

Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais

V. V. C. Azevedo^{1*}, S. A. Chaves¹, D. C. Bezerra¹, M. V. Lia Fook¹, A. C. F. M. Costa¹

¹Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Campina Grande, Av. Aprígio Veloso, 882, 58109-970, Campina Grande – PB, Brasil.

(Recebido em 14/11/2007; revisado em 17/12/2007; aceito em 24/12/2007)

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

Resumo:

Biomaterial é qualquer substância ou combinações de substâncias, sintética ou natural, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo. A quitosana é um polissacarídeo amino, derivado do processo de desacetilação da quitina. Constitui a maior parte dos exoesqueletos dos insetos, crustáceos e parede celular de fungos. Depois da celulose, é o composto orgânico mais importante da natureza. É um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental. Por se tratar de um polímero natural biodegradável extremamente abundante e atóxico a quitosana tem sido proposta como um material potencialmente atraente para usos diversos. Desta forma, este trabalho tem como objetivo realizar um breve levantamento bibliográfico abordando tópicos de conceitos, estrutura, propriedades e aplicações da quitosana nos últimos 10 anos. Com base nestes tópicos foi possível comprovar o uso promissor da quitosana em diversas aplicações.

Palavras-chave: quitosana; biomateriais; aplicações

Abstract:

Biomaterial is any substance or combinations of substances, synthetic or natural, that can be used for a period of time, completely or partially as part of a system that treats, increases or substitutes any tissue, organ or act as a function of the living body. Chitosan is an amine polysaccharide, derivative from desacetylating process of the chitin. It constitutes the major fraction of the shells of the insects, crustaceans and cellular wall of fungi. After the cellulose, it is the most important organic compound in the nature. It is a natural product, of low cost, renewable and biodegradable, of great economic and environmental importance. The chitosan is abundant, extremely no toxic, biodegradable and is a natural polymer, for these reasons it has been proposal as a potentially attractive material for diverse uses. Thus, the aim of this work is to present an overview about the concepts, structure, properties and applications of chitosan in the last 10 years. Based on this overview it was possible to confirm the promising use of chitosan in several applications.

Keywords: chitosan, biomaterials, applications

* E-mail: : valleriavitall@oi.com.br (V. V. C. Azevedo)

1. Introdução

O uso de polímeros naturais para aplicações diversificadas têm sido de vital importância para os avanços das ciências e apresentam várias vantagens como ser de fácil obtenção, ser biocompatível e biodegradável. Os polissacarídeos, como uma classe de macromoléculas naturais, têm sua propensão extremamente bioativa, e são geralmente derivados de produtos agrícolas ou de crustáceos. Celulose e goma são exemplos de biopolímeros antigos, enquanto que a quitina e a quitosana são exemplos de biopolímeros obtidos recentemente. Em termos de disponibilidade, a da quitina é próxima a da celulose; são disponíveis numa extensão de mais de 10 gigatoneladas anualmente. O potencial de aplicação da quitosana, o principal derivado da quitina, é multidimensional, passando desde aplicações na área alimentícia como em nutrição, biotecnologia, ciência dos materiais, drogas e produtos farmacêuticos, agricultura e proteção ambiental, e recentemente na terapia genética também.

2. Quitina e Quitosana

Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos [1, 2]. Ambas as estruturas são constituídas por unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose unidas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ entretanto os polímeros diferem quanto à proporção relativa dessas unidades e quanto à solubilidade. Na estrutura da quitina, que é insolúvel na maioria dos solventes testados, predominam unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose enquanto que quitosana, que é predominantemente formada por unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose, é solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos [1-3].

A quitina é separada de outros componentes da carapaça por um processo químico que envolve as etapas de desmineralização e desproteíntização das carapaças com soluções diluídas de HCl e NaOH, seguida de descoloração com KMnO_4 e ácido oxálico, por exemplo. A quitina obtida, o biopolímero contendo grupos acetil (NHCOCH_3), é desacetilada com solução concentrada de NaOH, produzindo a quitosana. A quitosana é um produto natural obtido da quitina de carapaças de crustáceos. Um esquema de obtenção destes materiais encontra-se apresentado na Figura 1.

