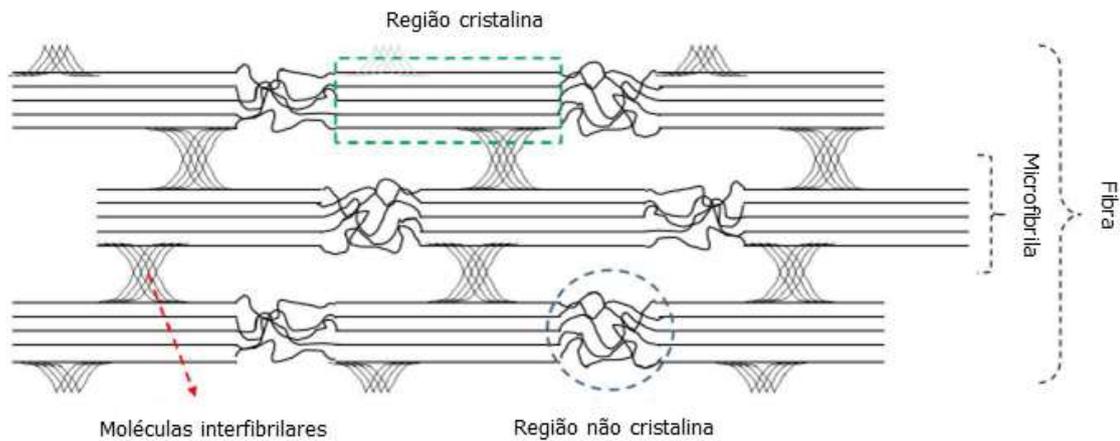


Figura 6 - Representação das estruturas de microfibrilas de celulose.
Fonte: Börjesson e Westman (2015).

2.4 Nanofibras de celulose

A definição de nanofibras de celulose ainda é diversa na literatura, visto que ao longo dos anos têm sido utilizados diferentes termos que descrevem as diferentes escalas de celulose, bem como os seus métodos de obtenção (NUNES, 2014).

A celulose microfibrilada (*MFC-microfibrilated cellulose*) ou microfibrilas e NFC (*nanofibrillated cellulose*) ou nanofibras são obtidas pelo método mecânico e apresentam uma de suas dimensões inferiores a 100 nm, requisito necessário para serem considerados materiais nanométricos (NUNES, 2014). Outra literatura, definiu nanofibras de celulose obtidas por desintegração mecânica como materiais com diâmetro compreendido entre 5 e 20 nm e comprimento entre 2 e 10 μm (SEHAQUI et al., 2011).

Nanofibrila de celulose é outro termo utilizado para estruturas obtidas por um por meio de um processo mecânico de desintegração da celulose. Este processo ocasiona um aumento da superfície externa, possibilitando uma maior área de contato e maior capacidade de gerar fortes ligações de hidrogênio entre as microfibrilas da parede celular, produzindo um material com alta resistência. Outros termos como *nanowhiskers*, nanocristais, cristais de celulose ou apenas *whiskers* referem-se às nanopartículas de celulose hidrolisadas em condições controladas que levam à formação de estruturas altamente cristalinas. Essas estruturas são obtidas por meio de hidrólise ácida (NUNES, 2014; POTULSKI et al., 2016).

As nanofibras obtidas pelo método mecânico ou químico apresentam características distintas em virtude da sua fonte de celulose, visto que as dimensões das fibras, composição e estrutura da parede celular e o percentual de celulose, hemiceluloses e lignina variam entre espécies vegetais (SEHAQUI et al., 2011; NUNES, 2014).

A celulose nanofibrilada é um material com as características já mencionadas, além de ecologicamente correto e renovável. Além do mais, as fontes das quais podem ser obtidas são de baixo custo e alta disponibilidade na natureza. As principais características de interesse das nanofibras de celulose é sua elevada área específica e excelentes propriedades mecânicas. Além do mais, quando incorporada a outras matrizes garante melhorias das suas propriedades físicas e mecânicas (DENG; JUNG; ZHAO, 2017; GOUW et al., 2017; AHMADI et al., 2019).

A abundância de aplicações e possíveis variações nas propriedades dos materiais em que a celulose nanofibrilada é aplicada justificam o interesse cada vez maior em estudos que proporcionem o conhecimento das principais propriedades e características deste tipo de nanocelulose (POTULSKI et al., 2016).

2.5 Biocompósitos e filmes a base de polissacarídeos

Compósitos são materiais constituídos por uma fase contínua denominada matriz (que pode ser metálica, cerâmica ou polimérica) e por uma fase descontínua denominada fase dispersa (fibras contínuas, fibras picadas ou partículas), as quais conferem propriedades mecânicas, térmicas, elétricas e ópticas diferenciadas a matriz (MORAES, 2010). Estes materiais tendem a apresentar características melhoradas em relação aos seus constituintes originais (BRAGA, 2019). Dependendo do tipo de reforço, os compósitos classificam-se em: fibrosos (composto de fibras na matriz), laminares (composto por camadas de materiais) e particulados (composto de partículas em uma matriz) (GEHLEN, 2014). Quando um dos componentes dos compósitos apresenta pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica, o material passa a ser considerado como nanocompósito. Desta forma, nanocompósitos são materiais híbridos, cujo reforço apresenta elevada área superficial, resultando em intensa interação com a matriz (ASSIS et al., 2012).

Os filmes poliméricos sofrem degradação pela ação de micro-organismos. Caracterizam-se por serem materiais de fina espessura, preparados a partir de macromoléculas biológicas, que agem como barreira a elementos externos (umidade, gases e óleos), protegendo produtos embalados e aumentando sua vida de prateleira. Adicionalmente, podem

carregar compostos antimicrobianos e antioxidantes, sendo denominados filmes ativos (ASSIS, 2009; SILVA, 2009; UGALDE, 2014).

Existem diversas técnicas para a deposição de filmes como *dip-coatinge spin-coatinge casting*. A técnica de *castingé* baseada no espalhamento da solução precursora da amostra sobre um substrato (geralmente uma placa de vidro), sendo a mais utilizada em escala laboratorial. Contudo, a produção de filmes a partir de *casting* contínuo mostrou que os filmes obtidos apresentaram propriedades físicas, mecânicas e térmicas (CLARO et al., 2019). No *casting* em escala laboratorial, a espessura do filme exige bastante atenção, visto que a ela é diretamente dependente da viscosidade da solução (VIÉGAS, 2016).

Dentre os diversos polímeros naturais que podem ser utilizados na produção de filmes estão os lipídeos, proteínas e polissacarídeos (TRINDADE et al., 2011). Sua elaboração envolve a utilização de diversos componentes, cada qual com sua finalidade específica (MARGARITA; RITA; MENEGALLI, 2011; UGALDE, 2014).

Os filmes obtidos a partir de polissacarídeos de alto peso molecular são classificados em três categorias (Figura 7) baseados na natureza de seus componentes: em hidrocolóides (polissacarídeos, proteínas), lipídeos (ácidos graxos, ceras) ou compósitos (combinação de substâncias a partir de dois polissacarídeos, por exemplo) (PAGNO, 2016).

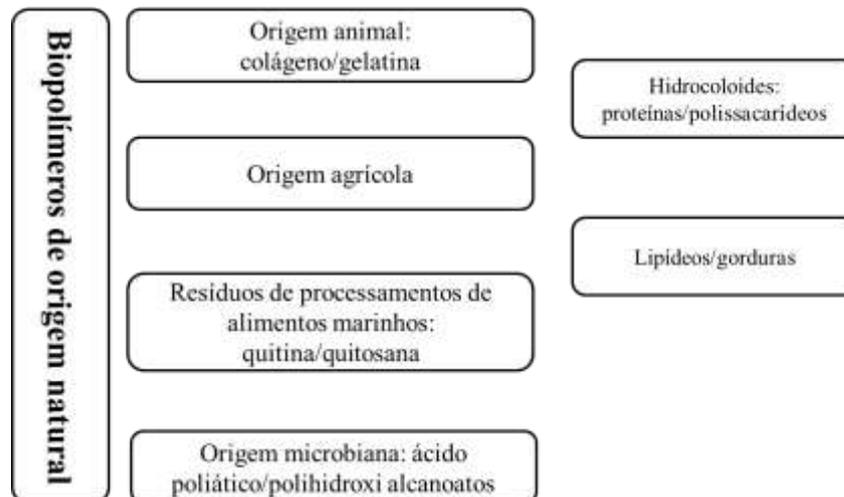


Figura 7 - Biopolímeros de ocorrência natural.
Fonte: (Adaptado de UGALDE, 2014).

De acordo com Viégas (2016), o maior desafio no uso dos filmes sustentáveis é que eles mantenham a mesma qualidade dos filmes sintéticos, no que se refere às características mecânicas e de barreira. A sua funcionalidade e desempenho dependem, entre outras, de suas propriedades óticas, térmicas e microestruturas, as quais dependem da composição e do seu processo de formação (PELISSARI, 2009).

Dentre os vários materiais disponíveis para a formação de filmes biodegradáveis, quitosana tem recebido atenção especial em função das excelentes propriedades de formação de gel, capacidade filmogênica e boa barreira ao oxigênio e dióxido de carbono (PELISSARI, 2009; CARVALHO, 2017). Somada a estas propriedades, o seu uso promissor se consolida na formulação de revestimentos para alimentos, devido à sua atividade antimicrobiana e suas características de atoxicidade (VIÉGAS, 2016).

Alguns estudos têm sugerido o uso da quitosana como revestimento de frutos a fim de prolongar seu tempo de prateleira, seja na forma isolada ou misturada com bactericidas (CÉ, 2009; PAGNO, 2016), produção de filmes nanoestruturados utilizados para revestimento e conservação de alimentos industrializados (UGALDE 2014).

Filmes de quitosana podem ser misturados a outras matrizes a melhorar suas propriedades físico-químicas e biológicas. Desta forma, filmes de quitosana com reforço de nanofibras de celulose se apresentam como uma boa alternativa para produção de biocompósitos, em razão das características semelhantes da cadeia polimérica desses polissacarídeos, fazendo com que a matriz polimérica e a carga interajam positivamente (CARVALHO, 2017).

2.6 Resíduos da pesca e agroflorestais

A aquicultura, criação de animais aquáticos (peixes, moluscos e crustáceos) e algas marinhas, é o setor de produção de alimentos que mais cresce no mundo, com uma taxa de crescimento anual média de 5,8% durante o período de 2000 a 2016 (FAO, 2018). Contudo, há grande preocupação no que se refere à sustentabilidade dessa atividade, uma vez que são geradas grandes quantidades de resíduo, tanto pela prática de cultivo, quanto pelo pós-processamento do pescado (CHOPIN et al., 2012; AHMED; THOMPSON, 2019).

Cerca de 45% dos frutos do mar processados são constituídos por camarão, cujos resíduos são compostos pelo exoesqueleto, cefalotórax, cauda e carapaça, e representam 48-56% da massa da matéria-prima (GORTARI; HOURS, 2013). Esses resíduos podem ser

reaproveitados de diferentes formas, incluindo: produção de ração animal (CUNHA et al., 2006); fertilizantes ou adubos orgânicos, aproveitamento de compostos bioativos maior valor agregado por meio de técnicas de biorrefinaria, tais como proteínas, astaxantinas, quitina e quitosana (SEABRA et al., 2014; ANEESH et al., 2020).

A principal parte do camarão utilizada para o isolamento da quitina é o cefalotórax, que é composto em média de 25-40% de proteínas, 40-45% de carbonato de cálcio e 15-20% de quitina (PINTO, 2014). Contudo, esses valores podem variar função do organismo e da sazonalidade do ecossistema em que estão inseridos (RIBEIRO, 2017).

No estado do Amapá, os resíduos da pesca do camarão são subutilizados e apresentam-se como causadores de problemas ambientais e sanitários. No estado, não há produção advinda da aquicultura ou pesca industrial. Os recursos pesqueiros são provenientes da pesca artesanal no estuário amazônico por comunidades e povos tradicionais que residem naquela região (FUNDO VALE, 2018). Os pescados são distribuídos, por intermediários, em bares, restaurantes, feiras livres, comércios e aos consumidores finais (LIMA; SANTOS, 2014).

De acordo com Lima e Santos (2015), em 2014, a massa total de camarão comercializado nas feiras de Macapá e Santana foi de aproximadamente 312 toneladas, somando as formas vendidas *in natura* e salgadas. As espécies de maior interesse econômico para o estado são o camarão-da-Amazônia (*Macrobachiumamazonicum* HELLER, 1862) e o camarão pitu (*Macrobrachiumcarcinus*). Outras espécies, como *M. surinamicum* e *Acetusamericanus* (camarão aviú) são comercializados em menores quantidades, sendo que o primeiro é vendido como fauna acompanhante do *M. amazonicum*.

Além dos resíduos da pesca, a geração de resíduos provenientes da biomassa agroflorestal, por exemplo, resíduos do processamento do açaí, podem causar problemas socioambientais, como o assoreamento e a contaminação dos cursos d'água e poluição do ar durante a sua queima a céu aberto.

Compostos principalmente por caroços envoltos de fibras lignocelulósicas, estes resíduos têm sido subaproveitados. Contudo, os novos avanços no campo da tecnologia favorecem fortemente o uso de celulose descartada na produção de nanofibras e no desenvolvimento de novos materiais (BUFALINO et al., 2015).

Os resíduos do processamento do açaí possuem grande potencial na aplicação como reforço de compósitos, pois apresentam vantagens no que se refere à resistência física e mecânica, além da possibilidade de desenvolver produtos mais leves de baixo custo e menor densidade (ALMEIDA et al., 2017; BRAGA et al., 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Desenvolver filmes nanoestruturados baseados em matriz de quitosana provenientes da casca de camarão de duas espécies da Amazônia (*M. amazonicum* e *M. carcinus*) reforçados com nanofibrilas de celulose (CNF) extraídas do mesocarpo do caroço do açaí com propriedades adequadas para aplicações de revestimento.

3.2 Específicos

- Verificar qual dentre as espécies de camarão testadas geram quitosana com maior grau de desacetilação e em maior rendimento;
- Avaliar a influência das diferentes concentrações de nanofibrilas de celulose (CNF) provenientes do resíduo do açaí na qualidade de compósitos a base de quitosana isolada de duas espécies de camarão, em comparação com filmes compostos 100% de nanofibrilas de açaí e 100% de matriz de quitosana não reforçada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção, pré-tratamento e caracterização dos resíduos do camarão

A quitina foi isolada a partir das cascas dos camarões das espécies *M. amazonicum* (Figura 8a), conhecido popularmente na região como camarão-da-Amazônia, e *M. carcinus*, camarão Pitu (Figura 8b), oriundos do Distrito do Bailique. As amostras foram obtidas na Feira do Agricultor do Perpétuo Socorro, na cidade de Macapá-AP.



