



Arcabouços obtidos por agregação de esferas de quitosana/hidroxiapatita

S. S. L. Oliveira^{1*}, H. M. L. Oliveira², M. V. L. Fook¹

¹Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Campina Grande

²Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Campina Grande

*Aptígio Veloso 882, Bodocongó, Campina Grande, PB – CEP 58429 – 900

(Recebido em 16/07/2015; revisado em 17/09/2015; aceito em 22/10/2015)

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

Resumo:

Os arcabouços são estruturas tridimensionais porosas onde células podem ser implantadas e formarem tecido, podendo ser utilizado como substituto para restaurar, manter ou melhorar as funções de tecidos. As pesquisas em relação a substitutos ósseos estão cada vez mais concentradas em biomateriais compósitos seguindo uma estratégia biomimética, ou seja, desenvolver materiais imitando a estrutura e composição do osso humano. Neste contexto, muita atenção tem sido dada a hidroxiapatita (HA) por causa da sua composição química e cristalográfica semelhante ao componente inorgânico encontrado na natureza óssea, sendo interessante combiná-la com polímeros, como a quitosana, que se destaca pela biocompatibilidade e biodegradabilidade. O objetivo deste trabalho é desenvolver arcabouços de quitosana / hidroxiapatita e gelatina utilizando o método de agregação de partículas, e caracterizá-los por meio das técnicas de Microscopia Ótica (MO), Espectroscopia da Região de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e realização de ensaio de compressão. A partir dos resultados verificou-se que o método de agregação de partículas foi bem sucedido para formação de uma estrutura tridimensional; por meio de MO foi observada a formação das esferas e dos arcabouços; por FTIR foi possível confirmar a presença da hidroxiapatita e de quitosana; e ainda por ensaio de compressão foi possível observar que a hidroxiapatita atua como reforço até a concentração de 3% e com 5% a adição da hidroxiapatita passou a diminuir a resistência mecânica.

Palavras-chave: Biomateriais compósitos; arcabouços; agregação de partículas.

Abstract:

The scaffolds are three-dimensional porous structures where cells can be implanted and form tissue, and can be used as a replacement to restore, maintain or improve tissue functions. The researches in relation to bone substitutes are increasingly concentrated in composite biomaterials following a biomimetic strategy, namely, to develop materials mimicking the structure and composition of the human bone. In this context, much attention has been given to hydroxyapatite (HA) because of its chemical and crystallographic composition similar to the inorganic component found in bone mineral nature, being interesting to combine it with polymers, such as chitosan, which is distinguished by biocompatibility and biodegradability. The objective of this work is to develop frameworks of chitosan / hydroxyapatite and gelatin using the particle aggregation method, and characterize them through Optical Microscopy techniques (LOM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and the performing of a compression test. From the results it was found that the particle aggregation method was successful for forming a three-dimensional structure; by LOM, it was observed that the formation of the spheres and the scaffolds; by FTIR, it was possible to confirm the presence of the hydroxyapatite and the chitosan; and by the compression test, it was observed that the hydroxyapatite acts as reinforcement until the concentration of 3%, and with the addition of 5%, the hydroxyapatite then decreased the mechanical resistance of the scaffolds.

Keywords: Composite biomaterials; scaffolds; particle aggregation.

1. Introdução

Os arcabouços são estruturas tridimensionais artificiais em que células são implantadas e são capazes de suportar a formação de tecido em três dimensões. Para tanto, é necessário que estas estruturas tridimensionais apresentem composição e morfologia pré-determinada, com estrutura de poros e distribuição apropriada, e que também sejam

biocompatíveis e biodegradáveis, podendo ser substitutos biológicos para restaurar, manter ou melhorar as funções de tecidos. Além disso, os arcabouços devem proporcionar um suporte mecânico e vascular temporário para a regeneração do tecido, enquanto o tecido em crescimento está sendo formado [1,2].

Um dos grandes desafios no campo da engenharia de tecidos é o desenvolvimento de arcabouços ou estruturas tridimensionais porosas que permitam a adesão, proliferação e

*Email: suelemsonaly@yahoo.com.br (S. S. L. Oliveira)

produção de matriz extracelular à medida que ocorre sua degradação, além de ser necessário estabelecer um equilíbrio adequado entre a porosidade e o desempenho mecânico dos arcabouços [3-5].

Os arcabouços têm sido desenvolvidos para atuarem em vários tipos de tecido, e em virtude da crescente necessidade de desenvolvimento de substitutos ósseos, essas estruturas vêm sendo estudadas como excelentes alternativas para este uso. O osso natural é um composto inorgânico/orgânico, com fração majoritária da fase inorgânica, onde é encontrada uma fase apatítica com estrutura cristalográfica e composição química semelhante à da hidroxiapatita, $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Portanto, as pesquisas em relação a substitutos ósseos, se concentram cada vez mais em biomateriais compósitos seguindo uma estratégia biomimética [6-8].