A quitosana é um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental. As carapaças de crustáceos são resíduos abundantes e rejeitados

pela indústria pesqueira, que em muitos casos as consideram poluentes. Sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado [2].

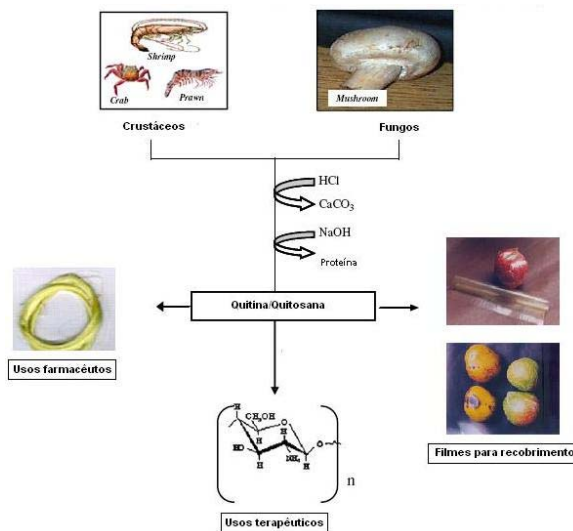


Figura 1 - Esquema de preparação de quitina e quitosana a partir de exoesqueleto (carapaças) de crustáceos e fungos e suas aplicações [24]

A quitosana, um biopolímero do tipo polissacarídeo, possui uma estrutura molecular quimicamente similar à fibra vegetal chamada celulose, diferenciando-se somente nos grupos funcionais. A Figura 2 mostra a comparação das estruturas moleculares da celulose e da quitosana, onde os grupos hidroxila (OH) estão dispostos na estrutura geral do carboidrato para a celulose e grupos amino (NH_2) para a quitosana. É solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (NH_3^+), que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais [2].

Devido à alta densidade de cargas positivas do polímero, a quitosana atrai e se liga aos lipídeos (moléculas de gordura de natureza negativa) como uma "esponja". Em um ambiente ácido como o estômago, a quitosana adsorve as gorduras durante a digestão, formando uma esponja de gordura, de baixa digestão. No intestino, um ambiente básico, a esponja de gordura é solidificada e eliminada pelas fezes, sem ser aproveitada pelo organismo. Portanto, a quitosana é indicada como auxiliar no controle de excesso de gordura das dietas. Dependendo das condições do meio em que a quitosana se encontra e do seu grau de desacetilação (porcentagem de grupos amino presentes no biopolímero), ela pode adsorver (reter) de 4 a 5 vezes o seu peso em gordura [3].

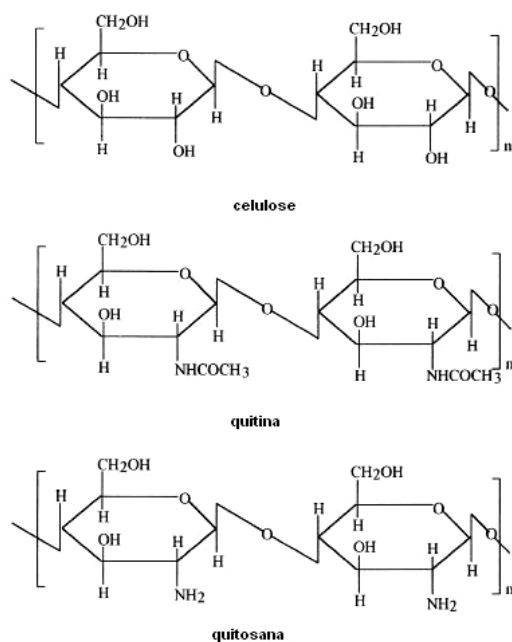


Figura 2 - Comparação das estruturas moleculares da celulose e da quitosana [20].

