



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

Microestruturas de quitosana para utilização como adsorvente de corantes alimentícios e agente encapsulante de ácidos graxos insaturados.

Eng.^a de alimentos Vanessa Mendonça Esquerdo

Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto
ORIENTADOR

RIO GRANDE, RS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

Microestruturas de quitosana para utilização como adsorvente de corantes alimentícios e agente encapsulante de ácidos graxos insaturados.

Eng.^a de alimentos Vanessa Mendonça Esquerdo

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto
ORIENTADOR

RIO GRANDE, RS

2014

EPÍGRAFE

“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã”.

Chico Xavier

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus pais Valdir e Luciana, minha vó Luiza e a meu orientador.

AGRADECIMENTOS

A Deus

Pelo dom da vida, pela saúde, força e coragem. Por todas as bênçãos alcançadas e por Vossa presença constante em minha vida.

Aos meus pais, Valdir e Luciana.

Àqueles que sempre estiveram ao meu lado, que vibraram com minhas vitórias e me deram colo quando necessitei. Que me incentivaram a nunca desistir, e que sempre acreditaram em mim. São meu apoio, meu amor, minha vida! Muito obrigada por tudo, amo vocês.

A minha vó, Luiza.

A minha vó, mãe, irmã, amiga e guerreira. Que sempre acreditou em mim, quando nem eu mesma acreditava. Meu alicerce, exemplo de vida! Muito obrigada por estar sempre ao meu lado. Amor que não se mede.

Ao meu namorado Igor

Pela amizade, confiança, apoio, carinho e amor. Muito obrigada por me entender e estar sempre ao meu lado. *“Se alguém já lhe deu a mão e não pediu mais nada em troca, pense bem, pois é um dia especial”*. Te amo amor.

Ao meu Primo Julio Cezar e a minha cunhada Aline

Ao primeiro: o irmão que Deus me deu. Obrigada por existir em minha vida. A segunda pela amizade e carinho. Serão eternamente meus pequenos.

Ao meu Professor Orientador Luiz Antonio de Almeida Pinto

Por ser um exemplo de ética profissional e pessoal. Muito obrigada por todos os ensinamentos profissionais e principalmente pelos pessoais, os quais levarei para o resto de minha vida.

Agradeço pela confiança, orientação, amizade e paciência.

Ao Professore amigo Guilherme Luiz Dotto

Pela paciência, pelos ensinamentos e por acreditar em mim e sempre incentivar meu trabalho. Também pela amizade e pelas risadas, meu muito obrigado.

A Juliana Silva e Thais Machado

Pela colaboração na realização deste trabalho e por terem confiado em mim. Muito obrigado. Aprendi muito com vocês.

Aos colegas de laboratório

Pela companhia e auxílio na realização deste trabalho, pelas risadas, pelo apoio quando as coisas pareciam dar errado. Vocês são de mais.

As amigas Mery, Luana e Pamela

Agradeço por terem entrado em minha vida. Pelo companheirismo, amizade, bons momentos compartilhados e principalmente pela força nos momentos difíceis, desejo todo sucesso do mundo para vocês.

Ao LTA, LCA e LEB e aos seus respectivos técnicos

Pela colaboração na realização de experimentos fundamentais para este estudo.

As colegas Michele Monte, Lidiane Moreira e Adriana Machado

Por disponibilizarem seu tempo para tirar muitas de minhas dúvidas no início deste trabalho.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação

Pelos conhecimentos passados.

A FURG

Pela estrutura física e por propiciar ensino e pesquisa de qualidade.

A CAPES E FAPERGS

Pelo auxílio financeiro.

RESUMO

Neste trabalho foram elaboradas microestruturas de quitosana, as quais foram utilizadas como adsorvente de corantes alimentícios e como agente encapsulante de concentrados de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo de carpa (*Cyprinus carpio*). Na primeira parte deste estudo, a microestrutura formada foi uma esponja porosa de quitosana. Esta foi aplicada para a remoção de cinco corantes alimentícios de soluções aquosas, por adsorção. A esponja de quitosana apresentou-se megaporosa com tamanho de poros variando de 50–200 μm , porosidade de 92,2% e área superficial específica de 1135 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$. As isotermas de equilíbrio de adsorção dos corantes alimentícios indigotina, vermelho 40, amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho amaranço pela esponja de quitosana foram estudadas em diferentes temperaturas. O modelo de Langmuir de duas etapas foi adequado para representar os dados de equilíbrio, e as capacidades totais de adsorção variaram de 788,8 a 3316,7 mg g^{-1} . Os parâmetros deste modelo indicaram que tanto a capacidade total de adsorção quanto a afinidade dos corantes pela esponja de quitosana foram favorecidas pela diminuição da temperatura. A adsorção foi um processo espontâneo, favorável, exotérmico e controlado pela entalpia. Além disso, os valores de entalpia indicaram que a interação entre os corantes e a esponja de quitosana ocorreu por intermédio de ligações eletrostáticas. A esponja megaporosa de quitosana apresentou boas características estruturais e elevadas capacidades de adsorção, sendo um adsorvente alternativo para remover corantes alimentícios de soluções aquosas. Na segunda parte do estudo, a microestrutura formada continha nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados. A microestrutura foi elaborada por nanoemulsão com posterior evaporação do solvente por liofilização. O etanol foi o solvente da fase oleosa mais apropriado para a obtenção das nanocápsulas, as quais mostraram potencial para evitar o aumento da oxidação primária dos concentrados de ácidos graxos insaturados. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a emulsão preparada com o maior tempo de homogeneização (10 min) foi a que apresentou o menor diâmetro médio (87,5 nm) e menor índice de polidispersão (0,32). A microestrutura contendo as nanocápsulas apresentou características texturais satisfatórias e alto rendimento de processo mostrando que a quitosana tem potencial para ser utilizada como agente encapsulante de nanocápsulas lipídicas.

Palavras chave: quitosana, microestrutura, adsorção, corantes alimentícios, nanocápsulas lipídicas.

Chitosan microstructures as an adsorbent of food dyes and encapsulating agent of unsaturated fatty acids.

ABSTRACT

In this work, chitosan microstructures were prepared and used as adsorbents of food dyes and encapsulating agent for unsaturated fatty acids concentrates from carp (*Cyprinus carpio*) oil. Firstly, chitosan microstructure was prepared and applied to remove five food dyes from aqueous solutions by adsorption. The chitosan scaffold presented a megaporous structure with pore size from 50 to 200 μm , void fraction of 92.2% and specific surface area of 1135 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$. Equilibrium isotherms were obtained for the five food dyes (FD&C blue 2, FD&C red 40, FD&C yellow 5, FD&C yellow 6 and Food red 2) at different temperatures. The two-step Langmuir model was appropriated to represent the equilibrium data, and the total adsorption capacities ranged from 788.8 to 3316.7 mg g^{-1} . The model parameters indicated that the total adsorption capacity and the affinity of the dyes by chitosan microstructure were favored by the temperature decrease. The adsorption was a spontaneous, favorable, exothermic and enthalpy-controlled process. Electrostatic interactions occurred between chitosan scaffold and dyes. The chitosan microstructure showed good structural characteristics and adsorption capacities, being an alternative adsorbent to remove food dyes from aqueous solutions. Secondly, the microstructure was used as encapsulating agent for unsaturated fatty acids. The microstructure was prepared by nanoemulsion followed by lyophilization. Ethanol was the most appropriated solvent to obtaining nanocapsules, which showed potential to avoid the primary oxidation of unsaturated fatty acids concentrates. It was found that the emulsion prepared at higher homogenization time (10 min) provided lower diameter (87.5 nm) and lower polydispersity index (0.32). The microstructure containing the nanocapsules showed satisfactory textural characteristics and high yield process, showing that the chitosan has potential to use as an encapsulating agent for lipid nanocapsules.

Keywords: adsorption, chitosan, food dyes, nanocapsules, microstructure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da quitosana	
Figura 2: Quadro com a ocorrência natural da quitina e da quitosana.....	23
Figura 3: Aplicações da quitosana em várias áreas de estudo.....	25
Figura 4: Isotermas características de sorção em fase líquida.....	27
Figura 5: Nanopartículas-nanocápsula e nanoesfera.....	34
Figura 6: Carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>).....	38
Figura 7: Esquema do liofilizador e secagem	44
Figura 8: Fluxograma da elaboração de concentrados de ácidos graxos mono e poli-insaturados por complexação com ureia.....	46
Figura 9: Diagrama tridimensional de cores	50
Figura 10: Micrografia e imagem fotográfica da quitosana em pó.....	54
Figura 11: Imagem fotográfica da esponja de quitosana.....	61
Figura 12: Imagens de MEV da esponja megaporosa de quitosana em diferentes ampliações: (a) $\times 30$, e (b) $\times 80$	63
Figura 13: Espectro EDX da esponja de quitosana.....	64
Figura 14: Espetro infravermelho (FT-IR) da esponja de quitosana.....	65
Figura 15: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante indigotina.....	66
Figura 16: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante vermelho 40.....	67
Figura 17: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante amarelo tartrazina.....	67
Figura 18: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante amarelo crepúsculo.....	68
Figura 19: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante vermelho amaranth.....	68
Figura 20: Espectro FT-IR da esponja de quitosana após o processo de adsorção com os corantes: (a) indigotina, (b) vermelho 40, (c) amarelo tartrazina, (d) amarelo crepúsculo e (e) amaranth.....	69
Figura 21: Imagens de MEV e mapeamentos de raio-x do enxofre para a esponja de quitosana: (a) antes do processo de adsorção (b) adsorvida com indigotina, (c) adsorvida com vermelho 40, (d) adsorvida com amarelo tartrazina, (e) adsorvida com amarelo crepúsculo e (f) adsorvida com vermelho amaranth.....	75
Figura 22: Emulsões de concentrados de ácidos graxos insaturados com Tween 80: (a) tempo zero, (b) após 40 dias.....	78
	80

Figura 23: Imagem fotográfica das emulsões de nanocápsulas utilizando etanol (ET) e hexano (Hex) como solventes da fase oleosa.....	81
Figura 24: Imagem fotográfica da microestrutura formada utilizando como solvente da fase oleosa: (a) etanol e (b) hexano.....	81
Figura 25: Imagens de MEV da microestrutura contendo as cápsulas de concentrados ácidos graxos insaturados com quitosana preparada: (a) com etanol e (b) com hexano.....	82
Figura 26: (a) Função de auto correlação e (b) distribuição granulométrica das nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados com quitosana (homogeneização de 5 min).....	84
Figura 27: (a) Função de auto correlação e (b) distribuição granulométrica das nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados com quitosana (homogeneização de 10 min)	84
Figura 28: Espectros FT-IR: (a) quitosana pura e (b) emulsão de nanocápsulas	86
Figura 29: Imagens microscópicas: (a) emulsão de nanocápsulas, e da microestrutura formada após a liofilização com aumento de (b) $\times 110$ e (c) $\times 40.000$	87
Figura 30: Espectro EDX da microestrutura contendo as nanocápsulas.....	88
Figura A1: Espécies de carpas	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Origem e efeitos adversos de alguns corantes artificiais permitidos pela Legislação Brasileira	31
Tabela 2: Principais diferenças entre adsorção física e química	33
Tabela 3: Composição química (base úmida), grau de desacetilação e massa molar da quitosana	60
Tabela 4: AGL, IP e rendimento de reação de hidrólise para os concentrados de ácidos graxos insaturados (fração não complexada) obtidos do óleo de carpa.....	61
Tabela 5: Perfil de ácidos graxos para a fração não complexada com ureia do óleo obtido de vísceras de carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	62
Tabela 6: Valores de área superficial específica (As), porosidade (ϵ_p) e volume de poros (V_p) da esponja de quitosana	64
Tabela 7: Parâmetros do modelo de Langmuir em duas etapas para a adsorção dos corantes alimentícios pela esponja de quitosana	71
Tabela 8: Comparação da esponja de quitosana com outros materiais obtidos a partir de quitosana e utilizados como adsorvente para a remoção de corantes de soluções aquosas.	73
Tabela 9: Parâmetros termodinâmicos para a adsorção dos corantes alimentícios pela esponja de quitosana	74
Tabela 10: Parâmetros de cor da esponja de quitosana antes e após o processo de adsorção	79
Tabela 11: Índice de peróxido (meq kg^{-1}) das nanocápsulas de concentrados de AGL... ..	83
Tabela 12: Diâmetro médio e polidispersão das nanocápsulas elaboradas utilizando diferentes tempos de homogeneização	84
Tabela 13: Parâmetros de cor da quitosana e das nanocápsulas após secagem por liofilização	88
Quadro A1: Indicações clínicas de ácidos graxos insaturados (AGI) obtidos a partir	

de óleo de pescados.....
100 .

NOMENCLATURA

Símbolo	Definição	Unidade
a^*	Cromaticidade que varia do verde até o vermelho	adimensional
a_0^*	Cromaticidade da cor padrão	adimensional
$A_{C=O}$	Absorbância do grupamento C=O	nm
A_{OH}	Absorbância referente a ligação -OH	nm
AGI_{enc}	fração lipídica presente nas nanocápsulas liofilizadas	g
AGI_{ne}	fração sobrenadante contendo os AGI não encapsulados	g
AGL	Ácidos graxos livres	% ácido oléico
A_s	Área superficial específica	$m^2 g^{-1}$
b^*	Cromaticidade que varia do azul até o amarelo	adimensional
b_0^*	Cromaticidade da cor padrão	adimensional
c	Concentração da solução	$g mL^{-1}$
C_c	Concentração crítica	$mg L^{-1}$
C_e	Concentração de equilíbrio	$mg L^{-1}$
C_0	Concentração inicial de corante na solução	$mg L^{-1}$
GD	Grau de desacetilação	%
H_{ab}	Ângulo Hue	°
IA	Índice de acidez	$mg_{KOH} g^{-1} \text{óleo}$
IP	Índice de peróxido	$mEq kg^{-1}$
K	Constante da Equação 2 válida para cada polímero	$1,81 \times 10^{-3} mL g^{-1}$
k	Constante da Equação 1 válida para cada polímero	$g^{-1} mL$
k_D	Constante de equilíbrio termodinâmico	adimensional
k_L	Constante de Langmuir	$L mg^{-1}$
k_{Li}	Constante de Langmuir para a etapa i	$L mg^{-1}$

L^*	Luminosidade	adimensional
L_0^*	Luminosidade da cor padrão	adimensional
m	Massa de esponja	g
M_{AGL}	Massa de ácidos graxos livres	g
MM	Massa molar	kDa
M_{NaOH}	Massa de solução de hidróxido de sódio	g
$m_{\text{óleo}}$	Massa de óleo após a etapa de degomagem	g
M_{OR}	Massa do óleo utilizado na reação de alcoólise química	g
P_a	Massa de amostra	g
q_e	Capacidade de adsorção no equilíbrio	mg g ⁻¹
q_m	Capacidade total de adsorção	mg g ⁻¹
q_{mi}	Máxima capacidade de adsorção na etapa i	mg g ⁻¹
R	Constante universal dos gases	8,314 kJ mol ⁻¹ K ⁻¹
T	Temperatura	K
V	Volume de solução	L
V_a	Volume de tiosulfato gasto na amostra	mL
V_b	Volume de tiosulfato gasto no branco	mL
V_p	Volume de poros	m ³ kg ⁻¹
α	Constante da Equação 2 válida para cada polímero	0,93
Δa^*	$a^* - a_0^*$	adimensional
Δb^*	$b^* - b_0^*$	adimensional
ΔE_{ab}^*	Diferença de cor	adimensional
ΔG^0	Energia livre de Gibbs	kJ mol ⁻¹
ΔH^0	Entalpia de adsorção	kJ mol ⁻¹
ΔL^*	$L^* - L_0^*$	adimensional
ΔS^0	Entropia de adsorção	kJ mol ⁻¹ K ⁻¹
ε_p	Porosidade	%
η_{sp}	Relação entre a viscosidade do polímero em solução e o solvente	adimensional
η_{sp}/c	Viscosidade reduzida	mL g ⁻¹
ρ	Massa específica	g L ⁻¹
ρ_p	Massa específica aparente	g cm ⁻³

ρ_s	Massa específica do sólido	g cm^{-3}
%EE	Eficiência de encapsulação	%
%R _{reação}	Rendimento da reação	%

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. JUSTIFICATIVA	19
2.1. Histórico do Laboratório.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo Geral.....	22
3.2. Objetivos Específicos	22
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
4.1. Quitosana	23
4.1.1. Aspectos químicos	23
4.1.2. Fontes e processo de obtenção	24
4.1.3. Propriedades e aplicações	26
4.1.4. Caracterização da quitosana.....	28
4.1.4.1. Massa Molar	28
4.1.4.2. Grau de desacetilação	29
4.2. Quitosana como adsorvente de corantes alimentícios	29
4.2.1. Adsorção	32
4.2.1.1. Isotermas de equilíbrio.....	33
4.2.1.2. Termodinâmica de adsorção	36
4.3. Quitosana como agente encapsulante	38
4.3.1. Nanopartículas	38
4.3.2. Nanocápsulas lipídicas.....	40
4.3.2.1. Óleo de pescado	41
4.3.3. Secagem de Nanocápsulas	45
4.3.3.1 Liofilização	46
5. MATERIAL E MÉTODOS	48
5.1. Matérias primas.....	48

5.1.1. Quitosana em pó: obtenção e caracterização	48
5.1.2. Adsorbato: corantes alimentícios.....	49
5.1.3. Concentrados de ácidos graxos insaturados: obtenção e caracterização	50
5.2. Microestruturas de quitosana para uso em adsorção de corantes alimentícios....	52
5.2.1 Preparo das microestruturas de quitosana.....	52
5.2.2. Caracterização das microestruturas de quitosana	53
5.2.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	53
5.2.2.2. Espectroscopia Dispersiva de Raios X (EDX)	53
5.2.2.3. Espectrometria na região do infravermelho (FT-IR)	53
5.2.2.4. Análise de cor	53
5.2.2.5. Isotermas de N ₂ (BET).....	55
5.3. Experimentos de adsorção	55
5.3.1. Isotermas de Equilíbrio	56
5.3.2. Modelo de Langmuir em duas etapas	56
5.3.3. Cálculos termodinâmicos.....	57
5.3.4. Análises das interações	57
5.4. Microestrutura de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI.....	57
5.4.1. Preparo e caracterização da emulsão de nanocápsulas	57
5.4.2. Secagem da emulsão de nanocápsulas	58
5.4.3. Caracterização da microestrutura de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI	59
5.4.3.1. Eficiência de encapsulação	59
5.4.3.2. Índice de peróxido	59
5.4.3.3. Rendimento do processo	60
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
6.1. Caracterização das matérias primas	61
6.1.1. Caracterização da quitosana em pó	61
6.1.2. Caracterização dos Concentrados de AGI.....	61
6.2. Microestruturas de quitosana	64
6.2.1. Esponja megaporosa de quitosana.....	64
6.3. Estudos de adsorção de corantes alimentícios.....	67
6.3.1. Isotermas de equilíbrio	67
6.3.2. Parâmetros termodinâmicos	73
6.3.3. Análises de interação entre a esponja e os corantes	76

6.4. Microestrutura de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI	80
6.4.1. Escolha do solvente da fase oleosa e do tempo de homogeneização	81
7. CONCLUSÃO	90
8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	92
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
10. APÊNDICES	100
APÊNDICE 1: Indicações clínicas dos ácidos graxos insaturados e informações sobre a Piscicultura da Carpa.	101
APÊNDICE 2: Descrição das etapas de refino do óleo de carpa.....	103
APÊNDICE 3: Características dos corantes alimentícios.....	104
APÊNDICE 4: Produção bibliográfica vinculada a dissertação.	105
.....	

1. INTRODUÇÃO

O uso de polímeros naturais para aplicações diversificadas têm sido de vital importância para os avanços tecnológicos. A quitosana recebe interesse mundial, pois além de ser obtida de recursos naturais renováveis, é biologicamente reproduzível, biodegradável, biocompatível, não tóxica e com função biológica. (KLAYPRADIT et al., 2007). A sua obtenção pode ser realizada por meios enzimáticos ou por desacetilação alcalina da quitina, sendo este último método o mais utilizado (WESKA et al., 2007). Durante o curso da desacetilação, parte das ligações N-acetil do polímero são rompidas com a formação de unidades de D-glucosamina que contém um grupo amínico livre, aumentando a solubilidade do polímero em meios aquosos (PRASHANTH; THARANATHAN, 2007). O potencial de aplicação da quitosana é multidimensional, passando desde aplicações na área alimentícia como em nutrição, biotecnologia, ciência dos materiais, drogas e produtos farmacêuticos, agricultura e tratamento de efluentes (KLAYPRADIT et al., 2007).

Dentre as aplicações da quitosana, a sua utilização em processos de adsorção para a remoção de corantes de soluções aquosas vem ganhando destaque na literatura. A quitosana pode ser utilizada como adsorvente de corantes devido à presença de grupos amino e hidroxila, os quais servem como sítios ativos, fornecendo elevadas taxas de remoção (WAN NGAH et al., 2011). Normalmente, para fins de adsorção, a quitosana é utilizada na forma de pó, o que acarreta em desvantagens, como por exemplo, baixos valores de área superficial, baixa porosidade e dificuldade de separação ao final do processo (CRINI; BADOT, 2008). Essas características dificultam a difusão do corante na superfície da estrutura da quitosana, limitando o acesso aos sítios internos de adsorção (RUTHVEN, 1984). Para melhorar o desempenho da quitosana como adsorvente o desenvolvimento de uma microestrutura porosa a base de quitosana é uma alternativa interessante (MIRMOHSENI et al., 2012).

A alta hidrofiliçidade da quitosana, também permite sua utilização como biomaterial na forma de micro e nanopartículas, em diversas aplicações como, por exemplo, agente encapsulante. A quitosana pode ser utilizada para preparar cápsulas com diferentes propósitos, de formas e tamanhos variados (LARANJEIRA; FAVERE, 2009). Na indústria de alimentos, a produção de cápsulas lipídicas é interessante, pois os efeitos da encapsulação estão intimamente relacionados com as funções e propriedades dos lipídios. O óleo de pescado, por exemplo, possui grande quantidade de nutrientes essenciais para a saúde humana. Entretanto, a produção de alimentos enriquecidos com lipídios é tarefa difícil, devido a sua sensibilidade a degradação oxidativa, o que resulta em perda de atividade (MATSUNO; ADACHI, 1993). O encapsulamento possibilita retardar a oxidação dos ácidos graxos em um meio aquoso, aprisionando-os dentro de partículas que podem imobilizá-lo e protegê-lo de agentes oxidantes. O aprisionamento e encapsulamento destes lipídios pode proporcionar proteção contra a degradação por oxidação e reações enzimáticas durante a produção e vida útil, impedindo assim a perda do valor metabólico (ZIMET; LIVNEY, 2009). Neste contexto, a elaboração de microestruturas de quitosana, para aplicação em processos de adsorção de corantes alimentícios e utilização como material de revestimento para cápsulas de concentrado de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo pescado, é um estudo relevante.

2. JUSTIFICATIVA

A cidade de Rio Grande é um polo pesqueiro que produz grande quantidade de resíduos devido à industrialização de seus produtos, sendo, portanto, necessário o aproveitamento e a reutilização destes, a fim de diminuir os impactos ambientais. A industrialização do camarão, por exemplo, gera grandes quantidades de resíduos, devido principalmente à falta de reconhecimento deste recurso como matéria-prima e fonte para outros produtos. De acordo com o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), entre 1999 e 2009 o desembarque médio de camarão no estado do Rio Grande do Sul foi de 3600 toneladas por ano, onde cerca de 60% do peso total do camarão são resíduos e 7% destes constituem-se de quitina.

Os resíduos produzidos pelas indústrias pesqueiras acabam muitas vezes se tornando um sério problema ambiental, podendo gerar potenciais fontes poluidoras de recursos hídricos, do solo e do ar. A conversão do material residual do camarão e aproveitamento destes para a obtenção de quitosana pode trazer além de vantagens econômicas, a redução do problema de eliminação de resíduos e poluentes deste gênero.

A quitosana recebe interesse mundial, pois além de ser obtida de recursos naturais renováveis, é reproduzível, biodegradável e não tóxica, podendo ser utilizada em vários setores da indústria. Entre as aplicações de quitosana, está a remoção de coloração de efluentes pelo processo de adsorção. O uso de quitosana como adsorvente de corantes é justificado por diversos fatores, dentre os principais: matéria-prima de baixo custo e renovável, utilização satisfatória em relação a custo-benefício do processo; alta capacidade de adsorção e elevada afinidade com muitas variedades de corantes. Além disso, outra aplicação da quitosana que vem ganhando destaque é sua utilização como agente encapsulante para micro e nanocápsulas lipídicas. O uso da quitosana como agente encapsulante é justificado pelas suas características satisfatórias

como mucoadesividade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades formadoras de filme.

A região Sul do Brasil contribui com a maior parcela da produção de pescado nacional (32,9%), sendo a carpa uma das espécies mais representativas da piscicultura. Considerando-se a parte lipídica das nanocápsulas, o óleo de peixado normalmente apresenta maior quantidade de ácidos graxos insaturados (ω -3) do que os óleos de sementes ou microalgas, tornando-se um produto valioso como matéria-prima para obtenção de concentrados de AGIs. Esses concentrados podem ser obtidos a partir de resíduos do processamento de carpa, tais como cabeças, peles e vísceras.

A Universidade Federal do Rio Grande (FURG) é um dos mais importantes centros de estudos multidisciplinares sobre ecossistemas costeiros do Brasil e América do Sul. Devido à sua localização geográfica desenvolve inúmeros projetos de pesquisas relacionados à valoração de recursos hidrobiológicos, como é o caso da obtenção de quitosana e do óleo de peixe.

Neste contexto, é desejável o uso dos conhecimentos da Engenharia e Ciência de Alimentos a fim de utilizar uma matéria-prima renovável e disponível na região, para a produção de microestruturas de quitosana para utilização como adsorvente de corantes alimentícios e como agente encapsulante de concentrados de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo de carpa (*Cyprinus carpio*).

2.1. Histórico do Laboratório

O Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos (LOU/EQA/FURG) possui as linhas de pesquisa de Secagem de Alimentos e de Valoração de Recursos Hidrobiológicos, onde são realizadas pesquisas com diferentes matérias-primas de importância para a região, como é o caso de resíduos das indústrias pesqueiras locais, com apresentação de trabalhos em congressos e publicações em periódicos científicos.

O estudo da quitosana possui três diferentes frentes no LOU. A primeira linha iniciou-se em 1996 com os estudos de obtenção e otimização do processo em bancada, sendo ampliado para escala piloto em 2000. Uma segunda linha iniciou o estudo de secagem da quitosana, e em 2004 iniciaram-se pesquisas buscando avaliar a despolimerização química e a influência das condições de secagem sobre a sua massa molar. A terceira linha estuda, desde 2000, as aplicações da quitosana e da quitina,

visando especificamente o tratamento de efluentes com o uso da mesma como adsorvente. Em 2006 as pesquisas foram direcionadas para a obtenção de quitosana com características específicas para a produção de filmes biopoliméricos. Atualmente, as pesquisas continuam sendo realizadas com sua aplicação em filmes e como adsorvente de íons metálicos e de corantes da indústria alimentícia.

Estudos na área da extração e refino de óleo de pescados iniciaram em 1997 com o projeto Refino de Óleo de Pescado (CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), tendo continuidade até o presente. Foram estudados o fracionamento físico (1999) e awinterização (2000/2001). De 2002 a 2005 estudou-se o refino de óleos de pescados provenientes dos processos de silagem ácida e termomecânico de farinha. E de 2006 a até a data atual foram obtidos concentrados de ácidos graxos poli-insaturados de resíduos de diferentes espécies pescados, com ênfase na carpa (*Cyprinus carpio*).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi estudar a elaboração de microestruturas de quitosana, para utilização como adsorvente de corantes alimentícios e como agente encapsulante de concentrados de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo de carpa (*Cyprinus carpio*).

3.2. Objetivos Específicos

- Obter quitosana em pó a partir de resíduos de camarão e caracterizá-la;
- Produzir e caracterizar uma microestrutura porosa de quitosana para utilização como adsorvente de corantes alimentícios;
- Obter experimentalmente isotermas de adsorção de cinco corantes alimentícios pela microestrutura porosa de quitosana;
- Estimar os parâmetros termodinâmicos de adsorção;
- Obter e caracterizar os concentrados de ácidos graxos insaturados a partir de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*);
- Produzir microestrutura contendo nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados utilizando quitosana como agente encapsulante;
- Estudar o efeito do solvente na eficiência de encapsulação e na oxidação das nanocápsulas, e a influência do tempo de homogeneização no tamanho das nanocápsulas;
- Caracterizar as nanocápsulas obtidas (morfologia, distribuição de tamanho, grupamentos funcionais, composição elementar, índice de polidispersão, rendimento de processo e cor).

