



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

BRUNA PEREIRA DA SILVA

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUITOSANAS COMERCIAIS

CAMPINA GRANDE - PB

2014

BRUNA PEREIRA DA SILVA

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUITOSANAS COMERCIAIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. 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.

S586p Silva, Bruna Pereira da.
Purificação e caracterização de quitosanas comerciais
[manuscrito] / Bruna Pereira da Silva. - 2014.
29 p. : il.

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. Biopolímero. 2. Quitosana. 3. Fármacos. I. Título.
21. ed. CDD 615.1

BRUNA PEREIRA DA SILVA

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUITOSANAS COMERCIAIS

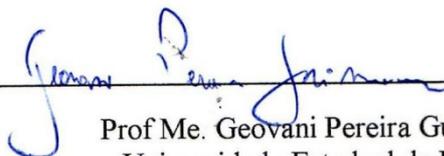
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 07 / 11 / 2014

BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Rosemary Sousa Cunha Lima
(Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba
(UEPB)



Prof Me. Geovani Pereira Guimarães
Universidade Estadual da Paraíba
(UEPB)



Prof Dr Rossemberg Cardoso Barbosa
Universidade Federal de Campina Grande
(UFCG)

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus por sua infinita bondade e misericórdia. Aos meus pais, Carmelita e Juarez, e irmãos pelo estímulo e confiança sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao meu **Deus**, por sempre me encorajar e possibilitar a realização deste sonho.

Aos meus pais, **Carmelita Lúcia e Juarez Pereira**, pelo amor dedicado e pelo trabalho sem descanso no objetivo de trazer uma vida melhor para seus filhos. Aos meus irmãos, **Daniela, Jacqueline, Thiago e Camila**, que em meio a tantas dificuldades que tivemos ao longo destes cinco anos, nunca deixaram de me apoiar e fazer de tudo para que eu chegasse até o fim.

Aos amigos por tantos momentos lindos vividos juntos e pelo companheirismo, em especial a **Ana Mayara, Alana Gleyce e Malu Reis**, que tiveram papel fundamental nesta conquista.

Aos **Mestres** por todo o conhecimento transferido e dedicação.

À Professora Dr^a **Rosemary Sousa Cunha Lima**, minha orientadora por quatro anos na universidade, pela sua paciência, carinho, ensinamentos, amizade e amor dedicado. Sem dúvida uma mãe que tive na graduação.

Ao Professor Doutor **Rossemberg Cardoso**, examinador externo, pela sua disponibilidade e colaboração com a realização deste trabalho.

Ao Professor Mestre **Geovani Pereira**, examinador interno, pela sua colaboração com minha formação e seu esforço para estar presente neste momento.

À **Lidiane Correia e Paulo Dantas**, companheiros de Certbio. Pelo carinho e contribuição científica ao longo da minha formação.

Aos meus companheiros de iniciação científica, **Ricardo, Almir, Davidson, Danielle e Candice** pela amizade, participação e dedicação ao longo desta caminhada.

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUITOSANAS COMERCIAIS

SILVA, Bruna Pereira da *

RESUMO

A quitosana é um biopolímero derivado da quitina que possui diversas propriedades biológicas e tem sido utilizada em várias áreas. Dentre as aplicações farmacêuticas, ela vem sendo utilizada na confecção de matrizes para incorporação e liberação controlada de fármacos. O presente trabalho teve como objetivo purificar e caracterizar físico-quimicamente duas quitosanas comerciais de origem nacional. O material estudado foi adquirido de duas regiões do país, sendo um proveniente da região nordeste e outro da região sul. As caracterizações envolveram técnicas como: Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios X e Análise Térmica. A técnica de FTIR foi importante para comprovação dos principais grupos funcionais das amostras estudadas, sugerindo a estrutura química da quitosana, conforme descrito na literatura. Através da Difração de Raios X, ficou constatado que a quitosana do nordeste apresentou-se mais amorfa que a quitosana do sul do país. No entanto, a purificação do material aproximou o índice de cristalinidade das amostras, obtido através dos dados do difratograma. De acordo com a termogravimetria, ao se comparar as amostras de quitosana purificada e não purificada de ambos os fornecedores, observou-se que, após a purificação foi necessária uma maior temperatura para que ocorresse o primeiro evento. Além disso, foi constatado que a amostra do nordeste teve uma menor perda de massa ao ser purificada, observada no segundo evento, sugerindo que o processo de purificação conferiu uma maior estabilidade térmica ao material. Através da calorimetria foi observado que, para degradação do material, foi necessária uma maior quantidade de energia nas amostras purificadas. Sendo assim, a purificação possivelmente tornou as amostras de quitosana mais estáveis, podendo interferir na liberação de fármacos que utilizem a quitosana como matriz polimérica.

Palavras-chave: Biopolímero. Quitosana. Caracterização.

1 INTRODUÇÃO

A quitosana é um polissacarídeo derivado da quitina (copolímero de β -(1 \rightarrow 4)-D-glucosamina e β -(1 \rightarrow 4)-N-acetil-D-glucosamina), que é encontrada em abundância na natureza, principalmente em carapaça de crustáceos. Devido ao caráter básico, atribuído à presença do grupamento amina nas unidades repetidas e à sua biodegradabilidade, esses dois polímeros vem despertando bastante interesse de cientistas e tecnólogos, que têm descoberto diversas aplicações, especialmente na área biomédica (CANELLA; GARCIA, 2001).

*Aluna de Graduação em Farmácia Generalista na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.
Email: bruna.silva00@outlook.com

De acordo com Khor (2002), um aspecto importante na utilização de quitosana diz respeito à sua produção a partir da quitina. Esta deve ser realizada de forma adequada, de maneira que garanta, ao final do processo, a obtenção de quitosana com alto grau de pureza, sobretudo isenta de contaminantes, como proteínas, endotoxinas e metais tóxicos. Neste âmbito, é válido ressaltar que o polímero obtido deve ser caracterizado adequadamente quanto à massa molar, grau de acetilação e distribuição deste grupo ao longo da cadeia polimérica. Estas características podem influenciar na biodegradabilidade do mesmo, principalmente na acessibilidade enzimática, influenciando a hidrólise do polissacarídeo.

A incorporação de fármacos em matrizes poliméricas como a quitosana, é considerado uma promissora e valiosa técnica para otimizar a liberação controlada de fármacos, pois um sistema carreador deste tipo permite boa estabilidade, absorção e excelente transferência tissular quantitativa, bem como, a esperada melhora da atividade farmacodinâmica (LACAVA, 2006).

No mercado brasileiro, há duas indústrias que produzem quitosana em larga escala, com apoio de centros de pesquisas vinculados a universidades, sendo uma do estado do Ceará e a outra do estado de Santa Catarina. O produto é registrado no Ministério da Saúde como alimento, sendo comercializado como redutor de peso e de colesterol (SANTOS, 2004).