Os arcabouços compósitos de matriz polimérica com enchimentos cerâmicos bioativos têm sido objeto de investigação recente, pois combinam as vantagens destes dois tipos de materiais e mimetizam razoavelmente o osso, que é um compósito natural. Além disso, o desenvolvimento de biomateriais compósitos, formados por fases inorgânica/orgânica, como por exemplo, compostos à base de fosfatos de cálcio juntamente com polímeros para uso potencial como materiais de substituição de tecido ósseo, pode proporcionar vantagens como a otimização das propriedades mecânicas, químicas, morfológicas e biológicas, possibilitando a obtenção de melhor biocompatibilidade, bioatividade, propriedades de ligação inibindo a migração de compostos de cálcio, e aumento do potencial osteogênico [7, 9,10].

Neste contexto, muita atenção tem sido dada a hidroxiapatita que é uma biocerâmica, pertencente à classe dos fosfatos de cálcios, e apresenta sua composição química e cristalográfica semelhante ao componente inorgânico encontrado na natureza óssea. A HA apresenta excelentes propriedades biodegradáveis, biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade, podendo ser utilizado para aplicações de implantes biomédicos e regeneração do osso. Muitos estudos tem sido direcionados para o uso da HA combinada com polímeros, tais como poliácido láctico, colágeno, quitosana e polietileno. Dentre estes polímeros, os biopolímeros, como a quitosana, têm recebido maior atenção no campo de aplicações médicas, devido à sua considerável biocompatibilidade e biodegradabilidade [7,8,11-13].

A quitosana é um tipo de polissacarídeo e polímero natural extraído de crustáceos, e sua molécula é formada por um copolímero composto por N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose, onde os dois tipos de unidades de repetição estão ligadas por (1→4)- β -glicosídica, estas unidades estão distribuídas em diferentes graus, dependendo do grau das porções acetiladas [13,14]. A quitosana apresenta características apropriada para aplicações biomédicas, tais como, biocompatibilidade, biodegradabilidade, natureza antibacteriana intrínseca, capacidade de ser moldada em várias geometrias e formas. Dentre as várias formas que a quitosana pode ser obtida, pode-se destacar: géis, membranas, nanofibras, micropartículas, nanopartículas, scaffolds e esponjas, com

estruturas porosas, que são adequadas para facilitar o crescimento das células e promover assim osteocondução, além de ter a capacidade de manipular e reconstituir a estrutura e função do tecido [15-17].

O desenvolvimento dos arcabouços envolve uma tecnologia com grande número de etapas para produção de estruturas adequadas fisicamente e em relação à biocompatibilidade e biodegradabilidade [1,13,18]. As técnicas de fabricação de arcabouços dependem das propriedades dos materiais envolvidos e da função final desejada. As técnicas mais estudadas envolvem os métodos convencionais, tais como, extrusão, formação de espumas, liofilização, separação de fase, formação de fibras, e mais recentes a prototipagem rápida (PR). Estas técnicas apresentam distintas vantagens e desvantagens. De modo que, não existe um método que seja universal para todas as aplicações, então, as propriedades do arcabouço devem ser priorizadas, de modo a selecionar o processo de fabricação mais apropriado [1,5,13,18]. Nesta pesquisa busca-se combinar o método de geleificação ionotrópica, para obtenção de partículas esféricas, juntamente com o método de agregação de partículas, para a formação do arcabouço.

As partículas de quitosana têm sido preparadas por diferentes métodos, dentre eles tem-se: separação de fase (coacervação), técnica de evaporação/extração de solventes, técnica emulsão (cross-linking), secagem por pulverização e geleificação ionotrópica [19-21]. Na técnica de geleificação ionotrópica, a quitosana é dissolvida em ácido e forma uma dispersão de quitosana em uma solução coagulante, sob agitação constante. A reação entre as espécies de carga oposta, faz com que a quitosana se submeta a geleificação ionotrópica e precipite na forma de partículas esféricas. Esta técnica é interessante para obtenção de partículas esféricas com diâmetros controlados. Promover estudos de como combiná-la com outras técnicas, como a agregação de partículas, pode ser uma alternativa importante para obtenção de estruturas tridimensionais com composições pré-definidas [19-26].

O desenvolvimento de uma estrutura combinando quitosana com hidroxiapatita, pode originar um biocompósito com propriedades mecânicas e biológicas otimizadas. Diante disso, este trabalho tem como objetivo desenvolver arcabouços por meio da combinação dos métodos de geleificação ionotrópica com o de agregação de partículas, formando, inicialmente, esferas de quitosana combinada com diferentes concentrações de hidroxiapatita, por meio do método de geleificação ionotrópica e agregadas com o auxílio de gelatina, formando assim, a estrutura tridimensional.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

O desenvolvimento desta pesquisa, incluindo desde a obtenção até a caracterização dos materiais, foi realizado no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, localizado na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. As principais matérias-primas

usadas foram: quitosana em pó, de médio peso molecular, adquirido pela Sigma-Aldrich, com grau de desacetilação entre 75 – 85%; hidroxiapatita, $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ em pó, fornecido pela Sigma Aldrich; gelatina em pó, adquirida em Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO); ácido acético glacial, P.A. $(C_2H_4O_2)$, fornecido pela Vetec; tripolifosfato de sódio (TPP) e solução tampão de fosfato salino (PBS), adquiridos pela Sigma-Aldrich.

