



MÉTODO DE OBTENÇÃO E PROPRIEDADES DA MICROCRISTALINA QUITOSANA

Eng. Fernando Guimarães¹; Dr. Eng. Luciano Pighinelli.

Universidade Luterana do Brasil - Biomatter Laboratório de Biomateriais.

¹ Programa de Pós Graduação em Engenharia de Materiais e Processos
Sustentáveis

Resumo

A quitosana (poli(β -(1,4)-D-glucosamina) e seus derivados são caracterizados por suas excelentes propriedades bioestimulantes que facilitam a reconstrução e a vascularização de tecidos danificados como também a deficiências de componentes celulares, condutores da formação de pequenas cicatrizações. A preparação da quitosana dos resíduos da casca, por exemplo, do camarão (*Pandalus borealis*), é economicamente viável, ecologicamente correto devido à grande quantidade de resíduos disponíveis ora como produto ora como resíduo das indústrias de alimentos.

A microcristalina quitosana é uma forma de modificação da quitosana, elaborada a partir de um método de obtenção do sais de quitosana. Ela se caracteriza pelas propriedades especiais da quitosana inicial tais como biocompatibilidade, bioatividade, atóxica, hidrofílica com um extraordinário comportamento para formação direta de filmes a na criação de uma estrutura molecular e super molecular durante seu processo de manufatura. Esta forma de quitosana é muito adequada em aplicações médicas, especialmente em curativos e sistema de liberação de fármacos.

Palavras-chave: Quitosana; microcristalina quitosana; propriedades, bioestimulantes, cicatrizações, aplicações.

SUMÁRIO

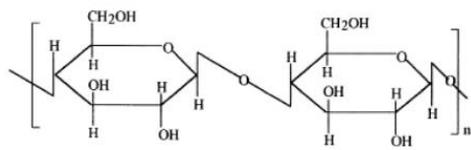
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. QUITOSANA.....	4
2.1 AS PROPRIEDADES DA QUITOSANA	5
2.2 SOLUBILIDADE DA QUITOSANA	5
2.3 APLICAÇÕES MÉDICAS.....	6
3. MICROCRISTALINA QUITOSANA.....	7
4. MÉTODOS E MATERIAIS	7
4.1 MATERIAIS	7
4.2 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DA MICROCRISTALINA QUITOSANA	8
4.2.1 OBTENÇÃO DO CLORIDRATO DE QUITOSANA.....	8
4.2.2 MÉTODO DE OBTENÇÃO DA MICROCRISTALINA QUITOSANA	9
4.2.3 SÍNTESE DA MICROCRISTALINA QUITOSANA A PARTIR DO CLORIDRATO DE QUITOSANA COM 2% DE TEOR DE POLÍMERO.	12
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	14
6. PRÓXIMAS ETAPAS.....	15
7. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15

1. INTRODUÇÃO

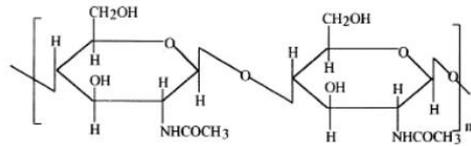
Quitina é a denominação usual para o polímero β -(1-4) 2-acetamido-2-deoxi-Dglicose (N-acetilglicosamina) [1]. Quitina é um polissacarídeo natural particularmente encontrado nas carapaças de crustáceos, cutículas de insetos e nas paredes celulares de fungos é o segundo mais abundante carbono polimerizado encontrado na natureza [2].

O derivado da quitina é a quitosana, no qual aparece sendo um bom candidato para curativos e para regeneração de tecidos moles e duros. A quitosana é preparada a partir da quitina pela obtenção de um polímero mais reativo. Quitina e quitosana são copolímeros constituídos por unidades N-acetil-D-glucosamina e D-glicosamina em proporções variáveis, sendo que o primeiro tipo dessas unidades predomina no caso de quitina, enquanto que a quitosana é composta predominantemente por unidades D-glucosamina [3]. A preparação da quitosana dos resíduos da casca, por exemplo, do camarão (*Pandalus borealis*), é economicamente viável, ecologicamente correto devido à grande quantidade de resíduos disponíveis ora como produto ora como resíduo das indústrias de alimentos. Assim como a celulose, ela é um polissacarídeo não ramificado a base de glucose. Ela se difere da celulose no carbono C-2 por ter um grupo acetoamina ao invés de um grupo hidroxila [4].