Figura 8 - (a) *M. amazonicum*; (b) *M. carcinus* frescos.

As partes selecionadas para o isolamento da quitina foram as cascas do cefalotórax e do abdômen (Figura 9).



Figura 9 - Partes do camarão utilizadas para o isolamento da quitina.

As porções comestíveis e não comestíveis dos camarões foram separadas manualmente (Figura 10) e os resíduos foram quantificados de acordo com as Equações 2 a 5 e os resultados dados em porcentagem.



Figura 10 - Partes dos camarões (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus* separadas para quantificação dos resíduos.

$$PNC = \frac{M_t - M_c}{M_t} * 100 \quad (2)$$

$$PC = 100\% - PNC \quad (3)$$

$$PEX = \frac{PNC - Rej}{PNC} * 100 \quad (4)$$

$$REJ = PNC - PEX \quad (5)$$

Em que, PNC é a porção não comestível (%); M_t é a massa total (g); M_c é a massa da porção comestível (g); PC é a porção comestível (%); PEX representa as partes do exoesqueleto utilizada para isolamento da quitina (%) e REJ é porção de rejeito (%), composto por pernas, caudas, garras e cabeças.

As cascas foram lavadas em água corrente para retirada de resíduos presentes, seguida da lavagem com água deionizada e secas em estufa de secagem a 60 °C por 24 h. As amostras secas (Figura 11a) foram moídas em moinho analítico IKA[®] A11 Basic (Figura 11b) e submetidas à separação granulométrica com auxílio de peneiras em aço inoxidável (Figura 11c). O material retido na peneira de malha de 250 µm foi selecionado para dar andamento às demais etapas de isolamento da quitina.



Figura 11 - Etapa de pré-tratamento. (a) cascas secas; (b) equipamento utilizado na moagem das amostras e (c) separação granulométrica das cascas secas.

4.1.1 Desmineralização

As cascas moídas foram desmineralizadas em solução de ácido clorídrico (HCl) a 1,0 mol.L⁻¹. O processo foi conduzido sob aquecimento a 80 °C e agitação constante 120 rpm (Figura 12). A razão entre a massa de cascas dos camarões e volume de solução foi de 1:20 (m/v). O tempo de reação para remoção dos minerais foi de 2 h. Após esse período, a mistura foi filtrada, lavada com água deionizada até pH neutro e seca em estufa 60 °C durante 24 h.



Figura 12 - Desmineralização das cascas do (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus*.

A umidade e o teor de cinzas das cascas brutas e demineralizadas foram determinadas de acordo com Mohanet al. (2018), com adaptações. Para cada espécie, 0,5 g de material seco foi adicionado em cadinhos de porcelana e submetidos à combustão em forno mufla (NOVATECNICA NT 380) a 600 °C por 8 h. A quantidade de minerais, representada pelo teor de cinzas remanescentes (Equação 6), foi dada em porcentagem. Para determinação da umidade, 0,5 g de amostra foram secas em estufa a 130 °C por 2 h e o resultado foi dado em porcentagem.

$$\text{CR (\%)} = \frac{\text{massa cinzas (g)}}{\text{massa de amostra seca (g)}} * 100 \quad (6)$$

4.1.2 Desproteíntização

Para a remoção das proteínas, as amostras desmineralizadas foram tratadas com solução de NaOH na concentração de 1,0 mol.L⁻¹. O processo foi conduzido sob agitação e temperatura constantes, 120 rpm e 80 °C, respectivamente, por um período de 3 h (Figura 13a). A razão entre massa de amostra desmineralizada e solução alcalina foi de 1:20 (m/v). Passado o tempo de reação, a mistura (Figura 13b) foi filtrada, lavada com água deionizada até pH neutro (Figura 13c) e seca em estufa a 60 °C durante 24 h.



Figura 13 - Desproteinização das cascas *M. amazonicum*; (b) amostras após a desmineralização; (c) amostras filtradas e lavadas.

4.1.3 Despigmentação

A despigmentação da quitina foi realizada por reação em solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 35%. A razão de sólido/solução foi de 1:40 (m/v). O processo foi conduzido sob agitação constante (120 rpm) e temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$) por um período de 3 h (Figura 14). Em seguida, a mistura foi lavada com água deionizada até a neutralidade (pH 7) e seca em estufa a $60\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h.



Figura 14 - Depigmentação da quitina.

4.1.4 Extração da quitosana

A quitosana foi obtida por meio da desacetilação da quitina. Para tal, seguiu-se a metodologia proposta por Tokatli e Demirdovën (2017) com adaptações. O material seco obtido após a despigmentação foi suspenso em solução de NaOH a 40% (Figura 15) na proporção de 1:20 (m/v). O processo foi conduzido à temperatura de 105 °C e agitação constante de 120 rpm durante 4 h. Em seguida, o material foi filtrado, lavado com água deionizada até pH neutro e seco em estufa a 60 °C durante 24 h.

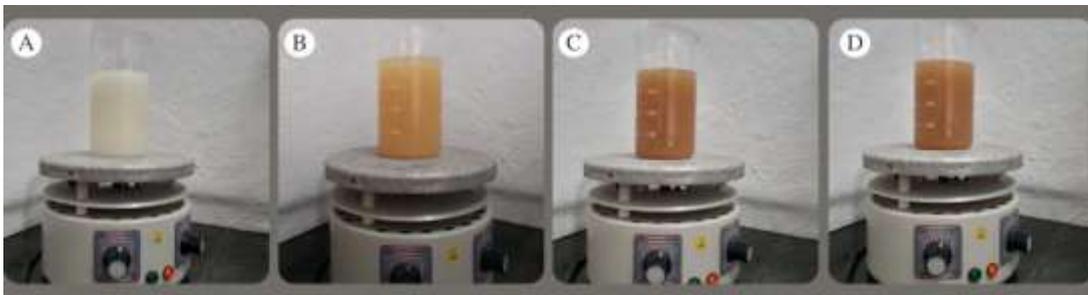


Figura 15 - Desacetilação da quitina durante a primeira (a), segunda (b), terceira (c) e quarta (d) hora de reação.

4.2 Caracterização da quitosana

4.2.1 Grau médio de desacetilação

O grau de desacetilação da quitosana foi determinado de acordo com Garcia et al. (2020), com adaptações. Amostras em triplicatas de 200 mg foram dissolvidas em solução padronizada de ácido clorídrico (HCl) a 0,05 mol.L⁻¹. A mistura foi titulada com solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,099 mol.L⁻¹ a 25 °C. A coleta dos dados titulométricos foi realizada através de um pHmetro (EVEN PHS-3E) para obtenção da curva típica de titulação potenciométrica. O grau médio de desacetilação (\overline{GD}) foi determinado de acordo com a Equação 8.

$$\overline{GD} = \left(\frac{161,16 \times (V_2 - V_1) \times M_{\text{NaOH}}}{m} \right) * 100 \quad (8)$$

Em que, GD é o grau médio de desacetilação (%); 161,16 é a massa molar média da unidade de repetição do polímero (constante igual a 161,16 gmol^{-1}); V_1 o volume em mL de titulante necessário para neutralização do ácido clorídrico; V_2 o volume em mL de titulante gasto para neutralizar os grupos amino ácidos (NH_3^+) presentes no polímero; ($V_2 - V_1$) o volume obtido entre os dois pontos de equivalência na curva de titulação; M_{NaOH} é a molaridade da solução de NaOH (titulante) e m é a massa em miligramas da amostra;

A validação estatística dos dados foi realizada por meio do estudo das derivadas das curvas de titulação. A projeção dos pontos obtidos na primeira derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta V$), relacionando variações de pH (ΔpH) e de volume de titulante (ΔV) foi avaliada pela formação de picos, em que os maiores picos apontam para os pontos de equivalência (V_1 e V_2), evidenciando, assim, os resultados com maior precisão. A projeção dos pontos obtidos na segunda derivada da curva, que relaciona a variação da primeira derivada [$\Delta(\Delta\text{pH}/\Delta V)$], permite confirmar os pontos de equivalência (GARCIA et al., 2020).

4.3 Obtenção das fibras do resíduo do açaí

O resíduo do açaí (Figura 16b) foi obtido logo após o processo de despulpa do fruto (Figura 16a) em um estabelecimento comercial localizado no município de Ananindeua, Pará (1°22'18"S 48°24'32"W), e transportado para a Universidade Federal Rural da Amazônia em saco plástico de 30 kg. O material foi lavado em água corrente e seco em condições naturais (Figura 16c) para remoção manual das fibras aderidas a superfície dos caroços, no Laboratório de Tecnologia de Produtos Florestais.



Figura 16 - Despulpamento do a) fruto do açaí, e resíduos b) contendo restos de polpa e c) após serem lavados.

4.4 Tratamentos químicos das fibras do açaí

O procedimento foi realizado segundo Braga et al. (2021). As fibras naturais (Figura 17a) foram mantidas imersas em água deionizada durante 24 h, antes de iniciar o tratamento alcalino. O tratamento foi realizado em uma solução aquosa de NaOH a 5% (m:m), sob agitação mecânica a 2600 rpm, com uma proporção de 1:100 (g fibras/mL de solução). Ao atingir temperatura de 80 °C, as fibras foram adicionadas à solução aquosa e ficaram sob agitação por 2 h (Figura 17b). Após finalização do processo e alcance da temperatura ambiente, as fibras foram lavadas com água deionizada até atingirem pH neutro. Retirou-se o excesso de água contido nas fibras para que fossem embaladas a vácuo e armazenadas em geladeira.

Em seguida, foi determinada a umidade de uma pequena amostra de fibras para descontar a massa de água e iniciar o branqueamento, que foi realizado duas vezes. A proporção utilizada foi de 1g de fibras alcalinizadas para 80 ml de solução 24 % H_2O_2 e 4 % NaOH, a uma temperatura de 60 °C, agitando durante 3 h (Figura 17c). As fibras branqueadas foram lavadas com água deionizada até pH neutro.

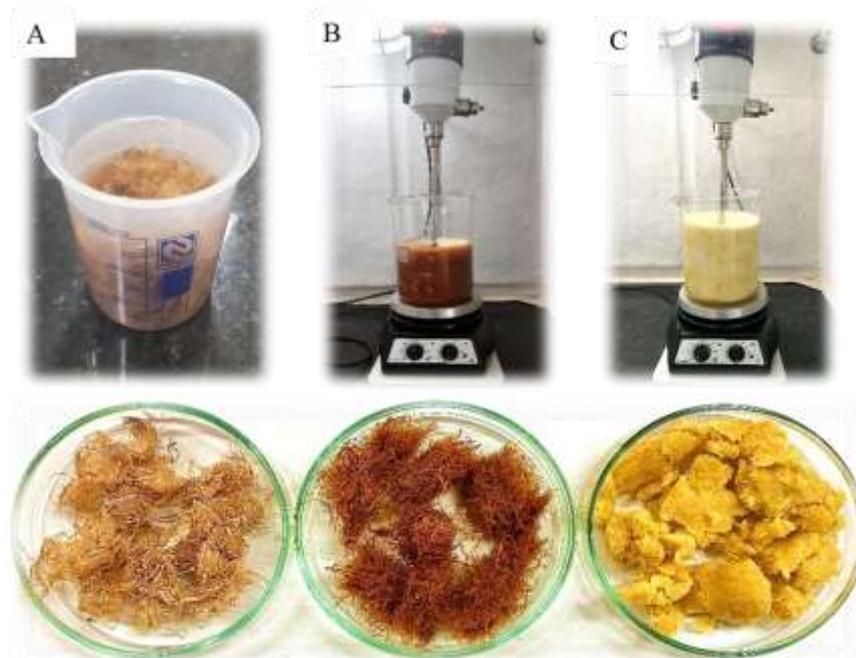


Figura 17 - Modificação das fibras lignocelulósicas a) *in natura*, por meio da b) alcalinização e c) branqueamento.

4.5 Produção dos filmes de celulose, quitosana e biocompósitos

4.5.1 *Produção de celulose nanofibrilada e filmes puros derivados*

Para a preparação da suspensão de celulose nanofibriladas (CNF) foram adicionados 36,5526 g de fibras branqueadas em 3 909 mL de água destilada. A mistura foi submetida a agitação mecânica a 700 rpm durante 1 h ao dia por três dias consecutivos em intervalos de 24 h.

Em seguida, a mistura passou por um processo mecânico de fibrilação para obtenção das nanofibrilas de celulose, utilizando um moinho Super Mass Colloider Grinder (Masuko Sangyo MKCA6-2, Figura 18a), com rotação do disco inferior de 1500 rpm e 5 passagens pelo equipamento, formando uma suspensão com concentração de 0,9% de CNF (Figura 18b).

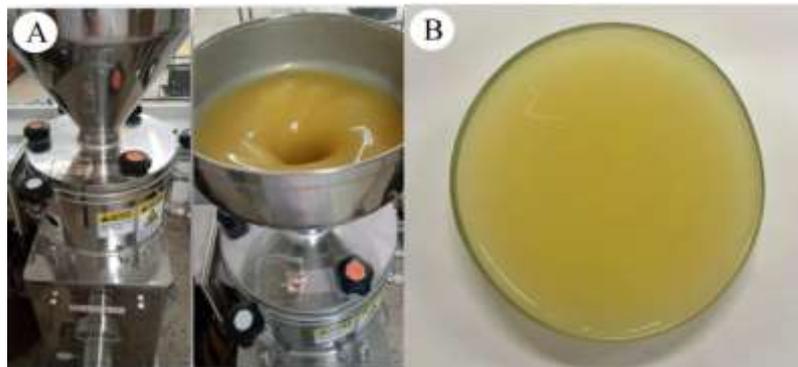


Figura 18 - (a) Produção de nanofibrilas de celulose em moinho grinder. (b) Suspensão de nanofibrilas de celulose.

