

Desenvolvimento de compósitos a base de quitosana/fosfato de cálcio

J. B. S. Wladymyr*, M. J. B. Cardoso, K. V. Almeida, E. P. Nascimento, K. A. S. Farias, M. V. L. Fook

CERTBIO – Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

Universidade Federal de Campina Grande – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Campina Grande-PB.

(Recebido em 04/06/2013; revisado em 24/08/2013; aceito em 14/09/2013)

(Todas as informações contidas neste artigo são de responsabilidade dos autores)

Resumo:

A medicina busca cada vez mais tratar problemas relacionados à regeneração óssea e de tecidos, buscando minimizar traumas cirúrgicos e algumas doenças ósseas. O avanço da tecnologia dos biomateriais permite desenvolver materiais que auxiliam nos processos reconstitutivos de partes do corpo e incrementam tratamentos melhorando a qualidade de vida dos seres humanos. Devido às características de biodegradabilidade, biofuncionalidade e biocompatibilidade, a quitosana tem despertado interesse dos pesquisadores no intuito de obter novos materiais. Suas características únicas favorecem a incorporação de outros materiais como o fosfato de cálcio que são materiais cerâmicos presente nos ossos. Este trabalho teve como objetivo desenvolver filmes biodegradáveis de quitosana com 1%, 3% e 5% de fosfato de cálcio para utilização na regeneração óssea. Os compósitos foram preparados e caracterizados por Difração de Raios-X (DRX), Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Molhabilidade por Ângulo de Contato. Os resultados mostram que a incorporação do fosfato altera o perfil semicristalino da quitosana aumentando sua cristalinidade, os grupos funcionais característicos da quitosana não são afetados e a hidrofiliçidade da quitosana sofre pequena alteração, contudo mante-se o caráter hidrofílico. A formação dos compósitos a base de quitosana/fosfato de cálcio foi eficaz e esta teve pequeno efeito nas propriedades físico-química do filme de quitosana o que é promissor para o desenvolvimento de um novo biomaterial.

Palavras-chave: Compósitos; quitosana; fosfato de cálcio.

Abstract:

Medicine seeks increasingly to treat problems related to bone regeneration and tissue in order to minimize surgical trauma and some bone diseases. The advancement of technology allows the biomaterials develop materials that assist in reconstructive procedures of body parts and increase treatments improving the quality of life of human beings. Due to the characteristics of biodegradability, biocompatibility and biofunctionality, chitosan has attracted attention of researchers in order to obtain new materials. Its unique features favor the incorporation of other materials such as calcium phosphate ceramics which are used in this bone. This study aimed to develop biodegradable films of chitosan with 1%, 3% and 5% calcium phosphate for use in bone regeneration. The composites were prepared and characterized by X-ray diffraction (XRD) spectroscopy in the region of Fourier Transform Infrared (FTIR) by Wettability and Contact Angle. The results show that the incorporation of phosphate alters the profile of chitosan semicrystalline increasing its crystallinity characteristic functional groups of chitosan are not affected and the hydrophilicity of chitosan undergoes little change, however keep the hydrophilic character. The formation of composites based on chitosan / calcium phosphate was effective and had little effect on this physical-chemical properties of chitosan film which is very promising for the development of a new biomaterial.

Keywords: Composites; chitosan; calcium phosphate.

1. Introdução

A medicina busca cada vez mais tratar problemas relacionados à regeneração óssea e de tecidos buscando minimizar traumas cirúrgicos e algumas doenças ósseas. Esses problemas de saúde junto à população têm levado pesquisadores, à procura de materiais que possam substituir de forma apropriada os ossos danificados ou reconstituí-los [1].

A partir da necessidade de regeneração, reparo e crescimento de tecido em áreas afetadas por lesões ou doenças surgiram os biomateriais utilizados para reparar, repor e induzir crescimentos de tecidos [2].

A quitosana é um desses biomateriais, é um polissacarídeo natural, obtido através da desacetilação da quitina, predominantemente encontrada em carapaças de crustáceos, composta de β -(1 \rightarrow 4)-D-glicosamina e β -(1 \rightarrow 4)-N-acetil-D-glicosamina [3,4]. Devido as suas características a quitosana é bastante utilizada na biomedicina, na indústria de

*Email: wladymyrjb@yahoo.com.br (J. B. S. Wladymyr)

cosméticos, na agricultura como fibra têxtil e no tratamento de água. Na Biomedicina ela atua como um biomaterial que favorece a reconstituição fisiológica da pele [5] e auxilia na redução do processo inflamatório [6].

