



13º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS



NATAL - RN  
18 a 22 de outubro de 2015

## CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA TEMPO-OXIDADA

Eligenes S. Nascimento<sup>1</sup> (D), André L. S. Pereira (D)<sup>1</sup>, Helder L. Lima<sup>1</sup> (D), Matheus de O. Barros<sup>2</sup> (IC), Maria K. de A. Barroso<sup>1</sup> (IC), João P. S. Morais<sup>3</sup>, Maria de F. Borges<sup>4</sup>, Morsyleide de F. Rosa<sup>4</sup>

1 - Universidade Federal Ceará – UFC, Fortaleza – CE, [eligenessampaio@hotmail.com](mailto:eligenessampaio@hotmail.com)

2 – Instituto Federal do Ceará – IFCE, Fortaleza - CE

3 – Embrapa Algodão

4- Embrapa Agroindústria Tropical

**Resumo:** O objetivo deste estudo foi caracterizar a celulose bacteriana TEMPO oxidada, como uma investigação preliminar para aplicação em nanocompósitos. Celulose bacteriana (CB) foi seletivamente oxidada no carbono C-6 através do radical TEMPO convertendo as hidroxilas em ácidos carboxílicos. A celulose bacteriana oxidada (CBOX) foi caracterizada por TGA, FTIR, DRX e potencial ZETA. A suspensão de CBOX mostrou-se estável em pH 7,0. O índice de cristalinidade da CBOX foi de 83%, em contraste a 92% da CB decorrente da diminuição de hidroxilas livres. Os espectros de FTIR mostraram bandas características de CB e também de grupos carboxílicos, comprovando a oxidação. Além dos eventos característicos da CB, a DTG da CBOX mostrou um pico de degradação a 233°C, referente a grupos anidroglicuronato de sódio formados durante a oxidação da celulose. Assim, conclui-se que a CB pode ser oxidada mediada por radical TEMPO, sem grande perdas na sua estrutura e nas propriedades estudadas.

**Palavras-chave:** nanocompósitos, biotecnologia, *Gluconacetobacter*, carboxilato.

**Abstract** The aim of this study was to characterize the TEMPO-oxidized bacterial cellulose, as a preliminary research for further application in nanocomposites. Bacterial cellulose (BC) was selectively oxidized at C-6 carbon by TEMPO radical. Oxidized bacterial cellulose (BCOX) was characterized by TGA, FTIR, XRD, and zeta potential. BCOX suspension was stable at pH 7.0, presented a crystallinity index of 83%, in spite of 92% of BC, because of decrease in the free hydroxyl number. FTIR spectra showed characteristic BC bands and, in addition, band of carboxylic group, proving the oxidation. BCOX DTG showed, in addition to characteristic BC thermal events, a maximum degradation peak at 233 °C, related to sodium anhydro-glucuronate groups formed during the cellulose oxidation. Thus, BC can be TEMPO-oxidized without great loss in its structure and properties

**Keywords:** *Nanocomposites, biotechnology, Gluconacetobacter, carboxylate.*

### Introdução

Celulose bacteriana (CB) é um biopolímero sintetizado por bactérias do gênero *Gluconacetobacter*, bastante versátil e que chama a atenção por ser um material nanoestruturado com alto índice de cristalinidade, alta pureza e biodegradabilidade, além de possuir uma excelente capacidade de reter água [1]. Atualmente a CB tem aplicação em vários segmentos, incluindo áreas biomédicas, farmacêutica, alimentar, diafragmas acústicos avançados etc. [2]. Com o objetivo de ampliar as aplicações da CB, principalmente o que abrange a área de filmes e revestimentos, estudos têm sido realizados visando atribuir à esse biopolímero novas funcionalidades através da exploração de métodos de modificações simples, seja biosintética ou químicas, que podem melhorar sua compatibilidade com um número maior de matrizes em aplicações relacionadas a nanocompósitos [2,3,4]. Uma dessas modificações é a oxidação mediada pelo radical TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl), já muito realizada em celulose vegetal [5,6,7] e, recentemente, aplicada em celulose bacteriana [8]. O processo consiste em oxidar de forma seletiva o carbono C6 das hidroxilas primárias da celulose em meio aquoso, introduzindo grupos aldeídos e/ou carboxílicos com carga iônica, criando, entre as fibrilas, fortes repulsões eletrostáticas, separando-as

[5] Portanto, o objetivo deste trabalho é caracterizar a celulose bacteriana TEMPO-oxidada por análise termogravimétrica (TGA), potencial Zeta, difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), como investigação preliminar para aplicação em nanocompósitos.