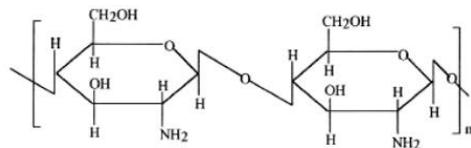
Fig. 1 A comparação das estruturas moleculares da celulose, quitina e quitosana



celulose



quitina



quitosana

2. QUITOSANA

A quitosana é um polímero parcialmente desacetilado, da acetil glucosamina obtido depois da desacetilação alcalina da quitina. Poliaminosacarídeos, especialmente a quitosana (poli(β -(1,4)-D-glucosamina) e seus derivados são caracterizados por suas excelentes propriedades bioestimulantes que facilitam a reconstrução e a vascularização de tecidos danificados como também a deficiências de componentes celulares, condutores da formação de pequenas cicatrizações. Esta propriedade catiônica é a base de muitas aplicações potenciais da quitosana que deve ser considerada como um polieletrólito com uma alta densidade de carga na qual interagem com superfícies de carga negativa tais como as proteínas e polissacarídeos aniônicos [5]. A quitosana apresenta propriedades antimicrobianas e estimulantes do sistema imune, as quais são manifestadas na aceleração de cicatrização de feridas. Outras propriedades que estão presentes na quitosana incluem: inibição de células tumorais, efeito antifúngico, atividade antiácida e antiúlcera, ação hemostática e hipocolesterolêmica [6, 7, 8]. A quitosana tem características biofarmacêuticas interessantes, tais como sensibilidade ao pH, biocompatibilidade e baixa toxicidade. [9, 10] Além disso,

a quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, tornando-a biodegradável [9].

2.1 AS PROPRIEDADES DA QUITOSANA

A quitosana apresenta propriedades antimicrobianas e estimulantes do sistema imune, as quais são manifestadas na aceleração de cicatrização de feridas. Outras propriedades que estão presentes na quitosana incluem: inibição de células tumorais, efeito antifúngico, atividade antiácida e antiúlcera, ação hemostática e hipocolesterolêmica [16, 17].

A quitosana tem características biofarmacêuticas interessantes, tais como sensibilidade ao pH, biocompatibilidade e baixa toxicidade [18, 19]. Além disso, a quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, tornando-a biodegradável [18].

2.2 SOLUBILIDADE DA QUITOSANA

A quitosana é insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, mas é solúvel na maioria das soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6. O ácido acético e o fórmico são os mais usados para a solubilização da quitosana. Alguns ácidos inorgânicos diluídos, tais como: ácido nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico, também podem ser usados para preparar uma dispersão da quitosana, mas somente após prolongada agitação e aquecimento. Misturas como dimetilformamida com tetróxido de dinitrogênio numa proporção de 3:1 também podem ser utilizados como solventes. Quitosanas com um grau de desacetilação (50 %), são solúveis em água quando obtidas em condições homogêneas e insolúveis quando obtidas em condições heterogêneas. Esse efeito na sua solubilidade é provavelmente devido à diferença na estrutura do polímero, causado por diferentes condições de reação. A quitosana obtida por hidrólise homogênea apresenta uma estrutura com unidades de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina distribuídas ao acaso na cadeia polimérica. Entretanto, o produto da hidrólise

heterogênea apresenta uma estrutura em blocos, ou seja, em unidades N – acetil-D-glucosamina e D-glucosamina, formando a cadeia. Essa diferença na seqüência das unidades monoméricas também está relacionada com a menor cristalinidade do polímero obtido em condições homogêneas [10].

As propriedades da solução da quitosana dependem não só da sua média de desacetilação, mas também sobre a distribuição dos grupos acetila ao longo da cadeia principal e além do peso molecular [11, 12,13]. A desacetilação, feita geralmente em estado sólido, gera uma estrutura irregular devido ao caráter semi-cristalino do polímero inicial. O exame do papel da protonação da quitosana, na presença de ácido acético [14] e ácido clorídrico na solubilidade [15] mostrou que o grau de ionização é dependente do pH e o pK do ácido.

2.3 APLICAÇÕES MÉDICAS

TABELA 1 – Propriedades em aplicações biomédicas da quitosana [20, 21].

