

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA

MEMBRANAS DE QUITOSANA: OBTENÇÃO E APLICAÇÕES

TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA PARA A
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS.

OSVALDINO GUAZINA DE BRUM

FLORIANÓPOLIS - SC

OUTUBRO DE 1988.

MEMBRANAS DE QUITOSANA: OBTENÇÃO E APLICAÇÕES

OSVALDINO GUAZINA DE BRUM

ESTA TESE FOI JULGADA E APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO ORIENTA
DOR E MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA.

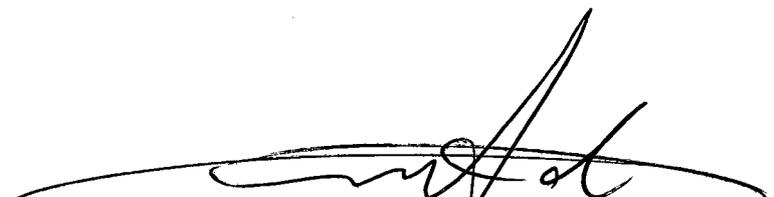


PROF. DR. ALFREDO TIBÚRCIO NUNES PIRES
ORIENTADOR

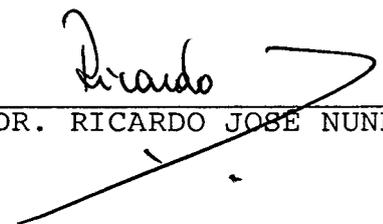


PROF. DR. ADEMIR NEVES
COORDENADOR

BANCA EXAMINADORA:



PROF. DR. ALFREDO TIBÚRCIO NUNES PIRES



PROF. DR. RICARDO JOSÉ NUNES



PROF. DR. WILSON ERBS

*A Rosenei, Daniel e Rafael
pelo apoio e compreensão.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Alfredo Tibúrcio N. Pires por sua dedicada orientação e pela amizade.

Aos professores do Departamento de Química da UFSC que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Química da UFMS pelo estímulo e apoio.

Aos funcionários da secretaria da pós-graduação em Físico-Química pela ajuda prestada.

À CAPES/PICD pela bolsa concedida.

Aos amigos e colegas da pós-graduação em Físico-Química pela dedicada e desinteressada amizade.

ÍNDICE GERAL

	PAG.
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1 - INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Membranas.....	01
1.2. Microfiltração.....	03
1.3. Osmose reversa.....	04
1.4. Ultrafiltração.....	05
1.5. Membranas assimétricas.....	08
1.6. Membranas líquidas.....	09
1.7. Membranas impregnadas.....	11
1.8. Quitina e quitosana-produção e aplicações.....	12
1.9. Objetivos.....	14
2 - PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS.....	15
2.1. Materiais e equipamentos.....	15
2.2. Obtenção da quitina.....	16
2.3. Obtenção da quitosana.....	17
2.4. Massa molar.....	19
2.5. Grau de desacetilação.....	23
2.6. Preparação de membranas assimétricas de quitosana.....	26
2.7. Microscopia eletrônica.....	31
2.8. Medidas de retenção de macromoléculas.....	33
2.9. Membranas impregnadas com metais.....	37

2.10. Ultrafiltração centrífuga.....	39
2.11. Influência da concentração de sal na ultrafiltração de polieletrólitos.....	47
2.12. Influência da variação do pH na ultrafiltração centrífuga de proteínas e dextrana azul.....	50
3 - DISCUSSÃO.....	53
3.1. Quitina e quitosana.....	53
3.2. Membranas.....	56
3.3. Ultrafiltração de macromoléculas.....	59
3.4. Perspectiva para utilização da membrana assimétrica de quitosana.....	63
4 - CONCLUSÃO.....	65
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

RESUMO

Quitina, (1→4)-2-acetamida-2-desoxi-β-D-glucana, foi isolada a partir de cascas de camarão, matéria prima de baixo custo e abundante na região. O derivado desacetilado desse polissacarídeo, a quitosana, (1→4)-2-amino-2-desoxi-β-D-glucana, foi obtida através da hidrólise básica da quitina.

A caracterização da quitosana foi feita através da determinação da massa molar e do grau de desacetilação, determinados por viscosimetria e espectroscopia infravermelho respectivamente.

As membranas de quitosana foram obtidas espalhando-se a solução de quitosana sobre uma placa de vidro, evaporando o solvente e coagulando a membrana em hidróxido de sódio.

As medidas de retenção de macromoléculas foram feitas empregando-se a ultrafiltração convencional e ultrafiltração centrífuga.

Os resultados de retenção de macromoléculas, obtidos na ultrafiltração centrífuga mostraram que membranas de quitosana podem ser empregadas em processos de separação e concentração de soluções de polímeros e proteínas. Esses experimentos foram feitos com macromoléculas de diferentes massas molares e solução em vários valores de pH.

ABSTRACT

The chitin, (1→4)-2-acetamide-2-deoxy-β-D-glucan , was isolated from shrimp shell because of its great abundance in our region. A chemical modification of chitin was made via basic hydrolysis of the acetamide group in order to obtain a polymer , chitosan.

Chitosan was characterized by infrared spectroscopy and its molecular weight was determined using intrinsic viscosity .

The membranes were obtained by covering a glass plate with appropriate amount of chitosan solution and after evaporation of part of the solvent, the glass plate was immersed in 2 N sodium hydroxide solution.

The retention of macromolecules was obtained by using two techniques: the conventional ultrafiltration or vertical-membrane ultrafiltration cells. The results of the last technique showed that it is possible to use chitosan membrane in separation processes and in concentrations polymers and proteins solutions. These experiments were made with macromolecules of different molecular weights and different pH values.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 . MEMBRANAS

Por membrana entende-se uma interface entre dois sistemas, líquidos ou gasosos, comportando-se como uma barreira parcial entre as duas regiões.¹

Nas últimas décadas as membranas sintéticas vêm adquirindo uma importância cada vez maior e as pesquisas nesse campo se desenvolvem de uma maneira bastante acentuada, fornecendo à indústria a base necessária para o desenvolvimento de processos de separação através de membranas. Esses processos têm aplicações em diversos campos de atividade, tais como, na medicina, na biologia, na indústria de alimentos e na indústria química. Exemplos de aplicações dos processos de separação utilizando membranas são apresentados na Tabela 1.²⁻⁶

Dos processos de separação mencionados na Tabela 1, os que apresentam maior aplicação industrial são: osmose reversa, microfiltração e ultrafiltração.

Tabela 1 - Processos de separação através de membranas.

Força motriz ^a	Processo	Campo de aplicação
$\Delta c (\Delta \pi)$	Diálise	Purificação de soluções de polímeros (separação de eletrólitos e não eletrólitos de baixa massa molar). Rim artificial.
ΔE	Eletrodiálise	Dessalinização de salmoura e água do mar. Redução da acidez de sucos cítricos. Purificação de águas contaminadas com metais.
ΔP	Ultrafiltração	Purificação e concentração de sucos soluções de polímeros, etc. Recuperação de proteínas do soro do leite. Purificação de águas poluídas.
	Microfiltração	Purificação de águas para o consumo humano. Filtração esterilizada (pré-tratamento de líquidos farmacêuticos).
	Osmose reversa	Dessalinização de águas. Recuperação de águas poluídas. Indústria de laticínio. Indústria de alimentos.

a. $\Delta \pi$, ΔE e ΔP representam as variações de pressão osmótica, potencial elétrico e pressão hidrostática.

1.2. MICROFILTRAÇÃO

A microfiltração é empregada para sistemas contendo partículas com diâmetro acima de 500 Å e sob pressões que variam entre 0,3 e 3,0 atm. Este processo de separação encontra hoje um grande número de aplicações nos mais diversos ramos de atividades tais como, na indústria farmacêutica, na medicina e na purificação de águas para o consumo humano^{3,4}.

As primeiras membranas utilizadas na microfiltração foram obtidas a partir do acetato de celulose ou mistura de acetato e nitrato de celulose. Estas membranas foram obtidas pela coagulação de um filme de acetato de celulose exposto a umidade⁴.

Nos últimos anos, outros polímeros, como polipropileno, policarbonato e teflon, passaram a ser utilizados e outros métodos de obtenção de membranas para microfiltração foram desenvolvidos. As membranas para microfiltração, obtidas a partir do teflon e polipropileno, foram desenvolvidas através da técnica de estiramento controlado, na qual microrrachaduras são produzidas na membrana. Como o estiramento é feito de maneira controlada é possível obter membranas com uma porosidade adequada à sua utilização³.

Irradiando-se um filme fino de policarbonato com partícula α são obtidas membranas com diâmetros de poros bem definidos, após o tratamento químico das mesmas^{3,4}. Estas membranas têm importantes aplicações, principalmente na separação de micropartículas.

1.3 . OSMOSE REVERSA

Colocando-se uma solução em contacto com o seu sol_uvente através de uma membrana semipermeável ocorrerá um fluxo de solvente devido à diferença de potencial químico do solvente no compartimento da solução ser diferente do potencial químico do solvente puro. Este fluxo natural, denominado osmose e ilustrado na Figura 1, cessará quando a pressão exercida sobre a solução for tal que o potencial químico do solvente em ambos os compartimentos se igualem. Para pressões superiores o fluxo natural é invertido, tendo-se osmose reversa.

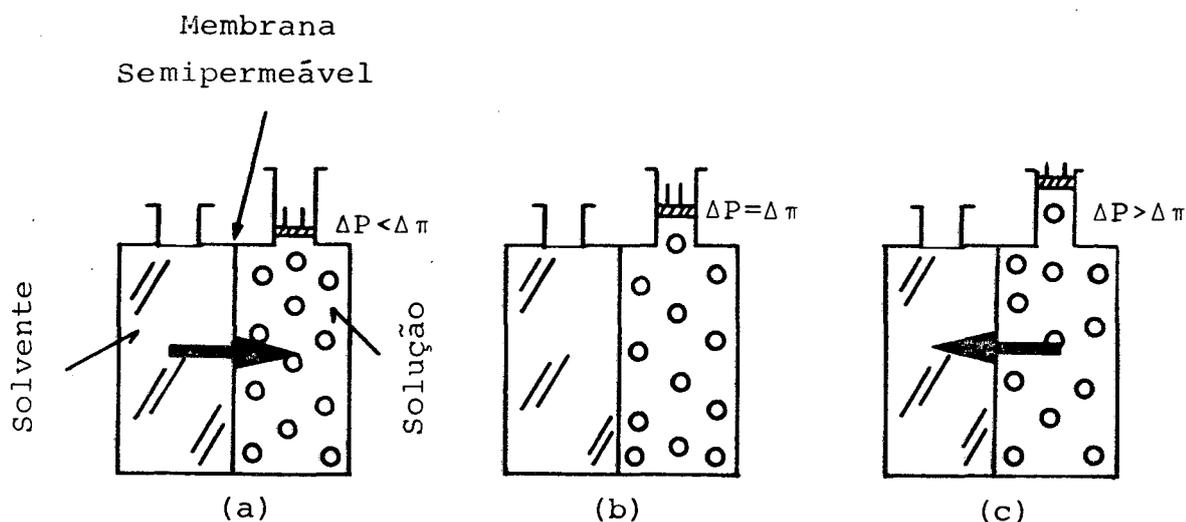


Figura 1 - Fenômeno de (a) osmose, (b) equilíbrio osmótico, (c) osmose reversa. π representa a pressão osmótica.

A osmose reversa é aplicada a sistemas contendo partículas com diâmetros que variam entre 2 e 10 Å e sob pressões entre 10 a 100 atm.³

O campo de aplicação da osmose reversa é bem amplo,

incluindo a dessalinização de água do mar, indústria de laticínio, indústria de alimentos e recuperação de águas industriais⁷, sendo a dessalinização de água do mar destinada ao consumo a sua maior aplicação.

O processo de separação por osmose reversa, teve um grande impulso nas últimas décadas, principalmente após o desenvolvimento da membrana assimétrica por Loeb e Surirajan.⁸ As membranas para osmose reversa podem ser obtidas a partir de um grande número de polímeros, sendo os principais o acetato de celulose com grau de acetilação variando entre 2,5 e 2,8%, poliamidas aromáticas e poliimidas. As membranas de acetato de celulose apresentam uma absorção de água semelhante às membranas de poliamidas aromáticas, mas a difusão de sal é menor nas membranas de poliamidas aromáticas.^{3,9,10}

O desenvolvimento de membranas de acetato de celulose e poliamidas aromáticas, na forma de fibras ocas, aumentou consideravelmente a área efetiva da membrana, melhorando sensivelmente o processo de separação por osmose reversa.⁴

1.4 . ULTRAFILTRAÇÃO

A ultrafiltração é empregada para soluções com partículas com diâmetro entre 10 e 1000 Å. Neste processo a pressão aplicada é geralmente moderada, variando entre 1 e 7 atm e é um dos processos de separação mais antigo. Entretanto, só foi aplicado em escala de laboratório por volta de 1930, sendo sua aplicação em escala industrial possível algumas décadas mais tarde,³ com o desenvolvimento da membrana assimétrica por Loeb e Surira -

jan.⁸

O campo de aplicação deste processo é bastante am plo. Atualmente, as principais aplicações da ultrafiltração na in dústria e em escala de laboratório são na purificação e concentração de sucos e soluções de polímeros, recuperação de proteínas do soro de leite e purificação de águas poluídas.⁴⁻⁶

A ultrafiltração apresenta inúmeras vantagens so bre os outros processos, pois pode ser conduzida a temperatura am biente, evitando deste modo, a desnaturação das proteínas e decomposição de produtos químicos pelo calor, além de ser um processo que requer um baixo consumo de energia. Estas vantagens são sufi cientes para justificar a substituição dos processos tradicionais de concentração de soluções através de evaporação e secagem pelo calor, além de melhorar a qualidade do produto final, principal mente no que se refere a sabor, odor e cor, uma vez que os proces sos tradicionais geralmente alteram as propriedades dos produtos por desnaturação de proteínas e decomposição de produtos quími cos.⁴⁻⁶

As membranas para ultrafiltração podem ser obtidas a partir de materiais como: policarbonato, poli(cloreto de vinila), poliamidas, polisulfonas, poliacrilatos, poli(alcool vinílico) re ticulado, além de acetato de celulose.^{3,4} Apesar da maior eficiên cia da ultrafiltração, com relação aos processos clássicos de con centração de soluções, a ultrafiltração apresenta problemas difí ceis de serem resolvidos. O principal problema na ultrafiltração é a polarização da membrana. Quando a pressão aplicada é perpendi cular à membrana, a concentração de macrossoluto aumenta muito na superfície da membrana. Na ultrafiltração somente o solvente e mi crossoluto passam através da membrana. As macromoléculas são re

jeitadas e devido à sua baixa difusibilidade na solução tendem a se acumular na superfície da membrana, formando uma camada viscosa, que atua como uma camada filtrante extra, prejudicando o fluxo de solvente através da membrana^{3,5} e o processo de filtração. Esse efeito de polarização por concentração pode ser diminuído através da agitação da solução macromolecular, ou empregando-se a ultrafiltração centrífuga. Na ultrafiltração centrífuga a membrana é posicionada verticalmente em uma célula de diálise, de tal maneira que permaneça paralela ao campo de centrifugação. Deste modo, forma uma corrente de convecção na solução de alimentação, devido ao campo inercial, Figura 2, evitando a polarização da membrana por concentração.¹¹

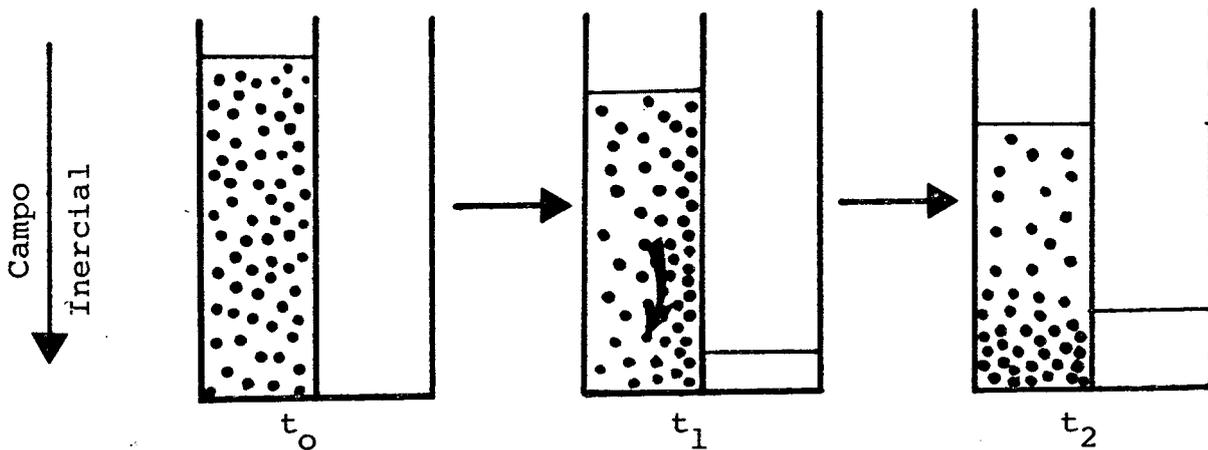


Figura 2 - Esquema da célula de diálise mostrando a convecção do macrossoluto em diferentes tempos, sob ação de um campo inercial paralelo à membrana.