## Experimental

### *Obtenção e preparação da Celulose Bacteriana.*

As películas de CB, cedidas do laboratório de Microbiologia de Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical, foram cortadas em pequenos cubos e processadas em Ultraturrax (ULTRATURRAX<sup>®</sup> T50 basic IKA<sup>®</sup> - WERKE) com 200 mL de água destilada por 15 minutos, 3 vezes (2 minutos a 4000 RPM e 3 minutos a 6000 RPM). Esta suspensão foi centrifugada (HITACHI High Speed Refrigerated Centrifuge CR22GIII) (10000 RPM - 15600G a 20°C por 15 min), liofilizada (LIOTOP LIOBRAZ LP510) e moída em moinho analítico de impacto (IKA<sup>®</sup> A11 basic Analytical mill).

### *Oxidação Mediada à TEMPO*

Fundamentado na metodologia de Saito et al., (2007) as fibras de CB (1g) foram suspensas em água (100 ml) contendo TEMPO (0,016g) e KBr (0,1g). A oxidação iniciou-se pela adição de NaClO 11% (5 mmol). A reação ocorreu a 25°C sob agitação (500 rpm). Após 20 minutos foi adicionado NaOH 0,5mol/L de modo a manter pH 10 da reação por 2 horas. A solução resultante foi centrifugada 5 vezes (10000PRM – 15600G / 20°C / 15min) para atingir pH neutro.

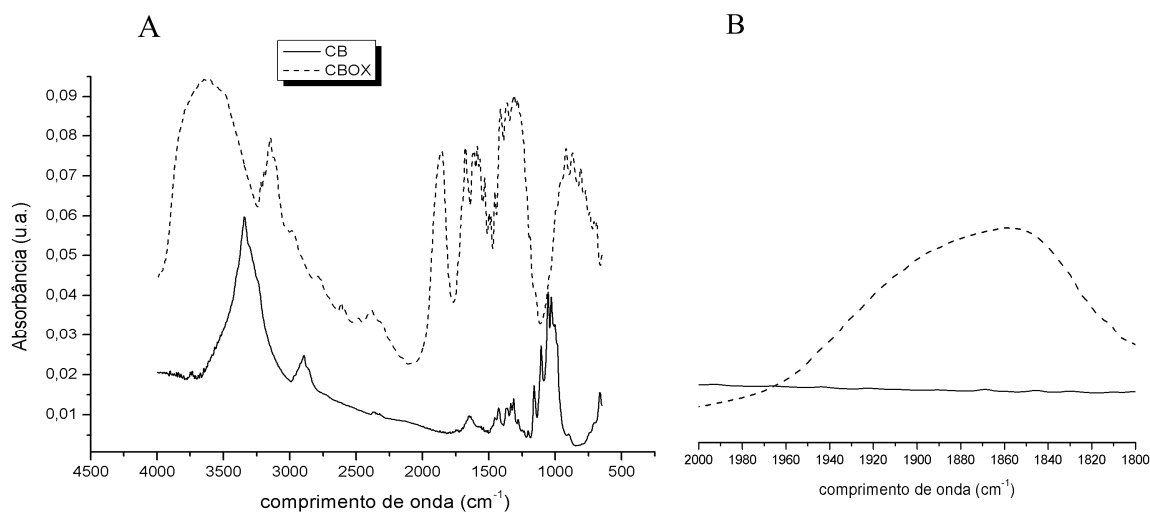
### *Caracterização da CBOX*

A celulose bacteriana oxidada (CBOX) produzida foi liofilizada (LIOTOP LIOBRAZ LP510) e caracterizada por termogravimetria (TGA), difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e análise de potencial Zeta. As análises termogravimétricas (Shimadzu TGA-50) foram realizadas entre 20 e 700 °C, a 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 40 mL/min e massas entre 5 e 10 mg. O DRX foi realizado no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, em difratômetro (XPert Pro MPD – Panalytical), com tubo de Cu em 40 kV e 40 mA em uma escala de 2θ (10° a 30°) com uma velocidade de varredura de 2 °/min. A deconvolução dos picos do difratograma foi realizada utilizando-se função Gaussiana no software Origin<sup>®</sup> 8.0. O índice de cristalinidade foi calculado dividindo-se a área de picos cristalinos pela área total do difratograma. Os espectros de FTIR (Cary 660 Agilent) foram obtidos na faixa de 4000 a 650 cm<sup>-1</sup>, com uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 25 varreduras, por pastilha de KBr para a CBOX e ATR para a CB, no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical. A análise de potencial zeta foi realizada utilizando o equipamento Malvern Zetasizer 3000 NanoZS. As amostras com pH 7 foram previamente diluídas em água destilada numa proporção de 1:10. Três medidas de cada suspensão de CBOX foram realizadas.