Como foi anteriormente mencionado a quitosana, que ocorre naturalmente em alguns fungos, é geralmente obtida pela desacetilação da quitina, polissacarídeo encontrado abundantemente na natureza e que constitui os exoesqueletos de insetos e crustáceos [1, 3]. A princípio, a hidrólise dos grupos acetamida da quitina pode ser alcançada em meio ácido ou alcalino, mas a primeira condição não é empregada devido à susceptibilidade das ligações glicosídicas à hidrólise ácida. De fato, mesmo quando realizada em meio alcalino, a desacetilação da quitina raramente é completa, pois quitosanas são obtidas quando a extensão da reação atinge cerca de 60% (ou mais) e o prolongamento da reação, que gera produtos mais completamente desacetilados, também provoca severa degradação das cadeias poliméricas [3].

Assim, condições muito severas de reação, tais como as empregadas na desacetilação da quitina por fusão alcalina, e o emprego de soluções alcalinas concentradas, por tempos prolongados e a temperaturas elevadas, são evitadas quando o objetivo é a obtenção de quitosana de massa molar elevada [1]. A prática industrial mais comum, e que também é bastante empregada em laboratórios de pesquisa, é aquela na qual a desacetilação da quitina é realizada em suspensão de solução aquosa de hidróxido de sódio, sendo que a concentração dessa solução, o excesso de álcali, o tempo e a temperatura da reação são variáveis, conforme o procedimento adotado. Assim, não se pode definir uma condição padronizada para a realização dessa reação. Entretanto, é reconhecido que os principais

fatores que afetam a eficiência da desacetilação e as características das quitosanas obtidas são [1,3]:

- a) temperatura e tempo de reação;
- b) concentração da solução de álcali e adição de diluente (álcoois de cadeia curta e cetonas são empregadas);
- c) razão quitina/álcali;
- d) tamanho das partículas de quitina;
- e) atmosfera da reação e presença de agentes que evitem a despolimerização.

A Figura 3 ilustra um FTIR característico para a quitina.

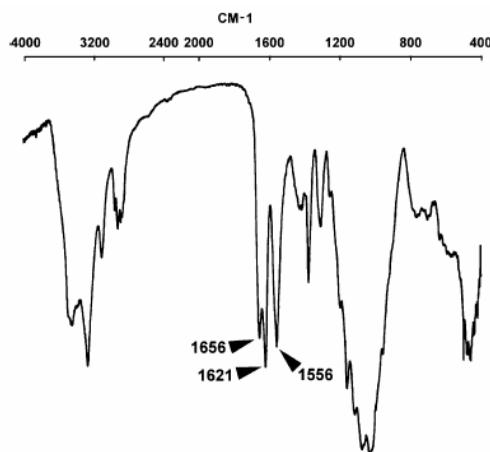


Figura 3 – FTIR da quitina [11].

3. Estrutura e Caracterização da Quitosana

No estado sólido, a quitosana é um polímero semicristalino. Sua morfologia tem sido muito investigada, e muitos polimorfismos são mencionados na literatura. Cristais de quitosana são obtidos usando-se a desacetilação completa da quitina de baixo peso molecular [4]. Na difração de raios-X da quitosana é observada uma célula unitária ortorrômbica com parâmetros $a = 0,807$ nm, $b = 0,844$ nm e $c = 1,034$ nm.

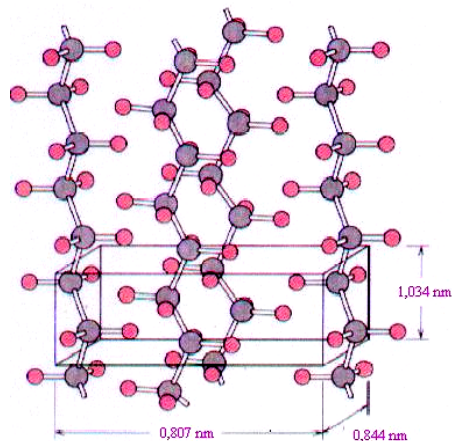


Figura 4: Célula unitária ortorrômbica [26].

