



## Caracterização de biomaterial à base de hidroxiapatita e biopolímeros para aplicação biomédica.

Emanuel Victor de Oliveira Sousa<sup>1</sup>, Maria Noeme de Araújo<sup>2</sup>, Selma Elaine Mazzetto<sup>3</sup>, Cleber Candido da Silva<sup>4</sup>, Antônio Sergio Bezerra Sombra<sup>5</sup>, Ana Angélica Mathias Macêdo<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Graduando em Licenciatura em Química - IFCE. Bolsista do PIBIT/CNPq. e-mail: emanuelvictor20@yahoo.com

<sup>2</sup> Graduando em Licenciatura em Química - IFCE. Bolsista do PIBIT/IFCE. e-mail: emmy.campbell20@hotmail.com

<sup>3</sup> Doutora em Química - UFC.

<sup>4</sup> Doutor em Química Inorgânica - UFMA.

<sup>5</sup> Doutor em Física - UFC.

<sup>6</sup> Doutora em Biotecnologia - IFCE. e-mail: anaangellica@yahoo.com.br

**Resumo:** Nas últimas décadas a busca por novos biomateriais para substituição e reparação óssea vem crescendo devido a grande quantidade de patologias que afetam a estrutura óssea e alto índice de acidentes automobilísticos envolvendo perda ou ruptura da massa óssea. Os cimentos de fosfato de cálcio têm sido muito utilizados como biomateriais por sua biocompatibilidade e resistência. A hidroxiapatita é um fosfato de cálcio hidratado presente na estrutura óssea cerca de 30 a 70%. Os biopolímeros são de grande interesse em biomateriais pela sua biodegradação e alguns deles possuem interação com células imunológicas. Galactomanana e quitosana são biopolímeros de extraídos respectivamente de leguminosas, tais como a *Adenanthera Pavonina* L., e da quitina de exoesqueleto de crustáceos. O objetivo desta pesquisa é preparar e caracterizar um biomaterial a partir de hidroxiapatita/biopolímeros. Foram preparadas biocerâmicas a partir da homogeneização da Hidroxiapatita à solução de Galactomanana e Hidroxiapatita à blenda polimérica Galactomanana/Quitosana em três proporções 9:1, 8:2 e 7:3 respectivamente. Após preparação as biocerâmicas foram analisadas quanto a Espectrometria de infravermelho, Difração de Raio X, Espectrometria no Infravermelho por reflectância total atenuada e Análise térmica (Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG/DTG)). Pelos resultados podemos concluir a partir do raio-x que o processo de síntese da hidroxiapatita foi suficiente para a formação de somente de uma fase de hidroxiapatita, bem como, que a galactomanana assim como outros polímeros apresentam uma forma amorfa, os espectros no infravermelho mostram bandas típicas de Galactomanana, Hidroxiapatita e da blenda Galactomanana/Quitosana. Os resultados térmicos mostram que a Gal e a GalQ possuem estabilidade térmica em torno de 300°C e que a adição de quitosana à galactomanana diminuiu a temperatura de degradação, assim também, a Hidroxiapatita fica mais estável a 500°C.

**Palavras-chave:** *Adenanthera Pavonina* L., biomateriais, galactomanana, hidroxiapatita, quitosana

### 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento rápido da tecnologia e os grandes investimentos permitiu grandes avanços em diversos campos da ciência, o mercado mundial dos biomateriais estimou que em 2005 seria investido mais de US\$ 40 bilhões, com isso, melhora a qualidade de vida e aumenta a esperança da população. Os biomateriais vêm se desenvolvendo e se aperfeiçoando ao longo dos anos, em consequência de estudos e conhecimento dos mecanismos fisiológicos. Os biomateriais vem sendo usados por milhões de pessoas e tem como objetivo restaurar ou substituir tecidos danificados ou doentes (SOARES, 2005).

