

## **Cloroacetilação de Celulose Bacteriana**

**Letícia Maciel Nievola<sup>1</sup>, Luis Felipe Morozini Coelho, Paula Cristina de Sousa Faria Tischer, e Cesar Augusto Tischer<sup>1</sup>**

Universidade Estadual de Londrina – Departamento de Bioquímica e Biotecnologia  
Caixa postal 6001 – CEP 86051-990, Londrina – Paraná - [cesar.tischer@uel.br](mailto:cesar.tischer@uel.br)

### **RESUMO**

*Membranas de celulose são formas farmacêuticas com aplicação médica promovendo a regeneração tecidual. A membrana de celulose bacteriana de estrutura cristalina apresenta características físico-químicas únicas, como resistência mecânica, térmica, porosidade e molhabilidade. O objetivo deste trabalho foi preparar membranas para funcionalização com princípios ativos com papel no processo de regeneração tecidual. Para tanto, adicionamos à membrana produzida por *Gluconacetobacter xylinus* grupos cloroacetil a partir de reação com Cloroacetato de sódio, variando tempos de reação em refluxo. Os resultados foram monitorados por espectroscopia de Infra-Vermelho (FT-IR), ressonância magnética nuclear no estado sólido (CP-MAS NMR), bem como por termogravimetria (TG). Foi observado que foram necessárias 4 horas de reação para que a membrana apresentasse sinais no FT-IR consistentes com o produto cloroacetilado; o espectro de cp-mas nmr deste tempo comprovou a presença de grupo cloroacetil covalentemente ligado. A análise calorimétrica apresenta perfil de perda de massa que concorda com a perda de um grupo ligado antes da desestruturação total da cadeia celulósica. Conclui-se que foi adicionado o grupo cloroacetil, e a este poder-se-á adicionar outros grupos funcionais de princípios ativos funcionalizando a membrana de celulose bacteriana.*

**Palavras-chave:** celulose, *Gluconacetobacter xylinus*, cloroacetilação, termogravimetria, ressonância magnética nuclear do estado sólido.

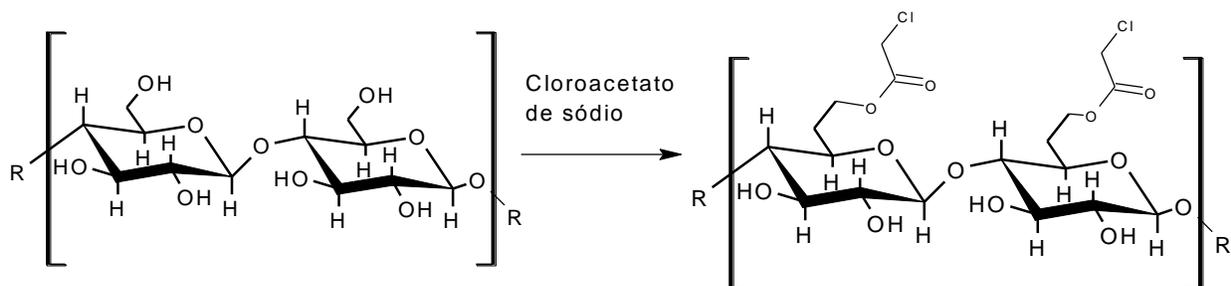
### **INTRODUÇÃO**

A celulose produzida pela bactéria *Acetobacter xylinum* (renomeada para *Gluconacetobacter xylinus*) possui propriedades peculiares que a diferem consideravelmente da celulose de planta. A celulose bacteriana é obtida pura, ou seja, livre de lignina e hemiceluloses, extremamente hidrofílica e possui cristalinidade superior a da maioria das outras fontes deste biopolímero. Essas propriedades aliadas a estrutura tridimensional nanométrica conferem uma amplo leque de áreas de aplicação que tem como principal o uso na área médica, além da indústria alimentícia e eletrônica. Na área médica destaca-se a aplicação como substituto temporário da pele no tratamento de queimados e feridas de difícil cicatrização<sup>1</sup>.