Os fosfatos de cálcio são materiais cerâmicos utilizados como biomateriais em reposição e regeneração óssea, devido a apresentarem biocompatibilidade, bioatividade, osteocondutividade e também permitirem a proliferação de células ósseas, proteínas e colágeno em suas superfícies, possibilitando desta forma a regeneração tecidual [7].

Visando a potencialidade dos biomateriais, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de filmes híbridos de quitosana/apatita.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Nesta pesquisa foram utilizados:

- Quitosana fornecida na forma de pó pela Sigma Aldrich – de médio peso molecular com grau de desacetilação entre 75- 85%.
- Fosfato de cálcio- apatita fornecida pelo grupo CERTBIO.
- Ácido acético glacial P.A., fornecido pela Vetec. Hidróxido de sódio P.A., fornecido pela Vetec.

2.2. Métodos

A solução quitosana foi preparada através da técnica de evaporação do solvente. Dissolveu 1g de quitosana em 100 ml de uma solução a 1% de ácido acético glacial sob agitação mecânica por 20 h. Em seguida, a solução polimérica foi filtrada em vácuo para remover o material insolúvel. O filtrado foi vertido em placa petri e acondicionado em estufa a 50 °C por 20 h para evaporação do ácido e formação do filme de quitosana.

Obtidas as soluções de quitosana foi adicionado fosfato de cálcio nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Após 10 minutos sobre agitação, foram retiradas 30 ml de cada uma das soluções e vertidas em placas de petri, seguindo o mesmo procedimento da preparação do filme de quitosana. Depois de preparadas, o filme de quitosana assim como o compósito a base de quitosana/fosfato de cálcio foram caracterizados por:

Difração de raios X (DRX) para determinar o grau de cristalinidade. As análises de difração de raios X foram conduzidas a temperatura ambiente em aparelho XRD-7000 Shimadzu, utilizando radiação $K\alpha$ do cobre (1,5418 Å), tensão de 40kv e corrente 30mA. Os compósitos a base de quitosana/fosfato de cálcio foram examinados em um intervalo de 2θ entre 10,0 e 70,0 graus a uma velocidade de 2°/min.

Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), utilizando um equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi usada para identificar as bandas características dos grupos funcionais, presentes nos materiais desenvolvidos nesta pesquisa utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

Molhabilidade por ângulo de contato, a técnica consiste no cálculo da tensão superficial da membrana baseada na análise do formato da gota. O ângulo de molhabilidade entre a gota de água destilada com tensão superficial conhecida e a superfície sólida depende da relação entre as forças adesivas, que fariam a gota se espalhar sobre a superfície. O teste de molhabilidade do filme de quitosana (quit) e dos compósitos a base de quitosana com fosfato de cálcio nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Foram utilizadas três amostras de cada tipo de membrana e realizado cinco medições em cada.

3. Resultados e Discussão

O difratograma de raios X (DRX) obtido do pó da apatita está representado na Figura 1. Através dos padrões de DRX foi possível identificar a presença das fases cristalinas de fosfato de cálcio ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) numa quantidade de 56%, com simetria tetragonal e grupo espacial P41 [8] e fosfato de cálcio ($\text{Ca}_9\text{FeH}(\text{PO}_4)_7$) numa quantidade de 44%, com simetria romboédrica e grupo espacial R3C [9].

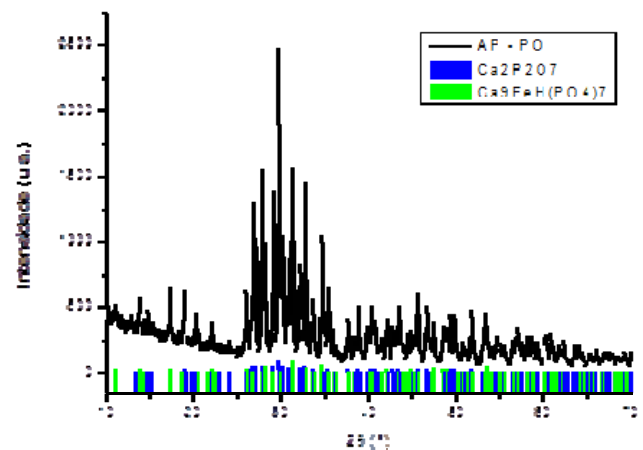


Figura 1. Difratograma do pó do fosfato de cálcio – apatita

Figura 2 ilustra os difratogramas do filme de quitosana, dos compósitos de quitosana/apatita nas proporções de (1%, 3% e 5%) e o difratograma da apatita.