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação dos arcabouços

Inicialmente, foi preparada uma solução de quitosana (2%) por meio da dissolução do polímero na forma de pó em solução de ácido acético (1%) e mantida em agitação mecânica constante por 24 horas. Em seguida, a hidroxiapatita em pó, foi pesada em três concentrações diferentes, sendo de 1% , 3% e 5% em relação ao peso de quitosana, para então, ser incorporada à solução de quitosana e mantida sob agitação mecânica até obter se homogeneidade dos sistemas. Com isso, partiu-se para a formação das esferas por meio do método de gelificação ionotrópica, de modo que, foi utilizada uma seringa de 20 mL acoplada com uma agulha de dimensões $0,7 \times 25 \text{ mm}^2$ (22G 1”). O gotejamento das soluções preparadas e coletadas na seringa, ocorreu em solução coagulante de tripolifosfato de de sódio (5%*m/v*). Em seguida, as esferas foram neutralizadas com uma solução tampão de fosfato salino (PBS). Com as esferas formadas e neutralizadas, partiu-se o desenvolvimento dos arcabouços por meio de agregação das esferas. Esta agregação ocorreu com o auxílio de uma solução de gelatina (5%), e por fim os arcabouços formados seguiram para o congelamento à 20°C, e posteriormente para liofilização por 48 horas. As composições dos sistemas formadores dos arcabouços, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição dos arcabouços compósitos

Compósito	Arcabouço		
	(HA 1%)	(HA 3%)	(HA 5%)
Hidroxiapatita (%)	32	58,5	70
Quitosana(%)	64	39	28
Gelatina(%)	4	2,5	2

2.2.2. Caracterizações

(a) Microscopia Ótica (MO): Para aplicação da técnica de MO, foi utilizado um Microscópio Óptico de marca Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D e variação de 50X-400X, acoplado a uma estação de Análise de Imagens. Por meio do ensaio de MO foram comprovadas a formação das esferas em suas diferentes concentrações de hidroxiapatita.

(b) Espectroscopia da Região de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR): A caracterização por espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em um espectrômetro de marca Perkin Elmer e modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer, para as amostras foram feitas varreduras de

4000 a 650 cm^{-1} , sem a necessidade de preparar pastilhas de KBr, tendo-se utilizado o dispositivo ATR (Attenuated Total Reflectance).

(c) Ensaio Mecânico de Compressão: As propriedades mecânicas dos arcabouços foram caracterizadas por ensaio de compressão. Em decorrência da ausência de uma norma específica para o ensaio de compressão em arcabouços como os desenvolvidos nesta pesquisa, optou-se por adaptar o ensaio de compressão realizado por Fontes (2010) [1] e atribuindo valores específicos para diâmetro dos corpos de prova e condições do ensaio. Assim, para realização do ensaio foram confeccionados arcabouços, para cada concentração estudada, com diâmetro igual 20 mm e altura igual a 10 mm. Antes do ensaio foi realizada uma análise visual direta dos arcabouços, com o intuito de verificar a sua integridade e acabamento. A máquina utilizada foi a Universal Instron 3366, e o parâmetro utilizado foi de 1,3 mm/min.

3. Resultados e Discussão

3.1. Microscopia Ótica

As imagens obtidas com microscopia ótica (Figuras 1, 2, 3) foram utilizadas para auxiliar nas análises superficiais da estrutura formada, bem como, avaliar a morfologia e a superfície dos arcabouços tanto em aspecto externo como em aspecto interno, por meio de corte realizado em sua secção transversal.

As Figuras 01 (a), (b) e (c) apresentam as imagens das esferas quitosana/hidroxiapatita em concentrações de 1% de hidroxiapatita, e o arcabouço formado tanto em aspecto externo, quanto interno.

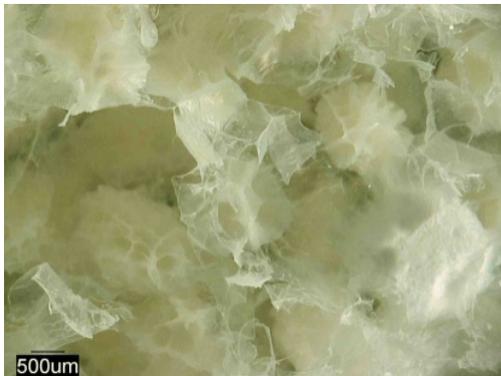
A partir das imagens apresentadas nas Figuras 1, 2 e 3 é possível observar as esferas e os arcabouços formados. Pode-se afirmar que quanto maior a fração cerâmica, mais uniforme e mais densa se tornam as esferas. E, além disso, pode-se observar que os arcabouços formados são estruturas porosas, com poros interconectados em que as esferas ficaram dispostas com auxílio da gelatina, a criação de poros foi possível devido ao processo de liofilização das amostras.