Conforme Ratner (2004) citada por Soares (2005), biomateriais são materiais naturais ou sintéticos utilizados em aplicações médicas ou em contato com sistemas biológicos. Os biomateriais à base de hidroxiapatita, junto com materiais poliméricos ou compósitos são bastante usados em sistemas de liberação controlada de fármacos ou como suporte para tecido celular (SOARES, 2005).

Polímeros são macromoléculas formadas pela repetição de unidades químicas. Podem ser classificadas em homopolímeros quando são originados de uma única unidade repetitiva monomérica, e copolímeros quando possuem mais de uma unidade repetitiva monomérica diferente (DE PAOLI, 2008).



Quitosana é um polissacarídeo amino, derivado do processo de desacetilação da quitina. A quitosana é o composto orgânico mais importante da natureza depois da celulose, pode funcionar como uma resina trocadora de íons, pois apresenta propriedade solúvel em ácidos orgânicos e minerais diluídos, porém ela precipita com o valor de pH acima de 6.0. É um polímero natural biodegradável, extremamente abundante e atóxico, em virtude disso, a pesquisa por novas aplicações com o uso da quitosana tem aumentado espontaneamente nas áreas de agricultura, indústria alimentícia, farmacêutica, no desenvolvimento de cosméticos e biomateriais, tais como géis, filmes e membranas poliméricas (SANTOS; ARAÚJO; SILVA, 2010).

As galactomananas são polissacarídeos de reserva, normalmente são catabolisados para fornecer energia e esqueletos de carbono da planta, durante a germinação (SOARES, 2009). Podem ser obtidas também a partir de fontes microbianas, especialmente de leveduras e fungos (MENEGUIN, 2012). Quimicamente as galactomananas apresentam como uma estrutura genérica, uma cadeia principal de unidades D-manopiranosil, unidas entre si por ligações glicosídicas do tipo  $\beta(1\rightarrow4)$ , com substituições em O-6 por unidades simples D-galactopiranosil ligadas  $\alpha(1\rightarrow6)$  (VENDRUSCOLO, 2005).

A hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  é um fosfato de cálcio hidratado, componente majoritário (95%) da fase mineral dos ossos e dentes humanos, produzida a partir de Hidróxido de Cálcio e Ácido Fosfórico, representa cerca de 30% a 70% da massa dos ossos e dos dentes. Há um grande interesse em sua produção, pois a hidroxiapatita têm propriedades de biocompatibilidade e osteointegração o que a torna ótima para a substituição óssea (COSTA, 2009).

O objetivo desta pesquisa é preparar e caracterizar um biomaterial a partir de hidroxiapatita/biopolímeros.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os biopolímeros utilizados nesta pesquisa são: Galactomanana (Gal) extraída do endosperma das sementes de *Adenanthera pavonina* L. (MACÊDO, 2010; SOARES, 2009), Quitosana da Sigma/Aldrich. Na preparação das blendas Galactomanana/Quitosana (GalQ) foram utilizadas soluções preparadas com ácido acético 0,1% de galactomanana 10mg/g e quitosana 5mg/g, o procedimento consistiu na homogeneização das soluções seguida de centrifugação, à temperatura ambiente.

A hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (HAP), foi sintetizada pelo método de moagem mecânica em alta energia, onde são utilizados em quantidades estequiométricas Hidróxido de Cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) e Fosfato Ácido de Cálcio ( $\text{CaHPO}_4$ ), no processo foi utilizado moinho de bolas modelo planetário (MACÊDO, 2010; SILVA; SOMBRA, 2010).

As biocerâmicas foram preparadas pela homogeneização da hidroxiapatita (HAP) à solução de galactomanana 5mg/g (HAP/Gal) e à blenda GalQ (HAP/GalQ) em diferentes proporções: 90% HAP/10% Gal, 80% HAP/20% Gal, 70% HAP/30% Gal, 90% HAP/10% GalQ, 80% HAP/20% GalQ e 70% HAP/30% GalQ. Após a homogeneização, foram transferidas individualmente para um molde de aço carbono e prensadas a 2 toneladas e, em seguida as pastilhas foram sinterizadas a 900°C e armazenadas para posteriores análises.