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Quitosana

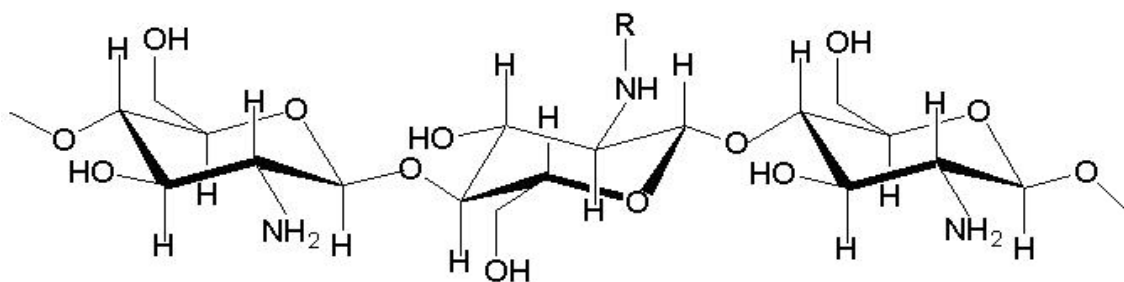
4.1.1. Aspectos químicos

A quitina (β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina) é o segundo polímero mais encontrado na natureza, vindo depois da celulose. A sua denominação deriva da palavra grega *chiton*, que significa revestimento protetor (SHAHIDI, 1999).

A quitina é constituída de unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose unidas por ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) que, quando desacetiladas, resultam na estrutura β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose, denominada quitosana (Figura 1) (WESKA et al., 2007). Embora a quitina e quitosana sejam consideradas biopolímeros distintos, o parâmetro grau de desacetilação (quantidade de monômeros desacetilados em suas cadeias) é que define a forma do biopolímero predominante. Quando o grau de desacetilação da quitina alcança valores de aproximadamente 50% (dependendo da origem do polímero), a mesma fica solúvel em meio aquoso ácido e é chamada de quitosana (RINAUDO, 2006).

A quitosana é uma poliamina linear que possui como principais grupos reativos: um grupo amino, bem como grupos hidroxila primários e secundários (SHAHIDI, 1999). Aos grupamentos amino disponíveis para reações químicas são atribuídas suas propriedades mais interessantes: tais grupamentos podem adquirir uma carga positiva em presença de soluções ácidas. Daí sua capacidade de solubilizar-se em ácidos orgânicos, o que constitui uma das principais características que a difere da quitina (PRASHANTH; THARANATHAN, 2007).

Figura 1: Estrutura química da quitosana



Fonte: Prashanth eTharanathan (2007).

A quitosana é insolúvel em água, ácidos concentrados inorgânicos, álcalis, álcool e acetona, sendo completamente solúvel em soluções de ácidos orgânicos, quando o pH da solução é menor que 6,0, como ácido fórmico, acético, tartárico e ácidos cítricos. Alguns ácidos inorgânicos diluídos, tais como ácido nítrico, perclórico ou fosfórico, podem ser utilizados para preparação de soluções de quitosana somente após prolongada agitação e aquecimento (CRAVEIRO et al., 1999).

No estado sólido, a quitosana é um polímero semicristalino. Do ponto de vista químico, a quitosana é um polímero de altamassa molar, sendo uma poliamina na qual os grupos amino estão disponíveis para reações químicas (preparação de derivados) e formação de sais com ácidos. Os grupos hidroxila C-6 (primário) e C-3 (secundário) também podem ser utilizados na preparação de derivados (RINAUDO et al., 2006). A quitosana comercial normalmente é utilizada na forma de pó ou flocos. Produtos de diferentes empresas diferem em pureza, forma, cor, grau de desacetilação, massa molar e cristalinidade (CRINI; BADOT, 2008).

4.1.2. Fontes e processo de obtenção

A quitosana é derivada da quitina presente nas carapaças dos crustáceos, nos exoesqueletos dos insetos e nas paredes celulares de fungos. As principais fontes naturais da quitina são os resíduos de camarão, siri e lagosta. A Figura 2 mostra importantes fontes da quitina e da quitosana (CRINI; BADOT, 2008).

Atualmente, os crustáceos são os maiores produtores de quitina disponível para o processo industrial. O seu conteúdo de quitina pode variar entre 2 a 12% (base úmida). As melhores fontes de quitina são oriundas do camarão, caranguejo, lagosta, ostras e lulas. A partir dessas matérias-primas, refugos abundantes e relativamente

baratos da indústria de alimentos marinhos, é produzida a α -quitina (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

Figura 2: Quadro com a ocorrência natural da quitina e da quitosana.

Animais Marinhos	Insetos	Microrganismos
• Anelídeos • Moluscos • Celenterados • Crustáceos • Lagosta • Siri • Camarão • Camarão graúdo • Krill	• Escorpião • Aranha • Brachiopodos • Formiga • Barata • Besouro	• Algas verdes • Levedura (tipo B) • Fungos (parede celular) • Mycelia Penicillium • Algas verdes e marrons • Esporos • Chytridiaceae • Blastocladiaceae • Ascomyces

Fonte: Adaptado de Campana-Filho et al. (2007).

O isolamento da quitina, normalmente envolve a execução de tratamentos químicos sequenciais destinados a eliminar as substâncias que a acompanham. A sua extração a partir dos exoesqueletos de crustáceos consiste na desmineralização, desproteinização, e remoção de pigmentos (etapa também de desodorização) (WESKA et al., 2007).

Soluções aquosas de diferentes ácidos podem ser empregadas na desmineralização, etapa na qual são eliminados os sais minerais, principalmente carbonato e fosfato de cálcio. O tratamento pode ser executado em diferentes condições, mas as condições vigorosas devem ser evitadas, pois provocam severa despolimerização e a consequente degradação das propriedades ligadas ao caráter macromolecular da quitina (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

As proteínas podem ser eliminadas por tratamento com soluções aquosas de diferentes bases. As condições reacionais devem ser brandas para evitar, ou minimizar, a ocorrência de hidrólise dos grupos acetamida presentes na quitina e também sua

despolimerização. A remoção dos pigmentos, quando presentes, pode ser feita por extração com solventes ou por branqueamento (CAMPANA-FILHO et al., 2007).

A obtenção da quitosana pode ser realizada enzimaticamente ou por desacetilação alcalina da quitina, sendo este último método o mais utilizado. Quando a quitosana é preparada pela N-desacetilação da quitina, são feitos tratamentos com soluções alcalinas concentradas a altas temperaturas. Dentre os fatores que controlam a taxa de desacetilação, a distribuição das unidades desacetiladas ao longo da cadeia e a massa molar podem ser citados a concentração alcalina, a relação entre quantidade de solução e quantidade de quitina, o tempo e a temperatura como os mais importantes (KNORR, 1991; PILLAI, et al., 2009; MENDES, et al., 2011).

Durante o curso da desacetilação, parte das ligações N-acetil do polímero são rompidas com a formação de unidades de D-glucosamina que contém um grupo amínico livre, aumentando a solubilidade do polímero em meios aquosos (PRASHANTH; THARANATHAN, 2007). Após a desacetilação, o polímero já é considerado quitosana, e geralmente passa por um processo de purificação para diminuir o conteúdo de cinzas e consequentemente concentrar a quitosana (WESKA et al., 2007).

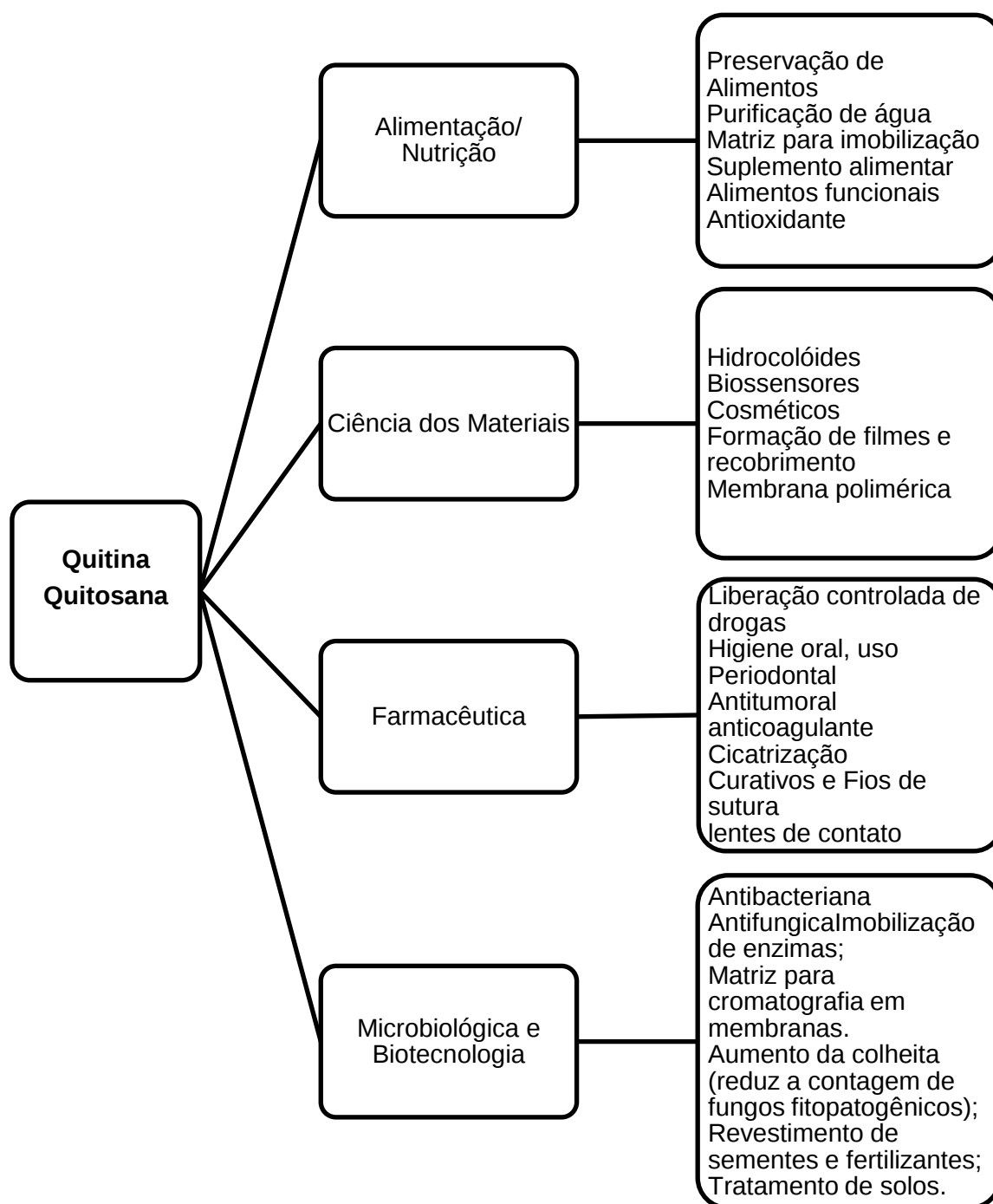
4.1.3. Propriedades e aplicações

A partir da década de 70, as aplicações e a produção industrial da quitosana sofreram um elevado crescimento. No Japão, a produção de quitosana cresceu 37% ao ano, entre 1978 e 1983. Atualmente, as maiores aplicações da quitosana estão centralizadas na purificação de água e no processamento de alimentos. A tendência atual, para as aplicações industriais, é para produtos de alto valor tecnológico agregado, como cosméticos, agentes de liberação de fármacos no organismo, aditivos alimentares, membranas semipermeáveis, filmes poliméricos e produtos farmacêuticos. Também têm sido relatado o grande potencial da quitosana em tratamento de efluentes e em biotecnologia (CRAVEIRO et al., 1999; CRINI; BADOT, 2008).

A quitosana pode se dissolver facilmente em soluções de ácidos fracos diluídos, devido à protonação de seus grupos amino. Dentre os solventes utilizados pode-se citar o ácido acético como o mais empregado. A alta hidrofiliabilidade da quitosana, devido ao grande número de grupos hidroxila e grupos amino presentes na cadeia polimérica, permite sua utilização como biomaterial na forma de micro e nanopartículas, gel e membrana em diversas aplicações, como veículo de liberação de

fármacos, bandagens, géis injetáveis, membranas periodontais, etc (LARANJEIRA; FAVERE, 2009). A Figura 3 apresenta as aplicações da quitosana em várias áreas de estudo.

Figura 3: Aplicações da quitosana em várias áreas de estudo.



Fonte: Adaptado de Prashanth Tharanathan (2007).

Além disso, nas aplicações da indústria alimentícia, a quitosana recebe interesse mundial, pois além de ser obtida de recursos naturais renováveis, é biologicamente reprodutível, biodegradável, biocompatível, não tóxica e com função biológica. Na indústria de alimentos é aplicada como antioxidante, agente antimicrobiano, proporciona a recuperação de proteínas solúveis e pode ser utilizada como revestimento comestível (KLAYPRADIT et al., 2007). Uma das suas vantagens mais interessantes é a de poder ser modificada fisicamente, apresentando diferentes formas e estruturas (GONSALVES et al., 2009). Nesse contexto, a sua modificação para utilização como adsorvente e agente encapsulante é interessante.

4.1.4. Caracterização da quitosana

Durante o processo de obtenção da quitosana pode-se obter polímeros com diferentes características. Variações nas propriedades físicas de materiais obtidos a base de quitosana podem ser atribuídos a parâmetros como massa molar (MM) e grau de desacetilação (GD). Esses parâmetros estão associados à forma de obtenção do polímero, origem, modo de preparação material, temperatura e tempo de secagem entre outros e são muito importantes porque controlam o poder de inchamento, as propriedades de difusão da quitosana e também podem influenciar as suas características. A literatura apresenta que dentro da faixa de GD (60 a 80%) e M_V (150 a 450 kgkmol⁻¹), o comportamento da quitosana é o mais adequado para obtenção de materiais a base de quitosana devido a sua melhor possibilidade de modulação (CRINI; BADOT, 2008, DOTTO et al., 2013, TAKAHASHI, 2007).

4.1.4.1. Massa Molar

Uma característica importante na caracterização da quitosana é a massa molar. Como a quitosana tem capacidade de formar soluções viscosas em um curto período de tempo, pode-se utilizar o método viscosimétrico para a determinação da massa molar média da quitosana. A viscosidade de uma solução de polieletrólito pode ser descrita como função de sua viscosidade intrínseca e de sua concentração, caso não ocorram interações entre as moléculas (sistema diluído). Neste caso, a equação de Huggins (Equação 1) pode ser convertida na equação de Mark-Houwling-Sakurada

(Equação 2) (ALSARRA et al., 2002, ROBERTS; DOMSZY, 1982, CRINI; BADOT, 2008, KUMAR, 2000).

$$\frac{\eta_{SP}}{c} = [\eta] + k.[\eta]^2.c \quad (1)$$

$$[\eta] = K. (MM)^a \quad (2)$$

4.4.1.2. Grau de desacetilação

A caracterização de uma amostra de quitosana exige a determinação do seu grau de desacetilação médio (GD). Várias técnicas tem sido propostas, como por exemplo a titulação potenciométrica (RUSU-BALAITA et al., 2003), a espectroscopia de ultravioleta (WU; ZIVANOVIC, 2008) e análise de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) (PILLAI et al., 2009). A escolha da técnica depende de vários fatores, como: processo de purificação, solubilidade da amostra e disponibilidade de equipamento (RINAUDO, 2006).

A análise de FT-IR identifica os grupamentos funcionais presentes na quitosana. As amostras são submetidas à determinação espectroscópica na região do infravermelho (450-4500 nm) usando a técnica de refletância difusa em brometo de potássio. O grau de desacetilação da amostra de quitosana é calculado de acordo com a Equação 3 (PILLAI et al., 2009):

$$GD (\%) = 87,8 - \frac{A_{C=O}}{A_{-OH}} \quad (3)$$

4.2. Quitosana como adsorvente de corantes alimentícios

Muitas indústrias utilizam corantes e pigmentos para melhorar as características sensoriais dos seus produtos uma vez que a cor é uma propriedade que torna os produtos alimentícios visualmente atraentes (PRADO; GODOY, 2003). Existem três categorias de corantes permitidas pela legislação para uso em alimentos, os corantes naturais, o corante caramelo e os corantes artificiais.

Segundo o artigo 10 do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965 (ANVISA, 1997), considera-se corante natural, o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal. O corante caramelo é o produto obtido a partir de açúcares pelo aquecimento a temperatura superior ao seu ponto de fusão. O corante artificial é a substância obtida por processo de síntese (com composição química definida). Os corantes artificiais são substâncias químicas orgânicas complexas que foram originalmente derivados do alcatrão de carvão. As indústrias alimentícias passaram a utilizá-los por serem mais baratos, mais estáveis, e mais brilhantes do que a maioria dos corantes naturais (KOBYLEWSKI; JACOBSON, 2010).

Dentreos corantes artificiais permitidos no Brasil pode-se citar: o amarelo crepúsculo, azul brilhante FCF, amaranto, eritrosina, indigotina, *ponceau* 4R, tartrazina e o vermelho 40 (CONSTANT et al., 2002). A utilização de corantes artificiais é um dos avanços mais polêmicos da indústria de alimentos, já que seu uso em muitos alimentos justifica-se apenas por questões de hábitos alimentares. Vários estudos têm sido realizados para verificar os efeitos nocivos dos corantes artificiais a saúde humana (PRADO; GODOY, 2003). A Tabela 1 apresenta a origem dos corantes artificiais permitidos pela legislação brasileira e os efeitos que estes podem exercer na saúde.

Estes corantes são caracterizados por uma baixa taxa de fixação, portanto, uma considerável parcela destes é descartada nos efluentes industriais. A disposição ambiental de efluentes contaminados com corantes muitas vezes leva a coloração dos corpos d'água. A coloração de efluentes é esteticamente inaceitável e também afeta o ecossistema aquático, reduzindo a solubilidade do oxigênio e interferindo no metabolismo fotossintético. Além disso, alguns corantes sintéticos podem causar riscos à saúde humana, sendo tóxicos, cancerígenos e mutagênicos (KOPRIVANAC; KUSIC, 2008).

Pesquisadores têm investigado a quitosana como adsorvente para a captura de corantes dissolvidos em meio aquoso. Esse polímero natural possui diversas características que o tornam um adsorvente eficaz para a remoção de cor. Seu uso é justificado por vantagens importantes: seu baixo custo em relação ao carvão ativado comercial, capacidade de se ligar firmemente aos poluentes, versatilidade, alta eficiência e cinética rápida (CRINI; BADOT, 2008).

Tabela 1: Origem e efeitos adversos de alguns corantes artificiais permitidos pela Legislação Brasileira.

Corante	Origem	Efeitos adversos
Amarelo crepúsculo	Sintetizado da tinta do alcatrão de carvão e tintas azóicas	Alergia, urticária, angiodema e problemas gástricos.
Azul Brilhante	Sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão	Hiperatividade em crianças, eczema e asma.
Vermelho Bordeaux	Sintetizado a partir do alcatrão de carvão	Deve ser evitado por sensíveis à aspirina. Proibido em vários países
Eritrosina	Tinta do alcatrão de carvão	Pode ser foto tóxico. Contém 557 mg de iodo por grama de produto. Consumo excessivo pode causar aumento de hormônio tireoidiano no sangue em níveis para ocasionar o hipertireoidismo.
Indigotina	Tinta do alcatrão de carvão	Náuseas, vômitos, hipertensão e ocasionalmente alergia, com prurido e problemas respiratórios.
<i>Ponceau 4R</i>	Tinta do alcatrão de carvão	Deve ser evitado por pessoas com sensibilidade à aspirina e asmáticos. Podem causar anemia e aumento da incidência de glomerulonefrite (doença renal)
Amarelo Tartrazina	Tinta do alcatrão de carvão	Reações alérgicas em pessoas sensíveis a aspirina e asmáticos. Recentemente tem-se sugerido que a tartrazina em preparados de frutas causa insônia em crianças. Há relatos de casos de afecção da flora gastrointestinal.
Vermelho	Sintetizado	Pode causar hiperatividade em crianças,

n° 40	quimicamente	eczema e dificuldades respiratórias.
-------	--------------	--------------------------------------

Fonte: Furtado (2003).

As principais características da quitosana que podem afetar suas propriedades como adsorvente são o grau de desacetilação, a cristalinidade e a porosidade. O grau de desacetilação controla os grupos amina livres que estarão disponíveis para interação. Além disso, a cristalinidade do polímero pode controlar a acessibilidade aos sítios de adsorção. Um processo conveniente para diminuir a cristalinidade do polímero consiste em uma dissolução da quitosana seguido de uma secagem a frio da solução de polímero. A área superficial e volume de poros também são características importantes, pois baixos valores destas impedem a difusão do adsorbato no interior da estrutura do adsorvente e limitam o acesso aos sítios internos de adsorção (CRINI; BADOT, 2008; RUTHVEN, 1984; GUIBAL, 2004).

4.2.1. Adsorção

O termo adsorção refere-se a um fenômeno, no qual, moléculas presentes em um fluido são concentradas espontaneamente em uma superfície sólida (GUPTA; SUHAS, 2009). A adsorção pode ocorrer como um resultado de forças não balanceadas na superfície do sólido e que atraem as moléculas de um fluido em contato por um tempo finito (RUTHVEN, 1984). A adsorção é um dos métodos mais conhecidos para a remoção de corantes, devido ao seu baixo investimento inicial, fácil operação e a obtenção de um efluente tratado de alta qualidade (CRINI; BADOT, 2008).

Podem-se distinguir os fenômenos de adsorção quanto às forças responsáveis, em dois tipos: adsorção química e adsorção física. Se a atração entre a superfície sólida e as moléculas é de natureza física, é referida como fisiossorção. A adsorção física, que constitui o princípio da maioria dos processos de purificação e separação, é um fenômeno reversível onde se observa normalmente a deposição de mais de uma camada de adsorbato sobre a superfície adsorvente. Geralmente, na adsorção física as forças de atração entre as moléculas adsorvidas e a superfície sólida são forças de van der Waals, com uma natureza fraca, resultando em uma adsorção reversível. As energias liberadas são relativamente baixas e atinge rapidamente o equilíbrio (GUPTA; SUHAS, 2009, RUTHVEN, 1984). Na adsorção física nenhuma ligação é quebrada ou

formada, e a natureza química do adsorbato é, portanto, inalterada (FOUST et al., 1982).

Por outro lado, se as forças de atração são devido a ligações químicas, o processo é chamado quimiossorção. Na adsorção química ocorre efetiva troca de elétrons entre o sólido e a molécula adsorvida, ocasionando irreversibilidade e liberação de considerável quantidade de energia (GUPTA; SUHAS, 2009, RUTHVEN, 1984). O adsorbato sofre uma mudança química e é geralmente dissociado em fragmentos independentes, formando radicais e átomos ligados ao adsorvente (CIOLA, 1981).

A Tabela 2 apresenta as características gerais que distinguem a adsorção física da quimiossorção. Na adsorção física, a entalpia de adsorção para interações tais como forças de Wan der Waals é geralmente inferior a 20 kJ mol^{-1} e para interações eletrostáticas varia entre 20 a 80 kJ mol^{-1} . A entalpia de adsorção para processos que envolvem quimiossorção varia entre 80 e 450 kJ mol^{-1} (ALENCAR et al., 2012, MACHADO et al, 2012).

Tabela 2: Principais diferenças entre adsorção física e química.

Adsorção Física	Quimiossorção
- Baixo calor de adsorção (<2 ou 3 vezes o calor latente de evaporação) - Não específica - Adsorção em monocamada ou multicamadas. Nenhuma dissociação de espécies adsorvidas. Significativa apenas a temperaturas relativamente baixas - Rápida e reversível. - Sem transferência de elétrons, embora possa ocorrer polarização do sorbato.	- Alto calor de adsorção (>2 ou 3 vezes o calor latente de evaporação) - Alta especificidade - Somente adsorção em monocamadas. Pode envolver dissociação. Adsorção possível ao longo de uma ampla gama de temperaturas. - Pode ser lenta e irreversível. - Transferência de elétrons levando a formação de ligação entre o adsorvente e o adsorbato.

Fonte: Ruthven (1984).

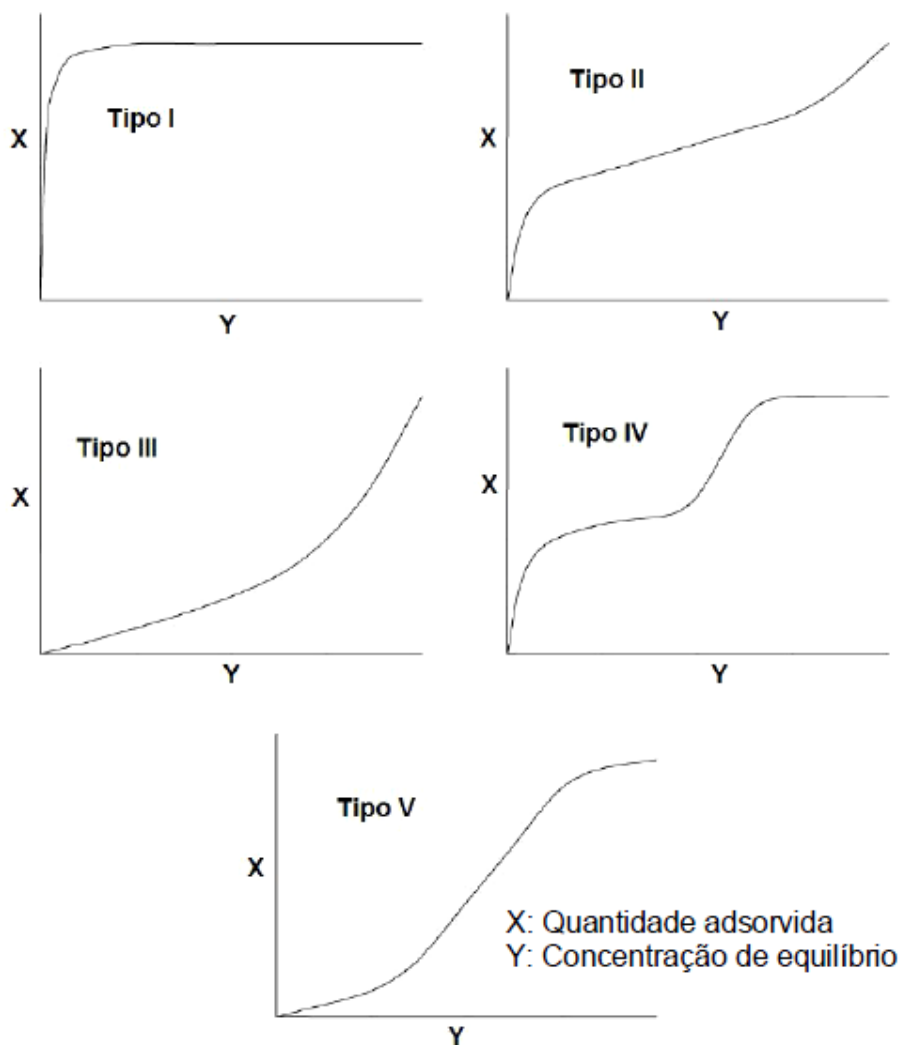
4.2.1.1. Isotermas de equilíbrio

Quando um adsorbato entra em contato com a superfície do adsorvente, as moléculas de adsorbato se ligam à superfície do adsorvente em quantidades que dependem, entre outros fatores, da sua concentração inicial. Pode ser gerado um gráfico da capacidade de adsorção pela concentração em uma temperatura fixa, cujo nome é isoterma de adsorção (BLAZQUEZ et al., 2010)

As isotermas de adsorção fornecem a relação entre o adsorvido e a quantidade remanescente na solução, em uma temperatura constante. Esta é fundamentalmente importante, uma vez que os estudos do equilíbrio fornecem a capacidade do adsorvente, e descrevem as isotermas de adsorção por constantes cujos valores expressam as propriedades de afinidade do adsorvente (CRINI; BADOT, 2008).

Blazquez et al. (2010) apresenta cinco tipos característicos de isotermas de adsorção em fase líquida, como mostrado na Figura 4. Segundo estes autores, a forma da isoterma depende do adsorvente, do adsorbato e das ligações intermoleculares entre os dois.

Figura 4: Isotermas características de sorção em fase líquida



Fonte: Adaptado de Blázquez et al. (2010).

