



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

ALMIR ROGÉRIO DA SILVA FREITAS

**DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR DE QUITOSANAS COMERCIAIS PARA
USO FARMACÊUTICO.**

CAMPINA GRANDE - PB

2014

ALMIR ROGÉRIO DA SILVA FREITAS

**DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR DE QUITOSANAS COMERCIAIS PARA
USO FARMACÊUTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC
apresentado a Universidade Estadual da
Paraíba, na forma de artigo em
cumprimento às exigências para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Profa. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima

CAMPINA GRANDE – PB

2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

F866d Freitas, Almir Rogério da Silva.

Determinação da massa molar de quitosanas comerciais para uso farmacêutico [manuscrito] / Almir Rogerio da Silva Freitas. - 2014. 26 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima, Departamento de Farmácia".

1. Farmacêutica. 2. Quitosana. 3. Massa Molar. 4. Viscosidade. I. Título.

21. ed. CDD 515.19

DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR DE QUITOSANA COMERCIAL PARA USO FARMACÊUTICO

ALMIR ROGÉRIO DA SILVA FREITAS

Aprovado em: 24 / 02 / 2014

Banca Examinadora:

Rosemary Sousa Cunha Lima.

Prof.^a Dr.^a Rosemary Sousa Cunha Lima /UEPB

Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB

Orientadora

Rossemberg Cardoso Barbosa

Prof. Dr. Rossemberg Cardoso Barbosa

Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais/CCT/UFCG

Examinador

Maria Roberta de Oliveira Pinto.

Prof.^a Dr.^a Maria Roberta de Oliveira Pinto

Departamento de Química/CCT/UEPB

Examinador

DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR DE QUITOSANA COMERCIAL PARA USO FARMACÊUTICO

FREITAS, Almir Rogério da Silva¹.

LIMA, Rosemary Sousa Cunha².

RESUMO

A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina por processo de hidrólise básica. Esse biopolímero vem sendo extensivamente pesquisada porque possui características que a faz apropriada para uma grande variedade de aplicações. A execução desse projeto contemplou a determinação da massa molar de quitosanas comerciais, e se propõe a relacionar o uso de cada uma delas, baseado na literatura de estudo. Os ensaios realizados foram baseados em métodos químicos sendo necessário preparar as soluções de quitosanas de dois fabricantes nacionais (A e B) e um importado (C). A partir daí, foi determinada a viscosidade das substâncias através do viscosímetro de – RHEOTEK RPV-1 PULP. Com esses dados foi possível calcular a massa molar viscosimétrica média (M_v) utilizando a equação empírica de Mark-Houwink Sakuraba. Através de cálculos encontrou-se a massa molar viscosimétrica média das quitosanas A, 92,97 KDa, B 54,94 KDa e C 331 KDa. A metodologia utilizada foi eficaz para o cálculo e comparação das massas molares de quitosanas comerciais. As quitosanas A e B que não continham informações acerca de sua massa molar foram classificadas como de baixa massa molar. A quitosana C foi classificada como de média massa molar, confirmando os dados do fabricante. Segundo dados da literatura, os produtos nacionais de baixa massa molar possuem ação bactericida e antifúngica e a quitosana importada de média massa molar é ideal para produção de fimes para preservação pós-colheita de mamões papaia.

Palavras-Chave: Quitosana, viscosidade, massa molar.

1. Acadêmico de Farmácia/Departamento de Farmácia/CCBS/Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: almirrogeriofreitas@hotmail.com

2. Professora Doutora/Departamento de Farmácia/CCBS/Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: rosysousa1@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina por processo de hidrólise básica. Esse biopolímero apresenta importantes propriedades biológicas tais como baixa toxicidade, hipoalergenicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades anticoagulante e bactericida (KURITA, 2006; SHI, 2006).

Toneladas de quitina e seus derivados são desperdiçados no Brasil a cada ano, pois as carapaças de crustáceos são resíduos abundantes e rejeitados pela indústria pesqueira. A reutilização da quitina é muito importante do ponto de vista ambiental, pois reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo dos resíduos nos locais onde é gerado e estocado (GROSSEN, 2009). O descarte destes resíduos orgânicos se constitui um grande agente poluidor. Nas águas causam proliferação de organismos patogênicos e no solo através de aterros sanitários são responsáveis pela transmissão de doenças através de vetores como baratas, ratos, mosquito e moscas (IBAMA, 2001).

A produção industrial e o uso de quitina e seus derivados, principalmente a quitosana, encontra-se em constante crescimento. Os principais fatores que contribuem para este interesse são: i) abundância de matéria-prima; ii) possibilidade de utilização de rejeitos fartos e de baixo custo oriundos da indústria pesqueira; iii) volume de pesquisas confirmando e ampliando continuamente o potencial de aplicação desses materiais (GOY et al., 2004).

Quitina e quitosana são copolímeros constituídos por unidades *N*-acetil-*D*-glicosamina e *D*-glicosamina em proporções variáveis, sendo que o primeiro tipo dessas unidades predomina no caso de quitina, enquanto quitosana é composta predominantemente, por unidades *D*-glicosamina (KUBOTA, 2000).

No mercado, pode-se encontrar quitosanas de marcas importadas e de marcas nacionais, observando-se que o preço da quitosana importada varia conforme a especificação do produto. O laboratório mais tradicional em produção e fornecimento de quitosana é o Sigma-Aldrich[®]. No mercado brasileiro, encontra-se indústrias como a Polymar[®] no estado do Ceará e a Phytomare[®] em Santa Catarina,

que são as únicas empresas a produzirem quitosana em escala industrial, com apoio de centros de pesquisas vinculados a universidades. O produto é registrado no Ministério da Saúde como alimento, sendo comercializado como redutor de peso e de colesterol (SANTOS, 2004). Apesar destes dados já não serem tão atuais, desconhece-se outros produtores nacionais.

