

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

JONATHAN SILVA TEIXEIRA DE MACEDO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DE α – QUITINA EM
EXOESQUELETOS DE ESCARABÉIDEOS (*Strategus sp.*) E
APROVEITAMENTO DA BIOMASSA RESIDUAL PARA OBTENÇÃO
DE QUITOSANA.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2017**

JONATHAN SILVA TEIXEIRA DE MACEDO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DE α – QUITINA EM EXOESQUELETOS DE ESCARABÉIDEOS (*Strategus sp.*) E APROVEITAMENTO DA BIOMASSA RESIDUAL PARA OBTENÇÃO DE QUITOSANA.

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.
Orientador: Prof^o Dr. Davi Costa Silva

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DE α - QUITINA EM EXOESQUELETOS DE ESCARABÉIDEOS (*Strategus* sp.) E APROVEITAMENTO DA BIOMASSA RESIDUAL PARA OBTENÇÃO DE QUITOSANA foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N°1.2.2017-B de 2017.

Fizeram parte da banca os professores.


Davi Costa Silva


Juan Sáñez


Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família que foi um dos principais pilares durante o meu desenvolvimento acadêmico, especialmente aos meus pais, Denevaldo Teixeira de Macedo e Ivone Aparecida Silva de Macedo, que nunca mediram esforços para o meu desenvolvimento intelectual, sou eternamente grato ao carinho, apoio e suporte durante toda a minha vida, aos meus irmãos Allan Macedo e Giovanna Macedo pela eterna manutenção dos laços fraternais e à minha tia Alexandra Macedo pelo apoio incondicional.

Agradeço à minha namorada Kamyla Menezes Cavalcante pelo apoio e companheirismo durante toda esses anos de dedicação aos estudos, espero poder retribuir todo carinho e paciência.

Agradeço ao meu orientador Prof^o Dr. Davi Costa Silva pela amizade, paciência e confiança, sou grato por todo o ensinamento que me auxiliou no desenvolvimento deste trabalho, agradeço também a Fundação Araucária e a FUNTEF pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste estudo.

Agradeço aos meus amigos que me ensinam todos os dias o valor da amizade Daimon Jung, Fábio Rizzi, Gustavo Giuriatti, Jeferson Magalhães, Luiz Pompermeier e Vitor Hiro. Ao meu amigo Ricardo Catteli que compartilhou esse sonho comigo e sempre esteve torcendo por mim.

Um agradecimento especial à toda equipe da Central de Análises da UTFPR (Pato Branco) pelo espaço concedido e pela assistência técnica, à equipe do laboratório N002 pela disponibilização de reagentes e vidrarias e ao professor Márcio Barreto por disponibilizar materiais particulares.

*“Se falo na Natureza não é porque saiba o
que ela é,
Mas porque a amo, e amo-a por isso,
Porque quem ama nunca sabe o que ama
Nem sabe por que ama, nem o que é amar
...”*

O Guardador de Rebanhos
Alberto Caiero (Fernando Pessoa)

RESUMO

MACEDO, Jonathan Silva Teixeira de. Caracterização físico química de α – quitina em exoesqueletos de escarabeídeos (*Strategus sp.*) e aproveitamento da biomassa residual para obtenção de quitosana. 2017. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2017.

Neste estudo a estrutura físico-química do exoesqueleto de escarabeídeos do gênero *Strategus sp.* foi caracterizada ao longo do corpo quitinoso do inseto. Élitros, patas e abdômens foram submetidos a digestões ácida e alcalina e as propriedades químicas estruturais foram avaliadas a partir de técnicas de FTIR e DRX. A estrutura polimórfica do biopolímero foi caracterizada como α -quitina. A quitina extraída apresentou o grau de acetilação de 83,48%, 81,82%, 72,77% para élitros, patas e abdômens respectivamente. Os difratogramas de raios – X apresentaram planos de reflexão em 2θ 9,2° (020) e 2θ 19,2° (110). Os índices de cristalinidade para élitros, patas e abdômens foram de 95.5%, 94.9%, 94.6% respectivamente e os valores obtidos demonstraram linearidade com o grau de acetilação calculado para cada parte do exoesqueleto do inseto. A quitosana obtida por derivatização química apresentou grau de acetilação de 38,28% que caracteriza a predominância de grupos amina livres fazendo com que o composto se comporte como um polieletrólito forte, essa característica permite maior reatividade e a formação de novos compostos derivados da quitosana.

Palavras-chave: Quitina, Quitosana, Glucosamina, Biopolímero, *Strategus*

ABSTRACTS

MACEDO, Jonathan Silva Teixeira de. Chemical physical characterization of α - chitin in exoskeletons of scarabeids (*Strategus sp.*) and utilization of residual biomass to obtain chitosan. 2017. 34 f. Work for the Undergraduation – Bachelor of Chemistry. Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2017.

In this study, the physical-chemical structure of the exoskeleton of scarabeids of the genus *Strategus sp.* was characterized along the insect's chitinous body. Elytras, paws and abdomens were submitted to acid and alkaline digestions and structural chemical properties were evaluated using FTIR and XRD techniques. The polymorphic structure of the biopolymer was characterized as α -chitin. The extracted chitin presented the degree of acetylation of 83.48%, 81.82%, 72.77% for elytra, paws and abdomen respectively. The X - ray diffractograms presented reflection planes at 2θ 9,2 ° (020) and 2θ 19,2 ° (110). The crystallinity indexes for elytra, paws and abdomen were 95.5%, 94.9%, 94.6%, respectively and the values obtained showed linearity with the degree of acetylation calculated for each part of the exoskeleton of the insect. The chitosan obtained by chemical derivatization showed a degree of acetylation of 38.28% which characterizes the predominance of free amine groups, making the compound behave as a strong polyelectrolyte, this characteristic allows a greater reactivity and the formation of new compounds derived from chitosan.