A HAP, Gal, Gal/Q, HAP/Gal e a HAP/GalQ, foram analisadas quanto a Espectrometria no Infravermelho por reflectância total atenuada. Sendo caracterizados por Difração de Raio-X e Análise térmica Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG) e sua Derivada (DTG)) a HAP, a Gal e a GalQ.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Espectrometria no infravermelho por reflectância total atenuada (ATR)

A Figura 1 mostra o espectro de absorção no infravermelho da HAP na região de 2000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , e nele podem-se observar bandas de grupos funcionais fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e hidroxila ( $\text{OH}^-$ ). A banda 1649  $\text{cm}^{-1}$  refere-se ao grupo  $\text{OH}^-$ , produzido pela deformação da molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  no processo de síntese. Os resultados obtidos no espectro estão de acordo com a literatura (BHADANG; GROSS, 2004; SILVA, *et al.*, 2005; XIA; LIAO; ZHAO, 2009; HAYAKAWA, *et al.*, 2009).

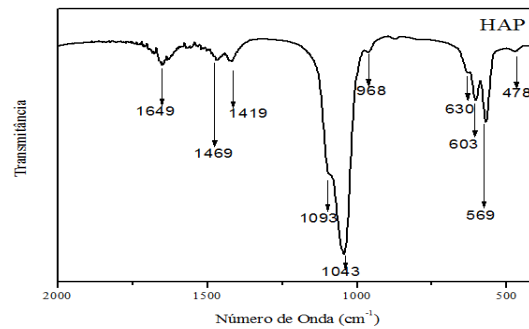


Figura 1. Espectro no infravermelho por reflectância total atenuada da HAP

A figura 2 apresenta espectro de absorção no infravermelho da Gal, onde nas bandas 812 e 871  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à presença de unidades de  $\alpha$ -D-galactopiranosose e unidades de  $\beta$ -D-mannopiranosose, respectivamente. Já as absorções em 1024 e 1070  $\text{cm}^{-1}$  mostram bandas que são comuns em polissacarídeos tais como a banda em 3415  $\text{cm}^{-1}$ , a qual caracteriza o grupo OH que também se faz presente.

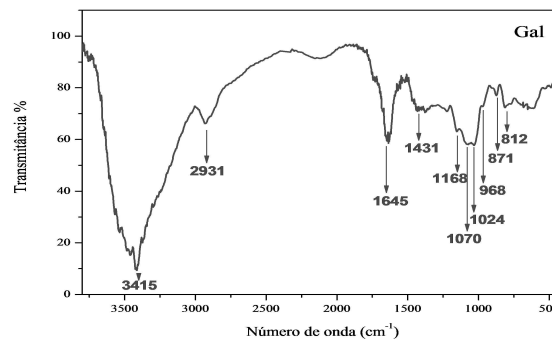


Figura 2. Espectro no infravermelho por reflectância total atenuada de galactomanana extraída de *Adenanthera pavonina* L.

O espectro de absorção no infravermelho da blenda GalQ é mostrado na figura 3 e nele se observa as mesmas bandas do espectro da Gal, mas também apresenta bandas em 1139  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída a deformação simétrica do  $\text{CH}_3$ , em 1525  $\text{cm}^{-1}$  é correspondente à deformação N-H de aminas, enquanto em 1660  $\text{cm}^{-1}$  tem-se a banda de amida I ( $\nu$  C=O,  $\delta$  N-H) devido à grupos acetilados residuais (FIGUEIRÓ *et al.*, 2004; PARK; CHUN; CHOI, 2008).