1.5 . MEMBRANAS ASSIMÉTRICAS

Conforme foi comentado anteriormente a aplicação dos processos de separação e concentração através da ultrafiltração e osmose reversa só foi possível após o desenvolvimento da membrana assimétrica.

Por membrana assimétrica, entende-se uma barreira polimérica constituída de uma camada fina e densa, suportada por uma estrutura mais porosa, do mesmo material polimérico. Membranas assimétricas permitem uma maior eficiência na separação, comparada a membranas densas de mesma espessura. Além de suportar pressões mais elevadas, a estrutura porosa sendo espessa, confere à membrana maior resistência mecânica.^{5,12}

O processo de formação da membrana assimétrica pode ser dividido nas seguintes etapas: moldagem, evaporação e coagulação.

Após a moldagem da membrana o filme da solução de polímero é submetido a evaporação, durante a qual a difusão do solvente induz à formação de um perfil assimétrico de polímero no filme.

A imersão do filme em um não solvente, permite a troca do solvente pelo não solvente por difusão, ocorrendo a formação de composição metaestável do polímero.

Quando as composições metaestáveis são alcançadas no filme o processo de nucleação e formação de agregados pode ocorrer, os quais são responsáveis pela porosidade da membrana.¹³

Dependendo da composição da solução de polímero e em diferentes condições de preparação, podem ser obtidas membra

nas assimétricas de diferentes texturas e distribuição de poros. Por exemplo: membranas assimétricas de acetato de celulose, obtidas a partir de soluções onde o solvente seja somente ácido acético ou mistura de ácido acético e acetona (não solvente), na proporção de solubilidade limite, mostram diferentes cortes,¹⁴ isto é, diferentes distribuições do tamanho de poros.

Membranas obtidas através da evaporação total do solvente e não submetidas a etapa de coagulação em um não solvente, apresentam características diferentes das membranas assimétricas e são conhecidas como membranas simétricas. Nessas membranas a camada filtrante é toda a espessura da membrana e não apresentam estrutura porosa como suporte.

1.6 . MEMBRANAS LÍQUIDAS

Devido ao baixo coeficiente de difusão do soluto no material polimérico sólido as membranas são de um modo geral barreiras que permitem um baixo fluxo. Este problema é amenizado com o desenvolvimento de membranas com uma camada filtrante muito fina. Por outro lado, as membranas em geral não são altamente seletivas para moléculas de tamanho e quimicamente similares.

Alguns líquidos orgânicos exibem alta seletividade entre espécies químicas semelhantes. Por exemplo os éteres coroa, formam complexos estáveis com íons potássio mas não forma com íons sódio. Outros líquidos orgânicos, como por exemplo oximas, quinolininas e aminas, trocam íons metálicos por íons hidrogênio ou vice-versa, dependendo do pH. Se estes líquidos orgânicos são introduzidos em uma placa porosa, mantêm-se fixos por força capilar,

tendo-se então uma membrana líquida que apresenta maior permeabilidade pois os coeficientes de difusão em líquidos são maiores do que em sólidos.

Na Figura 3 é apresentado esquematicamente o transporte de íons bivalentes através da membrana de troca iônica líquida. Um gradiente na concentração dos íons hidrogênio e dos íons metálicos bivalentes é formado na mesma direção através da membrana. No lado esquerdo da interface membrana-solução dois íons hidrogênios são liberados para a solução e o íon metálico passa a membrana formando a espécie neutra R_2M . Esta espécie difunde para a interface membrana-solução oposta onde a reação inversa ocorre.

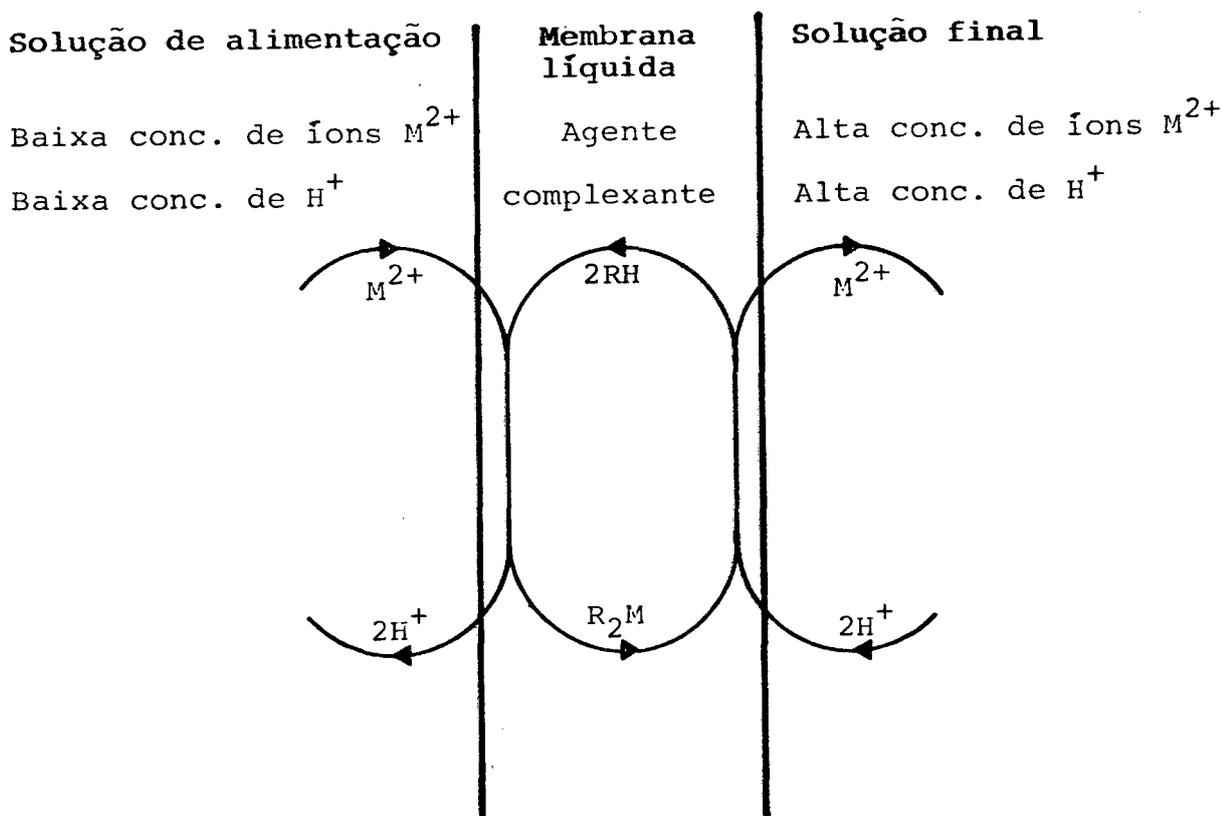


Figura 3 - Mecanismo de transporte de íons metálicos bivalentes através de uma membrana líquida.

O equilíbrio será alcançado quando a razão de concentração for dada pela seguinte expressão

$$\frac{[M^{2+}]_f}{[M^{2+}]_a} = \left[\frac{[H^+]_f}{[H^+]_a} \right]^2$$

onde os subíndices a e f representam solução de alimentação e solução final respectivamente. Através da equação anterior pode-se prever que uma diferença de uma unidade no valor de pH o íon metálico pode ser concentrado em 100 vezes.^{3,15}

Recentemente, outros trabalhos foram publicados mostrando novos métodos de utilização de membranas líquidas. Alguns deles utilizam uma membrana assimétrica como suporte para a membrana líquida. Por exemplo, uma membrana assimétrica de poli(trimetilvinil silano) foi utilizada como suporte para uma membrana líquida preparada a partir de sal de Cu(II)/benzaina/N-metilimidazol para transporte de monóxido de carbono.¹⁶

1.7 . MEMBRANAS IMPREGNADAS

Membranas simétricas impregnadas com metais são conhecidas desde o século passado. Em 1867, Moritz Traube obteve uma das primeiras membranas sintéticas impregnadas, precipitando ferrocianeto de cobre em porcelana.¹⁷ No início deste século, o processo de obtenção de membranas impregnadas foi melhorado, conse

guindo-se membranas mais finas e com razoável permeabilidade. Mais recentemente, outras membranas foram obtidas por impregnação de metais em diferentes polímeros.¹⁸

A impregnação de metais em uma membrana provoca uma redução no diâmetro dos poros; por outro lado, a presença de íons metálicos introduz cargas na membrana, favorecendo a retenção de polieletrólitos. Essas membranas têm interesse em atividades onde o material a ser permeado é um eletrólito.

1.8 . QUITINA E QUITOSANA - PRODUÇÃO E APLICAÇÕES

A quitina, (1→4)-2-acetamida-2-desoxi-β-D-glucana e quitosana, (1→4)2-amino-2-desoxi-β-D-glucana, são obtidas industrialmente a partir de cascas de crustáceos como: camarão, caranguejo, lagostim e de resíduos dos processos de fermentação. Os maiores produtores mundiais de quitina e quitosana, Estados Unidos da América e Japão, têm aumentado nos últimos anos a produção desses polímeros naturais, em consequência do aumento de sua utilização nos diferentes campos de aplicações, principalmente na indústria de alimentos, quelação de metais e membranas simétricas para separação de gases.¹⁹⁻²²

A viabilidade econômica das indústrias que produzem quitina e quitosana a partir de resíduos (cascas) de crustáceos está diretamente relacionada com a abundância e baixo custo da matéria prima. Nos países produtores, a matéria prima é fornecida pelas indústrias que produzem alimentos enlatados a partir de pescados.¹⁹ Nos países do terceiro mundo, esses resíduos não são normalmente aproveitados, acarretando problemas de poluição.

Conforme foi citado anteriormente, o aumento na produção nos países desenvolvidos, está sendo incentivado pelo aumento no consumo. Contudo, este aumento não acarretará um desequilíbrio ecológico, por tratar-se de uma atividade de reaproveitamento de resíduos de outras indústrias.

Uma outra fonte desses polímeros está associada aos processos de fermentação que produzem ácidos orgânicos, antibióticos e enzimas.²³ Como exemplo, pode ser citado que de uma produção de 90.000 toneladas de ácido cítrico por fermentação podem ser obtidas de 10 a 100 toneladas de resíduos do fungo *Aspergillus niger* que podem ser empregados na produção de quitina.

Outras três espécies de fungos, *Mucor rouxii*, *Phycomyces blakeslecanus* e *Zygorhynchens moelleri*, contêm uma razoável quantidade de quitosana, sendo uma importante fonte de quitina desacetilada.¹⁹

As principais aplicações da quitina e quitosana são na purificação de águas poluídas, purificação de resíduos tóxicos, na indústria de papéis, vidro, produtos fotográficos e na área médica.¹⁹

Devido à capacidade quelante apresentada pela quitosana, ela pode ser empregada para purificação de resíduos tóxicos e extração de metais de transição da água do mar e resíduos industriais. A capacidade que a quitosana apresenta para complexar metais de transição pode ser uma alternativa para os processos tradicionais de tratamento de águas e uma maneira de prevenir a poluição da água por mercúrio, cobre e outros metais tóxicos.¹⁹⁻²⁰

Na indústria de papel, a quitosana é usada principalmente para recobrir folhas de papel. Após aplicar uma camada

de quitosana sobre as folhas de papel, esta é coagulada por exposição à vapores de amônia e posteriormente a folha de papel é seca. Desse modo, obtem-se uma folha de papel mais resistente à água. Outras aplicações importantes são: produção de placas litográficas para impressão e cromatografia de troca iônica.¹⁹

No campo fotográfico é potencialmente importante a aplicação da quitosana, devido a sua resistência a abrasão, características ópticas e sua habilidade para fixar complexos de prata.¹⁹

Na área médica e bioquímica a quitosana pode ser usada na forma de membrana para hemodiálise (rim artificial), anticoagulante do sangue e outras aplicações importantes. Todas as aplicações na área médica têm sido descritas como alternativas viáveis, devido a quitosana não ser um produto tóxico.¹⁹

Além das aplicações mencionadas a quitina e derivados têm várias outras aplicações, como aditivo fibroso na indústria de panificação, como aditivo em creme dental, xampus etc.

1.9 . OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- a. Obtenção de membranas sintéticas de quitosana, que apresentem alta retenção de macrossoluto sem prejuízo para o fluxo de solvente, além de boa resistência mecânica.
- b. Estudos das aplicações de membranas de quitosana em processos de ultrafiltração.
- c. Análise da influência da concentração de contra-íons em soluções de polieletrólitos em processos de ultrafiltração ou diálise.

2 - PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

2.1 . MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Sacarose - VETEC - lote 85771

Dextrana T2000 - PHARMACIA - lote IK 32207

Dextrana T500 - PHARMACIA - lote 38624

Dextrana Azul - PHARMACIA - lote KH 38333

Ovalbumina - SIGMA - lote 108C - 8135

Ácido Acético Glacial - VETEC - lote 861028

Hidróxido de Sódio - MERCK

Nitrato de Ferro III - MERCK

Nitrato de Alumínio - CARLO ERBA

Nitrato de Cobre - MERCK

Albumina Bovina - SIGMA . lote 41F - 0059

Soro Fetal Bovino CULTILAB - lot 1033

Poliacrilamina Crossfilf - CFA 40

Poli(sódio-4-estireno Sulfonato) - ALDRICH - lote 0201355

Citocromo C - SIGMA - lote 91F 7050

Alcool Etílico PA - MERCK

Acetona PA - MERCK

Hipoclorito de Sódio - Comercial

Ácido Clorídrico PA - MERCK

Microscópio Eletrônico - HITACHI - S-500 A (Scanning)

Espectrofotômetro Infravermelho - HITACHI 215

Espectrofotômetro Infravermelho - JASCO/IR810

Espectrofotômetro UV-Visível - SHIMADZU UV-190

Centrífuga Refrigerada SPIN VI - INCIBRAS

pH.metro B374 - MICRONAL

Densímetro PAAR-DMA 60/602

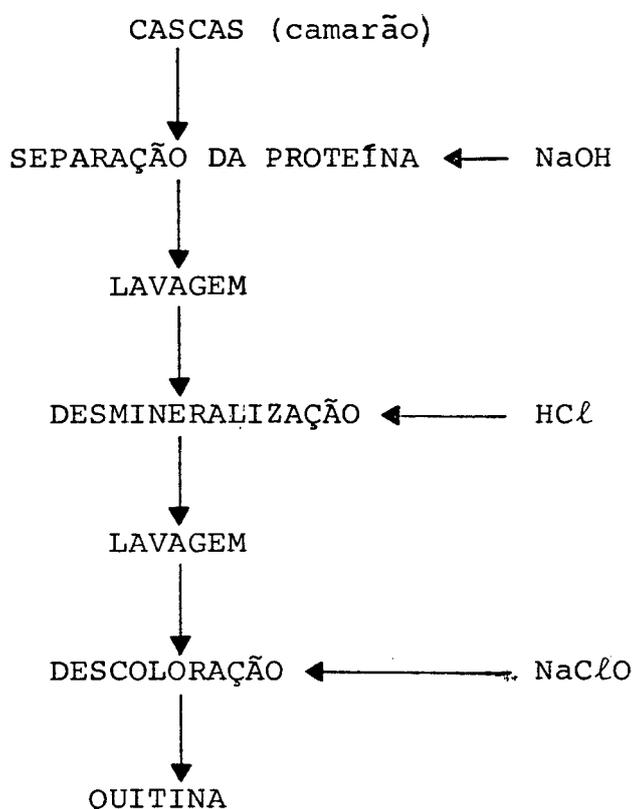
Refratômetro - Abbe - Carl Zeiss

2.2 . OBTENÇÃO DA QUITINA

Quitina, (1+4)-2-acetamida-2-desoxi- β -D-glucana , foi isolada de cascas de camarão, de acordo com o método descrito por Muzzarelli,¹⁹ ligeiramente modificado.

