

DESENVOLVIMENTO DE SCAFFOLDS À BASE DE FIBRAS QUITOSANA COM FOSFATO DE CÁLCIO EXTRAÍDOS DE CONCHAS MARINHAS

Souza, A.L.V.B¹; Costa, S.M¹; Araújo, S.G²; Costa, S.A¹

¹Escola de Artes, Ciências e Humanidades / Universidade de São Paulo

²Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP

alvilasboas@usp.br

Objetivos

O objetivo estudo foi o desenvolvimento de fibras a base de quitosana e fosfato de cálcio de conchas marinhas incorporado para produção de *scaffolds*, visando propriedades bioativas. Procurou-se determinar a concentração adequada de quitosana para produção dos *scaffolds* e fosfato de cálcio das conchas para ser utilizado na estrutura dos *scaffolds*. Foram também avaliadas as propriedades físicas-químicas dos *scaffolds* com e sem fosfato de cálcio incorporado; a superfície das amostras por MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) e a capacidade de absorção de água e perda de massa dos materiais.

Métodos e Procedimentos

O gel de quitosana foi preparado dissolvendo o polímero na concentração de 5% (m/v) em 400 ml de ácido acético 2% (v/v). Após 24 horas em agitação, foi adicionado mais 300 ml de ácido acético para melhorar a solubilização da quitosana, chegando a uma concentração de 2,85% (m/v). O gel foi filtrado a vácuo para remover impurezas e colocados em um banho ultrassom para remoção das bolhas de oxigênio. Foram preparados 6 tipos de misturas para forma os *scaffolds*. Os géis foram colocados em placas de fundo chato utilizadas para cultivo

de células como molde. As placas foram levadas para o congelamento em ultra-freezer à -50°C por aproximadamente 24 horas, seguido de liofilização à -30°C. Os *scaffolds* foram então neutralizados na solução de precipitação e posteriormente liofilizados novamente.

Tabela 1 – Composição dos géis para a produção dos *scaffolds*

1	Gel de quitosana
2	Gel de quitosana + 2,5% glicerol
3	Gel de quitosana + 0,5% pó de ostra
4	Gel de quitosana + 2,0% glicerol + 0,5% pó de ostra
5	Gel de quitosana + 1% pó de ostra
6	Gel de quitosana + 2,0% glicerol + 1,0% pó de ostra

A solução de precipitação foi preparada a partir da mistura de uma solução 25% de hidróxido de sódio 1M + 75% de sulfato de sódio 0,5 M. A solução de hidróxido de sódio 1M foi preparada diluindo 40 gramas em 700 mL de água destilada, e depois a solução foi transferida para um balão de 1000 mL e o volume corrigido com água destilada. A solução de sulfato de sódio 0,5M foi preparada dissolvendo 71g do sal em 700 mL de água destilada, e então a solução foi transferida para um balão de 1000 mL e o volume corrigido com água destilada. Após o processo de neutralização, as amostras foram lavadas em água destilada por três vezes, foram

congeladas ultrafreezer à -50°C por aproximadamente 24 h, seguido de liofilização à -30°C .

Para verificar a bioatividade das amostras, foi utilizado o SBF, solução que simula a concentração de íons do plasma sanguíneo, preparado de acordo com a solução de SBF corrigida de Kokubo e Takadama (2006). O experimento foi realizado em triplicata para cada variação de cada *scaffold* produzido (Tabela 1). Cada amostra foi pesada e adicionada individualmente a um tubo Falcon de 15 ml, que foi preenchido com a solução de SBF previamente preparada. As amostras foram tampadas e colocadas em um shaker e mantidas em agitação a temperatura de $37,5^{\circ}\text{C}$ e foram retiradas após 1, 3, 5, 7 e 10 dias. Depois de removidas, as amostras foram pesadas e mantidas por 24h na estufa a 50°C , para então serem pesadas novamente. Após a retirada da amostra, o pH do SBF foi medido.

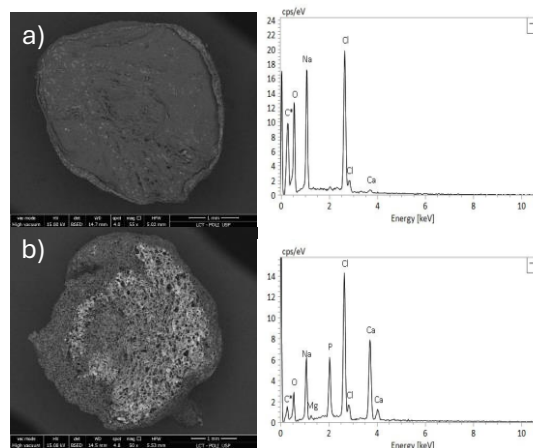
Para analisar as propriedades físico-químicas dos *scaffolds* e a superfície das amostras, os *scaffolds* foram avaliadas por MEV e EDS. As amostras foram colocadas em um suporte com fita de carbono e revestidas com carbono. Foi utilizado um microscópio Quanta 600 FEG da marca FEI do Laboratório de Caracterização Tecnológica LCT do Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

Resultados

Os testes de bioatividade foram realizados até o décimo dia, no entanto, se um material for bioindutor, no terceiro dia ele já indica a presença de picos de cálcio e fósforo. Essa foi a característica buscada nas imagens obtidas de MEV e EDS, já que são esses elementos que levam à formação do componente mineral do osso: a hidroxiapatita. Por isso, neste estudo, foram mostradas apenas as imagens dos tempos de zero horas e três dias de contato com a solução (Figura 1). Os tipos de gel que apresentaram cálcio e fósforo no terceiro dia foram os tipos 2, 4, 5 e 6. Através da MEV, foi

possível observar que todas as amostras apresentam a presença de poros, as medidas destes variando de $99,27\mu\text{m}$ a $81,28\mu\text{m}$ e $143,3\mu\text{m}$.

