Aplicação de Quitosana e Quitina na Análise de Óleo Diesel por Cromatografia de Camada Delgada

Roberta Signini, Bruno C. B. Martinelli, Monique de J. Rodrigues & Guilherme R. de Oliveira

Neste trabalho amostra de óleo diesel foi separada por cromatografia em camada delgada utilizando, como fase estacionária, sílica, sílica impregnada com solução de quitosana em diferentes concentrações e sílica combinada com quitina, com a finalidade de verificar a influência destes polímeros na separação dos componentes do óleo diesel. Da separação da amostra de óleo diesel se observa que o melhor eluente foi o hexano. A presença de quitosana e de quitina não mostrou mudanças significativas na separação dos componentes do óleo diesel por análise cromatográfica em camada delgada, porém os compostos saturados apresentaram uma menor afinidade com a sílica impregnada com quitosana do que com a sílica pura.

Palavras-chave: *quitosana; quitina; cromatografia; óleo diesel.*

In this work the oil diesel sample was separated for thin layer chromatography – TLC. The stationary phase used was silica, silica impregnated with solution of chitosan in different concentrations and silica combined with chitin, with the purpose to verify the influence of these polymers in the separation of the components of the oil diesel. It was observed the best eluente was the hexane. The presence of chitosan polymer and chitin did not show significant changes in the separation of components of the oil diesel for chromatographic analysis in thin layer. However the saturated composites had presented a lesser affinity with the silica impregnated with chitosan that with the pure silica.

Keywords: *chitosan; chitin; chromatography; diesel oil.*

Introdução

Depois da celulose, a quitina é o segundo biopolímero mais abundante encontrado na natureza.¹ Trata-se de um polímero linear composto principalmente por unidades 2-acetamino-2-deoxi- β -D-glicose, mas também apresentam unidades 2-amino-2-deoxi- β -D-glicose, sendo que a ligação entre as unidades é do tipo $\beta(1\rightarrow4)$.² A quitosana, o principal derivado de quitina, também é um polímero linear composto de principalmente por unidades 2-amino-2-deoxi- β -D-glicose e unidades 2-acetamino-2-deoxi- β -D-glicose, em menor proporção.² O método mais empregado de preparação da quitosana envolve a reação de desacetilação da quitina por tratamento alcalino³. Devido a sua versatilidade, muitas são as possíveis aplicações desses biopolímeros. Esses compostos são utilizados em tratamentos de efluentes, na área médica e farmacêutica.⁴⁻¹⁴

A estrutura química da quitina e quitosana tornam esses biopolímeros aptos para atuarem como materiais adsorventes. Devido à suas unidades de repetição de glucosamina e N-acetil-glucosamina, esses compostos podem interagir com proteínas e substâncias quimicamente semelhantes. Por possuir grupos amino e hidroxila, essas substâncias químicas podem complexar-se com íons de metais de transição, podendo comporta-se como trocadores aniônicos tanto de cátions metálicos como de aniões. Devido às propriedades de adsorção da quitina e quitosana, a literatura descreve a aplicação dessas espécies químicas como suportes cromatográficos.¹²⁻²¹ Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi utilizar quitina e quitosana combinada com sílica como fase estacionária para análise cromatográfica por camada delgada de óleo diesel.

Parte Experimental

Para o preparo das placas de sílica foram adicionados 30g de sílica (Merck) para cromatografia em camada delgada em 60 mL de água desionizada. Para o preparo das placas de sílica impregnada com quitosana, foi dissolvido a quitosana em pó em 12 mL de ácido fórmico 2,5 % (m/v), obtendo-se ao final uma concentração de quitosana de 0,8, 1,5 e 2,0% (m/v). Cada solução foi diluída para 60 mL com água desionizada. Para o preparo das placas foram adicionados 15g de sílica em 60 mL

das soluções de quitosana recém preparadas. As placas de camada delgada contendo quitina foram preparadas usando uma suspensão de sílica/quitina em 60 mL de água sendo que a proporção de sílica:polímero foram de 9:1 e 4:1. A granulometria da quitina foi menor que 325 mesh.