A suspensão foi pesada e vertida em placas de Petri de poliestireno cristal a fim de alcançar a gramatura pré-definida, $15,67 \text{ g.cm}^{-2}$, que foi calculada de acordo com Magalhães e Claro (2018). As amostras foram colocadas em uma capela a temperatura ambiente ($25 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) até a secagem dos filmes. Estes foram então armazenados em um recipiente hermético até serem utilizados nas análises posteriores.

4.5.2 *Preparação dos filmes de quitosana puro*

Os filmes de quitosana foram preparados de acordo com Viégas (2016). 1 g de quitosana foi dissolvido em 100 mL de ácido acético a 1%. A solução ficou mantida sob agitação constante a 200 rpm durante 2 h com o auxílio de um agitador mecânico (Fisatom 713D) (Figura 19a). O processo foi conduzido em temperatura ambiente.

A solução filmogênica foi pesada e vertida em placas de Petri de poliestireno cristal (Figura 19b) a fim de alcançar a gramatura pré-definida. As placas foram armazenadas na capela até completa volatilização do solvente.



Figura 19 - (a) Preparação da solução filmogênica. (b) Determinação da massa da solução nas placas para preparo dos filmes.

4.5.3 *Preparação dos filmes nanoestruturados*

Os filmes nanoestruturados de quitosana/CNF foram produzidos a partir da suspensão de nanofibrilas incorporadas à solução de quitosana em diferentes concentrações, 0,50%, 1,00% e 2,00% (m/m), em relação à massa de quitosana seca.

Primeiramente, preparou-se a solução filmogênica de quitosana 1%, conforme descrito no tópico anterior. A suspensão de CNF foi incorporada à solução, que ficou mantida sob agitação constante (200 rpm) por mais 30 min, totalizando 2 h e meia de agitação. A solução foi pesada e vertida em placas de Petri de poliestireno cristal a fim de alcançar a gramatura pré-definida. Diferentes formulações de compósitos foram preparadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Formulações dos filmes puros e nanoestruturados.

Filmes	Origem da quitosana	Teor de CNF (%) de açaí	Tipo do filme
CNF	-	100%	100% CNF
QMA	<i>M. amazonicum</i>	0%	100% Quitosana
QMC	<i>M. carcinus</i>	0%	
QMA_CNF05	<i>M. amazonicum</i>	0,50%	Biocompósito
QMA_CNF1		1,00%	
QMA_CNF2		2,00%	
QMC_CNF05	<i>M. carcinus</i>	0,50%	
QMC_CNF1		1,00%	
QMC_CNF2		2,00%	

As placas foram mantidas na capela a temperatura ambiente (30 ± 5 °C) (Figura 20) até completa volatilização do solvente, que durou em torno de 4 a 6 dias.



Figura 20 - Secagem dos filmes em capela.

4.6 Caracterização dos filmes

4.6.1 *Análise Microestrutural por Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV*

Para a análise de microestrutura, amostras da superfície dos filmes foram montados em fitas de carbono e visualizados com microscópio eletrônico de varredura modelo HITACHI – TM3030PLUS pertencente ao Laboratório de Pesquisa em Fármacos do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde – UNIFAP, em uma voltagem acelerada de 20 kV.

4.6.2 *Microscopia de Força Atômica – AFM*

As características da superfície dos filmes foram estudadas através de AFM, modelo EasyScan 2 controler AFM & STM (nanosurf, Suíça) em modo *Tapping*, com varredura de 256x256 pixels em uma área de 50 μm^2 . O *cantilever* era do mesmo material, com constante elástica e frequência de ressonância de 48 N.m^{-1} e 190 kHz, respectivamente. As varreduras foram realizadas com umidade relativa de 45% a 23 ± 2 °C. Filmes ($\sim 1,0$ cm^2 de tamanho) foram fixados no porta-amostras com fita adesiva dupla-face, e quatro áreas escolhidas aleatoriamente (50 μm^2) de cada filme foram avaliadas.

Depois de gerar as imagens topográficas, as matrizes de altura, raiz quadrada média (RMS) rugosidade (S_q), rugosidade média (S_a), curtose (S_{ku}) e assimetria (S_{sk}) foram calculadas usando o software WSxM.

4.6.3 *Medidas de Espessura dos Filmes*

Os filmes foram cortados em tiras de 1,00 cm de largura por 7,50 cm de comprimento. As espessuras foram obtidas com um micrômetro digital Mitutoyo (Maxitools Prestação de Serviços em Metrologia Ltda[®], Brasil), operando na faixa de 0 a 25 mm e com resolução de 0,001 mm. Foram realizadas medidas em três regiões das tiras e valor médio foi calculado.

4.6.4 *Taxa de Permeabilidade e Permeabilidade ao Vapor D'água*

A taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) e a permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foram determinadas por parâmetros gravimétricos de acordo com a Norma ASTM E96-00 (2000) e Braga et al. (2021).

As cápsulas de permeabilidade foram adaptadas a partir de frascos de vidro tubular com vedação na tampa. Os frascos possuíam dimensões de 1,5 cm de diâmetro na parte superior e 2,0 cm na parte inferior e 7,0 cm de comprimento (Figura 21a) e foram preenchidos com sílica gel até completar 3/4 do seu volume (Figura 21b). Foram feitas aberturas circulares nas tampas de 1,24 cm de diâmetro para que o filme pudesse manter contato com as partes externa e interna às cápsulas.



Figura 21 - Cápsulas utilizadas para o ensaio de TPVA e PVA.

Os corpos de provas utilizados possuíam 1,5 cm de diâmetro e foram fixados na abertura circular das cápsulas de permeabilidade, de modo a garantir que a migração de umidade ocorresse exclusivamente através do filme (Figura 22). O sistema foi introduzido em um dessecador à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) contendo 800 mL de água deionizada.



Figura 22 - Ensaio de TPVA e PVA nos filmes.

Para a atmosfera em contato com a parte inferior do filme, foi definida a umidade relativa do ar em torno de 75%, enquanto que na parte superior do filme, igual a 0%. O ensaio para cada formulação foi realizado em triplicata para as quais foram realizadas pesagens sucessivas a cada 24 h durante 7 dias.

O ganho de massa (m) foi representado graficamente em função do tempo de análise (t), determinando-se o coeficiente angular (m/t) e calculando-se a taxa de permeação ao vapor de água (TPVA), através da Equação 9:

$$TPVA = \frac{m}{t} \frac{1}{A} \quad (9)$$

Em que, m/t é o coeficiente angular da reta ($\text{g água} \cdot \text{s}^{-1}$) e A é a área de permeação da amostra (m^2).

A permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foi determinada conforme a Equação 10.

$$PVA = \frac{TPVA \cdot e}{p_s (UR_1 - UR_2)} \quad (10)$$

Em que, e é a espessura média da amostra (m); p_s é a pressão de saturação de vapor de água à temperatura do ensaio (Pa); UR_1 é a umidade relativa da câmara (%); UR_2 é a umidade relativa no interior da cápsula (%); PVA é a permeabilidade ao vapor d'água dos filmes ($\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kPa}^{-1}$).

A pressão de saturação foi calculada de acordo com a equação de Tetens (Equação 11).

$$p_s \text{ (KPa)} = 0,6108 \times e^{\left(\frac{17,3 \cdot T}{237,3 + T}\right)} \quad (11)$$

Onde, T é a temperatura do ambiente em que foi conduzido o experimento ($^{\circ}\text{C}$).

4.6.5 *Absorção de Água*

O ensaio de absorção de água foi realizado conforme a Norma ASTM E104-02 (2002). Corpos de prova de 3,0 cm de diâmetro foram previamente secos em estufa a 70°C por 24 h e suas massas determinadas em balança analítica com 0,0001 g de precisão. As amostras foram mantidas em dessecador com umidade relativa de 100% a temperatura de 25°C .

As amostras foram pesadas em intervalos de tempo de 1, 2, 3, 24, 48, 72 e 96 h. A quantidade de água absorvida foi calculada de acordo com a Equação 12.

$$AA = \frac{m_u - m_s}{m_u} * 100 \quad (12)$$

Onde, AA é a quantidade de água absorvida pelo filme (%); m_u é a massa do filme úmido (g) e m_s é a massa do filme seco (g).

4.6.6 Solubilidade em Água

A solubilidade em água dos filmes foi realizada conforme Braga et al. (2021), com adaptações. Foram utilizados corpos de provas de 2,0 cm de diâmetro, previamente secos em estufa, a 55 °C durante 24 h e suas massas determinadas em balança analítica com 0,0001 g de precisão.

Os corpos de prova foram alocados em tubos *Falcon* de 50 mL e preenchidos com 50 mL de água deionizada, nos quais permaneceram por 24 h. Os frascos foram colocados na posição vertical (Figura 23a) e agitados ocasionalmente de forma manual. Passado o tempo de permanência em água, as amostras foram filtradas em cadinhos porosos N° 2 de 30 mL (Figura 23b) previamente secos em estufa a 100±5 °C durante 24 h e suas massas pré-definidas em balança analítica com 0,0001 g de precisão.

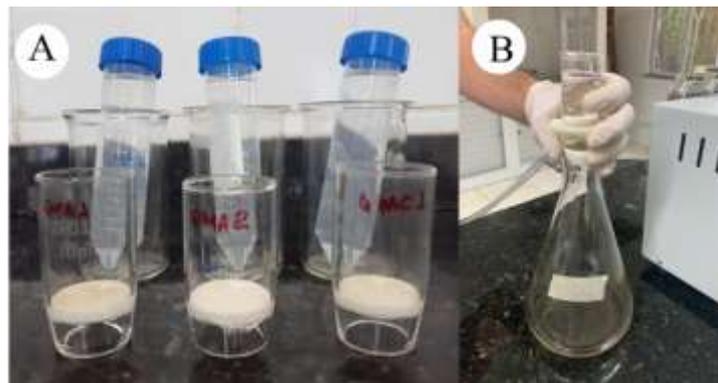


Figura 23 - (a) Ensaio de solubilidade em água dos filmes. (b) Filtragem das amostras após a solubilização em água.

O conjunto foi levado à estufa para secagem a uma temperatura de 100 °C por 24 h para posterior quantificação da massa retida em cada cadinho. A solubilidade dos filmes foi expressa em percentual de massa solubilizada em relação à massa inicial (Equação 12).

$$S = \frac{m_d - m_s}{m_d} * 100 \quad (13)$$

Em que, S é a solubilidade dos filmes (%); md é a massa seca dos filmes (g) e ms é a massa que não foi solubilizada (g).

4.6.7 *Resistência à Tração e Módulo de Young*

Foi considerada a norma ASTM D882-02 (2002), que atende a determinação de propriedades mecânicas de plásticos na forma de filmes com espessura inferior a 1,0 mm. Neste ensaio, o corpo de prova, preso a duas garras pelas extremidades, foi alongado à velocidade constante até a sua ruptura, sendo registrada a força que o material ofereceu a essa deformação.

Para isso, foram cortadas tiras retangulares dos filmes de 75 mm de comprimento e 10 mm de largura, sendo mantidas em umidade controlada a temperatura de 23 ± 2 °C durante por 40 h antes da realização do ensaio. Dez corpos de prova de cada filme foram utilizados para a realização deste ensaio mecânico. Os testes mecânicos foram realizados em uma máquina universal de ensaios modelo DL2000 (EMIC, Paraná, Brasil), no modo de tração, sendo utilizada uma célula de carga de 500 N, taxa de deformação de 10 mm/min e distância entre garras de 25 mm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Isolamento e caracterização da quitosana

Na quantificação dos componentes estruturais entre as duas espécies, maiores contribuições de resíduos (caudas, pernas, cabeça) foram observadas para espécie *M. carcinus*, em torno de 70% da massa do camarão. Contudo, ambas as espécies apresentam mais resíduo em sua composição do que a fração comestível, ressaltando a importância econômica e industrial do seu reaproveitamento (Tabela 2).

Tabela 2 - Quantificação das porções comestíveis e resíduos das cascas dos camarões.

Constituinte	Percentual (%)	
	<i>M. amazonicum</i>	<i>M. carcinus</i>
Porção comestível (carne)	41,20	25,79
Exoesqueleto	11,44	14,60
Rejeito	47,36	59,61
Total de resíduos	58,80	74,21

Costa (2015) encontrou valores da porção comestível para o *M. amazonicum* em torno de 31,65%. De acordo com Moura (2014), a maior parte do camarão, 60 a 70%, são resíduos não comestíveis. Portanto, *M. amazonicum* e *M. carcinus* se destacam pela pouca e alta produção de resíduos, respectivamente, em relação a outras espécies de camarão investigadas na literatura.

A comercialização do camarão na região metropolitana de Macapá (Feiras de Macapá e Santana) chegou a aproximadamente 402 toneladas no ano de 2015, segundo o levantamento de Lima e Santos (2015). Isso representa aproximadamente 265 toneladas de resíduos, os quais são causadores de problemas ambientais e sanitários, devido ao seu descarte de forma incorreta.

A espécie *M. carcinus* foi a que gerou maiores quantidades de resíduos. No entanto, a espécie *M. amazonicum* é a mais explorada economicamente no estado do Amapá. Os preços médios de venda praticados nas feiras do estado variam de acordo com o tipo de processamento, tamanho e época do ano. Contudo, o *M. amazonicum* é comercializado com valores inferiores ao *M. carcinus*. Independente desses fatores, seu valor varia de R\$ 5,00 a R\$ 18,00 no período de safra, enquanto no período de entressafra esses valores ficam entre R\$

8,00 e R\$ 25,00. O *M. carcinus* no período de safra é encontrado de R\$ 25,00 a R\$ 35,00 o kg. Enquanto no período de entressafra esses valores podem chegar até R\$ 50,00 por kg de camarão (LIMA; SANTOS, 2015).

Os teores de minerais presentes nas cascas foram próximos para as duas espécies. A maior parte da composição mineral das cascas dos camarões é carbonato de cálcio. Outros elementos podem ser encontrados em menores quantidades. Contudo, considera-se que os teores minerais sejam oriundos deste sal. Com isso, tem-se que os teores de carbonato de cálcio presentes nas cascas das duas amostras estão de acordo com o descrito na literatura (Tabela 3).

Tabela 3 - Caracterização das cascas brutas de outros camarões da literatura (valores médios).

