

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio
Anais do V Workshop 2009**

Odílio Benedito Garrido de Assis
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Editores

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Capa: Manoela Campos e Valentim Monzane
Imagem da Capa: Imagem de AFM de nanofibra de celulose - Rubens Bernardes Filho
Editoração eletrônica: Manoela Campos e Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2009): tiragem 200

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Instrumentação Agropecuária**

Anais do V Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao
agronegócio 2009 - São Carlos: Embrapa Instrumentação
Agropecuária, 2009.

Irregular
ISSN: 2175-8395

I. Nanotecnologia - Evento. I. Assis, Odílio Benedito Garrido de.
II. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. III. Mattoso, Luiz Henrique
Capparelli. IV. Embrapa Instrumentação Agropecuária

© Embrapa 2009



PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE N,N,N-TRIMETILQUITOSANA RELEVANTES AO REVESTIMENTO DE FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

Douglas de Britto, Odilio B. G. Assis

Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1452, C.P. 741, 13560-970, São Carlos, SP
Tel: (16) 2107-2800, Fax (16) 2107-2902. E-mail: odilio@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

Resumo

O planejamento fatorial aplicado a síntese da TMQ mostrou que a temperatura foi a variável mais importante, causando as maiores variações nas respostas, como $X(T) = -54,52; -9,5$ e $-7,25$ respectivamente para rendimento, solubilidade e grau de substituição. Análises como viscosidade e GPC indicaram a ocorrência de degradação polimérica.

Palavras-chave: trimetilquitosana, biocompatibilidade, viscosidade, massa molar.

Introdução

O derivado N,N,N-trimetilquitosana (TMQ) é um polieletrólito hidrossolúvel que possui cargas positivas permanentes ao longo das cadeias devido à quaternização dos grupos amino, sendo, portanto, solúvel em uma ampla faixa pH. Alguns trabalhos têm comprovado a eficiência da TMQ como auxiliar na absorção de drogas no intestino (KOTZÉ et al., 1998). O derivado TMQ possui atividade antibacteriana, a qual é devida à interação das cargas positivas da TMQ com grupos negativamente carregados da membrana bacteriana (JIA et al., 2001). Esta propriedade a torna muito interessante para aplicações na área alimentícia, especialmente como filmes protetores para estender o tempo de prateleira e melhorar a qualidade de frutas e hortaliças (BRITTO e ASSIS, 2007).

O processo de obtenção da TMQ a partir da quitosana é realizado geralmente em meio heterogêneo o que confere certo grau de heterogeneidade ao derivado. Vários parâmetros são importantes para caracterizar um derivado polimérico entre os quais a massa molar, o rendimento, a solubilidade, a viscosidade e o grau

médio de substituição (DS). No entanto, o controle adequado das condições reacionais permite a obtenção de derivados com distribuição mais homogênea destes parâmetros.

Em se falando de filmes para revestimento de frutas, as características citadas afetam as propriedades mecânicas dos filmes bem como sua atividade antimicrobiana. Desta forma, este trabalho discute os principais resultados obtidos pela análise fatorial da reação de quaternização da quitosana, no sentido de otimizar esta reação. Algumas amostras representativas foram escolhidas para ensaios complementares como viscosidade, ângulo de contato e GPC.

Materiais e métodos

A quitosana (MMW) foi adquirida da Aldrich e submetida à quaternização, empregando DMS como agente metilante (BRITTO e ASSIS, 2007). O planejamento fatorial foi realizado a partir de três fatores: temperatura, tempo e presença de NaCl, e dois níveis, resultando, portanto, em 8 experimentos. As respostas estudadas foram: rendimento, solubilidade e DS determinado por ^{13}C -RMN

(BRITTO et al., 2008). Algumas amostras representativas foram escolhidas para ensaios complementares como viscosidade, ângulo de contato e GPC.

Na determinação da **viscosidade intrínseca**, $[\eta]$, foi preparada uma solução a 1 mg/mL em solução tampão ácido acético e acetato de sódio. O equipamento empregado foi o sistema AVS-350 acoplado à bureta automática AVS-20 para diluição seriada, ambos da Schott-Geräte.