Cascas de camarão, úmidas (24 kg), foram tratadas com 20 ^l de hidróxido de sódio 2 M, durante 24 horas a temperatura ambiente. Após este período, as cascas foram separadas da solução por filtração. O filtrado contendo a parte protéica foi desprezado. A parte sólida recebeu um novo tratamento com hidróxido de sódio 1,5 M durante 24 horas e foi novamente filtrada. O tratamento alcalino foi repetido várias vezes para garantir uma maior eficiência na remoção das proteínas. Após o tratamento alcalino , o material foi lavado com água até pH neutro e tratado com ácido clorídrico 2 M durante 12 horas, para eliminação da parte mineral; em seguida foi novamente filtrado e lavado com água até pH neutro. Após o tratamento ácido foi feito um tratamento com hipoclorito de sódio para eliminar os pigmentos. O Excesso de hipoclorito foi removido com sucessivas lavagens com água. O produto obtido foi seco em estufa a vácuo à temperatura de 40 ³⁷°C. A massa de quitina obtida, sem purificação, foi de 680 ⁵²⁰ g.

Esquema 1 - O esquema mostra o procedimento descrito para obtenção da quitina a partir das cascas de camarão.

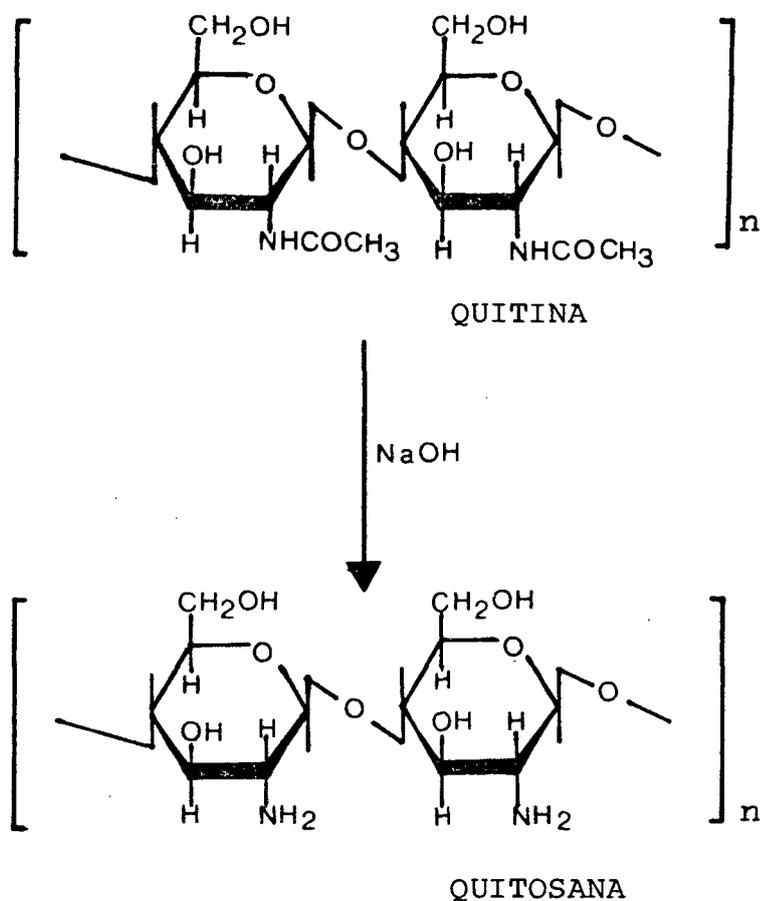


2.3 . OBTENÇÃO DA QUITOSANA

A quitosana, (1→4)-2-amino-2-desoxi-β-D-glucana é um polímero natural, obtido por desacetilação da quitina, como mostra o esquema 2 e foi obtida pelo método de Rigby e Wolfron, Maher e Chaney, Wolfron e Shen-Han,¹⁹ ligeiramente modificado.

A quitina foi tratada com solução de hidróxido de sódio 50% (m/v), na proporção de 1:20 (m/v), em refluxo, durante 7 horas, à temperatura de 125¹¹⁵ °C. A quitosana obtida foi filtrada e lavada com água até pH neutro; em seguida, dissolvida em ácido

Esquema 2 - O esquema mostra a obtenção da quitosana por hidrólise básica da quitina.



acético 2% (v/v), na proporção de 100 ml de ácido acético para 1 g de quitosana. A solução de quitosana foi filtrada e precipitada com excesso de hidróxido de sódio 2 M. O precipitado foi separado por filtração, lavado com água, até pH neutro e seco a vácuo, por 72 horas. Por este método, obtem-se uma quitosana com alto grau de desacetilação.

A desacetilação da quitina pode ser aumentada através de tratamento alcalino em etapas sucessivas de 30 minutos cada, a uma temperatura de 100 °C, com uma lavagem e secagem do ma

terial após cada etapa. Esse tratamento é mais eficiente em termos de grau de desacetilação do que em um único tratamento alcalino de 15 horas na mesma temperatura. A quitosana obtida por esse processo, apresenta massa molar mais alta do que aquela obtida em um único tratamento contínuo de 15 horas.¹⁹

2.4 . MASSA MOLAR

A massa molar da quitosana foi determinada por viscosimetria. Usando-se um viscosímetro de Ubbelohd.

O viscosímetro foi lavado com solução sulfocrômica várias vezes com água destilada e seco em estufa a 30 °C. As soluções de quitosana foram preparadas nas concentrações $0,1 \times 10^{-2}$; $0,3 \times 10^{-2}$; $0,6 \times 10^{-2}$; $0,9 \times 10^{-2}$; $1,2 \times 10^{-2}$ g.ml⁻¹ em uma mistura solvente composta de ácido acético 0,1 M, cloreto de sódio 0,2 M e água.

O viscosímetro foi fixado na posição vertical dentro de um banho termostatizado a 25 °C. A solução foi introduzida no viscosímetro e deixada 20 minutos para atingir o equilíbrio térmico antes de se fazer as leituras. A densidade de cada solução e do solvente foram determinadas a 25 °C, usando-se picnômetro e balança analítica.

A viscosidade intrínseca é definida²⁴ como

$$|\eta| = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{1}{c} \ln \frac{t_s \cdot \rho_s}{t_o \cdot \rho_o} \quad (\text{eq. 1})$$

onde t_s e t_o são os tempos de escoamento da solução e do solvente, ρ_s e ρ_o são as densidades da solução e do solvente respectivamente.

Os resultados do tempo de escoamento e densidade das diversas soluções de quitosana e do solvente estão na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de densidade e tempo de escoamento das soluções de quitosana para determinação da viscosidade in trínseca a 25 °C.

$c \cdot 10^3$ g . ml ⁻¹	ρ g . ml ⁻¹	Tempo de escoamento, s	$\left(\frac{1}{c} \ln \frac{t_s \cdot \rho_s}{t_o \cdot \rho_o} \right) 10^{-1}, \text{ ml.g}^{-1}$
12,0	1,0135	385	19,815
9,0	1,0089	181	17,983
6,0	1,0110	91	15,548
3,0	1,0100	54	13,668
1,0	1,0075	41	13,214
Solvente	1,0054	36	-

a. média de três medidas.

Um gráfico de $\frac{1}{c} \ln \frac{t_s \cdot \rho_s}{t_o \cdot \rho_o}$ em função da concentração das soluções de quitosana, Figura 4, fornece a viscosidade in trínseca da solução de quitosana, por extrapolação da reta obtida por regressão linear.

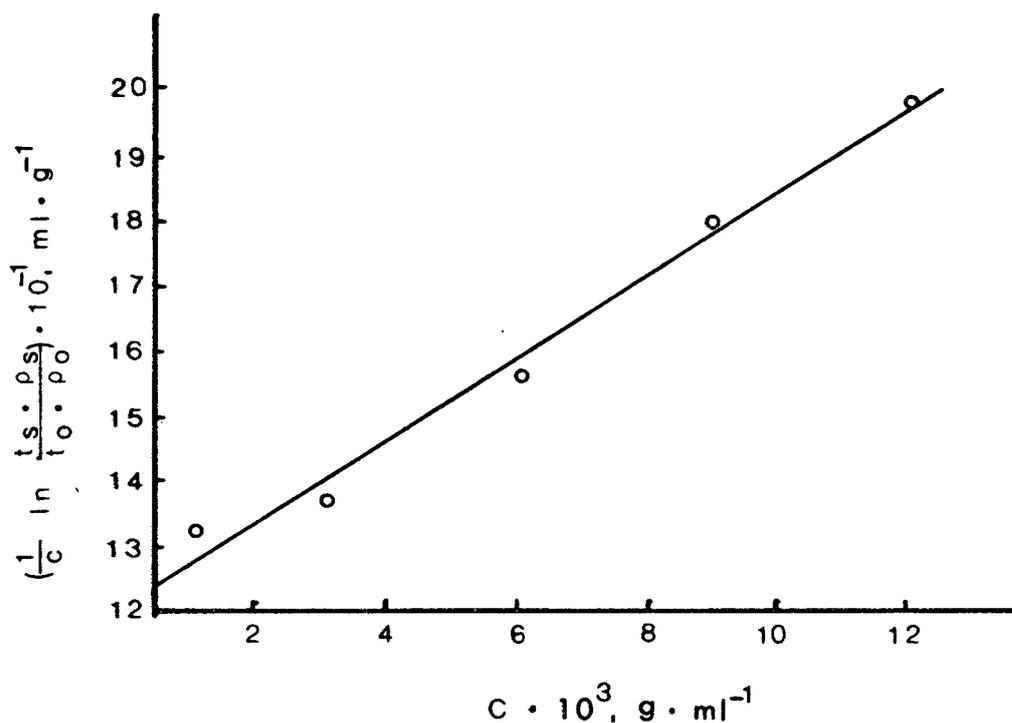


Figura 4 - Gráfico para determinação da viscosidade intrínseca da solução de quitosana.

Para o cálculo do desvio dos coeficientes angular e linear, resultantes da regressão linear dos pontos obtidos experimentalmente, utilizou-se as Equações (2) e (3). O "t de student",²⁵ foi usado com um nível de confiança de 95 %.

$$e_a = \frac{t_{n-2} \cdot s}{\left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right]^{1/2}} \quad (\text{eq. 2})$$

$$e_b = t_{n-2} \cdot s \left[\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right]^{1/2} \quad (\text{eq. 3})$$

$$s = \left[\frac{\sum_i (y - (b + a \cdot x_i))^2}{n - 2} \right]^{1/2}$$

onde b e a são os coeficientes linear e angular, e n é o número de pontos.

O valor encontrado para o coeficiente linear a e , portanto, para a viscosidade intrínseca foi

$$| \eta | = 121,34 \pm 8,0 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$$

A massa molar da quitosana foi determinada através da equação de Mark-Houwink, Equação (4)

$$| \eta | = K \cdot M_V^a \quad (\text{eq. 4})$$

onde M_V é a massa molar viscosimétrica do polímero, a e K são parâmetros empíricos característicos do sistema polímero-solvente e da temperatura.

Segundo George e Julian²⁶, os valores de a e K para a quitosana em um sistema solvente, constituído de ácido acético 0,1 M, cloreto de sódio 0,2 M e água, a 25 °C, são 0,93 e $1,81 \cdot 10^{-3} \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$ respectivamente.

Com os valores de a e K e da viscosidade intrínseca determinada experimentalmente, foi obtida uma massa molar igual

a $(1,55 \pm 0,10) \cdot 10^5$ daltons. Este valor é comparável à massa molar da quitosana parcialmente acetilada, da literatura.²⁷

2.5 . GRAU DE DESACETILAÇÃO

O grau de desacetilação da quitina foi determinado pela técnica da espectroscopia no infra-vermelho. Para se obter os espectros das amostras de quitosana foram preparados filmes de espessura 0,04 mm. A Figura 5 corresponde ao espectro vibracional no infra-vermelho da amostra de quitosana preparada a partir da hidrólise básica da quitina em um único estágio, isto é, o tratamento alcalino foi executado em uma única etapa de 7 horas (amostra A). A Figura 6 corresponde ao espectro vibracional no infra-vermelho da amostra de quitosana preparada a partir da hidrólise básica da quitina em etapas com intervalos de tempo de 30 minutos, conforme descrito anteriormente, (amostra B).

Segundo Blair²⁷ o grau de desacetilação pode ser determinado utilizando-se a Equação (5)

$$\%D = \left(1 - \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \cdot \frac{1}{1,33} \right) \cdot 100 \quad (\text{eq. 5})$$

onde A_{1655} é a absorvância a 1655 cm^{-1} correspondendo ao estiramento C = O e A_{3450} é a absorvância a 3450 cm^{-1} correspondendo ao estiramento O-H. As absorvâncias foram determinadas a partir do logarítmo da razão da intensidade de luz incidente pela intensidade da luz transmitida, utilizando-se o método da linha base.

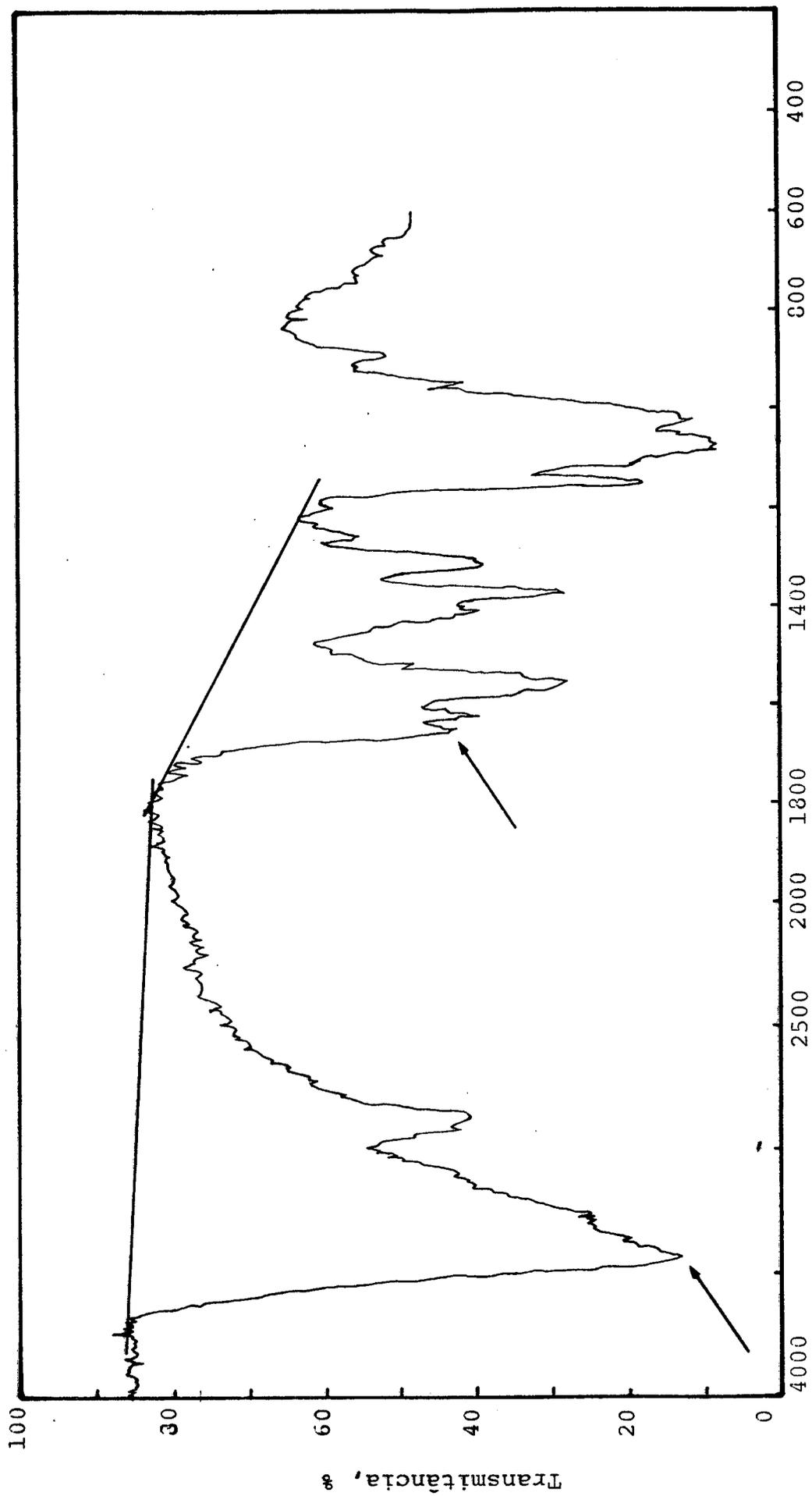


Figura 5 - Espectro vibracional no infra-vermelho da quitosana (amostra A).