As fases estacionárias foram preparadas com 0,25 mm de espessura, em placas de vidro de 20cm x 20cm. As placas foram secas a temperatura ambiente sendo que antes do uso foi ativada por 3 horas a 150°C ou 24 horas a temperatura de 80°C. Nas mesmas foi aplicado óleo diesel, compostos saturados (C13 a C31), composto diaromático (naftaleno) e composto triaromático (antraceno). Foi empregada a técnica cromatográfica unidimensional ascendente. O desenvolvimento dos cromatogramas foi efetuado em câmara de vidro, com saturação normal, à temperatura ambiente, tendo o eluente percorrido uma distância de 15 cm. Os eluentes empregados foram o hexano, diclorometano, benzeno, mistura de hexano/diclorometano, mistura de hexano/benzeno, mistura de benzeno/diclorometano e mistura de hexano/diclorometano/benzeno. No caso da mistura de solventes para a obtenção da fase móvel, todas foram preparadas com volumes iguais de cada um dos componentes. As placas foram reveladas com luz ultravioleta de 254 nm e por vapores de iodo. Todos os experimentos foram feitos em duplicatas.

Resultados e Discussão

Na análise da amostra de óleo diesel por cromatografia em camada delgada (CCD), empregou-se como fase estacionária a sílica pura, sílica com quitina e sílica com quitosana. No primeiro caso, os valores dos fatores de retenção (Rf) para os constituintes das amostras de óleo diesel para as fases móveis estudadas são mostrados na Tabela 1.

Conforme os valores de fator de retenção (Rf) observados na Tabela 1, verifica-se que o hexano foi o melhor eluente dentre as fases móveis em estudo, no que diz respeito a separação dos grupos de compostos presentes no óleo diesel, uma vez que se observam três frações na camada delgada – saturados, diaromáticos e triaromáticos. Porém, apesar dos valores de fator de retenção (Rf) dos compostos diaromáticos e triaromáticos

se apresentar diferentes, ocorreu uma superposição das manchas, ou seja, não houve boa resolução. Já em relação aos compostos saturados ocorreu boa separação. Os outros eluentes estudados foram menos eficientes no processo de separação. Na mesma tabela, como esperado, observa-se que houve mudanças no fenômeno de separação, uma vez que uma das placas de sílica foi ativada por 150 °C por 3h e a outra por 80 °C por 24h. Porém, percebe-se que independentemente da condição utilizada para ativação, foi possível a separação dos grupos presentes no óleo diesel, ou seja, e é possível utilizar a temperatura mais baixa por um tempo maior (Figura 1).

Figura 1 - Histograma de comparação do tempo e temperatura de ativação das placas cromatográficas para a separação de óleo diesel. Fase móvel: Hexano.

Tabela 1 - Valores dos fatores de retenção (Rf) para amostras de óleo diesel, tendo sílica pura como fase estacionária em vários sistemas de solventes.

Entrada	Fase móvel	Média dos Rf ^(c)	Média dos Rf ^(d)
01	Hexano ^(a)	0,56 ± 0,01 (D) 0,42 ± 0,01 (T)	0,83 ± 0,00 (S)
02	Hexano ^(b)	0,50 ± 0,01 (D) 0,40 ± 0,01 (T)	0,81 ± 0,02 (S)
03	Diclorometano ^(b)	0,86 ± 0,01 (D,T)	0,85 ± 0,01 (S)
04	Benzeno ^(b)	0,78 ± 0,02 (D,T)	0,78 ± 0,01 (S)
05	Hexano / Diclorometano ^(b)	0,88 ± 0,01 (D,T)	0,88 ± 0,01 (S)
06	Hexano / Benzeno ^(b)	0,78 ± 0,01 (D,T)	0,79 ± 0,01 (S)
07	Diclorometano / Benzeno ^(b)	0,75 ± 0,01 (D,T)	0,75 ± 0,01 (S)
08	Hexano / Diclorometano / Benzeno ^(b)	0,70 (D,T)	0,70 (S)

Nota:

(a) Temperatura / tempo de ativação: 80 °C / 24 h; (b) Temperatura / tempo de ativação: 150 °C / 3 h; (c) Revelação com luz UV a 254 nm; (d) Revelação com vapor de iodo. (Obs.: S = Saturados; D = Diaromáticos; T = Triaromáticos)

Posteriormente, para avaliar a influência da quitosana nas análises cromatográficas por camada delgada as placas foram feitas de sílica e sílica impregnada com solução de quitosana em diferentes concentrações (0,8%; 1,5% e 2,0% m/v). Os valores de fator de retenção (Rf) para a amostra de óleo diesel utilizando sílica e sílica impregnada com quitosana como fase estacionária estão mostrados abaixo (Tabela 2).