A célula unitária contém duas cadeias antiparalelas de quitosana e nenhuma molécula de água. A influência das condições de processamento na cristalinidade tem sido estudada [5,6]. A Figura 4 ilustra o esquema de uma célula ortorrômbica.

A Figura 5 ilustra a célula unitária ortorrômbica da quitosana nas três projeções.

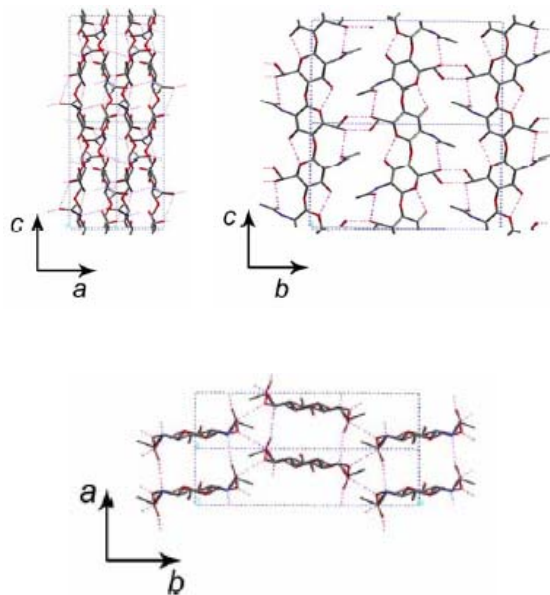


Figura 5: Célula unitária da quitosana evidenciando as três projeções [11].

A alta desacetilação tem sido explorada para investigar métodos de caracterização da quitosana [7]. As propriedades da quitosana não dependem apenas do seu grau de desacetilação, mas, também da distribuição média dos grupos acetil ao longo da cadeia principal, além do seu peso molecular [8-10]. A desacetilação feita normalmente no estado sólido promove a obtenção de uma estrutura irregular, devido à natureza semicristalina do polímero inicial.

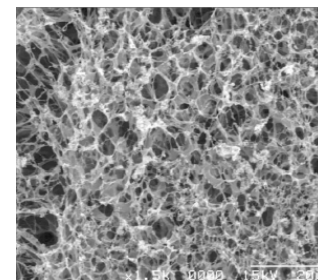
A solubilidade da quitosana é normalmente investigada dissolvendo-se o ácido acético em 1% ou 0,1M. De fato, a solubilidade é um parâmetro difícil de ser controlado e está relacionada diretamente com a desacetilação, a concentração iônica, pH, natureza do ácido usado para a protonação e a distribuição dos grupos acetil ao longo da cadeia, bem como, das condições de extração e secagem do polissacarídeo [11].

4. Aplicações da quitosana

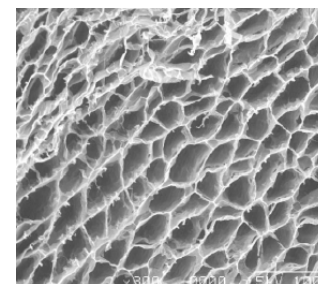
Algumas das principais áreas de aplicação da quitosana são: agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas), tratamento de água (floculante para clarificação, remoção de íons metálicos, polímero ecológico e redução de odores), indústria alimentícia (fibras dietéticas, redutor de

colesterol, conservante para molhos, fungicida e bactericida, recobrimento de frutas), indústria de cosméticos (esfoliante para a pele, tratamento de acne, hidratante capilar, creme dental) e biofarmacêutica (imunológico, antitumoral, hemostático e anticoagulante). Porém sua maior aplicação é na área biomédica (suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato, liberação controlada de drogas em animais e humanos, encapsulamento de materiais) [10].

