



MÉTODOS DE OBTENÇÃO E PROPRIEDADES DE SAIS DE QUITOSANA.

Luan Rios Paz¹; Gabrielle Brehm Zanin²; Dr. Eng. Luciano Pighinelli.

Universidade Luterana do Brasil - Biomatter laboratório de Biomateriais.

¹Engenharia Química, ²Engenharia Ambiental,

Resumo

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. [9, 10] 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.

O grau de dissolução de um soluto em um solvente depende de vários fatores, o mais importante, visto que o processo de obtenção em todas as amostras foi realizado em temperatura ambiente e sob pressão atmosférica constante, seja a natureza das partículas de solvente e soluto e as interações entre elas. Os ácidos diferem entre si quanto à doação de prótons. Os ácidos mais fortes, como o HCl, reagem quase que completamente com a água, ao passo que ácidos mais fracos, como o ácido acético (CH₃COOH), reagem apenas parcialmente. Ambos os tipos de amostras (cloridrato de quitosana e acetato de quitosana) apresentaram boa resistência a tração, boa transparência além de apresentar boa adesão. O desenvolvimento do método de obtenção do cloridrato e acetato de quitosana pode ser usado para obtenção de outros sais de quitosana.

Palavras-chave: Quitina; quitosana; sais de quitosana; propriedades; aplicações.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. MÉTODOS E MATERIAIS.....	5
2.1. MATERIAIS.....	5
2.2. MÉTODOS DE OBTENÇÃO DOS SAIS DE QUITOSANA.....	5
2.2.1. SÍNTESE DO CLORIDRATO DE QUITOSANA 95% DESACETILADA EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO CLORÍDRICO – 0,35% VOL. 5	
2.2.2. SÍNTESE DO ACETATO DE QUITOSANA 95% DESACETILADA EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO – 0,4% VOL.	7
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	8
3.1. TABELAS E GRÁFICOS DE pH X TEMPO.....	9
3.2. A RELAÇÃO ENTRE A SOLUBILIDADE E O GRAU DE DESACETILAÇÃO NA OBTENÇÃO DE FILMES A BASE DE SAIS DE QUITOSANA.....	12
3.3. A VARIAÇÃO DO pH EM RELAÇÃO AO GRAU DE DESACETILAÇÃO, TIPO E CONCENTRAÇÃO DO ÁCIDO.....	13
3.4. INTER-RELAÇÃO ENTRE pH, PESO MOLECULAR, GRAU DE DESACETILAÇÃO, DEGRADAÇÃO, CARÁTER HIDROFÍLICO E HIDROFÓBICO.....	13
4. CONCLUSÕES.....	14
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

1. INTRODUÇÃO

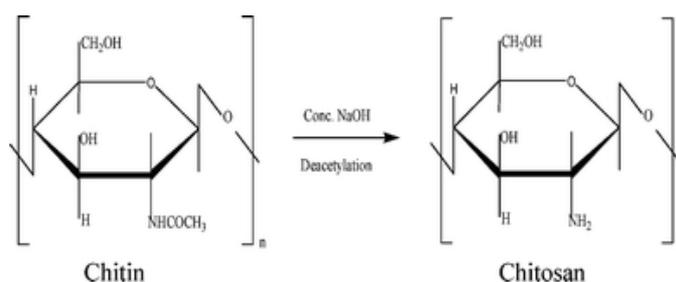
A quitina é o segundo polímero mais abundante na natureza depois da celulose. É encontrada nos componentes estruturais de conchas terrestres ou de crustáceos, de fungos e de artrópodes. A maior fonte de obtenção se dá através dos rejeitos da indústria pesqueira (como a carapaça do camarão). A Quitina, poli (β - (1-4) - N-acetil-D-glucosamina), é um polissacarídeo natural de grande importância, onde, através de processos químicos, é possível obter o seu principal derivado: a quitosana.[1, 2, 3]