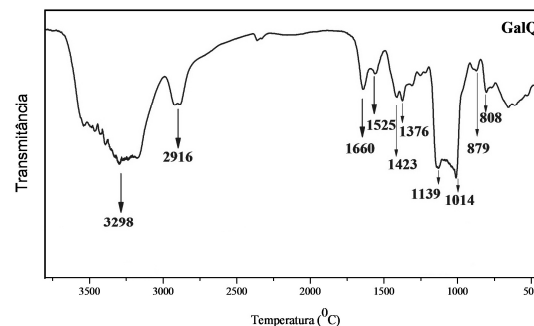


Figura 3. Espectro no infravermelho por reflectância total atenuada da blenda GalQ.

Na análise do espectro de absorção no infravermelho das biocerâmicas HAP/Gal e HAP/GalQ observou as mesmas bandas do espectro de HAP, logo se concluiu que com o processo de sinterização das biocerâmicas houve a degradação dos polímeros a 300°C.

## Difração de Raios-X

O difratograma de raios-x da HAP é mostrado na figura 4. Observa-se alguns picos correspondentes ao óxido de cálcio, formados pela dissociação do hidróxido de cálcio  $\text{Ca(OH)}_2$  que não reagiu completamente.

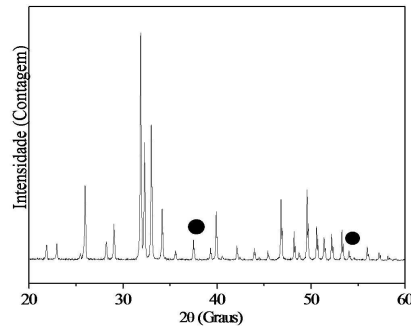


Figura 4. Difratograma de Raio-X de HAP

Na análise do difratograma de raios-x tanto da Gal quanto da blenda GalQ mostrados nas figuras 5 e 6 respectivamente, observa-se picos largos não definidos, o que mostra que tanto a Gal como a GalQ não apresentam cristais e portanto apresentam estruturas amorfas (VENDRUSCOLO, *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2006), também nota-se que mesmo com a adição da quitosana, no caso da blenda, a estrutura amorfa da galactomanana não se modificou.

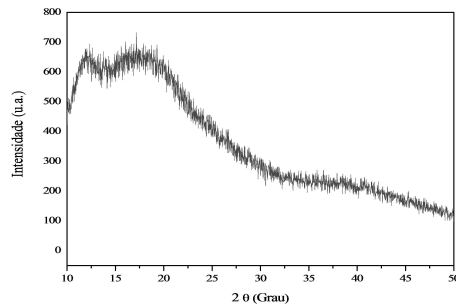


Figura 5. Difratograma de Raio-X de galactomanana de *Adenantha pavonina* L.

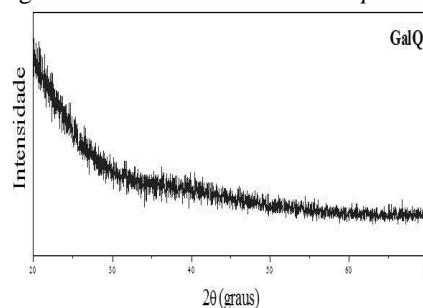


Figura 6. Difratograma de Raios-X da blenda GalQ.

## Análise Térmica

### Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A figura 7 ilustra a curva de DSC da hidroxiapatita (HAP), na qual foi submetida à moagem mecânica por 20 horas, cuja temperatura era em torno de 20-500°C. Observou-se um pico endotérmico com o aquecimento em 52,74°C, correspondente a perda de água fisicamente absorvida na molécula de  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  no processo de síntese, conforme o que foi mostrado no espectro do infravermelho.