O **caráter hidrofílico ou molhabilidade** foi determinado através de medidas de ângulo de contato. Imagens da gota de água (cerca de 2 μ L) sobre o filme polimérico em lâmina de vidro e o cálculo do ângulo de contato foram realizados com o equipamento CAN101 da KSV Instruments. Foram realizadas em média 6 medidas.

A determinação da **massa molar** foi realizada por Cromatografia em Permeação em Gel (GPC-Anvaçado) no Laboratório de Engenharia Bioquímica (FEQ – UNICAMP) empregando procedimento padrão. O sistema GPC Avançado consiste de uma bomba da Waters modelo 515, um degaseificador Viscotek modelo VE7510, um injetor Rheodyne modelo 7715i e detectores Viscotek modelo TDA302, que contém: refractômetro (RI) viscosímetro, light scattering 90° e light scattering 7° e o software Viscotek OmniSEC v. 4.1.0.224. A separação dos componentes das amostras foi realizada utilizando-se duas colunas Ultrahydrogel Linear (7,8 x 300 mm) da Waters.

Resultados e discussão

Utilizado o programa computacional FATORIAL® (BARROS NETO et al., 2007) para realizar os cálculos necessários à análise do planejamento fatorial, foram encontrados os valores de interação descritos na Tabela 1. O valor da média global para a resposta rendimento mostra que, considerando todos os efeitos, quando se passa do nível mais baixo (T=25oC; t=3 horas; S=ausência de NaCl) para o nível mais alto (T=50oC; t=6 horas; S=0,44g de NaCl), é muito desfavorável ao ganho de massa. Já as respostas solubilidade e DS foram favorecidas quando se passou do nível mais baixo para o nível mais alto. Quanto aos efeitos principais, a temperatura, X(T) foi a variável mais desfavorável para todas as respostas, sendo o rendimento a resposta mais afetada. De fato, o meio ácido resultante da reação de quaternização, provoca uma despolimerização das cadeias de quitosana, processo este que se torna muito acentuado a temperaturas mais elevadas. Posteriormente as quais são eliminadas pelo processo de diálise afetando, assim, o rendimento da reação.

Tabela 1. Efeitos calculados para o planejamento fatorial de acordo com as respostas rendimento da reação, solubilidade e DS, em que X(T), X(t) e X(S) representam respectivamente as variáveis temperatura, tempo e presença de sal.

Respostas	Rendimento	Solubilidade	DS
Média Global	-21,05	71	29,38
Efeitos principais:			
X(T)	-54,52	-9,5	-7,25
X(t)	-9,84	2,0	4,75
X(S)	4,07	1,0	-1,75
Efeitos secundários:			
X(Tt)	-13,46	-12,5	1,75
X(tS)	11,72	-4,0	-0,75
X(TS)	-6,23	-20,5	1,25
Efeito terciário:			
X(TtS)	7,79	11,5	9,25

As variáveis tempo, X(t) e presença de sal X(S) tiveram valores menores, no entanto, a existência de efeitos de interação significativos principalmente quanto as variáveis X(Tt) e X(TS), indica que os efeitos principais devem ser interpretados conjuntamente. A partir destes resultados pode-se concluir que a melhor condição para se obter a TMQ com bom rendimento e com maior DS deve ser a temperatura mais baixas e tempo de reação mais estendidos. Por outro lado, a presença do sal NaCl praticamente não influenciou nas respostas, indicando a possibilidade de ser suprimido da reação.

A determinação da viscosidade teve como objetivo comparar a despolimerização da quitosana após a reação de quaternização. Uma vez que a viscosidade intrínseca $[\eta]$ está relacionada diretamente com a massa molar média da amostra é possível avaliar, qualitativamente, a degradação que ocorre durante uma determinada reação, comparando a viscosidade intrínseca do produto e do derivado obtido.

Os dados de viscosidade intrínseca, $[\eta]$, (Tabela 2) mostram claramente a degradação polimérica sofrida após a reação. Nota-se também o efeito negativo da temperatura (TMQ y_7) a qual apresentou o menor valor de $[\eta]$.

Tabela 2. Valores de viscosidade intrínseca para amostra de quitosana e TMQ.