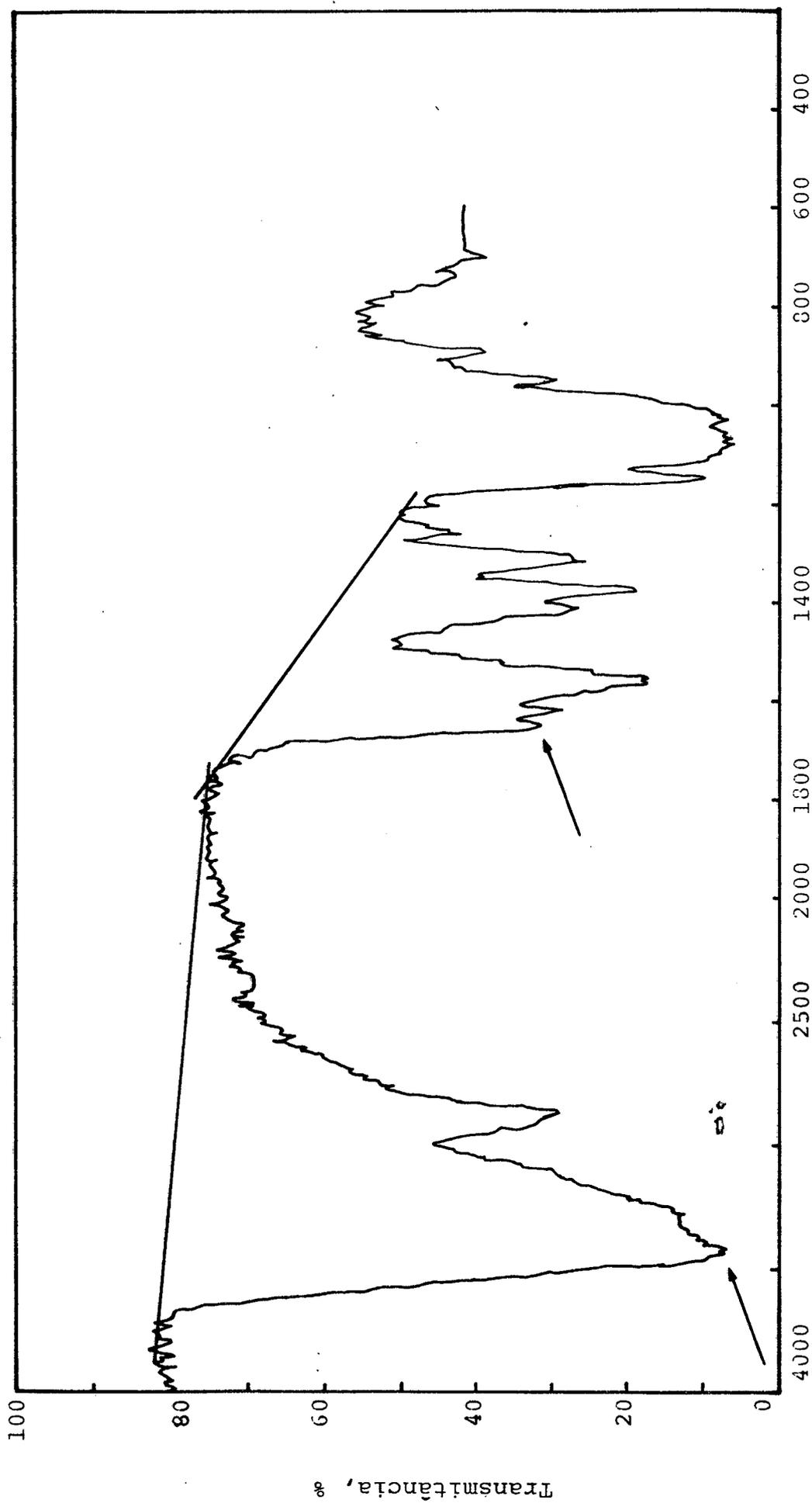


Figura 6 - Espectro vibracional no infra-vermelho da quitosana (amostra B).

Os graus de desacetilação calculados através desse método são: 73% e 76% para as amostras A e B respectivamente.

2.6 . PREPARAÇÃO DE MEMBRANAS ASSIMÉTRICAS DE QUITOSANA

As membranas assimétricas foram, inicialmente, preparadas de acordo com o método utilizado por Muzzarelli²⁸ para obtenção de membranas simétricas, com certas modificações, tais como, no tempo de evaporação do solvente e coagulação em um não solvente.

Dissolveram-se 3,0 g de quitosana em 80 ml de ácido acético 10% (v/v). A solução, homogeneizada e sem bolhas de ar foi espalhada sobre uma placa de vidro com dois fios metálicos de 0,5 mm de diâmetro, esticados nas laterais, para obter-se uma membrana com espessura uniforme.

A placa de vidro com a solução de quitosana, foi mantida a temperatura ambiente, durante 30 minutos, para evaporação do solvente. Em seguida, a placa foi imersa em acetona durante 5 minutos, para coagular a quitosana. Nesta etapa tem-se um filme de acetato de quitosana que é solúvel em água. Após um tratamento com hidróxido de sódio 2 M, durante 5 minutos, a membrana foi retirada da placa de vidro, lavada com água corrente, para neutralização e mantida em um recipiente com água.

Seguindo esse procedimento, foram obtidas membranas, com as quais determinou-se o fluxo de água, (define-se fluxo como sendo o volume permeado através da membrana por unidade de área por unidade de tempo), sob pressão de uma coluna de 1 metro de água e a variação deste fluxo com o tempo. Os resultados são

apresentados na Tabela 3 e Figura 7.

Tabela 3 - Medidas do fluxo contínuo de água sob pressão de uma coluna de 1 m de água, em diferentes tempos.

tempo, h	fluxo . 10^5 , $\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$
0,0	12,7
0,5	11,3
1,5	9,8
5,5	4,4
15,5	0,4

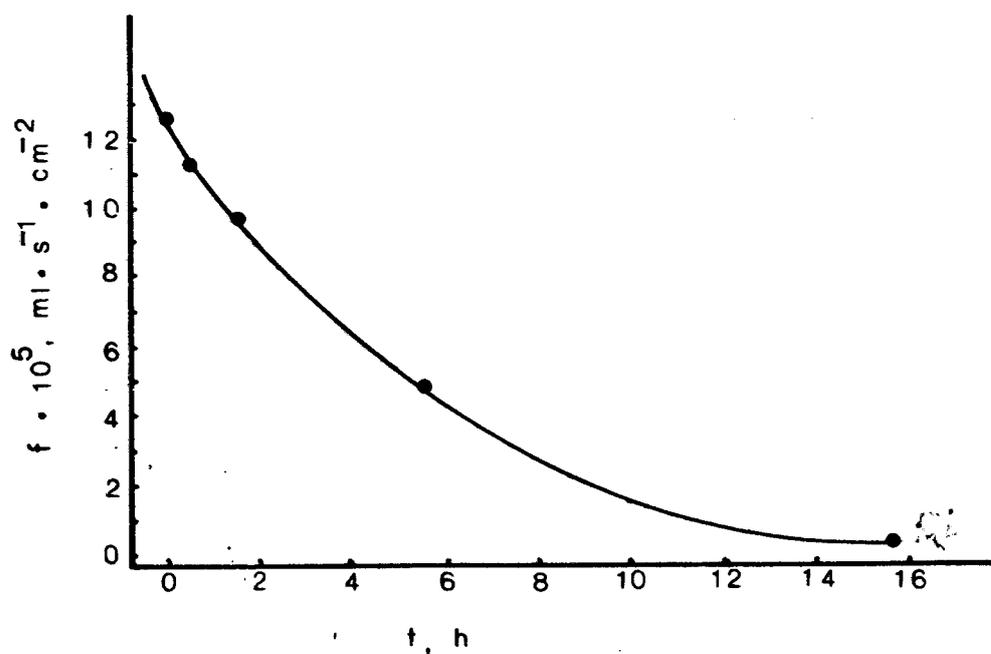


Figura 7 - Gráfico do fluxo de solvente em função do tempo utilizando membrana de quitosana sob pressão de uma coluna de 1 metro de água.

As medidas foram feitas a temperatura ambiente , adaptando-se um disco de membrana de quitosana, com área de $13,6 \text{ cm}^2$ em um porta filtro Millipore Swinnex-47, Figura 8.

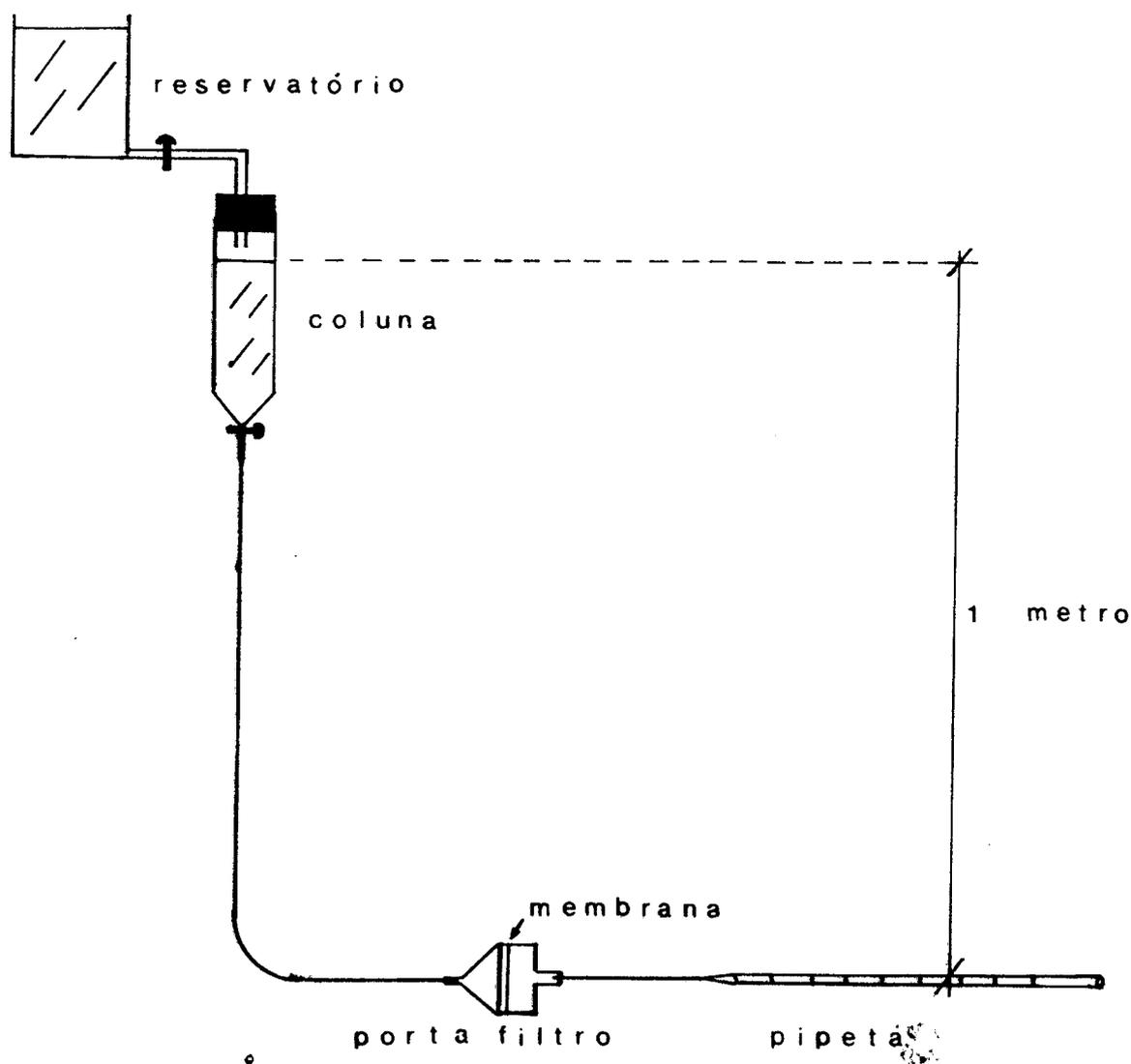


Figura 8 - Esquema do sistema utilizado para medição de fluxo e rejeição, sob pressão de uma coluna de 1 metro de solução.

As membranas de quitosana obtidas pelo processo descrito apresentavam uma baixa resistência mecânica, ou seja, rompiam-se quando submetidas a pressões superiores à pressão exercida por uma coluna de 1 m de água. Em decorrência desta observação foi necessário desenvolver uma membrana com propriedades mecânicas superiores às das membranas inicialmente estudadas.

Optou-se por obter o filme de quitosana, sobre um suporte poroso, aumentar o tempo de evaporação e eliminar a etapa de coagulação em acetona. Como suporte para a membrana foi utilizado papel filtro. Dependendo das aplicações pode ser utilizada uma tela metálica, que aumenta a resistência mecânica da membrana de quitosana.

Para obtenção dessas membranas, sobre um suporte poroso, a solução de quitosana foi espalhada sobre o papel filtro, colocado sobre uma placa de vidro e entre lâminas de vidro para microscópio, (espessura 1,4 mm) coladas nas extremidades, para formar um filme de espessura uniforme. Este conjunto foi colocado em uma estufa a 30 °C, durante 6 horas, para evaporação parcial do solvente. Em seguida, foi introduzido em um recipiente com hidróxido de sódio 2 M, durante 5 minutos. Após o tratamento alcalino, a membrana foi retirada da placa e deixada em água corrente durante 18 horas. A membrana obtida pelo processo descrito apresenta as características adequadas aos objetivos deste trabalho.

As medidas de fluxo de água sob pressão de uma coluna de 1 metro de água e a variação deste fluxo com o tempo são apresentados na Tabela 4 e Figura 9.

Essas membranas apresentaram um fluxo de água duas vezes maior que o fluxo das membranas preparadas anteriormente. A

Tabela 4 - Medidas do fluxo contínuo de água sob pressão de uma coluna de 1 metro de água, utilizando-se membranas de quitosana com suporte de papel filtro.

tempo, h	fluxo . 10^5 , $\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$
00,0	26,3
24,0	24,5
120,0	17,5
216,0	15,3
317,0	14,1
389,0	12,7

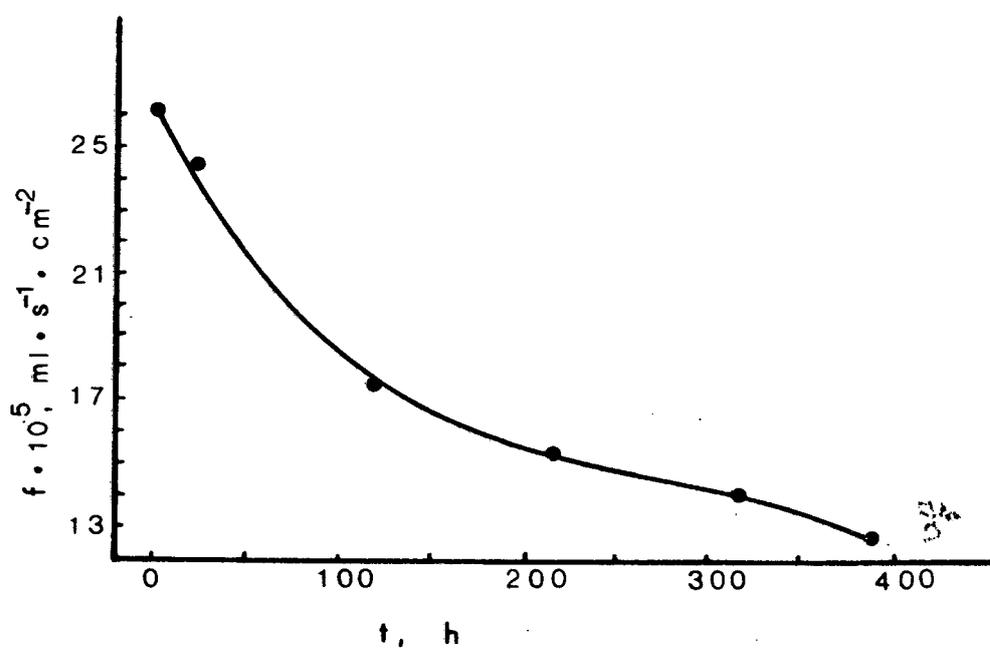


Figura 9 - Gráfico do fluxo de solvente em função do tempo utilizando membrana de quitosana sob pressão de uma coluna de 1 metro de água.