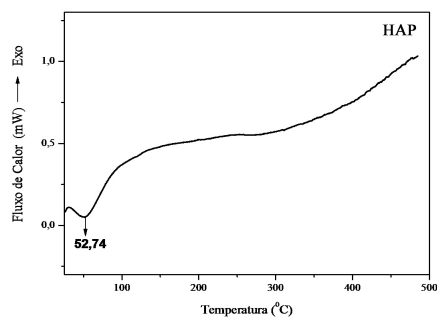


Figura 7. Termograma por DSC de HAP.

Observou-se no termograma DSC para Gal duas transições (Figura 8), a primeira, resultado da desidratação com um pico endotérmico com 105,6°C, correspondente aos grupos funcionais hidrofílicos da galactomanana e a segunda corresponde à decomposição do material orgânico em transição exotérmica em 312°C.

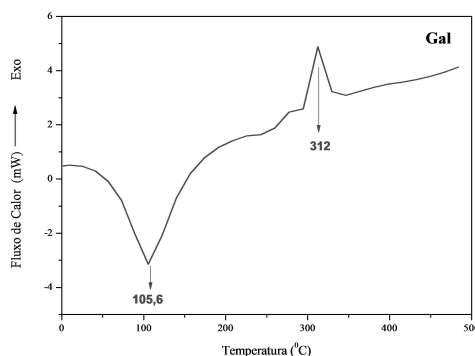


Figura 8. Termograma por DSC de Gal - *Adenanthera pavonina* L.

No termograma da blenda de GalQ (figura 9) observa-se que ocorreu o surgimento de um pico endotérmico de 85° C, devido a perda de água para GalQ, e um outro pico exotérmico de 290° C devido à decomposição dos polissacarídeos, (LIMA, *et al*, 2006; PARK; CHUN; CHOI, 2008). A adição de quitosana à galactomanana diminuiu a temperatura de degradação Gal para 314° C.

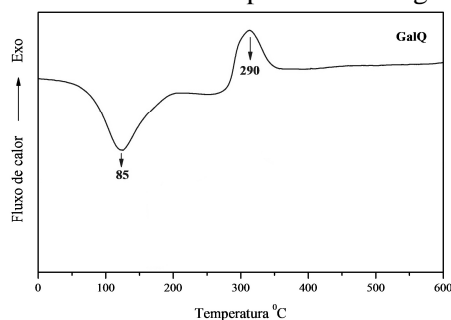


Figura 9. Termograma por DSC da blenda de GalQ.

### Termogravimetria (TG/DTG)

A figura 10 ilustra uma curva de TG da matriz de HAP em um processo de decomposição de matéria orgânica e impurezas, na qual gerou uma perda significativa de massa, que ocorreu em 25 a 300°C e de 300 a 500°C. Confirmando com termograma por DSC, após 500°C a HAP fica termicamente estável.

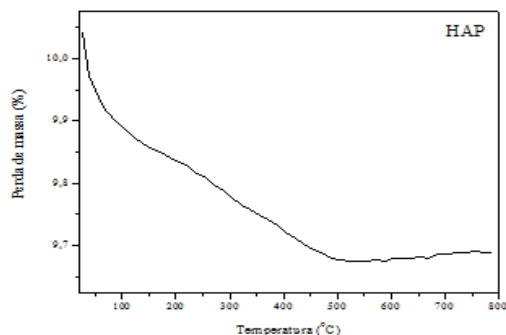


Figura 10. Termograma por TG de HAP.

Observou-se na curva de estabilidade térmica por TG (Figura 11), que houve uma redução de peso devido à perda de água aderida à amostra e sua curva diferencial. A decomposição de polímeros orgânicos em atmosfera inerte são produtos de massa molecular baixa.

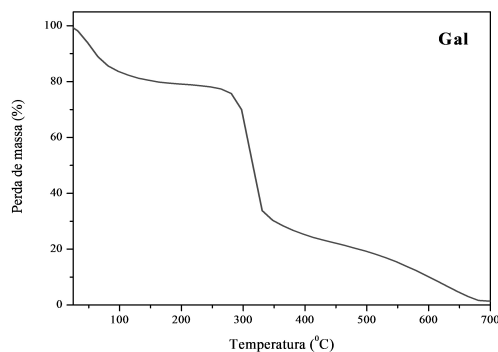


Figura 11. Termograma por TG de Galactomanana de *Adenantha pavonina* L.

