

## DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS HÍBRIDAS DE QUITOSANA/FOSFATO DE CÁLCIO

Wladymyr, J.B.S.(1); Nascimento, E.P.(1); Almeida, K.V.(1);, Farias K.A.S.(1); Cardoso, M.J.B.(1); Fook, M.V.L.(1)

<sup>1</sup> CERTBIO – Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste/Universidade Federal de Campina Grande – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Campina Grande-PB.

E-mail: [wladymyrjb@yahoo.com.br](mailto:wladymyrjb@yahoo.com.br); [emanueluepb@gmail.com](mailto:emanueluepb@gmail.com)

*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 reconstrutivos 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 utilizados em reposição e regeneração óssea, devido a apresentarem biocompatibilidade, bioatividade, osteocondutividade além de permitirem a proliferação de células ósseas, proteínas e colágeno em suas superfícies, possibilitando desta forma a regeneração tecidual. Este trabalho teve como objetivo desenvolver membranas 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 indicam a formação do compósito e evidenciam um aumento da cristalinidade da membrana de quitosana pela incorporação do fosfato, além de confirmar a hidrofiliabilidade dos compósitos. Os resultados preliminares indicam que o compósito é um promissor biomaterial.*

**Palavras-chave:** Membranas híbridas, quitosana e fosfato de cálcio.

### 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<sup>(1)</sup>.

A partir da necessidade de regeneração, reparo e crescimento de tecido em áreas afetadas por lesões ou doenças surgem os biomateriais. Esses materiais possibilitam a formação de novos tecidos para serem incorporados no sistema biológico e utilizados para reparar, repor e induzir crescimentos de tecidos<sup>(2)</sup>.

A quitosana é um polissacarídeo natural, obtido através da desacetilação da quitina, predominantemente encontrada em carapaças de crustáceos, composta de  $\beta$ -(1→4)-D-glicosamina e  $\beta$ -(1→4)-N-acetil-D-glicosamina<sup>(3;4)</sup>. Devido as suas características a quitosana é bastante utilizada na biomedicina, na indústria de 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<sup>(5)</sup> e auxilia na redução do processo inflamatório<sup>(6)</sup>.

Por sua vez os fosfatos de cálcio são materiais cerâmicos utilizados como Biomateriais em reposição e regeneração óssea, devido a apresentarem biocompatibilidade, bioatividade, osteocondutividade e também permitem a proliferação de células ósseas, proteínas e colágeno em suas superfícies, possibilitando desta forma a regeneração tecidual<sup>(7)</sup>.

Visando a potencialidade dos biomateriais, esta trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de filmes híbridos de quitosana/apatita. Dessa maneira utilizar-se-á o compósitos como meio regenerativo para ossos uma vez que a quitosana através de suas características permite ser transformada em filmes biodegradáveis que são absorvidos com maior facilidade pelo organismo, favorecendo a introdução dos fosfatos de cálcio (apatita) para regeneração óssea.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local da Pesquisa**

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste/Universidade Federal de Campina Grande – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Campina Grande-PB.

### **2.2 Materiais**

- a) A quitosana fornecida na forma de pó pela Sigma Aldrich – de médio peso molecular com grau de desacetilação entre 75- 85%.
- b) Fosfato de cálcio- apatita fornecida pelo grupo Certbio
- c) O ácido acético glacial P.A., fornecido pela Vetec.
- d) O hidróxido de sódio P.A., fornecido pela Vetec.

## **2.4 MÉTODOS**

### **2.4.1 Preparação das Membranas de Quitosana e Quitosana/Fosfato de Cálcio**

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 adicionada 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, todas as membranas foram caracterizadas.

### **2.4.2 Caracterização das Membranas**

Foram preparados filmes de quitosana pura e híbridos, com incorporação da fosfato de cálcio nas proporções de (1%, 3% e 5%) e caracterizados por: Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Molhabilidade por Ângulo de Contato a fim de avaliar suas propriedades físico-químicas.