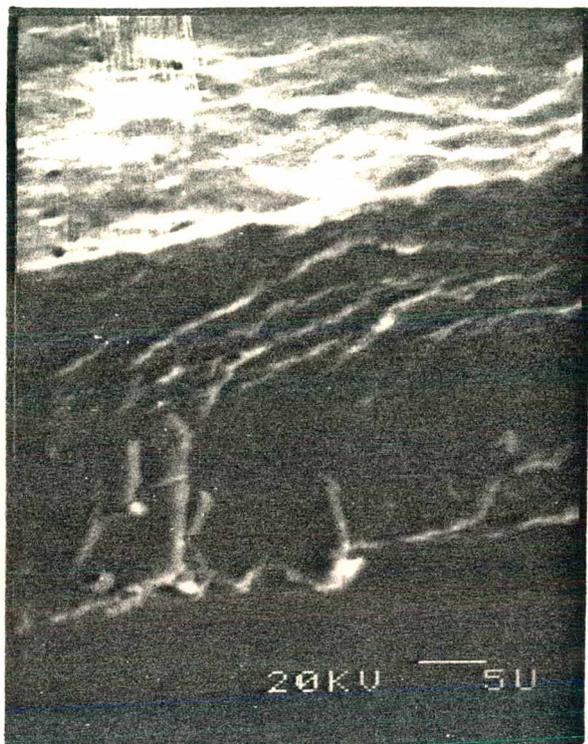
diferença se torna cem vezes maior quando comparada com o fluxo de uma membrana simétrica de quitosana obtida por evaporação total do solvente.²⁸

2.7 . MICROSCOPIA ELETRÔNICA

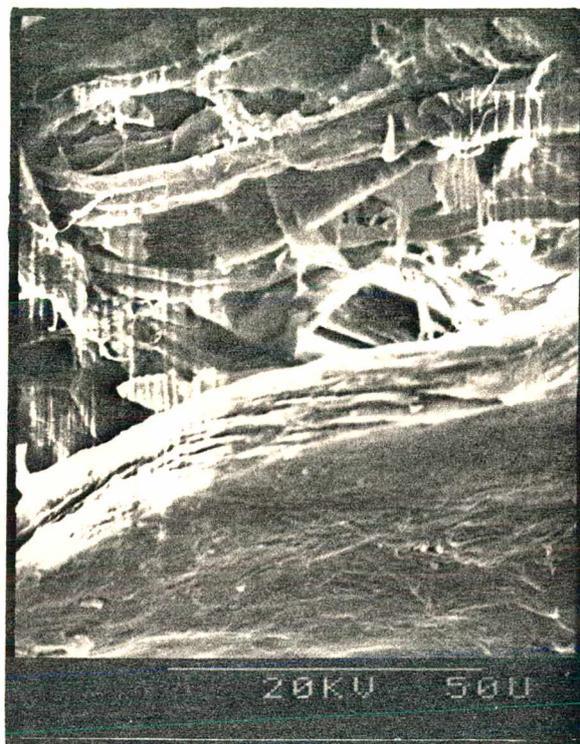
As membranas assimétricas de quitosana, bem como as obtidas sobre um suporte de papel filtro foram observadas através de um microscópio eletrônico de reflexão Hitachi S-500A.

Fragmentos das membranas foram liofilizadas utilizando-se nitrogênio líquido e fixados em um suporte adequado. As membranas foram recobertas com uma fina camada do ouro, vaporizando-se ouro numa campânula contendo as amostras, sob vácuo. As amostras então preparadas foram introduzidas no microscópio e obtidas as várias micrografias, com diferentes aumentos e ângulos de observação.

A Figura 10 apresenta uma série de micrografias mostrando cortes transversais das membranas. A Figura (a) é de uma membrana assimétrica de quitosana, onde observa-se na parte superior a camada filtrante e o suporte constituído do mesmo material, com um aumento de 2800 vezes. A Figura (b) mostra uma membrana de quitosana suportada em papel filtro, através de um corte transversal. Na parte inferior observa-se a película de quitosana e na parte superior as fibras de celulose, com um aumento de 2100 vezes.



(a)



(b)

Figura 10 - Cortes transversais de membranas sintéticas de quitosana; (a) assimétrica, (b) sobre papel filtro.

A Figura 11 mostra uma série de micrografia da superfície de membranas de quitosana sobre papel filtro. Na camada filtrante da membrana de quitosana não existe uma regularidade de poros com diâmetros definidos, mas sim a formação de um emaranhado de fibras do polímero. Estas observações estão em concordância com os resultados de rejeição que serão apresentados posteriormente, uma vez que para um mesmo polieletrólito em maiores concentrações do contra-íon, apresenta menor rejeição.

2.8 . MEDIDAS DE RETENÇÃO DE MACROMOLÉCULAS

As medidas de retenção de macromoléculas de diferentes massas molares foram feitas utilizando-se o sistema ilustrado na Figura 8. (A retenção é definida pela razão da massa retida pela massa total do macrossoluto, sendo a massa total a soma das massas do permeado e retido). A solução em estudo foi colocada na coluna, até a marca que corresponde a altura de 1 metro. Para que o nível de solução na coluna seja mantido, a mesma foi conectada a um reservatório posicionado em um nível superior. Aliquotas do permeado foram tomadas para determinação da retenção. Dependendo do macrossoluto, diferentes métodos foram empregados para determinar quantitativamente a massa retida pela membrana semipermeável.

Para as soluções aquosas de dextrana azul (massa molar = 2×10^6 daltons) e ovalbumina (massa molar = $4,3 \times 10^4$ daltons) as concentrações foram expressas em termos de absorbância, determinados nos comprimentos de onda 619 e 280 nm respectivamente.

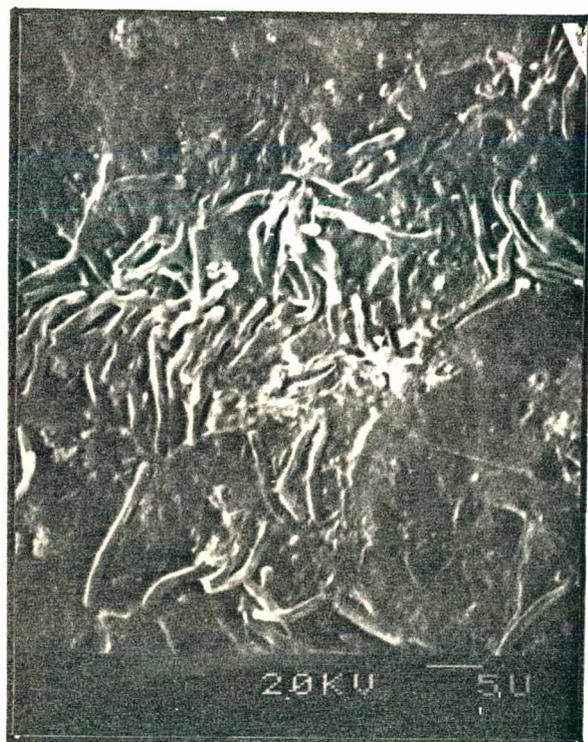


Figura 11 - Micrografias da camada filtrante de membranas de quitosana com diferentes aumentos.

te, que correspondem aos comprimentos de onda cujas absorvâncias apresentam um valor máximo.

Para as soluções de dextrana T500 (massa molar = $5,0 \times 10^5$ daltons) e dextrana T200 (massa molar = $2,0 \times 10^6$ daltons) foi determinado o tempo de escoamento destas soluções em um viscosímetro de Ubbelohd. Os valores obtidos foram levados a uma curva de calibração de tempo de escoamento em função da concentração, determinando-se desse modo a concentração de cada solução.

A concentração da solução de sacarose foi determinada por um procedimento análogo, obtendo-se inicialmente uma curva de calibração do índice de refração em função da concentração.

Os resultados de retenção são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Retenção de macromoléculas sob pressão de uma coluna de 1 metro de solução.

Macromoléculas	Retenção, %	
	A	B
Dextrana Azul	92	98
Dextrana T2000	51	51
Dextrana T500	20	18
Ovalbumina	55	52
Sacarose	9	8

A e B representam membranas obtidas nas mesmas condições.

Medidas de retenção e fluxo foram feitas também sob

pressão de 2 atm. Para submeter o sistema a uma pressão constante durante a filtração foi utilizado um cilindro de ar comprimido com um manômetro, como mostra o esquema da Figura 12.

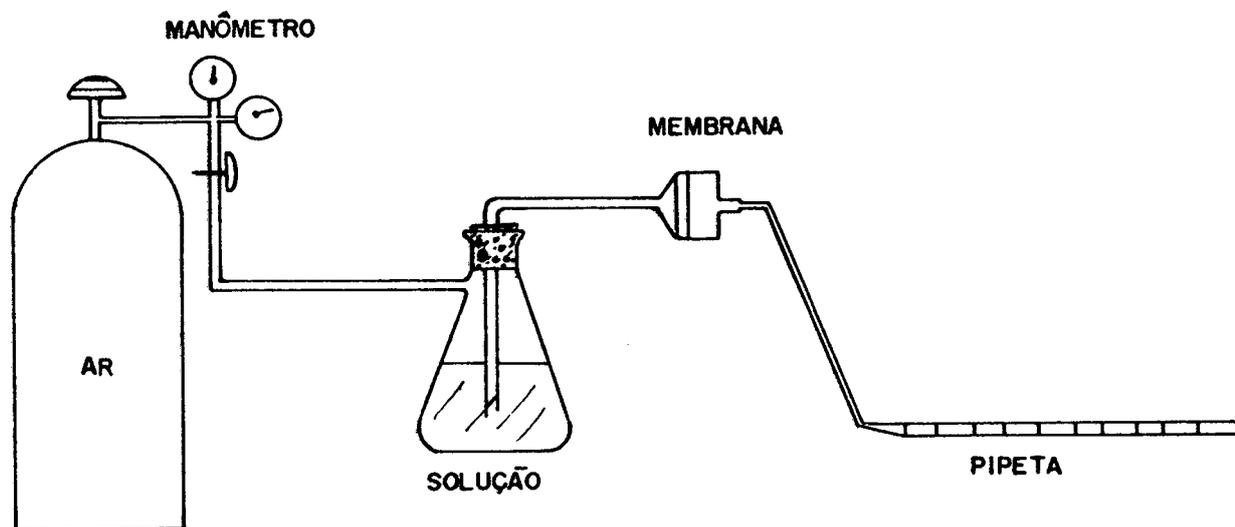


Figura 12 - Esquema do sistema utilizado para medida de fluxo e rejeição, sob pressão de 2 atmosfera.

Os resultados de retenção e fluxo para essas condições encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Retenção e fluxo de diferentes macromoléculas, sob pressão de 2 atm.

Macomoléculas	Retenção, %		fluxo . 10 ⁴ , ml . s ⁻¹ . cm ⁻²	
	A	B	A	B
Dextrana Azul	98	98	1,8	1,8
Dextrana T2000	86	80	0,5	-
Dextrana T500	60	-	0,8	0,5
Ovalbumina	57	51	2,6	2,0
Sacarose	8	11	1,4	0,9

A e B representam membranas obtidas nas mesmas condições.

2.9 . MEMBRANAS IMPREGNADAS COM METAIS

Foram preparadas membranas de quitosana impregnadas com ferro, cobre e alumínio. Em uma solução 0,1 M de cloreto de alumínio, em outra solução 0,1 M de nitrato de cobre e numa terceira solução 0,05 M de nitrato férrico (todas tendo como solvente ácido acético 10% (v/v) foi adicionado 0,834 g de quitosana. Para obtenção da membrana foi seguido o mesmo procedimento descrito anteriormente, (página 26).

Os valores da retenção de macromoléculas e o fluxo de solvente que atravessa a membrana, sob pressão de uma coluna de 1 m de água e 2 atm, são apresentados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 - Retenção de macromoléculas e fluxo de solvente em membranas de quitosana impregnadas, sob pressão de uma coluna de 1 m de água.

Macromoléculas	Retenção, %			Fluxo $\cdot 10^4$, ml $\cdot s^{-1} \cdot cm^{-2}$		
	Cu	Al	Fe	Cu	Al	Fe
Dextrana Azul	97	95	100	1,26	1,40	0,46
Dextrana T2000	54	50	41	0,19	0,27	0,31
Dextrana T500	12	5	5	0,57	0,82	0,46
Sacarose	12	6	14	1,60	1,05	0,85

Tabela 8 - Retenção de macromoléculas e fluxo de solvente em membranas de quitosana impregnadas, sob pressão de 2 atm.

Macromoléculas	Retenção, %			Fluxo $\cdot 10^4$, ml $\cdot s^{-1} \cdot cm^{-2}$		
	Cu	Al	Fe	Cu	Al	Fe
Dextrana Azul	76	54	65	11,00	9,00	10,00
Dextrana T2000	73	41	60	1,84	1,84	1,31
Dextrana T500	26	13	25	4,23	5,57	4,90
Sacarose	4	15	12	19,35	8,75	21,63

2.10. ULTRAFILTRAÇÃO CENTRÍFUGA

Na ultrafiltração centrífuga foi utilizada uma célula de diálise, conforme a Figura 13. A célula é composta de duas placas de poliéster reforçado com fibras de vidro, justapostas e parafusadas, de tal modo a formar dois compartimentos de mesma capacidade, separados por uma membrana semipermeável.

Foram utilizadas na ultrafiltração centrífuga membranas de quitosana, já descritas anteriormente (página 26). As membranas foram fixadas nas células, sobre um suporte, para evitar o rompimento das mesmas com a pressão exercida pela coluna de líquido. Como suporte foi utilizado uma tela metálica resistente.

As células foram adaptadas nas canecas da centrífuga, utilizando-se um suporte de madeira, de tal modo que a membrana permanecesse perpendicular ao eixo de rotação durante a ultrafiltração.

Os experimentos foram feitos com soluções aquosas de dextrana azul 0,1% (m/v), dextrana T2000 1,0% (m/v), poliacrilamida 0,1% (m/v), soro fetal bovino, citocromo c 0,05% (m/v), albumina bovina 0,025% (m/v), ovalbumina 0,5% (m/v), poli(sódio-4-estireno sulfonato) 1,0% (m/v) utilizando-se as células de diálise descritas acima. Com soro fetal bovino e ovalbumina foram feitos também experimentos em solução aquosa de NaCl 0,1 M.

Em um dos compartimentos da célula de diálise foram colocados 15 ml da amostra e centrifugada a 1500 rpm, durante 30 minutos a temperatura de 20 °C para dextrana azul, dextrana T2000, poliacrilamina e poli(sódio-4-estireno sulfonato) e 4 °C para as proteínas.