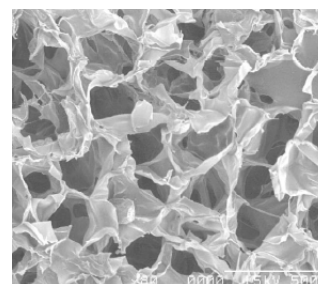
As Figuras 6 e 7 ilustram a morfologia dos vários tipos de poros na estrutura da quitosana obtida por MEV [19].



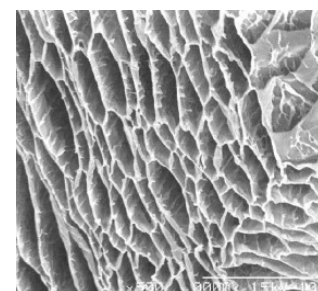
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 6 – Tipos de poros obtidos na quitosana [12].

4.1. Quitosana e os alimentos funcionais

Levantamento feito pela Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA) aponta um crescimento de 20% por ano no consumo de alimentos funcionais no Brasil nos últimos cinco anos. Alimentos funcionais são aqueles que, além de saciar a fome, ainda têm uma ou mais substâncias com funções bioquímicas e fisiológicas benéficas à saúde. A quitosana vem ganhando destaque nesta área por suas propriedades cientificamente comprovadas de auxiliar na redução do colesterol e na perda de peso (através da captura de gorduras) [13].

4.2. Quitosana como redutor de gorduras

A quitosana é um biopolímero catiônico cada vez mais utilizado na absorção de gorduras em diversas aplicações, incluindo os alimentos funcionais. Entretanto, diversas tentativas e experimentos visando explicar o mecanismo de ação do polímero tem gerado controvérsias. Alguns especialistas acreditam que serão necessárias pesquisas adicionais para compreender de forma exata a funcionalidade. Foi investigada a influência do peso molecular da quitosana na formação de agregados complexos durante a digestão de emulsões óleo-água contendo quitosana. Na pesquisa, os investigadores usaram um modelo da digestão *in vitro*. A concentração de agregados gordura foi medida gravimetricamente após filtração, e sua estrutura foi determinada por microscopia. Os pesquisadores mediram a concentração de quitosana no sobrenadante por espectrometria e observaram que a quitosana de alto peso molecular apresentou um maior grau de captura de gorduras em pH gastrointestinal. As análises realizadas *in vitro* e os resultados obtidos mostram claramente que, nas condições gastrintestinais, o peso molecular da quitosana tem influência direta na capacidade de captura de gordura do biopolímero [14].

4.3. Quitosana em implantes

A quitosana pode atuar na prevenção de formação de “biofilmes” de microrganismos (crescimento de fungos e bactérias) em procedimentos ou dispositivos de implantes. Um biofilme é uma camada fina e pegajosa de células infecciosas, que são altamente resistentes a tratamentos padrão com antibióticos. Quando um biofilme se forma ou se acumula sobre um implante é necessário um procedimento cirúrgico para remover. Uma investigação preliminar dos efeitos de um revestimento de quitosana sobre o desenvolvimento de biofilmes bacterianos ou fúngicos, sugere que o revestimento destrói os micróbios essencialmente pela imobilização ou fixação dos mesmos, evitando

que os microrganismos se agrupem à superfície do implante. Embora sejam necessárias maiores investigações, caso a quitosana comprove ser uma cobertura efetiva, este pode tornar-se um aditivo poderoso capaz de reduzir de forma significativa as taxas de infecções associadas a implantes e diminuir o risco dos microrganismos desenvolverem resistência aos antibióticos que são utilizados atualmente no revestimento de implantes [15].