Keywords: Chitin, Chitosan, Glucosamine, Biopolymer, *Strategus*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da estrutura química da quitina.....	14
Figura 2 – Fases cristalinas polimórficas da quitina.....	15
Figura 3 – Deacetilação da Quitina para obtenção de quitosana.....	16
Figura 4 – Besouros da espécie <i>Strategus aloeus</i>	18
Figura 5 – Besouros <i>Strategus</i> penetrando o bulbo de coqueiros jovens	18
Figura 6 – Espécie do gênero <i>Strategus</i>	20
Figura 7 – Processo de digestão ácido-álcali para obtenção de quitina.....	21
Figura 8 – Quitina obtida após os processos de digestão e despigmentação.....	22
Figura 9 – Quitosana obtida após processo de deacetilação da quitina.	23
Figura 10 – FTIR para α -quitina isolada de élitros, patas e abdômens de <i>Strategus sp.</i>	25
Figura 11 – Região ampliada dos espectros de infravermelho para α -quitina comercial e β -quitina extraída de gládios de lula mostrando as bandas de amida I.. ..	26
Figura 12 – Região ampliada dos espectros de infravermelho para α -quitina de <i>Strategus sp.</i>	27
Figura 13 – Espectro de FTIR da quitosana obtida por derivatização da α -quitina. ...	28
Figura 14 – DRX para élitros, patas e abdomens de <i>Strategus sp.</i>	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Áreas de aplicação da quitina e quitosana	19
Tabela 2 – Distâncias interplanares e respectivos planos de reflexão para os picos de maior intensidade da α -quitina.	26

LISTA DE ACRÔNIMOS E ABREVIações

FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
GlcNAc	Glucosamida
GlcN	Glucosamina
GA	Grau de Acetilação
GD	Grau de Deacetilação
DRX	Difratometria de Raios – X
I _{CR}	Índice de Cristalinidade.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVO	13
2.1.	OBJETIVO GERAL	13
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1.	QUITINA	14
3.2.	QUITOSANA.....	15
3.3.	HISTÓRICO	16
3.4.	<i>STRATEGUS SP.</i>	17
3.5.	APLICAÇÕES	19
4.	MATERIAS E MÉTODOS	20
4.1.	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	20
4.2.	EXTRAÇÃO DA QUITINA.....	20
4.2.1.	Desmineralização	20
4.2.2.	Desproteínização	21
4.2.3.	Despigmentação	22
4.3.	CARACTERIZAÇÕES.....	23
4.3.1.	FTIR.....	23
4.3.2.	Difração de raios-x.....	24
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.	25
5.1.	FTIR.....	25
5.2.	DIFRAÇÃO DE RAIOS - X.....	28
7.	REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

A quitina, juntamente com seu principal derivado, a quitosana, apresentam diversas aplicações biotecnológicas devido às suas vantagens como a biocompatibilidade e biodegradabilidade, sendo inclusive degradada por diversas enzimas proteolíticas¹.

Hoje a principal fonte de obtenção da quitina, para posterior conversão em quitosana comercial, são os crustáceos^{2,3,4}. Entretanto, em regiões não litorâneas, o processo industrial da quitina a partir dessas matrizes pode gerar custos relativamente altos devido à logística de transporte da matéria prima.

O interesse pela quitina derivada de insetos, fungos e corais é recente e diversos estudos apontam que as propriedades físico-químicas do biopolímero obtido dependem da matriz de estudo e da sua distribuição ao longo do corpo quitinoso^{3,4,5,6,7,8,9}. As evidências desses estudos demonstram que diferentes organismos podem servir como fontes alternativas para obtenção de quitosana em escala industrial.

O grupo dos escarabeídeos (Coleoptera) abrange mais de 20 mil espécies, entretanto, neste estudo, apenas espécies de besouros pertencentes ao gênero *Strategus*, foram colhidas na cidade de Pato Branco, Paraná.

Popularmente conhecido como “besouros rinocerontes”, este grupo é caracterizado pela grande estrutura e força destes insetos. Possuem hábito noturno e geralmente são atraídos pela luz, sendo de comum ocorrência em zonas rurais do estado do Paraná¹⁰.

Este estudo tem como objetivo explorar uma matriz alternativa para obtenção da quitina, apresentando as propriedades físico-químicas do biopolímero isolado de diferentes partes dos exoesqueletos de escarabeídeos do gênero *Strategus*, obtidos na cidade de Pato Branco.

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

Este estudo tem como objetivo avaliar as propriedades físico-químicas da quitina, isolada de diferentes partes do exoesqueleto de escarabeídeos do gênero *Strategus*, e da quitosana obtida por derivatização a partir da hidrólise alcalina da quitina.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as propriedades físico-químicas da quitina obtida dos élitros, patas e abdômens de besouros do gênero *Strategus sp.*
- Determinar qual das estruturas cristalinas polimórficas é assumida pela quitina obtida de *Strategus sp.* por meio de difratogramas de raios-X.
- Avaliar o grau de acetilação da quitina obtida por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).
- Avaliar, através de espectroscopia FTIR, o grau de acetilação da quitosana obtida após a hidrólise dos grupos acetamida da quitina.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. QUITINA

A quitina é um dos polissacarídeos de maior ocorrência na natureza, ocorre como componente estrutural em exoesqueletos de crustáceos, insetos e outros artrópodes. É considerada a segunda substância de maior abundância na biomassa e apresenta taxa de reposição duas vezes maior que a celulose³. Como mostrado na figura 1, a quitina é um biopolímero composto, em sua maior parte, por frações 2 – acetamido – 2 – desoxi – D – glucopiranosose (GlcNAc) unidas por ligações glicosídicas β (1-4), suas cadeias são lineares e interagem através de numerosas ligações de hidrogênio envolvendo seus grupos hidroxila, amina e carbonila, permitindo a formação de microfibras resistentes^{6,7}. As fibras de quitina, juntamente com as proteínas, dão aos insetos e outros artrópodes cutículas mecanicamente fortes e íntegras⁸.

Alguns autores¹¹ afirmam que a quitina encontrada *in natura* possui composição variável ao longo do corpo quitinoso quando são relacionadas as unidades de glucosaminas acetiladas ou deacetiladas. Além disto o biopolímero obtido de espécies diferentes também podem apresentar diferentes composições de unidades aminoglicosídicas acetiladas e deacetiladas.