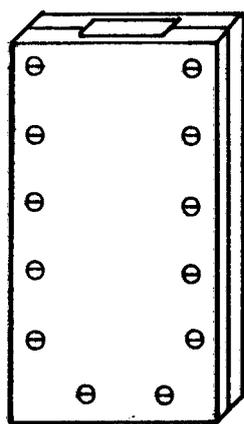
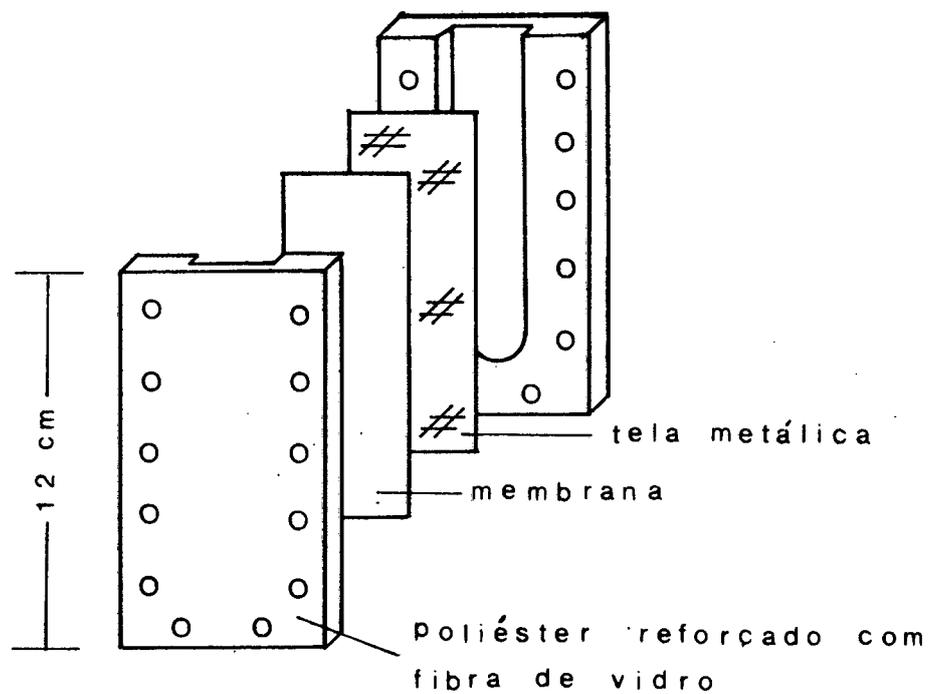


Figura 13 - Célula de poliéster reforçado com fibras de vidro utilizadas na ultrafiltração.

(sendo a distância entre o centro do rotor e a altura média da célula igual a 12 cm, este ponto corresponde a um campo aplicado de 302 x g).

Os resultados foram obtidos lendo-se as absorbâncias dos filtrados e retidos a 619 nm para dextrana azul, 525 nm para citocromo c, 278 nm para soro fetal bovino e 280 nm para albumina bovina e ovalbumina, que correspondem aos comprimentos de onda cujas absorbâncias apresentam um valor máximo.

Para o cálculo das retenções foi utilizada a Equação (6)

$$R = \left(\frac{2 \cdot V_r \cdot A_r}{V_r \cdot A_r + V_f \cdot A_f} - 1 \right) \cdot 100 \quad (\text{eq. 6})$$

onde V_r = volume do retido, A_r = absorbância do retido, V_f = volume do filtrado e A_f = absorbância do filtrado.

De acordo com a lei de Lambert-Beer a absorbância é diretamente proporcional à concentração. Desse modo, a mesma equação foi utilizada para o cálculo das retenções das soluções que não absorvem no ultravioleta, nem na faixa visível do espectro, cujas concentrações foram obtidas através de medidas das densidades das soluções, através da Equação (7)

$$c = \frac{\rho_s \cdot \rho_a}{1 - \rho_a \cdot \bar{v}_2} \quad (\text{eq. 7})$$

onde ρ_s = densidade da solução, ρ_a = densidade da água e \bar{v}_2 = vo

lume específico parcial.

Os valores de volume específico parcial utilizados foram 0,634 para dextrana T2000²⁹ e 0,666 para poliacrilamida.³⁰ As densidades das soluções foram determinadas utilizando-se um densímetro PAAR - DMA 60. Esses valores de densidade foram obtidos através de uma leitura direta da frequência de vibração da amostra (T_s), da água (T_a) e do ar (T_{ar}) introduzidos separadamente numa célula, previamente termostatzada, e substituídos na Equação (8)

$$\rho_s = \frac{T_s^2 - T_a^2}{A} - \rho_a \quad (\text{eq. 8})$$

onde o valor de A é dado pela Equação (9)

$$A = \frac{T_a^2 - T_{ar}^2}{\rho_a - \rho_{ar}} \quad (\text{eq. 9})$$

As unidades da densidade e da concentração são $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ e do volume específico parcial $\text{cm}^{-3} \cdot \text{g}^{-1}$ e o erro na determinação da densidade é de $2 \cdot 10^{-3} \%$.

Os resultados de retenção de dextrana azul, dextrana T2000, poliacrilamida, soro fetal bovino, citocromo c, albumina bovina e ovalbumina, encontram-se nas Tabelas 9 e 10.

Para poli(sódio-4-estireno sulfonato) os resultados são expressos em termos de densidade. Os valores de retenção são apresentados na Tabela 11 e foram calculados utilizando-se a

Tabela 9 - Valores de volumes, absorvâncias e retenção de macromoléculas, empregando-se ultrafiltração centrífuga.

Macromoléculas	Solvente	V _{filt.} ml	V _{ret.} ml	Absorbância filtrado	Absorbância retido	Retenção %
Dextrana	água	5,2	9,8	0,074	1,513 ^a	99
		5,2	9,8	0,002	1,682 ^a	100
		5,1	9,9	0,034	0,070 ^b	100
		5,0	10,0	0,003	0,737 ^b	100
		5,0	10,0	0,001	0,720 ^b	100
		5,2	9,8	0,036	1,860 ^a	100
		5,0	10,0	0,012	0,804 ^b	100
		5,1	9,9	0,008	0,764 ^b	100
		5,0	10,0	0,004	0,788 ^b	100
		5,0	10,0	0,010	0,779 ^b	100
Soro fetal bovino	água	6,0	9,0	1,531 ^a	0,402 ^c	60
		5,5	9,5	1,478 ^a	0,412 ^c	66
Citocromo c	água	6,0	9,0	0,032	0,584	93
		6,0	9,0	0,031	0,573	93

Cont...

Cont... Tabela 9

Albumina bovina	água	6,6	8,4	0,007	0,434	97
		6,6	8,4	0,030	0,458	90
Ovalbumina	água	4,9	9,6	0,006	0,418 ^a	100
Soro fetal bovino	NaCl 0,1 M	6,5	8,5	0,037 ^a	0,085 ^a	50
		6,5	8,5	0,038 ^c	0,085 ^c	50
Ovalbumina	NaCl 0,1 M	5,5	9,5	0,950	1,212	38
		6,5	8,5	0,950	1,260	27

Diluições: (a) 1:10; (b) 1:20; (c) 1:100.

Tabela 10 - Valores de volumes, concentrações e retenção de macromoléculas empregando-se ultra-filtração centrífuga.

Macromoléculas	Solventes	V _{filt.} ml	V _{ret.} ml	Concentração . 10 ³ , g.ml ⁻¹ filtrado	Concentração . 10 ³ , g.ml ⁻¹ retido	Retenção %
Dextrana T2000	água	5,2	9,8	2,720	13,050	80
		4,7	10,3	2,650	15,560	86
		4,6	10,4	2,420	14,320	86
		4,5	10,5	2,210	15,020	88
		4,6	10,4	1,550	16,840	92
		4,5	10,5	1,530	16,820	92
Poliacrilamida	água	4,6	10,4	1,540	18,300	93
		5,0	10,0	0,019	1,652	99
		4,9	10,1	0,013	1,512	99
		4,9	10,1	0,0	1,480	100
		4,9	10,1	0,032	1,690	98
		5,0	10,0	0,011	1,614	99
		4,6	10,4	0,038	1,792	98

Tabela 11 - Valores de volumes, densidades e retenção de macromoléculas empregando-se ultrafiltração centrífuga.

Macromoléculas	Solvente	V _{filt.}	V _{ret.}	ρ _{filt.}	ρ _{ret.}	Retenção, %
Poli(sódio-4-estireno sulfonato)	água	4,7	10,3	0,998492	1,004826	98
		5,0	10,0	0,998577	1,005091	97
		5,0	10,0	0,998526	1,004850	100
		4,7	10,3	0,998364	1,004751	99
		4,7	10,3	0,998419	1,005024	99
		4,6	10,4	0,998426	1,005265	99
		4,5	9,5	0,998455	1,004764	98

Equação (10)

$$R = \left(1 - \frac{\rho_f - \rho_a}{\rho_r - \rho_a} \cdot \frac{V_f}{V_r} \right) \cdot 100 \quad (\text{eq. 10})$$

onde ρ_f e ρ_r representam as densidades do filtrado e do retido respectivamente.

2.11. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE SAL NA ULTRAFILTRAÇÃO DE POLIELETRÓLITOS

Os polieletrólitos aniônicos, dextrana azul e poli(sódio-4-estireno sulfonato) foram utilizados neste estudo nas concentrações 0,1% (m/v), dissolvidos em soluções de cloreto de sódio, com concentrações variando entre 0,001 M e 2 M.

A solução do polieletrólito (14 mL) foi introduzida em um dos compartimentos da célula de diálise (página 39). A célula foi fixada na caneca da centrífuga e a solução foi centrifugada durante 30 minutos a 1500 rpm, a uma temperatura de 20 °C. Após a centrifugação de cada solução foi medido o volume filtrado e do retido, e a concentração através da leitura direta da absorvância em 619 nm para a dextrana azul e 261 nm para poli(sódio-4-estireno sulfonato). Os valores de volumes e absorvâncias encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Retenção de polieletrólitos em soluções de cloreto de sódio de diferentes concentrações.

Polieletrólitos	c(NaCl) M	V _{filt} ^b ml	v _{ret} ^b ml	Absorb. ^b		Retenção %
				filtrado	retido	
Poli(sódio-4-es tireno sulfonato)	0,0	5,6	8,1	0,094	0,262 ^a	95
	0,001	5,5	8,2	0,145	0,256 ^a	93
	0,01	5,9	7,8	0,147	0,257 ^a	92
	0,1	5,8	7,9	0,158	0,219 ^a	90
	0,5	5,8	7,8	0,276	0,221 ^a	83
	1,0	5,8	8,0	0,294	0,229 ^a	83
	1,5	5,8	7,9	0,463	0,228 ^a	74
	2,0	5,8	7,9	0,454	0,221 ^a	74
Dextrana Azul	0,0	5,8	7,8	0,005	1,649	100
	0,001	5,8	7,8	0,015	1,806	99
	0,01	5,7	7,9	0,011	1,687	99
	0,1	6,5	7,5	0,042	1,360	95
	0,5	5,9	7,8	0,060	1,402	94
	1,0	5,9	7,9	0,133	1,368	86
	1,5	5,8	7,8	0,145	1,345	85
	2,0	5,8	7,8	0,125	1,328	87

(a) diluição 1:10

(b) média de 2 medidas

Traçando-se um gráfico da retenção em função do logarítimo da concentração, Figura 14, obtem-se uma curva que mostra claramente a influência da concentração do sal na retenção de polieletrólitos aniônicos em membranas de quitosana.

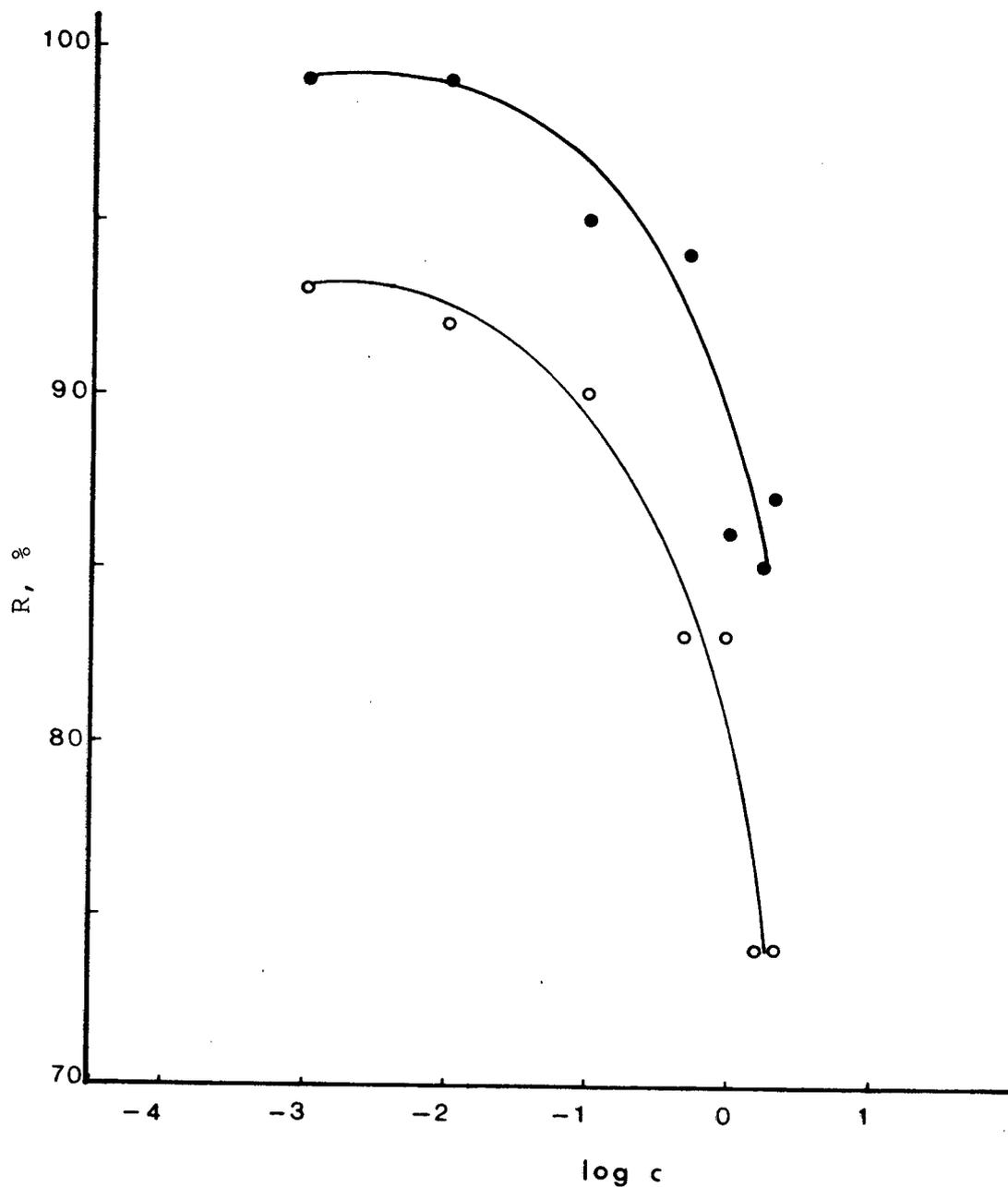


Figura 14 - Retenção de (○) poli(sódio-4-4estireno sulfonato) e (●) dextrana azul em experimentos de ultrafiltração em função do logaritmo da concentração de cloreto de sódio presente na solução.

2.12. INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO DO pH NA ULTRAFILTRAÇÃO CENTRÍFUGA DE PROTEÍNAS E DEXTRANA AZUL

As proteínas: citocromo c (massa molar = $1,6 \times 10^4$ daltons), ovalbumina (massa molar = $4,3 \times 10^4$ daltons), hemoglobina (extraída do sangue de peixe) e dextrana azul foram dissolvidas em tampões com pH variando entre 4,4 e 13,4.

As ultrafiltrações das proteínas e da dextrana azul foram feitas com procedimento análogo ao descrito no item anterior, nas condições de 20 minutos de centrifugação, a 1000 rpm e 4 °C. Os valores de retenção das macromoléculas em solução para diferentes valores de pH são apresentados na Tabela 13 e Figura 15.

Tabela 13 - Influência do pH na ultrafiltração de proteínas e dextrana azul em membranas de quitosana.