A Quitosana vem sendo extensivamente pesquisada porque possui características que a faz apropriada para uma grande variedade de aplicações (CAMPANA; SIGNINI, 2001). Sua utilização vem sendo feita em produtos de alto valor agregado, como cosméticos, na liberação de fármacos, estabilizantes, membranas e produtos farmacêuticos. Pesquisas descrevem sua aplicação na forma de géis, flocos e na imobilização celular em meios de cultura (DALLAN, 2005).

Derivados de quitina e quitosana têm sido usados na forma de pró-fármacos com resultados satisfatórios, indicando que esses polímeros são eficientes na forma de transportadores de fármacos inativos. O processo é conhecido como latenciação. Por meio dele, pode-se obter direcionamento da ação para o sistema nervoso central (SNC), seletividade de ação, melhorando a biodisponibilidade, como também resolver problemas de instabilidade e baixa solubilidade em preparações farmacêuticas (SOMOGY, et al, 2004, apud SILVA, 2007).

Na farmacologia, a quitosana é largamente utilizada como produto de ação terapêutica quando aplicada na formulação de antiácidos, membrana para hemodiálise, cicatrizante de feridas e queimaduras, constituintes de biomembranas (encapsulamento de medicamentos), redutor do peso corporal, redutor dos níveis de colesterol e como agente antibacteriano e antiviral (FELSE e PANDA, 1999; DALLAN, 2005; SILVA et al., 2006, apud SILVA, 2007).

É necessário se ter um produto bem especificado para que ele possa ser utilizado como matéria prima na área farmacêutica, pois a qualidade e as propriedades da quitosana podem variar, dependendo do seu processo de fabricação que influencia nas características do produto final. Assim, a quitosana deve ser caracterizada de acordo com suas propriedades intrínsecas como: pureza, massa molar, viscosidade e grau de desacetilação, sendo esses fatores

determinantes nas características finais do produto e em que será utilizada (DALLAN, 2005).

Considerando esses aspectos, este trabalho determinou a massa molar de três tipos de quitosanas, sendo uma de origem importada e duas nacionais. Esta informação estabelece parâmetros de comparação entre os produtos, sendo útil para pesquisadores e para as indústrias farmacêuticas pela possibilidade que representa de trazer informações que nortearão escolhas dos produtos.

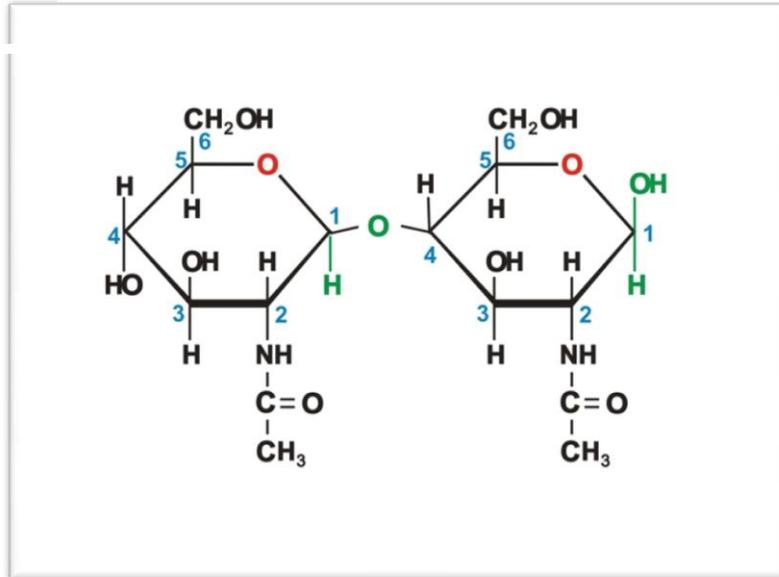
Polímeros Naturais: Quitina e Quitosana

O grande interesse de cientistas e tecnólogos pela quitina e a quitosana como materiais poliméricos, com aplicações na área biomédica, advém do fato de que estes polissacarídeos têm características tecnológicas e econômicas relevantes além de apresentarem propriedades biológicas adequadas: são atóxicos, biocompatíveis, biodegradáveis e produzidos por fontes naturais renováveis (DALLAN, 2005; FRAGA et al. 2006; SANTOS et al., 2003; CUI et al., 2008, apud LIMA, 2010). São derivados de resíduos da indústria da pesca, produzidos a partir do processamento da carapaça dos crustáceos e apresentam um grande valor comercial devido à sua alta porcentagem de nitrogênio (6,89%), quando comparada à celulose substituída sinteticamente (1,25%), tornando-os agentes quelantes (DALLAN, 2005; CRINI; BADOT, 2007, apud LIMA, 2010). Estima-se que, cerca de 10 bilhões de toneladas de quitina e seus derivados, são produzidos a partir e organismos vivos a cada ano (WONG, 2009).

A quitina e a quitosana são heteropolímeros ou copolímeros formados a partir dos monômeros (1,4)-2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose e β -(1,4)-2-acetoamino-2-desoxi-D-glicopiranosose que se ligam entre si por ligações glicosídicas (CAMPANA FILHO et al., 2007; KUMAR, 2000 apud LIMA, 2010).

Denomina-se ligação glicosídica (FIGURA 1), a ligação covalente que une dois monossacarídeos a partir de um grupo hidroxila de um deles com o átomo de carbono anomérico do outro (LIMA, 2010).