As isothermas do tipo I apresentam um platô convexo, o qual está associado à formação de uma camada monomolecular em adsorventes não porosos ou microporosos. Os tipos II e III descrevem a adsorção em multicamadas geralmente em adsorventes macroporosos. Isothermas do tipo IV são relativas à adsorção em multicamadas via condensação em mesoporos. As curvas do tipo V descrevem comportamento similar ao tipo IV, considerando interações fortes e/ou fracas entre o adsorvente e o adsorbato (BLÁZQUEZ et al., 2010).

Para aperfeiçoar o *design* de um sistema de adsorção de corantes de soluções aquosas, é importante estabelecer a correlação mais adequada para a curva equilíbrio. Uma rigorosa descrição matemática da capacidade de equilíbrio de adsorção é indispensável para a confiabilidade das previsões dos parâmetros de adsorção, e para a comparação quantitativa do comportamento de adsorção para diferentes adsorventes (ou

para variadas condições experimentais) dentro de um determinado sistema. A distribuição das moléculas do corante entre a fase líquida e o adsorvente é uma medida da posição do equilíbrio no processo de adsorção e pode geralmente, ser expressa por um ou mais modelos de isoterma (CRINI; BADOT, 2008).

O modelo de isoterma de Langmuir assume que um adsorvente possui sítios específicos, homogêneos e energeticamente idênticos de adsorção, e prevê o recobrimento da monocamada na superfície do adsorvente. Dessa forma, quando uma molécula atinge determinado sítio nenhuma adsorção adicional pode ocorrer naquele local. A saturação da monocamada pode ser representada pela Equação 4 (GUIBAL, 2004):

$$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (4)$$

A fim de explicar a isoterma com adsorção em multicamadas com adsorventes porosos, Blazquez et al. (2010) desenvolveu um modelo matemático não linear obtido a partir da soma de duas isotermas do tipo Langmuir, considerando a existência de sítios de adsorção heterogêneos, onde cada etapa da curva representa diferentes (ou idênticos) tipos de sítios de adsorção com diferentes afinidades (ou disponibilidades). Na primeira etapa ocorre a saturação dos sítios com maior afinidade (ou maior disponibilidade ou acessibilidade) com o adsorbato, após, ocorre a ocupação dos locais com menor afinidade ou acessibilidade. Este modelo pode ser representado pela Equação 5:

$$q_e = \sum_{i=1}^n \frac{q_{mi} k_{Li} (C_e - C_{e,i})}{1 + k_{Li} C_e} \quad (5)$$

Para o cálculo da capacidade total de adsorção (q_m) utiliza-se a Equação 6 (BLÁZQUEZ et al., 2010):

$$q_m = \sum_{i=1}^n q_{mi} \quad (6)$$

4.2.1.2. Termodinâmica de adsorção

Os parâmetros de adsorção fornecem uma grande quantidade de informações sobre o tipo e o mecanismo do processo de adsorção. A termodinâmica de adsorção é determinada usando os coeficientes de equilíbrio termodinâmicos, obtidos a diferentes temperaturas e concentrações. As características de adsorção de um material podem ser expressas em parâmetros termodinâmicos como as variações da energia livre de Gibbs (ΔG^0), de entalpia (ΔH^0) e de entropia (ΔS^0) de adsorção. Estes valores indicam se o processo é espontâneo, e endotérmico ou exotérmico, e oferecem informações sobre a heterogeneidade do adsorvente (ELWAKEEL, 2009). A variação da energia livre de Gibbs, ΔG , é dada pela Equação 7:

$$\Delta G^0 = -RT \ln(\rho k_D) \quad (7)$$

Sendo, k_D a constante de equilíbrio termodinâmico, que pode ser obtida plotando C_e/q_e versus C_e e extrapolando C_e para zero.

Podemos utilizar a energia livre de Gibbs para escrever uma relação geral, onde esta corresponde a diferença entre a variação de entalpia de adsorção e a variação de entropia de adsorção, a uma temperatura constante, conforme está apresentado pela Equação 8:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (8)$$

Desta maneira, substituindo a Equação 7 na Equação 8, os parâmetros termodinâmicos ΔH^0 e ΔS^0 podem ser determinados através do gráfico de Van't Hoff's, ajustando os dados à Equação 9 e obtendo-se um coeficiente angular $\Delta H^0/RT$ e uma intercepção $\Delta S^0/R$ (ELWAKEEL, 2009):

$$\ln \rho k_D = \frac{\Delta S^0}{R} - \frac{\Delta H^0}{RT} \quad (9)$$

Segundo Crini e Badot (2008) a entalpia de adsorção para os processos que envolvem quimiossorção estão na ordem de -40 a -800 kJ mol^{-1} , enquanto que para a adsorção física estes valores são na grandeza de unidades.

4.3. Quitosana como agente encapsulante

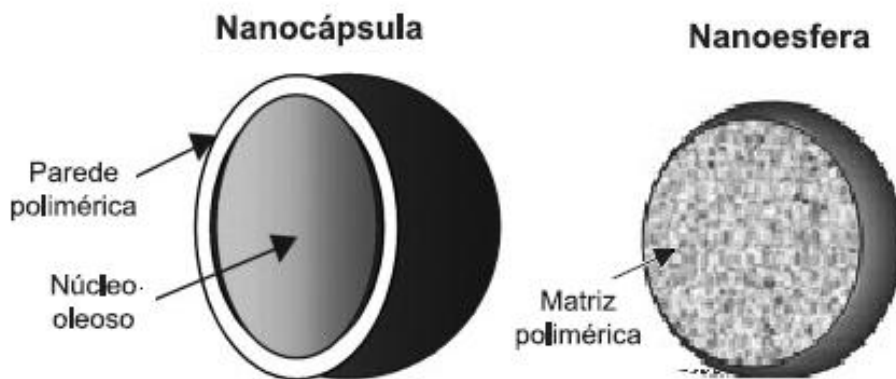
A quitosana tem características interessantes, tais como sensibilidade ao pH, biocompatibilidade e baixa toxicidade. Além disso, a quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, tornando-a biodegradável. Devido a estas propriedades favoráveis, o interesse da quitosana e seus derivados em aplicações de liberação de fármacos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos (LARANJEIRA; FAVERE, 2009).

Uma aplicação da quitosana na indústria farmacêutica e alimentícia é no preparo de cápsulas para diferentes propósitos, desde produção de cápsulas contendo antibióticos e antineoplásicos, a substâncias nutracêuticas (GONSALVES et al., 2009). Nanopartículas de quitosana têm sido desenvolvidas para encapsular proteínas, vacinas, agentes anticancerígenos, insulina, óleos e ácidos nucleicos (REIS et al., 2006). A principal razão para a utilização das cápsulas em tamanho nanométrico está relacionada com a elevada área superficial, resultando em intensa interação entre a matriz na qual estão inseridos e as nanopartículas (ASSIS et al., 2012).

4.3.1. Nanopartículas

As nanopartículas poliméricas podem ser sistemas carreadores de fármacos que apresentam diâmetro inferior a 1 μm . O termo nanopartículas inclui as nanocápsulas e as nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e organização estrutural (Figura 5). As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso. Por outro lado, as nanoesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Figura 5: Nanopartículas-Nanocápsula e Nanoesfera.



O tamanho das nanopartículas oferece uma série de vantagens sobre micropartículas, incluindo-se relativamente maior captação intracelular em comparação com micropartículas. Em termos de absorção intestinal, além de sua granulometria, a natureza e a carga de propriedades das nanopartículas influenciam a absorção por epitélio intestinal (REIS et al., 2006; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Na indústria de alimentos, o processo de encapsulação pode ser aplicado para uma variedade de razões. Encapsulamento é uma ferramenta útil para melhorar a disponibilidade de moléculas bioativas (por exemplo, antioxidantes, minerais, vitaminas, fitoesteróis e ácidos graxos) e células vivas (por exemplo, os probióticos) em alimentos. Na maioria dos casos, a encapsulação refere-se a uma tecnologia em que os componentes bioativos são completamente envoltos, cobertos e protegidos por uma barreira física, sem qualquer protuberância dos componentes bioativos. Além disso, o encapsulamento tem sido definido como uma tecnologia de embalagem de sólidos, líquidos, gases ou materiais em pequenas cápsulas que libertam o seu conteúdo a taxas controladas ao longo de períodos prolongados e em condições específicas (NEDOVIC et al., 2011).

A encapsulação foi originalmente introduzida na área da biotecnologia, para tornar os processos de produção mais eficientes. Tais tecnologias desenvolvidas cerca de 60 anos atrás, são de interesse significativo para a indústria farmacêutica, mas também tem relevância para a indústria alimentícia. Nos últimos anos, a indústria de alimentos exige a adição de compostos funcionais em produtos. Estes compostos são geralmente altamente susceptíveis à transformação, do ambiente e/ou as condições gastro-intestinais e, portanto, o nano encapsulamento impôs uma abordagem para a proteção eficaz desses alimentos enriquecidos (NEDOVIC et al., 2011).

4.3.2. Nanocápsulas lipídicas

Nanocápsulas lipídicas são sistemas coloidais transportadores que foram desenvolvidos para encapsular, proteger e distribuir componentes lipofílicos funcionais, tais como lipídios bioativos e drogas (ASSIS et al., 2012). A encapsulação pode ser definida como um processo para reter uma substância (agente ativo) dentro de outra (material de parede) (NEDOVIC et al., 2011).

Um dos métodos mais tradicionais para a produção das nanocápsulas é pela formação de nanoemulsões. Uma nanoemulsão consiste em uma dispersão muito fina, composta por uma fase de óleo e uma fase aquosa. As nanoemulsões não podem ser formadas espontaneamente, sendo necessária energia, geralmente a partir de dispositivos mecânicos ou a partir do potencial químico dos componentes. Normalmente para o preparo de nanoemulsões são necessários três componentes principais: uma fase aquosa, uma fase lipídica e um emulsionante ou surfactante. A fase lipídica e uma solução de surfactante aquoso são homogeneizadas, para produzir uma fina dispersão de uma emulsão de óleo em água (ASSIS et al., 2012).

Uma vez que um meio simples e conveniente de formação do encapsulamento foi desenvolvido, vários materiais de parede podem ser utilizados para determinar quais são os mais eficazes para encapsular um lipídio com as propriedades desejadas. Para isso o procedimento de encapsulação a ser utilizado deve ser considerado. O método de triagem tem dois passos: a emulsificação do lipídio em uma solução de material de parede, e uma rápida desidratação absorção (MATSUNO; ADACHI, 1993).

O material de parede adequado para utilização no presente método deve apresentar as seguintes propriedades:

- alta atividade emulsificante;
- alta estabilidade;
- os lipídios não devem separar-se da emulsão durante a desidratação;
- possuir tendência para formar uma rede, fina e densa, durante a secagem, para evitar a coalescência das partículas da emulsão que estão concentradas durante a secagem.

Os efeitos da encapsulação lipídica estão intimamente relacionados às funções e propriedades dos lipídios. Vários lipídios são nutrientes importantes. Os

ácidos graxos insaturados, tais como linolênico, linoleico e ácido araquidônico são nutrientes essenciais para os seres humanos.

As vantagens do encapsulamento lipídico estão resumidas abaixo.

- a auto-oxidação dos ácidos graxos insaturados (AGI) é retardada;
- a estabilidade melhorada permite a plena utilização dos AGI;
- o sabor amargo de substâncias lipossolúveis pode ser mascarado pela sua inclusão em uma cápsula;
- AGI encapsulados podem funcionar como transportadores para substâncias lipossolúveis fisiologicamente ativas, da boca para o trato intestinal. As cápsulas protegem as substâncias dissolvidas contra hidrólise enzimática antes de atingir a membrana do intestino, e servem como mediadoras de absorção (MATSUNO; ADACHI, 1993).

Devido à sensibilidade dos AGI a degradação oxidativa, a produção de alimentos enriquecidos com concentrados de AGI obtidos a partir de óleo de pescado se torna uma tarefa difícil. O encapsulamento destes concentrados utilizando um polímero (por exemplo a quitosana) como material encapsulante surge como uma alternativa para retardar a oxidação e impedir a perda do valor metabólico (ZIMET e LIVNEY, 2009).

4.3.2.1. Óleo de pescado

Os problemas para a saúde humana associados à ingestão excessiva de gordura na dieta são bem conhecidos. Dentre eles pode-se citar obesidade, resistência à insulina, doenças cardíacas e algumas formas de câncer. Atualmente, tem sido dada importância às fontes de fornecimento de ácidos graxos insaturados devido às mudanças na dieta humana e o aparecimento de doenças relacionadas ao baixo consumo destes compostos, bem como a sua reconhecida significância terapêutica, especialmente àqueles da família ômega-3. As fontes de ácidos graxos podem ser variadas, dentre elas pode-se citar animais e vegetais, tanto terrestres quanto aquáticas (DERNER et al., 2006), um exemplo de fonte de fornecimento de AGI é o pescado (CREXI et al., 2010).

Uma das principais vantagens nutricionais da ingestão de pescado, sobretudo aqueles de águas frias (como por exemplo a carpa), é o alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega-3, cujo consumo está intimamente relacionado a ação anti-inflamatória, prevenção de doenças cardiovasculares, regeneração de neurônios e desenvolvimento cerebral. O ômega-3 reduz o risco de Alzheimer,

demência e cansaço mental; contribui no tratamento da depressão, ansiedade e alterações no sono e diminui os níveis sanguíneos de colesterol total, colesterol ruim (LDL), aumentando a produção do colesterol bom (HDL) (SEBRAE, 2010).

Infelizmente, o consumo per capita de pescado no Brasil é extremamente baixo. Dados oficiais o estimam em 9 kg/per capita/ano em 2010, ficando a baixo do recomendado de 12 kg/per capita/ano (SEBRAE, 2010). Assim, para o desenvolvimento e manutenção das funções do sistema nervoso central, uma dieta rica em ácidos graxos insaturados é de vital importância (KOLANOWSKI et al., 2006).

Os óleos de pescado são compostos pelos ácidos graxos essenciais eicosapentaenoico (EPA, C20: 5n-3) e docosaexaenoico (DHA, C22: 6n-3). Ambos EPA e DHA caem em uma categoria ainda maior de ácidos graxos insaturados (AGI). Comparado com gorduras saturadas, ácidos graxos insaturados são mais facilmente utilizados para produção de energia quando ingeridos. Aumento do grau de insaturação numa dada extensão da cadeia de carbono aumenta a mobilidade relativa de gordura armazenada, tornando os AGI mais disponíveis ao organismo. O óleo de pescado diminui a produção de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e triglicerídeos, devido à inibição da síntese dos triglicerídeos hepáticos (STORLIEN et al., 2000).

Algumas propriedades químicas definidas abaixo são bastante importantes quando se trabalha com óleos.

Índice de acidez: é o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessários para neutralizar os ácidos graxos livres de um grama de gordura ou óleo. A acidez livre de um óleo ou gordura decorre da hidrólise parcial dos glicerídeos, por isso não é constante, é uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria prima, com a qualidade e o grau de pureza do óleo ou gordura, com o processamento e principalmente com as condições de conservação.

Índice de peróxido: este valor indica os estados de oxidação dos lipídios. É muito importante por definir a deterioração dos lipídios, principalmente pela presença de compostos de baixamassa molar provenientes da degradação, por exemplo, aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos. Estes compostos são os responsáveis pelo sabor e odor característicos de produtos rançosos.

No seu estado bruto, o óleo de pescado pode apresentar impurezas e compostos como ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, fosfatídeos e produtos de oxidação lipídica, que o tornam inadequado para o consumo humano. Dessa maneira, os óleos brutos requerem refino para satisfazer os padrões de qualidade para a produção de

óleos e gerar produtos aceitáveis para o consumo humano. O óleo de pescado pode ser obtido a partir do processo de ensilagem ácida, através da acidificação dos resíduos de pescado ou pela elaboração tradicional de farinha, sendo este submetido a processos termomecânicos. Quando o óleo bruto é obtido de resíduos de pescado (cabeças, vísceras e outros) pelo método termomecânico, é necessária uma etapa de cocção para favorecer a coagulação das proteínas e consequentemente a ruptura da membrana celular, gerando a liberação do óleo e água que estavam fisiologicamente ligados. (CREXI et al., 2009).

O processo em que o óleo bruto é submetido para a realização de seu refino não altera o conteúdo dos ácidos graxos dos triacilgliceróis. A purificação do óleo bruto através do refino é composta principalmente pelas etapas de degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização (CREXI et al., 2010).

Na degomagem, os fosfolipídios, também chamados de gomas, são os principais compostos entre os componentes menores que fazem parte do óleo bruto a ser retirados. Isso ocorre através da separação dos fosfolipídios hidratáveis e dos não hidratáveis, uma vez que estes se tornam insolúveis no óleo e se decompõe. Devido à acidez proveniente da matéria-prima e a adição de soluções salinas ou ácidas, é necessário à neutralização destes compostos. Neste processo os ácidos graxos livres combinados com álcali formam sabões. Apesar do processo de degomagem remover certa quantidade de corantes presentes no óleo, ele não deixa o óleo completamente límpido. Por isso se faz necessário uma etapa de branqueamento. Para um melhor desempenho da etapa de branqueamento é recomendado que o óleo seja seco, apresentando uma umidade em torno de 0,1%. O branqueamento promove a remoção ou destruição dos pigmentos do óleo (CREXI et al., 2010).

Em vista do grande potencial que o mercado proporciona em suplementos alimentares de ácidos graxos insaturados e de produtos nos quais estes ácidos são incorporados, pesquisas voltadas a esta área tem relatado métodos visando à obtenção destes concentrados. O óleo de pescado por constituir uma importante fonte de ácidos graxos poli-insaturados é usado preferencialmente como matéria-prima para preparar concentrados de ácidos graxos mono (AGMIs) e poli-insaturados (AGPIs) (CREXI et al., 2010, PAIM, 2012). O Quadro A1 do APÊNDICE 1 apresenta os principais benefícios à saúde proporcionados pela ingestão de concentrados de AGI obtidos a partir de óleo de pescado.

A piscicultura é a principal forma de aquicultura e envolve a criação de peixes comercialmente em tanques ou recintos próprios para alimentá-los. As espécies de peixes mais comuns encontradas em fazendas de pescado são: salmão, bagre, tilápia e carpa. A piscicultura oferece uma solução alternativa para o aumento da demanda produtos e subprodutos de pescado (SEBRAE, 2010).

Diante dos inúmeros benefícios que os pescados podem trazer à saúde, associados à crescente preocupação com uma alimentação correta e saudável, o seu consumo tende a crescer entre a população. Em 2010, a Região Sul assinalou a maior produção de pescado do país, com 133.425,1 t, correspondendo por 33,8% da produção nacional nesta modalidade. A análise da produção nacional de pescado para o ano de 2010 demonstrou que o estado do Rio Grande do Sul continua sendo o maior polo produtor de pescado do Brasil. A carpa e a tilápia foram as espécies mais cultivadas, as quais somadas representaram 63,4% da produção nacional de pescado desta modalidade (IBAMA, 2010).

As espécies de carpas (Figura A1 do APÊNDICE 3) são o grupo de peixes de água doce mais cultivados. Sua tolerância a grandes diferenças químicas e de temperatura, facilidade de gerenciamento, e taxas de crescimento elevadas, fez delas um dos programas favoritos de desenvolvimento da pesca em todo o mundo (KESTEMONT, 1995). A carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Figura 6) é uma das mais antigas espécies de pescado domesticadas utilizadas na alimentação humana. Ela também pode ser conhecida como carpa espelho, carpa couro, koi, e carpa israelense. A carpa comum é facilmente identificada por dois pares de barbatanas em cada um dos lados da parte superior da mandíbula. Estes pescados se apresentam na cores bronze, cobre ou amarelo e tem dorso serrilhado e espinhos da nadadeira anal. A maioria destes pescados tem massa variando entre 0,45 e 4,5 kg e comprimento de 0,3 a 0,7 m (FLAJŠHANS; HULATA, 2007).

A carpa é um peixe de hábito alimentar onívoro, com alta tendência para o consumo de organismos bentônicos, como insetos aquáticos, larvas de insetos, vermes, moluscos, e zooplâncton. Possui elevada resistência às condições adversas do meio e às enfermidades, além de possuir uma carne com elevada aceitabilidade no mercado (FLAJŠHANS; HULATA, 2007).

Figura 6: Carpa comum (*Cyprinus carpio*).



Fonte: Flajšhanse Hulata(2007).

4.3.3. Secagem de Nanocápsulas

Para o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas existe a dificuldade de incorporar fármacos, o que exige o desenvolvimento de formulações, e o estudo da estabilidade química e física em longo prazo, uma vez que estas são preparadas em meio líquido. Agregação e fusão das partículas dos vetores podem ocorrer após um longo período de estocagem (DE JAEGHERE et al., 1999), além de degradação dos constituintes da formulação e contaminação microbiana.

As suspensões coloidais normalmente não possuem tendência à separação de fases, no entanto, com o tempo, pode ocorrer a aglomeração das partículas e, conseqüentemente, a sedimentação. A aplicabilidade industrial de nanopartículas dispersas em meio aquoso pode ser limitada, devido aos problemas de baixa estabilidade físico-química, em períodos de armazenamento prolongados. As principais limitações são a agregação das partículas, a estabilidade química do polímero, do fármaco ou de outras matérias-primas e, ainda, a liberação prematura da substância ativa (SCHAFFAZICK et al., 2003).

Tendo em vista que estes problemas físico-químicos e microbiológicos possam ser retardados ou evitados através de uma operação de secagem, vêm crescendo o interesse pelo desenvolvimento de formas sólidas (como microestruturas) para as nanocápsulas, ampliando as perspectivas para a utilização destes sistemas carreadores de fármacos (SCHAFFAZICK et al., 2003).

O estudo de secagem refere-se à remoção de água e outros líquidos ou solventes orgânicos de materiais sólidos. A secagem ou desidratação de materiais biológicos se usa também como uma técnica de preservação. Os microrganismos que provocam a decomposição dos alimentos não podem crescer e multiplicar-se em ausência de água. Os microrganismos tem sua atividade diminuída quando o conteúdo

de água se reduz a menos que 10 g/100g (base úmida, b.u.). Porém, geralmente é necessário reduzir este conteúdo de umidade para cerca de 5 g/100g (b.u.) para preservar o valor nutritivo. Materiais secos podem ser armazenados por grandes períodos de tempo sem perda de suas características (GEANKOPLIS, 1998).

A desidratação das suspensões de nanopartículas tem sido realizada através das operações de sublimação (liofilização) ou de aspersão (spray-drying) (SCHAFFAZICK et al., 2003).

4.3.3.1 Liofilização

Alguns produtos alimentícios, farmacêuticos e biológicos que não devem ser expostos a altas temperaturas em uma secagem convencional, podem ser secos por liofilização. Em geral, o material a ser seco é exposto a um ambiente muito frio (GEANKOPLIS, 1998).

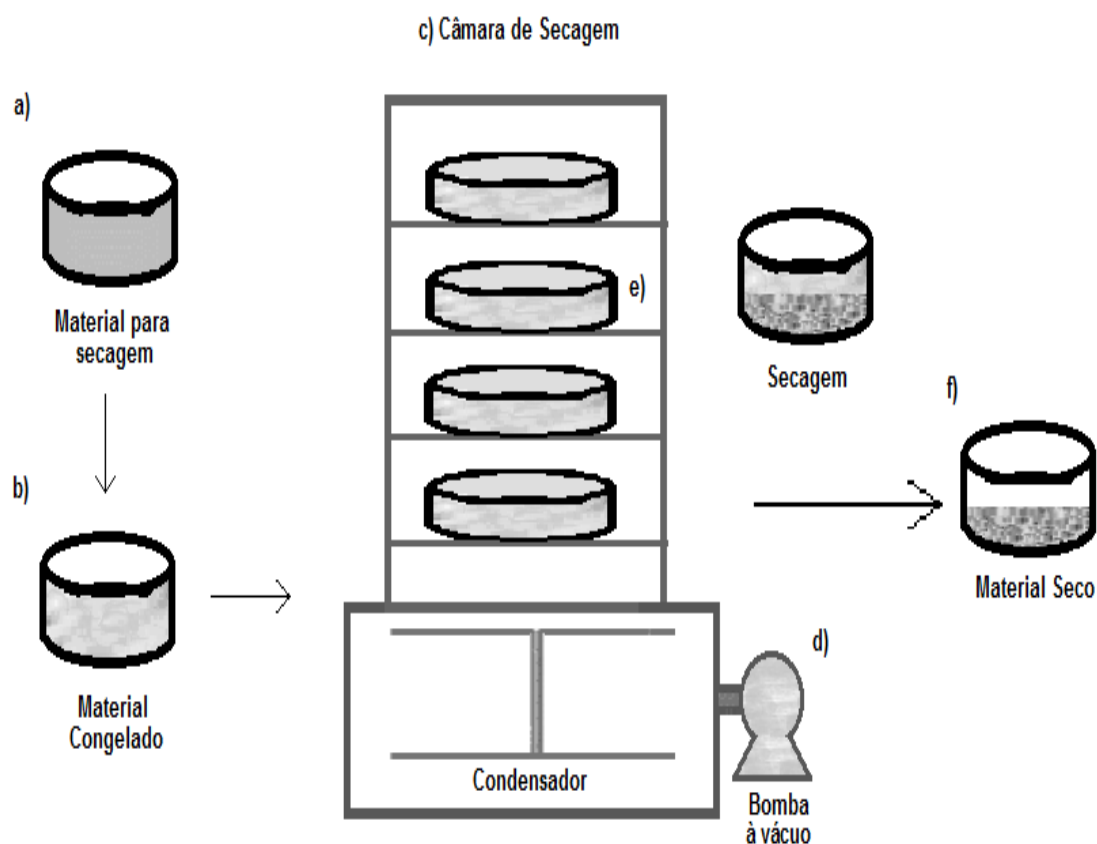
A liofilização consiste na remoção da água (gelo) através de sublimação e tem sido amplamente empregada para a secagem de suspensões de nanoesferas. Entretanto, no caso das suspensões de nanocápsulas, poucos trabalhos, utilizando esta operação, têm sido desenvolvidos (SCHAFFAZICK et al. 2003). A liofilização nada mais é que um processo de secagem por congelamento e sublimação do gelo sob vácuo, que transforma a água sólida diretamente em vapor. O congelamento é considerado o ponto mais importante do processo (BOSS et al. 2004). Depois que a umidade se sublima como vapor, este pode ser extraído com bombas de vácuo mecânicas ou com ejetores de vapor (GEANKOPLIS, 1998).

Segundo Reis et al. (2006) a liofilização pode ser um processo altamente estabilizador. É geralmente aplicada para melhorar a estabilidade físico-química das nanopartículas para conseguir um produto industrialmente aceitável, especialmente nos casos em que as condições de armazenamento são desfavoráveis. Esta técnica envolve o congelamento da suspensão e subsequente eliminação do seu conteúdo de água por sublimação sob pressão reduzida.

Finalmente, as estruturas obtidas podem ser armazenadas em frascos fechados à temperatura ambiente, ou num dessecador de laboratório, ou mesmo na geladeira, especialmente para as drogas sensíveis à temperatura (REIS et al., 2006).

O esquema do equipamento e a evolução da secagem estão representados na Figura 7.

Figura 7: Esquema do liofilizador e secagem.



A Figura 7 mostra que inicialmente: (a) o material contendo a emulsão e nanocápsulas é adicionado a uma bandeja. A primeira etapa do processo (b) é o congelamento do produto a ser seco em baixas temperaturas. Ele pode ser inserido congelado na câmara de secagem (c) ou pode ser congelado na própria prateleira dependendo do equipamento. A segunda etapa (e) é a secagem. O vácuo (d) é iniciado e o gelo é sublimado por pressão reduzida. À medida que o gelo sublima, a amostra fica porosa. O vapor originado na interface atravessa o material seco na câmara de liofilização e é condensado abaixo da câmara de secagem, no condensador. E por último, a segunda secagem na qual é retirada a água residual adsorvida ao pó obtendo-se o material seco. A agregação das nanopartículas após a liofilização se deve ao maior contato destas partículas durante o congelamento (estado sólido), e em alguns casos elas podem se fundir. A quebra e modificações na morfologia das partículas podem ocorrer devido a baixas temperaturas empregadas para o congelamento das mesmas e também

pela formação de cristais de gelo que podem provocar um estresse mecânico na partícula (BOSS et al., 2004).