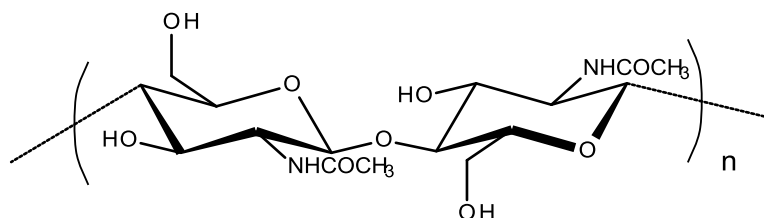


Figura 1 – Representação da estrutura química da quitina. Fonte: Autoria própria.

A fase cristalina da quitina é ordenada, conforme evidenciado em difratogramas de raios – X^{3,5,7,9,12} e é classificada de acordo com a disposição das suas cadeias

lineares (Figura 2) podendo ocorrer em três formas cristalinas polimórficas, α , β e γ quitina. A α -quitina é comumente encontrada em estruturas rígidas de insetos e carapaças de crustáceos, enquanto que a β -quitina pode ser encontrada em estruturas que exigem maior flexibilidade³. A γ – quitina apresenta uma estrutura homogênea entre α e β quitina, e há poucos estudos que relatam suas propriedades e ocorrência⁴. As cadeias antiparalelas da α -quitina apresentam o grau de cristalinidade maior em relação às cadeias paralelas da β -quitina devido à possibilidade de promover um melhor empacotamento atômico da cela unitária ortorrômbica e estabelecer ligações de hidrogênio entre as cadeias orientadas em sentidos opostos^{3,7,8,9}.

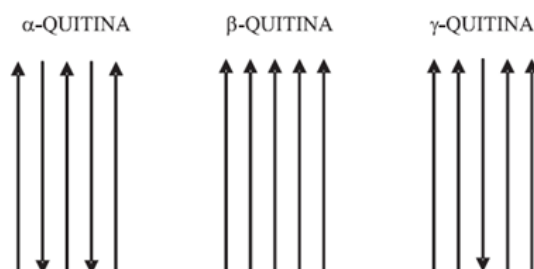


Figura 2 – Fases cristalinas polimórficas da quitina. Fonte: Campana-Filho, 2008.³

A disposição paralela das cadeias da β -quitina promove um empacotamento menos denso resultando em um arranjo de menor cristalinidade quando comparado com a estrutura cristalina da α -quitina⁴. Na literatura^{4,5,11} a comparação de difratogramas de raios – X obtidos para α e β – quitina demonstra uma quantidade relativamente menor de planos de reflexão e os picos cristalinos apresentam menores intensidades para a β -quitina.

3.2. QUITOSANA

A quitosana é o principal derivado da quitina e é obtida pelo processo de hidrólise alcalina dos grupos amida presentes na estrutura molecular. Diferentemente da quitina, a quitosana é composta principalmente por unidades 2 – amino – 2 – desoxi – D – glucopiranosose (GlcN), a predominância de grupos aminos

livres conferem o caráter básico à quitosana fazendo com que ela se comporte como polieletrólito em soluções aquosas de ácido¹².

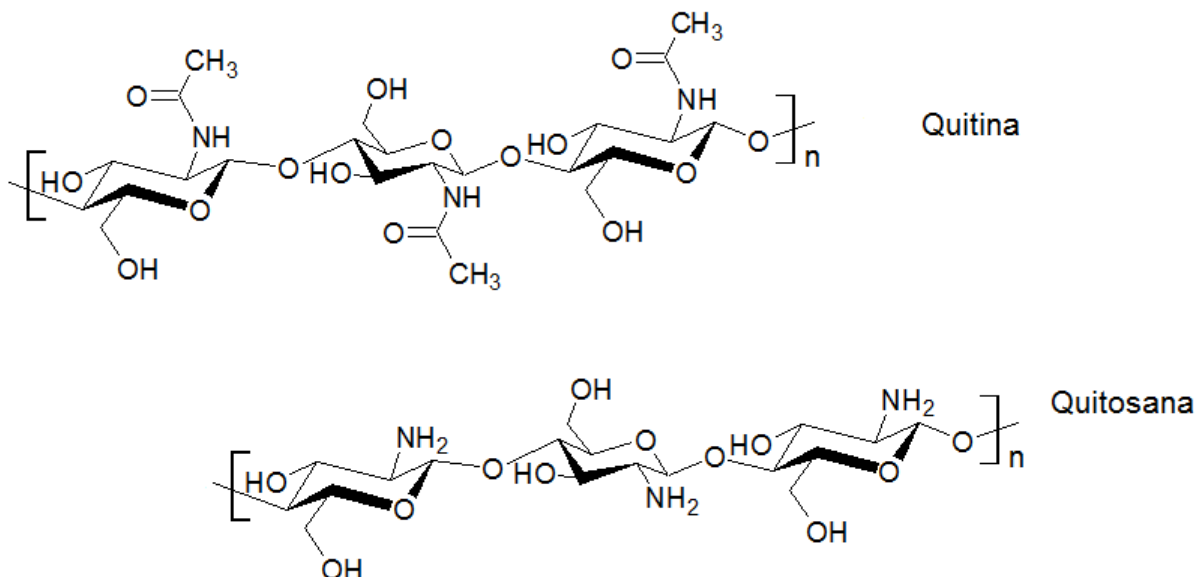


Figura 3. Deacetilação da Quitina para obtenção de quitosana. Fonte: Autoria Própria.

O processo de deacetilação da quitina pode ser realizado tanto por processos químicos quanto por processos enzimáticos. A via homogênea álcali-quitina é o processo químico comumente utilizado e as propriedades da quitosana obtida podem depender das variáveis experimentais como concentração da solução álcali, temperatura, tamanho da partícula e tempo de reação, vale salientar que o processo de deacetilação também pode ocasionar a hidrólise das cadeias poliméricas da quitosana influenciando na sua massa molar final¹.