Os polissacarídeos formam uma classe de materiais que têm sido geralmente subutilizados no campo dos biomateriais. O reconhecimento da utilidade e do potencial desta classe de materiais é crescente e o campo de biomateriais à base de polissacarídeos está prestes a experimentar um crescimento rápido. Três fatores contribuíram especificamente para esse reconhecimento crescente dos biomateriais a base de polissacarídeos. Primeiro, é grande e crescente o corpo de informações que apontam para o papel crítico destas porções de sacarídeos nos esquemas de sinalização celular e na zona de reconhecimento imunológico, em particular [4, 5, 6]. Segundo, tem sido o desenvolvimento recente de novas técnicas poderosas com potencial de síntese automatizada dos oligossacarídeos biologicamente ativos. Estas técnicas podem nos permitir "decodificar" e finalmente explorar a linguagem da sinalização de oligossacarídeos. O terceiro fator, que é o objetivo do nosso estudo e pesquisa relacionada à engenharia de tecidos e a necessidade associada de novos materiais com propriedades específicas, atividade biológica controlável e biodegradabilidade. [7, 8]

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. [9, 10] 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, 12] 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, 12]

FIGURA 1 - Conversão de quitina em quitosana



O objetivo de estudo é a preparação de sais de quitosana a partir de dissolução através de soluções ácidas comumente empregadas na indústria farmacêutica para preparação de remédios. Devido à quitosana ser 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 ácido 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 depois de prolongada agitação e aquecimento. [11] Em nossos experimentos empregaremos ácido clorídrico e ácido acético.

Portando o ácido clorídrico e o ácido acético em nosso experimento segue o papel de ácido, enquanto a quitosana sendo um composto orgânico que contém oxigênio e nitrogênio faz o papel da base para a formação por

dissolução na formação de dois sais de quitosana; o *cloridrato de quitosana* e o *acetato de quitosana*. A maioria das aplicações de quitosana está relacionada às suas propriedades de polieletrólito, que surgem a partir das cargas positivas que podem se desenvolver nas macromoléculas devido à protonação dos grupos amina em meio ácido, como é mostrado na figura 1.

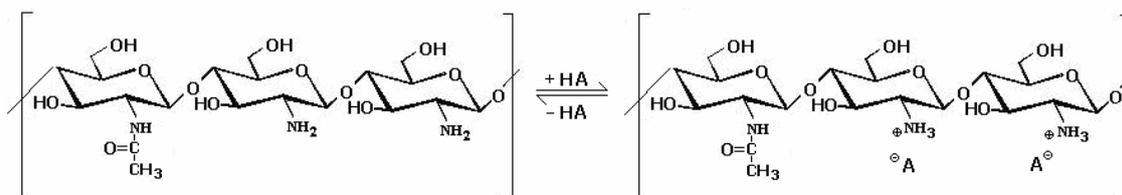


FIGURA 2 - Protonação dos Grupos Aminas em Meio Ácido [12].

2. MÉTODOS E MATERIAIS

2.1. MATERIAIS

- Quitosana com 95% de grau de desacetilação (Polymar Ciência e Nutrição S/A) (Fortaleza, CE). Teor de umidade 12,4%;
- Ácido acético (sigma-Aldrich) 99,7% p.a.;
- Ácido clorídrico (sigma-Aldrich) 37% p.a.;
- Água destilada e deionizada;

Os ácidos e a água destilada e deionizada 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.

2.2. MÉTODOS DE OBTENÇÃO DOS SAIS DE QUITOSANA

2.2.1. SÍNTESE DO CLORIDRATO DE QUITOSANA 95% DESACETILADA EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO CLORÍDRICO – 0,35% VOL.