Figura 1. Ligação glicosídica entre monômeros da quitina

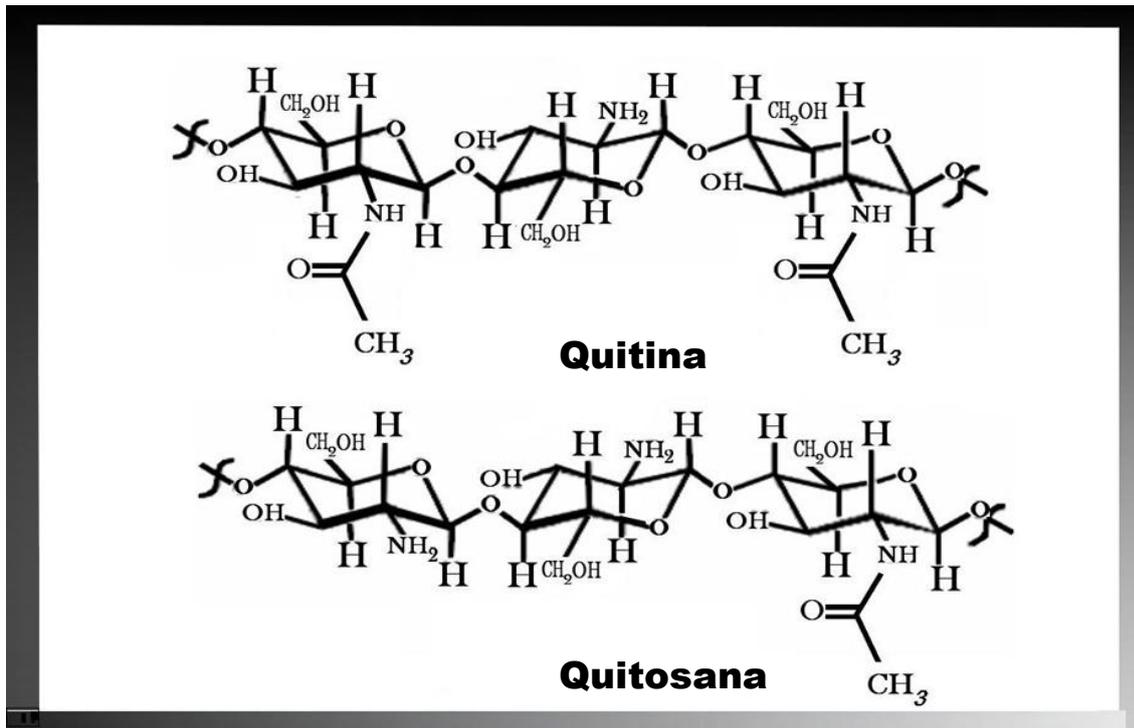


Fonte: Lima (2010)

Na nomenclatura dos polissacarídeos, algumas vezes é utilizada a letra “O” precedendo o nome do primeiro monossacarídeo, como lembrete que a união açúcar-açúcar é feita através do átomo de Oxigênio, como por exemplo, no caso do O- α -D-glicopiranosose (1 \rightarrow 4) β -D-glicopiranosose. O símbolo (1 \rightarrow 4) indica que a ligação glicosídica ocorreu entre o C₁ do primeiro monossacarídeo e o C₄ do segundo monossacarídeo. As ligações glicosídicas são facilmente hidrolisadas por ácido, mas resistem à clivagem por base (LIMA, 2010).

A quitosana é obtida pela desacetilação da quitina, mais especificamente do carbono 2 do segundo monômero. Desta forma, quanto à estrutura química, a principal diferença entre a quitina e a quitosana diz respeito à presença do radical acetato, ligado ao radical amino, no carbono 2 que compõe o anel principal da estrutura (CAMPANA FILHO et al., 2007; KUMAR, 2000, apud LIMA, 2010). Na Figura 2, esta diferenciação pode ser visualizada.

Figura 2. Estrutura química da Quitina e da Quitosana



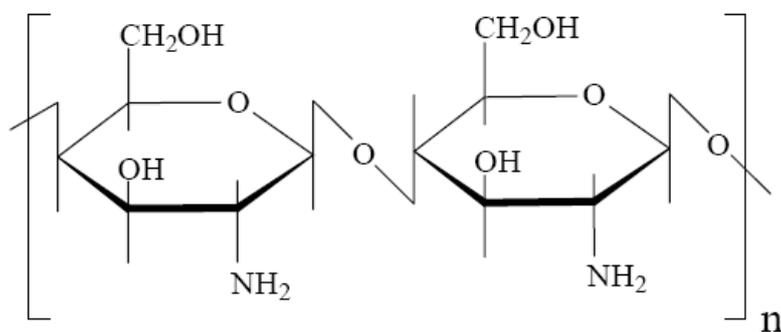
Fonte: Lima (2010)

Ambos os polímeros exibem propriedades físico-químicas, biológicas e mecânicas bem interessantes, com grande potencial de aplicações. Várias destas propriedades são relatadas pelo Grau de N-acetilação - GA, que é o mais importante parâmetro de comportamento dos polímeros. Este parâmetro é utilizado para caracterizar o conteúdo médio de unidades N-acetil-D-glicosamina de quitina e quitosana. A determinação do GA dos dois polímeros é o mais importante parâmetro que influencia suas propriedades e comportamento, facilitando o estudo de estruturas químicas, propriedades e relações estruturas-propriedade. Se o GA é conhecido, muitas propriedades podem ser previstas (KASAAI, 2008; SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006, apud LIMA, 2010). Em contraposição, a fração ou percentagem de unidades de glicosamina (monômeros desacetilados) em uma molécula polimérica de quitosana ou quitina é denominada Grau de Desacetilação – GD (ASTM, 2007). O GD varia com a fonte de quitina e com o método de processamento (WONG, 2009).