#### **2.4.2.1 Difração de raios X**

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 filmes foram examinados em um intervalo de  $2\theta$  entre 10,0 e 70,0 graus a uma velocidade de 2°/min.

#### **2.4.2.2 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

Todas as membranas foram caracterizadas por 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 nas matérias-primas utilizadas nesta pesquisa utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 2.4.2.3 Molhabilidade por Ângulo de Contato

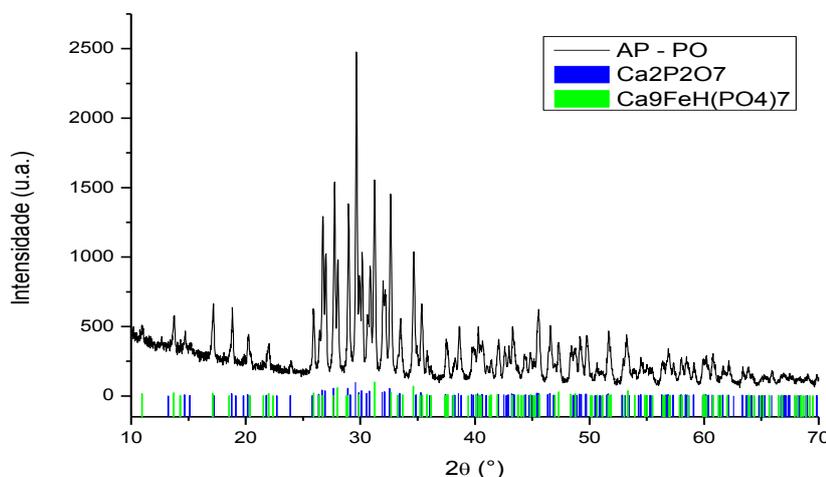
Aparelho goniômetro desenvolvido por técnicos da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG localizado no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais - Certbio. A técnica consiste no cálculo da tensão superficial da membrana baseada na análise 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.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

O difratograma de raios X (DRX) obtido do pó da apatita está representado na Figura 1.

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

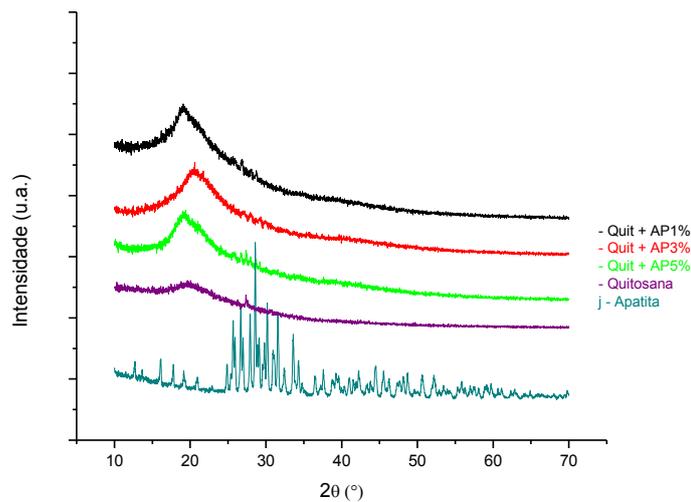


Através dos padrões de DRX foi possível identificar a presença das fases cristalinas de fosfato de cálcio (Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) numa quantidade de 56%, com simetria

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  $R3C^{(9)}$ .

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

Figura 2 - Difratogramas dos filmes de: (a) Quitosana (Quit) + Apatita (AP) 1%; (b) Quit + AP 3%; (c) Quit + Ap 5% e (d) AP pó.



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) <sup>(10)</sup>. 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 provem uma certa organização à estrutura cristalina da quitosana <sup>(11)</sup>.

Também foi possível visualizar um perfil de difração nos filmes na faixa  $2\theta$  entre  $25^\circ$  a  $30^\circ$  que está sobreposta ao background indicando a incorporação da apatita.