A partir das imagens de MO, foi possível também observar o diâmetro médio das esferas formadas, e com isso, obteve-se diâmetro médio de $1650 \pm 160 \text{ }\mu\text{m}$ para quitosana/hidroxiapatita(1%), $1700 \pm 200 \text{ }\mu\text{m}$ para as esferas de quitosana/hidroxiapatita(3%), e de $1800 \pm 200 \text{ }\mu\text{m}$ para as esferas de quitosana/hidroxiapatita(5%) Diante disso, é possível afirmar que os diâmetros médios das esferas apresentam-se maior conforme o aumento da concentração de hidroxiapatita no sistema. Morais et al. [27], obteve esferas de quitosana produzidas pelo método de gelificação ionotrópica, com diâmetro médio de 2000-3000 μm , utilizando uma agulha hipodérmica (de $0,7 \times 25 \text{ mm}^2$), onde as gotículas formadas foram coletadas em uma solução de NaOH (10%) e sem seguidas reticuladas com glutaraldeído. Análogo aos resultados obtidos neste trabalho, Santos et al. [28], em seu trabalho incorporou o fármaco (insulina) em esferas de

quitosana, e observou um aumento no diâmetro das esferas com a insulina.



(a)



(b)



(c)

Figura 1. Imagens obtidas por microscopia óptica com aumento de 40x para: (a) esferas de quitosana/hidroxiapatita(1%), (b) arcabouço em aspecto interno, (c) arcabouço em aspecto externo

3.2. Espectroscopia da Região de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 4 apresenta os espectros na região do infravermelho para as matérias primas de quitosana e hidroxiapatita, e para os arcabouços formados quitosana com hidroxiapatita em concentrações de 1%, 3% e 5%.



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Imagens obtidas por microscopia óptica com aumento de 40x para: (a) esferas de quitosana/hidroxiapatita(3%), (b) arcabouço em aspecto interno, (c) arcabouço em aspecto externo

A partir do espectro de FTIR da quitosana pode-se observar as principais bandas características, sendo: banda de estiramento axial de OH em 3460 cm^{-1} , grupo C-H em 2620 cm^{-1} ; deformação axial de C=O de amida I em 1656 cm^{-1} ; deformação angular de N-H de amina primária em 1560 cm^{-1} ; estiramento vibracional de C-O do álcool primário em 1000 cm^{-1} [29,30].

A partir do espectro de FTIR da hidroxiapatita pode-se observar que os principais picos característicos são: um pico bem definido em torno de 800 cm^{-1} , esse pico é um triplete

que se relaciona com as ligações PO_4^{3-} em 601 e 570 cm^{-1} com contribuição da ligação $-\text{OH}$ do grupo apatita em 630 cm^{-1} . Outro pico que é correspondente ao grupo $-\text{OH}$ estrutural em torno de 3570 cm^{-1} . O pico que se estende de aproximadamente 3700 a 3000 cm^{-1} e o pico em 1627 cm^{-1} correspondem à água absorvida. Os picos em 1047 cm^{-1} e em 1090 cm^{-1} correspondem à vibração de deformação do grupo PO_4^{3-} , enquanto o pico em 962 cm^{-1} corresponde ao modo de estiramento do grupo PO_4^{3-} [31].



(a)



(b)



(c)

Figura 3. Imagens obtidas por microscopia óptica com aumento de 40x para: (a) esferas de quitosana/hidroxiapatita(5%), (b) arcabouço em aspecto interno, (c) arcabouço em aspecto externo

Embora os espectros na região do infravermelho da quitosana e dos arcabouços de diferentes concentrações, apresentem certas semelhanças, é possível observar algumas diferenças, que são atribuídas às diferentes concentrações de hidroxiapatita presentes nas esferas, as diferenças são evidentes principalmente nas regiões correspondentes aos seguintes intervalos de comprimento de onda: 3550 a 3250 cm^{-1} e 1800 a 1500 cm^{-1} .