Obtenção da quitosana

A desacetilação da quitina leva à obtenção de quitosana, seu mais importante derivado, cuja estrutura primária é idêntica à da quitina a não ser pelo fato que na quitosana predominam as unidades 2-amino- 2-desoxi-D-glicopiranosose, como mostrado na Figura 3.

Figura 3. Estrutura química da quitosana



Fonte: Santos (2004)

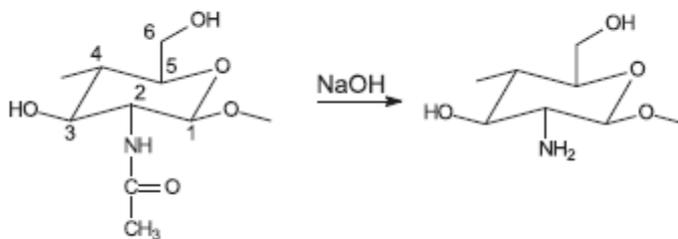
Assim, o termo quitosana abrange o conjunto de copolímeros que contém ao menos 50-60% de unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose. Não há limites bem definidos em termos dos conteúdos de unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose para a distinção de quitina e quitosana, mas em função de suas composições distintas os polímeros exibem propriedades bem diferentes. Do ponto de vista prático, é a solubilidade que permite a distinção mais simples e rápida, pois a quitosana é solúvel em soluções aquosas diluídas de vários ácidos (as soluções de ácido acético e clorídrico são as mais comumente empregadas), mas a quitina não é solúvel nesses meios, sendo dissolvida apenas em poucos sistemas solventes (AIROLDI, 2008).

Usualmente, a quitosana é obtida utilizando-se soluções extremamente concentradas de hidróxido de sódio (40 - 60%) por tempos variáveis (0,5 - 24 h) e a temperaturas relativamente elevadas (50 - 130 °C). As características da quitosana são determinadas pela concentração da solução alcalina e razão quitina/solução alcalina, tamanho das partículas de quitina, temperatura, tempo e atmosfera de

reação. As condições mais severas são geralmente empregadas no sentido de favorecer a eficiência da desacetilação, porém disso resulta em acentuada despolimerização via hidrólise alcalina (CAMPANA-FILHO et al, 2007).

Na Figura 4 é mostrada a reação química de desacetilação da quitosana em presença de NaOH.

Figura 4. Reação química da desacetilação da quitosana



Fonte: Airoidi (2008)

Propriedades físico-químicas da quitosana

A quitosana é encontrada comercialmente em forma de pó. A caracterização da quitosana pode ser feita levando em consideração as propriedades físicas, químicas e biológicas (SHI et al, 2006, apud BEZERRA, 2011).

As propriedades físicas são: tamanho das partículas, densidade, solubilidade, viscosidade e descrição de suas apresentações, ou seja, cor, forma de apresentação. São consideradas propriedades químicas: distribuição da massa molar, grau de desacetilação, pH, índice de cristalinidade, valor de retenção de água, níveis de metais pesados e proteínas. As propriedades biológicas são: apirogenicidade, citotoxicidade e biocompatibilidade (SHI et al, 2006, apud BEZERRA, 2011).

A distribuição da massa molar, ou seja, a polidispersão (PD) é influenciada por vários parâmetros, tais como: tempo, temperatura, concentração e condições atmosféricas empregadas na reação de N-desacetilação. Assim, amostras de quitosana podem ter características diferentes quanto ao GD, viscosidade e

distribuição da massa molar, que irão influenciar no desempenho final do polímero (CANELLA; GARCIA, 2001).

A quitosana é insolúvel em água em pH alcalino e neutro e solúvel em pH ácido. Em ácidos diluídos ($\text{pH} < 5,5$), os grupamentos aminos livres são protonados e a molécula se torna solúvel (SHI et al, 2006, apud BEZERRA, 2011).

Com uma cadeia polimérica flexível, a quitosana apresenta também grupos funcionais potencialmente reativos como grupamentos amina ($-\text{NH}_2$), vários grupos hidroxilas primárias e secundárias nas posições C-2, C-3 e C-6 que, por sua vez, apresentam forte afinidade com a água. Modificações feitas nestes grupamentos produzem diferentes materiais que podem ser utilizados em diversas aplicações (SANTOS, 2004).

Por ser um polímero natural, a massa molar de diferentes amostras de quitosana é variada. Dependendo da procedência da amostra e dos tipos de tratamento que foram empregados para sua obtenção muitos valores de massa molar podem ser obtidos (KHAN; PEH; CHING, 2002, apud BEZERRA, 2011).

O grau de polimerização de um polissacarídeo pode ser reduzido rompendo-se suas ligações glicosídicas. Métodos atuais para preparação de oligossacarídeos incluem a hidrólise por ácidos, leveduras, enzimas, radiação e oxidação. A redução da cadeia polimérica catalisada por ácidos é simples, porém não é possível controlar o grau de polimerização e a separação desses polímeros de baixa massa molar não é um processo fácil, tão pouco simples. Além disso, os resíduos gerados por uma hidrólise ácida são tóxicos. Os métodos enzimáticos e com leveduras são mais pontuais, permitindo um controle do processo e da distribuição da massa molar. No entanto, estes métodos são mais dispendiosos. Já os métodos que utilizam a radiação, como a irradiação de raios- γ , possibilitam altas taxas de degradação nas cadeias polissacarídeas, entretanto reações entre os oligossacarídeos, como reticulação, são fáceis de ocorrer. No método oxidativo, o agente oxidante mais utilizado é o peróxido de hidrogênio. O processo apresenta uma metodologia simples, barata, sem resíduos tóxicos ao final do processo, além da rápida despolimerização dos biopolímeros (HUANG, 2008). Essas informações se aplicam a quitosanas por ela ser classificada como polissacarídeo.