Espécie	CaCO ₃ (%)	Proteínas (%)	Quitina (%)	Referência
<i>M. amazonicum</i>	42,26±4,73	-	-	Neste estudo
<i>M. carcinus</i>	42,53±1,69	-	-	Neste estudo
<i>P. semisulcatus</i>	52,03	28,84	19,13	Al Sagheer et al. (2008)
<i>M. affinis</i>	45,66	37,59	16,75	Al Sagheer et al. (2008)
<i>P. longirostris</i>	20,00	40,00	24,00	Benhabiles et al. (2012)
<i>Parapenaeus longirostris</i>	25,06	29,23	26,98	Arbia et al. (2013)
<i>Penaeus durarum</i>	42,26	34,02	23,72	Abdou et al. (2008)
<i>M. amazonicum</i>	32,03	56,61	-	Pinto (2014)

As cascas dos camarões são compostas por 25 a 40% de minerais, dos quais a maioria é carbonato de cálcio, 25 a 40% de proteínas e 15 a 20% de quitina (ASSIS; STAMFORD; STAMFORD, 2008; ABDEL-RAHMAN et al., 2015). A espécie que apresentou composição mineral mais semelhante às deste estudo foi a *Penaeus durarum*. Pinto (2014), por outro lado, encontrou valores superiores nas cascas do *M. amazonicum*, em torno de 32%.

As diferenças qualitativas e quantitativas das composições químicas dos exoesqueletos dos crustáceos podem ser explicadas pelo estágio fisiológico do organismo, variações sazonais e espécie (BENHABILES et al., 2012; PINTO, 2014).

5.2 Isolamento da quitina

5.2.1 Desmineralização

Durante a desmineralização ocorreu a remoção dos minerais presentes no exoesqueleto do camarão, principalmente o carbonato de cálcio (CaCO_3). Este sal é facilmente decomposto em sais de cálcio, que são solúveis em água, havendo a liberação de dióxido de carbono (CO_2) (ALABARAOYE; ACHILONU; HESTER, 2018).

A remoção do conteúdo mineral das amostras foi em torno de 100%, não apresentando diferença significativa entre as médias das duas espécies para um nível de significância de 95%. As duas espécies obtiveram rendimento médio na desmineralização próximos a 24% e não apresentaram diferenças significativas entre as médias (Figura 24).

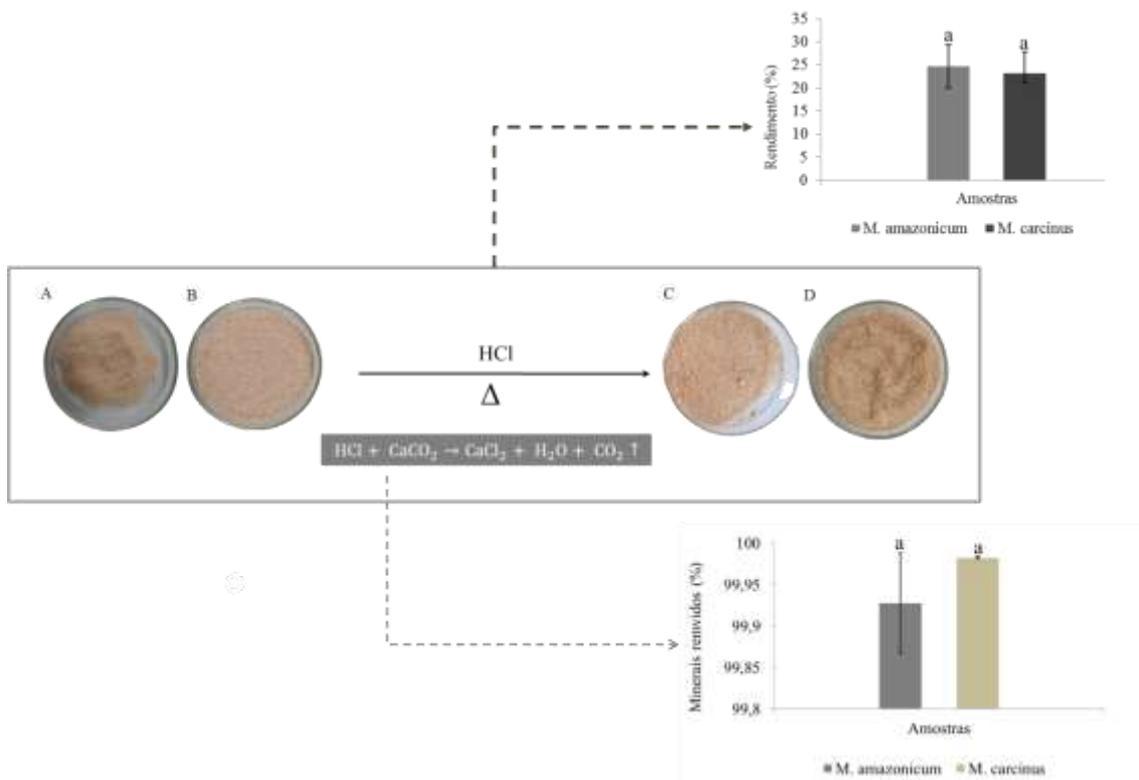


Figura 24 - Esquema da etapa de desmineralização. (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus* antes da remoção dos minerais. (c) e (d) cascas do *M. amazonicum* e *M. carcinus* após a desmineralização, respectivamente.

A remoção da carga mineral é influenciada por vários fatores, tais como tamanho das partículas, tempo de reação, concentração da solução, temperatura e proporção entre massa de

amostra e volume de solução. A completa eliminação da carga mineral é alcançada quando a quantidade de ácido adicionada é igual ou superior à quantidade de minerais presentes no exoesqueleto (RIBEIRO, 2017). Neste estudo, a quantidade de ácido em solução foi suficiente para a remoção de aproximadamente 100% de todo conteúdo inorgânico. Desta forma, as condições testadas mostraram-se eficientes para a remoção da carga mineral para as duas espécies, visto que a composição mineral de seus exoesqueletos foi semelhante.

Outros estudos demonstram que em concentrações menores de ácido pode haver diminuição significativa do material inorgânico presente nas cascas dos crustáceos. Tolaimate et al. (2003), após a desmineralização das cascas do *Palaemon fabricius* com HCl a 0,55 M, reduziram o conteúdo de cinzas para 21,50% para 0,05%.

Por outro lado, Younes et al. (2012), após desmineralizarem as cascas do *Metapenaeus monoceros* em solução de HCl a 1,5 M, reduziram em aproximadamente 98% o conteúdo mineral em relação ao seu teor original que era de 33%.

5.2.2 Desproteínização

As amostras desproteínizadas apresentaram mudança na coloração quando comparada às amostras desmineralizadas (Figura 23).



Figura 25 - Cascas do (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus* desproteínizadas.

Além da remoção das proteínas, alguns pigmentos podem ser removidos nesta etapa, conferindo alteração na coloração das amostras. De acordo com Oliveira (2017), a exposição a maiores tempos de reação é capaz de realizar em maior extensão a hidrólise do conteúdo

proteico, resultando em um produto com maior conteúdo polimérico. Campana-Filho et al. (2007) relatam que as condições reacionais no processo de desproteíntização devem ser moderadas para evitar a ocorrência de hidrólise dos grupos acetamida presentes na quitina e sua despolimerização.

A quantidade de proteínas removidas das cascas foi semelhante para ambas as espécies. Desta forma, o rendimento médio desta etapa foi semelhante, acima de 70%, e não apresentaram diferenças significativas nas médias para um nível de significância de 95%. Os rendimentos de quitina obtida para as espécies não diferiram estatisticamente, sendo superiores a 15% (Tabela 4).

Tabela 4 - Rendimento da desproteíntização das cascas dos camarões.

Etapa	Rendimento (%)	
	<i>M. amazonicum</i>	<i>M. carcinus</i>
Desproteíntização	71,97±4,55 ^a	73,01±1,06 ^a
Quitina	17,41±2,23 ^a	16,00±0,97 ^a

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa (p > 0,05) de acordo com o teste de Tukey.

Esses valores estão de acordo com os descritos na literatura para outras espécies de camarão conforme descrito por El Sagheer et al. (2008) para as espécies *P. semisulcatus* e *M. affinis*.

O rendimento de quitina, por outro lado, foi inferior ao encontrado por Srinivasan et al. (2017) para a espécie *Penaeus. monodon*, 30%. De acordo com Ibitoye et al. (2018), a sequência de extração (desproteíntização, desmineralização e descoloração) leva a uma diminuição no rendimento deste polissacarídeo.

5.2.3 Despigmentação

O objetivo da despigmentação é a remoção de pigmentos carotenoides presentes nas cascas dos crustáceos, por exemplo, a astaxantina. Durante as etapas anteriores podem ser removidas partes dessas substâncias, contudo, ainda era possível observar que as amostras não estavam totalmente branqueadas, contendo pigmentos residuais (YOUNES; RINALDO, 2015). Após a despigmentação, as amostras apresentaram coloração mais esbranquiçada (Figura 26).



Figura 26 - Quitina isolada a partir do (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus* após a despigmentação.

Não foi determinado o rendimento desta etapa, pois considerou-se que o percentual de pigmentos era baixo. Ribeiro (2017) encontrou pigmentos nas cascas do caranguejo *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 em torno de 2,53%.

5.3 Desacetilação da quitina

A quitosana obtida a partir das espécies *M. amazonicum* e *M. carcinus* apresentaram diferenças na coloração (Figura 25).



Figura 27 - Quitosana obtida a partir do (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus*.

O objetivo desta etapa é a conversão em quitosana a partir da desacetilação parcial da quitina. Esta reação promove a remoção parcial de grupos acetamidas presentes na estrutura da quitina. O polímero resultante recebe o nome de quitosana quando apresentar grau de desacetilação superior a 50% (GARCIA et al., 2020).

As amostras apresentaram diferenças significativas no rendimento parcial (em relação à quitina convertida em quitosana após a despigmentação) e global (em relação às cascas naturais moídas), tendo o *M. carcinus* valor superior ao *M. amazonicum* (Tabela 5).

Tabela 5 - Rendimento da desacetilação da quitina do *M. amazonicum* e *M. carcinus*.

Espécie	Rendimento Parcial (%)	Rendimento Global (%)
<i>M. amazonicum</i>	58,23±0,66 ^b	9,87±0,75 ^b
<i>M. carcinus</i>	66,29 ±0,45 ^a	10,61±0,61 ^a

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa (p > 0,05) de acordo com o teste de Tukey.

Os rendimentos parciais para as duas espécies foram inferiores ao encontrado por Tokalti e Demidörven (2017), em torno de 75%. Os rendimentos globais estão de acordo ao relatado na literatura. Assis (2009) encontrou rendimento de quitosana a partir da casca de camarão *Litopenaeus. vannamei* de 15,5% ± 0,5. Andrade et al. (2012) encontraram rendimento de quitosana de 22% a partir das cascas do camarão dessa mesma espécie. Henning (2009) e Santos, Cirilo e Nunes (2011), por outro lado, encontraram rendimentos inferiores para as espécies *Penaeus brasiliensis* e *Macrobrachium jelskii* Miers, 1877, 2,5% e 5,06%, respectivamente.

5.3.1 Grau de desacetilação

As curvas de titulação da quitosana possuem dois pontos de inflexão, típico da titulação deste polímero. Esses pontos correspondem às diferentes etapas de neutralização do titulado. O primeiro ponto é referente à neutralização do excesso de HCl na solução e o segundo ponto à neutralização dos grupos aminos protonados (Figuras 8a e 28b).

A projeção dos pontos obtidos na primeira derivada demonstra picos (Figuras 28c e 28d), sendo que os maiores apontam diretamente para os pontos de equivalência (V₁ e V₂). Os pontos obtidos na segunda derivada são os valores que resultam em maior precisão (Figuras 28e e 28f),

sendo que os pontos de equivalência correspondem aos valores exatos que cruzam a abcissa (volume de NaOH), considerando os maiores picos (GARCIA et al., 2020).

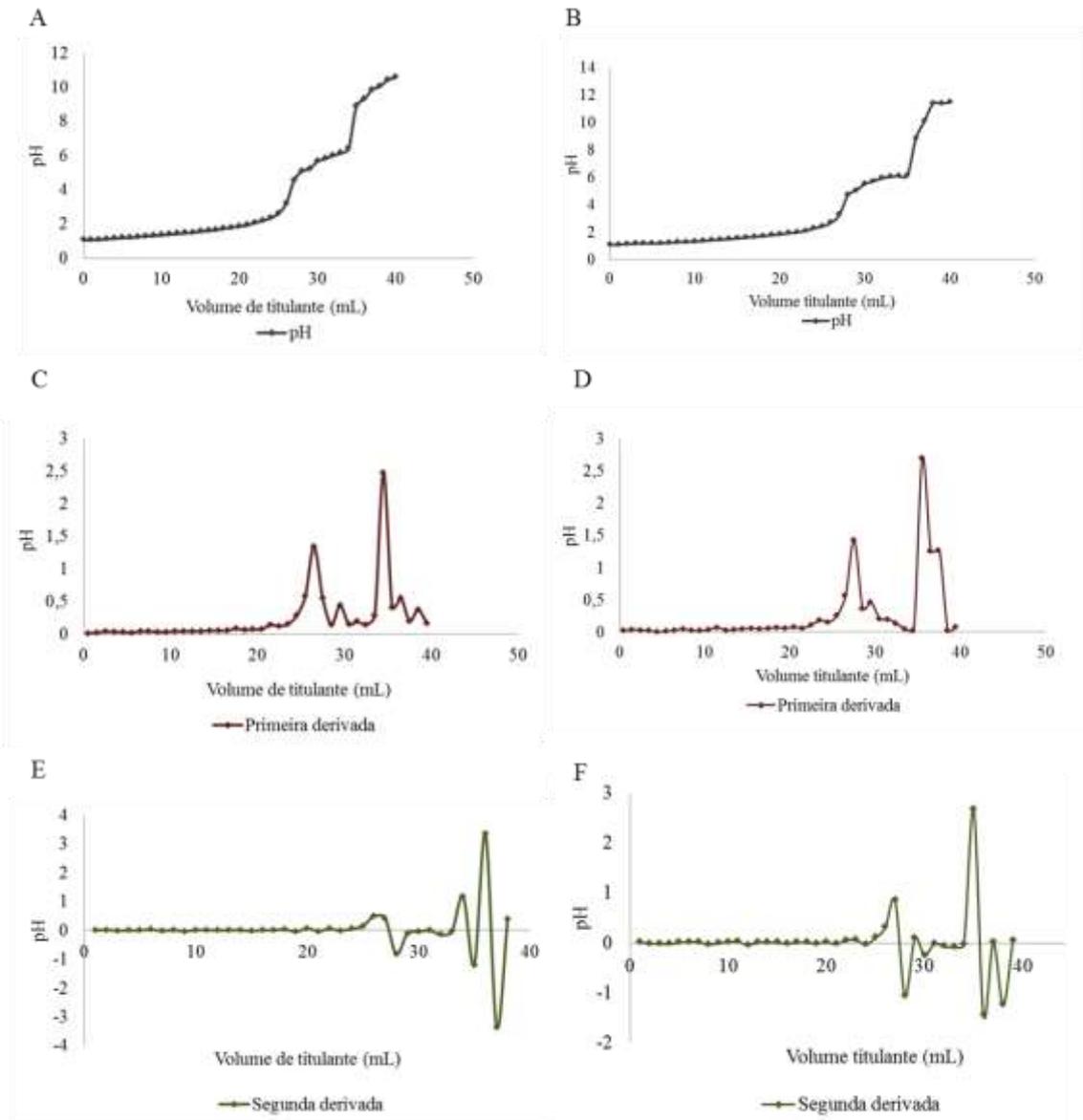


Figura 28 - Curvas de titulação da quitosana do (a) *M. amazonicum* e (b) *M. carcinus*. (c) e (d) Primeira e (e) (f) e segunda derivada da curva potenciométrica do *M. amazonicum* e *M. carcinus*, respectivamente.