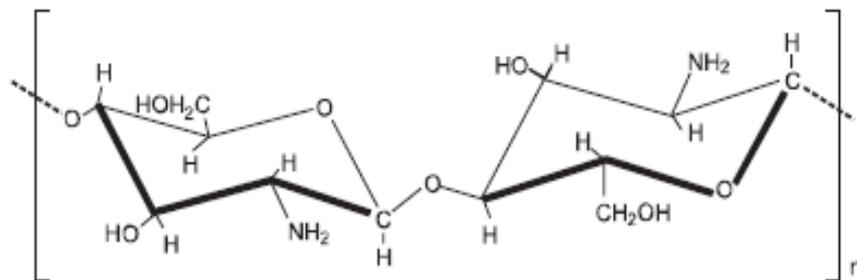
Desta forma, realizar uma pesquisa que estabeleça parâmetros de comparação entre produtos de origem nacional será útil para pesquisadores, indústria farmacêutica e público em geral, pela possibilidade de trazer informações que possam vir a esclarecer as especificações do produto nacional, estabelecendo critérios para avaliar sua qualidade. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo, purificar e caracterizar quitosanas comerciais. Os parâmetros estudados proporcionaram especificações para os produtos ainda não informados pelos fornecedores.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Quitosana

O termo quitosana refere-se a uma família de copolímeros com várias frações de unidades acetiladas. É constituída por dois tipos de monômeros; monômeros de quitina e monômeros de quitosana. A quitina é um polissacarídeo linear constituído por ligações (1-4) 2-acetamido-2-desoxi- β D-glicopiranosose. Conforme mostrado na Figura 1 por Canella e Garcia (2001), a quitosana é um polissacarídeo linear constituído por ligações (1-4) 2-amino-2-desoxi- β D-glicopiranosose, sendo composta também por β -(1-4)-D-glucosamina (unidade desacetilada), as quais são distribuídas aleatoriamente e ligadas a N-acetil-D-glucosamina (unidade acetilada).

Figura 1: Estrutura química da quitosana.



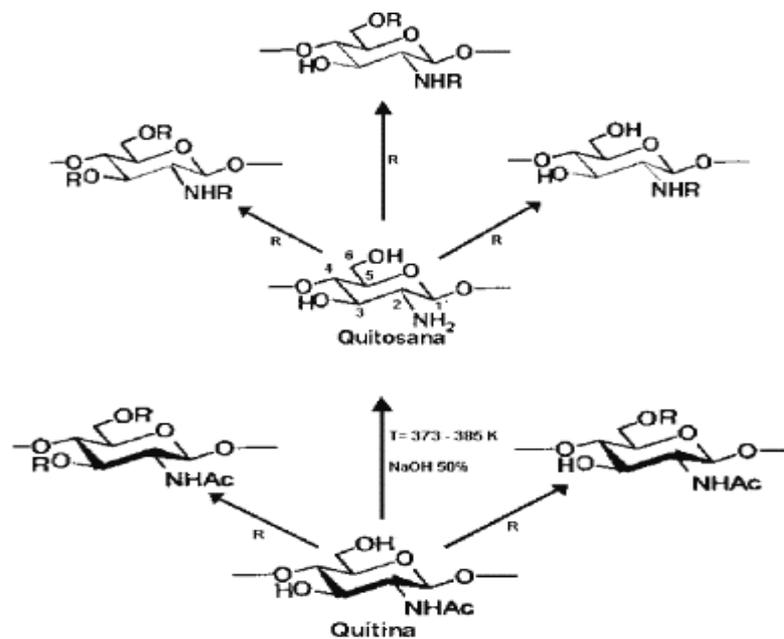
Fonte: CANELLA; GARCIA, 2001.

De acordo com o grau médio de acetilação (GA), parâmetro empregado para caracterizar o conteúdo médio de unidades *N*-acetil-*D*-glucosamina de quitina e quitosana, podem-se obter diversas quitosanas variando-se, assim, suas propriedades físico-químicas, como solubilidade, pKa e viscosidade. Geralmente, é difícil de obter quitosana com elevado grau de desacetilação, pois, à medida que este aumenta, a possibilidade de degradação do polímero também aumenta (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

Um grande número de modificações químicas através de rotas homogênea e heterogênea pode ser realizado no anel glicopiranosídeo da quitina e quitosana, conferindo aplicabilidades aos novos biopolímeros. As modificações químicas da quitosana podem ocorrer de forma concomitante através dos carbonos 2 e 6, enquanto que em etapas a reação é direcionada primeiramente ao carbono 2, seguido do carbono 6, cujas modificações são

denominadas de N-acetilação. Do ponto de vista operacional existe certa facilidade no uso da rota homogênea em realizar reações do tipo N,O-acetilações de forma simultânea nas posições 3 e 6 para a quitina e 2, 3 e 6 para a quitosana. Algumas possibilidades de obtenção de novos materiais a partir das rotas descritas podem ser melhor visualizadas na Figura 2. Em se tratando de reatividade, os grupos pendentes ligados aos carbonos do anel obedecem à ordem decrescente $C2 > C6 > C3$, referentes ao grupo amino da quitosana, ao grupo hidroxil primário de caráter mais instável e ao grupo hidroxil secundário, respectivamente. Nesse último, o centro reativo é requerido um agente desprotonante para torná-lo pré-disponível à reação subsequente (LIMA; RIBEIRO; AIROLDI, 2006).

Figura 2: Tipos de modificações químicas nos polissacarídeos quitina e quitosana, sendo R um radical orgânico ou inorgânico.



Fonte: LIMA; RIBEIRO; AIROLDI, 2006.

Esse biopolímero é insolúvel em água, bases, álcool e acetona, sendo completamente solúvel em soluções de alguns ácidos orgânicos, como por exemplo, ácido acético em pH < 6. Alguns ácidos inorgânicos diluídos tais como ácido nítrico, clorídrico, perclórico ou fosfórico, podem ser utilizados para preparação de soluções de quitosana somente depois de prolongada agitação e aquecimento (JANEGITZ et al., 2007).

No estado sólido, a quitosana é um polímero semicristalino. Sua morfologia está sendo investigada e alguns polimorfos estão mencionados na literatura. A quitosana é classificada

como oligômero quando possui cerca de doze monômeros e como polímero quando possui mais de doze monômeros (WONG, 2009).

2.2 Obtenção da quitosana

A quitosana é obtida a partir de desacetilação parcial da quitina, que é um polissacarídeo compreendendo copolímeros de glucosamina e N-acetilglucosamina. A quitosana está comercialmente disponível em vários tipos e graus que variam em peso molecular entre 10.000 e 1.000.000 e variam em grau de desacetilação e viscosidade. Tecnicamente, quitosana é uma substância que ocorre naturalmente, sendo quimicamente semelhante à celulose. A quitosana possui muitas propriedades semelhantes às fibras vegetais, mas ao contrário dessas, tem a capacidade de vincular significativamente a gordura, agindo como uma "esponja de gordura" no trato digestivo (SHAJI; JAIN; LODHA, 2010).