Sabe-se que durante o processo de obtenção da quitosana, altas temperaturas, assim como, altas concentrações de reagentes podem acarretar danos irreparáveis a qualidade deste polímero, modificando o grau de desacetilação, massa molar, viscosidade, etc (RIANDE, 2000). Para que haja uma maior utilização do produto por parte da indústria farmacêutica, todos esses fatores precisam ser controlados.

Aplicações farmacêuticas e biomédicas

A quitosana é um material funcional de aplicação em vários campos do conhecimento. Na área farmacêutica ela vem sendo utilizada como excipiente em formulações farmacêuticas para liberação controlada de medicamentos e encapsulação de materiais. Na área biomédica é usada em suturas cirúrgicas, reconstituição óssea, implantes dentários, sendo utilizada ainda, na confecção de biomaterias, como lentes de contato, membranas renais, pele artificial, entre outros (KUMAR, 2000).

As nanopartículas de quitosana têm sido bastante estudadas por serem altamente biocompatíveis, biodegradáveis e não tóxicas. Além disso, tem sido amplamente explorada para a preparação de nanopartículas para liberação controlada oral de vários agentes terapêuticos (WANG et al., 2011).

É atribuída à quitosana também uma potente ação analgésica tópica. Estudos realizados por Okamoto (2002) sugerem que o principal efeito analgésico da quitosana é decorrente da captura de hidrogênios ácidos liberados no local da inflamação pela ionização do grupo amínico a NH^{3+} . A bradicinina, mediador químico liberado pelo cininogênio plasmático e outras citocinas, como Fator de Necrose Tumoral α (FNT α) e as Interleucinas 1 (IL-1) e 8 (IL-8), parece ser particularmente importante para a produção da dor no local inflamado.

A quitosana teria a propriedade de absorver a bradicinina liberada no sítio da inflamação e a quitina, com capacidade de absorção quase três vezes maior que esta. Também possui propriedades de absorção gordura e redução do colesterol que são objetos de estudo de diversas pesquisas ao longo do mundo. A quitosana é

tema das mais variadas publicações e alvo de diversas linhas de pesquisa e experimentos. Os benefícios fornecidos no consumo desta fibra são inúmeros, desde regulação da função digestiva, absorção de gorduras não permitindo sua absorção pelo organismo, redução dos níveis de açúcar no organismo (AZEVEDO, 2007).

O processo de absorção das gorduras pela quitosana se dá quando a fibra é ingerida antes da ingestão dos alimentos. Quando chega ao estômago, a fibra em contato com meio ácido, se solubiliza, transformando-se em gel. Este gel apresenta condições adequadas para atrair e capturar as gorduras presentes nos alimentos ingeridos, levando-as em direção ao intestino, onde a quitosana é solidificada formando um envoltório em torno das gorduras, não permitindo assim sua absorção pelo organismo (AZEVEDO, 2007).

A atividade antimicrobiana está relacionada à presença de grupos amínicos que, uma vez em contato com os fluidos fisiológicos, provavelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos dos microrganismos, resultando na aglutinação das células microbianas e inibição do crescimento (CLEASEN; WHILHELMS; KULICKE, 2006).

Massa molar viscosimétrica média (Mw)

A viscosidade das soluções de quitosana aumenta à medida que aumenta a concentração da amostra, diminui-se a temperatura, aumenta-se o grau de desacetilação. O tamanho da cadeia polimérica e sua massa molar interferem na solubilização das amostras. Por ser um biopolímero, a massa molar de diferentes amostras de quitosana é diferente. Diversos valores podem ser obtidos dependendo da procedência da amostra e de tipos de tratamentos que foram empregados na sua obtenção. Com o intuito de reduzir essa discrepância nas faixas de massa molar obtidas, classificam-se as amostras de quitosana segunda a distribuição da massa molar em: alta, média e baixa massa molar assim como ocorre em outros polímeros como o polietilenoglicol (PEG) e carboximetilcelulose (CMC) (DEE; RHODE; WACHTER, 2001).

Todorovic (2002) enfatiza que a solubilidade pode ser alterada através de modificações químicas, como a introdução de grupos, ou a despolimerização da

cadeia polissacarídica. O grau de despolimerização está condicionado à redução do seu massa molar (M_w), alterando sua viscosidade. Um método simples para avaliar essa redução é a verificação da viscosidade em solução.

Sendo assim, fica constatado que, a viscosimetria pode ser utilizada para determinar a massa molar viscosimétrica média dos polímeros, entre eles a quitosana. A equação mais utilizada que relaciona viscosidade e massa molar é a equação de Mark-Houwink-Sakurada:

$$[\eta] = K.M_v^\alpha$$

Onde: $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca;

M_v é a massa molar viscosimétrica média;

K e α são constantes viscosimétricas.

As constantes viscosimétricas são independentes da massa molar, porém são dependentes do solvente, temperatura e da estrutura química do polímero (KUMAR, 2000).