Comparando-se os espectros de quitosana com os dos arcabouços, verifica-se que houve significativas modificações na região entre 1700 a 1300 cm^{-1} . No caso das amostras de arcabouços, é visível a diminuição da banda de estiramento axial de OH em torno de 3460 cm^{-1} presente no espectro da quitosana, isso em virtude da presença da hidroxiapatita, como também, vai se evidenciando o pico em torno de 1000 cm^{-1} característico do estiramento vibracional de C-O da quitosana [29]. Outrossim, verifica-se que ocorre o aumento do pico em torno de 800 cm^{-1} , que provavelmente pode ser atribuído a hidroxiapatita, sendo esse pico um tripleto que se relaciona com as ligações PO_4^{3-} em 601 e 570 cm^{-1} com contribuição da ligação $-\text{OH}$ do grupo apatita em 630 cm^{-1} [31].

Diante disso, a partir das curvas obtidas na Figura 4 (c), (d), (e), pode-se observar que de forma geral, as absorções mais características são as de quitosana. Além disso, pode-se perceber que com o aumento da concentração de hidroxiapatita ocorrem alterações como a diminuição das bandas mais características da quitosana fazendo com que haja um comportamento mais próximo ao da hidroxiapatita, em especial no arcabouço de 5%.

3.3. Ensaio Mecânico de Compressão

A Figura 5 apresenta as curvas tensão-deformação dos arcabouços de quitosana/hidroxiapatita contendo diferentes concentrações de hidroxiapatita (1%, 3%, 5%), exemplificando, assim, o comportamento ao teste mecânico de compressão.

A partir das curvas tensão-deformação pode-se observar que independente da concentração de hidroxiapatita presente, todas as curvas apresentam um comportamento mais próximo de um elastômero. Além disso, a nível comparativo pode-se afirmar que as pequenas diferenças observadas entre as curvas são provenientes das diferentes concentrações de hidroxiapatita, que resultaram em diferentes tensões, como expostas na Tabela 2.

Como visto nas imagens de MO o aumento do teor de hidroxiapatita, promoveu a formação de esferas mais densas e com poros de tamanhos menores. A presença de espaços vazios no interior de um dispositivo determina de forma significativa as suas propriedades mecânicas, uma vez que são zonas onde não existem ligações moleculares. Adicionalmente, é de esperar que o material cerâmico, devido ao fato de ter um maior módulo de elasticidade, se comporte como um reforço da estrutura. Assim, teoricamente é de se esperar que quanto maior o teor de hidroxiapatita maior tensão deverá suportar o compósito formado. Nas curvas tensão versus deformação apresentado na Figura 5, o

comportamento da curva mostrou que o caráter elastomérico é mais evidente quando se tem um teor polimérico mais elevado, tornando-se menos evidente com o aumento do teor de hidroxiapatita.

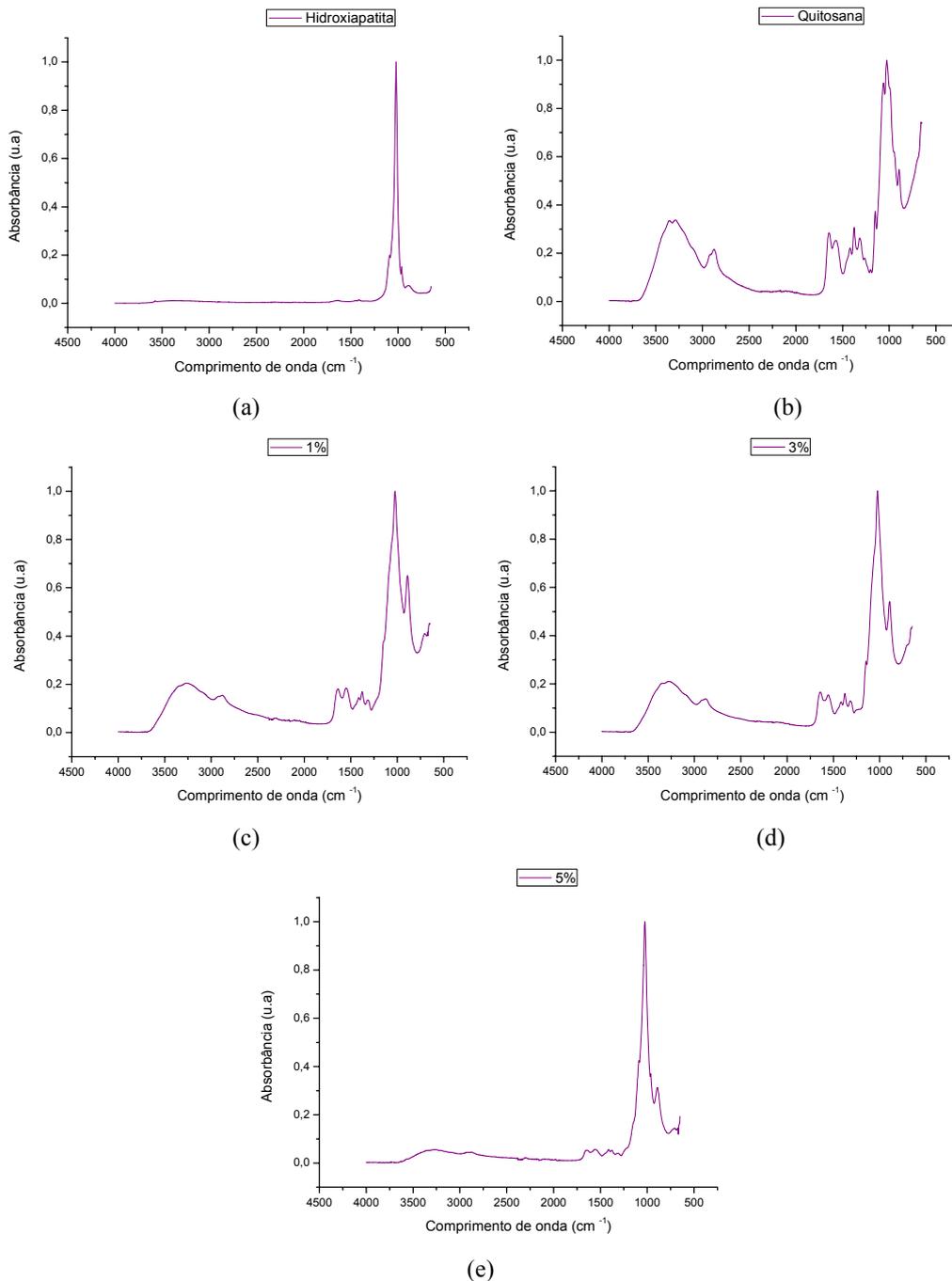
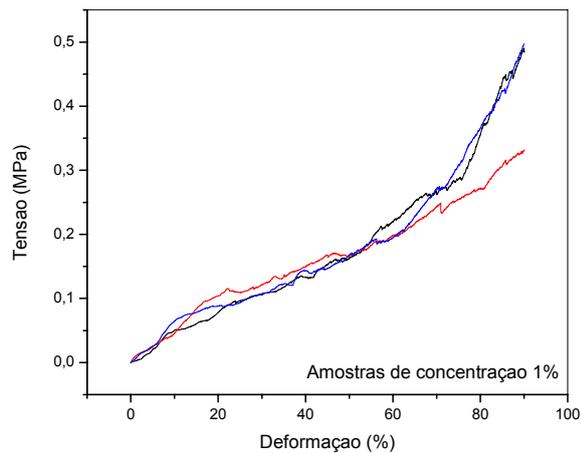