Analisando as curvas de TG/DTG, nas figuras 12 e 13, verificou-se que há dois estágios de transição em duas diferentes temperaturas, que podem ser vistas em ambas figuras.

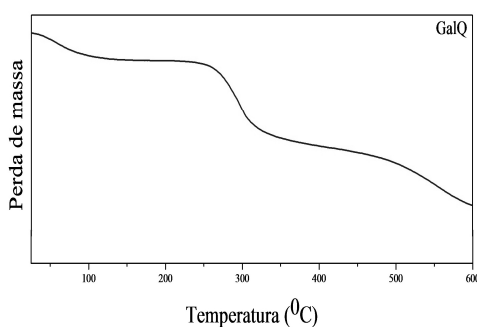


Figura 12. Termograma por TG da blenda GalQ.

A Figura 13 mostra a curva de DTG para blenda de GalQ. Observou-se um ponto de inflexão máximo em 299 °C referente à temperatura de decomposição da amostra, confirmando os resultados do DSC.

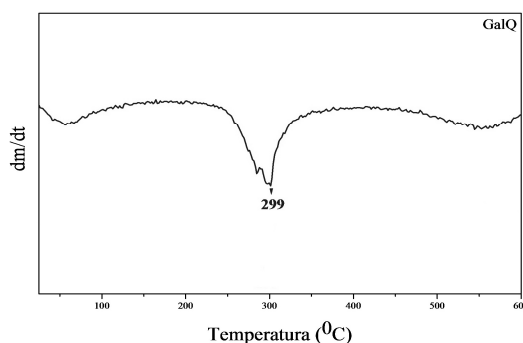


Figura 13. Termograma por DTG da blenda GalQ.

#### 4. CONCLUSÕES

Podemos concluir que a metodologia utilizada para sintetização da hidroxiapatita favoreceu a formação de uma fase cristalina segundo a análise de Raio X, também pode-se notar que o difratograma tanto da galactomanana quanto da blenda galactomanana/quitosana apresentou picos desordenados e portanto mostra que a forma amorfa dos polímeros, ou seja não apresentam cristais na sua composição.

A partir da espectrometria de infravermelho notamos que tanto a HAP, quanto a Gal e a Gal/Q apresentam bandas de absorção características, porém as biocerâmicas Gal/HAP e GalQ/HAP apresentou um espectro com características apenas da hidroxiapatita o que nos confirma a degradação dos biopolímeros no processo de sinterização das biocerâmicas.

Com base nos resultados de análise por DSC, TG e DTG, pode-se concluir que os picos endotérmicos das amostras de GalQ e Hap por DSC e de Gal por TG, são representações de perdas significativas de água e, na análise de Hap por TG, houve perda de massa no processo de decomposição de matéria orgânica e impurezas. E os picos exotérmicos do termograma por DSC da GalQ é resultante da decomposição dos polissacarídeos, e de Gal por DSC é decorrente à decomposição do material orgânico.