Utilizando valores de $K= 1,81 \times 10^{-3}$ e $\alpha= 0,93$ tem observado resultados aceitáveis de M_w (MAGHAMI; ROBERTS, 1988).

METODOLOGIA

As amostras de quitosanas foram adquiridas de fornecedores que apresentaram as especificações abaixo.

A- quitosana nacional produzida na Região Nordeste do Brasil, com massa molar não especificada.

B- quitosana nacional de, produzida na Região Sul do Brasil, com massa molar não especificada.

C- quitosana importada de média massa molar, segundo o fabricante.

A determinação da massa molar foi feita a partir da medida da viscosidade, conforme descrição estabelecida na ASTM D2857 (medidas de viscosidade de soluções diluídas de polímeros).

Inicialmente foi preparado um sistema de solvente 0,2Mol/L (NaCl) / 0,1Mol/L (CH₃COOH). A seguir preparou-se uma solução polimérica com concentração de 1% de quitosana comerciais de diferentes fornecedores no sistema de solvente anteriormente citado. Sendo assim, as soluções foram feitas a partir da dissolução de 1g de quitosana em 100mL do sistema de solvente 0,2Mol/L (NaCl) / 0,1Mol/L (CH₃COOH) a temperatura de 25°C. O preparo das soluções foi realizada no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, da Universidade Estadual da Paraíba.

A partir dessas soluções, foram feitas as determinações dos coeficientes de viscosidade de cada uma delas utilizando o viscosímetro RHEOTEK RPV-1 PULP, instalado no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, da Universidade Federal de Campina Grande.



Figura 5. Viscosímetro RHEOTEK RPV-1 PULP

Para classificação da quitosana quanto à massa molar, seguiu-se os critérios de Wong (2009), que considera as quitosanas como de baixa massa molar as que apresentarem valores de até 150 KDa, de média massa molar de 150 a menos de 700 e de alta massa molar de 700 a 1000 KDa.

Utilizando o viscosímetro RHEOTEK RPV-1 PULP foram encontradas as viscosidades intrínsecas das soluções de quitosanas desejadas das marcas A, B e C. Com esses dados foi possível calcular a massa molar viscosimétrica média (M_v) utilizando a equação empírica de Mark-Houwink Sakuraba que relaciona a viscosidade intrínseca à massa molar do polímero, $[\eta] = K.M_v^\alpha$, onde:

$[\eta]$ é a viscosidade intrínseca;

K e α são constantes que dependem do par polímero/solvente e da temperatura em que as medida de tempo de escoamento do solvente e da solução são conduzidas.

Como as soluções foram preparadas a uma temperatura de 25°C e tendo como para polímero/solvente quitosana/0,2M (NaCl) + 0,1M (CH₃COOH) os valores referentes as constantes são: $K= 1,81 \times 10^{-3}$ e $\alpha= 0,93$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CÁLCULO DA MASSA MOLAR VISCOSIMÉTRICA MÉDIA (M_v)

A partir da leitura dos dados feita no viscosímetro de acordo com a metodologia apresentada, foi possível estabelecer os cálculos abaixo descritos.

Quitosana A $[\eta] = 76,176 \text{ mL/g}$

$$\ln [\eta] = \ln k + \alpha \times \ln M_v$$

$$\ln 76,176 = \ln 1,81 \times 10^{-3} + 0,93 \cdot \ln M_v$$

$$4,33 = -6,31 + 0,93 \ln M_v$$

$$0,93 \ln M_v = 10,64$$

$$\ln M_v = 11,44$$

$$\mathbf{M_v = 92,97 \text{ kDa}}$$

Quitosana B $[\eta] = 46,944 \text{ mL/g}$

$$\ln [\eta] = \ln k + \alpha \times \ln M_v$$

$$\ln 46,944 = \ln 1,81 \times 10^{-3} + 0,93 \cdot \ln M_v$$

$$3,84 = -6,31 + 0,93 \ln M_v$$

$$\ln M_v = 10,91$$

$$\mathbf{M_v = 54,94 \text{ kDa}}$$

Quitosana C

$$[\eta] = 249,13 \text{ mL/g}$$

$$\ln [\eta] = \ln k + \alpha \times \ln M_v$$

$$\ln 249,13 = \ln 1,81 \times 10^{-3} + 0,93 \ln M_v$$

$$5,51 = -6,31 + 0,93 \ln M_v$$

$$0,93 \ln M_v = 11,82 \Rightarrow M_v = e^{12,7} \Rightarrow$$

$$\mathbf{M_v = 331 \text{ kDa.}}$$

Sendo assim, a massa molar viscosimétrica média calculada para cada uma das quitosanas assumiu os seguintes valores: para a quitosana A = 92,97 kDa, para a quitosanas B= 54,94 kDa e para a quitosanas C= 331 kDa.

Dessa forma, segundo os critérios de Wong (2009), as duas primeiras amostras foram classificadas como de baixa massa molar, já a terceira como sendo de média massa molar.

Segundo Airoidi (2008) e Azevedo, (2007) a massa molar de diferentes amostras de quitosana é variada, por se tratar de um polímero natural. Outra informação a ser considerada é que muitos valores de massa molar podem ser obtidos, dependendo da procedência da amostra e dos tipos de tratamento que foram empregados para sua obtenção. Os fabricantes nacionais de quitosana não especificam a metodologia para sua obtenção, nem suas condições de processamento. Também não é esclarecido pelo fornecedor se a massa molar viscosimétrica foi determinada. O fabricante da quitosana importada classifica o produto quanto a massa molar, não especificando valores, nem metodologia ou condições de processamento.