A quitosana com 95% de grau de desacetilação e 12,4% de teor de umidade foi dissolvida pelos seguintes procedimentos. Primeiramente, a

solução de quitosana com 1% de teor de polímero foi preparada dissolvendo gradualmente partes de água destilada e deionizada e parte de uma solução de ácido clorídrico (0,35% vol.) com agitação por misturador à temperatura ambiente durante um período de 2 horas até a obtenção de uma solução transparente. Após a dissolução, 20 amostras de 25 mL deste hidrogel foram armazenadas sob duas condições, 10 amostras permaneceram secando em temperatura ambiente e as outras 10 amostras permaneceram secando em geladeira a 5°C durante 24 horas. As amostras foram acondicionadas em placas de vidro. Os valores de pH foram anotados durante a dissolução em intervalos de aproximadamente de 5 minutos cada. O método de obtenção está representado na Figura 2.

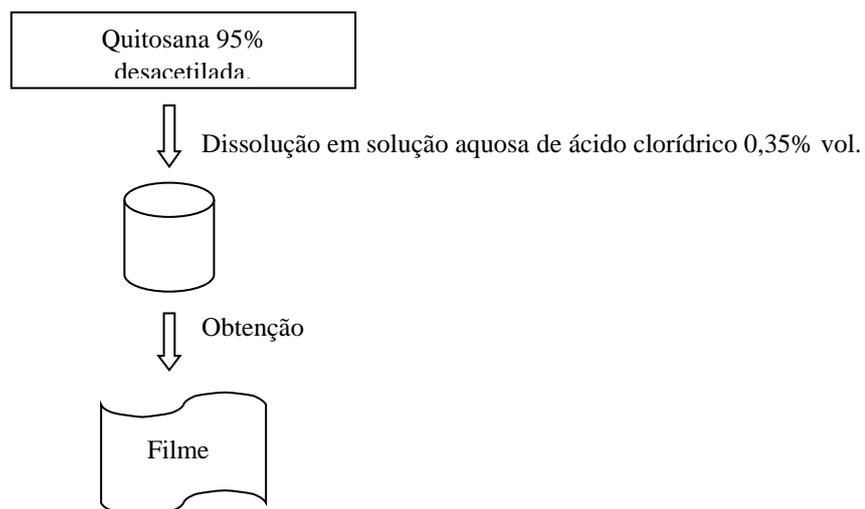


Figura 2. Fluxograma do método de obtenção do sal de quitosana 95% desacetilada, com 1% de teor de polímero (Autores).

Na Figura 3, esta representada a estrutura química do cloridrato de quitosana.

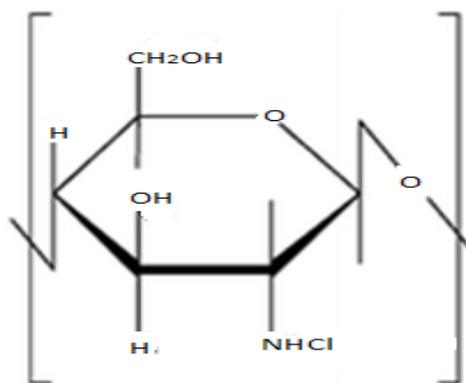


FIGURA 3 - Estrutura do cloridrato de quitosana **FONTE: Autores.**

2.2.2. SÍNTESE DO ACETATO DE QUITOSANA 95% DESACETILADA EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO – 0,4% VOL.

A quitosana com 95% de grau de desacetilação e 12,4% de teor de umidade foi dissolvida pelos seguintes procedimentos. Primeiramente uma solução de quitosana com 1% de teor de polímero foi preparada dissolvendo a quitosana em dois litros de ácido acético (0,4% vol.) com agitação à temperatura ambiente durante 2 horas até obter uma solução transparente. Após a dissolução, 20 amostras de 25 mL de hidrogel foram armazenadas sob duas condições, em temperatura ambiente e na geladeira a 8°C durante 24 horas, em recipientes de vidro aberto. O método de obtenção está exemplificado abaixo conforme o Figura 4.