É um derivado da quitina obtida de sua desacetilação parcial ($\geq 50\%$, dependendo do polímero) no estado sólido em condições alcalinas ou por hidrólise enzimática na presença da quitina desacetilase. O processo de desacetilação consiste na remoção da maioria dos radicais acetil da estrutura e substituição dos mesmos por um átomo de hidrogênio, resultando em um radical amino. Então, os polímeros desacetilados com grau de desacetilação acima de 50%, podem ser considerados quitosana. As quitosanas obtidas pela reação de estado sólido tem uma distribuição heterogênea de grupos acetil ao longo de suas cadeias, provavelmente devido à morfologia semicristalina da quitina. (RINAUDO, 2006; DALLAN, 2005; LIMA, 2010).

A quitosana pode ser obtida a partir da quitina por meio da desacetilação com álcalis, podendo também estar naturalmente presente em alguns fungos, como aqueles pertencentes aos gêneros *Mucor* e *Zygomycetes*. De acordo com o grau médio de acetilação (GA), parâmetro empregado para caracterizar o conteúdo médio de unidades N-acetil-D-glicosamina de quitina e quitosana, podem-se obter diversas quitosanas variando-se, assim, suas propriedades físico-químicas, como solubilidade, pKa e viscosidade (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

Usualmente, a quitosana é preparada utilizando-se soluções extremamente concentradas de hidróxido de sódio – 40 a 50%, o que costuma promover reações de degradação do polímero. Esta reação de hidrólise pode remover alguns ou todos os grupos acetila da quitina, liberando grupos amino que impõem a natureza catiônica da quitosana resultante, que consiste de uma mistura de polímeros de diferentes tamanhos (CANELLA; GARCIA, 2001).

2.3 Purificação da quitosana

Estudos realizados por Signini e Campana Filho (2001), trazem pontos importantes sobre as propriedades e as etapas do processo de purificação da quitosana que estão dispostos a seguir.

As propriedades de polieletrólitos derivados de polissacarídeos, principalmente daqueles obtidos por modificações químicas que visam introduzir os grupos carregados, e a sua exploração em aplicações dependem fortemente das suas características estruturais e comportamento físico-químico. A caracterização desses polímeros, por sua vez, deve ser realizada com amostras devidamente purificadas ou o estabelecimento das relações entre características estruturais, propriedades e comportamentos será muito dificultado. Nesse sentido, materiais insolúveis ou fortemente agregados devem ser excluídos da amostra a ser caracterizada, principalmente quando propriedades de soluções diluídas são investigadas e correlacionadas com suas características estruturais.

De maneira geral, os polieletrólitos polianiônicos, i.e., aqueles portadores de sítios iônicos que desenvolvem cargas negativas quando dissolvidos nos solventes aquosos apropriados, são purificados através de procedimentos que envolvem as seguintes etapas sequenciais: i) dissolução em meio aquoso de força iônica controlada; ii) filtração; iii) precipitação por adição de não-solvente e iv) lavagens e secagem. Polieletrólitos assim purificados são formas salinas hidrofílicas e, em geral, são solúveis em água à temperatura ambiente .

A quitosana, um polieletrólito catiônico quando dissolvido no meio apropriado, é geralmente purificado na forma neutra, obtida após dissolução do polímero em solução

aquosa diluída de ácido acético, filtração e adição de álcali aquoso até provocar sua precipitação. Sais purificados de quitosana podem ser obtidos de maneira semelhante à descrita para polieletrólitos aniônicos, resultando em materiais hidrossolúveis, os quais são largamente aplicados, por exemplo, nas indústrias farmacêutica e cosmética.

2.4 Usos e Atividades da Quitosana

A quitosana é um biopolímero que apresenta importantes propriedades biológicas tais como baixa toxicidade, hipoalergenicidade, propriedade anticoagulante, é biodegradável, biocompatível e possui propriedades antibacterianas. Por ser uma fonte de matéria-prima altamente renovável e economicamente viável, a quitosana atualmente está sendo utilizada em diversas áreas, como medicina, agricultura, biotecnologia, indústria de cosméticos, produtos alimentícios e, como adsorvente na remoção de corantes e espécies metálicas (JANEGITZ et al., 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).

O biopolímero quitosana pode ser modificado fisicamente, sendo uma das vantagens mais interessantes a sua grande versatilidade em ser preparado em diferentes formas, tais como pós, flocos, microesferas, nanopartículas, membranas, esponjas, colméias, fibras e fibras ocas (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009).

3 REFERENCIAL METODOLÓGICO

3.1 Amostras de Quitosana

Foram comparadas duas quitosanas comerciais obtidas de diferentes fornecedores. Uma quitosana denominada Q1, lote 20091115, produzia na região nordeste e a outra quitosana denominada Q2, lote 110221, produzida no sul do país.

3.2 Purificação da Quitosana

As duas quitosanas comerciais foram purificadas seguindo metodologia previamente descrita por Signini e Campana Filho (2001), onde: 1.0 g de quitosana foi dispersa em 300 mL de ácido acético diluído (1%), e a suspensão foi mantida sob agitação constante durante aproximadamente 24 h. A solução resultante foi filtrada através de membranas de porosidades 14µm, utilizando-se bomba de vácuo Primatec, modelo 121. Foi adicionado, aos poucos, hidróxido de amônio (28%) à solução filtrada, até a ocorrência de precipitação. Em seguida o precipitado foi transferido para um filtro, lavado com água até a neutralidade, novamente lavado com metanol e seco à temperatura ambiente.

Após a purificação as amostras foram fotografadas utilizando-se uma câmera Sony, Cyber-shot 12.1 mega pixels, e a morfologia do material foi analisada macroscopicamente.

3.3 Caracterização das Amostras

3.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise foi realizada em espectrômetro Spectrum 400 *Perkin Elmer*[®] FT-IR/FT-NIR *Spectrometer*, com varredura de 4000 a 650 cm⁻¹. Considerando que a frequência de vibração de um par de elétrons é aproximadamente igual à frequência da radiação infravermelha, é possível deduzir as frequências de vibração de uma molécula, observando as frequências que são seletivamente removidas do espectro infravermelho. Sendo assim, o espectro de absorção de infravermelho foi utilizado para comprovação da estrutura molecular da quitosana.

3.3.2 Difração de Raio-X

A cristalinidade foi estimada pela medida das intensidades das regiões cristalina e amorfa tendo como base os estudos de Signini e Campana Filho (2001), Dallan (2005) e Zhang et al. (2010). Utilizando um Difratorômetro de Raios X Shimadzu[®] (modelo XRD 6000) com varredura angular $5^\circ < 2\theta < 35^\circ$, na montagem de Bragg-Brentano, sistema θ - 2θ , utilizando-se radiação de Cu ($k\alpha_1$) com varredura no passo de 0,02 (2θ), com intervalo de 0,6 segundo para cada amostra. Para o cálculo do índice de cristalinidade foi utilizada a Equação abaixo.

$$I_{CR} = \frac{I_C - I_A}{I_C} \times 100$$

3.3.3 Análise Térmica

As curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas em um módulo termogravimétrico TG modelo Q600 (TA - *Instruments*), na razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $900 \text{ }^\circ\text{C}$. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 20 mL min^{-1} . Foi utilizado massa de $5,00 \pm 0,05 \text{ mg}$ acondicionada em cadinho de alumina para cada amostra.