Principais propriedades da quitosana em relação ao seu uso em aplicações biomédicas.	
Potenciais aplicações biomédicas	Principais Características
Suturas cirúrgicas	Biocompatível
Os implantes dentários	Biodegradável
Pele artificial	Renovável
A reconstrução do osso	Formato de filmes (película)
As lentes de contato	Agente hidratante
Liberação controlada de drogas para os animais e seres humanos	Atóxico, tolerância biológica
Material de encapsulamento	Hidrolisado pela lisozima
	Propriedades cicatrizantes
	Eficaz contra bactérias, vírus, fungos
Biofarmacêutica	Imunológico, antitumoral
	Hemostático, anticoagulante
	Tratamento bacteriostático

3. MICROCRISTALINA QUITOSANA

O objetivo de estudo é a obtenção da microcristalina quitosana a partir do cloridrato de quitosana. Ela se caracteriza pelas propriedades especiais da quitosana inicial tais como biocompatibilidade, bioatividade, atóxica, hidrofílica com um extraordinário comportamento para formação direta de filmes a na criação de uma estrutura molecular e super molecular durante seu processo de manufatura. Esta forma de quitosana é muito adequada em aplicações médicas, especialmente em curativos e sistema de liberação de fármacos. Contudo as aplicações na forma da microcristalina quitosana apresentam uma resistência para dissolver em pH neutro, como uma prolongação da sua biodegradação devido a sua relativa alta cristalinidade dos biocompósitos formados [16, 17].

4. MÉTODOS E MATERIAIS

4.1 MATERIAIS

A quitosana foi obtida da Polymar Ciência e Nutrição S/A (Fortaleza, CE) com 95% de grau de desacetilação. Teor de umidade 12,4%. O ácido clorídrico 37% p.a. e o hidróxido foram fornecidos pelo Laboratório de Físico-Química da Universidade Luterana do Brasil. Todos os produtos químicos foram utilizados como recebidos sem qualquer purificação adicional. Água destilada e deionizada foi usada por todo o experimento.

4.2 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DA MICROCRISTALINA QUITOSANA

4.2.1 OBTENÇÃO DO CLORIDRATO DE QUITOSANA.

A quitosana com 95% de grau de desacetilação e 12,4% de teor de umidade foi dissolvida pelos seguintes procedimentos. A quitosana foi dissolvida gradualmente em partes de água destilada e deionizada e partes de uma solução de ácido clorídrico. Com agitação constante por misturador à temperatura ambiente durante um período de 2 horas até a obtenção de uma solução transparente. Vinte quatro horas, após a dissolução, a solução foi filtrada. O método de obtenção está exemplificado abaixo conforme o Fluxograma 1.

Fluxograma 1 - Método de obtenção do cloridrato de quitosana.