Os maiores valores de fator de retenção (Rf) correspondem aos compostos saturados, os menores são os compostos triaromáticos e os intermediários correspondem aos compostos diaromáticos. Assim, observa-se que o grupo de compostos mais apolares ficou menos retido e o mais polar mais retido na camada delgada. No entanto não ocorreram variações significativas nos valores de Rf com a impregnação da quitosana, mas a retenção dos compostos saturados apresentou-se menor na análise cromatográfica. Isto sugere que estes compostos possuam afinidade menor com a quitosana do que com a sílica. As variações nas concentrações das soluções de quitosana não influenciaram significativamente na resolução e na separação dos grupos de compostos de óleo diesel (Figura 2).

Tabela 2 - Valores de fator de retenção (Rf) da amostra de óleo diesel em vários suportes cromatográficos^(a, b)

Entrada	Fase Estacionária	Média dos Rf ^(c)	Média dos Rf ^(d)
01	Sílica	0,56 ± 0,01 (D) 0,42 ± 0,01 (T)	0,83 ± 0,01 (S)
02	Sílica impregnada com solução de 0,8% quitosana	0,58 ± 0,01 (D) 0,43 ± 0,01 (T)	0,85 ± 0,01 (S)
03	Sílica impregnada com solução de 1,5% quitosana	0,59 ± 0,01 (D) 0,45 ± 0,01 (T)	0,93 ± 0,01 (S)
04	Sílica impregnada com solução de 2,0% quitosana	0,57 ± 0,01 (D) 0,40 ± 0,01 (T)	0,93 ± 0,01 (S)
05	Sílica / Quitina (9:1)	0,49 ± 0,01 (D) 0,38 ± 0,01 (T)	0,78 ± 0,01 (S)
06	Sílica / Quitina (4:1)	0,56 ± 0,01 (D) 0,42 ± 0,01 (T)	0,83 ± 0,01 (S)

Nota:

(a) Eluente: hexano; (b) Temperatura / tempo de ativação: 80 °C / 24 h; (c) Revelação com luz UV a 254 nm. (d) Revelação com vapor de iodo. (Obs.: S = saturados; D = diaromáticos; T = triaromáticos)

Figura 2 - Histograma de separação de óleo diesel utilizando sílica e sílica impregnada com quitosana com fase estacionária. Experimentos feitos em duplicata. Eluente: hexano. Temperatura / tempo de ativação: 80 °C / 24 h.

Paralelamente, foi realizado um estudo utilizando quitina e mistura de quitina com sílica para a confecção de placas cromatográficas na análise de óleo diesel. Na confecção das placas, a quitina pura não apresentou boa adesão às placas, mesmo na presença de sulfato de cálcio, que tem como papel melhorar a aderência do biopolímero, o que se tornou um problema na obtenção das placas para cromatografia. Os valores de Rf estão mostrados na Tabela 2 e o histograma abaixo (Figura 3) mostra as variações do processo de separação quando se empregaram a sílica pura e sílica/quitina como fases estacionárias.

Figura 3 - Histograma de separação de óleo diesel utilizando sílica e sílica/quitina como fase estacionária. Experimentos feitos em duplicata. Eluente: hexano. Temperatura / tempo de ativação: 80 °C / 24 h.

Conclusões

Da separação de amostra de óleo diesel na fase móvel estudada, observa-se que o melhor eluente foi o hexano. Nota-se a separação de compostos saturados, diarômáticos e triarômáticos, sendo que quanto mais apolar o composto maior foi valor do fator de retenção. A presença dos polímeros quitosana (impregnação) e quitina na sílica, não mostraram mudanças significativas na separação dos componentes do óleo diesel por análise cromatográfica em camada delgada.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, uma entidade do Governo Brasileiro voltada ao desenvolvimento científico e tecnológico.