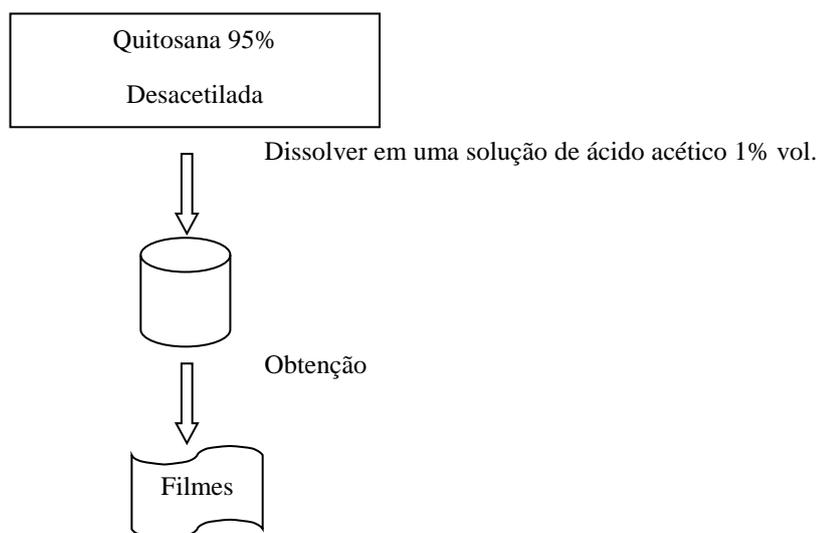


Figura 4. Fluxograma do Método de obtenção do sal de quitosana 95% desacetilada, com 1% de teor de polímero

FONTE: Autores.

Na Figura 5, esta representada a estrutura química do acetato de quitosana

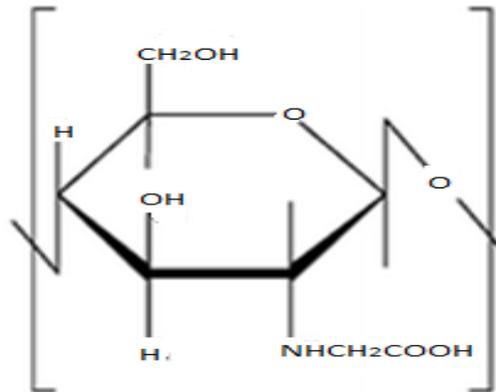


FIGURA 5 - Estrutura do acetato de quitosana **FONTE: Autores.**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. CÁLCULOS E REAÇÕES

3.1.1. CLORIDRATO DE QUITOSANA

- 1) Medir a massa de quitosana 95% D.A. com 12,4% de teor de umidade correspondente a 1% de polímero:

$$20\text{g} \rightarrow 100\%$$

$$x \rightarrow 87,6\% \quad x = 17,52\text{g de quitosana.}$$

- 2) Preparo da solução de ácido clorídrico 0,35% vol.

Ácido clorídrico 37% p.a., densidade: 1,19g/mL

$$37\% \rightarrow 1000\text{g}$$

$$0,35\% \rightarrow y \quad y = 9,45\text{g de ácido clorídrico}$$

Sendo d = densidade, m = massa do e V = volume necessário para a preparação da solução de HCl 0,35% vol.:

$$d = m/V \quad V = m/d \quad V = 9,45\text{g}/1,19\text{g/mL} = 7,95\text{mL}$$

$$7,95\text{mL} \rightarrow 1 \text{ L}$$

$$z \rightarrow 2 \text{ L} \quad z = 15,9 \text{ mL}$$

3) Reação:



3.1.2. CLORIDRATO DE QUITOSANA

1) Medir a massa de quitosana 95% D.A. com 12,4% de teor de umidade correspondente a 1% de polímero:

$$20\text{g} \rightarrow 100\%$$

$$x \rightarrow 87,6\% \quad x = 17,52\text{g de quitosana}$$

2) Preparo de 2 litros de solução de ácido acético 0,4% vol.