Por regra geral, a liofilização dá lugar a produtos alimentícios e farmacêuticos de mais alta qualidade que com qualquer outro método de secagem. O principal fator para que isto ocorra é a rigidez estrutural que se preserva na substância congelada quando acontece a sublimação. Isto evita o colapso da estrutura porosa depois de seca. As temperaturas baixas que são utilizadas reduzem ao mínimo as reações de degradação que quase sempre ocorrem nos processos comuns de secagem. (GEANKOPLIS, 1998).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Matérias primas

5.1.1. Quitosana em pó: obtenção e caracterização

Inicialmente, 7 kg de resíduos de camarão passaram por uma pré-limpeza para a retirada dos materiais grosseiros. Em seguida os resíduos foram submetidos a etapa de desmineralização utilizando solução de HCl 2,5 mL/100mL na proporção (volume:massa) de 2:1 solução/resíduo. Foram feitas oito lavagens de 2 min com 56 L de água para a retirada do ácido. A etapa de desproteínização foi feita utilizando NaOH 5 g/100mL na proporção (volume:massa) de 3:1 solução/resíduo. Após, repetiu-se as

lavagens. Por fim, foi feita a etapa de desodorização/despigmentação utilizando-se solução de hipoclorito de sódio 0,36 mL/100mL na proporção (volume:massa) de 5:1 solução/resíduo. Após seis lavagens de 3 min com 56 L de água, o material foi seco por 4 h à 80°C, obtendo-se a quitina (WESKA et al., 2007).

A reação de desacetilação da quitina foi realizada em um reator de aço inoxidável com aquecimento e agitação mecânica, em escala semi-piloto, contendo 3 L de solução de NaOH (421 g L^{-1}) à temperatura de 130°C por 1,5 h, sob agitação de 50 rpm (WESKA et al., 2007), obtendo-se ao final do processo a quitosana. A etapa de purificação da quitosana foi realizada dissolvendo-a em solução de ácido acético (1 mL/100mL) sob agitação mecânica por 70 min. Após a solução foi centrifugada à 6500 $\times g$ por 20 min. O precipitado foi descartado e adicionou-se solução de NaOH ao sobrenadante até que o pH atingisse 12,5. Neutralizou-se, e centrifugou-se a solução por 20 min à 6500 $\times g$, obtendo-se a quitosana purificada. Após, essa foi seca em leito de jorro até umidade comercial (10,0 g/100g, em base úmida), de acordo com o procedimento de Dotto et al. (2011).

A quitosana foi caracterizada, segundo as normas da AOAC 1995, quanto a sua umidade e cinzas pelo método gravimétrico, e nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, em que o fator de conversão utilizado para N-quitosana foi de 11,49.

A massa molar da quitosana foi determinada através do método viscosimétrico utilizando um viscosímetro capilar (CANNON-FENSKE, modelo SCHOTT GERATE, GMBH-D65719, Alemanha) à 25°C.

A viscosidade reduzida foi determinada pela equação de Huggins (Equação 1), e após esta foi convertida em massa molar por meio da equação de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 2) (ROBERTS; DOMSZY, 1982). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

O grau de desacetilação (GD) foi determinado através de análise de infravermelho, e calculado através da Equação 3 (PILLAI, et al., 2009).

5.1.2.Adsorbato: corantes alimentícios

Foram utilizados como adsorbato cinco corantes de grau alimentício: azul indigotina, FD&C vermelho 40, amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho amaranto. Os corantes foram fornecidos pela empresa Duas Rodas (Brasil), todos com

85% de pureza. As características dos corantes alimentícios podem ser encontradas no APÊNDICE 3.

5.1.3. Concentrados de ácidos graxos insaturados: obtenção e caracterização

O óleo bruto de pescado foi extraído de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*) fornecidas por um piscicultor do município de Roca Sales – RS, Brasil. Após o abate dos peixes as vísceras foram imediatamente refrigeradas e transportadas até o laboratório de operações unitárias/EQA/FURG, onde foram armazenadas em congeladores até sua utilização.

O óleo bruto de carpa foi obtido de acordo Crexi et al., (2009), onde inicialmente a matéria-prima foi descongelada durante a noite à temperatura ambiente e submetida à cocção (Rochedo - modelo Idealclave, Brasil) durante 30 min à 98 ± 2 °C. Em seguida ocorreu a prensagem obtendo-se o licor de prensa e os sólidos. A separação do óleo bruto de pescado do licor de prensa foi realizada por centrifugação (Sigma 6-15, D-37250, Alemanha), com rotação de $7000 \times g$ durante 20 min à 25°C, obtendo-se o óleo bruto de pescado.

O óleo bruto obtido passou pelas etapas do processo de refino químico (degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento), realizadas segundo Crexi et al.(2010). A descrição das etapas do processo de refino do óleo bruto estão apresentadas no APÊNDICE 2.

O óleo branqueado de carpa foi submetido à reação de hidrólise química. Os ácidos graxos livres foram obtidos através da reação de hidrólise descrita por Crexi et al., (2012), com as condições de concentração do catalisador (KOH) de 22 g/100g, proporção óleo/álcool etílico de 1:39 (g:g), temperatura de 60°C e tempo de 1 h as que proporcionaram um maior rendimento em ácidos graxos livres. Para a obtenção dos ácidos graxos livres foi utilizado um reator com agitação e aquecimento, sob vácuo.

Após o término da reação de hidrólise, a separação dos ácidos graxos livres foi realizada conforme procedimento descrito por Wanasundara e Shahidi (1999), sendo adicionada à mistura saponificada água destilada na quantidade de duas vezes o volume em relação à massa inicial de óleo. Para a extração da matéria insaponificável foi adicionado hexano (quatro vezes o volume de hexano em relação à massa de óleo inicial) este procedimento foi realizado duas vezes. A matéria insaponificável que contém hexano foi rejeitada. A matéria saponificável foi acidificada com HCl 3N sob

agitação até pH=1. Após transferiu-se a mistura para um funil de separação e os ácidos graxos foram extraídos com adição de hexano (duas vezes o volume em relação à quantidade inicial de óleo). A camada de hexano, contendo os ácidos graxos livres, foi seca com sulfato de sódio anidro e o seu excedente foi removido a 40°C para recuperar os ácidos graxos livres.

Os ácidos graxos livres obtidos através da reação de hidrólise foram complexados utilizando solução alcoólica de ureia como mostrado na Figura 8 (CREXI et al., 2012, PAIM, 2012).

Figura 8: Fluxograma da elaboração de concentrados de ácidos graxos mono e poli-insaturados por complexação com ureia.



A complexação com ureia foi realizada a temperatura de -10°C, utilizando uma solução alcoólica de ureia (20g/100mL em álcool etílico 95%), relação de 4,5:1 (p/p) em relação à massa de óleo e tempo de 24h.

A separação dos cristais formados foi realizada por filtração a vácuo em lâ de vidro. A parte líquida (fração não complexada) foi diluída com volume igual de água e acidificada à pH 4-5 com HCl 6N, após foi adicionado volume igual de hexano e agitar a mistura por 1 h, transferindo-a então para um funil de separação. A camada de hexano foi lavada com água destilada (igual volume) e separada a água. Após foi adicionado sulfato de sódio anidro e o solvente restante foi removido a 40°C (CREXI et al., 2012).

Após a realização do procedimento de hidrólise química e separação dos ácidos graxos livres, o rendimento da reação foi determinado por gravimetria dos ácidos graxos livres em relação à massa de óleo utilizada. O rendimento (%) da reação foi calculado através da Equação 10 (CREXI et al., 2012):

$$\%R_{\text{reação}} = \frac{M_{AGL}}{M_{OR}} \times 100 \quad (10)$$

As metodologias analíticas utilizadas para os índices de caracterização dos concentrados de AGI foram realizadas segundo os métodos da AOCS (1980). Os índices foram: ácidos graxos livres (Ca 5a – 40) e índice de peróxido (Cd 8-53).

Para determinação dos perfis de ácidos graxos e avaliação do rendimento da reação de complexação com ureia foi realizada a análise do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa. Para injeção no equipamento, os ésteres metílicos foram preparados conforme metodologia descrita por Metcalfe e Schimitz (1966).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por cromatografia gasosa (CG) em cromatógrafo (modelo VARIAN-3400 CX, Palo Alto, Califórnia, USA) equipado com coluna capilar DB-17 J&W Scientific (50% fenil metilpolisiloxano). Os ácidos graxos foram identificados pela comparação direta dos tempos de retenção com padrões (SUPELCO TM 37, Bellefonte, Palo Alto, EUA), e quantificados por normalização de áreas.

5.2. Microestruturas de quitosana para uso em adsorção de corantes alimentícios

5.2.1 Preparo das microestruturas de quitosana

As microestruturas (esponjas megaporosas) de quitosana, para utilização como adsorvente, foram preparadas seguindo os seguintes passos: dissolveu-se a quitosana purificada (2,0 g) em 100 mL de solução de ácido acético (1 mL/100mL) com auxílio de um agitador magnético. A solução ficou sob agitação de 300 rpm durante 24 h à temperatura ambiente. Após a solução foi homogeneizada à 10.000 rpm por 5 min em um agitador mecânico (Dremel, 1100–01, Brasil), e levada a um ultra freezer (Indrel, IULT 90–D, Brasil) onde permaneceu por 48 h a -80°C. Finalmente, o material foi submetido à secagem a frio em um liofilizador (Liobras, L108, Brasil) por 48 h,

utilizando-se vácuo de 44 mmHg e temperatura de -54°C. As amostras foram armazenadas em um dessecador até sua caracterização.

5.2.2.Caracterização das microestruturas de quitosana

5.2.2.1.Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A avaliação morfológica das microestruturas foi realizada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando microscópio eletrônico (JEOL, JSM 6060, JAPÃO) (LI et al., 2010). As amostras foram colocadas em suportes de aço inoxidável (*stubs*) e após metalizadas com ouro. Para as análises foram utilizadas acelerações de voltagem de 5 e 10 kV e faixa de magnificação e 30 a 100000 vezes (LI et al., 2010).

5.2.2.2.Espectroscopia Dispersiva de Raios X (EDX)

A composição elementar da superfície das microestruturas foi realizada através da técnica semi-quantitativa de EDX (LIU et al., 2011). A metalização das amostras foi realizada a vácuo, utilizando ouro. Posteriormente as mostras foram colocadas em um microscópio eletrônico acoplado com a análise de EDX (JEOL, JSM 5800, JAPÃO). Foi utilizada a aceleração de voltagem de 10,0 kV, com faixa de magnificação das imagens variando entre 100 em 20000 vezes.

5.2.2.3.Espectrometria na região do infravermelho (FT-IR)

Para identificar os grupamentos funcionais presentes nas microestruturas foi utilizada análise de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As amostras foram submetidas à determinação espectroscópica na região do infravermelho ($450\text{--}4500\text{ cm}^{-1}$) (PRESTIGE 21, 210045, JAPÃO) usando a técnica de refletância atenuada total (MUZZARELLI *et al.*, 2004).

5.2.2.4.Análise de cor

A cor das microestruturas foi determinada utilizando o sistema Minolta (CR-300, Minolta Corporation, Ramsey, USA), através da medida do diagrama de cor tridimensional ($L^*-a^*-b^*$). L^* indica luminosidade com valor máximo de 100, e representa uma perfeita reflexão difusa, enquanto que o valor mínimo é zero e constitui o preto, a^* indica cromaticidade tendendo do verde (-) até o vermelho (+) e b^* indica a cromaticidade que varia do azul (-) até o amarelo (+). As amostras foram colocadas em uma superfície branca para a realização das leituras. As análises de cor foram realizadas em triplicata. A diferença de cor (ΔE_{ab}^*) foi obtida através da Equação 11 (YOUN et al., 2009):

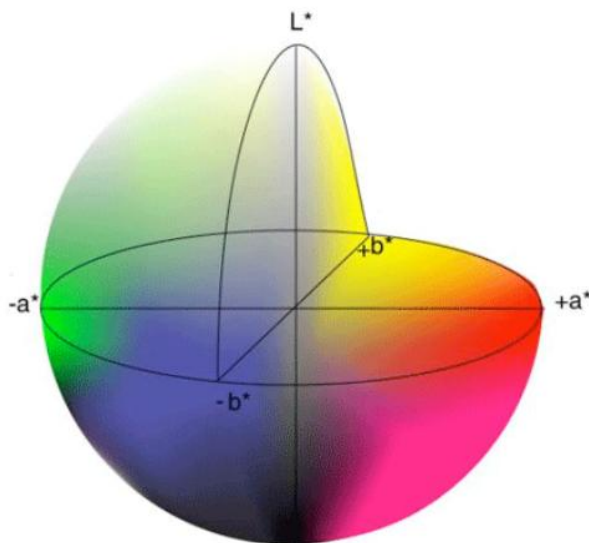
$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (11)$$

sendo, $\Delta L^* = (L^* - L_0^*)$, $\Delta a^* = (a^* - a_0^*)$ e $\Delta b^* = (b^* - b_0^*)$, e L_0^* , a_0^* e b_0^* os valores de cor do padrão; L^* , a^* e b^* o valor de cor das microestruturas.

Os valores dos ângulos Hue (H_{ab}) correspondentes ao diagrama tridimensional de cores (Figura 9) são: 0° (vermelho), 90° (amarelo), 180° (verde) e 270° (azul). Os valores de a^* e b^* foram convertidos para valores numéricos de ângulo Hue, conforme a Equação 12 (YOUN et al., 2009):

$$H_{ab} = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (12)$$

Figura 9: Diagrama tridimensional de cores



5.2.2.5. Isotermas de N₂ (BET)

As determinações de volume de poros e área superficial específica da microestruturas formadas foram realizadas em um analisador volumétrico de adsorção (QUANTACHROME INSTRUMENTS, NOVA WIN 2, EUA). As amostras foram pré-aquecidas a 100 °C por 24 h sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, foram submetidas a vácuo em temperatura de 25 °C, alcançando uma pressão residual de 10⁻⁴ Pa. Foram obtidas isotermas de adsorção-desorção de N₂ à temperatura de -196°C. Os cálculos foram realizados utilizando o método de Brunauer, Emmet e Teller (BET) (LEYVA-RAMOS et al., 2012). A densidade do sólido (ρ_s) foi obtida da literatura (PICCIN et al., 2011) e a densidade aparente (ρ_p) foi estimada através da relação entre massa/volume do balanço analítico (Marte, AY220, Brasil). A porosidade (ε_p) e o volume de poros (V_p) da microestrutura de quitosana foram calculados pelas Equações 13 e 14, respectivamente (LEYVA-RAMOS et al., 2012):

$$\varepsilon_p = 1 - \frac{\rho_p}{\rho_s} \quad (13)$$

$$V_p = \frac{1}{\rho_p} - \frac{1}{\rho_s} \quad (14)$$

5.3. Experimentos de adsorção

5.3.1. Isotermas de Equilíbrio

As isotermas de equilíbrio para os cinco corantes foram obtidas em diferentes temperaturas (298, 313 e 328 K). Todas as condições experimentais foram determinadas por ensaios preliminares e de acordo com a literatura (CRINI; BADOT, 2008; GUPTA; SUHAS, 2009; DOTTO et al., 2013). Inicialmente, soluções estoque de corante ($1,0 \text{ g L}^{-1}$) foram preparadas com água destilada, e tiveram seu pH corrigido a 6.0 utilizando solução tampão fosfato dissódico/ácido cítrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), o qual não apresenta interação com os corantes (DOTTO et al., 2013). Após, os experimentos foram efetuados através da diluição das soluções estoque dos corantes. A esponja megaporosa de quitosana (250 mg L^{-1}) foi adicionada nas soluções de corante com diferentes concentrações iniciais (100, 200, 300, 400, 500, 600 e 700 mg L^{-1}). As soluções foram agitadas a 100 rpm com o auxílio de um agitador termostatizado tipo Wagner (FANEM, 315 SE, Brasil). Foram retiradas amostras para a leitura da concentração a cada 8 horas. O equilíbrio de adsorção foi considerado após três medidas consecutivas não apresentarem diferença na concentração dos corantes na solução. A concentração dos corantes remanescente nas soluções foi determinada por espectrofotometria (Quimis, Q108 DRM, Brasil). A capacidade de adsorção no equilíbrio (q_e) foi determinada pela Equação 15:

$$q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} V \quad (15)$$

5.3.2. Modelo de Langmuir em duas etapas

Neste trabalho foi ajustado o modelo de isoterma de Langmuir em duas etapas (Equações 5 e 6) para ajustar os dados experimentais de equilíbrio. Os ajustes foram realizados a fim de obter informações sobre o processo de adsorção para cada corante, em diferentes condições de temperatura, e também para verificar se este modelo é adequado para representar os dados experimentais de equilíbrio.

Os parâmetros de Langmuir em duas etapas foram obtidos por regressão não-linear, utilizando o método de estimação Simplex/Quasi-Newton (TOLNER, 2008). A qualidade ajuste foi medida pelo coeficiente de determinação (R^2) e erro médio

relativo (EMR) (CARDOSO et al., 2012). Os cálculos foram realizados utilizando o software de Estatística (Statística 6.0, Statsoft, EUA).

5.3.3. Cálculos termodinâmicos

Os valores das variações da energia livre de Gibbs (ΔG^0), de entalpia (ΔH^0) e de entropia (ΔS^0) foram estimados a fim de obter informações sobre o comportamento termodinâmico de adsorção. Para a obtenção destes parâmetros foram utilizadas as Equações 7, 8 e 9 (ELWAKEEL, 2009).

5.3.4. Análises das interações

A fim de elucidar as possíveis interações entre a estrutura megaporosa de quitosana e os corantes foram realizadas análises de espectroscopia no infravermelho (FT-IR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), mapeamento de raios-X (EDX) e cor, antes e após o processo de adsorção. As análises de MEV, EDX, FT-IR e cor foram realizadas da mesma maneira que descrito nas seções 5.2.2.1, 5.2.2.2, 5.2.2.3 e 5.2.2.4. O mapeamento de raios X foi realizado para identificar a presença dos corantes (por meio de enxofre) na microestrutura megaporosa de quitosana após o processo de adsorção (GOLDSTEIN et al., 1992).

5.4. Microestrutura de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI

5.4.1. Preparo e caracterização da emulsão de nanocápsulas

As suspensões de nanocápsulas foram preparadas utilizando-se o método de nanoemulsão (REIS et. al., 2006). Inicialmente foram preparadas duas fases. Na fase líquida, soluções de ácido acético (1 mL/100mL) foi utilizada para solubilizar quitosana (resultando numa concentração de 2 g/100mL). A solução obtida foi agitada por 24 h em agitador magnético à temperatura ambiente. Na fase oleosa, os concentrados de ácidos graxos insaturados (AGMI e AGPI) e o tensoativo (Tween 80), numa relação estabelecida em testes preliminares (volume:volume), foram dissolvidos em um solvente (solução:solvente de 1:10, mL:mL) previamente definido por ensaios preliminares. A solução foi agitada por 2 h em agitador magnético, à temperatura ambiente. Após as fases líquida e oleosa foram homogeneizadas à 10.000 rpm em

agitador mecânico (Dremel, 1100–01, Brasil). Todas as diluições foram realizadas utilizando água ultra pura.

Nesta etapa foi avaliado o tipo de solvente da fase oleosa (hexano e etanol). Após a escolha do solvente, o tempo de homogeneização entre as duas fases foi variado entre 5 e 10 min. A concentração de emulsificante (tensoativo) utilizada na fase oleosa foi determinada por testes preliminares, sendo selecionadas as concentrações de emulsificante de 5, 10, 25 e 50 mL/100mL.

A distribuição de tamanho de partícula, o diâmetro médio e o índice de polidispersão das nanocápsulas foram avaliados em suspensão através da técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) (BRUCE; PECORA, 2000). O espalhamento de luz dinâmico foi realizado em um equipamento constituído por um laser (SPECTRA-PHYSICS, 127, EUA) acoplado a um goniômetro (BROOKHEAVEN, BI-200M, EUA) e a um correlator digital (BROOKHEAVEN, BI-9000AT, EUA). A emulsão de nanocápsulas foi filtrada em filtros de 0,45µm para a realização da análise.

A estabilidade da emulsão foi determinada segundo Klaypradit e Huang (2008). Esta estabilidade foi avaliada em tubos de ensaio de 1,4 cm de diâmetro interno e 15 cm de altura. Os tubos de ensaio permaneceram em repouso à temperatura ambiente por 40 dias. Foi avaliada a presença de separação de fases. A avaliação foi feita de maneira visual e a altura foi medida em centímetros.

5.4.2. Secagem da emulsão de nanocápsulas

Após a preparação da emulsão de nanocápsulas, esta foi seca para a obtenção da microestrutura utilizando o método de evaporação do solvente via liofilização (SCHAFFAZICK et al 2003). As emulsões foram colocadas em ultra freezer (Indrel, IULT 90-D, Brasil) por 48 h à -80°C, e após foram levadas ao liofilizador (Liobras, L108, Brasil) onde permaneceram por 48 h à -54°C e vácuo de 44 mmHg, até a evaporação completa dos solventes.

5.4.3. Caracterização da microestrutura de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI

A fim de caracterizar as microestruturas de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI foram realizadas as análises de MEV, EDX, FT-IR e cor de acordo com o descrito nas seções 5.2.2.1, 5.2.2.2, 5.2.2.3 e 5.2.2.4.

5.4.3.1. Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi avaliada de modo indireto. Primeiramente adicionou-se 2 mL de acetona a 1 mL de emulsão para posterior precipitação. As amostras foram centrifugadas a $14.000 \times g$ durante 30 min à 3°C (Cientec, CT5000R, Brasil). O sobrenadante, contendo o concentrado de AGI que não foi encapsulado, foi retirado e colocado em estufa à 36°C até evaporação do solvente. No material liofilizado a determinação de lipídios das amostras foi feita utilizando o método de Bligh Dyer (CREXI et al., 2012). A Eficiência da encapsulação (%EE) foi calculada de acordo com a Equação 16:

$$\%EE = \frac{AGI_{enc} - AGI_{ne}}{AGI_{enc}} \times 100 \quad (16)$$

5.4.3.2. Índice de peróxido

A oxidação dos concentrados de AGI encapsulados foi analisada através do índice de peróxido (CREXI et al., 2012; AOCS, 1980). As amostras foram pesadas (1,0 g) e adicionadas de solução de ácido acético: clorofórmio (3:2), solução saturada de KI e solução de amido. Após foi feita a titulação com solução de Tiosulfato de sódio ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). Após a titulação o índice de peroxido foi determinado de acordo com a Equação 17:

$$IP = \frac{(V_a - V_b) * N * 1000}{P_a} \quad (17)$$

As amostras foram analisadas ao término da liofilização (tempo zero), e após 15 e 30 dias de armazenamento sob refrigeração à 4 °C.

5.4.3.3.Rendimento do processo

As nanocápsulas liofilizadas foram pesadas em balança analítica (Marte, AY220, Brasil) para a determinação do rendimento do processo, utilizando Equação 18 (GONSALVES, et al., 2009):

$$\text{Rendimento do Processo (\%)} = \frac{\text{quantidade real de amostra (g)}}{\text{quantidade teórica de amostra}} \times 100\% \quad (18)$$

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caracterização das matérias primas

6.1.1. Caracterização da quitosana em pó

A composição centesimal, o grau de desacetilação, a massa molar e o diâmetro de partículas da quitosana seca (em pó) utilizada para a elaboração das microestruturas estão apresentadas na Tabela 3.

A quitosana obtida foi um pó fino que apresentou umidade dentro da faixa da quitosana comercial (até 10 g/100g, b.u.) e um baixo teor de cinzas. Os valores de massa molar, grau de desacetilação e diâmetro de partículas foram semelhantes aos obtidos para quitosana seca pelo procedimento de Dotto et al. (2011).

Tabela 3: Composição (base úmida), grau de desacetilação e massa molar da quitosana.

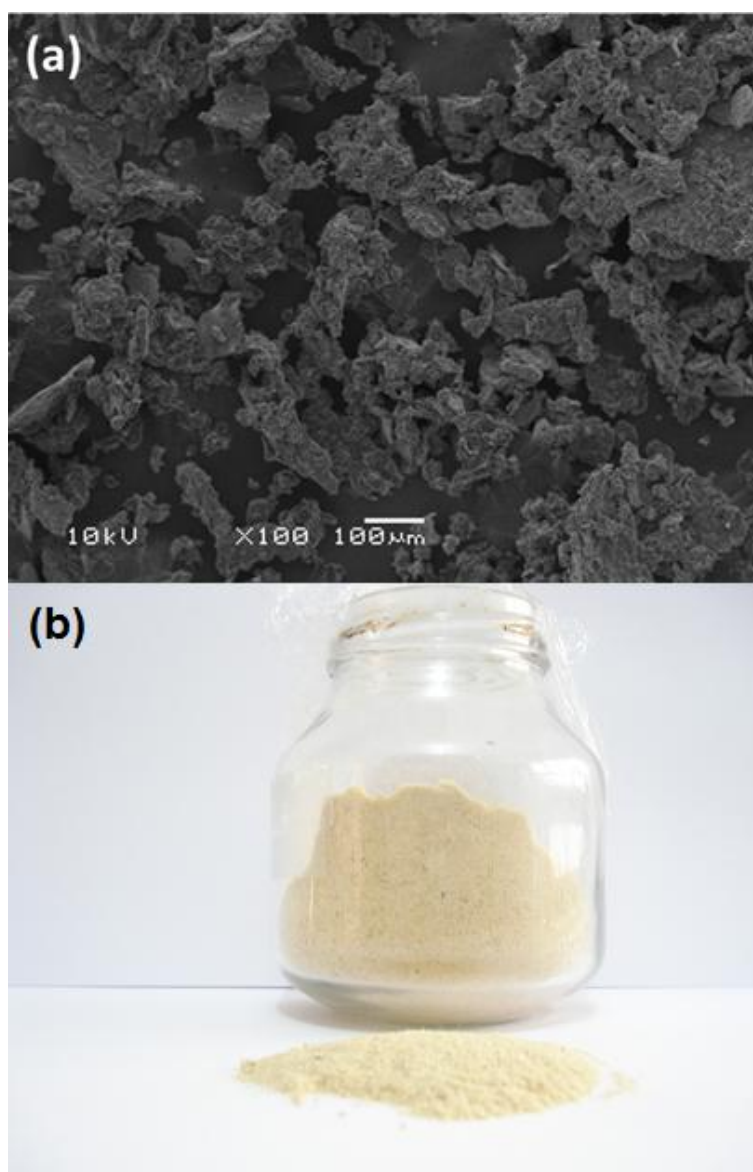
Características	Valores*
Umidade (g/100g)	6,7 ± 0,2
Cinzas (g/100g)	0,3 ± 0,1
N-quitosana (g/100g)	93,0 ± 1,0
Massa molar (kDa)	146 ± 3
Grau de desacetilação (%)	84,5 ± 1,0
Diâmetro de partículas (µm)	< 75

*média ± erro padrão (n=3).

As Figuras 10 (a) e (b) mostram características superficiais da quitosana em pó. Na Figura 10 (a)x100, através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) pode-se observar que a quitosana se apresenta como um pó fino e homogêneo. Na Figura 10 (b) está apresentada a imagem fotográfica da quitosana em pó.

6.1.2. Caracterização dos Concentrados de AGI

A Tabela 4 apresenta os ácidos graxos livres (AGL), índice de peróxido (IP) e o rendimento de reação (%R) para a fração não complexada com ureia (concentrados de ácidos graxos livres) do óleo obtido de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*). A partir dos dados da Tabela 4, pode-se observar que a fração não complexada apresentou valores similares aos encontrados na literatura (CREXI et al., 2012, PAIM, 2012).

Figura 10: Micrografia e imagem fotográfica da quitosana em pó.**Tabela 4:** AGL, IP e rendimento de reação de hidrólise para os concentrados de ácidos graxos insaturados (fração não complexada) obtidos do óleo de carpa.

Índice	Valores*
AGL (% ácido oleico)	$38,8 \pm 0,8$
IP (mEq kg ⁻¹)	$3,1 \pm 0,3$
%R (%)	$32,3 \pm 1,5$

*média $\pm$ erro padrão (n=3). AGL: ácidos graxos livres;
 IP: índice de peróxido (IP); %R: rendimento de reação.

A Tabela 5 apresenta o perfil dos principais ácidos graxos presentes na fração não complexada com ureia.

Tabela 5: Perfil de ácidos graxos para a fração não complexada com ureia do óleo obtido de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*).