3.3. HISTÓRICO

O primeiro registro de isolamento da quitina ocorreu em 1811, a partir de estudos realizados com fungos pelo professor francês Henry Branconnot¹. Posteriormente, em 1823, o pesquisador Auguste *Odier* observou que a quitina era o material fundamental presente na estrutura do exoesqueleto de insetos¹. Em 1843, Payen relatou a presença do nitrogênio na estrutura molecular do composto, o que caracterizou a quitina como um aminoaçúcar⁴.

A quitosana, o principal derivado da quitina, foi relatada em 1859 por Rouget, e somente em 1894 Hoppe-Seyler propôs a denominação quitosana em referência ao seu precursor, que possui o mesmo número de nitrogênios em sua estrutura molecular¹.

Até os anos 1970 a aplicação industrial da quitina ainda era limitada devido à falta de conhecimento sobre as características básicas de reatividade da substância⁴, antes desse período o investimento científico e tecnológico era voltado, em grande parte, para estudos com a celulose, que já havia sendo aplicada na indústria têxtil¹.

A partir dos anos 1970 os estudos relacionados ao potencial de aplicação, tanto da quitina quanto da quitosana, se intensificaram e em 1971 ocorreu a primeira produção industrial de quitosana no Japão, em 1986 o Japão já possuía 15 indústrias relacionadas à obtenção de quitosana e derivados².

Nos últimos 40 anos o crescente número de patentes relacionadas à quitosana demonstram que o interesse em suas aplicações comerciais e industriais vem aumentando. Somente nos EUA, no período de 1976-2006, foram registradas 5946 patentes relacionadas ao biopolímero⁴.

3.4. *STRATEGUS SP.*

Os besouros da ordem Coleoptera somam juntos mais de 20 mil espécies catalogadas e muitos deles são coprófagos e realizam a reciclagem de fezes de ruminantes no meio ambiente^{10,14}.

Espécies pertencentes ao gênero *Strategus* possuem coloração marrom escuro, hábito noturno e tem em média 5,0 cm. Os chifres protuberantes dos machos os diferem das fêmeas (Figura 4)¹⁴.



Figura 4 – Besouros da espécie *Strategus Aloeus*. Fonte: Joana Ferreira, 2011.¹⁴

Durante o dia esses besouros cavam galerias em solos próximos à plantações de coqueiros jovens onde penetram o bulbo próximo às raízes e se alimentam de sua seiva causando a morte da planta (Figura 5). Os besouros adultos são tidos como a forma nociva da praga¹⁴.

No período noturno estes insetos costumam ser atraídos por luzes em regiões urbanas e geralmente são encontrados mortos pela manhã. O exoesqueleto destes insetos é composto principalmente por quitinas associadas à proteínas e minerais.



Figura 5 – Besouros *Strategus* penetrando o bulbo de coqueiros jovens. Fonte: Joana Ferreira, 2011.¹⁴

3.5. APLICAÇÕES

As aplicações científicas e tecnológicas da quitina e seus derivados são diversas. A quitosana é o produto da deacetilação da quitina e é o seu principal derivado, apresentando diversas aplicações biotecnológicas devido a sua atividade antimicrobiana, sua biocompatibilidade e biodegradabilidade^{1,4,10}.

A quitosana também pode ser aplicada em diversos produtos alimentícios em forma de biofilmes comestíveis, na indústria de cosméticos como agente umectante e antimicrobiano e na medicina como agente cicatrizante na forma de biomembranas artificiais¹.

Dentro das diversas aplicações possíveis para esses biopolímeros existe ainda a vantagem do preparo da substância através da produção de microesferas, biofilmes e membranas, hidrogéis e nanopartículas⁴.

Tabela 1. Áreas de aplicação da quitina e quitosana¹.

Área	Utilização
Indústria de Alimentos	Aditivos alimentares Nutrição animal Embalagens
Farmacêutica	Agente cicatrizante Aditivo Liberação controlada de drogas Controle de colesterol Lente de contato
Biomédica	Biomembranas artificiais Sutura cirúrgica
Cosmética	Umectante Fungicida Bactericida
Indústria Têxtil	Tratamento de Superfície
Biotecnologia	Imobilização de enzimas células Separação de proteínas Cromatografia Antibactericida

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Os insetos foram coletados *post-mortem* no *campus* da Universidade Tecnológica Federal do Paraná da cidade de Pato Branco durante os meses de Abril e Maio de 2016 e foram mantidos em refrigeração a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. A espécie do gênero *Strategus* estudada para a extração de quitina é mostrada na figura 6.



Figura 6 – Espécie do gênero *Strategus*. Fonte: Autoria própria.

4.2. EXTRAÇÃO DA QUITINA

A quitina extraída do exoesqueleto dos escarabeídeos foi obtida de três partes distintas do inseto, élitros, patas e abdômen. As diferentes partes do exoesqueleto foram lavadas com água deionizada e metanol, após a lavagem as amostras foram mantidas em estufa com circulação de ar a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Depois de secos, os élitros, as patas e os abdômens do inseto foram triturados em liquidificador e submetidos aos processos de desmineralização, desproteínização e despigmentação.

4.2.1. Desmineralização

O processo de desmineralização consistiu na remoção da matéria inorgânica presente na biomassa. Foram adicionados aproximadamente 1.0 g do inseto (élitros, patas ou abdomens) a 50 mL de solução aquosa de HCl 1.0 M, a mistura foi mantida

à temperatura de 20 °C, sob agitação magnética constante, durante 2 horas. Após o tratamento, as amostras foram filtradas a vácuo e lavadas diversas vezes até atingirem a neutralidade. Em seguida, foram levadas à estufa com circulação de ar a 40 °C durante 24 horas.

4.2.2. Desproteíntização

Nesta etapa, as proteínas associadas ao exoesqueleto do inseto foram hidrolisadas em meio alcalino. Para isso, o material resultante da primeira etapa foi transferido para um béquer com 50 mL de solução aquosa NaOH 10% (m/v) e mantido sob agitação magnética constante, à temperatura de 70 °C, durante o período de 3 horas. O material sólido obtido foi filtrado a vácuo e lavado para atingir a neutralidade. As amostras foram levadas para secagem em estufa com circulação de ar a 40 °C durante o período de 24 horas.