Ácido acético 99,7% p.a., densidade: 1,01g/mL

$$99,7\% \rightarrow 1000\text{g}$$

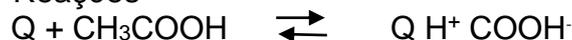
$$0,4\% \rightarrow y \quad y = 10,03 \text{ g de ácido acético}$$

$$d = m/V \quad V = m/d \quad V = 4,01\text{g}/1,01\text{g/mL} = 3,97\text{mL}$$

$$3,97 \text{ mL} \rightarrow 1 \text{ L}$$

$$z \rightarrow 2 \text{ L} \quad z = 7,94\text{mL}$$

3) Reações



3.2. TABELAS E GRÁFICOS DE pH X TEMPO

3.2.1. CLORIDRATO DE QUITOSANA

A variação de pH em função do tempo foi acompanhada ao longo de todo o experimento e a partir dos dados tabelados foi obtido o seu gráfico correspondente, ilustrado na Tabela 1.

TABELA 1. Análise da variação do pH, em função do tempo de dissolução. Solução aquosa de ácido clorídrico 0,35% e quitosana 95% D.A. com teor de 1% de polímero.

pH	Tempo (Min.)
----	--------------

4,82	5
5,16	11
5,10	15
4,8	20
4,38	25
2,41	30
1,95	35
1,72	40
1,58	45
1,45	50
1,44	55
1,35	60
1,27	65
1,2	70
1,2	76
1,16	80

FONTE: Autores.

A Figura 6, ilustra a Curva de pH em função do tempo de dissolução de solução aquosa de ácido clorídrico 0,35% e quitosana 95% D.A. com teor de 1% de polímero.

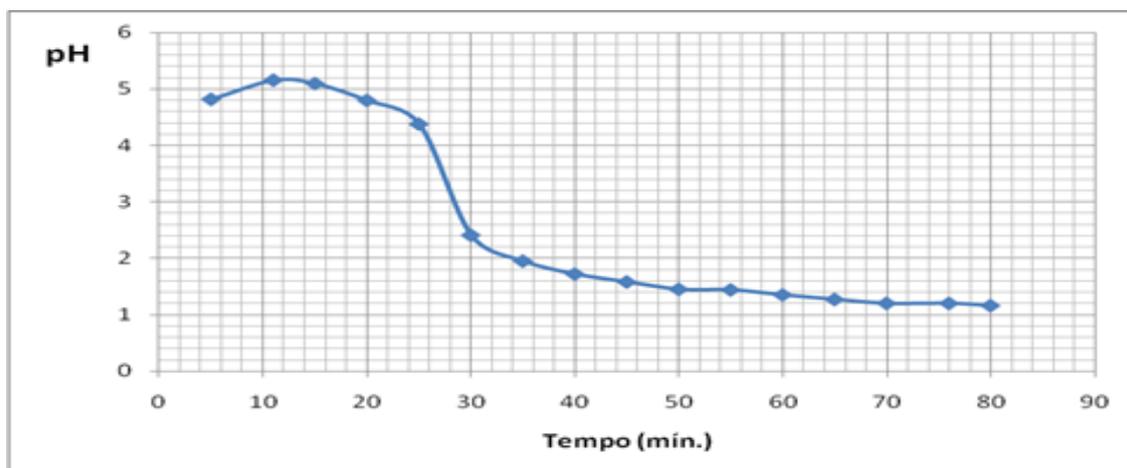


Figura 6. Curva de pH em função do tempo de dissolução de solução aquosa de ácido clorídrico 0,35%. **FONTE: Autores.**

OBS: Nota-se uma brusca variação de pH a partir de 25 minutos de dissolução.