4.4. Microesferas de quitosana

A preparação de microesferas é uma estratégia para incrementar a capacidade de adsorção da quitosana, uma vez que as microesferas possuem uma área superficial cerca de 100 vezes maior do que a quitosana em flocos. Além disso, as microesferas apresentam cinéticas de adsorção mais rápidas e maior facilidade de manuseio e operação. Diversos estudos recentes mostram que a quitosana pode ser utilizada para preparar microesferas para diferentes propósitos. A versatilidade deste polímero permite a preparação de microesferas de diferentes formas e tamanhos, envolvendo diversos produtos e derivados. O uso de quitosana porosa em partículas apresenta inúmeras vantagens no processo de imobilização de enzimas. Entre as principais vantagens, podemos destacar:

- a) o fato de a quitosana ser um material de origem natural (biopolímero), sendo desta maneira seguro para o uso e biocompatível.
- b) Quando comparada com outras resinas sintéticas, sua grande quantidade de poros se apresenta de maneira uniforme desde a superfície até seu interior, provendo desta maneira uma grande difusão do substrato.
- c) A presença abundante de grupos amina altamente reativos disponíveis para imobilizar enzimas via ligação covalente e pelo fato de que a quitosana, por si mesma, possui uma grande afinidade com enzimas, permitindo, desta maneira, que uma grande quantidade de enzimas possa ser imobilizada na quitosana [16].

Além destas vantagens citadas anteriormente, podemos destacar ainda o fato de que, sendo a quitosana um polissacarídeo, apresenta ainda a vantagem de ter alta estabilidade em solventes orgânicos em adição a hidrofobicidade e a porosidade dos produtos formados [16].

5. Pesquisas desenvolvidas nos últimos 10 anos sobre a quitosana

Serão apresentados alguns dos trabalhos desenvolvidos com relação a estudos da quitina/quitosana e seus derivados. Apresentaremos apenas uma pequena parte do que já se tem pesquisado nesta área, pois foram encontrados aproximadamente 407 trabalhos nas mais diversas

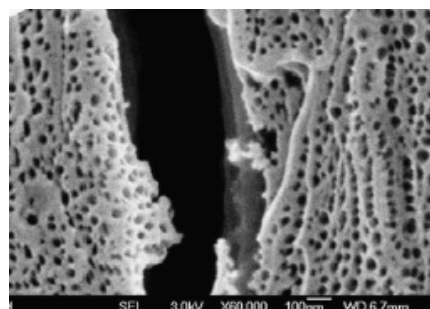
áreas passando desde a medicina até as ciências dos materiais, os quais foram publicados nos últimos 10 anos.

Kurita [17] relatou que até o ano citado a quitina e seus derivados, em particular a quitosana, eram usados em pouca quantidade e em algumas aplicações muito restritas como no tratamento de água e em formulações para xampus e cosméticos e em algumas aplicações médicas como as suturas cirúrgicas e fibras dietéticas. No entanto, já se falava de uma ampla gama de aplicações. Já se previa a utilização da quitosana como agente antimicrobiano, conservante de alimentos membranas de separação e materiais poliméricos biodegradáveis. A Figura 5 ilustra uma micrografia eletrônica de varredura de uma membrana de quitosana utilizada para tratamento de água – remoção de Cr-III.

Koide [18] estudou sobre a quitosana correlacionando suas propriedades, benefícios e riscos. Suas pesquisas foram focalizadas na área médica, onde se investigou a atividade da quitosana como redutor de colesterol, solubilizante de vitaminas e minerais, possíveis interações com ácidos biliares, cicatrizante, antimicrobiano, antitumoral, possíveis interações com o sistema imunológico, adesão pós-cirúrgica, entre outras, onde ficou comprovada a promissora utilização da quitosana em todas as áreas citadas.

Han et al. [19] estudaram os efeitos da quitosana sobre o peso corporal, excreção de lipídeos e pressão arterial em animais. Estes examinaram os efeitos da quitosana sobre a atividade da lipase pancreática *in vitro* e sobre o grau de armazenamento de gorduras induzido em ratos pela administração oral de uma dieta rica em gorduras por nove semanas. Como resultado, observou-se que os animais alimentados com quitosana, reduziram o peso corporal, a hiperlipidemia e a gordura hepática. Como conclusão, os autores propõem que os efeitos anti-obesidade da quitosana em ratos alimentados com alto teor de gordura se devem parcialmente a inibição da absorção intestinal das gorduras dietéticas.