A partir dos pontos de inflexão representados na primeira e segunda derivada foi possível determinar os volumes exatos de titulante utilizados e calcular o grau de

desacetilação da quitosana. Tendo a espécie *M. amazonicum* apresentado GD superior à *M. carcinus* (Tabela 6).

Tabela 6 - Grau de desacetilação das quitosanas do *M. amazonicum* e *M. carcinus* em comparação a outros estudos.

Matéria-prima	Condições de desacetilação	Grau de desacetilação	Referência
Cascas do <i>M. amazonicum</i>	NaOH 40% T = 105 °C t = 4 h	77,10±3,79% ^a	Neste estudo
Cascas do <i>M. carcinus</i>	NaOH 40% T = 105 °C t = 4 h	69,98±5,86% ^b	Neste estudo
Cascas de camarão	NaOH 40% T = 100 °C t = 12 h	93%	Tolesa, Gupta e Lee (2019)
Cascas de camarão	NaOH 50% T = 90 °C t = 4 h	88%	Boudouaia, Bengharez e Jellali (2019)
Cascas de camarão	NaOH 60% t = 2 h	75%	Ali et al. (2018)

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa (p > 0,05) de acordo com o teste de Tukey.

O GD obtido para as quitosanas a partir das cascas do *M. amazonicum* e do *M. carcinus* foram próximos aos valores descritos na literatura para outras espécies de camarões. Este é um parâmetro que influencia nas propriedades biológicas e físico-químicas da quitosana, por exemplo, a viscosidade, que é umas das propriedades mais importantes para sua utilização comercial. Além disso, o GD tem influência sobre a solubilidade, hidrofília, cristalinidade e resposta celular da quitosana (KUMARI et al., 2017; EL KNIDRI et al., 2018).

Maiores valores no GD da quitosana levam a um aumento na densidade de carga positiva, ou seja, maior é quantidade de grupos aminos na estrutura polimérica. A solubilidade da quitosana em meio ácido é atribuída à presença desses grupos, que são protonados em pH baixo, resultando em cargas positivas ao longo da cadeia, promovendo assim sua solubilidade (SANTOS et al., 2019). Por outro lado, a presença do grupo N-acetil na cadeia (baixo GD) aumenta seu caráter hidrofóbico e modifica sua solubilidade na solução devido à formação de ligações de hidrogênio (BOUDOUAIA; BENGHAREZ; JELLALI, 2019).

5.4 Caracterização dos filmes a base de CNF e quitosana

Os filmes puros de quitosana e suas formulações apresentaram transparência adequada e coloração levemente amarelada, característica desse polímero. A transparência dos filmes de CNF foi inferior aos filmes puros de quitosana (Figura 29).

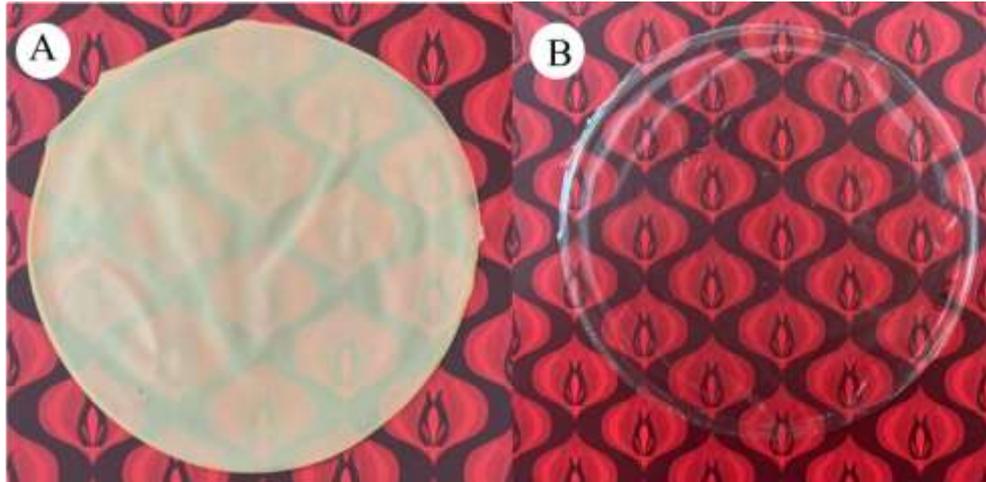


Figura 29 - Filmes puros de celulose nanofibrilada (a) e quitosana (b).

A suspensão de CNF utilizada para a produção dos filmes e reforço dos nanoestruturados de quitosana/CNF apresentou coloração amarela intensa. Desta forma, os filmes puros de CNF apresentaram coloração amarelada. No entanto, esse resultado foi diferente ao encontrado em outros estudos com a utilização de suspensão de CNF a partir das fibras do açaí, os quais apresentaram coloração esbranquiçada (BRAGA, 2019).

Os filmes de matriz de quitosana apresentaram coloração amarelada e boa transparência como aspecto homogêneo em suas superfícies (Figura 30).

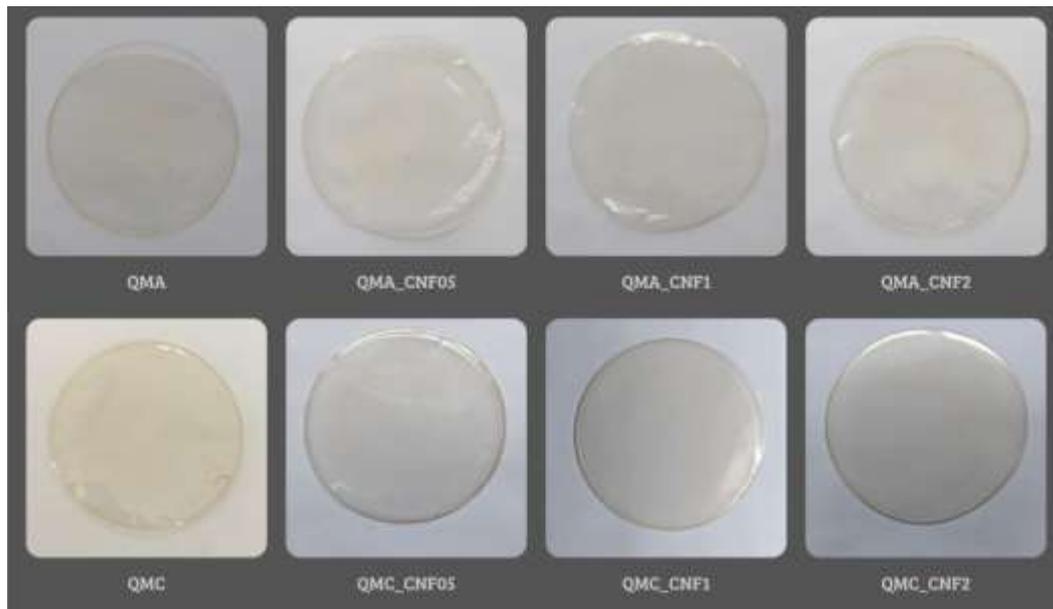


Figura 30 - Filmes nanoestruturados de quitosana/celulose nanofibrilada

A coloração dos filmes foi semelhante à encontrada por Nascimento et al. (2013). A transparência de um filme é uma propriedade desejável, uma vez que o consumidor deseja ver claramente o aspecto do produto. Essa propriedade é importante visto a destinação que se dará aos filmes considerando as aplicações a que serão destinados, especialmente se forem utilizados para revestimento de superfície de alimentos.

A opacidade é a propriedade óptica que desempenha o papel de maior importância, uma vez que determinados produtos, principalmente alimentícios, são suscetíveis à fotodegradação ou fotoxidação, tornando a embalagem uma ferramenta fundamental de barreira à ação da luz (PELISSARI, 2009).

A aparência dos filmes obtidos neste estudo foi diferente a obtida por Carvalho (2017) em seu estudo com filmes de quitosana reforçados com CNF, os quais apresentaram um aspecto uniforme, denso e opaco.

Os filmes puros de quitosana obtidos pela técnica escoamento e secagem espontânea (*casting*) apresentaram superfície mais homogênea quando comparados aos filmes puros de CNF. Alguns defeitos são observados nos filmes puros de quitosana e nanoformulações devido à presença de impurezas na quitosana ou na solução filmogênica. Diferenças qualitativas e macroscópicas na morfologia dos filmes foram observadas para os

nanoestruturados de quitosana a partir do *M. amazonicum* com concentração de CNF de 0,50% e 1,00%, os quais apresentaram aspecto mais homogêneo (Figura 29).

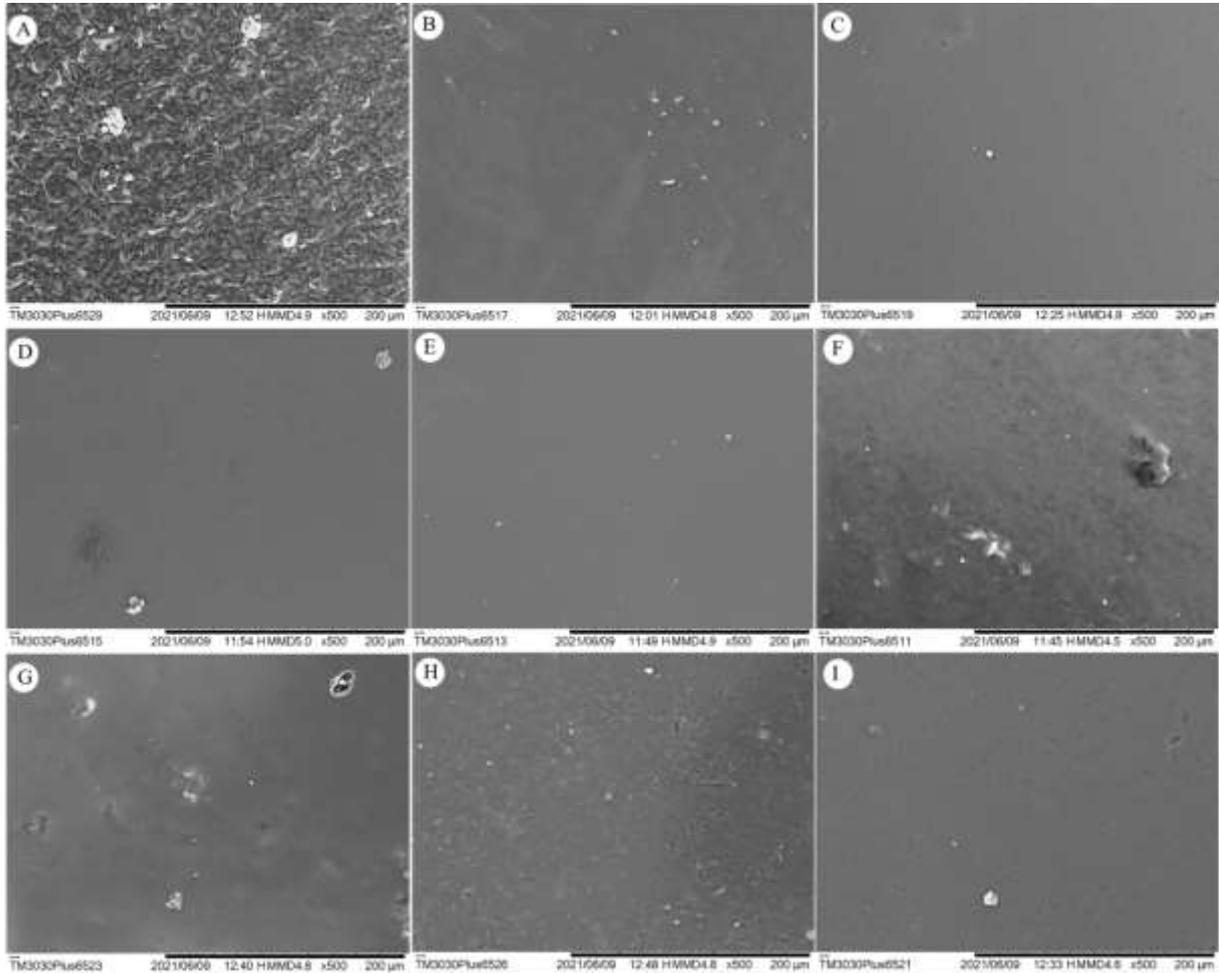


Figura 31 – Fotomicrografia da superfície dos filmes (a) 100% de nanofibrilas de celulose (CNF), (b) 100% de quitosana do *M. amazonicum* (QMA), (c) 100% de quitosana do *M. carcinus* (QMC) e dos filmes nanoestruturados de (d) quitosana com reforço de 0,5% de nanofibrilas de celulose (QMA_CNF05), (e) quitosana com reforço de 1,00% de nanofibrilas de celulose (QMA_CNF1), (f) quitosana com reforço de 2,00% de nanofibrilas de celulose (QMA_CNF2), (g) quitosana com reforço de 0,5% de nanofibrilas de celulose (QMC_CNF05), (h) quitosana com reforço de 1,00% de nanofibrilas de celulose (QMC_CNF1) e (i) quitosana com reforço de 2,00% de nanofibrilas de celulose (QMC_CNF2).