Neste trabalho já foram mencionadas as considerações de Riande (2000) que alerta pra o fato de que altas temperaturas, assim como, altas concentrações de reagentes, durante o processo de obtenção da quitosana podem acarretar danos irreparáveis a qualidade deste polímero, modificando o grau de desacetilação, massa molar, viscosidade, etc.

O processo de obtenção das quitosanas utilizadas não está bem esclarecido quanto aos fatores comentados acima. Sendo assim, a garantia de padronização do produto final quanto ao GD, Massa Molar e viscosidade fica comprometida. Para que haja uma garantia que possa credenciar os produtos a serem utilizados pela indústria farmacêutica, se faz necessária uma melhoria nas condições do processamento.

Um importante comentário foi feito por Santos (2006) com relação a interferência direta da massa molar da quitosana em diversas propriedades

funcionais deste polímero. A quitosana com elevada massa molar forma soluções com elevada viscosidade.

Com relação à interferência da massa molar da quitosana e as propriedades funcionais, Garcia (2011) relata que a massa molar apresenta influência no efeito bactericida da quitosana tanto nas bactérias gram-positivas quanto nas gram-negativas. No primeiro grupo de micro-organismos, a quitosana com elevada massa molar forma uma película ao redor da célula bacteriana, inibindo a absorção de nutrientes. No segundo grupo, a quitosana com baixa massa molar penetra facilmente nestas bactérias alterando e causando distúrbios no metabolismo destes micro-organismos.

Badawy e Rabea (2008) observaram que quanto menor sua massa molar, maior a atividade antifúngica sobre *B. cinerea*. De forma similar, Hernández-Lauzardo et al. (2008) verificaram que a de baixa massa molar foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial de *R. stolonifer*.

Segundo Xing et al. (2005) quitosanas de baixa massa molar apresentam maiores porcentagens de atividade antioxidante total quando comparadas com as de alta massa molar.

Uma pesquisa realiza por Vieira *et al*, (2009) com filmes de quitosana, evidenciou que quitosanas com média massa molar são mais eficientes que as de alta massa molar em relação a preservação pós colheita de mamões-papaia. A diferença do comportamento do filme de quitosana com alta e média massa molar é devida a solubilidade. A quitosana de alta massa molar é muito mais insolúvel que a quitosana de média massa molar, conseqüentemente, a maioria dos filmes feitos com quitosanas de alta massa molar são irregulares quanto à espessura, e caracterizados por uma estrutura fibrosa bastante heterogênea. Deste modo tornam-se uma barreira menos eficiente contra agressões externas.

Segundo Gomes (2007), diversos estudos de quitosana com aplicação na área farmacêutica demonstram a influência da massa molar. Estas pesquisas comprovam que polímeros de baixa massa molar apresentam melhores resultados nessa área. Entretanto o autor não deixa claro que aplicações na área farmacêutica são mais comuns.

CONCLUSÕES

A metodologia utilizada foi eficaz para o cálculo e comparação das massas molares de quitosanas comerciais. As quitosanas A e B que não continham informações acerca de sua massa molar foram classificadas como de baixa massa molar.

A quitosana C foi classificada como de média massa molar, confirmando assim as informações técnicas do fabricante que a descrevia como sendo de média massa molar. Sendo assim, dependendo da finalidade a que se propõem na área farmacêutica, as quitosanas estudadas podem ser utilizadas na área farmacêutica.

Através da literatura consultada foi constatada ação bactericida de quitosanas de baixa massa molar tanto em bactérias gram-positivas com gram-negativas. Outros estudos comprovaram a atividade antifúngica, sendo eficiente na inibição do crescimento micelial de *R. stolonifer* e no *B. cinérea*, deste tipo de quitosana.

Pesquisas evidenciam que filmes de quitosanas de média massa molar são mais eficientes que as de alta massa molar em relação à preservação pós-colheita de mamões papaia.

Apesar de vários autores indicarem a utilização da quitosanas para área farmacêutica e a importância da massa molar para o desempenho final desse polímero, poucos trabalhos indicam essa relação. Sendo assim, são necessários novos estudos que relacionem estes dois aspectos.

DETERMINATION OF MOLAR MASS CHITOSAN COMMERCIAL USE FOR PHARMACIST

FREITAS, Almir Rogério da Silva¹.

LIMA, Rosemary Sousa Cunha².

ABSTRACT

Chitosan is obtained from chitin by deacetylation of base hydrolysis process. This biopolymer has been extensively studied because it has characteristics that makes it suitable for a wide variety of applications. The implementation of this project of completion included the determination of the molecular weight commercial chitosan, and intends to indicate the use of each of them, based on the study of literature. The tests were carried out based on chemical methods it is necessary to prepare chitosan solutions of two national manufacturers (A, B) and imported (C). Thereafter, the viscosity of the substances was determined by viscometer - RHEOTEK RPV- 1 PULP. With these data it was possible to calculate the molar mass viscosimetric average (M_v) using the empirical equation Mark- Houwink Sakuraba. Through calculations met viscosimetric average molar mass of chitosan A, 92.97 kDa, 54.94 kDa B and C 331 kDa. The methodology used was effective for the calculation and comparison of the molecular weights of commercial chitosan. Chitosans A and B contained no information about its molar mass were classified as low molar mass. Chitosan was classified as a C average molar mass, confirming the manufacturer's data. According to literature data, domestic products of low molecular weight have antibacterial and antifungal action and chitosan imported medium molar mass is ideal for producing Fimes to postharvest preservation of papayas.

Keywords: chitosan, viscosity, molecular weight.