Majeti e Kumar [20] mostraram em seu trabalho que a quitina e a quitosana tem uma larga escala de aplicações e podem ser usadas, por exemplo, em aplicações de engenharia e biomédica e isto se deve a facilidade de moldagem da quitosana e seus derivados, fazendo desse material um forte candidato a portador de uma variedade de drogas para sua liberação controlada. Desta forma, segundo os autores, a aplicação mais evidente se dá na área farmacêutica



(a)

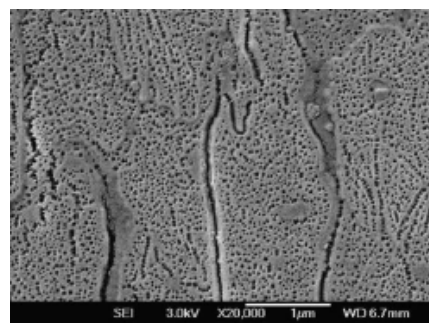


Figura 7 – MEV de membrana de quitosana [25].

Khor e Lim [21] realizaram estudos sobre a aplicação da quitosana em vários tipos de implantes (ortopédico e odontológico), reconstituição de tecidos e liberação controlada de drogas, uso como cicatrizante e biocompatibilizante entre tecidos, onde ficou comprovada o uso promissor desse material nas aplicações acima mencionadas.

Devlieghere et al. [22] investigaram a atividade antimicrobiana da quitosana, suas interações com os componentes alimentícios e sua aplicabilidade no recobrimento de frutas e vegetais. Neste estudo verificou-se que o retardamento do crescimento microbiano ficou limitado a produtos com baixa concentração de proteínas e NaCl. Com relação ao recobrimento de frutas e verduras, no entanto, o efeito foi promissor quanto às frutas, porém, foi verificada a adição de um leve gosto amargo para as verduras.

Mai-Ngam e Sagnella [23] realizaram estudos sobre polímeros suportados em quitosana, usado para melhorar a compatibilidade dos biomateriais já existentes com os componentes sanguíneos. Estes polímeros foram compostos por um suporte de quitosana e uma subcamada de PEG. Uma vez que a quitosana é um polímero policatiônico e trombogênico, a sua carga superficial foi modificada a fim de se obter um hemocompatibilizante de quitosana. A carga teve uma notável adesão de plaquetas, sendo esta muito maior na superfície positiva do que na negativa, observando-se uma redução de aproximadamente 50% com a neutralização da carga. As superfícies

do polietileno (PE) foram modificadas com a quitosana tendo por resultado uma melhoria significativa na compatibilidade com o sangue correlacionado ao índice crescente do PEG dentro do polímero. Estes resultados indicam que a modificação de superfície com polímeros suportados em quitosana melhora significativamente a compatibilidade com o sangue [23].

Rinaudo [11] em seus estudos investigou sobre a morfologia, métodos de modificação, caracterização e processamento da quitosana. Tomou como base de sua pesquisa, os trabalhos de P. Austin, S. Tokura e S. Hirano, e discutiu sobre várias possibilidades de rotas de síntese da quitosana em escala laboratorial.

Tharanathan e Prashanth [24] realizaram uma ampla pesquisa sobre a quitina e a quitosana, investigando suas modificações e aplicações. Neste estudo ficou comprovado que as áreas de aplicações da quitina/quitosana e seus derivados são ilimitados, uma vez que estes podem ser obtidos na forma de fibras, microesferas e nanopartículas. São mencionadas aplicações na área de alimentos e nutrição, ciência dos materiais, ciências médicas e farmacêuticas, microbiologia, imunologia dentre outras.