Dentre os filmes nanoestruturados de quitosana a partir do *M. carcinus* os que apresentaram superfície mais homogênea foram os com 2,00% de reforço de CNF. Alguns dos filmes nanoestruturados apresentaram erupções na superfície, possivelmente devido a processo de deposição, que pode conduzir a uma secagem irregular, gerando "bolhas" e em

alguns casos, destacamentos espontâneos em posições localizadas, que levaram à ruptura do filme ou a corrugação da superfície.

A análise de AFM indicou que os filmes puros de QMA e QMC apresentaram baixa rugosidade e superfície mais uniforme quando comparados aos filmes puros de CNF. A adição de CNF na matriz de quitosana levou à diminuição na uniformidade da superfície dos filmes nanoestruturados, que apresentaram tendência ao acúmulo de nanopartículas em função do aumento da carga de CNF. Os filmes de QMC apresentaram superfície mais irregular do que os de QMA (Figuras 32 e 33).

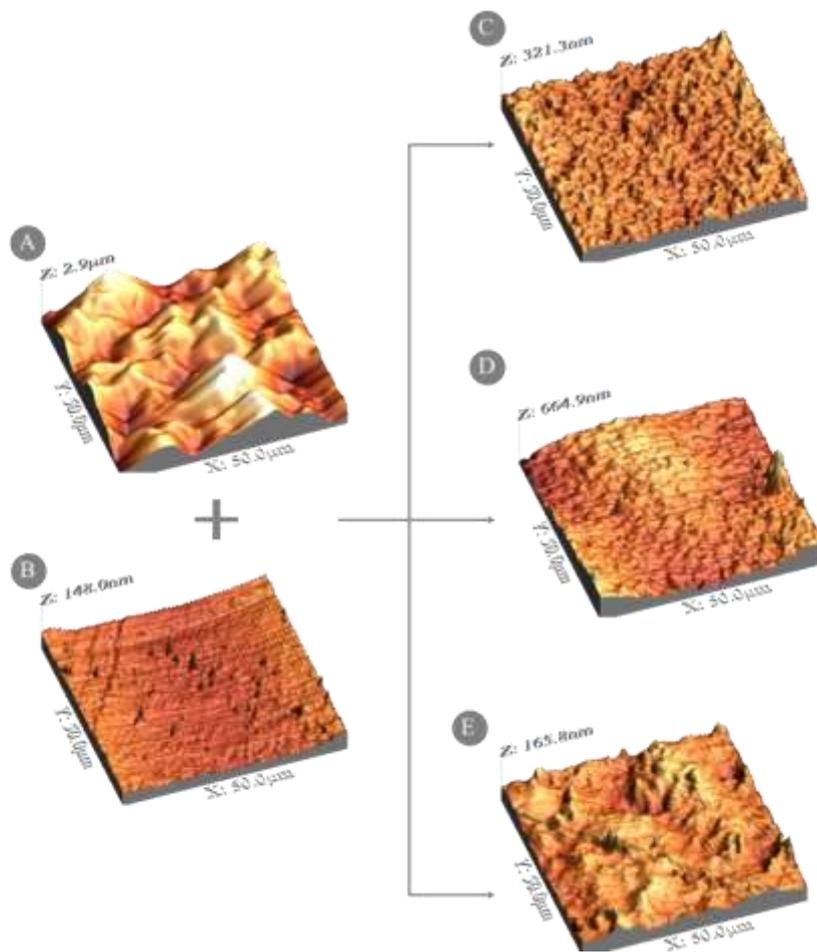


Figura 32 - Imagem topográfica de AFM dos filmes (a) 100% denanofibrilas de celulose (CNF), (b) 100% de quitosana do *M.amazonicum* (QMA), (c) filmes de quitosana com reforço de 0,5% de nanofibrilas de celulose (QMA_CNF05), (d) quitosana com reforço de 1,00% de nanofibrilas de celulose (QMA_CNF1) e (e) quitosana com reforço de 2,00% de nanofibrilasde celulose (QMA_CNF2).

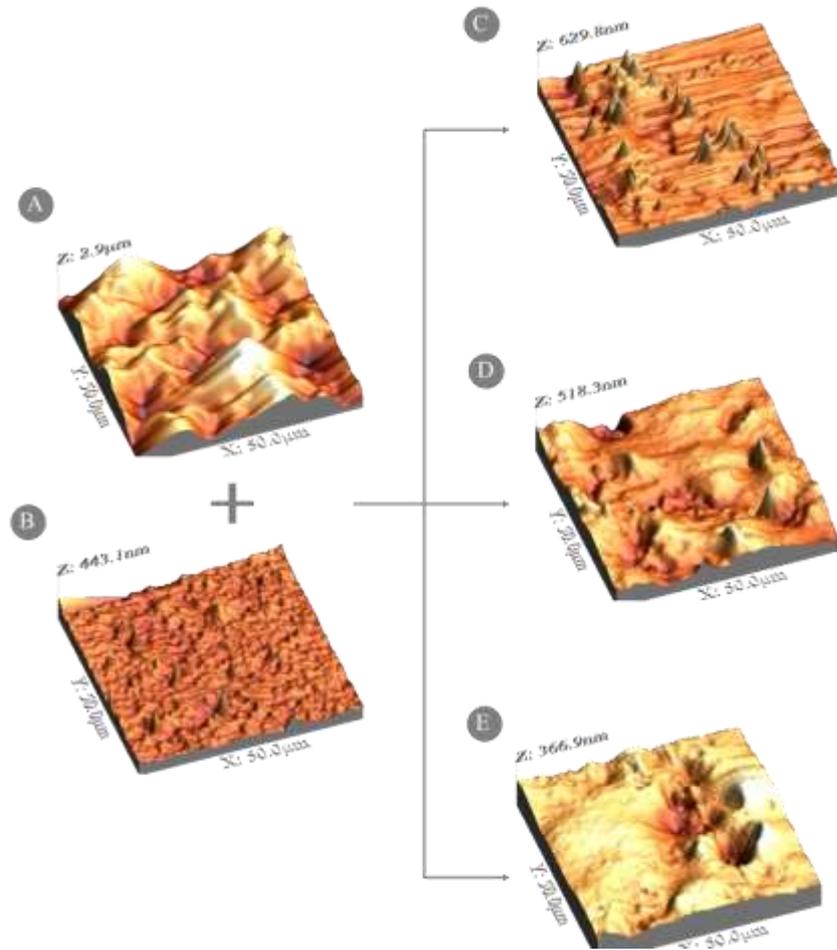


Figura 33 - Imagem topográfica de AFM dos filmes puros a) 100% de nanofibrilas de celulose (CNF), (b) 100% de quitosana do *M. carcinus* (QMC), (c) filmes de quitosana com reforço de 0,5% de nanofibrilas de celulose (QMC_CNF05), (d) quitosana com reforço de 1,00% de nanofibrilas de celulose (QMC_CNF1) e (e) quitosana com reforço de 2,00% de nanofibrilas de celulose (QMC_CNF2)..

De acordo com Sartori et al. (2018), o fenômeno de acumulação de CNF pode levar ao desenvolvimento de agregados e orifícios com influências negativas nas propriedades de barreira e mecânicas dos filmes nanoestruturados. Bagheri et al. (2019) verificaram que o aumento da concentração de CNF aumentou a rugosidade da superfície de filmes reforçados com nanofibrilas.

5.4.1. Espessura dos filmes

Os filmes de CNF puros apresentaram espessura inferior aos filmes puros de quitosana (QMA e QMC) e aos seus nanoestruturados. Dentre os filmes nanoestruturados, os de QMC foram os que apresentaram maiores espessuras (Tabela 7).

Tabela 7 - Espessura média dos filmes puros e nanoestruturados.

Amostra	Espessura (mm)
CNF	0,0261±0,01f
QMA	0,0416±0,01e
QMC	0,0540±0,02bcd
QMA_CNF05	0,0494±0,02cde
QMA_CNF1	0,0467±0,01de
QMA_CNF2	0,0496±0,01cde
QMC_CNF05	0,0719±0,02a
QMC_CNF1	0,0643±0,02ab
QMC_CNF2	0,0587±0,02bc

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa ($p > 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

A menor espessura nos filmes puros de CNF é esperada visto que durante a obtenção de nanofibrilas de celulose ocorre a redução das dimensões das fibras possibilitando um número maior de ligações e melhor rearranjo das mesmas, levando a formação de uma estrutura mais uniforme, compacta e de menor espessura (POTULSKI et al., 2016).

Quando a espessura é comparada entre os nanoestruturados de QMA, observa-se que não houve diferença significativa, o mesmo foi observado para os nanoestruturados a partir do QMC. Na técnica utilizada para a formação dos filmes, a *casting*, é difícil controlar certas variáveis que garantem a dispersão mais homogênea da solução filmogênica na placa, o que pode influenciar nas interações dos seus constituintes.

A espessura, por outro lado, apresentou diferença significativa quando comparamos os filmes nanoestruturados produzidos a partir do QMA e do QMC. Os filmes nanoestruturados de QMA apresentaram espessura inferior aos obtidos do QMC. Isso pode ter sido influenciado pelo GD da quitosana das espécies, em que o valor foi superior para a do *M. amazonicum*.

GD maiores significam mais grupos aminas livres, e conseqüentemente, maior carga positiva na cadeia polimérica. Isso implica em maiores interações entre a matriz e o reforço, conferindo a redução na espessura dos compósitos.

5.4.2. Taxa de Permeabilidade e Permeabilidade ao Vapor D'água

Não foram observadas diferenças significativas na taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) entre os filmes puros de CNF e de quitosana. Por outro lado, a adição de CNF na matriz de aumentou a TPVA nos filmes nanoestruturados. A quitosana derivada da espécie *M. amazonicum* conferiu aos seus nanoestruturados TPVA inferiores aos derivados do *M. carcinus*. Em que o maior valor foi observado nas nanoformulações com 2% de reforço de CNF (Tabela 8).

Tabela 8– TPVA e PVA dos filmes puros e nanoestruturados.

Amostra	TPVA (g.h ⁻¹ .cm ⁻²)	PVA (g.mm.m ⁻² .dia ⁻¹ .kPa ⁻¹)
CNF	0,0044±0,00 ^d	11,60±0,20 ^e
QMA	0,0044±0,00 ^d	18,82±0,93 ^d
QMC	0,0045±0,00 ^d	24,52±1,43 ^c
QMA_CNF05	0,0050±0,00 ^c	25,02±0,69 ^c
QMA_CNF1	0,0052±0,00 ^{bc}	24,49±0,10 ^c
QMA_CNF2	0,0051±0,00 ^{bc}	26,07±1,85 ^c
QMC_CNF05	0,0056±0,00 ^{ab}	40,67±0,45 ^a
QMC_CNF1	0,0057±0,00 ^a	37,30±0,58 ^b
QMC_CNF2	0,0060±0,00 ^a	35,53±1,43 ^b

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa (p > 0,05) de acordo com o teste de Tukey.

A maior hidroflicidade da quitosana em comparação com a CNF levaria a uma maior TPVA. Entretanto, a microestrutura dos filmes de CNF e a composição química, como resíduos de hemiceluloses hidrofílicas possivelmente resultaram em filmes de maior hidroflicidade. Quando as CNF foram aplicadas como reforço, aumentaram a TPVA dos compósitos, confirmando sua afinidade com a água.

Além disso, alterações na superfície dos nanoestruturados após adição do reforço facilitaram a permeabilidade do vapor de água por entre os espaços vazios criados, visto que estas formulações apresentaram maior rugosidade quando comparadas aos filmes puros de quitosana, permitindo maiores valores na TPVA.

O caráter mais hidrofílico da quitosana conferiu maior PVA para os filmes puros (QMA e QMC) quando comparados aos filmes puros de CNF. Os menores valores na PVA para os filmes puros de CNF podem ser atribuídos à maior superfície de contato entre as nanofibrilas, que proporcionam maior disponibilidade de grupos hidrofílicos (OH) e aumento

do número de ligações de hidrogênio, resultando em uma rede mais densa com maior força e rigidez, diminuindo a PVA nos filmes puros.

A maior permeabilidade observada nos filmes puros de QMC em comparação aos filmes puros de QMA pode ser atribuída ao maior GD da quitosana utilizada para suas formulações. Visto que, menores GD significam menos grupos desacetilados e menor interação com grupos polares. Além disso, a análise de AFM mostrou que os filmes puros de QMC apresentaram superfície com maior rugosidade em comparação aos filmes puros de QMA.

Para os nanoestruturados de QMA não foram observadas diferenças significativas na PVA em função do aumento da concentração de CNF na matriz polimérica. Entre os filmes de QMC maiores valores nesta propriedade foram para os filmes com 0,50% de reforço.

Esperava-se maior interação entre o reforço e matriz, pois estes apresentam estruturas e conformações semelhantes (DENG; JUNG; ZHAO, 2017). Contudo, pode ter ocorrido a agregação das CNF formando vazios na matriz composta e aumentando a permeabilidade nos filmes nanoestruturados.

A espessura dos filmes nanoestruturados também pode influenciar na permeabilidade (PEREDA et al., 2011). Isso foi observado nos filmes de QMC que apresentaram maiores espessuras e maiores PVA quando comparados aos filmes nanoestruturados de QMA.

A variação no carregamento de CNF modificou a matriz de quitosana. Isso permite um caminho para o controle do fluxo e da permeação de espécies bioativas, por exemplo, sendo um aspecto importante a ser aproveitado destes sistemas (CARVALHO, 2017).

5.4.3. Absorção de água

As curvas de absorção de água (AA) apresentadas na Figura 32 mostram que houve aumento na absorção de água dos filmes a partir de 24 h. a AA dos filmes puros QMA e QMC aumentou até o tempo de 72 h e a partir desse tempo houve diminuição no seu valor.