Já as curvas DSC do material citado foram obtidas em um módulo Calorimétrico Exploratório Diferencial DSC modelo Q20 (TA - *Instruments*). Foram utilizadas amostras de $2,00 \pm 0,05 \text{ mg}$, acondicionadas em cadinho de alumínio hermeticamente fechados, analisadas na razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até 450°C . Utilizou-se atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL min^{-1} .

Ambas as curvas, TG e DSC, foram analisadas utilizando o programa TA *Instruments Universal Analysis* 2000, versão 4.7A, da TA *Instruments*, a fim de caracterizar as transições de fase, etapas de decomposição e perda de massa das mesmas.

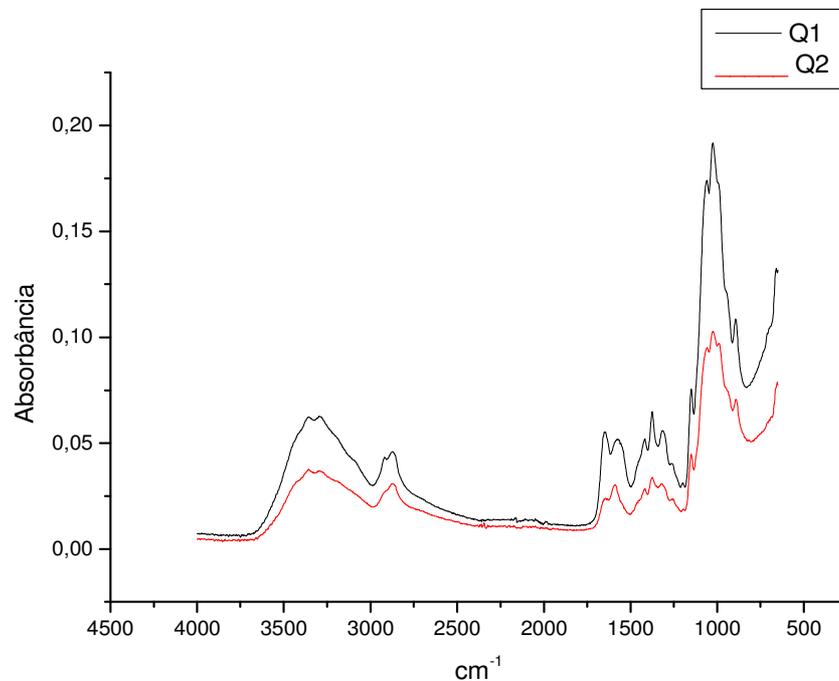
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para comprovação dos grupos funcionais característicos da estrutura química da quitosana, foram realizados ensaios de FTIR. Os espectros e valores de absorbância estão dispostos a seguir.

4.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 3 apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho, do pó de quitosana não purificada.

Figura 3: Espectro de Infravermelho com o pó de quitosana Q1 e Q2 não purificado.



A estrutura química da quitosana (Figura 1, p. 6) caracteriza-se por grupos amino livres, sendo o seu equilíbrio químico mantido com seus grupamentos acetamida originais. Na Figura 3, as absorções médias e largas verificadas entre 3500 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} podem ser atribuídas a estiramentos N-H assimétricos e simétricos respectivamente de aminas primárias em líquidos puros. Quase sobreposta, há uma contribuição de estiramento -OH presente na estrutura da quitosana na faixa de 3500-3200 cm^{-1} . Aproximadamente em 2800 cm^{-1} , observa-se um pico que pode ser atribuído aos estiramentos C-H simétrico e assimétrico dos grupos metila presentes nos radicais da quitosana, que não foram desacetilados e os radicais metileno

existentes na estrutura da quitosana, mais especificamente relacionados ao Carbono 6. Na região de 1670 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} pode ser observada uma absorção atribuída ao estiramento C=O de amidas. Próximo a esta faixa, ocorre absorção média/forte e larga atribuída a estiramento nas aminas primárias. Aproximadamente em 1400 cm^{-1} , pode ser detectado um sinal referente a absorção de estiramento simétrico de sais de ácido carboxílico. Na faixa de 1380 cm^{-1} a 1370 cm^{-1} ocorre uma absorção que pode ser atribuída a deformação simétrica de C-H. As vibrações C-O-C podem ser detectadas em 1159 cm^{-1} . Entre 1250 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} pode ocorrer uma absorção atribuída ao estiramento C-O de alcoóis e fenóis. A absorção ocorrida na faixa de 1000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} está relacionada à presença de -C-H.

A presença de absorções em 1154 cm^{-1} e 896 cm^{-1} são consideradas como indicativos da presença da estrutura sacarídea característica da quitosana (COSTA JR; MANSUR, 2008). As bandas 3500 cm^{-1} , 1300 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} correspondem aos estiramentos OH-fenol e C-N-amina primária que caracterizam os grupos funcionais da quitosana. A banda localizada próximo a 1500 cm^{-1} caracteriza o estiramento C-O que caracteriza a ligação N-glicosídica responsável pela estruturação do polímero (FRAGA et al., 2006). Darde, Colilla e Hitzky (2003) atribuem bandas vibracionais em 1075 cm^{-1} característica do anel de piranose.

Os principais valores de absorbância de FTIR, que caracterizam estrutura da quitosana, estão dispostos na Tabela 1 tendo sido analisado o pó da quitosana não purificado.

Tabela 1: Principais valores de absorvância detectados no pó das quitosanas não purificadas.

	Sinal	Faixa de absorvância	Absorções identificadas (cm ⁻¹)
1	Estiramento simétrico e assimétrico do NH₂	3500-3300	3365, 3356
2	Estiramento O-H	3500-3200	3365, 3356, 3290, 3283
3	Estiramento simétrico e assimétrico metila e metileno	2900- 2800	2921, 2873
4	Estiramento C=O de Amidas	1670-1640	1651
5	Deformação NH₂	1640-1560	1651, 1585, 1569
6	Estiramento simétrico de sais de Ácido Carboxílico	1400	1422, 1413
7	Deformação simétrica C-H	1380-1370	1381, 1322
8	Vibrações C-O-C	1159	1159, 1150
9	Estiramento C-O de álcoois e fenóis	1250-1000	1257, 1069, 1053, 1037, 1028
10	Deformações C-H	1000-650	996, 889, 654, 651

Fonte: Adaptado de Cui et al. (2008), Kasaai (2008), Kashyap et al. (2007), Fraga et al.(2006), Prashanth, Kittur, Tharanathan (2002), Tonhi e Plepis (2002), Lima (2010).