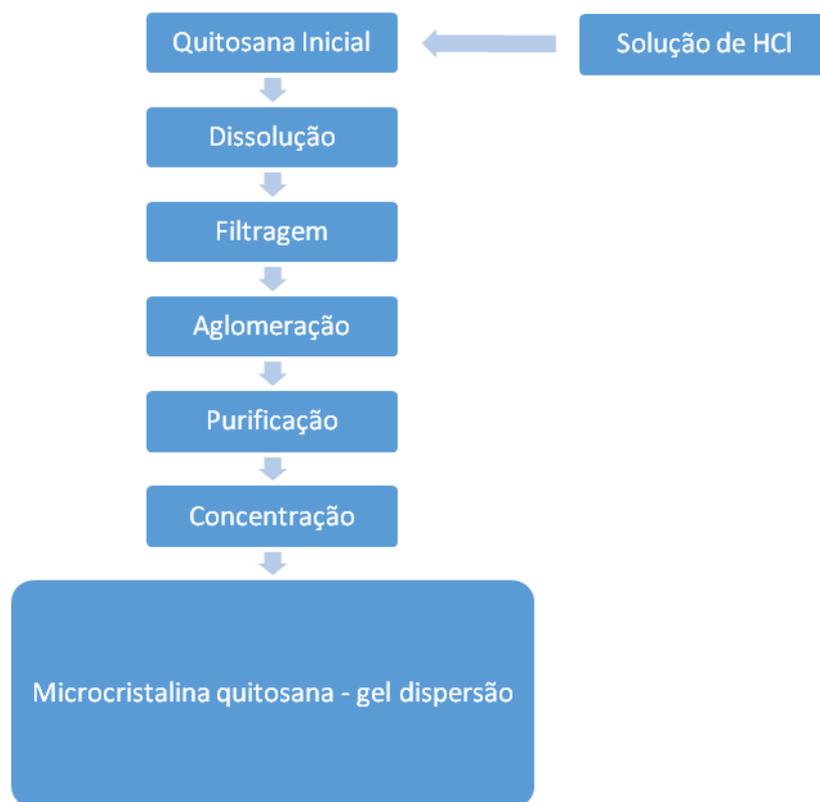


FONTE: Autores.

4.2.2 MÉTODO DE OBTENÇÃO DA MICROCRISTALINA QUITOSANA .

Conforme a literatura o método de obtenção segue os seguintes passos. A solução de cloridrato de quitosana com 1% de teor de polímero obtidos da dissolução da quitosana em ácido clorídrico (0,35% vol.) foram dissolvido em uma solução de hidróxido de sódio (0,35% vol.) sob agitação constante à temperatura ambiente durante 2 horas até obtenção de uma solução homogênea. Após permanecer, por vinte quatro horas acondicionadas na geladeira a temperatura constante de 5°C, a solução de microcristalina quitosana foi lavada e filtrada a vácuo com água destilada e deionizada para a retirada de todo o cloreto de sódio residual da obtenção da microcristalina quitosana. A seguir foram preparadas vinte (20) amostras de 25 mL cada, armazenadas sob condições distintas, dez (10) amostras permaneceram secando em temperatura ambiente e outras dez (10) amostras permaneceram secando em geladeira a 5°C, totalizando 20 recipientes de poliestireno abertos tipo vidro de relógio. O método de obtenção exemplificado abaixo conforme o Fluxograma 2. Os valores de pH em relação ao tempo de dissolução estão dispostos na Tabela 2. A curva pH em relação ao tempo está representada no Gráfico 1.

FLUXOGRAMA 2 - Método de obtenção da microcristalina quitosana com teor de 1% de polímero.



FONTE: Autores.

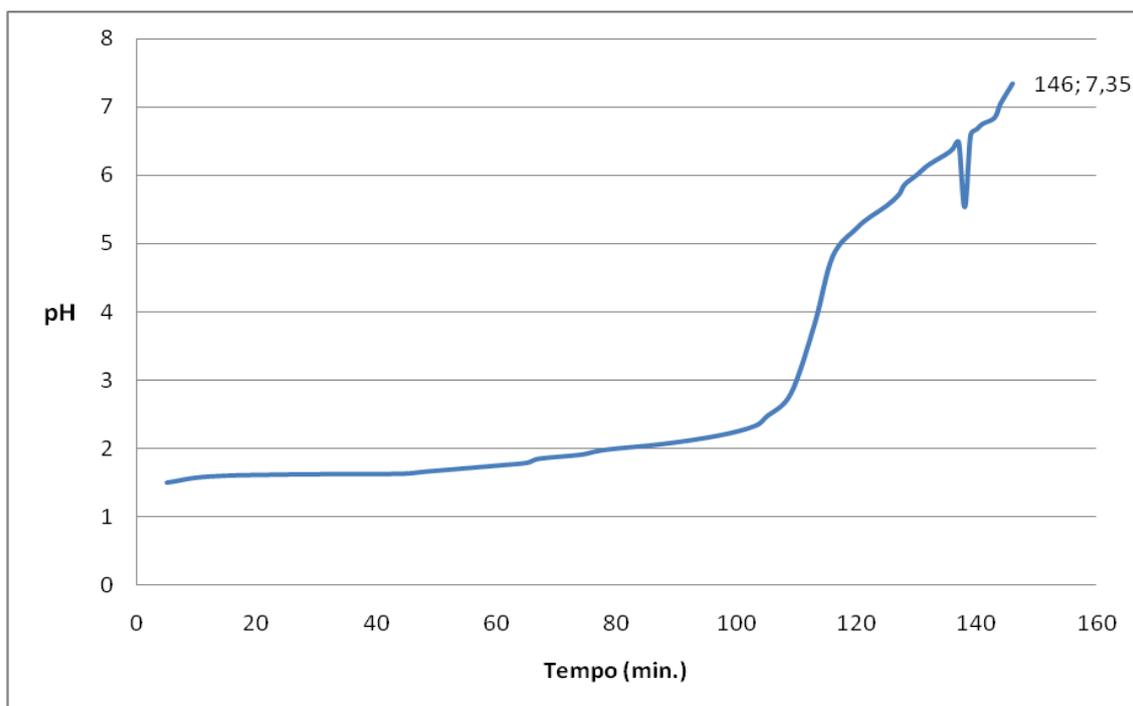
TABELA 2 - Análise da variação do pH em função do tempo de dissolução. Cloridrato de quitosana com teor de polímero 1% em solução aquosa de hidróxido de sódio 0,35% em vol.