Amostra	$[\eta]$ Huggins	R	$[\eta]$ Kraemer	R
Quitosana	637	0,998	646	-0,98
TMQ y_3	160	0,977	162	-
TMQ y_7	50	0,998	50	0,996

Quanto ao ângulo de contato, observa-se um decréscimo acentuado deste para a TMQ em comparação com a quitosana (Fig. 1). De fato a

introdução de grupos quaternários permanentes torna o derivado mais hidrofílico, pois há a formação de um sal. Por outro lado, os grupos metilas contribuem para aumento do caráter hidrofóbico devido à sua natureza apolar. Assim, a propriedade final do derivado dependerá de um balanço destes fatores. No caso da amostra TMQ y_7 , a metilação excessiva não é interessante visto que a natureza apolar dos grupos metila sobrepujou o caráter hidrofílico tornando o derivado mais hidrofóbico.

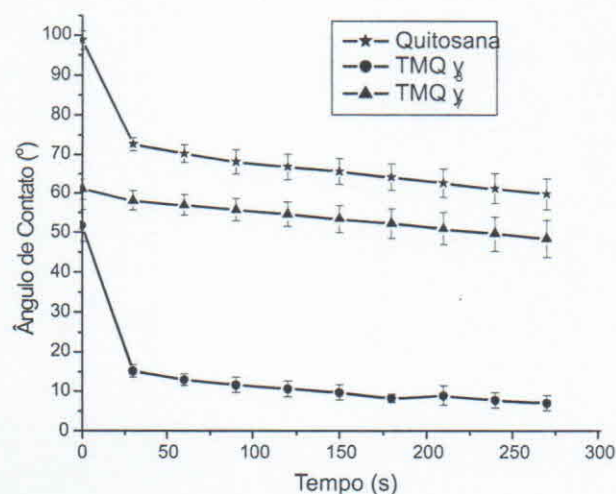


Fig. 1. Gráfico da variação do ângulo de contato versus tempo de gota de água sobre filmes de quitosana e TMQ em lâmina de vidro.

A análise por GPC também deixa evidente a profunda modificação sofrida pela quitosana durante o processo de quaternização (Tabela 3). A massa molecular ponderal média (M_w) e a massa molecular numérica média (M_n) diminuem para os derivados, evidenciando, assim, a ocorrência de despolimerização. A baixa polidispersividade (M_w/M_n) das TMQs é devido a eliminação das frações de moléculas degradadas durante as diálise.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos da quitosana e TMQ de acordo com as análises por GPC.

Amostra	M_n	M_w	M_w / M_n
Quitosana	60.146	128.718	3,636
TMQ y_3	56.779	116.813	2,059
TMQ y_7	12.593	19.364	1,538

Conclusões

O planejamento fatorial mostrou que a variável temperatura é muito prejudicial ao rendimento, à solubilidade e ao DS, principalmente quando combinada com a presença de sal NaCl. Visando sua potencial aplicação no ramo agroalimentício, medidas de viscosidade, molhabilidade e GPC indicam que derivados muito degradados não são indicados para esta finalidade.

Agradecimentos

FAPESP, CNPQ, FINEP/MCT EMBRAPA, Prof. Dra. Telma Teixeira Franco (FEQ-UNICAMP).

Referências

- BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento Experimental e Otimização**. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com>>. Acesso em: 02 jul. 2007.
- BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. *Int. J. Biol. Macromol.*, Guildford, v. 41, n. 2, p. 198-203, 2007.
- BRITTO, D.; FORATO, L. A.; ASSIS, O. B. G. Determination of the average degree of quaternization of N,N,N-trimethylchitosan by solid state ^{13}C NMR. *Carbohydr. Polym.*, Barking, v. 74, p. 86-91, 2008.
- JIA, Z.; SHEN, D.; XU, W. [Quitosana]. *Carbohydr. Res.*, Amsterdam, v. 333, p. 1-6, 2001.
- KOTZÉ, A. F.; LUEßEN, H. L.; LEEUW, B. J.; BOER, B. G.; VERHOEF, J. C.; JUNGINGER, H.E. Comparison of the effect of different chitosan salts and N-trimethyl chitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco-2). *J. Control. Release*, Amsterdam, v. 51, p. 35-46, 1998.