### 3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi proposta como uma maneira possível para avaliar se ocorreu a interação entre os grupos funcionais das moléculas que compõem essas

substâncias. Neste caso estudaram-se membranas quitosana e o compósito de quitosana com fosfato de cálcio com 1%, 3% e 5%.

Analisando o espectro de infravermelho obtido do filme de quitosana verificou-se que ele está de acordo com Barbosa, (2011) e Ponciano, (2010) <sup>(12, 13)</sup>, (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 3 - Espectros da Quitosana

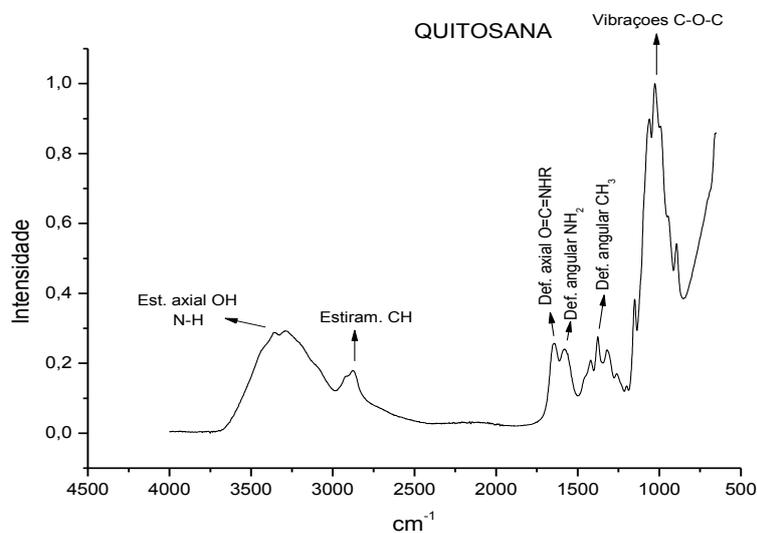


Tabela 1 - Bandas de absorção no FTIR dos filmes de quitosana com GD de 75% – 85%

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3334	Deformação axial de O-H e N-H do grupo NH <sub>2</sub>
2928 e 2873	Deformação axial de C-H de grupos CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub>
1652	Deformação axial de RHN-C= O (amida)
1586	Deformação angular N-H do grupo NH <sub>2</sub> (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 <sub>3</sub>
1150,1062 e1020	Deformação axial do C-O-C da ligação éter

Fonte: PONCIANO, 2010.

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  $\text{PO}_4$  como pode ser observado na Figura 4 e na Tabela 2, corroborando os estudos de Oliveira (2009) e Fukurama (2009) <sup>(14,15)</sup>.