O difratograma do filme de quitosana apresentou o pico típico de material semicristalinos, com base larga em $2\theta = 20^\circ$ que corrobora com Lima (2010) [10]. A quitosana tem um perfil semicristalino proveniente das fortes interações intra e intermolecular, caracterizado pelas pontes de hidrogênio formadas entre os grupos amina, álcool, amida e outros grupos funcionais presentes na molécula de quitosana. As fortes interações provocam certa organização à estrutura cristalina da quitosana [11]. Também foi possível visualizar um perfil de difração nos compósitos na faixa 2θ entre 25° a 30° que está sobreposta ao background indicando a incorporação da apatita.

Analisando o espectro de infravermelho obtido do filme de quitosana, Figura 3, verificou-se que ele está de acordo com Barbosa, (2011) e Ponciano, (2010) [12, 13], (Tabela 1), pois o espectro apresentou todas as absorções relativas à

quitosana podendo ainda afirmar que a mesma não é 100% desacetilada, pois possui uma banda característica da amida (O = C – NHR), como pode ser visualizado na Figura 3.

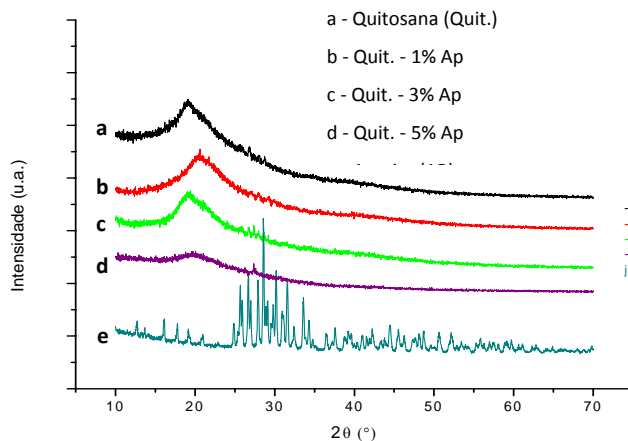


Figura 2. Difratograma do filme e compósitos: (a) Quitosana (Quit.); (b) Quit. + Apatita 1%(AP); (c) Quit. + 3%(AP); (d) Quit. + 5%(AP) e (e) Apatita (AP) pó

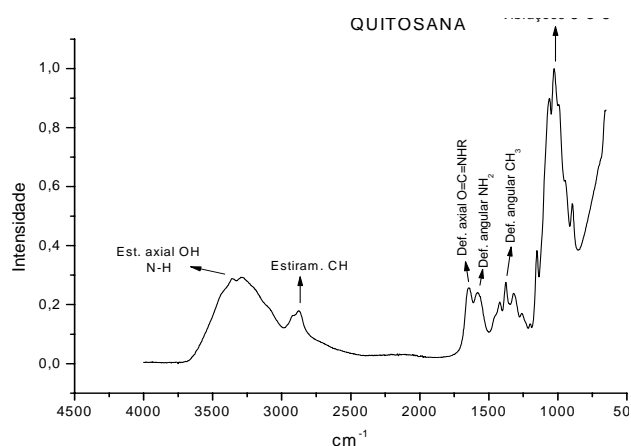


Figura 3. Espectros da quitosana

Analisando o espectro de infravermelho obtido do pó do fosfato de cálcio nota-se que ele apresentou as absorções relativas à apatita, como o grupo característico PO₄ como pode ser observado na Figura 4 e na Tabela 2, corroborando os estudos de Oliveira (2009) e Fukurama (2009) [14, 15].