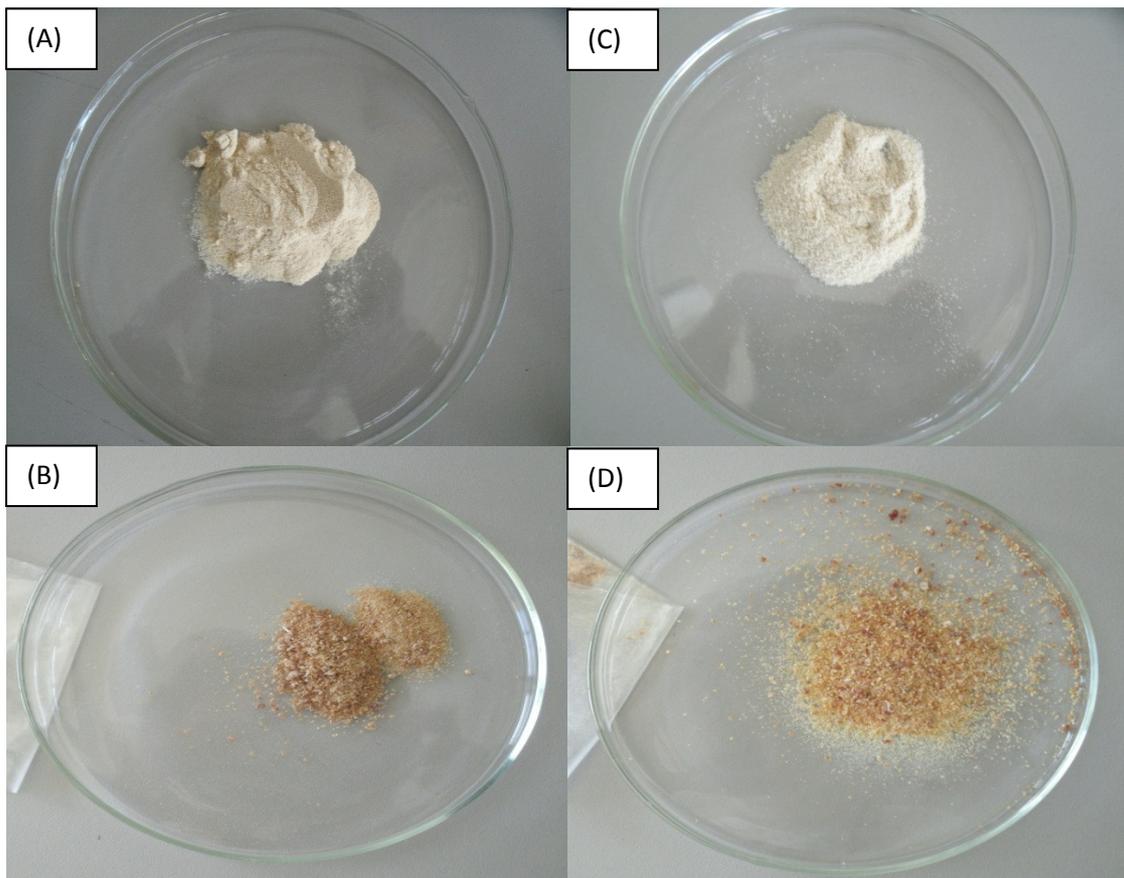
Através dos resultados apresentados foi possível constatar a presença dos principais grupos funcionais característicos da estrutura química da quitosana, comprovando a veracidade das amostras analisadas.

4.2 Purificação das Quitosanas

Foi constatada uma diferença de coloração entre as duas quitosanas antes da purificação, conforme pode ser visto na Figura 4. A partir da purificação realizada observou-se uma mudança nas características morfológicas macroscópicas dos dois materiais, resultando em produtos com aspecto mais escuro e granulações mais grosseiras.

Embora não possa ser verificado nas fotografias apresentadas, foi observado diferença na textura dos dois materiais antes da purificação, sendo a quitosana Q2 formada por granulações mais finas e homogêneas. Após a purificação, ambas apresentaram-se com textura semelhante.

Figura 4: Registro fotográfico de Quitosanas analisadas: (A) quitosana Q1, (B) quitosana Q1 purificada, (C) quitosana Q2, (D) quitosana Q2 purificada.



Fonte: Dados da Pesquisa

4.3 Difração de Raios X

Os ensaios de Difração de Raios X foram importantes para determinar o índice de cristalinidade do material, sendo os difratogramas e resultados do cálculo demonstrados a seguir.

4.3.1 Difratogramas

As Figuras 5 e 6 apresentam difratogramas referentes as quitosanas de dois fornecedores sendo estas purificadas e não purificadas, respectivamente.

Figura 5 : Difratogramas das amostras de quitosanas Q1 e Q2 não purificadas.

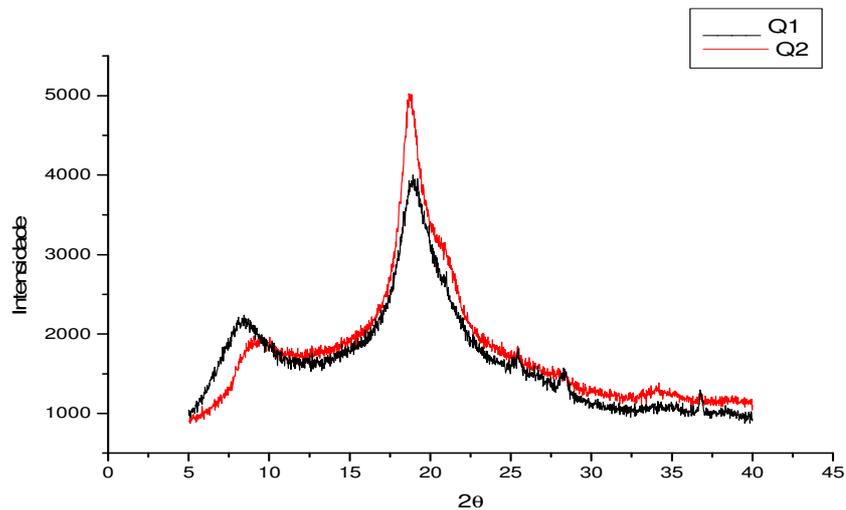
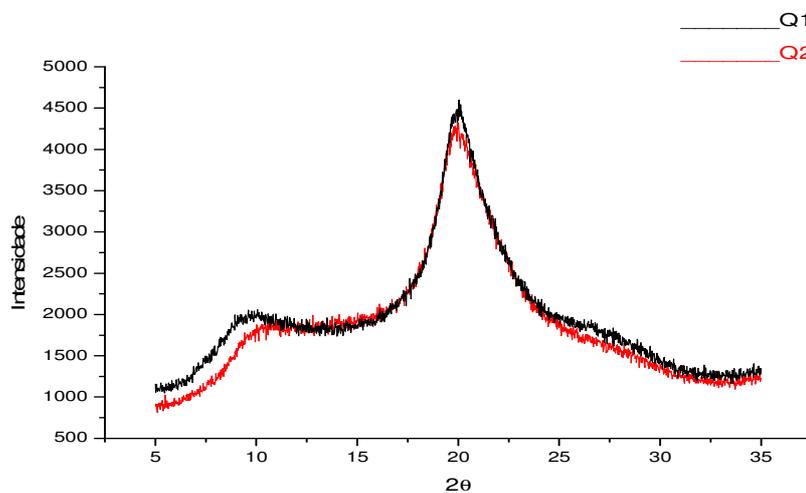


Figura 6 : Difratogramas das amostras de quitosanas Q1 e Q2 purificadas.