pH	Tempo (min)
1,5	5
1,59	12
1,62	26
1,63	44
1,66	48
1,75	60
1,79	65
1,85	67
1,91	74
1,98	78
2,07	88
2,19	97
2,33	103

2,47	105
2,80	109
3,83	113
4,82	116
5,23	120
5,38	122
5,56	125
5,72	127
5,87	128
6,01	130
6,16	132
6,32	135
6,39	136
6,49	137
5,54	138
6,6	139
6,68	140
6,76	141
6,85	143
7,06	144
7,35	146

FONTE: Autores.

GRÁFICO 1 - Curva de pH em função do tempo de dissolução do cloridrato de quitosana 1% de teor em solução de hidróxido de sódio 0,35% em vol.

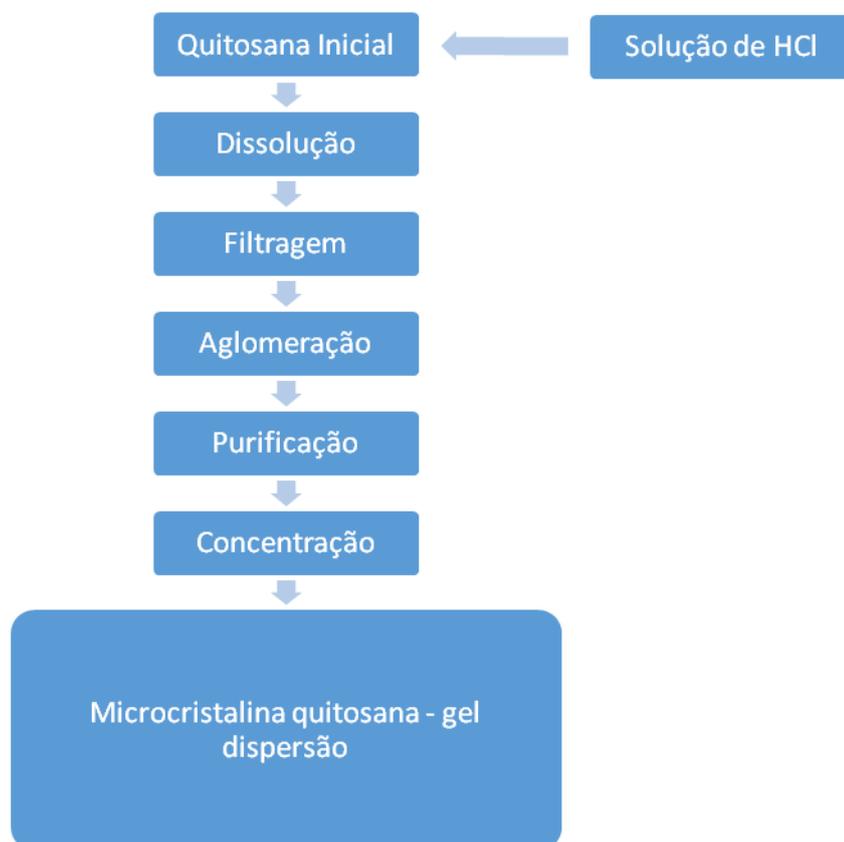


FONTE: Autores.