A Figura 5 ilustra todos os espectros obtidos pelo ensaio de FTIR, são eles: filme de quitosana (quit), compósitos de quitosana/apatita (AP) nas proporções de (1%, 3% e 5%) e do pó da apatita

Tabela 1. Bandas de absorção no FTIR dos filmes de quitosana com GD de 75% – 85%

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
3334	Deformação axial de O-H e N-H do grupo NH ₂
2928 e 2873	Deformação axial de C-H de grupos CH ₂ e CH ₃
1652	Deformação axial de RHN-C= O (amida)
1586	Deformação angular N-H do grupo NH ₂ (amina)
1423 e 1319	Deformação angular de O-H e deformação angular de C-H do anel glicosídico
1377	Deformação angular do C-H de CH ₃
1150, 1062 e 1020	Deformação axial do C-O-C da ligação éter

Fonte: Ponciano, 2010 [13]

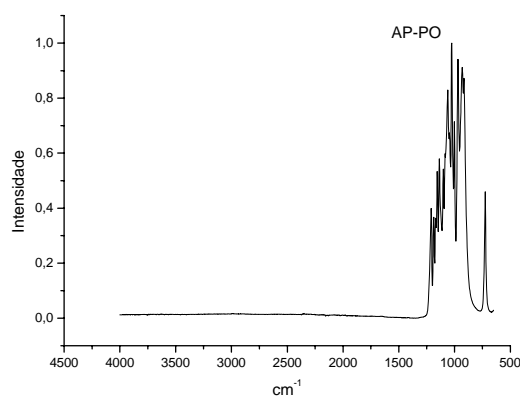


Figura 4. Espectros do pó da Apatita

Tabela 2. Bandas de absorção no FTIR dos filmes pó de fosfato de cálcio

Região de Absorção (cm ⁻¹)	Designação
128	Estiramento PO ₄ ⁻ em HPO ₄ ²⁻
1100, 1093, 1047	Estiramento assimétrico de PO ₄ ³⁻ ou Estiramento PO ₃ em HPO ₄ ²⁻
965	Estiramento simétrico PO ₄
918	Estiramento P-OH em HPO ₄
884	Estiramento antissimétrico de CO ₃
650	Vibrações OH de hidroxila
616, 581	Deformação

Fonte: Fukumira, 2009 [15]

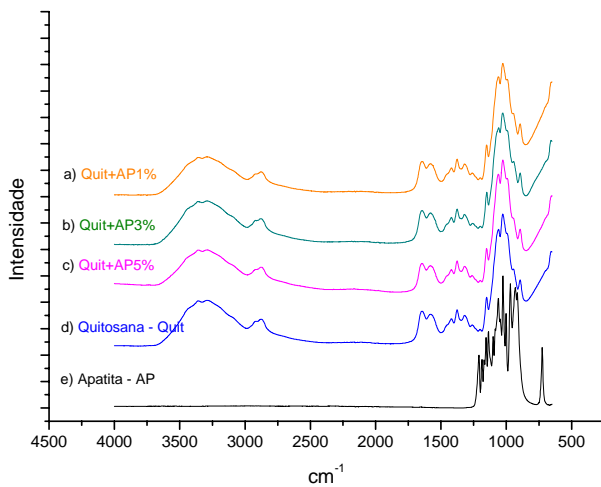


Figura 5. Espectrogramas do filme e compósitos: (a) Quitosana (Quit.); (b) Quit. + 1%(AP); (b) Quit. + 3%(AP); (c) Quit. + 5%(AP) e (d) Apatita (AP) pó

De acordo com a Figura 5, pode-se afirmar que a adição da apatita (1%, 3% e 5%) no filme de quitosana não alterou os grupos funcionais característicos da quitosana. Todavia, isso não implica dizer que não tenha acontecido uma interação química entre os constituintes dos compósitos, pois a análise de infravermelho é um método de análise de superfície [16] e as partículas de apatita estão recobertas pela matriz de quitosana.

De acordo com os resultados da molhabilidade por ângulo de contato, verifica-se que tanto o filme como os compósitos a base de quitosana/fosfato de cálcio apresentaram as medidas de ângulo de contato menor que 90° o que indica hidrofiliabilidade. Este resultado era desejável devido os materiais desenvolvidos nesta pesquisa serem confeccionadas para um posterior contato com o corpo humano [17].