As Figuras 5 e 6 demonstram que as amostras apresentaram forte reflexão iniciadas entre 9 e 10° e entre 19 e 20° características dos difratogramas de quitosana apresentados por autores como Signini e Campana Filho (2001), Prashant, Kittur e Tharanathan (2002), Baskar e Kumar (2009), Uygun et al. (2010). A partir de 25°, na Figura 5 pode ser observada, a presença de pequenas reflexões na amostra Q1 que não são descritas na literatura como características da quitosanas, apontando para a presença de impurezas, não sendo mais possível verifica-las após o processo de purificação (FIGURA 6).

Estes dois halos de difração indicam que a base polimérica da quitosana seguidas pelas ligações N-glicosídicas que ligam os monômeros faz com que esta estrutura não tenha um ordenamento cristalino a longas distâncias interatômicas, gerando uma estrutura aleatória (FRAGA et al., 2006). Por outro lado, na maioria das vezes, os polímeros são classificados como semicristalinos, uma mistura de cadeias cristalinas e amorfas que podem estar interconectadas.

O caráter amorfo da estrutura também pode ser atribuído às ligações amino terminais, pois as pontes de hidrogênio que atuam como ligações secundárias também contribuem para a mudança do ângulo de ligação entre as moléculas de quitosana (FOOK, 2005).

Pode-se perceber que a purificação tornou as quitosanas semelhantes no aspecto de cristalinidade, que pode ser constatada através da sobreposição das curvas do difratograma (Figura 6). Isto pode ser justificado pelo fato de que no processo de purificação são excluídos essencialmente, materiais insolúveis que correspondem à cadeias de quitina pouco desacetiladas e de massa molar elevada (SIGNINI; CAMPANA FILHO, 2001).

4.3.2 Índice de Cristalinidade.

A Tabela 2 apresenta os resultados do IC das quitosanas, em sua forma não purificada e purificada.

Tabela 2: Índice de Cristalinidade das quitosanas comerciais, em sua forma não purificada e na forma purificada.

Índice de Cristalinidade	
Amostras	Porcentagem (%)
Quitosana Q1 não purificada	34,2
Quitosana Q2 não purificada	60
Quitosana Q1 Purificada	55,26
Quitosana Q2 Purificada	56,21

Fonte: Dados da Pesquisa.

Ao se analisar o resultado, podemos afirmar que a quitosana Q2 não purificada é menos amorfa que a quitosana Q1 nas mesmas condições. Depois da purificação, pode-se observar que esse processo tornou as quitosanas semelhantes no que se refere à cristalinidade, demonstrando que, como citado por Signini e Campana Filho (2001), o processo de purificação pode ter evidenciado a cristalinidade das amostras de quitosana através da remoção de impurezas ou materiais insolúveis. Também foi possível observar que a quitosana Q1 teve uma diferença bem maior no índice de cristalinidade que a quitosana Q2 ao sofrer o processo de purificação.

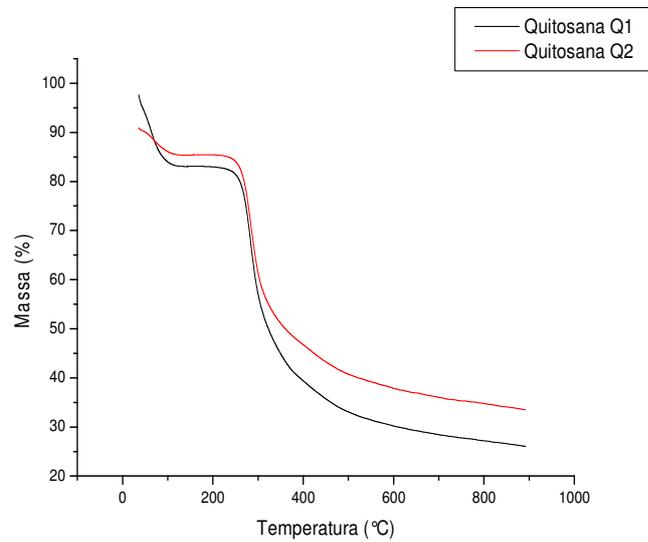
De acordo com Andrade et al (2010), amostras extraídas de cefalotórax do caranguejo exibiu índice de cristalinidade 87% enquanto a dos camarões variou entre 66 e 85,8 %. No estudo de Martins (2012), o índice de cristalinidade encontrado da quitosana não purificada foi de 17%. Já no estudo de Signini e Campana Filho (2001), a amostra de quitosana purificada na forma neutra apresentou um índice de cristalinidade de 67,7 %. Deve ser salientado que a cristalinidade das amostras depende de vários fatores, como a natureza do organismo do qual foi extraída e as condições empregadas na extração do polímero.

4.4 Análise Térmica

As curvas termogravimétricas e calorimétricas demonstrando o comportamento térmico das amostras avaliadas estão dispostas a seguir.

4.4.1 Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas termogravimétricas das quitosanas não purificadas e purificadas apresentaram características gerais semelhantes, que estão apresentadas na Figura 7.

Figura 7: Curvas termogravimétricas de degradação térmica da Quitosana Q1 e da Quitosana Q2.

Fonte: Dados da Pesquisa.

Com os dados obtidos nas curvas termogravimétricas das quitosanas não purificadas e purificadas, montou-se a Tabela 3 que está apresentada a seguir.

Tabela 3: Dados termogravimétricos dinâmicos das preparações de Quitosana Q1 e de Q2 não purificadas e purificadas.

Amostras	Etapas de decomposição								
	1			2			3		
	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)
Q1 em pó purificada	25,97	176,31	13,44	179,38	312,08	30,84	312,08	900	23,65
Q2 em pó purificada	33,41	170,66	11,53	255,19	320,74	33,24	320,74	900	19,13
Q1 em pó não purificada	26,47	100,31	10,48	223,35	313,99	53,94	313,99	900	27,39
Q2 em pó não purificada	36,67	111,95	8,076	227,54	312,62	32,88	316,62	900	24,32

Ti (temperatura inicial); Tf (Temperatura final).

Fonte: Dados da Pesquisa.

O primeiro pico apareceu a cerca de 100 ° C, o que foi atribuído à evaporação de água absorvida no polímero (LI et al, 1999). O segundo pico, correspondeu à decomposição (térmica e oxidativa) da quitosana, vaporização e eliminação dos produtos voláteis (NETTO et al, 2005). Este correspondeu ao principal estágio de degradação, ao qual foi atribuído à despolimerização da cadeia da quitosana, à decomposição do anel de piranose através da desidratação, à desaminação e finalmente às reações de rompimento do anel (LIMA, 2010). O terceiro pico também foi atribuído à decomposição da quitosana.