4.2.3 SÍNTESE DA MICROCRISTALINA QUITOSANA A PARTIR DO CLORIDRATO DE QUITOSANA COM 2% DE TEOR DE POLÍMERO.

A solução de cloridrato de quitosana com 2% de teor de polímero obtidos da dissolução da quitosana em ácido clorídrico (0,7% vol.) foram dissolvido em uma solução de hidróxido de sódio (0,7% vol.) sob agitação constante à temperatura ambiente durante 2 horas até obtenção de uma solução homogênea. Após permanecer, por vinte quatro horas acondicionadas na geladeira a temperatura constante de 5°C, a solução de microcristalina quitosana teve o pH corrido para 7,4. A solução foi lavada com água destilada e deionizada, filtrada a vácuo para a retirada de todo o cloreto de sódio residual da obtenção da microcristalina quitosana. A seguir foram preparadas vinte (20) amostras de 25 mL cada, armazenadas sob condições distintas, dez (10) amostras permaneceram secando em temperatura ambiente e outras dez (10) amostras permaneceram secando em geladeira a 5°C, totalizando 20 recipientes de poliestireno abertos tipo vidro de relógio, para obtenção de filmes. O método de obtenção exemplificado abaixo conforme o Fluxograma 3. Os valores de pH em relação ao tempo de dissolução estão dispostos na Tabela 3. A curva pH em relação ao tempo está representada no Gráfico 2.

FLUXOGRAMA 3 - Método de obtenção da microcristalina quitosana com teor de 2% de polímero.



FONTE: Autores.

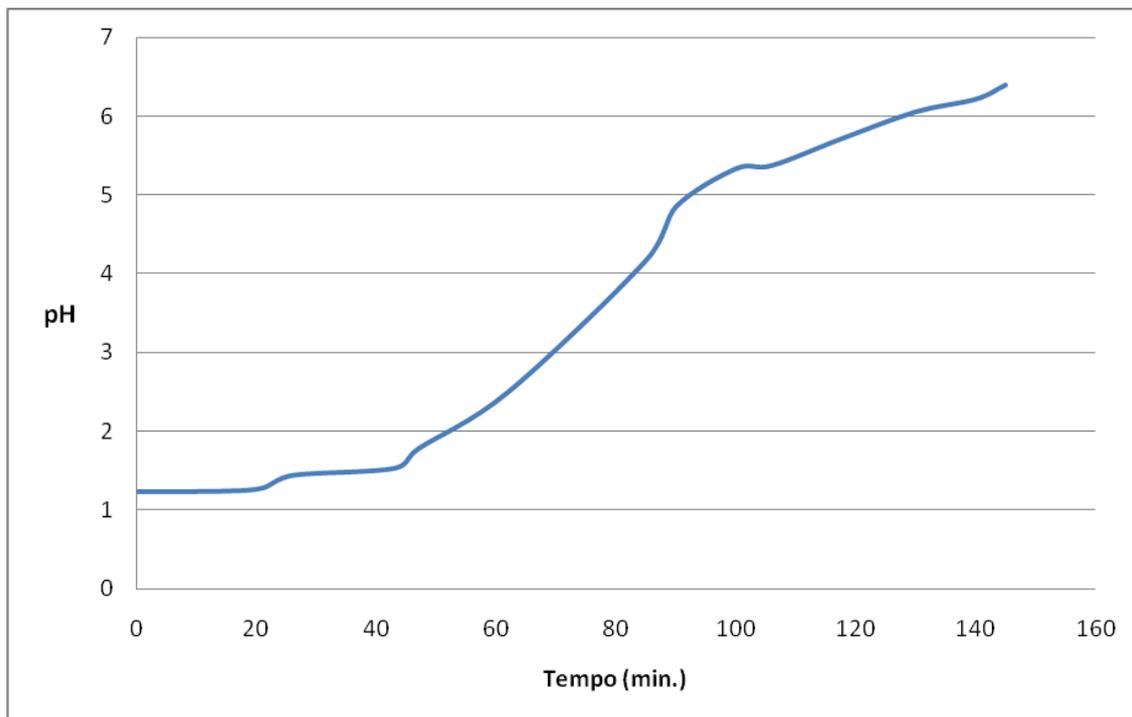
TABELA 3 - Análise da variação do pH em função do tempo de dissolução. Cloridrato de quitosana com teor de polímero 2% em solução aquosa de hidróxido de sódio 0,7% em vol.

pH	Tempo (min.)
1,23	0
1,24	15
1,28	21
1,44	26
1,53	43
1,78	47
2,5	62
4,17	85
4,85	90
5,33	100
5,37	106
5,72	118
6,05	130
6,21	140

6,39	145
------	-----

FONTE: Autores.