Figura 7 – Processo de digestão ácido-álcali para obtenção de Quitina. Fonte: Autoria Própria.

4.2.3. Despigmentação

Após o processo de desproteinização, o material obtido foi tratado em solução de NaClO 2% (m/v) sob agitação magnética constante, em temperatura ambiente, durante o período de 1 hora. O material foi filtrado, lavado e seco em estufa com circulação de ar a 40 °C durante 24 horas.



Figura 8 – Quitina obtida após os processos de digestão e despigmentação. Fonte: Autoria Própria.

4.2.4. Deacetilação da quitina

A quitina foi submetida ao processo de hidrólise alcalina em 50 mL de solução aquosa de NaOH 40% sob agitação magnética, à temperatura de 130 °C, durante o período de 4 horas. O material obtido foi filtrado a vácuo e lavado diversas vezes com água deionizada até atingir a neutralidade. Em seguida o material foi lavado com metanol e levado para secagem em estufa com circulação de ar a 40 °C durante 24 horas.



Figura 9 – Quitosana obtida após processo de deacetilação da quitina. Fonte: Autoria Própria.

4.3. CARACTERIZAÇÕES

4.3.1. FTIR

Os espectros na região do infravermelho foram registrados utilizando o espectrômetro Frontier da Perkin Elmer, com transformada de Fourier, as análises foram conduzidas dentro da faixa de varredura de $4000-500\text{ cm}^{-1}$ com um total de 32 acumulações. O grau de acetilação (\overline{GA}) da quitina isolada dos besouros e da quitosana obtida por derivatização foi calculado utilizando a equação 1 e 2^{12,15,16}.

$$\overline{GD}(\%) = 100 \left[1 - \left(\frac{A_{1665}}{A_{3340}} \right) \left(\frac{1}{1.33} \right) \right] \quad (1)$$

$$\overline{GA}(\%) = 100\% - \overline{GD} \quad (2)$$

Onde A_{1665} e A_{3340} correspondem respectivamente às intensidades de absorção dos grupos amidas e amins primárias da quitina e quitosana¹³. O fator representa a razão entre as absorbâncias dos grupos amida e amina da quitina totalmente N –acetilada¹⁴.

4.3.2. Difração de raios-x

As análises dos resultados obtidos com a difração de raios-X, permitiram comparar o grau de cristalinidade referente a cada parte da estrutura do exoesqueleto. As intensidades das difrações dos raios-X foram mensuradas em difratômetro universal de raios-X, modelo Miniflex-600 (Rigaku), com radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), potência 40 kV e corrente 15 mA. As amostras foram submetidas à faixa de varredura de 5 a 80° (2θ). Para calcular o grau de cristalinidade de cada amostra utilizamos a equação 3^{4,8}.

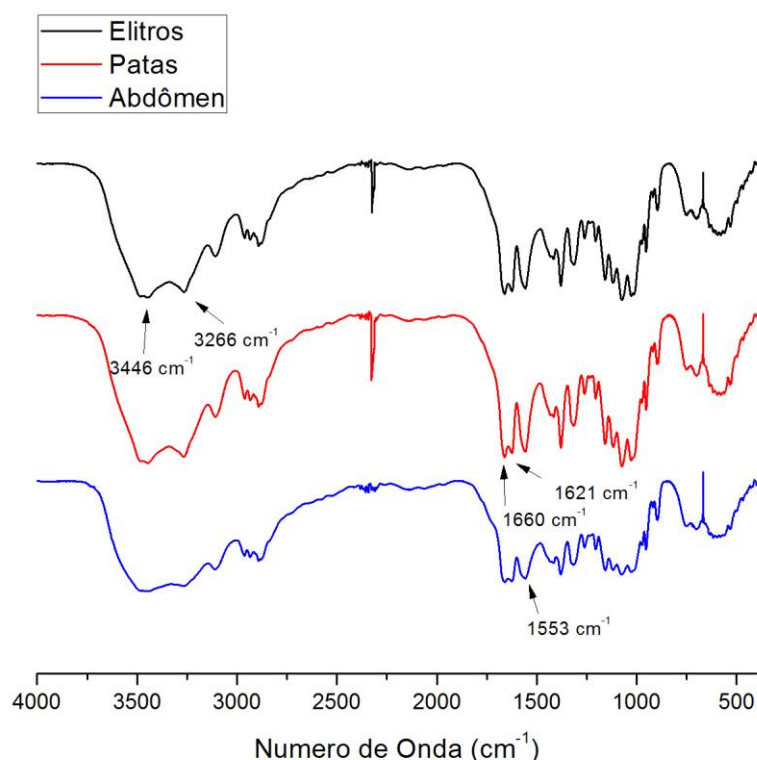
$$I_{\text{CR}}(\%) = \left\{ \frac{[I(\theta_c) - I(\theta_a)]}{I(\theta_c)} \right\} \times 100 \quad (3)$$

Sendo $I(\theta_c)$ e $I(\theta_a)$ a intensidade dos sinais relativos às regiões cristalinas ($2\theta = 19.2^\circ$) e amorfas ($2\theta = 11.7^\circ$) respectivamente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.

5.1. FTIR

Os espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier são apresentados na Figura 10. O perfil dos espectros não demonstra diferenças significativas para as diferentes partes do exoesqueleto do inseto.



**Figura 10 – FTIR para α -quitina isolada de élitros, patas e abdômens de *Strategus sp.*
Fonte: Autoria Própria.**

Os sinais localizados na banda mais larga, em 3484 e 3446 cm^{-1} são referentes às ligações de hidrogênio intramoleculares $\text{O-6-H}\cdots\text{O=C}$ e $\text{O-3-H}\cdots\text{O-5-H}$ respectivamente⁴ o estiramento axial N-H provocado pelas ligações de hidrogênio $\text{C=O}\cdots\text{H-N}$, é observado em 3266 cm^{-1} . Nos espectros obtidos podemos observar que três importantes bandas aparecem em 1660, 1621 e 1553 cm^{-1} , na literatura

essas são as bandas responsáveis pela caracterização da α -quitina^{4,5,6,7}. O sinal registrado em 1660 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial da carbonila presente na amida secundária associada ao anel 2-desoxi-D-glucopiranosose da quitina (Amida I), que ocorre devido às interações de hidrogênio entre a carbonila e os grupos OH^3 . Em 1621 e 1553 cm^{-1} os sinais de absorção caracterizam a deformação angular da ligação N-H da amida secundária (Amida II).