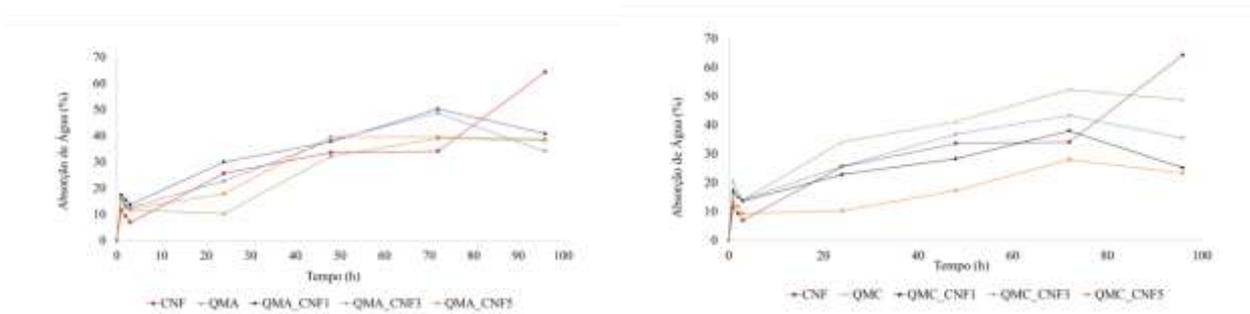


Figura 34 - Curvas de absorção de água dos filmes puros e nanoestruturados.

A absorção de água pelos filmes puros de quitosana e suas nanoformulações se deve à propriedade hidrofílica desse polímero. A partir de determinado tempo os filmes encontram-se saturados e AA apresenta uma ligeira queda, exceto os filmes puros de CNF, que demonstram um aumento após 72 h.

Os filmes puros de CNF apresentaram AA superior aos filmes puros de QMA e suas formulações e também em relação aos filmes nanoestruturados do *M. carcinus*. Não foram observadas diferenças significativas nesta propriedade entre os filmes puros de CNF e QMC. A adição de CNF na matriz de quitosana reduziu a absorção de água dos filmes nanoestruturados. Para o *M. amazonicum*, a maior redução nesta propriedade foi observada nos filmes com 1,00% (m/m) de carga de CNF, cerca de 12% em relação ao filme puro (QMA). Para os filmes nanoestruturados do *M. carcinus*, menor redução nesta propriedade foi observada nos filmes com 2,00% (m/m) de reforço de CNF, os quais apresentaram redução de aproximadamente 52% na AA em relação aos filmes puros (QMC) (Tabela 9)

Tabela 9 - Absorção de água dos filmes puros e nanoestruturados no tempo final (7 dias).

Amostra	Absorção de água (%)
CNF	64,12±9,39a
QMA	38,89±2,91bcd
QMC	48,32±4,90ab
QMA_CNF05	40,78±3,76bc
QMA_CNF1	34,01±3,82bcd
QMA_CNF2	37,32±8,50bcd
QMC_CNF05	25,57±7,46cd
QMC_CNF1	35,92±6,62bcd
QMC_CNF2	22,82±4,71d

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa ($p > 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tanto a quitosana quanto as CNF são polímeros com elevada hidrofiliçidade. No entanto, as CNF apresentam maior grau de cristalinidade (Carvalho, 2017). Esperava-se, desta forma, que os filmes de CNF apresentassem absorção de água inferior aos filmes de quitosana puros, o que não ocorreu. Os filmes de CNF apresentaram superfície mais irregular, criando vazios que facilitam a permeação de moléculas de água, as quais ficam retidas por meio de interações com os grupos hidrofílicos presentes na sua cadeia polimérica.

As interações físico-químicas entre os grupos hidroxilas presentes na CNF com os grupos polares presentes na estrutura polimérica da quitosana (amino e hidroxila) eliminam parcialmente a presença destes grupos, acarretando menor interação com as moléculas de água e levando a uma diminuição da AA dos filmes nanoestruturados.

Entre os nanoestruturados de QMA e QMC os que apresentaram diferenças significativas na AA foram os filmes QMA_CNF1 e QMC_CNF5, tendo o primeiro apresentado valor superior. Essa diferença pode estar relacionada à quitosana utilizada na formulação dos filmes. A hidrofiliçidade da quitosana, em particular, se dá como função de seus grupos desacetilados que naturalmente associados aos grupos hidroxilas caracterizam forte afinidade por moléculas polares.

A AA dos filmes puros de CNF estão próximos aos valores encontrados por Braga et al. (2021) para filmes de nanofibrilas de celulose do caroço do açaí, 60,42%.

5.4.4. Solubilidade em água

A solubilidade dos filmes nanoestruturados não apresentaram diferenças significativas após a adição de CNF na matriz de quitosana, exceto para os filmes QMC_CNF2. Em que a adição de 2,00 % (m/m) de CNF reduziu em torno de 42% a solubilidade dos filmes nanoestruturados em relação aos filmes puros de QMC (Tabela 10).

Tabela 10 - Solubilidade em água dos filmes puros e nanoestruturados.

Amostra	Solubilidade em água (%)
CNF	13,47±3,92b
QMA	24,24±0,49ab
QMC	31,20±1,59a
QMA_CNF05	22,82±2,89ab
QMA_CNF1	15,95±2,36b
QMA_CNF2	16,29±1,29b
QMC_CNF05	30,44±9,44a
QMC_CNF1	19,84±4,96ab
QMC_CNF2	17,86±4,17b

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa ($p > 0,05$) de acordo com o teste de Turkey.

A solubilidade dos filmes puros de CNF foi inferior à dos filmes puros de QMC. Não foram observadas diferenças significativas dessa propriedade entre os filmes puros de CNF e os filmes puros de QMA.

A solubilidade dos filmes de quitosana está relacionada à presença de grupos hidrofílicos na cadeia polimérica, como aminas e hidroxilas. Isso explica o porquê de não haver diferenças significativas na solubilidade entre os filmes puros de QMA e QMC e em suas formulações.

A interação entre os grupos hidroxilas da CNF e grupos polares da matriz de quitosana diminuíram a interação do polímero com a água, e por consequente a sua solubilidade. Além disso, em soluções ácidas diluídas ocorre a protonação dos grupos aminas presentes na matriz quitosana (NH_3^+), conferindo menor interação entre o polímero e as moléculas da água. Outro fator que pode ter implicado na redução da solubilidade das nanoformulações é a aglomeração das CNF, que ocorre em pH baixo (TOIVONEN et al., 2015).

Em seu estudo Deng, Jung e Zhao (2017) observaram que a adição de quitosana na matriz de CNF conferiu diminuição na diminuiu a solubilidade dos filmes nanoestruturados, pois a interação entre matriz/reforço diminui a quantidade de grupos OH disponíveis.

5.4.5. Módulo de Young (MY) e resistência à tração (RT)

O módulo de Young e resistência à tração dos filmes puros de QMA foram superiores aos dos filmes puros de CNF e QMC. Os filmes nanoestruturados de QMA e QMC não apresentaram diferenças significativas no módulo de elasticidade em comparação aos filmes puros. A adição de 1,20% e 2,00% de CNF na matriz de quitosana conferiu diminuição da resistência à tração aos nanoestruturados de QMA. Para as formulações a partir do QMC não foram observadas diferenças significativas (Tabela 12).

Tabela 9 - Módulo de Young e resistência à tração dos filmes puros e nanoestruturados.

Amostra	Módulo de Young (MPa)	Resistência à Tração (MPa)
CNF	718,93±299,63bcd	19,84±9,53e
QMA	1077,29±236,72a	60,50±15,70a
QMC	665,43±180,61cd	35,39±9,14cd
QMA_CNF05	944,51±170,5ab	53,53±11,21ab
QMA_CNF1	883,82±81,95abc	43,79±9,67bc
QMA_CNF2	873,59±147,09abc	43,84±10,58bc
QMC_CNF05	576,77±85,33d	30,62±5,69cde
QMC_CNF1	586,80±78,52d	27,33±5,75de
QMC_CNF2	667,73±155,94cd	37,95±10,92cd

média ± desvio padrão e n = 3. Valores com a mesma letra minúscula na coluna mostram similaridade significativa ($p > 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Os filmes puros de QMA apresentam mais grupos aminas livre na cadeia polimérica, o que pode resultar em mais interações intermolecular, conferindo propriedades mecânicas superiores aos filmes puros de QMC e CNF.

Esperava-se que a adição de CNF na matriz de quitosana melhorasse as propriedades mecânicas dos nanoestruturados, tal como foi observado em outros estudos com essas duas matrizes (LI; ZHOU; ZHANG, 2009; RONG; MUBARAK; TANJUNG, 2017; TANG et al., 2018; MAHARDIKA et al., 2019). No entanto, não foi alcançada uma alta densidade de ligações entre a matriz e o reforço.

A resistência à tração e módulo de Young desses filmes são altamente dependentes da interação interfacial entre as matrizes envolvidas na reação, e controlar essas variáveis é um processo complexo. O próprio mecanismo exato de ligação entre a CNF e a quitosana ainda permanece obscuro, sugerindo que possam ocorrer através de ligações de hidrogênio,

interações iônicas, ligação de imina covalente e interações hidrofóbicas (TOIVONEN et al., 2015). Além disso, de acordo com os autores, há uma faixa de pH muito restrita em que a dispersão de CNF na matriz de quitosana é mais bem sucedida. De outra forma, pode ocorrer a aglomeração ou floculação da CNF.

Imagens de AFM mostraram que após a adição de CNF os filmes apresentaram regiões como vales, possivelmente resultantes do processo de floculação das CNF na matriz de quitosana.

6 CONCLUSÃO

As espécies *M. amazonicum* e *M. carcinus* apresentaram elevada quantidade de resíduos, no entanto, a maior contribuição destes nos componentes estruturais foi verificada para a espécie *M. carcinus*, superior a 70%.

As condições utilizadas para extração da quitosana a partir das cascas de camarão das espécies *M. amazonicum* e *M. carcinus* produziram quitosanas com grau de desacetilação acima de 70%. Não foram encontradas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos nas etapas de isolamento da quitosana, exceto na desacetilação, em que o *M. carcinus* apresentou rendimento superior ao *M. amazonicum*.

Os filmes nanoestruturados obtidos pela técnica casting apresentaram aspecto homogêneo e boa transparência. A adição do reforço de CNF na matriz de quitosana melhorou as propriedades físicas e mecânicas dos filmes nanoestruturados, por outro lado, as imagens de AFM indicaram que houve tendência a aglomeração de nanopartículas em função do aumento da carga CNF na matriz de quitosana.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, R. M. et al. Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 107–120, set. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.06.027>>.
- ABDOU, E. S., NAGY, K. S. A.; ELSABEE, M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 1359-1367. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096085240700>>.
- ADEL, A. M. et al. Chitosan/nanocrystalline cellulose biocomposites based on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) sheath fibers. **Journal of Renewable Materials**, v. 7, n. 6, p. 567–582, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.32604/jrm.2019.00034>>.
- AHMADI, R. et al. The antimicrobial bio-nanocomposite containing non-hydrolyzed cellulose nanofiber (CNF) and Miswak (*Salvadora persica* L.) extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, p. 15–25, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.010>>.
- AHMED, N.; THOMPSON, S. The blue dimensions of aquaculture: A global synthesis. **Science of the Total Environment**, v. 652, p. 851–861, 2019.
- AL SAGHEER, F. A. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 410-419. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.01.032>>.
- ALABARAOYE, E.; ACHILONU, M.; HESTER, R. Biopolymer (Chitin) from Various Marine Seashell Wastes: Isolation and Characterization. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 6, 2018.
- ALCADE, L. B.; FONSECA, G. G. Alkali process for chitin extraction and chitosan production from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales. **Latin American Journal of Aquatic Research**, V. 44, N. 4, P. 683-688. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-3>>.
- ALI, M. E. A. et al. Chitosan nanoparticles extracted from shrimp shells, application for removal of Fe(II) and Mn(II) from aqueous phases. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, v. 53, n. 18, p. 2870–2881, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1489845>>.
- ALMEIDA, A. V. da C. et al. Appreciation of acai core of a pulp producer from Ananindeua/PA: proposal of reverse channel structure oriented by NPSW and reverse logistics. **Revista Gestão da Produção Operações e Sistemas**, v. 12, n. 4, p. 59–83, 1 jul. 2017. Disponível em: <<http://revista.feb.unesp.br/index.php/gepros/article/view/1668>>.
- ALMEIDA, E. V. R. et al. Chitosan, sisal cellulose, and biocomposite chitosan/sisal cellulose films prepared from thiourea/NaOH aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 655–664, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.10.039>>.
- ALVARENGA, E. S. **Characterization and Properties of Chitosan**. In: ELNASHAR, M.

- (Ed.). *Biotechnology of Biopolymers*. Rijeka, Croacia: In Tech, 2011. p. 91–108.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS STANDARDS. ASTM E96-00. **Standard test methods for water vapor transmission of materials**, EUA, 2000.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS STANDARDS. ASTM E96-00. **Standard practice for maintaining constant relative humidity by means of aqueous solutions**, EUA, 2002.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**, EUA, 2002.
- ANDRADE, S. M. B. de et al. The use of exoskeletons of shrimp (*litopenaeus vanammei*) and crab (*Ucides cordatus*) for the extraction of chitosan and production of nanomembrane. **Materials Sciences and Applications**, v. 03, n. 07, p. 495–508, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.4236/msa.2012.37070>>.
- ANEESH, P. A. et al. A step to shell biorefinery—Extraction of astaxanthin-rich oil, protein, chitin, and chitosan from shrimp processing waste. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01074-5>>.
- ANTONINO, N. A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundo da indústria pesqueira paraibana**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba/Programa de Pós-Graduação em Química, p. 88, 2007.
- ARBIA, W. et al. Optimization of medium composition for enhanced chitin extraction from *Parapenaeus longirostris* by *Lactobacillus helveticus* using response surface methodology. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p. 392-403. 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.025>>.
- ARREBATO, M. A. R. et al. Chitin and its derivatives as biopolymers with potential agricultural applications. **Biociencia Aplicada**, v. 27, p. 270–276, 2010. Disponível em: < <https://www.researchgate.net/publication/275024120>>.
- ASSIS, A. S. **Produção e caracterização do biofilme de quitosana como envoltório protetor em morangos**. 2009. Tese (Doutorado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, p. 88, 2009.
- ASSIS, A. S.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M. Bioconversão de resíduos de camarão *Litopenaeus vannamei* (booner, 1931) para produção de biofilme de quitosana. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, n. 5, p. 480–499, 2008.
- ASSIS, L. M. et al. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 24 abr. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232012000200001&lng=pt&tlng=pt>.
- AZEVEDO, A. R. G. et al. Technological performance of açai natural fibre reinforced cement-based mortars. **Journal of Building Engineering**, v. 33, p. 101675, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.job.2020.101675>>.

BAGHERI, V. et al. The optimization of physico-mechanical properties of bionanocomposite films based on gluten/ carboxymethyl cellulose/ cellulose nanofiber using response surface methodology. **Polymer Testing**, v. 78, p. 105989, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105989>>.