3.2.2. ACETATO DE QUITOSANA

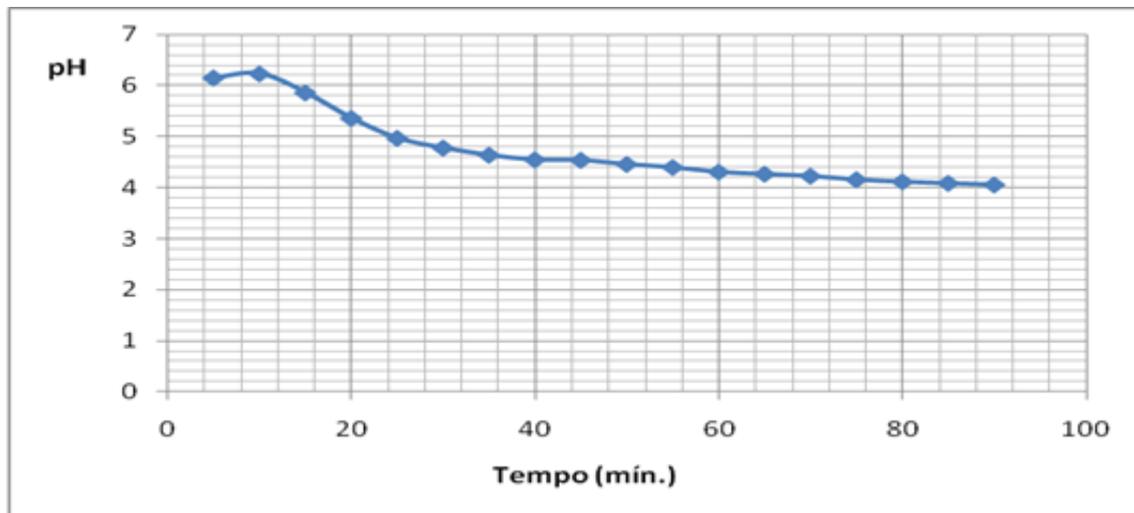
A variação de pH em função do tempo foi acompanhada ao longo de todo o experimento e a partir dos dados tabelados foi obtido o seu gráfico correspondente ilustrado na Tabela 2.

TABELA 2 - Análise da variação do pH em função do tempo de dissolução. Solução aquosa de ácido acético 0,4% e quitosana 95% DA com teor de 1% de polímero.

pH	Tempo (Min.)
6,15	5
6,23	10
5,86	15
5,36	21
4,97	25
4,78	30
4,64	35
4,55	40
4,54	45
4,46	50
4,40	55
4,31	60
4,27	65
4,23	70
4,16	75
4,12	80
4,09	85
4,06	90

FONTE: Autores.

A Figura 7, mostra a curva de pH em função do tempo de dissolução da solução aquosa de ácido acético 0,4% e quitosana 95% D.A. com teor de 1% de polímero.



A Figura 7. Curva de pH em função do tempo de dissolução da solução aquosa de ácido acético. FONTE: Autores.

3.3. A RELAÇÃO ENTRE A SOLUBILIDADE E O GRAU DE DESACETILAÇÃO NA OBTENÇÃO DE FILMES A BASE DE SAIS DE QUITOSANA

O comportamento da quitosana com grau de desacetilação de 95%, considerando a sua dissolução em solução de ácido clorídrico em meio aquoso, com concentração de 0,35% em seu volume e por meio de prolongada agitação a temperatura ambiente, apresentou uma excelente solubilidade, boa transparência, tonalidade dourada e um sensível aumento de viscosidade. Este comportamento se repetiu na dissolução da quitosana com grau de desacetilação de 95% nas soluções de ácido acético, com concentração de 0,4% em seu volume. Os filmes obtidos na forma desses dois sais de quitosana com grau de desacetilação de 95%, o cloridrato de quitosana e o acetato de quitosana, ambos apresentaram excelente transparência, superfície homogênea, e boa resistência ao serem tracionados.