O grau de acetilação calculado para os élitros, patas e abdômens foram de 83,48%, 81,82%, 72,77%, respectivamente. O alto grau de amidas presentes na estrutura reflete os valores do índice de cristalinidade encontrados nos difratogramas de raios-X. Vale salientar que o grau de acetilação pode sofrer variações durante o processo de isolamento.

Na literatura⁴ observa-se que a banda de amida I localizada na região entre 1600 e 1700 cm^{-1} apresenta dois sinais distintos para α -quitina enquanto que a β -quitina extraída de gládios de lulas não apresentaram o mesmo desdobramento (Figura 11).

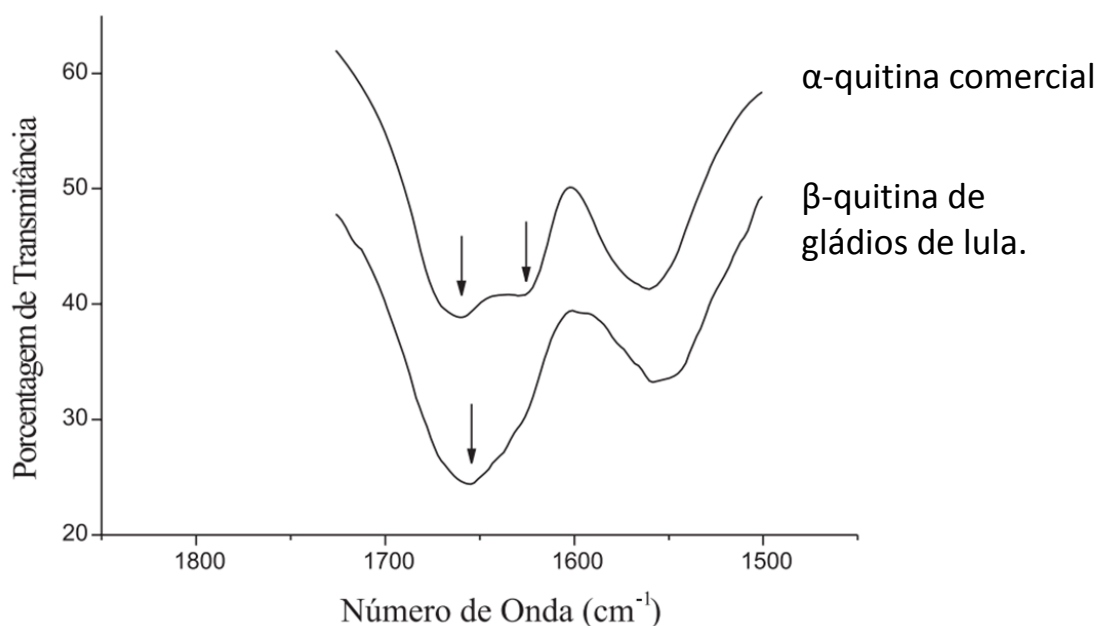
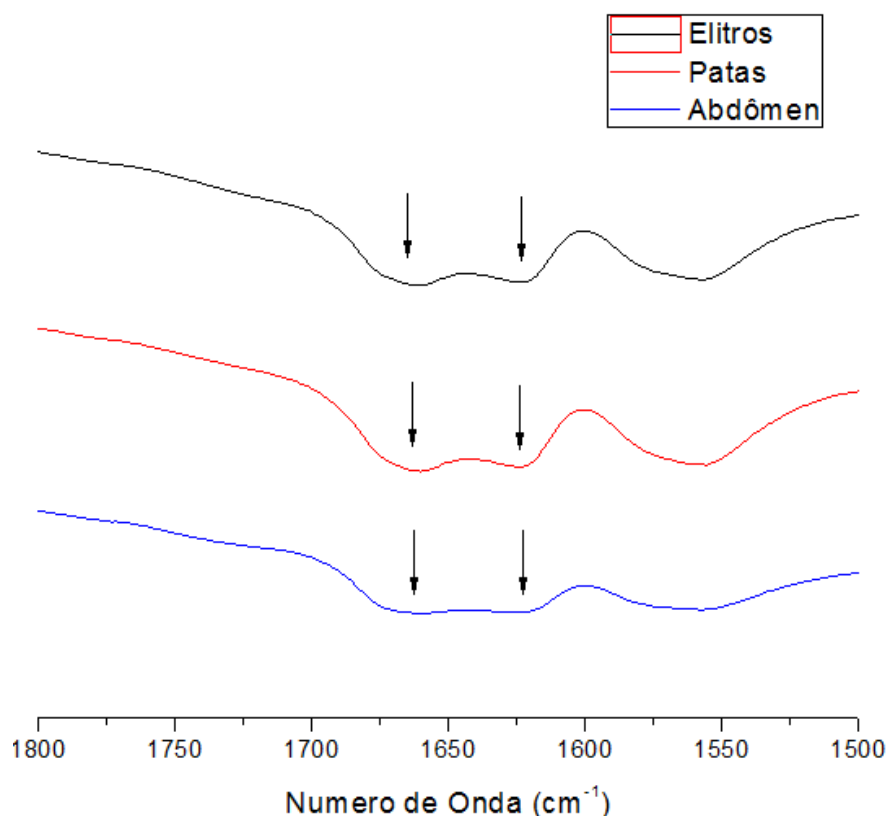


Figura 11 – Região ampliada dos espectros de infravermelho para α -quitina comercial e β -quitina extraída de gládios de lula mostrando as bandas de amida I. Fonte: Campana-Filho, 2007.⁴

Os espectros obtidos para as três partes distintas do exoesqueleto de *Strategus sp.* demonstraram o mesmo desdobramento presente na α -quitina comercial observado região de absorção da Amida I, caracterizando a estrutura cristalina do biopolímero obtido dos besouros como α -quitina (Figura 12).