Ácidos Graxos	Fração não complexada com ureia (%)
C 16:0	4.10 ± 0.03
C 16:1	9.40 ± 0.02
C 18:0	0.31 ± 0.01
C 18:1+ C 18:3 ω-3	41.28 ± 0.04
C 18:2 ω-6	15.21 ± 0.03
C 20:3 ω-3	1.43 ± 0.01
C 20:4 ω-6 (AA)	2.61 ± 0.01
C 20:5 ω-3 (EPA)	4.57 ± 0.02
C 22:6 ω-3 (DHA)	4.86 ± 0.01
Σ AGS (%)	8.81
Σ AGMI (%) + Σ AGPI (%)	85.24
Σ AGNI (%)	5.95

AA: ácido araquidônico, EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosaexaenoico, Σ AGS: somatório dos ácidos graxos saturados, Σ AGMI: somatório dos ácidos graxos monoinsaturados, Σ AGPI: somatório dos ácidos graxos poli-insaturados, Σ AGNI: somatório dos ácidos graxos não identificados.

A partir Tabela 5 pode-se verificar que o C-18: 1 e C-18: 3, foram os ácidos graxos com maior teor na fração não complexada com ureia, o que corresponde a cerca de 41,3% dos ácidos graxos totais. Os ácidos graxos da série ω-3 (C-18: 3, C-20: 3, C-20: 5, C-22: 6) são responsáveis por cerca de 52,1% de ácidos graxos, enquanto que os da série ω-6, o C-18:2 foi o mais elevado (com cerca de 15%). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Crexi et al. (2010) que concluiu que o óleo refinado obtido de vísceras de carpa pode ser considerado uma rica fonte de ácidos graxos essenciais.

6.2. Microestruturas de quitosana

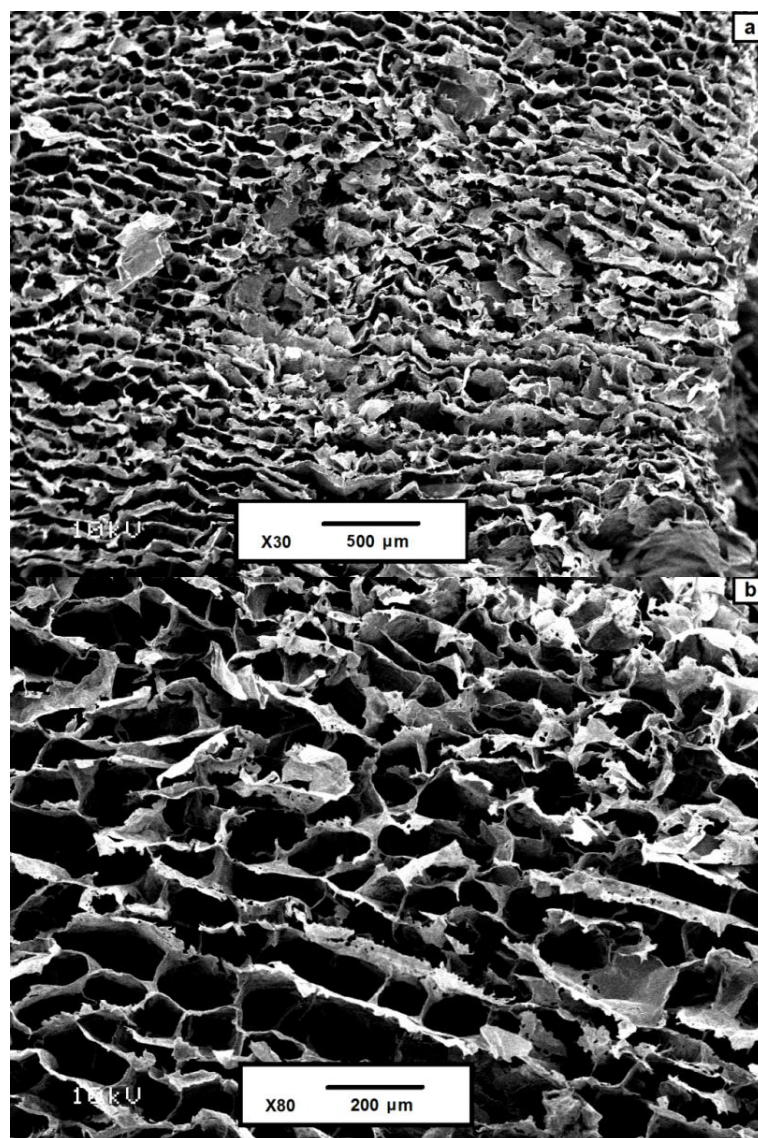
6.2.1. Esponja megaporosa de quitosana

A Figura 11 apresenta a imagem fotográfica da microestrutura de quitosana formada, e a Figura 12 apresenta as imagens de MEV da esponja de quitosana. Na Figura 12 podemos observar que a esponja de quitosana possui uma estrutura porosa, com tamanho de poros na ordem de 50–200 μm . De acordo com a classificação da IUPAC, poros com tamanho maior que 7,5 μm são denominados megaporos (IUPAC, 2012). Desta forma pode-se afirmar que a esponja de quitosana obtida neste trabalho é um material megaporoso. Esta estrutura megaporosa é importante para fins de adsorção, uma vez que permite o acesso das moléculas de corante nos sítios internos do material (CRINI; BADOT, 2008).

Figura 11: Imagem fotográfica da esponja de quitosana.



Figura 12: Imagens de MEV da esponja megaporosa de quitosana em diferentes ampliações: (a) $\times 30$, e (b) $\times 80$.



Os valores de área superficial específica (A_s), porosidade (ϵ_p) e volume de poros (V_p) estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores de área superficial específica (A_s), porosidade (ϵ_p) e volume de poros (V_p) da esponja de quitosana.

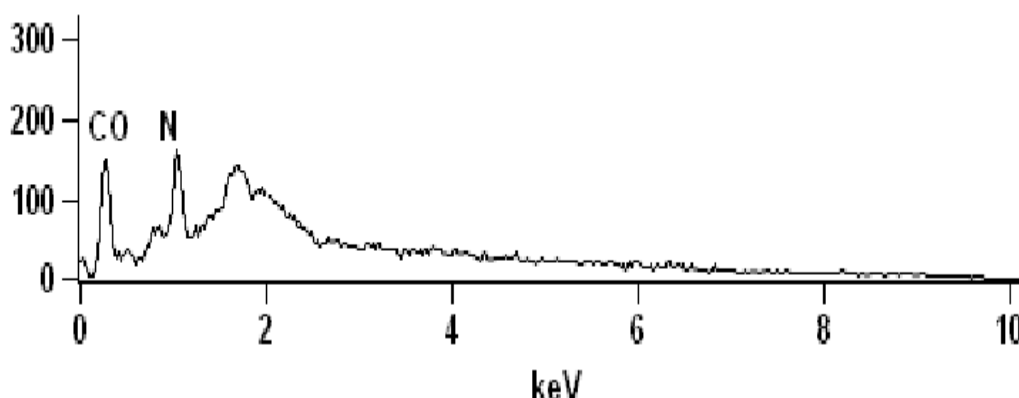
Características	Valores*
A_s ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	1135 ± 2
ϵ_p (%)	$92,2 \pm 1,2$
V_p ($\text{m}^3 \text{kg}^{-1}$)	$7,9 \times 10^{-3} \pm 1,9 \times 10^{-3}$

*média $\pm$ desvio padrão (n=5).

Os valores de área superficial específica, fração de vazios (porosidade) e volume de poros apresentados na Tabela 6 são considerados elevados em comparação com outros materiais a base de quitosana, por exemplo, pó de quitosana ($A_s = 4,2 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ $V_p = 9,5 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$) (PICCIN et al., 2011), os grânulos de quitosana ($A_s = 30\text{-}40 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), flocos de quitosana ($A_s = 4\text{-}6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) (WU et al., 2000), pérolas de hidrogel de quitosana ($\epsilon_p = 85\%$) (CHATTERJEE et al., 2009) e mesoestrutura quitosana-grafeno ($A_s = 603,2 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) (CHENG et al., 2012). Estas características são especialmente importantes para fins de adsorção porque permitem o acesso das moléculas de corante aos sítios de adsorção internos (CRINI; BADOT, 2008). Com base no acima mencionado, pode-se inferir que a microestrutura obtida neste trabalho melhora as características estruturais de quitosana para efeitos de adsorção.

As Figuras 13e 14apresenta o espectro EDX e o espectro FT-IR da amostra de esponja megaporosa de quitosana.

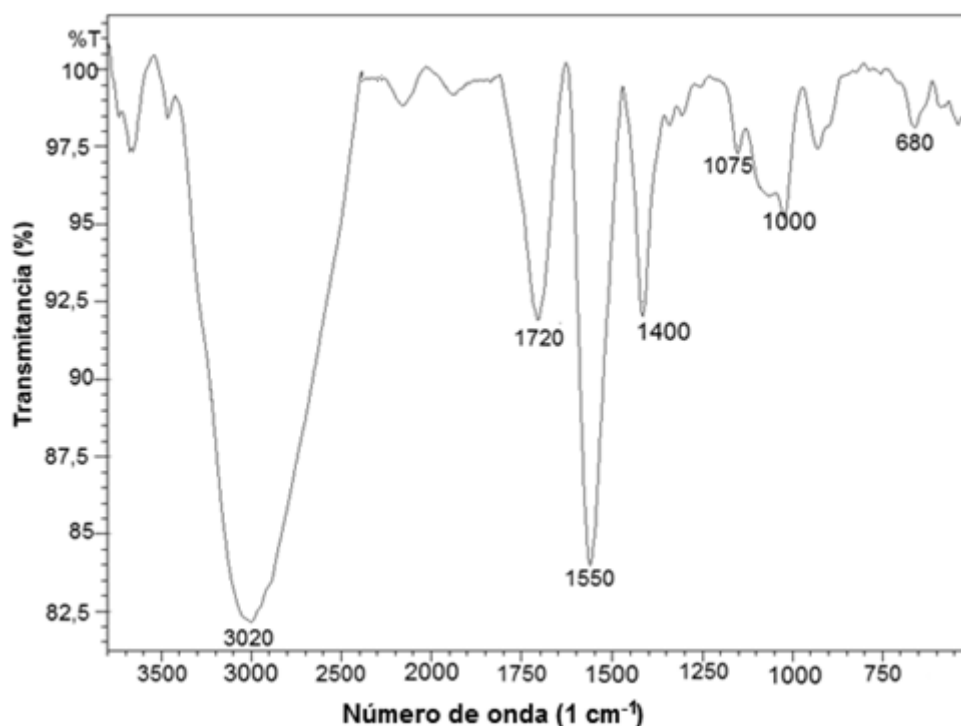
Figura 13: Espectro EDX da esponja de quitosana



A Figura 13 mostra que os principais elementos na superfície da esponja megaporosa de quitosana foram carbono, nitrogênio e oxigênio. No espectro infravermelho da esponja de quitosana (Figura 14) podem ser identificadas as seguintes bandas: 3020 , 1720 , 1550 , 1400 , 1075 , 1000 e 680 cm^{-1} . A banda larga na região de 3020 cm^{-1} é relativa aos estiramentos das ligações O–H e N–H. Em 1720 cm^{-1} pode-se observar a vibração de C=O (banda amida I). O estiramento da ligação C–N de amida pode ser observado em 1550 cm^{-1} . Em 1400 cm^{-1} foi observada a deformação angular das ligações C–O–H e H–C–H. A banda em 1075 cm^{-1} é relativa à ligação C–N de amina. O estiramento da ligação C–O pode ser verificado em 1000 cm^{-1} . A deformação

angular da ligação N–H pode ser identificada em 680 cm^{-1} . A partir da interpretação da Figura 14 é possível afirmar que os grupamentos NH_2 e OH, típicos da quitosana, estão presentes na esponja megaporosa, sendo potenciais sítios de adsorção de corantes (CRINI; BADOT, 2008; DOTTO et al., 2013).

Figura 14: Espetro infravermelho (FT–IR) da esponja de quitosana.



6.3. Estudos de adsorção de corantes alimentícios

6.3.1. Isotermas de equilíbrio

Os estudos de equilíbrio de adsorção foram realizados nas temperaturas de 298, 313 e 328 K para todos os corantes estudados com o intuito de verificar o comportamento de equilíbrio e a influência da temperatura na capacidade de adsorção. As curvas de equilíbrio para cada corante (indigotina, vermelho 40, amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho amaranço) estão apresentadas nas Figuras 15, 16, 17, 18 e 19.

Figura 15: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante indigotina.

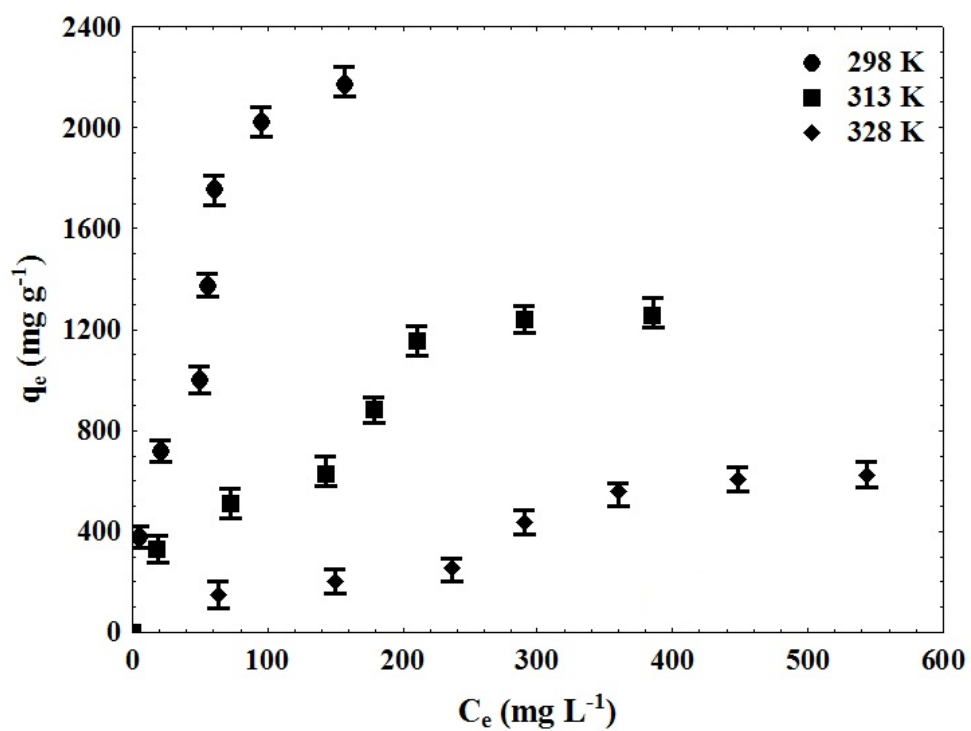


Figura 16: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante vermelho 40.

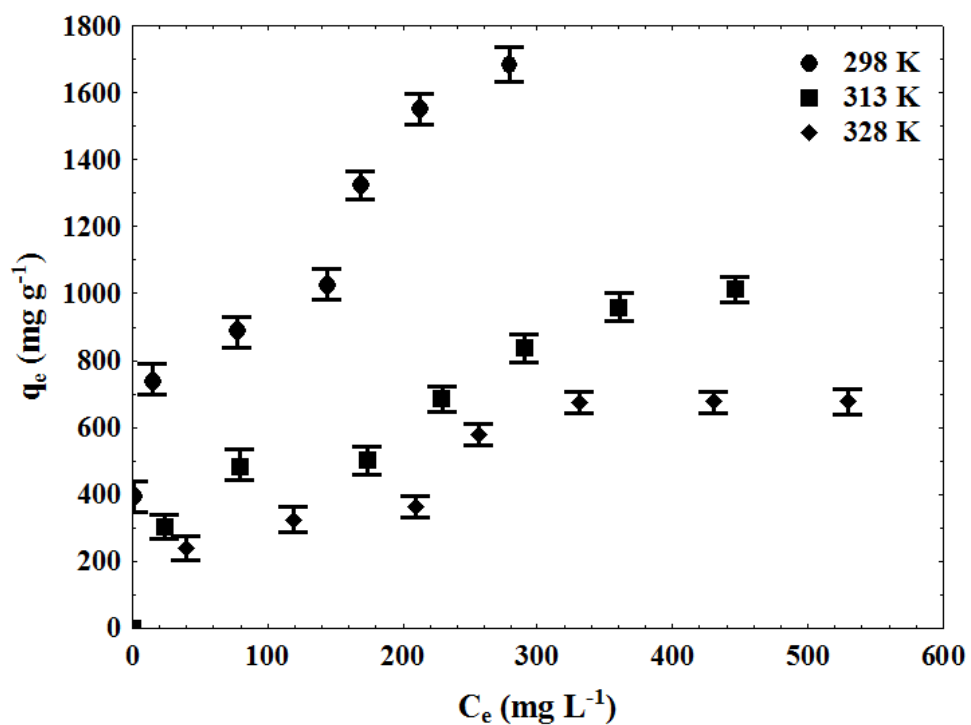


Figura 17: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante amarelo tartrazina.

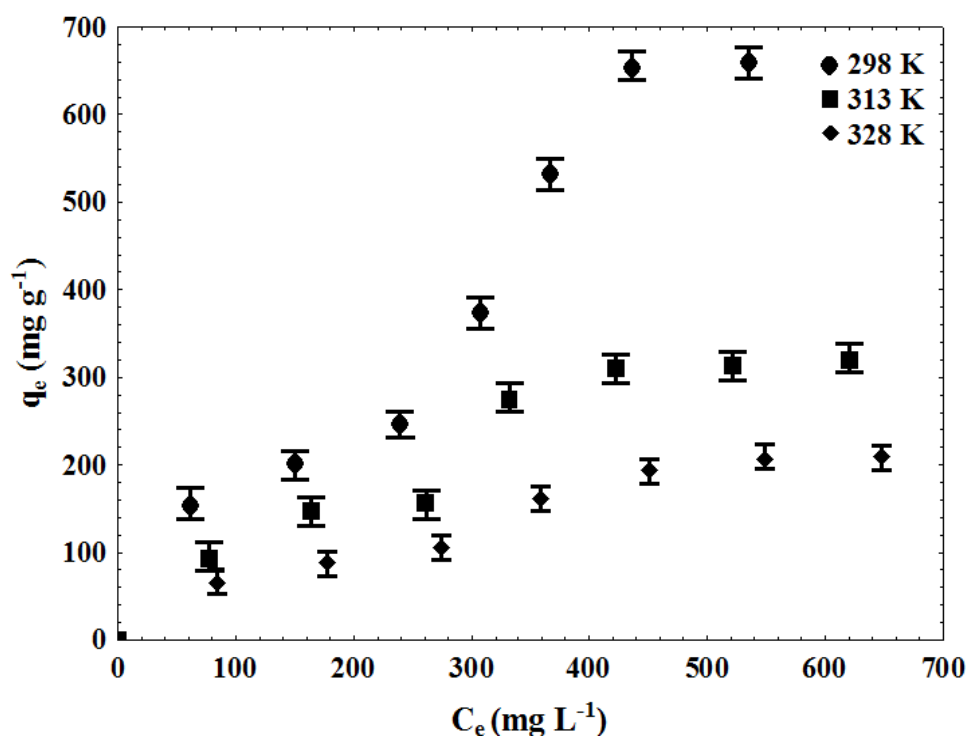


Figura 18: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante amarelo crepúsculo.

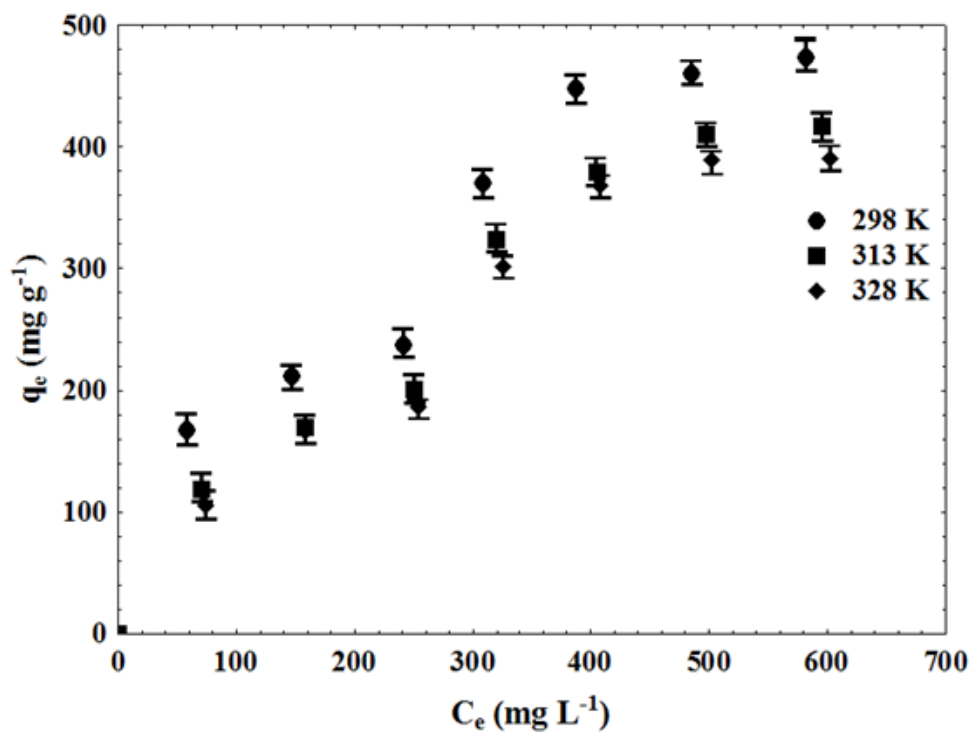
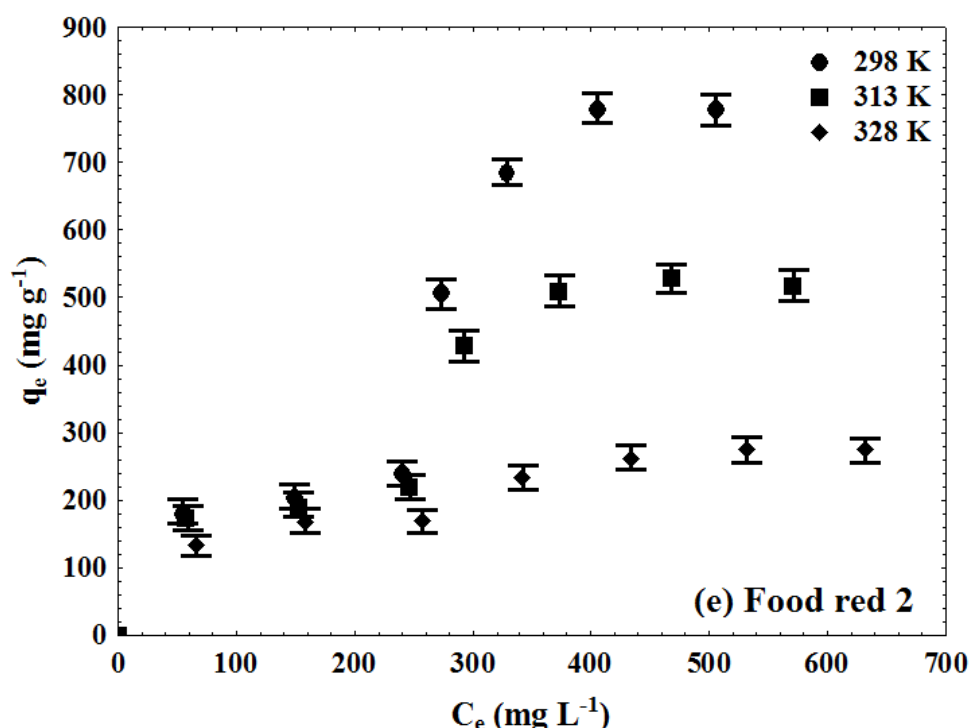


Figura 19: Isotermas de equilíbrio de adsorção do corante vermelho amaranço.



Pode ser visto nas Figuras 15 a 19 que para todos corantes estudados, independentemente da temperatura, as isotermas de equilíbrio apresentaram curvas características do tipo IV, segundo a classificação de Giles (GILES et al., 1960). Este tipo de isoterma é característico da formação de multicamadas de adsorbato, uma na superfície e outra na parede do poro do material adsorvente. Geralmente ocorre quando o tamanho dos poros do material adsorvente é muito maior do que o tamanho da molécula a ser adsorvida (RUTHVEN, 1984). A obtenção deste tipo de isoterma no sistema esponja–corante corrobora com o fato de que a esponja de quitosana apresenta poros com tamanho muito maior (50–200 μm) que o tamanho molecular dos corantes (13,9–18,0 Å). Blazquez et al. (2010) encontrou curvas semelhantes na biossorção de chumbo (II) de soluções aquosas por resíduos sólidos. Os autores explicaram que este tipo de curva foi característico devido à biomassa de adsorvente conter mesoporos.

Em todas as isotermas apresentadas (Figuras 15a 19), houve um aumento na capacidade de adsorção em função da diminuição da temperatura, sendo os valores máximos obtidos à 25°C. Este fato pode ser explicado pelo aumento da solubilidade dos corantes em função do aumento da temperatura (SRINIVASAN; VIRARAGHAVAN, 2010). Dessa forma, em temperaturas mais elevadas, ocorre a preferência dos corantes pela água, e, por conseguinte, uma diminuição da afinidade do corante com o

adsorvente. Este comportamento também foi observado por alguns autores. Wang e Li (2012) perceberam que temperaturas mais baixas são favoráveis para o processo de adsorção do corante reativo vermelho 228 por celulose modificada. Piccin et al. (2009) na adsorção do azo-corante FD&C vermelho nº40 por quitosana em pó e Dotto et al. (2013) na adsorção de corantes por filmes de quitosana também verificaram que a capacidade de adsorção era favorecida pela diminuição da temperatura.

Para representar as curvas de equilíbrio, os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Langmuir em duas etapas. Os parâmetros de ajuste do modelo, bem como os coeficientes de determinação (R^2) e o erro médio relativo (EMR) estão apresentados na Tabela 7.

Os altos valores do coeficiente de determinação ($R^2 > 0,95$) e os baixos valores de erro médio relativo ($EMR < 10\%$) (Tabela 7) mostram que o modelo de Langmuir em duas etapas é adequado para a representação da adsorção dos corantes pela esponja de quitosana. Baseado no mecanismo de interação da quitosana com os corantes aniônicos (CRINI; BADOT, 2008; PICCIN et al., 2009; DOTTO; PINTO, 2011a), e no bom ajuste do modelo de Langmuir em duas etapas, pode se inferir que: primeiramente, em baixas concentrações de adsorbato, as moléculas de corante ocuparam os grupamentos amina na superfície dos poros (os quais estavam mais acessíveis) formando assim a monocamada; em seguida, com o aumento da concentração, as moléculas ocuparam os grupamentos amina na parede dos poros (os quais estavam menos acessíveis), caracterizando assim a adsorção em multicamadas. Comportamento similar foi obtido por Blázquez et al. (2010) na adsorção de chumbo por resíduos sólidos da indústria de azeite.

Na Tabela 7 pode ser verificado que a diminuição da temperatura causou um aumento nos valores de q_{m1} , q_{m2} e q_m , confirmando que a capacidade de adsorção foi favorecida à 25°C. Esta mesma tendência em relação à temperatura foi observada para os parâmetros k_{L1} e k_{L2} , indicando uma maior afinidade dos corantes com a esponja de quitosana em menores temperaturas. Além disso, a Tabela 7 mostra que os valores da concentração crítica (C_c) aumentaram com o aumento da temperatura. Isso mostra que em temperaturas mais elevadas, uma maior concentração de corante permaneceu na solução após a formação da monocamada.

Tabela 7: Parâmetros do modelo de Langmuir em duas etapas para a adsorção dos corantes alimentícios pela esponja de quitosana.