É um polissacarídeo linear (parte amorfa e parte cristalina), com um único tipo de unidade de açúcar (D-glicose). Seu peso molecular pode variar de 162.000 a 2.400.000, é sensível a agentes de inchamento, e tem grande capacidade de formação de ligações de hidrogênio<sup>2</sup>.

Membranas são uma forma farmacêutica interessante considerando a possibilidade de se moldarem a superfícies e apesar de interagir com a pele não é absorvida. A funcionalização da membrana gera produtos com possibilidade de liberação controlada de fármacos na pele, ou ainda efeito antibiótico auxiliar no tratamento de ferimentos como queimaduras, escaras e outros ferimentos persistentes como os de diabéticos.

Figura 1. Dímero de anidroglicose típico da celulose a esquerda e o mesmo substituído com grupo cloroacetato.



Este trabalho teve como objetivo apresentar uma rota sintética para gerar um grupo clorado (Figura 1), passível de funcionalização com compostos aminados. Membranas de celulose bacteriana clorada foram obtidas a partir de cloroacetato de sódio, em reação acompanhada por espectroscopia de Infra-Vermelho e Termogravimetria e Ressonância Magnética Nuclear no estado sólido.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Produção das membranas.** O preparo começa com pré-inóculo (20% do meio total), em erlenmeyer é preparado meio Glucose 4% contendo 0,4 g de levedura, 0,4 g de peptona, 0,092 g de ácido cítrico, 0,4 g de fosfato de sódio dibásico, 3,2 g de glicose e 80 ml de água destilada. Esterilização em autoclave por 1 hora à pressão de 1 atm. Depois de esfriado, na câmara de fluxo, dois eppendorfs contendo bactérias estoque foram adicionados ao recipiente, reservando por 2 dias a mistura na estufa a temperatura de 28°C.

Passando esse tempo, foi verificado que as bactérias estão saudáveis para começar a produção. O meio fermentado do pré-inóculo tem o volume completado com mais meio Glucose 4% e distribuído em doze placas de petri e em seguida levadas a uma estufa, à 28°C, e deixadas lá por 10 dias.

Após 10 dias de fermentação tiraram-se as membranas da placa lavando com água, repetindo 3x, após isto as membranas foram colocadas em solução de hidróxido de sódio 2%, repetindo-se 3x, seguido novo banho com água até pH estável (pH ~6).

**Reação de cloração Cloroacetato de sódio.** Exatamente aproximadamente 0,2 g de celulose foram lavadas com metanol, por 10 minutos, seguido de Dimetilformamida. Num balão 250 ml contendo a membrana, adicionou-se 20 ml de N,N-dimetilformamida (DMF), que foi submetida a refluxo à 80 °C por

2 a 4 horas, seguindo da adição de cloracetato de sódio. Após 2, 3 ou 4 horas no refluxo a reação foi interrompida, e a membrana remanescente foi neutralizada com ácido acético e hidróxido de amônio 0,1N, subsequentemente lavou-se com água. O precipitado foi chamado de CelAcCl, que foi analisada em Espectroscopia de Infravermelho FT-IR.

**Espectroscopia de infra-vermelho (FT-IR).** As amostras de celulose foram feitas a partir de filmes ou fragmentos de filme no Espectrofotômetro infravermelho marca Perkin Elmer, modelo 1310.

**Calorimetria por termogravimetria (TG) e de termogravimetria diferencia (DTG).** As curvas térmicas foram obtidas por meio de um equipamento de marca TA Instruments e modelo SDT Q600, simultâneo de termogravimetria (TG) e de análise térmica diferencial (ATD), com uso de vazão de 100ml/min. de ar, desde da temperatura ambiente até 600 °C, utilizando uma razão de aquecimento de 10°C/min.