GRÁFICO 2 - Curva de pH em função do tempo de dissolução do cloridrato de quitosana 2% de teor de polímero em solução de hidróxido de sódio 0,7% em vol.



FONTE: Autores.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A microcristalina quitosana é uma forma de modificação da quitosana, elaborada a partir de um método de agregação da macromolécula da glucosamina. O método de obtenção da microcristalina quitosana demonstrado esta de acordo com a patente P-281975, de Struszczyk H. M. 2003.

O método de obtenção da microcristalina quitosana ocorreu seguindo a o princípio da definição das reações de ácido-base de Lewis, ou seja, pela doação do íon OH^- ao íon H^+ produzindo água (H_2O) por ligação covalente. Enquanto os íons Na^+ procedentes da solução aquosa de hidróxido de sódio reagiram com os íons Cl^- da solução aquosa de cloridrato de quitosana.

6. PRÓXIMAS ETAPAS

Nas etapas posteriores desta pesquisa nos voltaremos à caracterização da microcristalina quitosana.

7. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. SANDFORD, P. A., ANTHOSSEN, T., SKJAK-BRAEK, G.; Chitin and chitosan: sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. London, Elsevier (1989) 853.
2. Patrícia B. Malafaya, Gabriela A. Silva, Rui L. Reis. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications, *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007) 207–233.
3. Kubota, N.; Tastumoto, N.; Sano, T.; Toya, K.; *Carbohydr. Res.* 2000, 324, 268.
4. Luciano Pighinelli, Magdalena Kucharska, Dariuz Wawro. Preparation of Microcrystalline chitosan: (MCCh0/tricalcium phosphate complex with Hydroxiapatite in sponge and fibre from for hard tissue regeneration.
5. PETER, M. G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *Pure Appl. Chem.*, v. 32, p. 629- 640, 1995.
6. KARLSEN, J. Excipient properties of chitosan. *Manufacture Chem.*, v. 3, p. 18-19, 1991.
7. LI, Q. et al. Applications and properties of chitosan. In: GOOSEN, M. F. A. (Ed.). *Applications of chitin and chitosan*. Basel: Technomic, 1997. p. 3-29.

8. Muzzarelli, R. A. A.; Cell Mol. Life Sci. 1997, 53, 131.
9. Bersch, P. C.; Nies, B.; Liebendorfer, A.; J. Mater. Sci. Mater. Med. 1995, 6, 231.
10. FELT, O.; BURI, P.; GURNY, R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 24, p. 979-993, 1998.
11. Kubota N, Eguchi Y. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility. Polym J 1997;29:123–7.
12. Aiba S. Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and block copolymer structures in partially N-acetylated chitosans. Int J Biol Macromol 1991;13:40–4.
13. Rinaudo M, Domard A. Solution properties of chitosan. In: Skjak-Braek G, Anthonsen T, Sandford P, editors. Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. London and New York: Elsevier; 1989. p. 71–86.
14. Rinaudo M, Pavlov G, Desbrières J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. Polymer 1999;40:7029–32.
15. Rinaudo M, Pavlov G, Desbrières J. Solubilization of chitosan in strong acid medium. Int J Polym Anal Charact 1999;5:267–76.
16. KARLSEN, J. Excipient properties of chitosan. **Manufacture Chem.**, v. 3, p. 18-19, 1991.
17. LI, Q. et al. Applications and properties of chitosan. In: GOOSEN, M. F. A. (Ed.). **Applications of chitin and chitosan**. Basel: Technomic, 1997. p. 3-29.

18. Muzzarelli, R. A. A.; *Cell Mol. Life Sci.* **1997**, *53*, 131.
19. Bersch, P. C.; Nies, B.; Liebendorfer, A.; *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1995**, *6*, 231.
20. Rinaudo M, Chitin and chitosan: Properties and applications, *Prog. Polym. Sci.* 31 (2006) 603–632.
21. Muzzarelli C., Ricardo A. A. Muzarelli. (2002) Natural and artificial chitosan-inorganic composites, *Journal of Inorganic Biochemistry* 92 89-94
22. Bouxsein ML, Myburgh KH, van de Meulen MC, Lidenberger E, Marcus R. (1994). Age-related differences in crosssectional geometry of the forearm bones in healthy women. *Calcif Tissue Int*; *54*: 113-8