	Indigotina			Vermelho 40			Amarelo Tartrazina			Amarelo Crepúsculo			Vermelho amaranato		
	298 K	313 K	328 K	298 K	313 K	328 K	298 K	313 K	328 K	298 K	313 K	328 K	298 K	313 K	328 K
Etapa I															
q_{m1} (mg g⁻¹)	1260,1	704,7	342,4	870,2	5794	407,4	304,0	225,1	144,2	274,5	272,2	271,1	252,9	226,4	192,4
k_{L1} (L mg⁻¹)	0,0728	0,0454	0,0111	0,6388	0,0488	0,0360	0,0158	0,0099	0,0094	0,0268	0,0109	0,0089	0,0518	0,0429	0,0358
R^2	0,9955	0,9938	0,9948	0,9918	0,9957	0,9990	0,9939	0,9928	0,9993	0,9991	0,9995	0,9973	0,9907	0,9924	0,9983
EMR (%)	3,63	3,13	2,89	3,51	2,46	1,10	2,95	3,32	0,98	1,02	0,84	2,08	3,32	2,95	1,39
Etapa II															
q_{m2} (mg g⁻¹)	1772,2	1190,3	847,4	2446,4	869,5	755,4	773,9	242,2	203,,4	514,3	360,5	351,4	1298,6	759,5	198,7
k_{L2} (L mg⁻¹)	0,0521	0,0428	0,0264	0,1331	0,0186	0,0033	0,0619	0,0350	0,0086	0,0082	0,0457	0,1230	0,2260	0,0387	0,0344
C_C (mg L⁻¹)	49,2	142,5	236,4	77,3	173,8	208,9	238,1	260,6	273,7	240,5	249,9	253,3	239,9	245,3	257,4
R^2	0,9557	0,9912	0,9809	0,9708	0,9878	0,9555	0,9539	0,9867	0,9831	0,9579	0,9880	0,9823	0,9663	0,9583	0,9745
EMR (%)	5,27	1,62	4,03	1,99	1,38	4,28	6,41	5,40	4,51	6,10	1,43	5,16	6,48	8,64	1,09
q_m (mg g⁻¹)	3032,3	1895,1	1189,8	3316,7	1448,9	1162,8	1077,9	467,3	347,6	788,8	632,7	622,5	1551,5	985,9	391,1

As capacidades de adsorção da esponja megaporosa de quitosana (q_m) foram comparadas com outros materiais de base de quitosana, e os resultados estão apresentados na Tabela 8. Com base nesta tabela, pode-se afirmar que a microestrutura de quitosana obtida é um bom adsorvente para remover corantes alimentícios de soluções aquosas.

6.3.2. Parâmetros termodinâmicos

O comportamento termodinâmico de adsorção foi avaliado por meio da estimativa de k_D , ΔG^0 , ΔH^0 e ΔS^0 , e os valores são mostrados na Tabela 9. Verificou-se que os valores de k_D aumentaram com a diminuição da temperatura. Isto confirma que a adsorção de corantes alimentícios pela esponja megaporosa de quitosana foi favorecida à 25°C. Considerações termodinâmicas mostram que, a temperatura e a pressão constantes, a energia livre de Gibbs é o critério fundamental de espontaneidade, e um valor negativo para a ΔG^0 para a adsorção indica a espontaneidade da reação (CRINI; BADOT, 2008). Os valores negativos de ΔG^0 (Tabela 9) indicaram que a adsorção foi um processo espontâneo e favorável, não necessitando da adição de nenhuma energia externa para que a adsorção ocorra. Para todos os corantes estudados, valores negativos de ΔH^0 foram verificados, demonstrando que a adsorção de corantes alimentícios pela esponja megaporosa de quitosana foi processo exotérmico. Além disso, a partir da magnitude de ΔH^0 é possível inferir sobre o tipo de interação entre o adsorvente e o adsorbato. A entalpia de adsorção para processos que envolvem quimiossorção varia entre 80 e 450 kJ mol⁻¹, enquanto que para fisiossorção, interações tais como forças de van der Waals são geralmente inferiores a 20 kJ mol⁻¹ e interações eletrostáticas apresentam entalpias variando entre 20 a 80 kJ mol⁻¹ (ALENCAR et al., 2012, MACHADO et al., 2012). Desta forma, pode-se afirmar que entre os corantes e a esponja de quitosana ocorreram interações eletrostáticas.

Os valores negativos de ΔS^0 mostram que a desordem do sistema diminuiu na interface sólido-líquido durante a adsorção. Comparando-se os valores de ΔH^0 e $T\Delta S^0$ (Tabela 9) pode-se verificar que a adsorção foi controlada pela entalpia. Comportamento termodinâmico semelhante foi verificado por Dotto et al. (2013) na adsorção de corantes alimentícios por filmes de quitosana, e Piccin et al. (2011) na adsorção de do corante vermelho 40 por pó de quitosana.

Tabela 8: Comparação da esponja de quitosana com outros materiais obtidos a partir de quitosana e utilizados como adsorvente para a remoção de corantes de soluções aquosas.

Material a base de quitosana	Corante	T (K)	pH	Massa de adsorvente (mg L ⁻¹)	Concentração de corante (mg L ⁻¹)	Capacidade de adsorção (mg g ⁻¹)	Referência
Esponja	Indigotina	298	6,0	250	100–700	3032	Autor
Esponja	Vermelho 40	298	6,0	250	100–700	3316	Autor
Esponja	Tartrazina	298	6,0	250	100–700	1078	Autor
Esponja	Amarelo crepúsculo	298	6,0	250	100–700	789	Autor
Esponja	Amaranto	298	6,0	250	100–700	1551	Autor
Membrana de quitosaana	Bezactiv Orange	298	6,0	360	80	279	NESIC et al., 2012
Pó	Azul brilhante	298	3,0	250	100	210	DOTTO; PINTO, 2011b
Pó	Amarelo crepúsculo	298	3,0	250	100	295	DOTTO; PINTO, 2011b
Filme	Acid red 18	298	7,0	500	20–100	194.6	DOTTO et al., 2013
Filme	Indigotina	298	7,0	500	20–100	154.8	DOTTO et al., 2013
Pó	Vermelho 40	308	6,0	250	50–500	529	PICCIN et al., 2011
Flocos	Reativo vermelho 222	308	–	1000	50–600	494	WU et al., 2000
Esferas	Reativo vermelho 222	308	–	1000	50–600	1026	WU et al., 2000
Esferas de hidrogel	Vermelho Congo	308	5,0	800	50–1000	223.3	CHATTERJEE et al. 2009
Quitosana magnética	Vermelho Congo	298	6,0	1000	10–200	470.1	ZHU et al., 2012
Quitosana modificada com tetraetilenopentamina	Eosina Y	298	5,0	500	50–300	292.4	HUANG et al., 2011

Tabela 9: Parâmetros termodinâmicos para a adsorção dos corantes alimentícios pela esponja de quitosana.

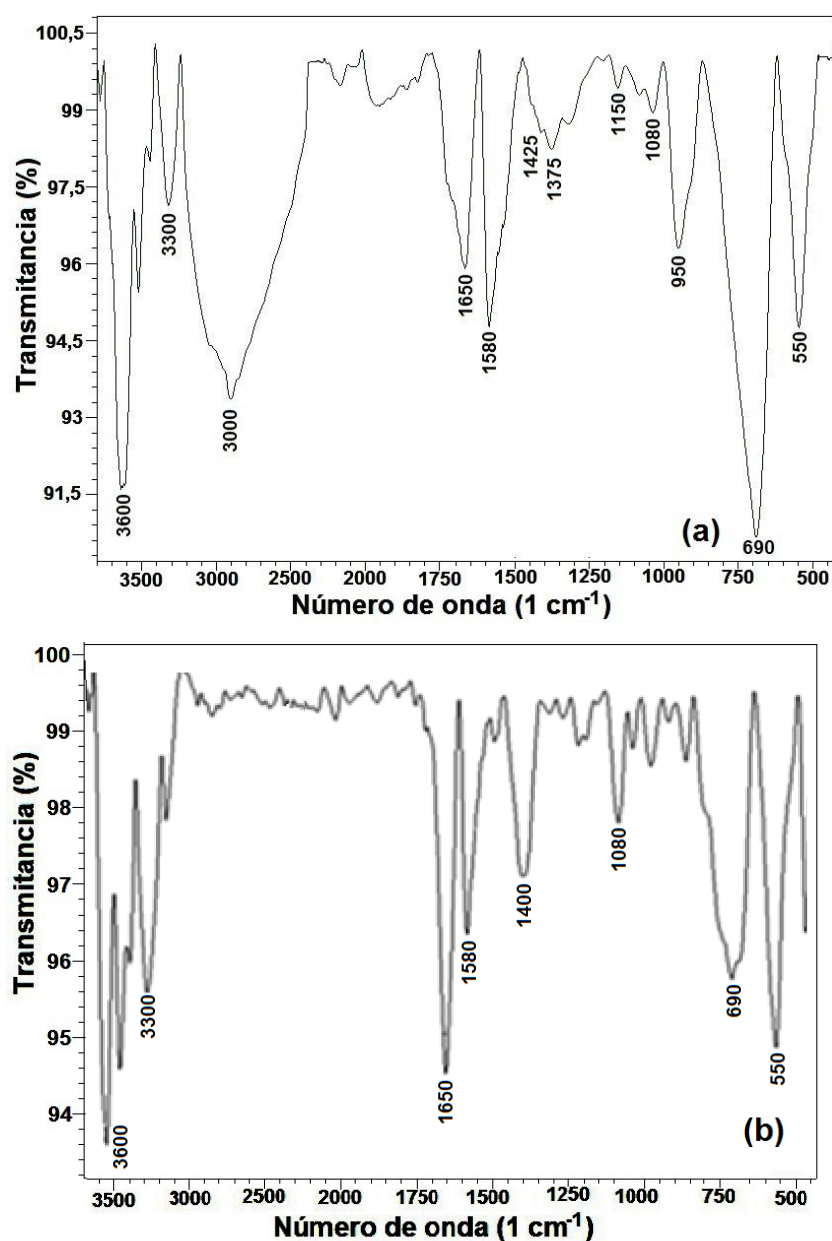
Corante	Temperatura (K)	k_D (L g ⁻¹)*	ΔG^0 (kJ mol ⁻¹)*	ΔH^0 (kJ mol ⁻¹)*	ΔS^0 (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)*	$T\Delta S^0$ (kJ mol ⁻¹)*
Indigotina	298	60,61±0,23	-27,26±0,02			-12,52±0,01
	313	33,07±0,45	-27,05±0,01	-40,01±0,73	-0,042±0,001	-13,15±0,01
	328	13,92±0,21	-25,97±0,04			-13,78±0,01
Vermelho 40	298	72,18±0,69	-27,69±0,03			-15,79±0,01
	313	26,25±0,56	-26,45±0,01	-43,28±0,41	-0,053±0,001	-16,59±0,01
	328	14,85±0,28	-26,14±0,01			-17,38±0,01
Amarelo tartrazina	298	4,85±0,07	-21,01±0,06			-13,41±0,01
	313	1,98±0,11	-19,75±0,01	-34,35±0,52	-0,045±0,001	-14,08±0,01
	328	1,39±0,08	-19,69±0,01			-14,76±0,01
Amarelo Crepúsculo	298	7,33±0,98	-22,03±0,09			-10,13±0,01
	313	2,99±0,01	-20,79±0,17	-32,06±0,55	-0,034±0,001	-10,64±0,01
	328	2,29±0,02	-21,05±0,51			-11,15±0,01
Amaranto	298	11,14±0,34	-23,07±0,01			-1,79±0,01
	313	7,01±0,27	-23,01±0,01	-24,91±0,32	-0,006±0,001	-1,88±0,01
	328	4,49±0,37	-22,88±0,08			-1,97±0,01

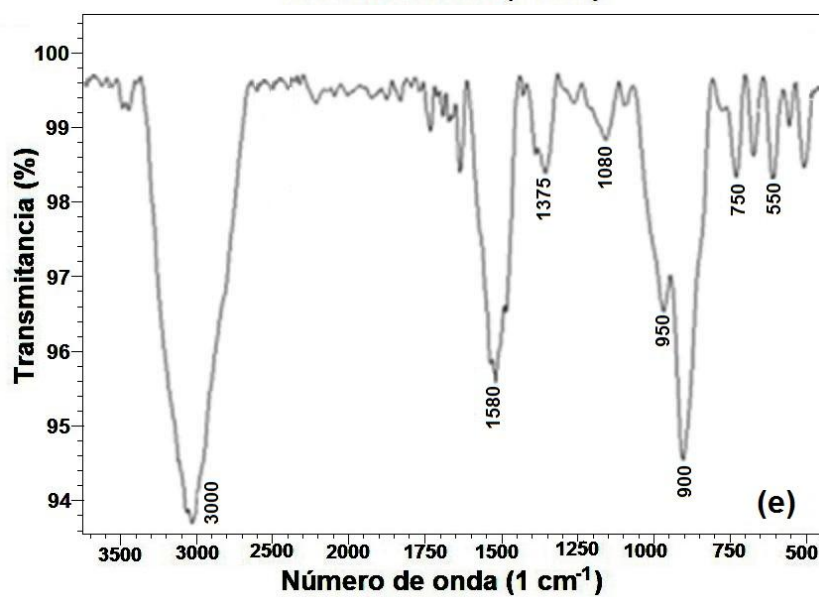
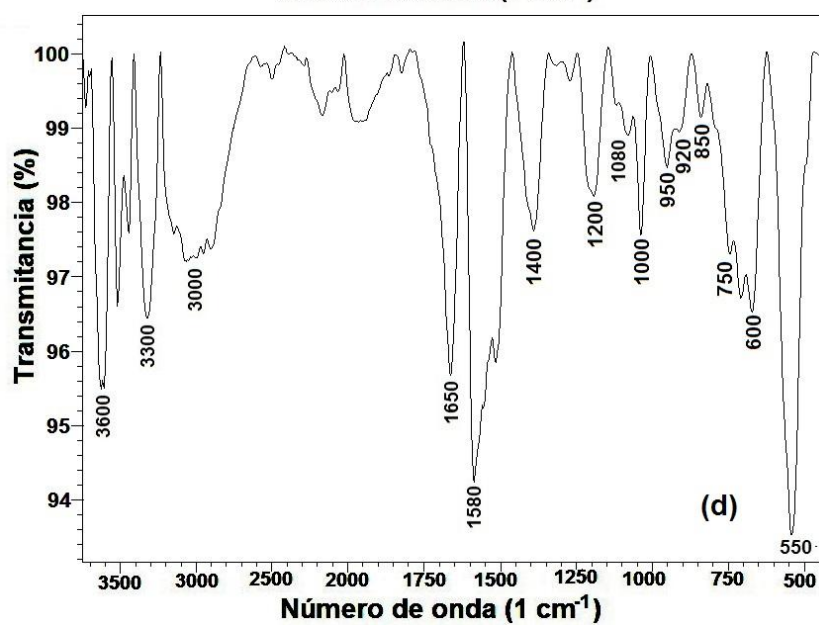
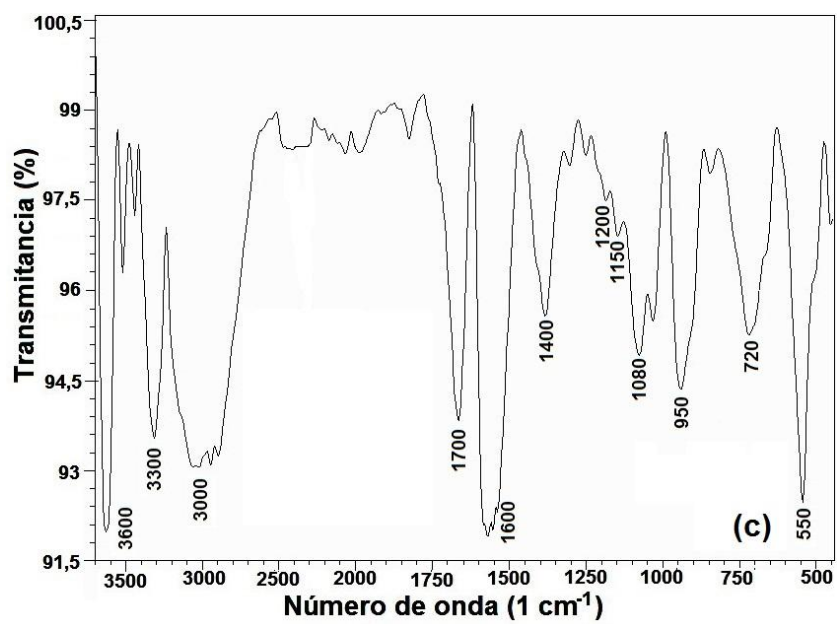
* Média ± erro padrão (n = 3).

6.3.3. Análises de interação entre a esponja e os corantes

As interações entre os corantes e a esponja de quitosana foram investigadas por análises de FT-IR, MEV, mapeamentos de raios-X e parâmetros de cor. Os espectros de FT-IR das esponjas de quitosana adsorvidas com os corantes estão mostrados na Figura 20.

Figura 20: Espectro FT-IR da esponja de quitosana após o processo de adsorção com os corantes: (a) indigotina, (b) vermelho 40, (c) amarelo tartrazina, (d) amarelo crepúsculo e (e) amaranço.





Nos espectros FT-IR da esponja de quitosana após a adsorção (Figura 20) podem ser verificadas algumas modificações em relação ao espectro da esponja antes do processo de adsorção (Figura 14). As principais alterações ocorreram entre os números de onda $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (correspondentes ao alongamento da ligação N-H) e $1580-1520\text{ cm}^{-1}$ (correspondentes a ligação C-N), indicando que os grupos amina da quitosana foram envolvidos por interações com os corantes alimentícios. Além disso, houve o aparecimento de picos correspondentes a ligações simétricas ($1425-1375\text{ cm}^{-1}$) e assimétricas ($1200-1150\text{ cm}^{-1}$) entre enxofre e oxigênio ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$). Isso mostra que os grupos sulfonados presentes nos corantes foram envolvidos nas interações com a esponja de quitosana.

As imagens de MEV e os mapeamentos de raios-X da esponja de quitosana antes e após adsorção estão ilustrados na Figura 21. A Figura 21(a) mostra a microestrutura porosa da quitosana antes do processo de adsorção. Após a adsorção com os corantes (Figura 21(b-f)) os poros desapareceram e a superfície foi preenchida. Além disso, os mapeamentos de raio-X, após o processo de adsorção (Figura 21(b-f)) revelaram a presença de enxofre ao longo da superfície da esponja. Estes resultados confirmam que os corantes alimentícios se aderiram a estrutura de quitosana.

Os parâmetros de cor da esponja de quitosana antes e depois da adsorção estão mostrados na Tabela 10. Esta tabela mostra uma diminuição na valores L^* , indicando que a esponja de quitosana escureceu depois do processo de adsorção. A partir dos valores H_{ab} , verificou-se uma coloração bege para a esponja de quitosana antes do processo de adsorção. No entanto, após a adsorção, a esponja adquiriu a coloração característica de cada corante. Os valores de ΔE_{ab}^* revelaram uma forte variação de cor na esponja de quitosana após a adsorção com os corantes. Estes parâmetros de cor (L^* , H_{ab} e ΔE_{ab}^*) mostram que a esponja de quitosana foi fortemente colorida durante a adsorção, demonstrando a sua elevada afinidade com os corantes.

Figura 21: Imagens de MEV e mapeamentos de raio-x do enxofre para a esponja de quitosana (a) antes do processo de adsorção (b) adsorvida com indigotina, (c) adsorvida com vermelho 40, (d) adsorvida com amarelo tartrazina, (e) adsorvida com amarelo crepúsculo e (f) adsorvida com vermelho amaranato.

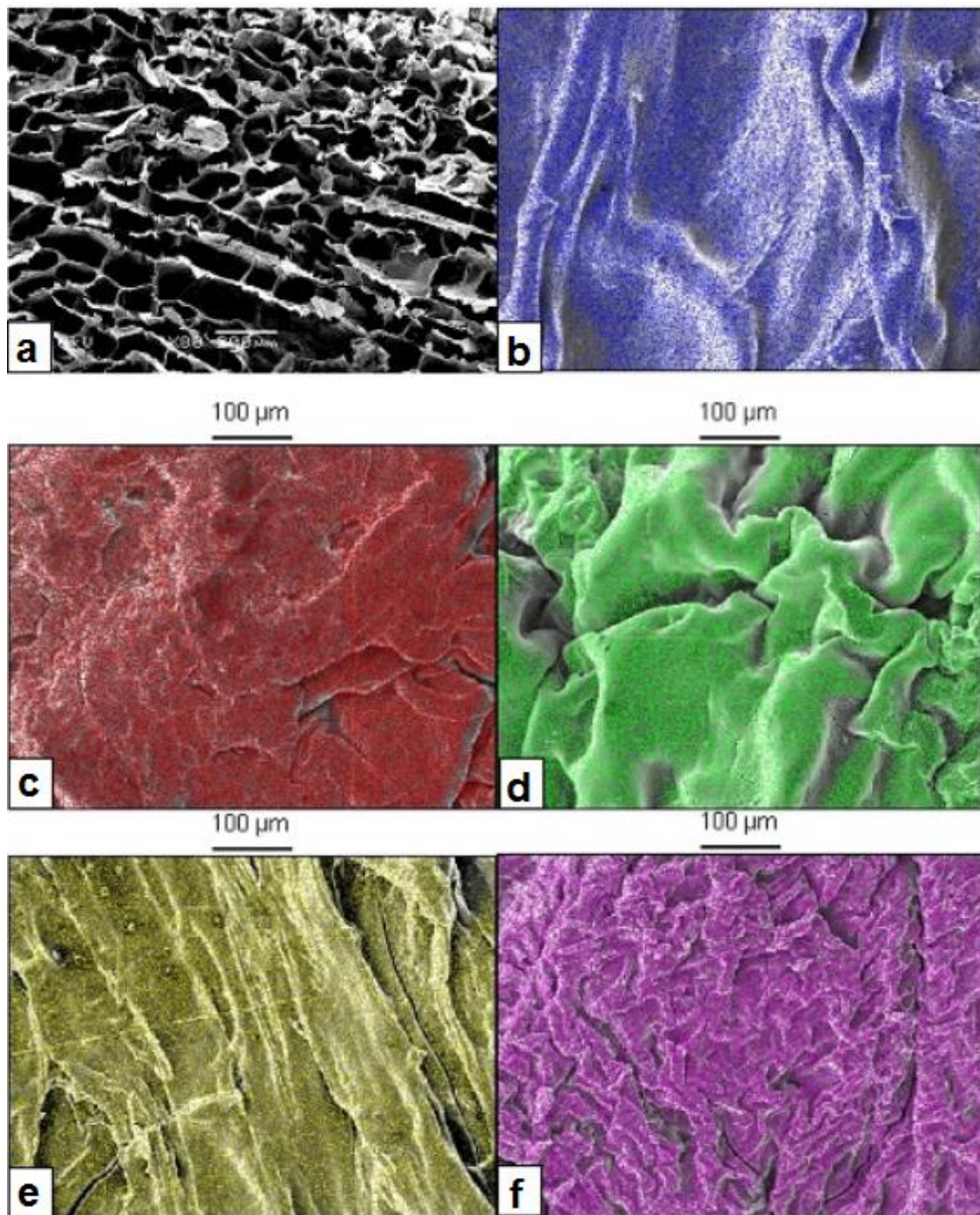


Tabela 10: Parâmetros de cor da esponja de quitosana antes e após o processo de adsorção.

Esponja de Quitosana	L*	a*	b*	H _{ab} (°)	ΔE _{ab} *
Antes da Adsorção	86,8±0,2	1,02±0,05	13,15±0,34	85,5±0,1	0
Adsorvida com indigotina	36,0±2,4	-5,57±0,58	2,84±0,21	236,9±2,6	55,7±7,2
Adsorvida com vermelho 40	20,0±0,3	34,60±0,50	12,65±0,38	20,1±0,3	74,8±0,1
Adsorvida com amarelo tartrazina	62,4±0,7	22,79±0,62	78,76±0,87	73,8±0,4	73,3±0,6
Adsorvida com amarelo crepúsculo	38,0±3,0	43,68±1,32	38,76±2,43	41,6±1,8	69,7±1,7
Adsorvida com vermelho amaranço	15,3±2,3	14,94±2,59	2,84±0,21	10,7±1,6	73,6±5,7

*média ± erro padrão (n=3).

Com base nas análises de FT-IR, MEV, mapeamentos de raios-X, parâmetros de cor e parâmetros termodinâmicos (apresentados nas Tabelas 9 e 10), pode-se dizer que ocorreram interações eletrostáticas entre a esponja megaporosa de quitosana (devido aos grupamentos amino) e os corantes alimentares (que contém grupos sulfonados). Este mecanismo de interação também foi verificado em outras pesquisas, que utilizaram materiais a base de quitosana como adsorventes (CRINI; BADOT, 2008; DOTTO; PINTO, 2011a; MAHMOODI et al., 2011; WAN NGAH et al., 2011; CHENG et al., 2012).

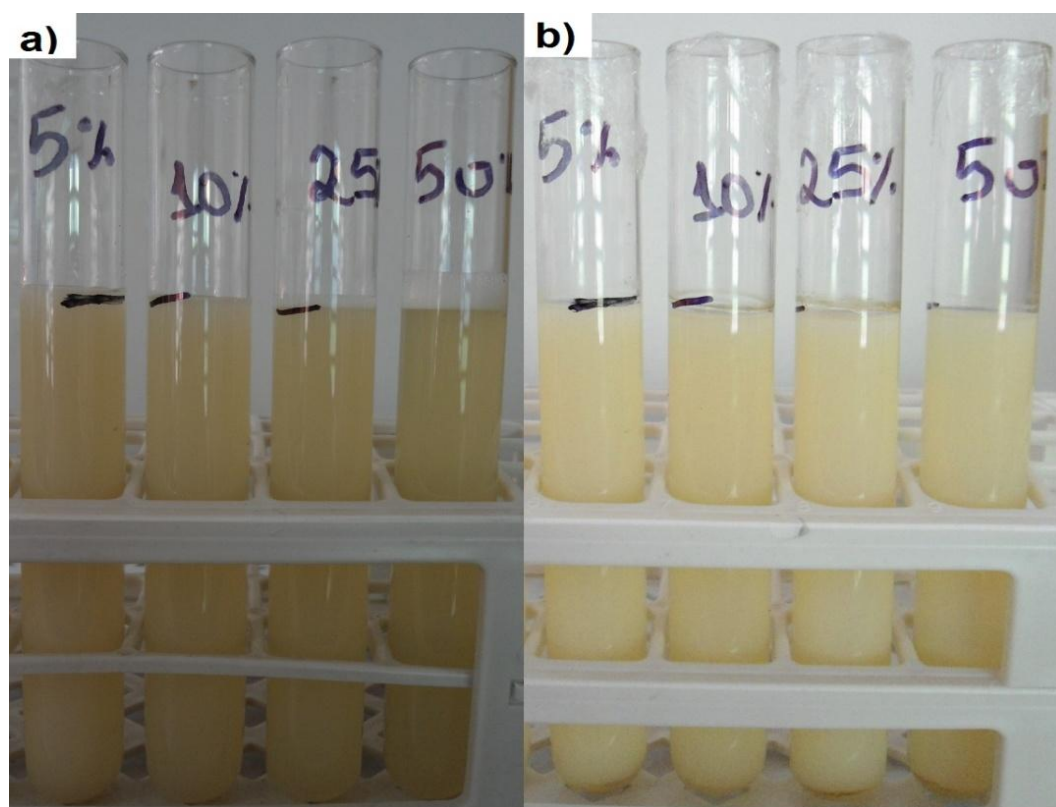
6.4. Microestrutura de nanocápsulas de quitosana com concentrados de AGI

Inicialmente, foi verificada qual concentração de emulsificante (Tween 80) era necessária para a formação da emulsão de nanocápsulas. Nesta etapa também foi avaliada a estabilidade das emulsões. A Figura 22 apresenta as emulsões formadas com

diferentes proporções de emulsificante (5, 10, 25 e 50 g/100g). A partir desta figura pode-se perceber que todas as concentrações de emulsificantes utilizadas foram capazes de formar emulsões com elevada estabilidade. Sendo assim, foi escolhida a concentração de 5 g/100g de Tween 80 para a elaboração das microestruturas.

Além disso, as emulsões contendo os concentrados de ácidos graxos insaturados se mantiveram estáveis ao longo de 40 dias (Figura 22 (b)), não havendo separações de fase independente das proporções de tensoativo utilizadas. A capacidade da quitosana de formar emulsões pode ser justificada devido a este polissacarídeo possuir zonas hidrofílicas, ricas em glucosamina, e zonas hidrofóbicas, ricas em N-acetil-glucosamina. Essas zonas permitem que ela consiga realizar ligações nas interfaces água/óleo (KLAYPRADIT; HUANG, 2008).

Figura 22: Emulsões de concentrados de ácidos graxos insaturados com Tween 80: (a) tempo zero, (b) após 40 dias.



6.4.1. Escolha do solvente da fase oleosa e do tempo de homogeneização

As emulsões contendo as nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados com quitosana foram preparadas (Figura 23) e liofilizadas (Figura 24) para a

formação da microestrutura e comparação dos solventes da fase oleosa (etanol e hexano). As características texturais da microestrutura formada podem ser observadas na Figura 25.

Figura 23: Imagem fotográfica das emulsões de nanocápsulas utilizando etanol (ET) e hexano (Hex) como solventes da fase oleosa.



Figura 24: Imagem fotográfica da microestrutura formada utilizando como solvente da fase oleosa: (a) etanol e (b) hexano.