**Figura 12 – Região ampliada dos espectros de infravermelho para α -quitina de *Strategus sp.*
Fonte: Autoria Própria.**

A quitosana obtida por derivatização química também apresentou absorção em comprimentos de onda semelhantes, porém a intensidade da absorção em 3340 cm^{-1} referente ao estiramento axial das aminas livres demonstrou maior intensidade quando comparado com os espectros da quitina. O grau de acetilação calculado para a quitosana obtida foi de 38,28%, esse resultado demonstra a predominância de grupos GlcN.

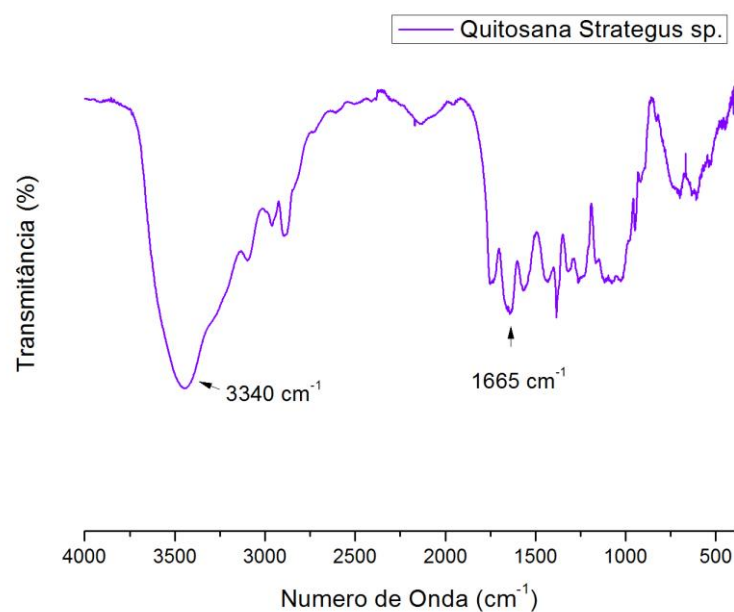


Figura 13 – Espectro de FT-IR da quitosana obtida por derivatização da α -quitina. Fonte: Autoria própria.

5.2. DIFRAÇÃO DE RAIOS - X

A análise dos difratogramas obtidos demonstraram grandes semelhanças em relação à localização dos principais picos encontrados em 9.2°, 19.2°, 23.3°, 26.3° e 39.2°. As distâncias interplanares entre as cadeias lineares da α -quitina foram calculadas através da Lei de Bragg. Os picos de maiores intensidades relativas, em 9.2° e 19.2°, apresentaram reflexão equatorial em (020) e (110), respectivamente¹³.

Tabela 2 . Distâncias interplanares e respectivos planos de reflexão para os picos de maior intensidade da α -quitina.

2θ	Distâncias Interplanares (nm)	Planos de Reflexão
9,2	0,960	020
19,2	0,462	110

Esses mesmo sinais de intensidades relativas foram observados em difratogramas obtidos para α -quitina isolada em estudos realizados com camarões de água-doce (*Macrobrachium rosenbergii*)^{3,4}, besouro-da-batata (*Leptinotarsa decemlineata*)⁶, grilos (*Doclostaurus maroccanus*)⁵, aranhas (*Geolycosa vultuosa* e *Hogna radiata*)⁹ e camarões brancos (*Litopenaeus Vannamei*)⁸.

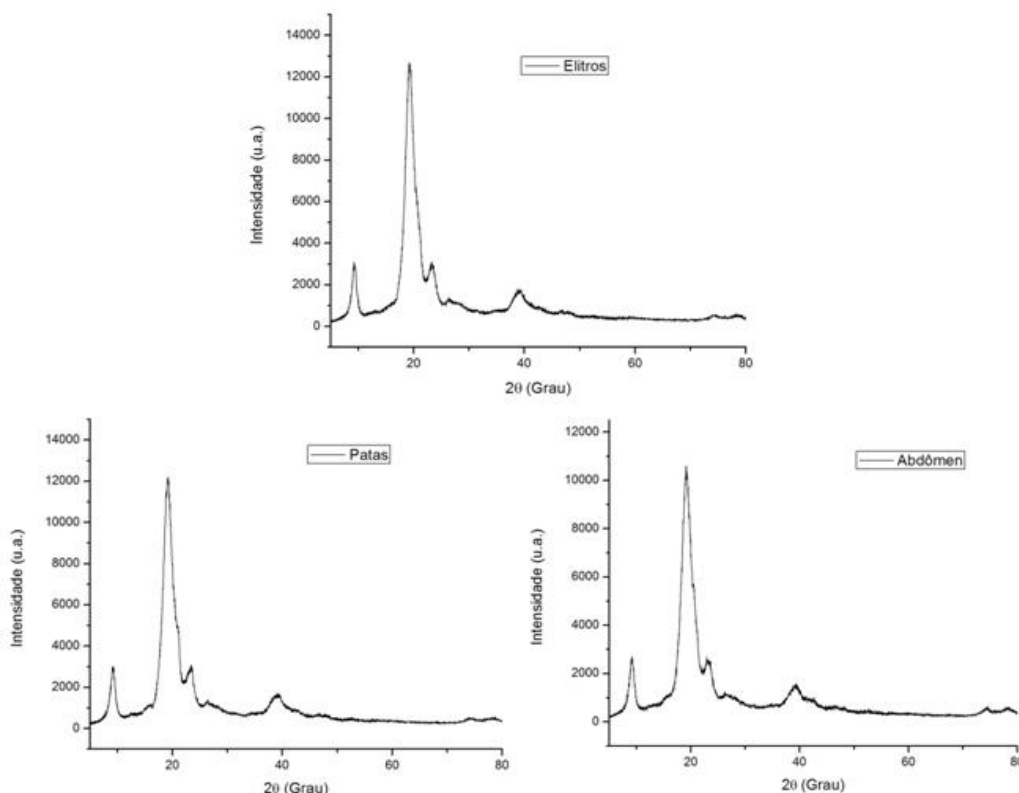


Figura 14 – DRX para élitros, patas e abdômen de *Strategus sp.* Fonte: Autoria própria.