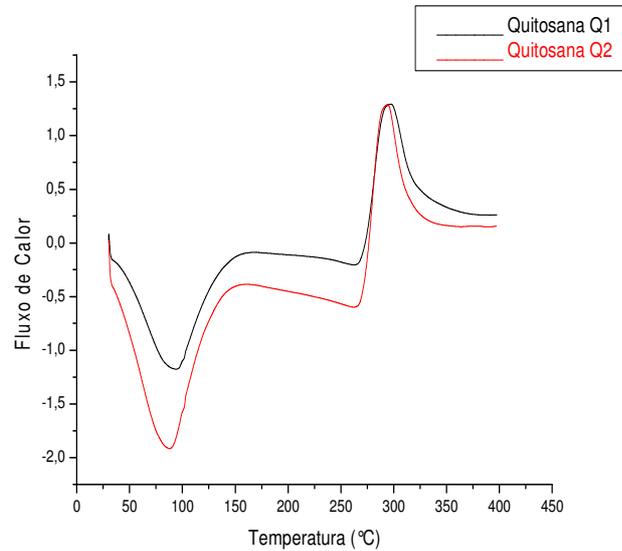
Quando comparou-se as amostras de quitosana purificada e não purificada de um mesmo fornecedor observou-se que, após a purificação, foi necessária uma maior temperatura para que ocorresse o primeiro evento, sendo este a evaporação de água. Signini e Campana Filho (2001) afirmaram que a quitosana na forma purificada apresenta-se mais hidrofílica que na forma não purificada.

Os eventos 2 e 3 relacionados à decomposição da quitosana permitiram evidenciar também que a Quitosana Q2 na forma purificada e não purificada apresentaram perdas de massa bem aproximadas. No caso da Quitosana Q1, ocorreu uma perda de massa superior na forma não purificada do que na forma purificada, constatada no 2º evento. Sendo assim, o processo de purificação conferiu uma maior estabilidade térmica ao material.

Estes dados estão de acordo com os valores obtidos através do cálculo do índice de cristalinidade das amostras, nos quais observou-se uma similaridade entre os valores apresentados pelas amostras de Quitosana Q2, o que não foi observado nas amostras de Quitosana Q1 antes e após a purificação, pois a Q1 não purificada apresentou-se mais amorfa. Após a purificação, a cristalinidade em ambas as amostras Q1 foi aproximada.

4.4.2 Análise Calorimétrica (DSC)

Os dados calorimétricos das quitosanas em pó não purificadas e purificadas apresentaram características gerais semelhantes. Para efeito de ilustração, apresentamos na Figura 8 as curvas calorimétricas das amostras não purificadas.

Figura 8: Curvas calorimétricas da Quitosana Q1 e da Quitosana Q2.

Fonte: Dados da Pesquisa.

Com os dados obtidos na calorimetria das quitosanas em pó não purificadas e purificadas, montou-se uma Tabela 4 que está apresentada a seguir.

Tabela 4: Dados calorimétricos das preparações de Q1 e Q2, não purificadas e purificadas.

Amostra	Eventos calorimétricos							
	1				2			
	T _i (°C)	Pico (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)	T _i (°C)	Pico (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)
Q1 em pó Purificada	39,29	82,22	165,00	320,6	284,78	301,05	327,00	227,1
Q2 em pó Purificada	34,68	76,02	163,00	735,8	280,70	305,11	337,00	658,1
Q1 em pó não purificada	37,18	79,92	140,00	224,7	278,73	297,75	350,0	151,5
Q2 em pó não purificada	50,85	103,37	170,00	230,4	276,58	303,11	338,00	198,9

T_i (temperatura inicial); T_f (Temperatura final).

Fonte: Dados da Pesquisa.

Em todas elas é possível visualizar a presença de dois eventos principais, sendo o primeiro endotérmico e o segundo exotérmico. O evento endotérmico pode ser atribuído à perda de água e o evento exotérmico à decomposição das unidades monoméricas do polímero corroborando com Azevêdo et al., (2010), Zawadzki; Kaczmarek (2010), Guinési; Carvalheiro (2006) e Sarmiento et al. (2006)

As amostras apresentaram um evento endotérmico com valores descritos na Tabela 4, referente à perda de água associada a grupos hidrofílicos do polímero e sua posterior degradação, corroborando com Azevêdo et al, (2010) e demonstrando uma maior absorção de energia quando avaliado as amostras purificadas. Também foi constatado um evento exotérmico, que segundo Guinési e Carvalheiro (2006) está relacionada a decomposição das unidades monoméricas de glicosamina. Para Sarmiento et al. (2006), o pico exotérmico resulta da degradação de polieletrólitos devido às reações de desidratação e despolimerização, mais provavelmente da descarboxilação parcial dos grupos carboxílicos protonados e reações de oxidação dos polieletrólitos. Constatou-se que foi despreendida uma maior quantidade de energia do polímero para que o ocorresse a degradação na forma purificada, dado que também está de acordo com o índice de cristalinidade apresentado pelas amostras.

5 CONCLUSÕES

Constatou-se através da caracterização por FTIR que tanto a quitosana produzida no nordeste (Q1) quanto a quitosana produzida no sul do país (Q2), possuem os grupos funcionais característicos da estrutura química do material proposto.

A purificação provocou mudanças na morfologia do material tornando as amostras mais escuras e com granulações mais grosseiras.

Na forma não purificada a Quitosana Q1 mostrou-se mais amorfa que a Quitosana Q2. Porém, o processo de purificação tornou as quitosanas semelhantes no aspecto de cristalinidade, o que foi constatado através da sobreposição das curvas do difratograma e pelo cálculo do índice de cristalinidade. Desta forma, ocorre uma diminuição na amorficidade da quitosana Q1 após o processo de purificação.

Com relação ao comportamento térmico das amostras, após o processo de purificação foi necessária uma maior temperatura e maior quantidade de energia para degradação do material. Isto indica que a purificação conferiu uma maior estabilidade térmica aos produtos, principalmente no caso da quitosana Q1.

Portanto ficou constatado que as quitosanas estudadas mostraram-se semelhantes após o processo de purificação, apresentando-se mais estáveis. O que pode sugerir que para aplicação em sistemas de liberação modificada a purificação tornaria as amostras com liberação mais lenta que as amostras não purificadas.