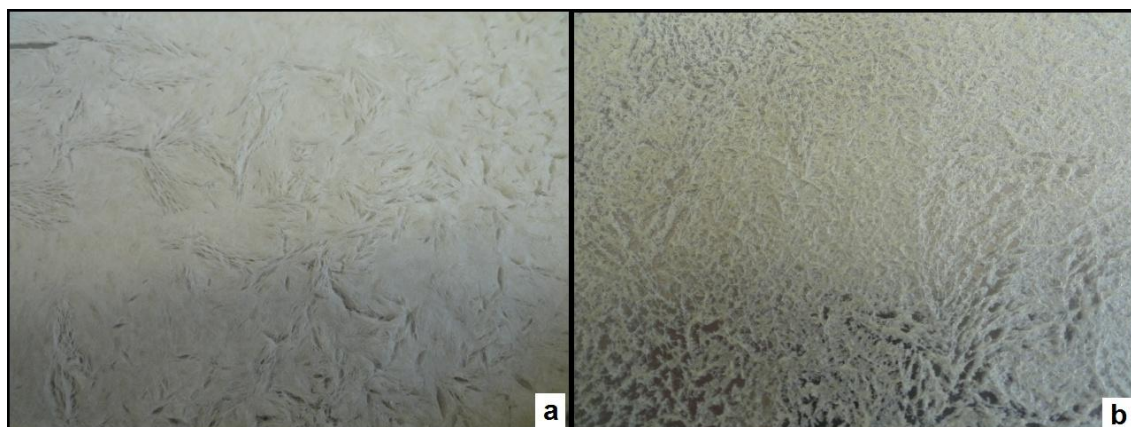
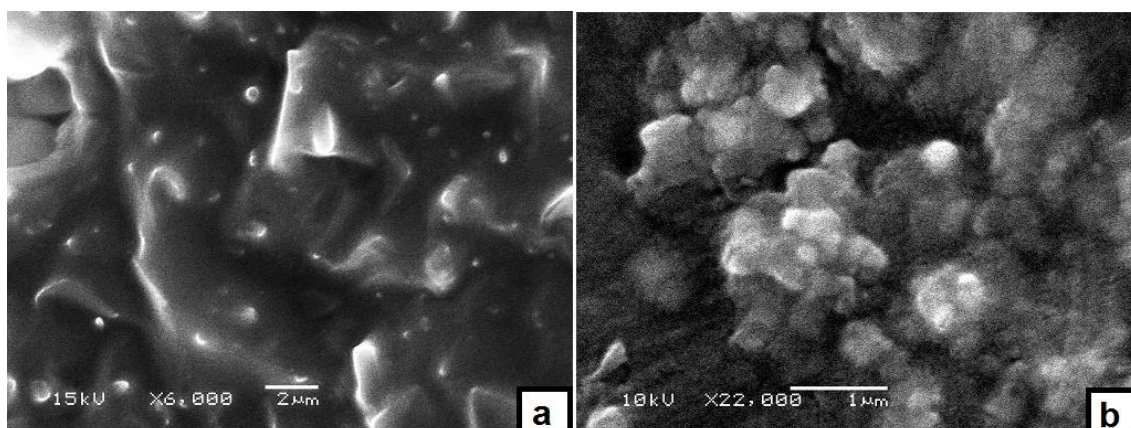


Figura 25: Imagens de MEV da microestrutura contendo as cápsulas de concentrados ácidos graxos insaturados com quitosana preparada: (a) com etanol e (b) com hexano.



Através das micrografias obtidas (Figura 25), observa-se que as cápsulas formadas apresentaram forma esférica irregular para ambos os solventes. As cápsulas que foram dissolvidas utilizando hexano (Figura 25 (b)) apresentaram formato mais irregular e uma estrutura aparentemente aglomerada. O aumento da proximidade entre as cápsulas produzidas utilizando hexano pode ser explicado devido ao fato do hexano ser um solvente apolar. Quando misturado aos solventes altamente polares (onde as cápsulas estão presentes), este provocou a repulsão das cápsulas, fazendo com que se aglomerassem. Por outro lado, o etanol pode ter permitido uma maior dispersão da emulsão devido a sua estrutura polar (Figura 25 (a)). Kolanowski et al. (2006) na análise microscópica de microcápsulas de óleo de pescado elaboradas por spray drying observou que a superfície das amostras foi suave e irregular.

A eficiência de encapsulação foi de 79,6% para o solvente etanol e de 69,4% para o hexano. Comparando estes resultados com a análise de MEV, pode-se confirmar que o solvente etanol tem uma melhor capacidade para tornar as cápsulas mais estáveis. Yuen et al. (2012) encontrou valores de eficiência de encapsulação variando entre 56,66 e 96,81% na produção de microcápsulas de fármaco revestidos com quitosana. No recobrimento cápsulas de óleo de pescado com quitosana Klaypradit e Huang (2008) encontraram valores entre 79 e 83%.

Também foi realizada a análise de índice de peróxido das microestruturas a fim de verificar o estado de oxidação do concentrado de AGI presentes nas cápsulas no tempo zero (ao sair do liofilizador) e após 15 e 30 dias. Os valores de índice de peróxido estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Índice de peróxido ($\text{meq}\cdot\text{kg}^{-1}$) das nanocápsulas de concentrados de AGI

Solvente	Tempo zero*	15 dias*	30 dias*
Etanol	$3,77 \pm 0,20$	$3,96 \pm 0,18$	$3,95 \pm 0,10$
Hexano	$5,76 \pm 0,17$	$5,91 \pm 0,13$	$5,99 \pm 0,15$

*média±erro padrão (n=3).

A partir dos resultados obtidos na Tabela 11, pode-se observar que todas as amostras se apresentaram dentro dos limites de acordo com os parâmetros estipulados pela legislação (ANVISA, 1999), sendo o máximo permitido é de $10 \text{ meq}\cdot\text{kg}^{-1}$. Quando utilizado etanol como solvente, os valores do índice de peróxido foram inferiores (Tabela 11), mostrando que o uso de etanol é mais apropriado para a conservação das nanocápsulas em relação á oxidação primária. Além disso, não houve diferença entre os índices de peróxido após 30 dias, indicando que a encapsulação foi eficiente para evitar o aumento da oxidação primária destes AGI concentrados durante este período de tempo.

Considerando-se os resultados obtidos para o índice de peróxido e eficiência de encapsulação, o etanol foi fixado como solvente da fase oleosa, e a o tempo de homogeneização das fases oleosa e líquida foi aumentado de 5 para 10 min a fim de verificar o efeito da taxa de agitação no tamanho das nanocápsulas.

As Figuras 26 e 27 apresentam a distribuição granulométrica e a função de auto correlação (obtida por espalhamento de luz dinâmico) da emulsão de nanocápsulas agitada por 5 e 10 min, respectivamente.

A função de auto correlação relativa asnanocápsulas em emulsão (Figuras 26 (a) e 27 (a)) apresentou um comportamento unimodal. Isso mostra a pequena variação no tamanho das nanocápsulas e também que estas são estáveis em suspensão (BRAR; VERMA, 2011). As Figuras 26 (b) e 27 (b) mostram que as nanocápsulas apresentaram umadistribuição concentrada no diâmetro médio. A Tabela 12 apresenta os tamanhos médios e os índices de polidispersão para as nanocápsulas obtidas com homogeneização de 5 e 10 min.

Figura 26: (a) Função de auto correlação e (b) distribuição granulométrica das nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados com quitosana (homogeneização de 5 min).

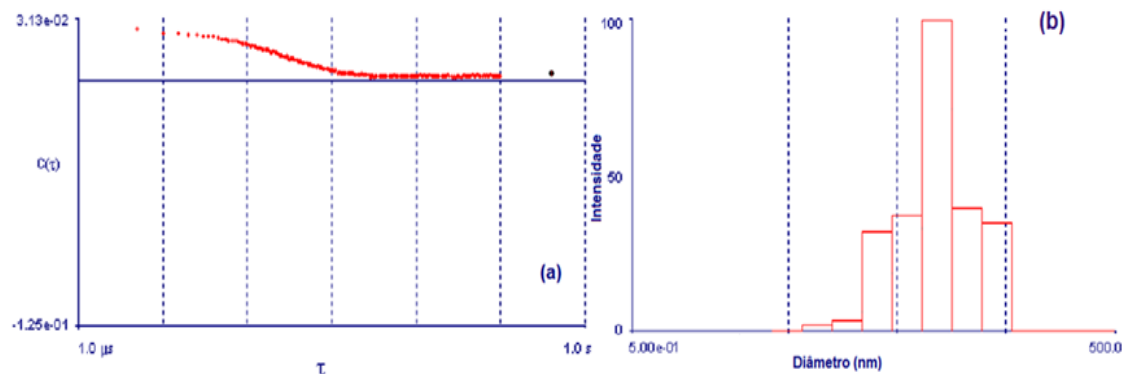


Figura 27: (a) Função de auto correlação e (b) distribuição granulométrica das nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados com quitosana (homogeneização de 10 min).

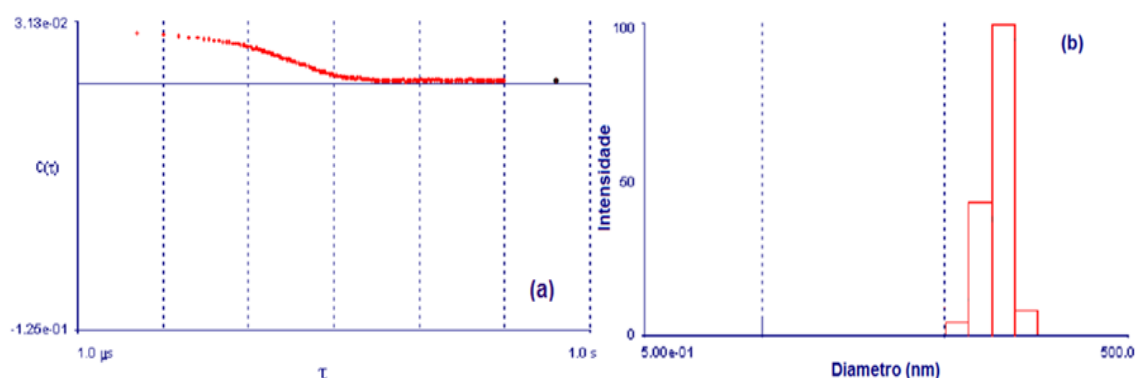


Tabela 12: Diâmetro médio e polidispersão das nanocápsulas elaboradas utilizando diferentes tempos de homogeneização.

Tempo	Diâmetro médio (nm)	Polidispersão
5 min	134,2	0,34
10 min	87,5	0,32

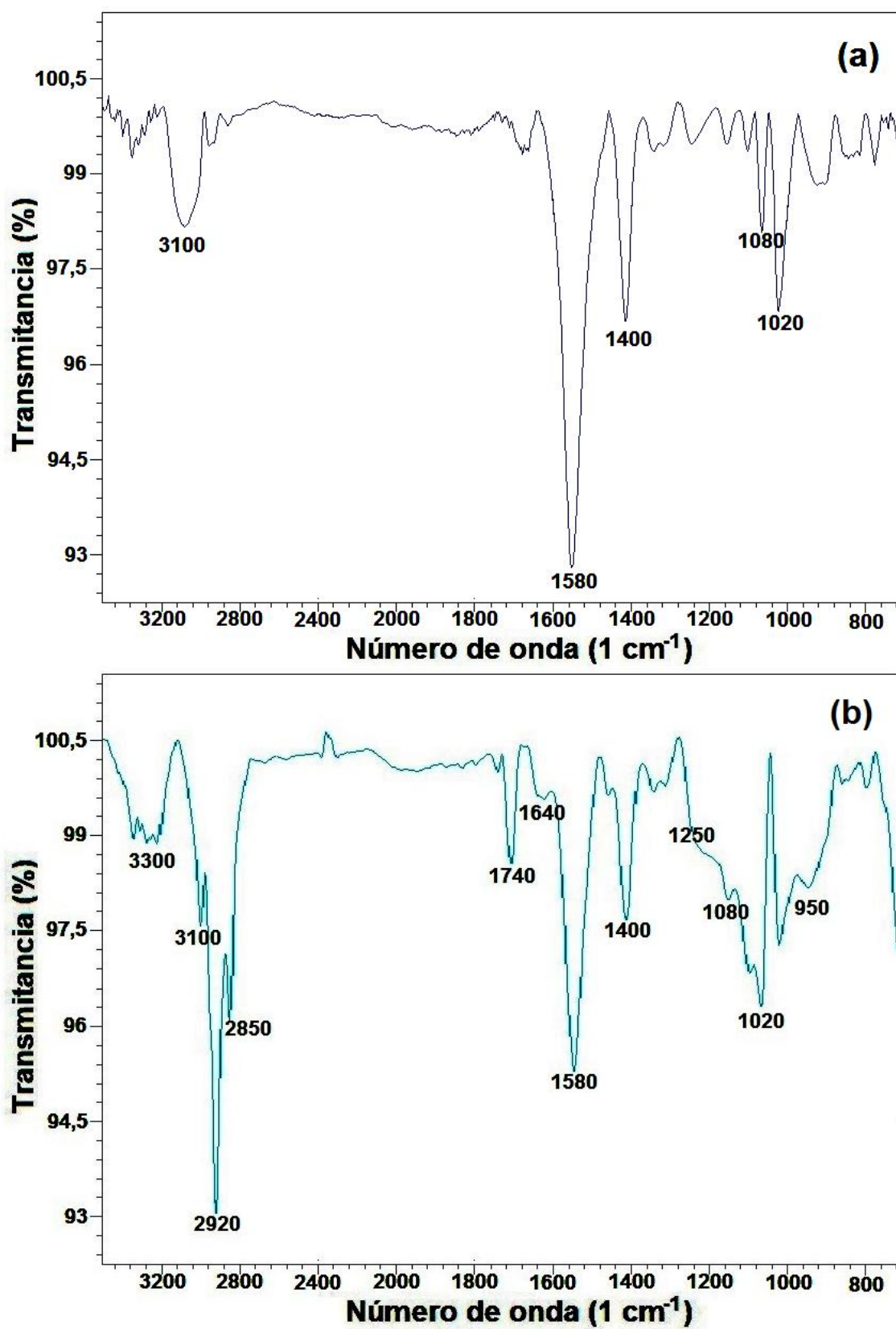
Como pode ser observado na Tabela 12, o diâmetro médio das nanocápsulas presentes nas emulsões diminuiu com o aumento do tempo de homogeneização. O

índice de polidispersão, que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, foi baixo ($< 0,35$) para as duas emulsões obtidas, indicando a formação de sistemas monodispersos.

A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a emulsão preparada com o maior tempo de homogeneização (10 min) foi a que apresentou o menor diâmetro médio e menor índice de polidispersão. Sendo assim, esta foi escolhida para ser caracterizada quanto aos seus grupamentos funcionais (FT-IR), morfologia (MEV), composição elementar (EDX), rendimento de processo e cor. A Figura 28 apresenta os espectros FT-IR da quitosana pura e da emulsão de nanocápsulas.

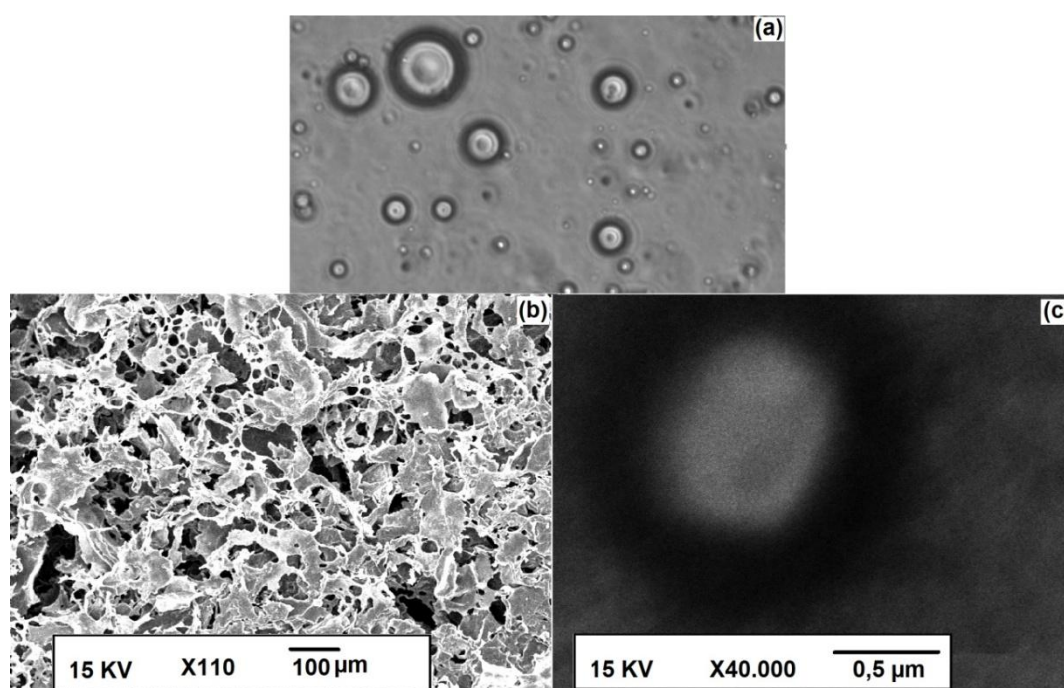
Na Figura 28 (a) podemos identificar as bandas 3100, 1580, 1400, 1080 e 1020 cm^{-1} , típicas de um espectro de quitosana (DOTTO et al., 2013). A banda em 3100 cm^{-1} é relativa às ligações N-H da amina. O estiramento da ligação C-N de amida pode ser observado em 1580 cm^{-1} . Em 1400 cm^{-1} foi observada a deformação angular das ligações C-O-H e H-C-H. As bandas em 1080 e 1020 cm^{-1} são relativas à ligação C-N de amina. Ao comparar a Figura 28 (a) com a Figura 28 (b) pode-se observar algumas alterações. Houve uma alteração no formato do pico em 3100 cm^{-1} , essa deformação está associada a um hidrogênio ligado a um carbono insaturado. Ainda observa-se o aparecimento das novas bandas: 3300, 2920, 2850 e 1740, 1640, 1250 e 950 cm^{-1} . O pico em 3300 corresponde a ligação O-H, de um oxigênio que está ligado a um carbono. As bandas em 2920 e 2850 cm^{-1} representam as ligações simétricas e assimétricas da ligação $-\text{CH}_2-$, respectivamente. A banda de 1740 cm^{-1} representa a ligação dupla entre carbono e oxigênio (C=O). A deformação na banda em 1640 cm^{-1} corresponde a insaturação de carbonos referente a ligação dupla entre eles. Além disso ocorreu a tendência da formação de uma banda por volta de 1250 cm^{-1} relativa a ligação C-O dos ésteres de ácidos graxos formados após a hidrólise. O aparecimento da banda em torno de 950 cm^{-1} está associado a sobreposição das vibrações angulares para fora do plano dos grupos $-\text{HC}=\text{CH}-$ (cis e trans). O aparecimento destes novos picos (Figura 28 (b)) representa a presença dos concentrados de ácidos graxos insaturados.

Figura 28: Espectros FT-IR: (a) quitosana pura e (b) emulsão de nanocápsulas.



A Figura 29 apresenta as imagens microscópicas da emulsão de nanocápsulas antes e após a sua secagem por liofilização. Como pode-se observar nas Figuras 28 (a) e (c), as cápsulas formadas apresentam-se sob a forma esférica, com uma parede (revestimento) definido, representando o revestimento do biopolímero. Comportamento parecido foi encontrado por Siqueira (2008) na elaboração de nanocápsulas de benzofenona-3 revestidas com quitosana. Ainda na Figura 29 (b) percebe-se a formação de uma microestrutura de quitosana com as nanocápsulas lipídicas. Anwar e Kunz (2011) encontraram estrutura semelhante na secagem de microcápsulas de óleo de pescado por liofilização, descrevendo-a como irregular, muito leve e altamente porosa.

Figura 29: Imagens microscópicas: (a) emulsão de nanocápsulas, e da microestrutura formada após a liofilização com aumento de (b) $\times 110$ e (c) $\times 40.000$.



A Figura 30 apresenta o espectro EDX da microestrutura contendo as nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados utilizando quitosana como agente encapsulante. Os principais elementos presentes na superfície da microestrutura foram carbono, nitrogênio, oxigênio e sódio, nas proporções de 72,94%, 19,43%, 6,58% e 1,05% respectivamente. A Tabela 13 apresenta os parâmetros de cor da microestrutura de nanocápsulas, comparada à microestrutura utilizando quitosana pura. A partir dos

valores H_{ab} , verificou-se uma coloração bege para ambas as microestruturas, e o baixo valor de ΔE_{ab}^* indicou que houve pouca diferença na cor da microestrutura após o encapsulamento. Klaypradit e Huang (2008), na produção de cápsulas de óleo de pescado revestidas com quitosana, verificou que o processo de encapsulação teve pouco efeito sobre a cor do produto acabado.

Figura 30: Espectro EDX da microestrutura contendo as naocápsulas.

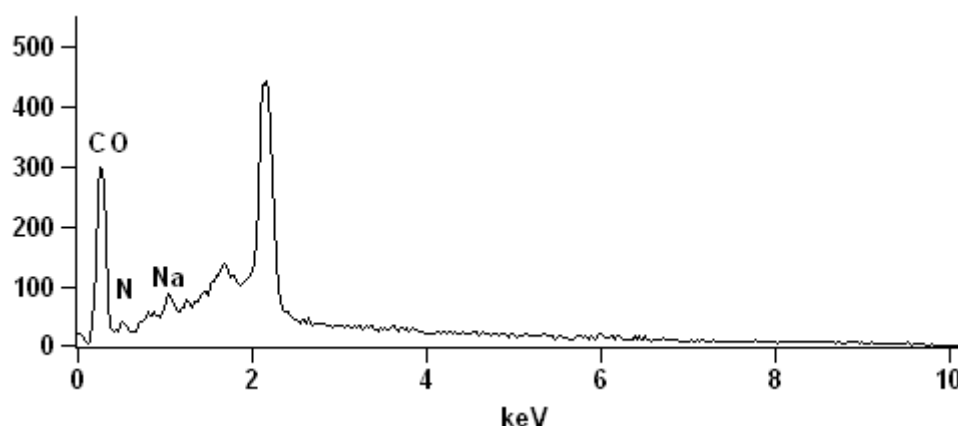


Tabela 13: Parâmetros de cor da quitosana e das nanocápsulas após secagem por liofilização.

Amostra	L*	a*	b*	Hab (°)	ΔE_{ab}^*
Quitosana Pura	$86,8 \pm 0,2$	$1,02 \pm 0,05$	$13,15 \pm 0,34$	$85,5 \pm 0,1$	-
Microestrutura com nanocápsulas	$78,1 \pm 1,0$	$0,69 \pm 0,10$	$18,49 \pm 0,92$	$86,9 \pm 0,5$	$8,7 \pm 0,1$

*média $\pm$ erro padrão (n=4).

Utilizando-se a Equação 18 foi possível calcular o rendimento do processo que foi de 98,9%. PENG et al., (2010) utilizando material a base de quitosana para encapsular óleo de alga encontrou valores de rendimento de processo acima de 94%. GONSALVES et al., (2008), encontrou um rendimento de 89% na microencapsulação de óleos essenciais por quitosana.

7. CONCLUSÃO

Neste trabalho foram elaboradas microestruturas de quitosana, para utilização como adsorvente de corantes alimentícios e como agente encapsulante de concentrados de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo de carpa (*Cyprinus carpio*).

A quitosana em pó foi obtida e apresentou grau de desacetilação e massa molar de 84,5% e 146 kDa, respectivamente. Os concentrados de ácidos graxos insaturados foram obtidos de vísceras de carpa, e apresentaram índice de peróxido de 3,1 mEq kg⁻¹ e percentual de ácidos graxos livres de 38,8%.

A microestrutura formada para a utilização como adsorvente apresentou-se semelhante a uma esponja megaporosa, com diâmetro de poros na ordem de 50–200 µm, área superficial de 1135 m² g⁻¹ e fração de vazios (porosidade) de 92%. Estes resultados obtidos são considerados elevados em comparação com outros materiais a base de quitosana apresentados na literatura.

As isothermas de equilíbrio de adsorção dos corantes alimentícios indigotina, vermelho 40, amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho amaranço pela esponja de quitosana foram estudadas em diferentes temperaturas. As isothermas obtidas foram caracterizadas como do tipo IV segundo a classificação de Giles, sugerindo que a adsorção ocorreu em multicamadas. O modelo de Langmuir em duas etapas foi adequado para a interpretação das isothermas de equilíbrio, corroborando a adsorção em multicamadas. Os parâmetros deste modelo indicaram que tanto a capacidade total de adsorção quanto a afinidade dos corantes pela esponja de quitosana foram favorecidas pela diminuição da temperatura. As capacidades totais de adsorção foram de 3032,3 mg g⁻¹, 3316,7 mg g⁻¹, 1077,9 mg g⁻¹, 788,8 mg g⁻¹ e 1551,6 mg g⁻¹ para os corantes indigotina, vermelho 40, amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho amaranço, respectivamente, mostrando que esponja megaporosa de quitosana é um promissor material adsorvente.

O comportamento termodinâmico da adsorção para os corantes foi avaliado de acordo com a entalpia, entropia e energia livre de Gibbs. Valores negativos de ΔG^0 e ΔH indicaram que a adsorção de todos corantes foi um processo espontâneo, favorável e exotérmico. Além disso, os valores de entalpia indicaram que a interação entre os corantes e a esponja de quitosana ocorreu por intermédio de ligações eletrostáticas. A

entropia negativa indicou que a desordem do sistema diminuiu durante o processo de adsorção.

Também foi elaborada uma microestrutura contendo nanocápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados utilizando quitosana como agente encapsulante. A metodologia utilizada para a produção da microestrutura foi a elaboração de nanoemulsão com posterior evaporação do solvente por liofilização. O efeito do tipo de solvente da fase oleosa no preparo de nanocápsulas de concentrados de AGI revestidas com quitosana foi avaliado.

As nanocápsulas obtidas utilizando-se etanol e hexano como solventes apresentaram eficiência de encapsulação de 79,6% e 69,4%, respectivamente. As nanocápsulas preparadas utilizando-se etanol como solvente apresentaram valores de índice de peróxido inferiores, indicando uma menor oxidação primária. Não houve diferença entre os índices de peróxido após 30 dias. O etanol foi o solvente mais apropriado para a obtenção das nanocápsulas, as quais mostraram potencial para evitar o aumento da oxidação primária dos concentrados de AGI. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a emulsão preparada com o maior tempo de homogeneização (10 min) foi a que apresentou o menor diâmetro médio (87,5 nm) e menor índice de polidispersão (0,32). A microestrutura contendo as nanocápsulas apresentou características texturais satisfatórias e alto rendimento de processo mostrando que a quitosana tem potencial para ser utilizada como agente encapsulante de nanocápsulas lipídicas.

8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A elaboração de microestruturas de quitosana para aplicações em adsorção de corantes e em nanocápsulas lipídicas se mostrou eficiente. Apesar disso, outros trabalhos ainda podem ser gerados a partir deste tema a fim de dar prosseguimento ao conhecimento desenvolvido neste estudo.

No que tange a microestrutura adsorvente, podem ser sugeridos:

- Verificar o comportamento da adsorção ao longo do tempo através de estudos cinéticos, e também definir um modelo apropriado para representar o processo.
- Estudar a dessorção.
- Preparação de uma estrutura porosa com incorporação de materiais que possam aumentar a resistência da estrutura à base de quitosana.
- Uso da esponja de quitosana para a remoção de corantes em sistema binário
- Estudo do efeito do pH na estrutura da esponja de quitosana.
- Comparação da capacidade de adsorção da esponja de quitosana na adsorção de corantes aniônicos e catiônicos, fármacos, fenóis e metais.