Figura 4 - Espectros do pó da Apatita

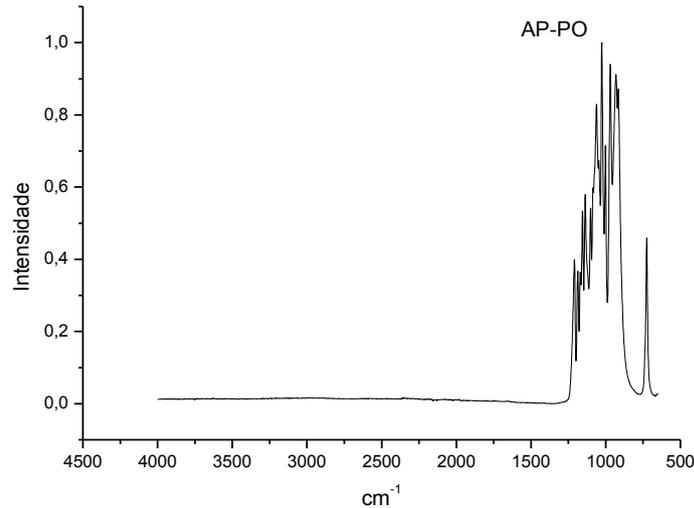


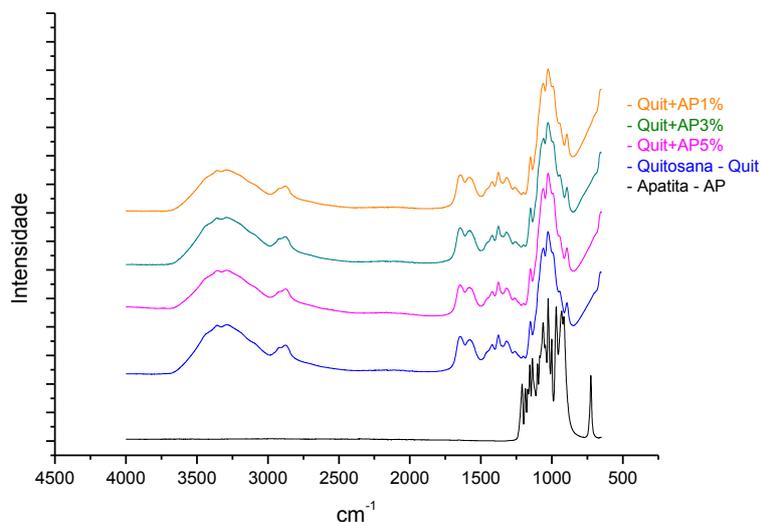
Tabela 2 - Bandas de absorção no FTIR dos filmes pó de Fosfato de Cálcio

Região de Absorção ( $\text{cm}^{-1}$ )	Designação
128	Estiramento $\text{PO}_4^-$ em $\text{HPO}_4^{2-}$
1100, 1093, 1047	Estiramento assimétrico de $\text{PO}_4^{3-}$ ou Estiramento $\text{PO}_3$ em $\text{HPO}_4^{2-}$
965	Estiramento simétrico $\text{PO}_4$
918	Estiramento P-OH em $\text{HPO}_4$
884	Estiramento antissimétrico de $\text{CO}_3$
650	Vibrações OH de hidroxila
616, 581	Deformação

Fonte: FUKUMURA, 2009.

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

Figura 5 - Espectrogramas dos filmes de (a) Quitosana (Quit) + Apatita (AP) 1%; (b) Quit + AP 3%; (c) Quit + Ap 5% e (d) Ap pó.



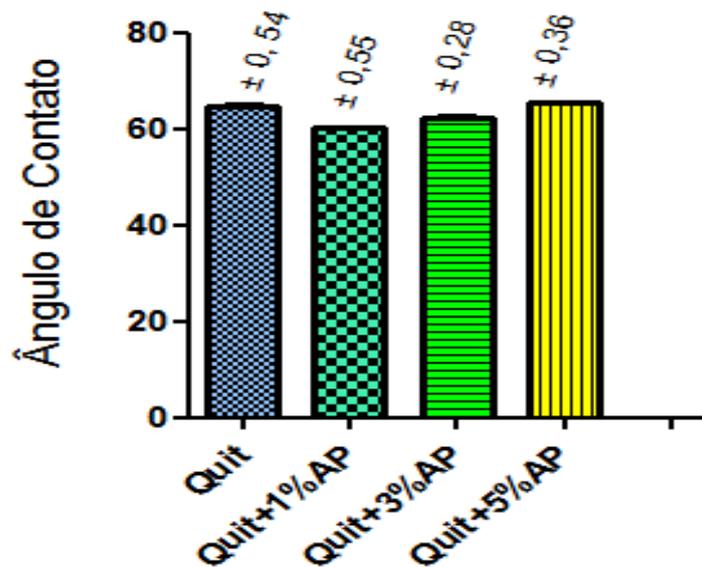
De acordo com a Figura 5, pode-se afirmar que a adição da apatita (1%, 3% e 5%) nas membranas de quitosana não alterou os grupos funcionais característicos da quitosana. Todavia, isso não implica dizer que não tenha acontecido uma interação química entre os constituintes dos compósitos, pois a análise de infravermelho é um método de análise de superfície <sup>(16)</sup> e as partículas de apatita estão recobertas pela matriz de quitosana. No entanto, o ensaio de DRX confirmou a interação química ocorrida entre os constituintes desta pesquisa.