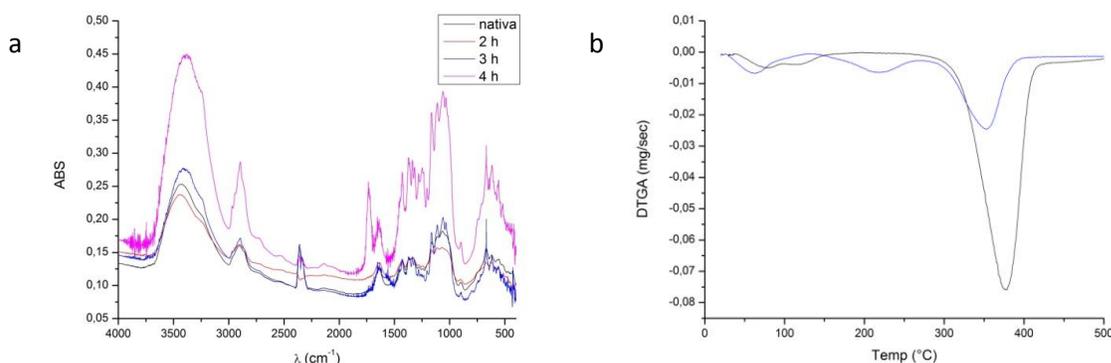
**Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (<sup>13</sup>C CP MAS NMR).** Os espectros foram realizados em equipamento ADVANCE 400 marca Bruker, operando a 100,6 MHz para carbono (<sup>13</sup>C), usando a técnica de polarização cruzada (CP) no ângulo mágico (MAS), a partir de amostras pulverizadas ou finamente particuladas e usando glicina como padrão externo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análise de FT-IR

A absorção em 1790 cm<sup>-1</sup>, característico para o acetato é bastante evidente na reação em 4 h, contudo ausente nas repetições em menos tempo. Ocorre uma absorção crescente em 668 cm<sup>-1</sup> que é compatível com um cloreto primário (-CH<sub>2</sub>-Cl); esperava-se absorção em 790 cm<sup>-1</sup>, mas, eventualmente por sobreposição de absorção não é visível; isto é esperado por ser uma absorção fraca, mesmo em compostos puros altamente substituídos.

Figura 2. Espectro de FT-IR dos produtos de cloroacetilação (a), e curva de DTGA (b).



### **Análise calorimétrica por DTG.**

As curvas das derivadas dos termogramas indicam uma diferença entre a celulose bacteriana e o material produto de refluxo por 4 horas. A celulose nativa apresenta um evento endotérmico com cerca de 376,8 °C, o que é característico para este material considerando sua cristalinidade. Já o material produto de reação tem dois fenômenos térmicos bem definidos, ambos endotérmicos, em 217,3 °C e outro mais intenso em 354,4 °C.

Isto indica demonstrar primeiramente a perda do grupo derivado cloroacetil seguido da desagregação da estrutura da cadeia de celulose propriamente dita.

### **Ressonância magnética nuclear (CP MAS NMR).**

O espectro de RMN apresentou sinais característicos de celulose, como o sinal de Cel I contudo com sinal de C-6 reduzido, principalmente na região amorfa. Os sinais em 22,2 ppm e 181,6 ppm indicam a presença de grupo CH<sub>2</sub>- e C=O respectivamente. Estes dados são compatíveis com o esperado para o produto espósto na figura 1.

### **CONCLUSÕES**

O produto de celulose gerado após 4 horas de refluxo com cloacetato de sódio tem características que podem ser descritas quanto aos seus resultados espectroscópicos, FT-IR e CP MAS NMR, com sendo de celulose cloroacetilada. A derivada da curva calorimétrica obtida por termogravimetria é compatível com os resultados obtidos por espectroscopia.

### **REFERÊNCIAS**

- (1) CHANG, F.; YAMABUKI, K.; ONIMURA, K.; OISHI, T. Modification of Cellulose by Using Atom Transfer Radical Polymerization and Ring-Opening Polymerization **Polymer Journal**, v. 40, p. 1170–1179, 2008.