Quanto a preparação da microestrutura contendo as nanocápsulas, pode-se sugerir:

- Utilização de outras fontes lipídicas para a fase oleosa da emulsão.
- Verificar a influência da adição de temperatura durante o preparo da emulsão na qualidade das nanocápsulas produzidas.
- Elaboração de cápsulas com multicamadas, a fim de verificar se estas proporcionam maior proteção contra oxidação.
- Comparar os métodos de secagem - liofilização e atomização (spray drying) - da emulsão contendo as nanocápsulas.
- Incorporação de fármacos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, W. S.; LIMA, E. C.; ROYER, B.; SANTOS, B. D.; CALVETE, T.; SILVA, E. A.; ALVES, C. N. Application of acai stalks as biosorbents for the removal of the dye procion blue mx-r from aqueous solution. **Separation Science and Technology**, v. 47, p. 513–526, 2012.
- ALSARRA, I. A.; BETIGERI, S. S.; ZHANG, H.; EVANS, B. A.; NEAU, S. H. Molecular weight and degree of deacetylation effects on lipase-loaded chitosan bead characteristics. **Biomaterials**, v. 23, p. 3637-3644, 2002.
- ANVISA: Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871/65 de 26 de março de 1965. Portaria no 540/97, de 27 de outubro de 1997. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. (1997).
- ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> (1999).
- ANWAR, S. H.; KUNZ, B. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 367–378, 2011.
- AOCS. **American Oil Chemists' Society**. Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society, 3rd edn. USA, Champaign, 1980.
- ASSIS, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; HERNÁNDEZ, C. P.; SOARES, L. A. S. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.
- BLÁZQUEZ, G.; CALERO, M.; HERNÁNZ, F.; TENORIO, G.; MARTÍN-LARA, M. A. Equilibrium biosorption of lead(II) from aqueous solutions by solid waste from olive-oil production. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, p. 615–622, 2010.
- BOSS, A. E.; FILHO, M. R.; DE TOLEDO, V. C. E. Freeze drying process: real time model and optimization. **Chemical Engineering and Processing**, v. 43, p. 1475-1485, 2004.
- BRAR, S.K.; VERMA, M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 4-17, 2011.
- BRUCE, J.; PECORA, R. **Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics**. New York, Dover publications, 2000.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L.. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, v. 30 n. 3, p. 644-650, 2007.
- CARDOSO, N.F.; LIMA, E. C.; ROYER, B.; BACH, M. V.; DOTTO, G.L.; PINTO, L.A. A.; CALVETE, T. Comparison of *Spirulina platensis* microalgae and commercial

activated carbon as adsorbents for the removal of Reactive Red 120 dye from aqueous effluents. **Journal of Hazardous Materials**, v. 241–242, p. 146–153, 2012.

CHATTERJEE, S.; LEE, D. S.; LEE, M. W.; WOO, S.H. Enhanced adsorption of Congo red from aqueous solutions by chitosan hydrogel beads impregnated with cetyl trimethyl ammonium bromide. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2803–2809, 2009.

CHENG, J. S.; DU, J.; ZHU, W. Facile synthesis of three-dimensional chitosan–graphene mesostructures for reactive black 5 removal. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 61–67, 2012.

CIOLA, R. **Fundamentos da catálise**. São Paulo, Editora Moderna, 1ª edição, 1981.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. **Corantes alimentícios**. Boletim da CEPPA. v. 20 no. 2, p. 203–220, 2002.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. **Quitosana: a Fibra do Futuro**. Parque de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC, Fortaleza, CE, 1999.

CREXI, V. T.; MONTE, M. L.; MONTE, M. L.; PINTO, L. A. A. Polyunsaturated Fatty Acid Concentrates of Carp Oil: Chemical Hydrolysis and Urea Complexation. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 89, p. 329–334, 2012.

CREXI V. T.; MONTE, M. L.; SOUZA-SOARES, L. A.; PINTO, L.A.A. Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. **Food Chemistry**, v. 119, p. 945–950, 2010.

CREXI, V. T.; SOUZA-SOAREZ, L. A.; PINTO, L. A. A. Carp (*Cyprinus carpio*) oils obtained by fishmeal and ensilage processes: characteristics and lipid profiles. **International Journal of Food Science & Technology**, v.44, p.1642–1648, 2009.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature. **Progress in Polymer Science**, v. 33 p. 399–447, 2008.

DE JAEGERE, F.; ALLEMANN, E.; FEIJEN, J.; KISSEL, T.; DOELKER, E.; GURNY, R. Formulation and lyoprotection of poly(lactic acid-co-ethylene oxide) nanoparticles: influence on physical stability and in vitro cell uptake. **Pharmaceutical Research**, v.16, n.6, p.859–66, 1999.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgae, products and applications. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1959–1967, 2006.

DOTTO, G.L.; MOURA, J.M.; CADAVAL JR., T.R.S.; PINTO, L.A.A. Application of chitosan films for the removal of food dyes from aqueous solutions by adsorption. **Chemical Engineering Journal**, v. 214, p. 8–16, 2013.

DOTTO, G. L.; PINTO, L.A.A. Adsorption of food dyes onto chitosan: Optimization process and kinetic. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 231–238, 2011a.

DOTTO, G. L.; PINTO, L.A.A. Adsorption of food dyes acid blue 9 and food yellow 3 onto chitosan: Stirring rate effect in kinetics and mechanism. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, p. 164-170, 2011.

DOTTO, G. L.; SOUZA, V. C.; PINTO, L. A. A. Drying of chitosan in a spouted bed: The influences of temperature and equipment geometry in powder quality. **LWT -Food Science and Technology International**, v. 44, p. 1786-1792, 2011.

ELWAKEEL, K. Z. Removal of Reactive Black 5 from aqueous solutions using magnetic chitosan resins. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, p. 383–392, 2009.

FLAJŠHANS M. E HULATA, G. Common carp - *Cyprinus carpio*. **Genimpact Final Scientific Report**, 2007.

FOUST, S. A.; WENZEL, A.; LUMP, W. C.; MAUS, L.; ANDERSEM, B. L. **Princípios das Operações Unitárias**. 2ª Edição, LTC-Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, Editora AS, 1982.

FURTADO, M. Corantes: Indústria de alimentos adere aos corantes naturais. **Química e Derivados**, v. 421, 2003.

GEANKOPLIS, C. J. **Procesos De Transporte Y Operaciones Unitarias**. México, Companhia Editorial Continental S. A. 3ª Edição, 1998.

GILES, C. H.; MACEWAN, T. H.; NAKHWA, S. N.; SMITH, D. Studies in adsorption part XI: A system of classification of solution adsorption isotherms and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society**, p.3973–3993, 1960.

GONSALVES, J. K. M. C.; COSTA, A. M. B; DE SOUSA, D. P.; AVALCANTI, S. C. H.; NUNES, R. S. Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, v. 5, p. 111102, 2009.

GOLDSTEIN, J.I.; NEWBURY, D.E., ECHIL, P.; JOY, D.C.; ROMIG JR., A. D.; LYMAN, C. E.; FIORI, C.; LIFSHIN, E. **Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis**. New York: Plenum Press, 1992.

GUIBAL, E. Interactions of metals ions with chitosan-based sorbents: a review. **Separation and Purification Technology**, v. 38, p. 43-74, 2004.

GUPTA, V. K.; SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal- A review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 2313-2342, 2009.

HUANG, X.Y.; MAO, X.Y.; BU, H.T.; YU, X.Y.; JIANG, G.B.; ZENG, M.H. Chemical modification of chitosan by tetraethylenepentamine and adsorption study for anionic dye removal, **Carbohydrate Research**, v. 346, p. 1232–1240, 2011.

IBAMA. **Estatística da Pesca 2010. Brasil - Grandes regiões e unidades de federação**. Brasília, 2010.

IUPAC(International Union of Pure and Applied Chemistry).**Gold Book**. New York,IUPAC Ed., 2012.

KESTEMONT, P. Different systems of carp production and their impacts on the environment. **Aquaculture**, 129 p. 347-372, 1995.

KLAYPRADIT, W.; HUANG, Y. W. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1133–1139, 2008.

KNORR, D. Recovery and utilizations of chitin and chitosan in food processing waste management. **Food Technology**, p. 114-120, 1991.

KOBYLEWSKI, S.; JACOBSON, M.F. **Food Dyes: A Rainbow of Risks**. Washington, Center for Science in the Public Interest, 2010.

KOLANOWSKI, W.; ZIOLKOWSKI, M.; WEIßBRODT, J.; KUNZ, B.; LAUFENBERG, G. Microencapsulation of fish oil by spray drying–impact on oxidative stability. Part 1. **European Food Research and Technology**, v. 222 p. 336–342, 2006.

KOPRIVANAC, N.; KUSIC, H. **Hazardous Organic Pollutants in Colored Wastewaters**. New York: New Science Publishers, 2008.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.

LARANJEIRA M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**; v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LEYVA–RAMOS, R.; OCAMPO–PEREZ, R.; MENDOZA–BARRON, J. External mass transfer and hindered diffusion of organic compounds in the adsorption on activated carbon cloth. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 141–151, 2012.

LI, X.; ANTON, N.; ARPAGAU, C.; BELLETEIX, F.; VANDAMME, T. F. Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The buchi Nano Spray Dryer B-90. **Journal of Controlled Release**, v. 147, p. 404-310, 2010.

LIU, Z.F.; ZENG, G.M.; ZHONG, H.; YUAN, X.Z.; JIANG, L.; FU, H.Y.; MA, X.L.; ZHANG, J.C. Effect of saponins on cell surface properties of *Penicillium simplicissimum*: Performance on adsorption of cadmium(II). **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, p. 364-369, 2011.

MACHADO, F. M.; BERGMANN, C. P.; LIMA, E. C.; ROYER, B.; SOUZA, F. E.; JAURIS, I. M.; CALVETE, T.; FAGAN, S. B. Adsorption of Reactive Blue 4 dye from water solutions by carbon nanotubes: experiment and theory. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 14, p. 11139–11153, 2012.

MAHMOODI, N. M.; SALEHI, R.; ARAMI, M.; BAHRAMI, H. Dye removal from colored textile wastewater using chitosan in binary systems. **Desalination**, v. 267, p. 64–72, 2011.

MATSUNO, R.; ADACHI, S. Lipid encapsulation technology – Techniques and applications to food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, 1993.

MELO, A. R.; STIPP, N. A. F. A. Piscicultura em Cativeiro como Alternativa Econômica para as Áreas Rurais. **Geografia**. 2, 175-19, 2001.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; CASTRO, H. F.; GIORDANO, R. L.C. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 831-840, 2011.

METCALFE, L. D. A. A.; SCHIMITZ, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 38, p. 510, 1966.

MIRMOHSENI, A.; DORRAJI, M.; FIGOLI, A.; TASSELLI, F. Chitosan hollow fibers as effective biosorbent toward dye: Preparation and modeling. **Bioresource Technology**, v. 121, p. 212–220, 2012.

MUZZARELLI, C.; STANIC, V.; GOBBI, L.; TOSI, G.; MUZZARELLI, R. A. A. Spray-drying of solutions containing chitosan together with polyuronans and characterization of the microspheres. **Carbohydrate Polymers**, v.57, p. 73-82, 2004.

NEDOVIC, V.; KALUSEVICA, A.; MANOJLOVICB, V.; LEVICA, S.; BUGARSKIB, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806–815, 2011.

NESIC, A.R.; VELICKOVIC, S.J.; ANTONOVIC, D.G. Characterization of chitosan/montmorillonite membranes as adsorbents for Bezactiv Orange V–3R dye. **Journal of Hazardous Materials**, v. 209–210, p. 256–263, 2012.

PAIM, R. M. **Concentrados de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo de carpa (*Cyprinus carpio*) utilizando o método da complexação com ureia**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2012.

PENG, H.; XIONG, H.; LI, J.; CHEN, L.; ZHAO, Q. Methoxy poly(ethylene glycol)-grafted-chitosan based microcapsules: Synthesis, characterization and properties as a potential hydrophilic wall material for stabilization and controlled release of algal oil. **Journal of Food Engineering**, v. 101, p. 113–119, 2010.

PICCIN, J. S.; DOTTO, G.L.; VIEIRA, M. L. G.; PINTO, L.A.A. Kinetics and mechanism of the food dye FD&C red 40 adsorption onto chitosan. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 56, p. 3759–3765, 2011.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 641–678, 2009.

- PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes Artificiais em Alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, p. 237-250, 2003.
- PRASHANTH, K. V. H.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential: an overview. **Food Science & Technology**, v. 18, p. 117-131, 2007.
- REIS, C. P.; NEUFELD, R. J.; RIBEIRO, A. J.; VEIGA, F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 2, p. 8–21, 2006.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31 p. 603–632, 2006.
- ROBERTS, G. A. F.; DOMSZY, J. G. Determination of the viscosimetric constants for chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 4, p. 374-377, 1982.
- RUSU-BALAITA, L.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Formation of abiocompatible polyelectrolyte complex: chitosan-hyaluronan complex stability. **Polymer Bulletin**, v. 50, p. 91–98, 2003.
- RUTHVEN, D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Processes**, New York: John Wiley & Sons, 1984.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, No. 5, p. 726-737, 2003.
- SEBRAE. Perfil de mercado: Piscicultura. Disponível em: [http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/bds.nsf/9ABFB9037516E51E83257881004C6E35/\\$File/NT000455DA.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/bds.nsf/9ABFB9037516E51E83257881004C6E35/$File/NT000455DA.pdf) - Brasil, dezembro de 2010.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; Jeon, Y. J. Food applications of chitin and chitosan. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 37-51, 1999.
- SIQUEIRA, N. M. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação da penetração cutânea de benzofenona-3 a partir de nanocápsulas revestidas com quitosana**. 2008 Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2008.
- SRINIVASAN, A.; VIRARAGHAVAN, T. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 1915–1929, 2010.
- STORLIEN, L. H.; HIGGINS, J. A.; THOMAS, T. C. Diet composition and insulin action in animal models. **British Journal Of Nutrition**, v. 83 p. S85-S90, 2000.

TAKAHASHI, T.; IMAI, M.; SUZUKI, I. Water permeability of chitosan membrane involved in deacetylation degree control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 36, p. 43-48, 2007.

TOLNER, L. The determination of parameters of multi-step adsorption isotherm by sequential simplex optimization. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 6, p. 111–119, 2008.

WAN NGAH, W.S.; TEONG, L.C.; HANAFIAH, M.A.K.M. Adsorption of dyes and heavymetal ions by chitosan composites: A review. **Carbohydrate Polymer**, v. 83, p. 1446–1456, 2011.

WANASUNDARA, U.N.; SHAHIDI, F. Concentration of omega 3-polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: optimization of reaction conditions. **Food Chemistry**, v. 65, p. 41-49, 1999.

WANG, L.; LI, J. Adsorption of C.I. Reactive Red 228 dye from aqueous solution by modified cellulose from flax shive: Kinetics, equilibrium, and thermodynamics. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 153– 158, 2013.

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J.; PINTO L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 749-753, 2007.

WU, F. C.; TSENG, R. L.; JUANG, R.S. Comparative adsorption of metal and dye on flake-and bead-types of chitosans prepared from fishery wastes. **Journal of Hazardous Materials**, v. B73, p. 63–75, 2000.

WU, T.; ZIVANOVIC, S. Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by an improved first derivative UV method. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p. 248–253, 2008.

YUEN, C. W. M.; YIP, J.; LIU, L.; CHEUK, K.; KAN, C. W.; CHEUNG, H. C.; CHENG, S. Y. Chitosan microcapsules loaded with either miconazole nitrate or clotrimazole, prepared via emulsion technique. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 795-801, 2012.

YOUN, D. K.; NO, H. K.; PRINYAWIWATKUL, W. Physicochemical and functional properties of chitosans affected by sun drying time during decoloration. **LWT–Food Science and Technology**, v. 42, p. 1553–1556, 2009.

ZIMET, P.; LIVNEY, Y. D. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. **Food Hydrocolloids**, v. 23 p. 1120–1126, 2009.

ZHU, H.Y.; FU, Y.Q.; JIANG, R.; YAO, J.; XIAO, L.; ZENG, G.M. Novel magnetic chitosan/poly (vinyl alcohol) hydrogel beads: Preparation, characterization and application for adsorption of dye from aqueous solution. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 24–30, 2012.

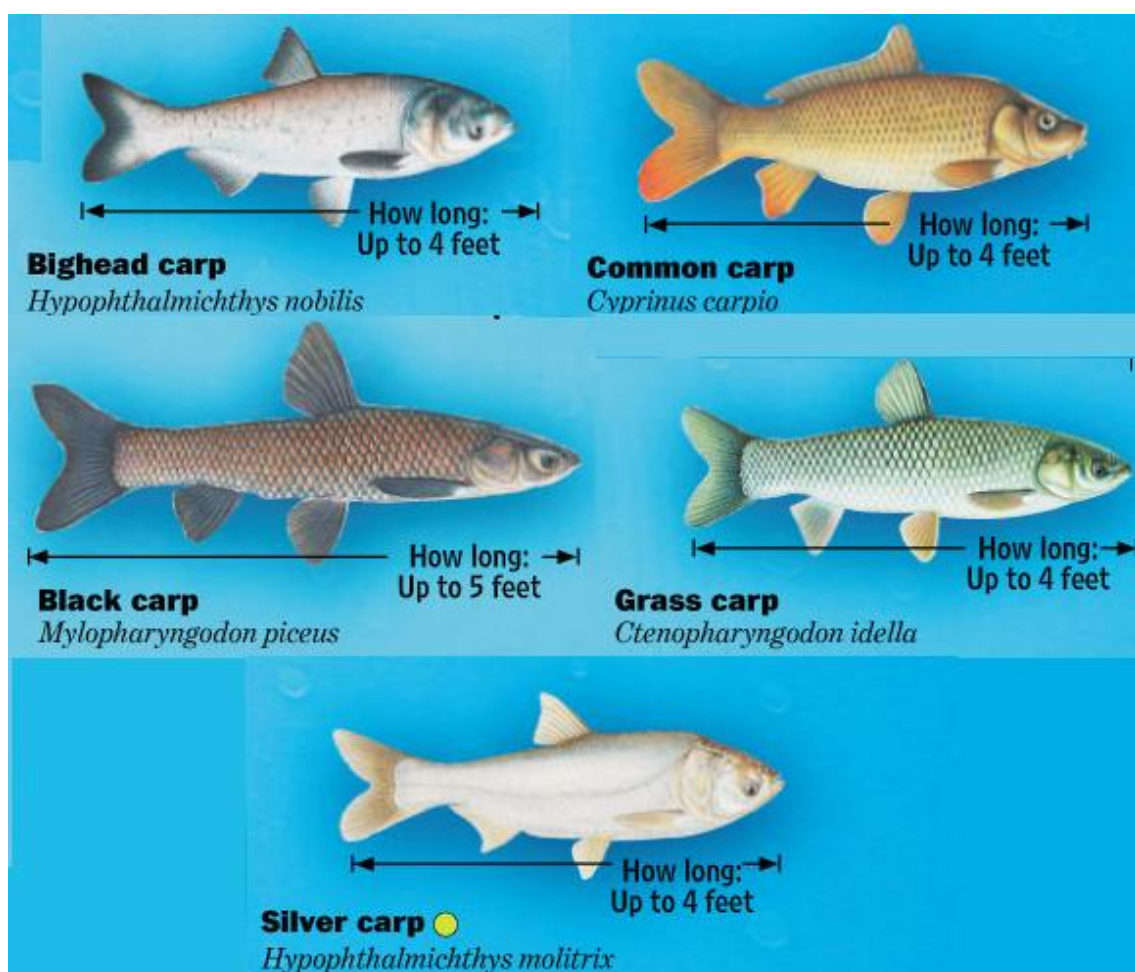
10. APÊNDICES

APÊNDICE 1: Indicações clínicas dos ácidos graxos insaturados e informações sobre a Piscicultura da Carpa.

Quadro A1: Indicações Clínicas de ácidos graxos insaturados (AGI) obtidos a partir de óleo de pescados.

Doença	Benefícios
Arritmias	Redução significativa da incidência e da gravidade das arritmias, prevenção da fibrilação ventricular durante a oclusão da artéria coronária. Esses estudos também descobriram que a gravidade
Doença Coronária	Inibição da agregação de plaquetas e redução dos níveis de triglicerídeos no sangue, o que pode desempenhar um papel na prevenção de DC.
Câncer	Ácidos graxos de cadeia longa (especificamente os de óleo de peixe) atuam como inibidores de desenvolvimento e progressão de uma grande variedade de cânceres humanos. O efeito antitumoral do EPA está relacionado principalmente com a sua supressão da proliferação celular. Por outro lado, o efeito de DHA parece estar relacionado com a sua capacidade de induzir a apoptose.
Função Cognitiva	O Ácido araquidônico e DHA presentes no leite materno acumulam-se rapidamente no cérebro humano durante o terceiro mês pré-natal e o início do período pós-natal quando a taxa de crescimento do cérebro é máxima e mais vulnerável à deficiências nutricionais evitando problemas de cognição.
Depressão	Baixas concentrações de $\omega 3$ foram preditivos de comportamentos impulsivos e maior agressividade. As concentrações de EPA e DHA são significativamente mais baixas em pacientes deprimidos quando comparados ao controle.
Artrite reumatoide	AGI presentes em óleo de peixe reduzem enzimas pró-inflamatórias.

Fonte: Fish Oil. **Alternative Medicine Review**, v. 5, n. 6, p. 576-580, 2000.

Figura A1: Espécies de carpas

O modelo tradicional de piscicultura da carpa é conceitualmente arrojado, e muito se sabe sobre o valor nutricional dos insumos complementares. Para atingir o máximo de produtividade a partir de um tanque de carpas é necessário um alto grau de conhecimento da técnica. A alta produção com procedimentos atuais requer um equilíbrio delicado entre a densidade de peixes, alimentação, insumos para fertilizantes, e da quantidade de oxigênio dissolvido na lagoa (KESTEMONT, 1995).

As carpas são peixes criadas em sistemas de monocultivo e policultivo, cujo objetivo é a produção de uma quantidade ótima de peixes com peso comercial, com o mínimo de custo possível. Os fatores que podem afetar a sua produtividade e custo são: taxa de estocagem; quantidade e qualidade de alimento natural produzido por fertilização; qualidade da ração no caso de alimentação artificial; temperatura da água; quantidade e disponibilidade de oxigênio dissolvido na água e linhagem do peixe estocado (MELO; STIPP, 2001).

APÊNDICE 2: Descrição das etapas de refino do óleo de carpa.

Para a realização da etapa de degomagem, a massa de óleo bruto foi pesada e elevada a uma temperatura de 80°C, sob vácuo e agitação de 500 rpm, com adição de 1,0% de ácido fosfórico (85% v/v) em relação à massa do óleo. Essas condições foram mantidas por 20 min com posterior centrifugação para separação das gomas.

Após, a etapa de neutralização ocorreu sob vácuo e agitação a 40°C durante 20 min, com adição de solução de hidróxido de sódio 20 g/100g (utilizando 4,0% de excesso em relação ao índice de acidez determinado após a etapa da degomagem). A massa de solução de NaOH a ser adicionada foi determinada pela Equação 10.

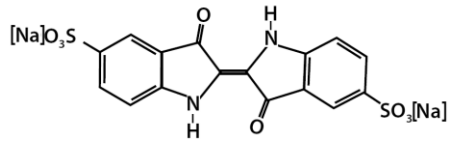
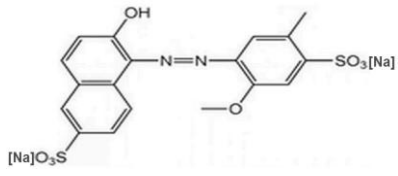
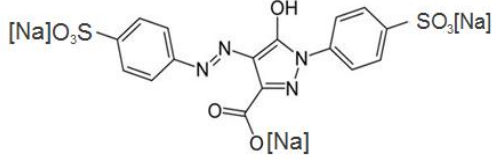
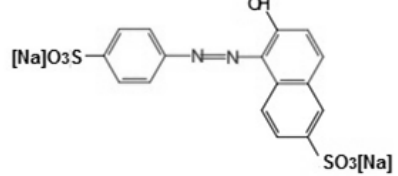
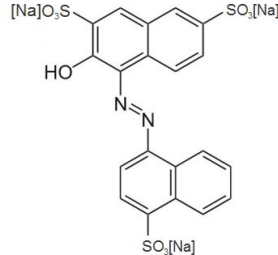
$$M_{\text{NaOH}} = \frac{2,02 \cdot IA \cdot m_{\text{óleo}}}{282} \quad (10)$$

A temperatura foi rapidamente elevada à 80°C para facilitar a separação da borra formada. Assim que a temperatura de 80°C foi atingida, o óleo sofreu resfriamento até 35°C, sob vácuo. Após esse procedimento o material foi centrifugado por 20 min a 7000×g, para a separação da borra (Sigma 6-15, D-37250, Alemanha).

Na etapa de lavagem, adicionou-se água destilada a 95°C (10% em relação à massa de óleo) com vácuo, agitação de 500 rpm e temperatura do óleo mantida a 50°C, durante 5 min. Essa etapa foi repetida três vezes. Foi realizada então a desumidificação com duração de 20 min, temperatura de 90 a 95°C e agitação de 500 rpm (Multitec, Modelo 752A, Brasil).

O branqueamento do óleo neutralizado foi realizado à 70°C, agitação de 40 rpm, com adição de 5 g/100g de adsorvente (terra ativada/carvão ativado - 9:1, g:g) e tempo de contato de 20 min. Finalmente, o material foi filtrado em funil de Buchner com pré-capa de terra diatomácea, obtendo-se o óleo branqueado.

APÊNDICE 3:Características dos corantes alimentícios.

Corante	Índice de cor (C.I.)	Comprimento de onda (λ_{max}) (nm)	Massa molecular (g mol ⁻¹)	Estrutura Química
Indigotina	73015	610	466,3	
FD&C vermelho 40	16045	500	496,4	
Amarelo Tartrazina	19140	425	534,4	
Amarelo Crepúsculo	15985	480	452,4	
Vermelho Amaranto	6185	521	604,5	

APÊNDICE 4: Produção bibliográfica vinculada a dissertação.

a) Artigos aceitos para publicação

ESQUERDO, V.M; CADAVAL JR., T. R. S.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Chitosan scaffold as na alternative adsorbent for the removal of hazardous food dyes from aqueous solutions. Submetido para: Journal of Colloid and Interface Science – manuscript number: JCIS-14-111, 2014 - Ms. No.: JCIS-14-111R1.

b) Artigos submetidos para revistas

ESQUERDO, V.M; SILVA, J. B.; RODRIGUES, P. A.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Preparation of unsaturated fatty acids/chitosan microcapsules: Influence of solvent. Submetido para: Macromolecular Symposia – manuscript number: masy.201300186, 2013.

c) Trabalhos completos publicados em anais de congressos

ESQUERDO V. M.; SILVA, J. B.; QUINTANA, T. M.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Cinética de adsorção do corante amarelo tartrazina por uma esponja megaporosa de quitosana. **X Encontro Brasileiro sobre adsorção (X EBA)**, Guarujá – SP. 2014.

ESQUERDO, V. M.; SILVA, J. B.; RODRIGUES, P. A.; Dotto, G.L.; PINTO, L. A. A. Microcápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados com quitosana: influência do tipo de solvente. **Congresso Brasileiro de Polímeros (12º CBPol)**, Florianópolis-SC, 2013.

ESQUERDO, V. M.; SILVA, J. B.; RAZERA, J.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Estudos de equilíbrio na adsorção de azo-corantes em uma esponja de quitosana. **VII Congresso Brasileiro de Termodinâmica Aplicada (VII CBTERMO)** Uberlândia-MG, 2013.

ESQUERDO, V. M. ; GONCALVES, J. O. ; DOTTO, G. L. ; PINTO, L. A. A. . Desenvolvimento de uma esponja megaporosa de quitosana para a adsorção de corantes:

estudo das isothermas de equilíbrio. **XXXVI Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados (ENEMP)**, Maceió-AL, 2013.

d) Resumos expandidos publicados em anais de congressos

RAZERA, J.; SILVA, J. B.; ESQUERDO, V. M.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Isothermas de equilíbrio para a adsorção do corante amarelo crepúsculo por uma esponja mega porosa de quitosana. **12ª Mostra de Produção Universitária (12ª MPU)**, Rio Grande - RS, 2013.

SILVA, J. B.; ESQUERDO, V. M.; PINTO, L. A. A. Análise da estabilidade de emulsões contendo microcápsulas de concentrados de ácidos graxos insaturados recobertas com quitosana. **12ª Mostra de Produção Universitária (12ª MPU)**, Rio Grande – RS, 2013.

e) Resumos publicados em anais de congressos

ESQUERDO, V. M.; GONCALVES, J. O.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Desenvolvimento de uma esponja megaporosa de quitosana para a adsorção de corantes: estudo das isothermas de equilíbrio. **XXXVI Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados (ENEMP)**, 2013, Maceió-AL, 2013.

ESQUERDO, V. M.; SILVA, J. B.; RAZERA, J.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Estudos de equilíbrio na adsorção de azo-corantes em uma esponja de quitosana. **VII Congresso Brasileiro de Termodinâmica Aplicada (VII CBTERMO)**, Uberlândia-MG, 2013.

COMIOTTO, C. E. G.; RIBEIRO, T. B.; LOPES, M. A.; ESQUERDO, V. M.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Avaliação dos parâmetros de cor na adsorção de azo-corantes utilizando uma esponja de quitosana. **V Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão (SIEPE 2013)**, Bagé - RS, 2013.