Figura 1. *Scaffold* de quitosana com 2,0% de glicerol e 0,5% de pó de ostra, (a) dia zero e (b) após 3 dias em solução SBF.



A capacidade de absorção de água e perda de massa das amostras são mostradas nas Figura 2 e 3.

Comparando as amostras (Fig.2), pode-se observar que todas as amostras mantêm alta capacidade de absorção até o terceiro dia: em torno de 300 a 600%. O *scaffold* de quitosana com 1% de pó de ostra no terceiro dia apresentou o maior pico de absorção, de 629,3%. Após o terceiro dia, o processo de absorção de água para todas as amostras tende a reduzir e então se estabiliza.

Em relação à perda de peso (Fig.3), pode-se observar uma diminuição de quase 50% para o *scaffold* de quitosana com 2% de glicerol e 1% de pó de ostra no primeiro dia, que então tende a se estabilizar. Essa perda de peso após o primeiro dia provavelmente pode ser explicada pela “saída” de parte do glicerol da amostra.

Figura 2: Absorção de água dos *scaffolds* em função do tempo de imersão na solução de SBF

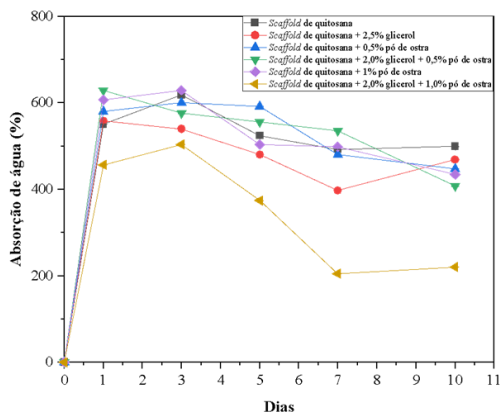
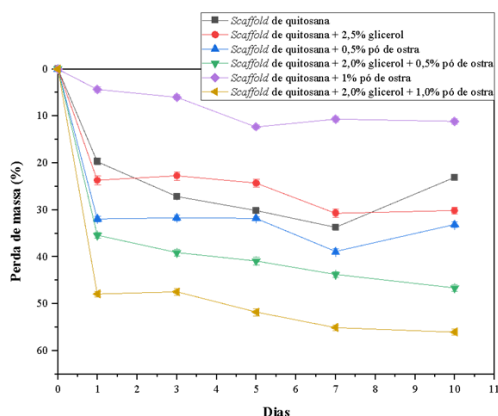


Figura 3: Perda de massa (%) dos scaffolds em função do tempo de imersão na solução de SBF



Conclusões

A amostra 6 foi a que apresentou a melhor perfil nos testes de bioatividade em função das concentrações de quitosana e fosfato de cálcio utilizados na produção dos *scaffolds*. Foi a amostra que apresentou os maiores picos de cálcio e fósforo além da porosidade apresentada. As condições otimizadas mantiveram-se com a combinação de um gel de quitosana 2,85% (m/v) com 2,0% (m/m) glicerol e 1,0% (m/m) pó de ostra.

O aumento nos picos de fosforo e cálcio foram maiores quando foi utilizado a concentração 1% (m/m) pó de ostra. Os Scaffolds apresentaram elevada capacidade de absorção até o terceiro

dia: em torno de 300 a 600%. Em relação perda de massa houve uma diminuição de quase 50% para o scaffold de quitosana com 2% (m/m) de glicerol e 1% (m/m) de pó de ostra no primeiro dia, que então tende a se estabilizar. Os *scaffolds* produzidos mostraram-se promissores para aplicações em regeneração óssea.

Agradecimentos

Agradecimentos especiais ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro através da Bolsa de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI).

Referências

CHO, C.; HWANG, S.; KIM, H. **Chitosan-Based Biocomposites for Biomedical Application: Opportunity and Challenge**. Value Added Biocomposites, CRC Press, 2021, p. 289-311.

CHOLATA, Petra; KULDA, Vlastimil; BABUSKA, Vaclav. **Fabrication of scaffolds for bone-tissue regeneration**. Materials, v. 12, n. 4, p. 568, 2019.

CRINI, G. **Chapter Seven - Chitin and chitosan: Production, properties, and applications**. Chitin and Chitosan. Academic Press, 2022, p. 149-207.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. **How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?**. Biomaterials, Volume 27, 2006, p. 2907-2915.

SPEZZIA, Sérgio. **Biomateriais**. Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba, v. 22, n. 2, p. 83-84, 2020.