6. Conclusões

Nesta revisão procurou-se apresentar uma visão geral do estado da arte do conhecimento e das aplicações técnicas da quitina e da quitosana. A literatura mostrou uma bibliografia extensiva dos estudos mais recentes, conceitos básicos e aplicações. Não obstante, devido ao número muito grande dos trabalhos publicados em uma larga escala das propriedades e as aplicações foi necessária uma seleção dos trabalhos mais significativos obtidos por muitos grupos de trabalho em torno do mundo. Contudo, temos que a quitosana é um material de fácil processamento e que pode ser derivada de carapaças de insetos e crustáceos, podendo ser encontrado em fungos.

Em resumo, fica evidente que a quitina/quitosana e seus derivados modificados exibem um potencial ilimitado de aplicações para seu uso em grande escala.

Referências

[1] Roberts, G. A. F. - "Chitin Chemistry", *The Macmillan Press*, London (1992).
 [2] Goosen, M. E. A - "Applications of chitin and chitosan", *Technomic Publishing Company*, Lancaster (1996).

[3] Mathur, N. K. & Narang, C. K. - *J. Chem. Educ.*, 67 (11), p.938 (1990).
 [4] Cartier N, Domard A, Chanzy H. Single crystals of chitosan. *Int J Biol Macromol*;12:289-94, 1990.
 [5] Ogawa K. Effect of heating an aqueous suspension of chitosan on the crystallinity and polymorphs. *Agric Biol Chem*;55:2375-9, 1991.
 [6] Ogawa K, Yui T, Miya M. Dependence on the preparation procedure of the polymorphism and crystallinity of chitosan membranes. *Biosci Biotech Biochem*;56: 858-62, 1992.
 [7] Domard A, Rinaudo M. Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *Int J Biol Macromol*;5: 49-52, 1993.
 [8] Kubota N, Eguchi Y. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility. *Polym J*;29:123-7, 1997.
 [9] Aiba S. Studies on chitosan: Evidence for the presence of random and block copolymer structures in partially N-acetylated chitosans. *Int J Biol Macromol*;13:40-4, 1991
 [10] Rinaudo M, Domard A. Solution properties of chitosan. In: Skjak-Braek G, Anthonsen T, Sandford P, editors. Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. *London and New York: Elsevier*., p. 71-86, 1989
 [11] Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.* 31, 603-632, 2006.
 [12] Francis Suh, J. K. and Matthew, H.W.T. - Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials* ,21, 2589-2598, 2000.
 [13] Shahidi F., Arachchi J. K. V. and Jeon Y. J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology* 10, 37 - 51, 1999.
 [14] Kim S. K. and Rajapakse N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers* 62, 357-368, 2005.
 [15] Senel S., McClure S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews* 56, 1467- 1480, 2004.
 [16] Denkbas E. B., Kilic E., Birlikseven C., Ozturk E. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization.. *Reactive & Functional Polymers* 50, 225-232, 2002.

- [17] Kurita K. Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polymer Degradation and Stabilization* 59, 17-20, 1997.
- [18] Koide S. S. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. *Nutrition Research*. Vol. 18, No. 6, 1091-1101, 1998
- [19] Han L. K, Kimura Y, Okuda H. Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *Int J Obes Relat Metab Disord* 123, 174-9, 1999.
- [20] Majeti N.V. and Kumar R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers* 46, 1-27, 2000.
- [21] Khor E., Lim L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials* 24, 2339-2349, 2003.
- [22] Devlieghere F., Vermeulen A., Debevere J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology* 21, 703-714, 2004.
- [23] Mai-Ngam K. and Sagnella S. Chitosan based surfactant polymers designed to improve blood compatibility on biomaterials. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 42, 147-155, 2005.
- [24] Tharanathan R.N. and Prashanth K.V. H. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential and overview. *Trends in Food Science & Technology* 18, 117-131, 2007.
- [25] Liu, Y.; Tang, J.; Chena X.; and J. H. Xina. A templating route to nanoporous chitosan materials *Carbohydrate Research* 340, 2816-2820, 2005.
- [26] Demarquete, N. R. Estrutura e propriedade de polímeros. Notas de aula. CEFET – RS, 2001.