O índice de cristalinidade, I_{CR} , calculado para a α -quitina extraída das diferentes partes do exoesqueleto dos besouros apresentaram valores de 95.5%, 94.9%, 94.6% para os élitros, patas e abdômen, respectivamente. Esses valores são relativamente altos quando comparado com os valores de índice de cristalinidade da quitina comercial^{1,6} e proveniente de matrizes distintas como crustáceos^{2,8} e/ou outros insetos^{7,8,9}.

A caracterização da α -quitina presente no exoesqueleto dos escarabeídeos foi possível através da comparação com os difratogramas referentes à β -quitina presentes na literatura^{2,3,4}. A β -quitina extraída de gládios de lulas não apresenta, em seus difratogramas, a mesma diversidade de planos de reflexões, além disso, os

sinais obtidos são relativamente mais largos e menos intensos quando comparados com os sinais obtidos para a α -quitina^{4,5}.

6. CONCLUSÕES

O estudo realizado demonstrou a homogeneidade das cadeias poliméricas ao longo do corpo quitinoso dos escaravelhos do gênero *Strategus*. As análises dos espectros de FTIR revelaram a estrutura polimórfica do biopolímero como α -quitina.

Os difratogramas de raios X demonstraram planos de reflexão bem definidos assim como alto grau de cristalinidade para as três partes distintas do inseto em estudo.

Os valores obtidos para grau de acetilação das cadeias poliméricas e os índices de cristalinidade demonstraram valores proporcionalmente lineares entre si.

A quitina isolada dos élitros dos insetos (responsável pela proteção das asas) apresentou maiores índices de cristalinidade, enquanto que a quitina isolada dos abdômens demonstrou baixo grau de acetilação e o menor índice de cristalinidade. Vale lembrar que o processo de digestão da biomassa também pode provocar a deacetilação dos grupos GlcNAc presentes na estrutura do biopolímero.

A quitosana obtida por derivatização química apresentou grau de acetilação de 38,28% caracterizando a predominância de grupos GlcN ao longo da cadeia polimérica.

Pode-se concluir que o processo aplicado à deacetilação da quitina obtida do exoesqueletos de besouros do gênero *Strategus sp.* foi eficiente, validando a hipótese do reaproveitamento da biomassa residual como um matriz alternativa para obtenção de quitosanas.

7. REFERÊNCIAS

- 1 DIAS, K. B.; DA SILVA; et al.; Quitina e Quitosana: Características, utilizações e perspectivas atuais de produção. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Vol. 4, pg. 184-191, 2013.
- 2 ROBERTS, G. A. F.; **Chitin Chemistry**, Mc Millan Press Ltd: London, cap. 1, 1992.
- 3 CAMPANA-FILHO, S. P.; Battisti, M. V.; Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Quim. Nova**, Vol. 31, pg. 2018, 2008.
- 4 CAMPANA-FILHO, S. P.; de Britto, D.; et al. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. **Quim. Nova**, Vol. 30, pg. 644-650, 2007.
- 5 SHUSHIZADEH, M. R.; POUR, E. M.; et al. Persian gulf β -chitin extraction from *sepia pharaonis* sp. cuttlebone and preparation of its derivatives. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, Vol. 6, pg. 133-142, 2015.
- 6 KAYA, M.; Sofi, K.; et al. Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). **Carbohydrate Polymers**, Vol. 145, pg. 64, 2016.
- 7 KAYA, M.; ERDOĞAN, S.; High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. **International Journal of Biological Macromolecules**, Vol. 89, pg. 118 – 126, 2016.
- 8 KAYA, M.; BARAN, T.; et al. Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). **Materials Science and Engineering C**, Vol. 45, pg. 72 – 81, 2014.

- 9 KAYA, M.; BARAN, T.; et al. A physicochemical characterization of fully acetylated chitin structure isolated from two spider species: With new surface morphology. **International Journal of Biological Macromolecules**. Vol 65, pg. 553-558, 2014.
- 10 LOPES, J.; RONQUI, D. C.; Composição e diversidade de Scarabaeoidea (Coleoptera) atraídos por armadilha de luz em área rural no norte do Paraná, Brasil. Iheringia, **Sér. Zool.**, Vol. 96, pg 103-108 Universidade Estadual de Londrina, 2006.
- 11 RICHARD, A. G.; The integument of arthropods, **University of Minnesota Press: Minneapolis**, p. 110, 1951.
- 12 ANTONINO, Nilton de Andrade. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundo da indústria pesqueira paraibana**. Dissertação de Mestrado. UFPB/CCEN. João Pessoa, 2007.
- 13 RAM, M.; BLACKWELL, J.; The structure of α -chitin. **Journal of Molecular Biology**, Vol. 120, pg. 167 – 181, 1977.
- 14 AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/coco/arvore/CONT000gnte5gek02wx5ok0cdjvsctj9oblo.html>>. Acesso em 08 jul. 2017.
- 15 YEN, M.T. MAU, J.L.; Physico-chemical characterization of fungal chitosan from shiitake stripes, **LWT Food Sci. Technol.** Vol. 40, pg. 472–479, 2007.
- 16 JANEGITZ, B. C.; LOURENÇÃO, B. C.; et al.; Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Quim. Nova**, Vol. 30, pg. 879-884, 2007.
- 17 FOCHER, B.; Beltrame, P. L.; Naggi, A.; Torri, G.; Alkaline N-deacetylation of chitin enhanced by flash treatments, reaction kinetics and structure modifications. **Carbohydr. Polym.**, Vol. 1, 405, 2009

18 SANNAN, T.; KURITA, K.; Studies on chitin, 1. Solubility change by alkaline treatment and film casting. **Makromol. Chem.**, Vol. 176, pg. 1191. 1975.