### 3.4 MOLHABILIDADE POR ÂNGULO DE CONTATO

A Figura 6 ilustra o resultado do teste de molhabilidade das membranas de quitosana (quit) e quitosana com apatita nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Foram utilizadas três amostras de cada tipo de membrana e realizado cinco medições em cada uma delas. Os resultados expressos na Figura 8 foram obtidos a partir da média dos ângulos de contatos encontrados nas amostras.

De acordo com os resultados, verifica-se que todas as membranas apresentaram as medidas de ângulo de contato menor que 90° o que indica hidrofiliabilidade. Este resultado era desejável devido às membranas serem confeccionadas para um posterior contato com o corpo humano <sup>(17)</sup>.

Figura 6 - Medida de ângulo de contato para os diferentes tipos de membranas.



Observa-se na Figura 6 que a presença do fosfato de cálcio nas proporções de 1%, 3% e 5% nas membranas de quitosana proporcionou uma alteração os valores médios de ângulo, ou seja, com o aumento da quantidade de fosfato de cálcio observou-se uma diminuição na molhabilidade. Verificou-se que na proporção de 5% de fosfato de cálcio, a molhabilidade da membrana foi reduzida.

#### 4. CONCLUSÃO

Após criteriosa análise dos dados obtidos neste trabalho 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.

Os resultados apresentados indicaram a formação dos compósitos, os mesmos apresentaram hidrofobicidade, está característica abre uma perspectiva de confecção das membranas para um posterior contato com o corpo humano, sendo, portanto necessário complementar esta pesquisa para obtenção de maiores características acerca deste biomaterial.

#### 5. 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 2000;v.23, n.4, 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, p. 16-24, 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), 2008.
- 7- APARECIDA, A. H.; Fook, M. V. L.; Santos, M. L.; Gustaldi, A. C. Estudo da influência dos íons K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). Química Nova, v.30, n.4,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

- 13- PONCIANO, J. J. In: 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.; E. M. ARAÚJO; FOOK, M. V. L. Caracterização química e morfológica do pirofosfato de cálcio obtido por via úmida. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.4.3 (2009) 11-20, aceito em 30/11/2009.
- 15- FUKUMURA, H; et.al. 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, 113 p.

## **DEVELOPMENT OF HYBRID MEMBRANES OF CHITOSAN / CALCIUM PHOSPHATE**

Wladymyr, J.B.S.(1); Nascimento, E.P.(1); Almeida, K.V.(1);, Farias K.A.S.(1);  
Cardoso, M.J.B.(1); Fook, M.V.L.(1)

<sup>1</sup> CERTBIO - Northeast Laboratory Evaluation and Development of Biomaterials /University Federal of the Campina Grande - Academic Unit of Materials Engineering - Campina Grande-PB.  
E-mail: [emanueluepb@gmail.com](mailto:emanueluepb@gmail.com)

**Abstract.** Medicine search increasingly to treat problems related to bone regeneration and tissue in order to minimize surgical trauma and some bone diseases. The advancement of biomaterials technology allows the materials develop that assist in reconstructive procedures of body parts and increase treatments improving the quality of human beings life. 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 replacement and bone regeneration due to submit biocompatibility, bioactivity, osteoconductivity in addition to allowing the proliferation of bone cells, collagen and proteins in their surfaces, thus allowing tissue regeneration. This study aimed to develop biodegradable chitosan membranes 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 indicate the formation of the composite and show an increased crystallinity of the chitosan membrane by the incorporation of phosphate, in addition to confirming the hydrophilicity of the composites. The results indicate that the composite biomaterial is a promising requiring.

**Keywords:** Hybrid membranes, chitosan and calcium phosphate.