1. Academico Pharmacy / Pharmaceutics Department / CCBS / State University of Paraíba. Email: almirrogeriofreitas@hotmail.com

2. Professor / Department of Pharmacy / CCBS / State University of Paraíba. Email: rosaysousa1@hotmail.com

REFERÊNCIAS

- AIROLDI, C. A relevante potencialidade dos centros básicos nitrogenados disponíveis em polímeros inorgânicos e biopolímeros na remoção catiônica. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p.144-153, 2008.
- ASTM Standard D2857-95, 2007, "Standard Practice for Dilute Solution Viscosity of Polymers," ASTM International, West Conshohocken, PA, 2007, DOI: 10.1520/D2857-95R07, www.astm.org.
- AZEVEDO, V. V. C.; Chaves, S. A.; Bezerra D. C.; LIA FOOK, M. V. e COSTA, A. C. F. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.
- BADAWY, M.E.I.; RABEA, E.I. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.51, n1, p.110-117, 2008.
- BEZERRA, A. M. **Sínteses e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa molar**. Dissertação (Tecnologia Químico-Farmacêutico)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, C.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. 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.
- CAMPANA, P. S. F.; SIGNINI, R. Efeito de Aditivos na Desacetilação de Quitina. **Polímeros**, 11(4), 169-173, 2001.
- CANELLA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por Cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, São Paulo, vol. 24, No. 1, 13-17, 2001.
- CLEASEN,C.; WHILHELMS,T.; KULICKE,W.M. Formation and characterization of chitosan membranes. **Biomacromolecules**, v. 7,p. 3210-3222, 2006.
- DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. 2005. 180 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas. UNICAMP. São Paulo. 2005.
- DEE, G.; RHODE, O.; WACHTER, R. Chitosan- multi-funcional marine polymer. **Cosmetics e Toiletries**, v. 116, n. 2, p. 39-42, 2001.
- GARCIA, S. J. F.; **Avaliação do efeito cicatrizando do hidrogel de quitosana a 2% no tratamento de lesões cutâneas em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2011.
- GOMES, R. V. **Imobilização de esporos de Bacillus subtilis em esferas de quitosana obtida de quitina de camarão para o uso na biodegradação de hidrocarbonetos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2007.

GOY et al., Produção de esferas de quitosana. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Edição nº 33 - 2004.

GROSSEN, D. W. Review of alternative treatment processes for metal bearing hazardous. Wast Streams. **J. Air pollut. Control Assoc.**, v. 36, n. 5, 2009.

HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; et al. Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p.541-547, 2008.

HUANG, K. S., et al. Application of low-molecular-weight chitosan in durable press finishing. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 2, p. 254-260, 2008.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS E RENOVÁVEIS. 2001. **Avaliação de impacto ambiental: agentes sociais, procedimentos e Ferramentas**. 1 ed. Brasília: Ed. MMA/IBAMA. 96p.

KUBOTA, N. Molecular Weight dependence of the properties of chitosan hydrogel for use in sustained-release drug. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 66, p. 1807-1812, 2000.

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

KURITA, K. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. **Mar Biotechnol**, v. 8, P. 203-226, 2006.

LIMA, R. S. C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos: quitosana/insulina**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2010.

MAGHAMI, G. G.; ROBERTS, G. A. F. Evaluation of the viscometric constants for chitosan. **Makromolekulare Chemier**, v. 189, n1, p. 195-200, 1988.

Okamoto, Y.; Kawakami, K.; Miyatake, K.; Morimoto, M.; Shigemasa, Y.; Minami, S.; Analgesic effects of chitin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**. V. 49, p. 249-252, 2002.

RIANDER, R. **Polymer viscoelasticity stress and strain in practice**. New York: Marcel Dekker, 2000. 879p.

SANTOS, J. E. **Preparação, Caracterização e Estudos termo-analíticos de Bases de Schiff Biopolimérica e seus complexos de Cobre**. Tese (Doutorado em Ciências). Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004, 124f.

SANTOS, C. A. N. S. **Propriedades de filmes de quitosano – influência do grau de acetilação e da massa molecular do biopolímero**. Dissertação (Mestrado em Química e Qualidade dos Alimentos) – Universidade de Aveiro, Aveiro – Pt, 2006.

SHI, C., et al. Therapeutic potencial of chitosan and its derivates in regenerative medicine. **Journal of Surgical Research**, v. 133, p. 185-192, 2006.

- SILVA, A. C. **Produção de quitina e quitosana em cultura submersa de *Rhizopus arrhizus* nos meios milho e sintético para mucorales**. Dissertação (Desenvolvimento de processos ambientais)- Universidade Católica de Pernambuco, 2007.
- TODOROVIC, Z.; GRIGOLON, L. B.; FRANCO, T.T. Viscosidade e massa molar de quitosanas modificadas enzimaticamente. In: **XIV Simpósio Nacional de Fermentações- SINAFERM**, vol. 1, pp. 1-10, Florianópolis, SC, Brasil, 2002.
- VIEIRA, M. L. G.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Uso de quitosana com diferentes massas moleculares como filmes microbiológicos no recobrimento de mamões-papaia. In: **VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2009.
- WANG J.J.; ZENG Z.W.; XIAO R.Z. et al. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. **International Journal of Nanomedicine**, v.6, p. 765-774, 2011
- WONG, T.W. Chitosan and Its Uses in Design of Insulin Delivery System. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, 2009, p.8-25
- Xing R, Yu H, Liu S, Zhang W, Zhang Q, Li Z, Li P. Antioxidant activity of differently regioselective chitosan sulfates in vitro. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. **2005**; 13:1573-7. PMID:15698774.