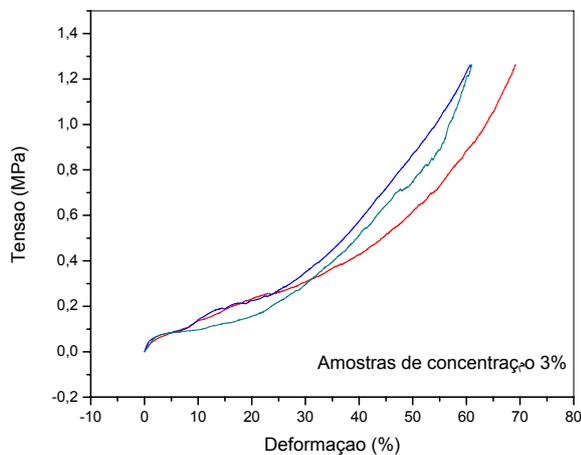
Figura 4. Espectros de FTIR realizados em: (a) Hidroxiapatita, (b) Quitosana, (c) Arcabouço 1% (d) Arcabouço 3%, (e) Arcabouço 5%

Com relação à tensão máxima, Tabela 2, verifica-se, como esperado, que a tensão máxima é aumentada da composição de 1% para 3% e se mantém praticamente idêntica de 3% para 5%. A primeira variação poderá estar relacionada com o número de poros e o tamanho dos poros,

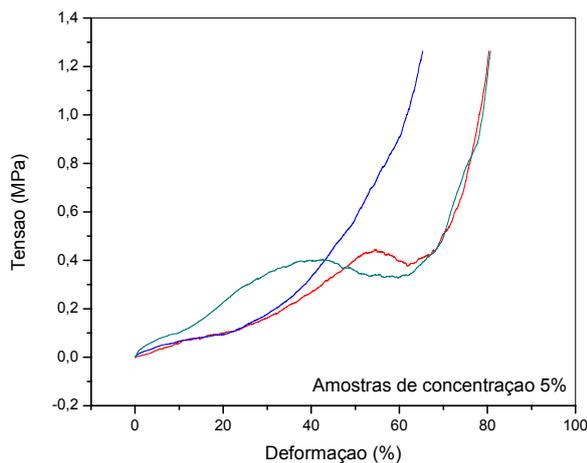
uma vez que a composição 1%, como já visto, possui uma estrutura mais porosa. Mas, também poderá estar relacionado com o maior reforço oferecido pela hidroxiapatita na concentração de 3%.