Proteínas	pH	V _{filt.} ml	V _{ret.} ml	Absorbância		Retenção %
				filtrado	retido	
Ovalbumina	10,6	4,3	6,7	0,278	0,336	31
	8,2	6,5	7,5	0,260	0,321	18
	6,9	4,8	6,2	0,217	0,326	32
	5,5	4,8	6,2	0,028	0,334	88
	4,6	4,2	4,8	0,064	0,385	75
Hemoglobina (peixe)	10,6	5,6	8,4	0,709	1,029	37
	8,6	5,8	8,2	0,507	0,840	40
	6,9	6,4	7,6	0,625	1,384	45
	5,5	5,4	8,6	0,070	0,303	75
	4,4	6,2	7,8	0,070	0,674	85
Citocromo c	10,6	5,6	8,4	0,111	0,164	38
	8,2	6,1	7,9	0,132	0,157	21
	6,9	5,6	8,4	0,184	0,186	20
	5,5	6,2	7,8	0,151	0,154	12
	4,4	6,2	7,8	0,156	0,177	18
Dextrana	13,4	4,4	8,6	0,324	0,915	79
Azul	10,4	4,5	8,5	0,241	0,910	75
	5,5	4,4	9,6	0,174	0,915	85

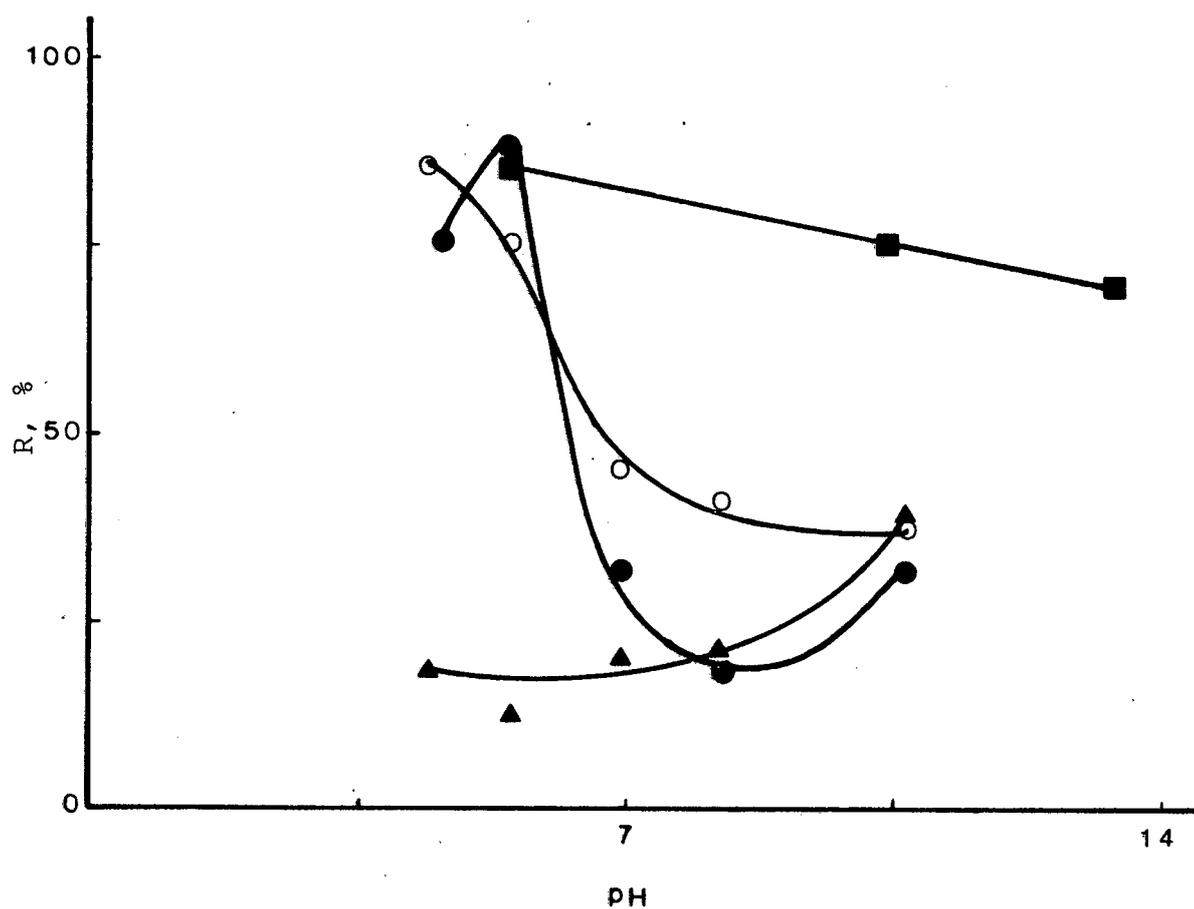


Figura 15 - Retenção de (●) ovalbumina, (○) hemoglobina, (▲) citocroma c e (■) dextrana azul em experimentos de ultrafiltração em função do pH da solução.

3 - DISCUSSÃO

3.1. QUITINA E QUITOSANA

Existem na literatura vários métodos para obtenção de quitina a partir de cascas de crustáceos.¹⁹ Todos esses métodos envolvem basicamente as mesmas etapas, ou seja, eliminação de proteínas e gorduras, desmineralização e despigmentação.

O polissacarídeo extraído de cascas de crustáceos tem inúmeras aplicações, incluindo diversos campos de atividades, tais como, indústria de alimentos e cosméticos, medicina bioquímica etc. Embora seja um produto de larga aplicação e de custo de produção relativamente baixo, o Brasil importa toda a quitina que utiliza, pois não dispõe de tecnologia para o aproveitamento da abundante matéria prima fornecida pelas indústrias pesqueiras, que se dedicam a pesca e tratamento de camarões, lagostas etc.

Conforme foi descrito anteriormente, quitosana é o produto da hidrólise alcalina da quitina, isto é, quitosana é a forma desacetilada da quitina. Contudo os termos "quitina" e "quitosana" são utilizados para expressar polissacarídeos com predominância de poli(N-acetil-D-glucosamina) e poli(D-glucosamina) respectivamente, como unidades de repetição na cadeia polimérica.

A hidrólise alcalina da quitina pode ser feita em condições homogênea ou heterogênea em diferentes temperaturas e tempos de reação. Essas condições têm influência nas propriedades do produto final da reação.^{19,27,31}

Kurita³¹ afirma que quitinas com um grau de desacetilação em torno de 50% são solúveis em água quando obtidas em

condições homogêneas, e insolúveis quando obtidas em condições heterogêneas. Esse efeito da solubilidade da quitosana é provavelmente devido à diferença na estrutura do polímero, causada pela diferença nas condições de reação. A quitosana obtida por hidrólise homogênea parece apresentar uma estrutura com unidades de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina distribuídas ao acaso na cadeia polimérica. Já o produto da hidrólise heterogênea parece apresentar uma estrutura em blocos, isto é, blocos de unidades N-acetil-D-glucosamina e blocos de unidades de D-glucosamina formando a cadeia. Essa diferença na sequência das unidades monoméricas também está relacionada com a menor cristalinidade do polímero obtido em condições homogêneas.

Recentes publicações têm demonstrado a influência do tempo de reação na massa molar e no grau de desacetilação da quitina.^{19,27,32} Tempos prolongados de reação (15 horas) ou altas temperaturas (120 - 130 °C) geralmente aumentam o grau de desacetilação da quitina, mas ocorre uma diminuição na massa molar média da quitosana, devido a quebra das cadeias do polímero. A desacetilação feita em etapas sucessivas de 30 minutos, seguida de lavagem e secagem do material após cada etapa é mais efetivo em termos de grau de desacetilação, que em um único tratamento contínuo em um tempo maior, além de produzir uma quitosana com maior massa molar média.

A Tabela 14 mostra a influência do tempo e da temperatura sobre o grau de desacetilação e a massa molar da quitosana, estudada por Blair.²⁷

Tabela 14 - Efeito da condição de preparação no grau de desacetilação e na massa molar da quitosana.

Amostras	t, min.	temperatura, °C	Desacetilação, %	M . 10 ⁻⁵
I	30	100	75,0	2,54
II	60	100	77,2	1,86
III	120	100	80,3	1,27
IV	180	100	83,8	0,78
V	300	100	84,2	0,45
I	30	120	76,5	1,72
II	60	120	79,1	0,88
III	120	120	81,7	0,50
V	300	120	87,8	0,27

Os resultados do grau de desacetilação, determinados por espectroscopia no infravermelho, apresentados neste trabalho concordam satisfatoriamente com os resultados da literatura.²⁷ As amostras de quitosana A e B (descritas na página 17) apresentaram uma pequena diferença no grau de desacetilação devido à diferença nas condições de preparação das amostras.

Neste trabalho foi determinada a massa molar da quitosana (amostra A) por viscosimetria. Sendo o método viscosimétrico não absoluto, a viscosidade intrínseca da quitosana foi determinada na mesma mistura solvente que Roberts, G.A.F. & Domszy, J.G.²⁶ determinaram os parâmetros a e K da equação de Mark-Houwink (equação 4). Esses valores das constantes concordam com os obtidos

para outros polissacarídeos iônicos com ligações $\beta(1\rightarrow4)$. Concordância análoga não foi observada entre os valores de a e K determinados por Lee.³³ Assim, a massa molar média da quitosana, $(1,55 \pm 0,1) \times 10^5$ daltons, encontra-se na mesma ordem de grandeza do valor obtido por Blair²⁷ para quitosana com grau de acetilação de aproximadamente 25%.

3.2. MEMBRANAS

Nas últimas décadas, têm sido sugeridos vários mecanismos para explicar a formação de membranas assimétricas. Todos os mecanismos sugeridos concordam em um ponto: durante a fase de evaporação do solvente, a concentração do polímero aumenta na camada superficial em consequência da perda do solvente por evaporação. Quando o filme é imerso em um não solvente este se difunde para o interior do filme, sua concentração excede a da miscibilidade com o polímero e ocorre a gelificação.

A formação de membranas assimétricas de quitosana obedece os mecanismos propostos acima e foi inicialmente obtida coagulando-se um filme de quitosana em um não solvente (acetona) e hidróxido de sódio 2 M. A micrografia desta membrana apresentada na Figura 10 a, mostra a camada filtrante e o suporte constituído do mesmo polímero. Apesar de apresentarem um bom fluxo de solvente, não foram utilizadas neste trabalho; devido a sua baixa resistência mecânica, rompem-se quando são aplicadas pressões superiores à pressão exercida por uma coluna de 1 metro de água. Com a finalidade de aumentar a resistência dessas membranas, um papel filtro foi utilizado como suporte para as mesmas, conforme

mostra a micrografia da Figura 10 b. As membranas suportadas em papel filtro apresentaram uma resistência mecânica consideravelmente superior às anteriores e o fluxo de solvente não foi prejudicado com a incorporação do papel às membranas. Posteriormente, foram feitas outras alterações no processo de obtenção dessas membranas, eliminou-se a etapa de coagulação e o tempo de evaporação do solvente passou a ser de seis horas a uma temperatura de 30 °C. A redução do fluxo de solvente em função do tempo nessas membranas foi bem menos acentuado que nas anteriores (Tabelas 3 e 4 e Figuras 7 e 9).

As alterações na estrutura das membranas, determinadas pelo tempo de evaporação do solvente, mostram que o efeito de compactação da membrana, isto é, a redução do fluxo de solvente em função do tempo devido a diminuição da espessura da camada sob ação de uma pressão aplicada, é mais acentuada na membrana obtida com menor tempo de evaporação do solvente devido a menor rigidez destas membranas (Figura 7 e 9).

Outras modificações podem ser introduzidas no processo de obtenção de membranas assimétricas de quitosana, por exemplo, uma tela metálica pode substituir o papel filtro como suporte, ou pode ser incorporado à membrana um outro componente, como cátions metálicos.

No caso da substituição do papel filtro pela tela metálica, a resistência mecânica da membrana aumenta sensivelmente. Entretanto, estas membranas não são apropriadas para ultrafiltração de proteínas, pois proteínas em contato com metal sofrem desnaturação que inviabilizaria a aplicação dessas membranas na ultrafiltração de proteínas.

As membranas com cátions metálicos são obtidas incorporando-se um íon metálico à membrana. Neste caso o íon metálico forma um complexo com o polímero. Recentes trabalhos³⁴ sugerem que a ligação do metal com as unidades D-glucosamina ocorre via NH_2 e grupos hidroxilas desprotonados, com possível formação de complexos do tipo MLH_2 . Nesses complexos as unidades D-glucosamina atuam como ligantes monodentados, com o átomo metálico coordenando duas unidades D-glucosamina no caso de metais bivalentes.

Os resultados de fluxo e retenção de macromoléculas em ultrafiltração convencional (sob pressão de 1 metro de solução e 2 atm), são apresentados nas Tabelas 7 e 8. Os resultados preliminares mostram que a membrana impregnada com alumínio apresenta uma retenção menor do que a membrana impregnada com cobre e ferro. Contudo, um estudo mais detalhado, como por exemplo, a variação da concentração do íon metálico na membrana bem como a utilização de outros metais, se tornam necessários para uma discussão mais conclusiva.

Membranas simétricas são membranas densas, nas quais a camada filtrante é toda a espessura da membrana. O mecanismo de formação dessas membranas é diferente do mecanismo de formação das membranas assimétricas. Neste caso, formado o filme, o solvente é totalmente evaporado, resultando uma membrana com uma estrutura formada por uma única camada densa com diâmetro dos poros menor que nas membranas assimétricas.

Trabalhos sobre membranas simétricas de quitosana têm sido publicados nos últimos anos, demonstrando o interesse dos pesquisadores nas propriedades físicas das membranas simétricas de quitosana e quitosana modificada^{27,35} e suas aplicações na queilação de metais,²⁸ determinação do coeficiente de difusão de co

rantes ácidos,³⁶ pervaporação de mistura etanol água,³⁷ etc. Apesar de suas aplicações em outras atividades, essas membranas demonstraram ser pouco eficientes no processo de ultrafiltração, pois o fluxo de água através da membrana é aproximadamente cem vezes menor do que o fluxo de água em membranas estudadas neste trabalho.

3.3. ULTRAFILTRAÇÃO DE MACROMOLÉCULAS

Na ultrafiltração convencional (ultrafiltração onde a pressão é aplicada perpendicularmente à membrana) as macromoléculas existentes na solução são retidas pela barreira semipermeável, formando um gel sobre a membrana e esta camada de gel atua como barreira extra para as macromoléculas. Este efeito é conhecido como polarização por concentração e geralmente causa sérios problemas à ultrafiltração de macromoléculas, pois a retenção aumenta à medida que a camada de gel se torna mais espessa.

Da análise das Tabelas 5 e 6, que mostram a retenção de diferentes macromoléculas, sob pressão de 1 metro de solução e 2 atmosferas, observou-se que dextrana azul apresenta maior retenção do que a dextrana T2000, sendo ambas com massa molar de mesma ordem de grandeza. Esta diferença está diretamente relacionada com o fato de que a membrana e a dextrana azul apresentam cargas opostas, ocorrendo interação membrana-dextrana azul. A retenção da dextrana T2000 foi maior sob pressão de 1 metro de solução do que a 2 atm, pois quanto maior a pressão aplicada, maior o efeito de compactação da membrana, acarretando uma diminuição

do fluxo de solvente e conseqüente aumento da concentração da macromolécula sobre a membrana. Este mesmo comportamento foi observado com a dextrana T500, com massa molar quatro vezes menor do que dextrana T2000 e também não possuindo carga. Por outro lado, a ovalbumina com massa molar aproximadamente cinquenta vezes menor que a massa molar da dextrana azul, apresenta uma retenção de 55%, independente da pressão aplicada, sendo a retenção devido predominantemente ao efeito de carga.

O efeito de polarização por concentração se torna bem mais evidente na separação de mistura de soluções de macromoléculas. Nesse caso, a presença de uma espécie de macromolécula interfere na ultrafiltração da outra espécie. Por exemplo, segundo Baker & Strathmann,³⁸ a albumina e a gamaglobulina apresentaram uma retenção de 0 a 10% e 60 a 80% respectivamente, em experimentos de ultrafiltração utilizando uma membrana XM-100 da Amicon Corporation, quando a ultrafiltração foi feita separadamente. A ultrafiltração da mistura das duas proteínas apresentava resultados bem diferentes. Uma solução 1% (m/m) de albumina submetida a uma pressão de 3,3 atmosferas atravessou a membrana livremente, mas na presença de 0,25% (m/m) de gamaglobulina, a albumina foi totalmente retida. O aumento na retenção da albumina pode ser explicado como sendo devido à formação de uma camada de gel de gamaglobulina acumulada na superfície da membrana, impedindo a passagem da albumina.