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION COMMERCIAL CHITOSAN

ABSTRACT

Chitosan is a biopolymer chitin derivative which has biological properties and has been used in various fields. Among the pharmaceutical applications, it has been used in the manufacture of dies for hosting and delivery of drugs. This study aimed to purify and characterize physical and chemically two commercial chitosan national origin. The material studied was purchased from two regions of the country, one from the northeast region and other southern region. The characterizations involved techniques such as Infrared Spectroscopy Fourier Transform (FTIR), X-ray diffraction and thermal analysis. The FTIR technique has proven important for the main functional groups of the samples, suggesting the chemical structure of chitosan, as described in the literature. By X-ray diffraction, it was found that chitosan Northeast presented a more amorphous that chitosan the south. However, purification of the material approached the crystallinity index of the samples obtained through the diffraction data. According to thermogravimetric analysis, comparing samples of purified chitosan of both unpurified and suppliers, it was observed that after purification was greater temperature required for the first event to occur. In addition, it was found that northeast sample had a smaller weight loss to be purified, observed in the second event, suggesting that the purification process gave greater thermal stability to the material. Through calorimetry was observed that for material degradation, a larger amount of energy was required in the purified samples. Thus, purification of samples possibly become more stable chitosan, which can interfere with drug delivery using chitosan as the polymer matrix.

Keywords: Biopolymer. Chitosan. Characterization.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. M. B.; CHUMANANANDASIVAM, R. L.; NASCIMENTO, R. M. Extração e caracterização de quitina e quitosana e a sua Utilização na fabricação de nanofibras. In: VI Congresso Nacional de Engenharia Mecânica. Campina Grande, 2010. **Anais...**, Campina Grande, PB, 2010.

AZEVEDO, J. R.; SIZILIO, R.H.; BRITO, M.B.; COSTA A.M.B.; SERAFIN, M.B.; ARAÚJO A.A.S.; SANTOS, M.R.V.; LIRA, A.A.M.; NUNES, R.S. Caracterização Físico-química de nanopartículas de quitosana-TPP contendo insulina. In: VII Congresso Brasileiro de análise Térmica e Calorimetria. São Pedro, 2010. **Anais...**, São Pedro, SP, 2010.

BASKAR,D.; KUMAR,T.S.S. Effect of deacetylation time on the preparation, properties and swelling behavior of chitosan films. **Carbohydrate Polymers** v.78, 2009, p767-772.

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.

CUI, Z; XIANG,Y; SI,J; YANG,M; ZHANG,Q; ZHANG,T. Ionic interactions between sulfuric acid and chitosan membranes. **Carbohydrate Polymers**, p. 1-6, 2008.

COSTA JR., E.S.; MANSUR, H.S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/Poli(Álcool Vinílico) reticuladas quimicamente com Glutaraldeído para aplicação em Engenharia de Tecido. **Química Nova**, v.31, N°6, 1460-1466, 2008.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele.** 2005. 194f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.

DARDE, M.; COLILLA, M.; HITZKY, E. R. Biopolymer-clay Nanocomposites based on Chitosan intercalated in Montmorillonite. **Chem. Mater**, v. 15, p. 3774-3780, 2003.

FOOK, M. V. L. **Desenvolvimento da técnica de deposição de hidroxiapatita na superfície de polietileno de ultra-peso molecular para aplicação como biomaterial.** Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005, 128 f.

FRAGA, A. F. et al. , Ensaio de membranas de quitosana recobertas com hidroxiapatita: efeito da adição de hidróxido de sódio. In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006, Foz do Iguaçu, **Anais...** Foz de Iguaçu : IPEN, 2006, p. 2715-2725.

GUINESI, L.S.; CAVALHEIRO, E.T.G. The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples. **Thermochímica Acta**, v. 444, 2006, p. 128-133.

JANEGITZ, B. C.; LAURENÇÃO, B. C.; LUPETTI, K. O.; FATIBELLO, O. F. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Química Nova**, São Paulo, vol. 30, No. 4, 879-884, 2007.

KASAAI, M.R. A review of several reported procedures to determine the degree of N-acetylation for chitin and chitosan using infrared spectroscopy. **Carbohydrate Polymers** 71, p. 497-508, 2008.

KASHYAP, N.; VISWANAD, B.; SHARMA, G.; BHARDWAJ, V.; RAMARAO, P.; RAVI KUMAR, M.N. Design and evaluation of biodegradable, biosensitive in situ gelling system for pulsatile delivery of insulin. **Biomaterials**, v. 28, p. 2051-2060, 2007.

KHOR, E.; CURR; OPIN. Solid State and Materials Science **2002**, 6, 313.

LACAVA, Z. G. M. Aplicação biomédicas das nanopartículas magnéticas. In: DURAN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação.** Artliber: São Paulo, 2006, 208p.

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

LI, X.; HUANG, M.; BAI, H. Thermal decomposition of cellulose ethers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 73, p. 2927- 2936, 1999.

LIMA, I. S., RIBEIRO, E. S., AIROLDI, C. O emprego de quitosana quimicamente modificada com anidrido succínico na adsorção de azul de metileno. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, 501-506, 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, Centro de Ciência e Tecnologia, Campina Grande, 2010.

MARTINS, T.; OLIVEIRA, F. M.; FERNANDES, N. G.; COSTA JUNIOR, E. S. Síntese e caracterização de hidrogéis de quitosana reticuladas com ácido adípico para fins biomédicos. In: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 2012, Natal. **Anais....**,Natal, RN, 2012.

NETTO, C. G. T.; GIACOMETTI, J. A.; JOB, A. E.; FERREIRA, F. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R.; Thermal analysis of chitosan based networks. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, p. 97-103, 2005.

PRASHANTH,K.V.H., KITTUR,F.S.; THARANATHAN,R.N. Solid state structure of chitosan prepared under different n-deacetylating conditions. **Carbohydrate Polymers**, v.50, p.27-33, 2002.

RINAUDO, M. Chitin and Chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science** v. 31, p. 603-632, 2006.

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.

SARMENTO, B.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation though DSC and FTIR studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p.1-7, 2006.

SHAJI, J.; JAIN, V.; LODHA, S. Chitosan: A Novel Pharmaceutical Excipient. **Chitosan: A Novel Pharmaceutical Excipient**, v.1, 2010.

SIGNINI, R. CAMPANA FILHO, S. P. Características e propriedades de Quitosanas Purificadas nas formas Neutra, Acetato e Cloridrato. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. v. 11, n.2, p.58-64, 2001.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados Hidrossolúveis, aplicações farmacêutica e avanços. **Química nova**, v. 29, n. 4, p.776-785, 2006.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G.; Obtenção e caracterização de Blendas Colágeno-Quitosana. **Química Nova**, v.25, n.6, 2002, p. 943-948.

UYGUN, B. E.; BOU-AKL, T.; ALBANNA, M.; MATHEW, H. W. T. Membrane thickness is an important variable in membrane scaffolds: Influence of chitosan membrane structure on the behavior of cells. **Acta Biomaterialia**, 6, 2010, p.2126-2131.

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.

ZAWADZKI, J.; KACZMAREK, h Termal treatment of chitosan in various conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 20, p. 394-400, 2010.

ZHANG, Y.; XUE, C.; XUE, Y.; GAO, R.; ZHANG, X. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction. **Carbohydrate Research**, v. 340, 2010, p.1914-1917.