(a)



(b)



(c)

Figura 5. Curvas tensão-deformação dos arcabouços de quitosana/hidroxiapatita: (a) Concentração de 1% de hidroxiapatita (b) Concentração de 3% de hidroxiapatita (c) Concentração de 5% de hidroxiapatita

Em relação ao módulo de elasticidade, verifica-se que a composição de 1% é mais elástica que as demais por conta da presença de menos fosfato de cálcio. Para as composições de 3% e 5% verifica-se que esta relação (quanto maior fosfato de cálcio menor elasticidade) não se verifica, sendo a composição de 3% menos elástica uma vez que na zona de deformação elástica é necessário mais tensão para provocar o mesmo deslocamento compressivo. Assim, o reforço da estrutura recai sobre possíveis interações entre polímero-cerâmico, tendo-se obtido um máximo destas interações na composição de 3%, ficando a composição de 5% com maior número de interações cerâmico-cerâmico que por conseguinte, não contribuem para o aumento da rigidez do polímero

Tabela 2. Propriedades mecânicas de compressão

Composição	HÁ 1%	HÁ 3%	HÁ 5%
Tensão máxima (MPa)	$0,43981 \pm 0,09351$	$1,293 \pm 0,05874$	$1,26364 \pm 0,00001$
Módulo de Elasticidade (MPa)	$0,7244 \pm 0,29$	$3,3976 \pm 0,47$	$2,3256 \pm 0,82$

Observações realizadas ao arcabouço com 5% de hidroxiapatita confirmam que este se torna mais frágil que o arcabouço com 3%, uma vez que, após o ensaio foi possível observar que alguns corpos de prova sofriam deformação permanente e se rompiam, o que não aconteceu com os corpos de prova para concentração de 3%. Uma possível justificativa para comportamento seria a ocorrência de mais número de ligações entre a quitosana e a hidroxiapatite na concentração de 3%, do que quando se usa 5%, uma vez que a fração de quitosana é menor.

4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que a utilização da técnica de geleificação ionotrópica, para formar esferas, combinada com o método de agregação de partículas foi bem sucedido e eficaz para a obtenção de arcabouços, ou estruturas tridimensionais compostas por quitosana/hidroxiapatita/gelatina, com diferentes concentrações de hidroxiapatita. A partir das imagens de MO, foi possível observar que as esferas incorporadas com 5% de hidroxiapatita apresentam a formação de partículas com geometria esférica e mais densa do que as esferas incorporadas com 1% e 3% de hidroxiapatita, que por sua vez apresentam maior rugosidade superficial. Por FTIR, verificou-se que a presença da hidroxiapatita em diferentes concentrações, foi identificada por diferenças nos espectros obtidos, de forma que, quanto maior a quantidade de hidroxiapatita maior a tendência de aproximação da curva para um comportamento semelhante à desta matéria prima isolada. Além disso, por meio da caracterização mecânica realizada pelo ensaio de compressão foi possível observar um comportamento pseudoplástico nas curvas obtidas por este ensaio, devido à influência da presença da fração polimérica no arcabouço.

Agradecimentos

Os autores agradecem, ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPEs, ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) e seus colaboradores, e a Universidade Federal de Campina Grande.