BENHABILES, M. S. et al. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 1, p. 48–56, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.02.013>>.

BIROLLI, W. G.; DELEZUK, A. M.; CAMPANA-FILHO, S. P. **Applied Acoustics**, v. 103, p. 239-242. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apacoust.2015.10.002>>.

BÖRJESSON, M.; WESTMAN, G. Crystalline Nanocellulose — **Preparation, Modification, and Properties**. In: Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends. [s.l.] InTech, 2015, p. 159–191.

BOUDOUAIA, N.; BENGHAREZ, Z.; JELLALI, S. Preparation and characterization of chitosan extracted from shrimp shells waste and chitosan film: application for Eriochrome black T removal from aqueous solutions. **Applied Water Science**, v. 9, n. 4, p. 1–12, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13201-019-0967-z>>.

BRAGA, D. G. et al. Chitosan-based films reinforced with cellulose nanofibrils isolated from Euterpe oleraceae MART. **Polymers from Renewable Resources**, v. 12, n. 1–2, p. 46–59, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/20412479211008747>>.

BRAGA, D. G. **Tratamentos químicos das fibras do mesocarpo de açaí para a produção de filmes de nanocelulose e nanocompósitos de quitosana**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais (PPGCF), p. 60, 2019.

BUFALINO, L. et al. How the chemical nature of Brazilian hardwoods affects nanofibrillation of cellulose fibers and film optical quality. **Cellulose**, v. 22, n. 6, p. 3657–3672, 3 dez. 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10570-015-0771-3>>.

CAMPANA-FILHO, S. P. et al. Extraction, structure and properties of α - and β -chitin. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644–650, 2007.

CARVALHO, L. M. S. **Preparação de filmes de quitosana reforçados com nanofibras de celulose: estudo das propriedades físico-químicas na associação com o herbicida glifosato**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química, p. 70, 2017.

CÉ, N. **Utilização de filmes de quitosana contendo nisina e natamicina para cobertura de kiwis e morangos minimamente processados**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), p. 95, 2009.

CHOPIN, T. et al. Open-water integrated multi-trophic aquaculture: Environmental biomitigation and economic diversification of fed aquaculture by extractive aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 4, n. 4, p. 209–220, 2012.

COSTA, J. S. et al. Relating features and combustion behavior of biomasses from the

Amazonian agroforestry chain. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-020-01121-1>>.

COSTA, E. S. **Rendimento e características físico-químicas da carne do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862) e do caranguejo *Dilocarcinus pagei* (Stimpson, 1861)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) – Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, p. 82, 2015.

CUNHA, F. S. de A. et al. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo farinha de resíduos do processamento de camarões (*Litopenaeus vannamei*). **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v. 28, n. 3, p. 273–279, 2006.

CUONG, H. N. et al. Preparation and characterization of high purity β -chitin from squid pens (*Loligo chensis*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 442-447. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.085>>.

DENG, Z.; JUNG, J.; ZHAO, Y. Development, characterization, and validation of chitosan adsorbed cellulose nanofiber (CNF) films as water resistant and antibacterial food contact packaging. **LWT - Food Science and Technology**, v. 83, p. 132–140, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.013>>.

DOAN, C. T. et al. Chitin extraction from shrimp waste by liquid fermentation using an alkaline protease-producing strain, *Brevibacillus parabrevis*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 706–715, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.117>>.

EICHHORN, S. J. et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **J. Mater Sci**, v. 45, p. 1-33. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10853-009-3874-0>>.

EL KNIDRI, H. et al. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181–1189, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>>.

FALAMARZPOUR, P.; BEHZAD, T.; ZAMANI, A. Preparation of nanocellulose reinforced chitosan films, cross-linked by adipic acid. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p. 1–12, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/doi:10.3390/ijms18020396>>.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. 2018.

FERNANDES, S. C. M. et al. Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 394–401, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.02.037>>.

FUNDO VALE. **O camarão regional-da-amazônia no estado do Amapá: as cadeias de calor da pesca artesanal de camarão e caranguejo na Costa Amazônica do Brasil: contexto social, econômico, ambiental e produtivo**. Brasília (DF); 2018.

GARCIA, I. A. et al. Avaliação de métodos titulométricos para determinação do grau de desacetilação em quitosana. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 4066–4084,

2020.

GEHLEN, L. R. **Efeito da utilização de fibras lignocelulósicas (açai e curauá) em comopósitos com matriz de resina poliéster insaturado**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Universidade Federal do Paraná - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, p. 104, 2014.

GIBSON, L. J. The hierarchical structure and mechanics of plant materials. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 9, n. 76, p. 2749–2766, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/doi:10.1098/rsif.2012.0341>>.

GORTARI, M. C.; HOURS, R. A. Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: A mini-review. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 3, 2013.

GOUW, V. P. et al. Fruit pomace as a source of alternative fibers and cellulose nanofiber as reinforcement agent to create molded pulp packaging boards. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 99, p. 48–57, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compositesa.2017.04.007>>.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 40–50, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.007>>.

HENNING, E. L. **Utilização de Quitosana Obtida de Resíduos de Camarão para Avaliar a Capacidade de Adsorção de Íons Fe 3+**. (Dissertação Mestrado). Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande., 2009.

HUANG, W. C. et al. Green and Facile Production of Chitin from Crustacean Shells Using a Natural Deep Eutectic Solvent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 45, p. 11897–11901, 14 nov. 2018. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.8b03847>>.

IBITOYE, E. B. et al. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket. **Biomedical Materials**, v. 13, 2018. Disponível em: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-605X/aa9dde>>.

KUMARI, S. et al. Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1697–1705, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.119>>.

KUMARI, S.; RATH, P. K. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (Labeo rohita) Fish Scales. **Procedia Materials Science**, v. 6, p. 482–489, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mspro.2014.07.062>>.

LI, Q.; ZHOU, J.; ZHANG, L. Structure and Properties of the Nanocomposite Films of Chitosan Reinforced with Cellulose Whiskers. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, v. 47, n. January, p. 1069–1077, 9 jun. 2009. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/cond-mat/0406218%0Ahttp://dx.doi.org/10.1002/polb>>.

LIMA, J. F.; SANTOS, T. S. Aspectos Econômicos e Higiênico-Sanitários da Comercialização de Camarões de Água Doce em Feiras Livres de Macapá e Santana, Estado do Amapá. **Biota Amazônia**, v. 4, n. 1, p. 1–8, 30 mar. 2014. Disponível em: <<http://www.bibliotekevirtual.org/index.php/2013-02-07-03-02-35/2013-02-07-03-03-11/1177-biota/v04n01/12017-aspectos-economicos-e-higienico-sanitarios-da-comercializacao-de-camaroes-de-agua-doce-em-feiras-livres-de-macapá-e-santana-estado-do-amapa.html>>.

LIMA, J. F.; SANTOS, T. S. **O comércio de camarões de água-doce em feiras livres de Macapá e Santana, estado do Amapá**. Embrapa Amapá, n. 1, p. 16, 2015.

MAGALHÃES, W. L. E.; CLARO, F. C. **Produção de filmes de celulose nanofibrilada**. Concórdia: Paraná: Embrapa Florestas, 2018. 8 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 413).

MAHARDIKA, M. et al. Properties of cellulose nanofiber/bengkoang starch bionanocomposites: Effect of fiber loading. *Lwt – Food Science and Technology*, v. 116, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108554>>.

MARGARITA, M. A. M.; RITA, T. B. D.; MENEGALLI, F. C. Filmes biodegradáveis: incorporação de microfibras e nanofibras de celulose obtidas de fontes vegetais. **Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales**, v. 5, p. 11–28, 2011.

MARVILA, M. T. et al. Durability of coating mortars containing açai fibers. *Case Studies in Construction Materials*, v. 13, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cscm.2020.e00406>>.

MORAES, M. A. **Obtenção e caracterização de blendas e compósitos poliméricos de fibroína de seda e alginato de sódio**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química, p. 93, 2010.

MOURA, J. M. **Avaliação da hidrólise alcalina da quitina e elaboração de filmes de quitosana para aplicação na adsorção de corante têxtil reativo preto 5**. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, p. 95, 2014.

NASCIMENTO, S. D. et al. Efeito da adição de argila nas propriedades de biofilme de quitosana. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 306-312, 2013.

NUNES, T. F. G. **Produção, Caracterização e Aplicação de Nanofibras de Celulose**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade de Coimbra, p. 81, 2014. Disponível em: <[https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/30004/3/Produção%20caracterização e aplicação de nanofibras de celulose.pdf](https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/30004/3/Produção%20caracterização%20e%20aplicação%20de%20nanofibras%20de%20celulose.pdf)>.

PAGNO, C. H. **Efeito da adição de nanoestruturas, óleos essenciais e quitosana no desenvolvimento de filmes e coberturas biodegradáveis com propriedades antioxidantes e antimicrobianas**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 177, 2016.

PELLISSARI, F. M. **Produção e caracterização de filmes de amido de mandioca, quitosana e glicerol com incorporação de óleo essencial de orégano**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, p. 124, 2009.

PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; RUSECKAITE, R. A.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1372-1381, 2011.

PINTO, A. da S. **Otimização de processos de obtenção de quitina e quitosana do exoesqueleto do camarão amazônico (Macrobrachium amazonicum , HELLER , 1863)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 66, 2014.

PORTELLA, E. H. **Nanopapel de celulose: preparação, caracterização e modificação com cristal líquido**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 66, 2018.

POTULSKI, D. C. et al. Characterization of fibrillated cellulose nanofilms obtained at different consistencies. **Scientia Forestalis**, v. 44, n. 110, p. 361–372, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.18671/scifor.v44n110.09>>.

RIBEIRO, A. G. O. **Produção de quitosana a partir dos caranguejos Dilocarcinus pagei Stimpson, 1861, capturados no município de Itacoatiara (AM)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, p. 88, 2017.

RONG, S. Y.; MUBARAK, N. M.; TANJUNG, F. A. Structure-property relationship of cellulose nanowhiskers reinforced chitosan biocomposite films. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 6, p. 6132–6136, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2017.11.054>>.

ROY, J. C. et al. **Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms**. In: XU, Z. (Ed.). Solubility of Polysaccharides. InTech, 2017. p. 110–127.

SALABERRIA, A. M.; LABIDI, J.; FERNANDES, S. C. M. Different routes to turn chitin into stunning nano-objects. **European Polymer Journal**, v. 68, p. 503–515, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.03.005>>.

SANTOS, K. O. et al. Thermal, chemical, biological and mechanical properties of chitosan films with powder of eggshell membrane for biomedical applications. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 136, n. 2, p. 725–735, 2019.

SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L. Determinação do grau de desacetilação de quitosana obtida de camarão “Saburica” (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877). **Scientia Plena**, v.7, n. 9, p. 13-28. 2013. Disponível em: <<http://doi.10.2312/ActaFish.2013.1.1.13-28%0AREVISÃO%0AActa of%0AActa>>.

SATO, M. K. et al. Biochar from Acai agroindustry waste: Study of pyrolysis conditions. **Waste Management**, v. 96, p. 158–167, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.022>>.

SEABRA, L. M. A. J. et al. Carotenoides totais em resíduos do camarão *litopenaeus vannamei*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 1, p. 130–133, 2014.

SEHAQUI, H. et al. Wood cellulose biocomposites with fibrous structures at micro- and nanoscale. **Composites Science and Technology**, v. 71, n. 3, p. 382–387, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compscitech.2010.12.007>>.

SILVA, M. A. **Desenvolvimento e caracterização de filmes compostos de alginato e quitosana contendo natamicina como agente antimicótico**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química, p. 219, 2009.

SIMPLICIO, E. S. **Isolamento de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaos de dendê obtidas por hidrólise enzimática**. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Química e Biológica) - Universidade de Brasília, p. 119, 2017.

SRINIVASAN, H.; KANAYAIRAM, V.; RAVICHANDRAN, R. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 662–667, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.035>>.

STEFANESCU, C.; DALY, W. H.; NEGULESCU, I. I. Biocomposite films prepared from ionic liquid solutions of chitosan and cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 435–443, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.003>>.

TANG, Y. et al. Preparation and properties of chitosan/guar gum/nanocrystalline cellulose nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, n. May, p. 128–136, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.073>>.

TAOKAEW, S. et al. Biosynthesis and characterization of nanocellulose-gelatin films. **Materials**, v. 6, n. 3, p. 782–794, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ma6030782>>.

TOIVONEN, M. S. et al. Water-Resistant, Transparent Hybrid Nanopaper by Physical Cross-Linking with Chitosan. **Biomacromolecules**, v. 16, n. 3, p. 1062–1071, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00145>>.

TOKATLI, K.; DEMIRDÖVEN, A. Optimization of chitin and chitosan production from shrimp wastes and characterization. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 2, p. 1-13. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.13494>>.

TOLESA, L. D.; GUPTA, B. S.; LEE, M. J. Chitin and chitosan production from shrimp shells using ammonium-based ionic liquids. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, p. 818–826, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.018>>.

TRINDADE, L. C. et al. **Biofilmes de quitosana: preparação e caracterização**. In: 11º Congresso Brasileiro de Polímeros, Campos do Jordão, SP. Anais. Campos do Jordão, SP: 2011.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - PPGEA, p. 168, 2014. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2568.pdf>.

VENTURA-CRUZ, S.; TECANTE, A. Extraction and characterization of cellulose nanofibers from Rose stems (*Rosa* spp.). **Carbohydrate Polymers**, v. 220, p. 53–59, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.053>>.

VIÉGAS, L. P. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia dos Materiais) -- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - Centro de Ciência e Tecnologia, p. 74, 2016.

WANG, Y. et al. Crystalline structure and thermal property characterization of chitin from Antarctic krill (*Euphausia superba*). **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 90-97. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.084>>.

WIDIYANTI, P.; JABBAR, H.; RUDYARDJO, D. I. Effects of variation of chitosan concentration on the characteristics of membrane cellulose bacteria-chitosan biocomposites as candidates for artificial dura mater. **AIP Conference Proceedings**, v. 1817, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1063/1.4976763>>.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133-1174. 2015. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1660-3397/13/3/1133>>.

ZAHEDI, S.; GHOMI, J. S.; SHAHBAZI-ALAVI, H. Preparation of chitosan nanoparticles from shrimp shells and investigation of its catalytic effect in diastereoselective synthesis of dihydropyrroles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 40, p. 260-264. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.07.023>>.