Tabela 3. Medida de ângulo de contato para os diferentes tipos de filmes

	Quit.	Quit. 1%AP	Quit. 3%AP	Quit. 5%AP
Ângulo de Contato	$65 \pm 0,54$	$57 \pm 0,55$	$59 \pm 0,28$	$62 \pm 0,36$

Observa-se na Tabela 3 que a presença do fosfato de cálcio nas proporções de 1%, 3% e 5% no filme de quitosana proporcionou uma pequena alteração nos valores médios de ângulo, no entanto essa quantidade não alterou o caráter de hidrofílico do filme de quitosana.

4. Conclusões

Os resultados apresentados indicam que a incorporação do fosfato de cálcio (apatita) para formação dos compósitos altera o perfil semicristalino da quitosana deixando-a mais cristalinidade. Os grupos funcionais característicos da quitosana não foram alterados pela incorporação da apatita e a

formação dos compósitos não modifica a hidrofiliabilidade do filme de quitosana.

Pode-se concluir que os objetivos foram alcançados e que o processo descrito na metodologia para a obtenção dos compósitos em forma de filme mostrou-se eficaz

Agradecimentos

CAPES; CERTBIO; UFCG

Referências

- [1] Kawashi E. Y., Bertran, C. A., Reis, R. R., Alves, O. L. Biocerâmicas Tendência e Perspectiva de uma Área Interdisciplinar. Química Nova, v. 23, p. 518-522, 2000.
- [2] Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen F.J., Lemons, J.E.: An introduction to materials in medicine. Academic Press, San Diego. 2005.
- [3] Santos, C., Seabra, P., Veleirinho, B., Delgadillo, I., Silva, J. A. L. Acetylation and molecular mass effect on barrier and mechanical properties of shortfin squid chitosan membranes. European Polymer Journal, v. 42, p. 3277-3285, 2006.
- [4] Hejazi, R., Amiji, M. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. Journal of Controlled Release. V. 89, p. 151-165, 2003.
- [5] Biagini, G., Muzzerelli, R. A. A., Giardino, R. E., Castaldini, C. Biological Material for wound healing. In: Brine, I., Charles, J. Advanced in chitin and chitosan. Elsevier Science Publishers, London. 1992.
- [6] Helou, J. B., Corrêa, F. A. F., Rezende, P. M., Pacheco, A. A., Feistel, J. C., Orlando, C. F. P., Moraes, A. M., Silva, O. C., Silva, L. A. F. Descorna plástica em bovinos: uso tópico de um composto a base de quitosana a 5% como auxiliar na cicatrização de feridas contaminadas (Resultados Preliminares - Comunicação Pessoal). 2008.
- [7] Aparecida, A. H., Fook, M. V. L., Santos, M. L., Gustaldi, A. C. Estudo da influência dos íons K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e CO_3^{2-} na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). Química Nova, v. 30, p. 892-896, 2007.
- [8] Calculated from ICSD using POWD-12++.1997.
- [9] Lazoryak, B., Khasanov, S., Moscow State University., Russia., ICDD Grant-in-Aid. 1994.
- [10] Lima, R. S. C. Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina. 2010. 112f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Curso de Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande. 2010.
- [11] Uragami T., Tokura S, (Eds.) Material Science of Chitin and Chitosan. Japan: Kodansha. Ltd. Springer. 2006.
- [12] Barbosa, R. C. Compósitos Quitosana/Carbonato de

- Cálcio para Utilização em Cânulas de Fístula Ruminal. 2011. 119f. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Campina Grande-UFCG. 2011
- [13] Ponciano, J. J. Desenvolvimento de membranas bioabsorvíveis com variado nível de orientação molecular para aplicação como biomaterial. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande. 2010.
- [14] Oliveira, S. V., Medeiros, K. M., Araújo, E. P., Braga, C. R. C., Araújo, E. M., Fook, M. V. L. Caracterização química e morfológica do pirofosfato de cálcio obtido por via úmida. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 4, p. 11-20, 2009.
- [15] Fukumura, H, *Molecular Nano Dyamics: Volume 1 and 2*. Copyrighted Material. 2009.
- [16] Aimoli, C. G. Investigação da Adequação de Membranas de Quitosana Quimicamente Modificadas para Uso como Biomaterial: Estudo da Calcificação in vitro. 2007. 187f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Curso de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química. 2007.
- [17] Holanda, A. L. Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande. 2011.