Referências

- [1] Fontes, R. A. M., Fabrico e caracterização de arcabouços à base de fosfatos de cálcio. [dissertação de mestrado]. Lisboa: Instituto Superior Técnico: Universidade Técnica de Lisboa; 2010.
- [2] Almeida, H. R., Bártolo, P. J. Design of tissue engineering arcabouços based on hyperbolic surfaces: Structural numerical evaluation. *Medical Engineering & Physics*, 36 (8), 1033-1040, 2014.
- [3] Mainard, D. Substitutos ósseos. *EMC – Locomotive*, 47 (2), 1-11, 2014.
- [4] Fook, A. C. B. M. I., Aparecida, A. H., Fook, M. V. L. . Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de hidroxiapatita para utilização como scaffolds para regeneração óssea. *Revista Matéria*, 15 (3) 3, 392 – 399, 2010.
- [5] Barroca, N. B. Scaffolds à base de polímeros piezoelétricos para regeneração óssea. [dissertação de mestrado]. Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro: Universidade de Aveiro; 2008.
- [6] Landi, E., Valentini, F., Tampieri, A. Porous hydroxyapatite/gelatine arcabouços with ice-designed channel-like porosity for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, 4 (6), 1620–1626, 2008.
- [7] Chen, F., Wang, Z.-C., Lin, C.-J. Preparação e caracterização de partículas de hidróxiapatite de tamanho nano e hidroxiapatita / quitosano nanocompósito para uso em materiais biomédicos. *Material Letters*, 57, 858-861, 2002.
- [8] Guastaldi, A. C., Aparecida, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Química Nova*, 33 (6), 1352-1358, 2010.
- [9] Matos, M. B. C. de, Piedade, A. P., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Braga, M. E. M., Sousa, H. C. de. Dexamethasone-loaded poly(ϵ -caprolactone)/silica nanoparticles composites prepared by supercritical CO₂ foaming/mixing and deposition. *International Journal of Pharmaceutics*, 456 (2), 269–281. 2013.
- [10] Khor, E., Lim, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 24 (13), 2339-2349, 2003.
- [11] Li, J., Chen, Y. P., Yin, Y., Yao, F., Yao, K. Modulation of nano-hydroxyapatite size via formation on chitosan–gelatin network film in situ. *Biomaterials*, 28 (5), 781-790, 2007.
- [12] Rusu, V. M., Ng, C.-H., Wilke, M., Tiersch, B., Fratzl, P., Peter, M. G. Size-controlled hydroxyapatite nanoparticles as self-organized organic–inorganic composite materials. *Biomaterials*, 26, 5414-5426, 2005.
- [13] Martino, A. Di, Sittinger, M., Risbud, M. V. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*, 26 (30), 5983-5990, 2005.
- [14] Fidèles, T. B. Filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial [dissertação de mestrado]. Campina Grande: Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais: Universidade Federal de Campina Grande; 2010.
- [15] Laus, R., Laranjeira, M. C. M., Martins, A. O., Fávère, V. T., Pedrosa, R. C., Benassi, J. C., Geremias, R. Microesferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato utilizadas para remoção da acidez, ferro(III) e manganês(II) de águas contaminadas pela mineração de carvão. *Química Nova*, 29, 34-39, 2006.
- [16] Pial, J. F. Preparação e caracterização de complexos polieletrólitos de quitosana/sulfato de condroitina e estudos de liberação controlada [dissertação de mestrado]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2008.
- [17] Torres, M.C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana natural e modificada quimicamente e o seu uso na adsorção das proteínas BSA e losozima [tese de doutorado]. Campinas: Faculdade de Engenharia Química. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006.
- [18] Murphy, M.B., Mikos, A.G. Polymer Scaffold Fabrication. In: Lanza, R. N., Langer, R., Vacanti, J. Principles of tissue Engineering. San Diego: Elsevier Academic Press; 2009.
- [19] Kean, T., Thanou, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62 (1), 3–11, 2010.
- [20] Sinha, V. R., Singla, A. K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., Dhawan, S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *Review. International Journal of Pharmaceutics*, 274 (1-2), 1–33, 2004.
- [21] Baldino, L., Cardea, S., De Marco, I., Reverchon, E. Chitosan arcabouços formation by a supercritical freeze extraction process. *The Journal of Fluids supercríticos*, 90, 27-34, 2014.
- [22] Jayakumar, R., Prabakaran, M., Kumar, P. T. S., Nair, S. V., Tamura, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*, 29 (3), 322–337, 2011.
- [23] Lourenço, V. A. Desenvolvimento e avaliação de micropartículas de quitosana para a veiculação de dimetilaminoetanol (DMAE) na pele [dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas: Universidade de São Paulo; 2006.
- [24] Balan, V., Verestiuc, L. Strategies to improve chitosan hemocompatibility: A review. *European Journal Polymer*, 53, 171-188, 2014.
- [25] Yue, W. Prevention of browning of depolymerized chitosan obtained by gamma irradiation. *Carbohydrate*

- Polymers, 101, 857–863, 2014.
- [26] Lacerda, L., Parize, A. L., Fávere, V., Laranjeira, M. C. M., Stulzer, H. K. Development and evaluation of pH-sensitive sodium alginate/chitosan microparticles containing the antituberculosis drug rifampicin. *Materials Science and Engineering: C*, 39, 161–167, 2014.
- [27] Morais, W. A., Almeida, A. L. P., Pereira, M. R., Fonseca, J. L. C. Equilibrium and kinetic analysis of methyl orange sorption on chitosan spheres. *Carbohydrate Research*, 343 (14) 14, 2489–2493, 2008.
- [28] Santos, J. V., Moura, T. F. A., Raffin, F. N. Otimização dos parâmetros de secagem por aspersão de micropartículas de quitosana como carreadores de insulina. *Latin American Journal of Pharmacy*, 22 (4) 327-33, 2003.
- [29] Souza, K. V. de, Zamora, P. G. P, Zawadzki, S. F. Esferas de quitosana/fe na degradação do corante azul qr-19 por processos foto-fenton utilizando luz artificial ou solar. *Polimeros*, 20 (3), 210-214, 2010.
- [30] Torres, Marco A., Vieira, Rodrigo S., Beppu, Marisa M., Santana, Cesar C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. *Polimeros*, 15 (4), 306-312, 2005.
- [31] Volkmer, T. M., Dos Santos L. A. Influência do tempo de indução nas propriedades de hidroxiapatita porosa obtida por gelcasting de espumas. *Cerâmica*, 53 (328), 429-435, 2007.