3.4. A VARIAÇÃO DO pH EM RELAÇÃO AO GRAU DE DESACETILAÇÃO, NATUREZA E CONCENTRAÇÃO DO ÁCIDO

As soluções de quitosana com grau de desacetilação de 95% tiveram comportamento distintos em relação à variação do pH de acordo com o ácido empregado e o tempo de duração do processo de dissolução. Sob uma solução de ácido clorídrico com 0,35% de concentração em seu volume, houve uma variação de pH de 5,16 a 1,16 durante o tempo de dissolução de 80 minutos até a sua total dissolução, sob constante agitação e em temperatura ambiente. Já a solução preparada com ácido acético com 0,4% de concentração em seu volume, sofreu uma variação menor de pH. Na solução de ácido acético com 0,4% de concentração em seu volume, o pH variou de 5,60 até 3,60 durante o tempo de dissolução de 75 minutos, até a sua total dissolução sob agitação constante em temperatura ambiente.

3.5. INTER-RELAÇÃO ENTRE pH, PESO MOLECULAR, GRAU DE DESACETILAÇÃO, DEGRADAÇÃO, CARÁTER HIDROFÍLICO E HIDROFÓBICO

De forma objetiva podemos destacar essa inter-relação da seguinte forma:

- Com o aumento do grau de desacetilação há o aumento do caráter hidrofílico, pois temos no meio uma maior concentração de grupos aminas e uma redução da presença dos grupos acetilas;
- O peso molecular do polímero é reduzido com o aumento da concentração de ácido da solução, pois é acentuada a sua degradação. Essa degradação ocorre pela natureza do ácido e também pela ação cisalhante gerada pela haste metálica do misturador;
- Quanto menor o grau de desacetilação da quitosana maior será o seu caráter hidrofóbico, pois haverá uma maior presença de grupos acetilas.

4. CONCLUSÕES

O grau de dissolução de um soluto em um solvente depende de vários fatores, o mais importante, visto que o processo de obtenção em todas as amostras foi realizado em temperatura ambiente e sob pressão atmosférica constante, seja a natureza das partículas de solvente e soluto e as interações entre elas. Os ácidos diferem entre si quanto à doação de prótons. Os ácidos mais fortes, como o HCl, reagem quase que completamente com a água, ao passo que ácidos mais fracos, como o ácido acético (CH_3COOH), reagem apenas parcialmente.

Devido ao fato do HCl ser um ácido mais forte, ou seja ele dissocia-se totalmente em solução aquosa, no meio ácido ocorre a protonação dos grupos aminas, ou seja os íons H^+ reagem com o grupo amina para formar a amônia, que a partir de então positivamente carregada atrai os íons Cl^- formando os sais de cloridrato de quitosana. O excesso de íons H^+ tendem a diminuir o peso molecular do polímero e o pH da solução. E foi o que ocorreu, pois o ácido clorídrico (0,35% vol.) na solução reduziu significativamente o pH da amostra de quitosana 95% desacetilada. Contudo, na amostra contendo ácido acético (0,4% vol.) a variação do pH foi bem menor, refletindo em uma menor degradação de polímero devido ao fato desse ácido ser considerado fraco e reagir parcialmente em meio aquoso, resultando em uma menor disponibilidade de íons H^+ na solução, gerando uma variação de pH menos significativa se comparada com a solução de cloridrato de quitosana.

Em linhas gerais, ambos os tipos de amostras (cloridrato de quitosana e acetato de quitosana) apresentaram boa resistência, boa transparência, além de apresentar boa adesão ao tecido.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. J.-K. Francis Suh, Howard W.T. Matthew. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review, *Biomaterials* 21 (2000) 2589-2598.
- [2]. Luciano Pighinelli, Magdalena Kucharska, Dariuz Wawro. Preparation of Microcrystalline chitosan: (MCChO/tricalcium phosphate complex with Hydroxiapatite in sponge and fibre from for hard tissue regeneration.
- [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: (MCChO/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]. Rinaudo M, Pavlov G, Desbrieres J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer* 1999;40:7029–32.
- [12]. Rinaudo M, Pavlov G, Desbrieres J. Solubilization of chitosan in strong acid medium. *Int J Polym Anal Charact* 1999;5:267–76.