Esse efeito de polarização pode ser consideravelmente diminuído utilizando-se a ultrafiltração centrífuga conforme descrito anteriormente (página 7), pois a macromolécula não se acumula sobre a membrana. Baixos campos inerciais são suficientes para que a ultrafiltração seja de execução viável. Neste trabalho empre-

gou-se uma célula de diálise (Figura 13) com capacidade de 15 ml e a retenção calculada a partir da equação 6 que leva em consideração os volumes do filtrado e do retido após um determinado tempo. Para um período de centrifugação de 30 minutos a 302 x g, as Tabelas 9, 10 e 11 mostram que a percentagem de retenção de macromoléculas com carga é superior àquelas com massa molar análoga, mas sem carga. Esse efeito de carga é evidenciado comparando-se a retenção de solução de ovalbumina e soro fetal bovino em água e em presença de cloreto de sódio 0,1 M, Tabela 9.

A Tabela 12 mostra o efeito da presença de cloreto de sódio em soluções aquosas de dextranas azul e poli(sódio-4-estireno sulfonato) na retenção, durante 30 minutos de centrifugação. À medida que a concentração de sal aumenta ocorre uma redução da retenção. Esta redução provavelmente ocorre em razão da diminuição da interação eletrostática entre a membrana e o polieletrólito devido a alta concentração de cátions metálicos na solução. A partir deste ponto, o efeito de retenção ocorre exclusivamente em função do tamanho da macromolécula.

Na Tabela 13 são apresentadas as retenções em experimentos de ultrafiltração centrífuga de citocromo c, ovalbumina, hemoglobina e dextrana azul em diferentes valores de pH. Esses valores são apresentados na Figura 15. Tanto as proteínas como dextrana azul e a membrana de quitosana apresentam cargas. Entretanto, o citocromo c apresenta uma retenção baixa, variando de 18 a 38%, na faixa de pH estudada. Para solução aquosa de citocromo c a retenção foi então de 93%. Em solução aquosa o oxigênio do grupo carbonila e o hidrogênio das ligações peptídicas encontram-se livres para formar pontes de hidrogênio com as moléculas de água. O citocromo c consiste de uma cadeia peptídica em torno de 104 ami

noácidos e como o número de pontes de hidrogênio entre as cadeias peptídicas é reduzido o citocromo c apresenta regiões com densidade de carga negativa que interagem com as cargas da membrana de quitosana, favorecendo uma elevada retenção em experimentos de ultrafiltração.³⁹ Esta elevada retenção do citocromo c não foi observada para a faixa de pH entre 4,5 e 7,0, devido às interações dos íons pequenos, presentes à solução, com os grupos ligantes das proteínas que acarretam uma variação na carga e estrutura da proteína. Este efeito da diminuição na retenção foi menos acentuado para a solução de ovalbumina nas mesmas condições. Para a dextrana azul, a redução da retenção com o aumento do pH é menos acentuada, pois a massa molar da dextrana azul é de 50 a 150 vezes maior do que as proteínas estudadas. Outro aspecto observado foi que em pH igual a 10,6, a retenção de cada proteínas apresenta valores próximos (Figura 15), pois ocorre uma neutralização das cargas da membrana de quitosana e a retenção deixa de ser devido ao efeito de carga entre macrossoluto-membrana, passando a ser devido ao tamanho das macromoléculas que apresentam massas molares da mesma ordem de grandeza.

Esse efeito de neutralização das cargas da membrana foi verificado colocando-se em um dos compartimentos da célula de diálise 14 ml de uma solução de hidróxido de sódio 0,099 N. Após um período de centrifugação de 20 minutos foram recolhidos 6 ml do filtrado e titulados com ácido clorídrico 0,10 N, titrisol, obtendo-se a concentração final igual a 0,086 N. Estes resultados mostram que parte do hidróxido de sódio fica retido na membrana, neutralizando-a. Após sucessivas lavagens com água a membrana readquire suas características originais. Por exemplo, se uma solução de dextrana azul é submetida a ultrafiltração após o trata

mento com uma solução de hidróxido de sódio 2,0 N, a retenção foi de 37%. Após lavar a membrana com água ou solução levemente ácida, a retenção da solução de dextrana azul foi de 100%.

Na faixa de pH entre 4,5 e 6,0, em uma mistura de ovalbumina ou hemoglobina e citocromo c, seria possível separar os componentes da mistura utilizando ultrafiltração com membranas de quitosana. A percentagem de separação torna-se mais acentuada para proteínas que apresentem pontos isoelétricos em faixas de valores de pH diferentes.

3.4. PERSPECTIVAS PARA UTILIZAÇÃO DA MEMBRANA ASSIMÉTRICA DE QUITOSANA

Além da aplicação da membrana assimétrica de quitosana em experimentos de ultrafiltração, esta pode ser utilizada em experimentos de sedimentação osmoticamente acoplada (osmossedimentação) de polieletrólitos. Osmossedimentação consiste em se colocar a solução em contato com o solvente através de uma membrana semipermeável. Devido à diferença de potencial químico do solvente na solução e no solvente puro, ocorrerá fluxo de solvente, na parte superior da célula, do compartimento do solvente para o compartimento da solução. Este sentido do fluxo de solvente é invertido à medida que se aproxima do fundo da célula, devido à maior contribuição da pressão exercida pela coluna de solução. Esses fluxos osmóticos são ilustrados na Figura 16, e aceleram a sedimentação do macrossoluto, permitindo que o equilíbrio de sedimentação seja alcançado num intervalo de tempo mensurável.⁴⁰

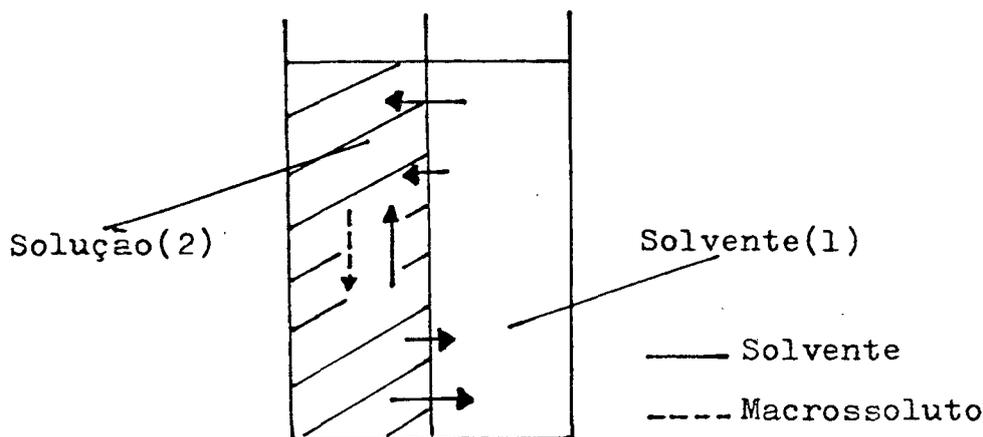


Figura 16 - Esquema de uma célula de osmossedimentação.

A partir do gradiente de concentração no estado de equilíbrio ao longo da célula podem ser determinados parâmetros Físico-Químicos, tais como, massa molar, coeficiente de virial, parâmetro de Flo
ry.⁴¹

Experimentos de osmossedimentação feitos em centrífuga a baixo campo inercial mostraram também ser possível concentrar uma solução de macrossoluto.⁴² Portanto, as membranas de quitosana poderão ser utilizadas em experimentos de osmossedimentação na determinação dos parâmetros físico-químicos, na concentração de soluções, bem como em outros métodos convencionais, tais como, osmometria e pervaporação.

4 - CONCLUSÃO

A tecnologia de obtenção de membranas sintéticas de polímeros e a utilização dessas membranas nos diferentes campos de aplicação é atualmente uma atividade bastante desenvolvida. Entretanto, a quitosana não está entre os polímeros mais utilizados na obtenção de membranas.

O emprego da quitosana como matéria prima para obtenção de membranas e as aplicações destas membranas em processos de ultrafiltração foram objetivos deste trabalho. As membranas assimétricas de quitosana apresentaram um fluxo de solvente da ordem de $5,0 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ e uma retenção de macromoléculas bastante alta, aproximadamente 100% para polieletrólitos aniônicos e uma retenção um pouco menor, variando entre 50 e 90% para macromoléculas sem cargas. A partir desses dados, pode-se concluir que as membranas assimétricas de quitosana podem ser empregadas em processos de ultrafiltração de soluções de macromoléculas, sendo mais eficiente para polieletrólitos aniônicos.

Outro objetivo deste trabalho foi determinar a influência da concentração de contra-íons e ou pH em soluções de polieletrólitos e proteínas. Um aumento na concentração do sal presente na solução do polieletrólito aniônico produz uma queda na retenção de macromoléculas. A retenção diminui em consequência da redução da interação eletrostática entre a membrana e poliele

trólitos. Em alta concentração de íons hidroxilas (pH acima de 10), na solução de proteínas ou polieletrólitos aniônicos, provoca uma diminuição na retenção das macromoléculas. Esta redução na retenção ocorre em consequência da neutralização das cargas da membrana, sendo a maior eficiência da membrana na faixa de pH entre 4,4 e 7.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ENCICLOPÉDIA of Polymer Science and Technology. New York. Interscience, 1976. v. 8, p: 620-38.
02. PUSCH, W. Synthetic membranes: state of the art. Desalination, 35: 5-20, 1980.
03. STANNETT, V. T. et alii. Recent advances in membrane science and technology. Adv. Polymer Sci., 32: 69-121, 1979.
04. LONSDALE, H. K. The growth of membrane technology. J. Membr. Sci., 10: 81-181, 1982.
05. STRATHMANN, H. Membrane separation processes. J. Membr. Sci., 9: 121-89, 1981.
06. PUCH, W. & WALCH, A. Synthetic membranes preparation, structure and application. Ang. Chem. Int. Ed. Engl., 21: 660-85, 1982.
07. SETSUJI, T. et alii. Separation of aromatic substances from aqueous solutions using a reverse osmosis technique with thin dense cellulose acetate membranes. J. Membr. Sci., 19: 195-208, 1984.
08. LOEB, S. & SOURIRAJAM, S. Sea water demineralization by means of an osmotic membrane. Adv. Chem. Ser., 38: 117-32, 1962.
09. MALLADI, D. P. Water sorption and volume in cellulose acetate filme. J. Membr. Sci., 19: 209-31, 1984.

10. LONSDALE, H. K. The evolution of ultrathin synthetic membrane. J. Membr. Sci., 33: 121-36, 1987.
11. NUNES, Suzana P. et alii. A new centrifugal ultrafiltration devices. Separation Sci. Technol., 21(8): 823-30, 1986.
12. KESTING, R. E. Asymmetric cellulose acetate membranes. In: SOURIRAJAM, S. Reverse osmosis and synthetic membranes. Theory-technology-engineering. Ottawa, National Research Council, 1977. cap. 5, p. 89-109.
13. REUVERS, A. J. & SMOLDERS, C. A. Assymmetric membranes prepared by immersion precipitation. International Congress on Membranes and Membranes Processes. Japan, Jun. 8-12, 1987. p. 11-12.
14. NUNES, Suzana P. et alii. Cellulose acetate membranes for osmosedimentation: Performance and morphological dependence on preparation conditions. Polymer, 27: 937-43, 1986.
15. DANESI, P. R. et alii. Mas transfer rate through liquid membranes interfacial chemical reations and difusion as simultaneaous permeability controlling factors. Separation Sci. Technol., 16(2): 201-11, 1981.
16. MATSUURA, J. et alii. Facilitated transport of carbon monoxid through liquid membrane prepared fron Cu(II) salt/benzoin/N-methylimidazole(I). International Congress on membranes and Membranes Process. Japan, jun. 8-12, 1987, p. 781-82.

17. TRAUBE, M. Archiv für Anatomie und Physiologie. 1967, p. 86
Apud: WEISER, H. B. Adsorption and permeability of membrane. I. Copper ferrocyanide as a semipermeable membrane. J. Phys. Chem., 34: 335, 1930.
18. LAKSHMINARAYANATAH, N. Transport phenomena in artificial membranes. Chem. Rev., 65(5): 491-565, 1965.
19. MUZZARELLI, R. A. A. Chitin. Oxford, Pergamon Press, 1977.
20. MUZZARELLI, R. A. A. & SIPOS, L. Chitosan for the collection from seawater of naturally occurring zinc, cadmium, lead and copper. Talanta, 18: 853-58, 1977.
21. De ALBA, P. L. L. et alii. Quitosan polimero natural acomplejante de iones. Bol. Soc. Chilena Quim., 32(2): 81-7, 1987.
22. EIDEM, C. A. et alii. Interation of lead and chromiun with chitin and chitosan. J. Appl. Polymer Sci., 25: 1587-88, 1980.
23. MUZZARELLI, R. A. A. et alii. Chitosan glucan complexes. Biotechnol. Bioenzin., 22: 885, 1980.
24. BRANDRUP, J. & IMMERGUT, E. H. Polymer Textbook, 2. nd ed. New York, J. Wiley, 1975.
25. LANGE'S handbook of chemistry, 12 th ed. New York, McGraw-Hill, 1979.

26. ROBERTS, G. A. F. & DOMSZY, J. G. Determination of the viscometric constants for chitosan. Int. J. Biol. Macromol., 4: 374-77, 1982.
27. BLAIR, H. S. et alii. Chitosan and modified chitosan membranes I. Preparation and characterization. J. Appl. Polymer Sci., 33: 641-56, 1987.
28. MUZZARELLI, R. A. A. et alii. Chitosan membranes. Ion Exchange & Memb., 1: 193-96, 1974.
29. PIRES, A. T. N. Osossedimentação: Aplicação analítica e preparativa a soluções macromoleculares, Tese de Doutorado. UNICAMP - Instituto de Química. Campinas, 1984.
30. NUNES, Suzana P. Osmocentrifugação e ultrafiltração centrífuga, Tese de Doutorado. UNICAMP - Instituto de Química. Campinas, 1985.
31. KURITA, K. et alii. Evidence for formation of block and random copolymers of N-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine by hetero and homogeneous hydrolyses. Macromol. Chem., 178: 3197-202, 1977.
32. BROUSSIGNAC, P. Le chitosane. Chim. & Ind. Génie Chim., 99(9): 1241-247, 1968.
33. LEE, V. F. Solution and shear properties of chitin and chitosan. Univ. Microfilms. Ann Arbor, 74(29): 446, 1974.
Apud. ROBERTS, G. A. F. & DOMSZY, J. G. Determination of the viscometric constants for chitosan. Int. J. Biol. Macromol., 4: 374-77, 1982.

34. LERIVREY, J. et alii. Formation of D-glucosamine complexes with Cu(II), Ni(II) and Co(II) ions. Inorg. Chim. Acta, 125: 187-90, 1986.
35. AIBA, S. et alii. Preparation and properties of chitin membranes. Carboh. Polymers, 5: 285-95, 1985.
36. GUTHRIE, J. et alii. Determination of the diffusion coefficient of an acid dye in chitosan and modified chitosan membranes. Polymer Comm., 27: 53-5, 1986.
37. ISHIDA, H. et alii. Effects of treatments of chitosan membranes on the separation of ethanol-water mixture by pervaporation. Kobunshi Ronbunshu, 43(7): 449-51, 1986.
38. BAKER, R. W. & STRATMANN, H. Ultrafiltration of macromolecular solution with high-flux membranes. J. Appl. Polymer Sci., 14: 1197-214, 1970.
39. MAHLER, H. R. & CORDES, E. H. Biological chemistry. 2. nd. ed. New York, Harper, 1971.
40. GALEMBECK, F. & PIRES, A. T. N. Osmosedimentation methods: Preparative and analytical applications. Separation Purification Methods, 15(2): 97-126, 1986.
41. PIRES, A. T. N. et alii. Osmosedimentation: Approach to sedimentation equilibrium under gravity. J. Coll. Interf. Sci., 98(2): 489-93, 1984.
42. NUNES, Suzana P. et alii. Concentration of dextran and gammaglobulin by osmocentrifugation. Chem. Scripta, 23: 233-39, 1984.