Conforme os resultados térmicos, conclui-se que a adição de quitosana à galactomanana diminuiu a temperatura de degradação, conforme os resultados do termograma da blenda de GalQ. Que a decomposição de polímeros orgânicos em atmosfera inerte são produtos de massa molecular baixa, e após 500°C a HAP fica termicamente estável.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Capes, CNPq e FUNCAP pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- BHADANG, K. A.; GROSS, K. A. Influence of fluorapatite on the properties of thermally sprayed hydroxyapatite coatings. **Biomaterials** **25**, 20: 4935–4945, set. 2004.
- COSTA, A. C. F. M., LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUSA, C. V.; LIRA, H. L. **Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações**. Universidade Federal de Campina Grande - PB. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.4.3, pág. 29-38. 18 de novembro, 2009.
- DE PAOLI, M. C. **Degradação e estabilização de polímeros**. Editora Artibler. pág. 15. São Paulo, 2008.
- FIGUEIRÓ, S. D.; GÓES, J. C.; MOREIRA, R. A.; SOMBRA, A. S. B. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films. **Carbohydrate Polymers**, **56**, 3: 313-320, jul. 2004.
- HAYAKAWA, S.; LI, Y.; TSURU, K.; OSAKA, A.; FUJII, E.; KAWABATA, K. Preparation of nanometer-scale rod array of hydroxyapatite crystal. **Acta Biomaterialia**, **5**, 6: 2152-2160, Jul. 2009.



LIMA, C. G. A.; OLIVEIRA, R.S.; FIGUEIRÓ, S. D.; WEHMANN, C. F.; GÓES, J.C. SOMBRA, A. S. B. DC conductivity and dielectric permittivity of collagen–chitosan films. **Materials Chemistry and Physics**, **99**, 2-3: 284–288, 2006.

MACÊDO, A.A.M. **Estudo de Biopolímeros para Modificação da Porosidade durante à Sinterização da Hidroxiapatita**. Tese (Doutorado) Programa de pós-graduação em biotecnologia (RENORBIO). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

PARK, S. H.; CHUN, M. K.; CHOI, H-K. Preparation of an extended-release matrix tablet using chitosan/Carbopol interpolymer complex. **International Journal of Pharmaceutics**, **347**, 1-2: 39–44, Jan. 2008.

RATNER, D. **Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine**, 2004.

SANTOS, N. F.; ARAÚJO, L. M.; SILVA, R. V. A. **Quitosana: obtenção, propriedade e aplicações relacionada a indústria alimentícia**. JEPEX 2010. UFRPE – Universidade Federal de Recife - PE, Outubro, 2010.

SILVA, C. C.; ROCHA, H. H. B.; FREIRE, F. N. A.; SANTOS, M. R. P.; SABOIA, K. D. A.; GOES, J. C.; SOMBRA, A. S. B. Hydroxyapatite screen-printed thick films: optical and electrical properties. **Materials Chemistry and Physics**, **92**, 1: 260–268, Jul. 2005.

SILVA, C.; SOMBRA, A. S. B. Estudo das propriedades estruturais e mecânicas do fosfato de cálcio dopado com óxido de silício obtido pelo método do estado sólido. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, América do Sul, 2010.

SOARES, G. A. Biomateriais. **Anais. FÓRUM DE BIOTECNOLOGIA BIOMATERIAIS**. Rio de Janeiro: UFRJ, Dezembro, 2005.

SOARES, C. E. A. **Caracterização Estrutural e Potencial da Galactomanana de *Adenanthera pavonina* L. como a matéria prima para produção de filmes comestíveis bioativos**. Tese (Doutorado). Universidade federal do Ceará. Fortaleza, 2009.

VENDRUSCOLO, C. W. **Goma xantana e galactomanana (*M. scabrella*): Desenvolvimento de matrizes hidrofílicas para liberação modificada de teofilina**. Dissertação, Universidade do vale do Itajaí. Outubro, 2005.

VENDRUSCOLO, C. W.; FERRERO, C.; PINEDA, E. A. G.; SILVEIRA, J. L. M. FREITAS, R.; JIMÉNEZ-CASTELLANOS, A. M. R.; BRESOLIN, T. M. B. Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: Effect of drying method. **Carbohydrate Polymers**, **76**, 1-2: 86-93, mar. 2009.

XIA, Z.; LIAO, L.; ZHAO, S. Synthesis of mesoporous hydroxyapatite using a modified hard-templating route. **Materials Research Bulletin**, **44**, 8: 1626-1629, Ago. 2009.