BIBLIOGRAFIA

- Canella, K. M. N. C.; Garcia R. B.; Quim. Nova. 2001, 24, 13; Tharanathan, R. N.; Kuttur, F. S.; Critical Ver. Food Sci. Nut. **2003**, 43, 61.
- Roberts, G. A. F. Em Chitin Chemistry; Roberts, G. A. F., eds., The Macmillan Press: London, **1992**. Mathur, N. K.; Naragan, C. K.; J. Chem. Educ. **1990**, 67, 938.
- Tharanathan, R. N.; Prashant, K. V. H.; Trends in Food Sicenc & Technology. **2007**, 18, 117-131.
- Laranjeira, M. C. M.; Klug, M.; Stolberg, J.; Levy, N. M.; Oliveira, S. M.; Resumos do Seminário Nacional de Produção e Transmissão de Energia Elétrica, Florianópolis, Brasil, **1995**.
- Shahidi, F.; Arachchi, J. K. V.; Jeon, Y-J.; Trends in Food Science & Technology, **1999**, 10, 37.
- Hiranos, S.; Nakahira, T.; Nagagawa, M.; Kim, S. K.; Journal of Biotechnology, **1999**, 70, 373.
- Roller, S.; Covill, N.; International Journal of Food Microbiology, **1999**, 47, 67.
- Kurita, K.; Polymer Degradation and Stability, **1998**, 59, 117.
- Felt, O.; Furrer, P.; Mayer, J. M.; Plazonnet, B.; Buri,

- P.; Gurny, R.; International Journal of Pharmaceutics, **1999**, 180, 185.
10. Bégin, A.; Calsteren, M-R.; International Journal of Biological Macromolecules, **1999**, 26, 63.
11. Liu, X. D.; Nishi, N.; Tokura, S.; Sakairi, N.; Carbohydrate Polymers, **2001**, 44, 233.
12. Soane, R. J.; Hinchcliffe, M.; Davis, S. S.; Illum, L.; International Journal of Pharmaceutics, **2001**, 217, 183.
13. Jiang, Y.; Li, Y.; Food Chemistry, **2001**, 73, 139.
14. Bernkop-Shunüch, A.; International Journal of Pharmaceutics, **2001**, 194, 1.
15. Thome, J. P.; Weltrowski, M. Em Affinity of cross-linked chitosan derivative for organochlorinated xenobiotics in freshwater; Domard, A.; Roberts, G. A. F.; Varum, K. M.; Advances in Chitin Science.
16. Silva, K. M. P.; Bravo, R. V. F.; Anais do XXXIX Congresso Brasileiro de Química, Goiânia, Brasil, **1999**.
17. Muzzarelli, R. A.; Rochetti, R.; Analytica Chimica Acta, **1973**, 64, 371.
18. Muzzarelli, R. A. A.; Raith, G.; Tubertini, O.; Journal of Chromatography, **1970**, 47, 414.
19. Lepri, L.; Desideri, P. G.; Muzzarelli, R. A.; Journal of Chromatography, **1977**, 139, 337.
20. Nagasawa, K.; Watanabe, H.; Ogamo, A.; NAGASAWA, K., WATANABE, H., OGAMO, A.; Journal of Chromatography, **1971**, 56, 378.
21. Lepri, L.; Desideri, P. G.; Tanturli, G.; Journal of Chromatography, **1978**, 147, 375.

Roberta Signini*¹, Bruno César Barbosa Martinelli², Monique de Jesus Rodrigues² & Guilherme Roberto de Oliveira^{1,3}

¹Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange, Av. Eng. Roberto Mange, 239, Jundiá, Anápolis – GO, CEP 75.113-630.

²Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, Goiânia – GO, CEP 74001-970.

³UnUCET, Universidade estadual de Goiás, Caixa Postal 459, Anápolis-GO, CEP 75132-400.

*E-mail: rsignini@terra.com.br