## Resultados e Discussão

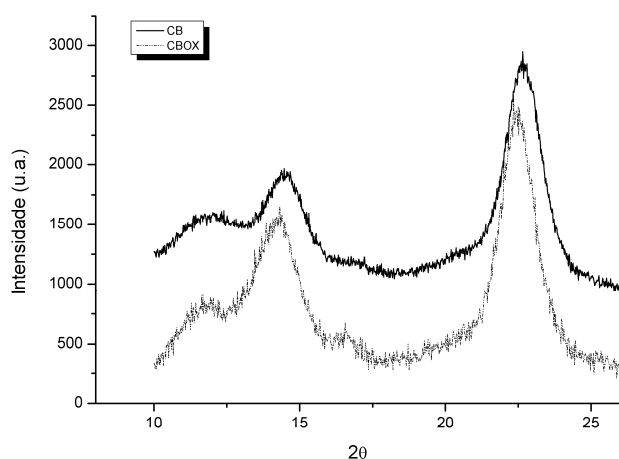
O resultado do potencial Zeta em CBOX mostrou uma alta estabilidade (-67 mV) da suspensão. A presença de cargas negativas na superfície analisada indica a presença do radical carboxil (-COOH) na molécula. Valores de potencial Zeta maiores que 30 mV, em módulo, indicam que a suspensão possui uma boa estabilidade [9]. Nos resultados de FTIR, observados no gráfico da Fig. 1a, além dos comprimentos de onda característico da celulose (OH – 3338 cm<sup>-1</sup>) e C-H (2900 cm<sup>-1</sup>), evidencia-se também um importante grupamento C=O (1608 cm<sup>-1</sup>) (Fig. 1b), confirmando a

presença do grupo carboxilato e a oxidação da celulose [10,8]. A Fig. 2 mostra os resultados da difração de raios X da CB e CBOX.



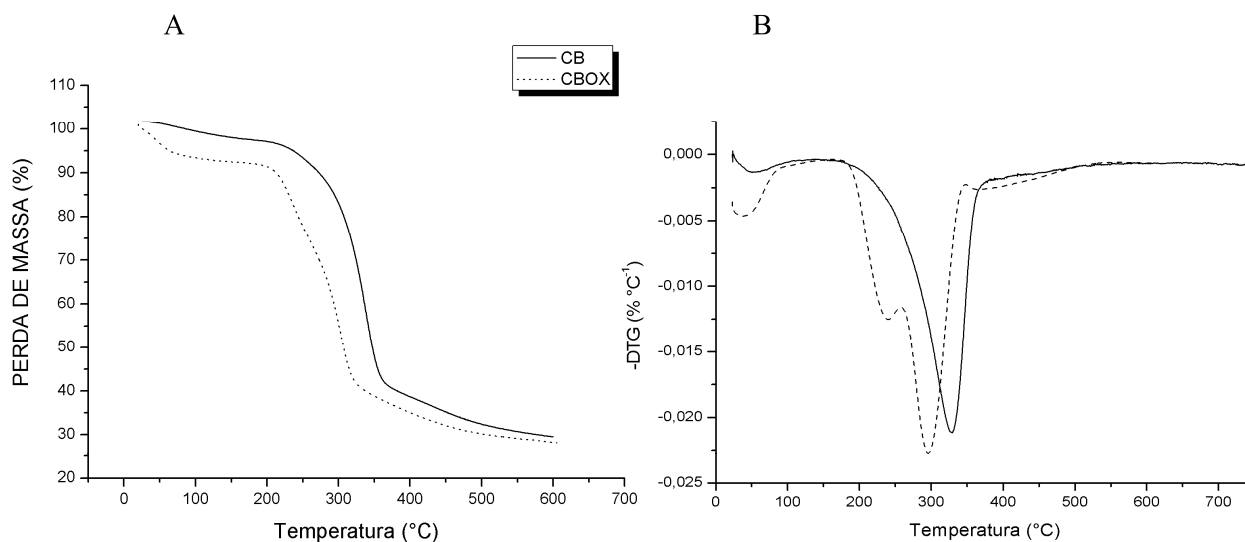
**Figura 1** – Espectros de FTIR: A) Celulose bacteriana e Celulose bacteriana TEMPO-oxidada B) Ampliação da diferença entre o comprimento de onda da celulose bacteriana e celulose bacteriana TEMPO-oxidada

A Fig. 2 mostra os resultados da difração de raios X da CB e CBOX. Os difratogramas das películas apresentaram padrões típicos de celulose do tipo I, dominante em CBs sintetizadas por bactérias, com picos de difração  $2\theta$  em  $14^\circ$ ,  $16^\circ$  e  $22^\circ$ , normalmente atribuídos aos planos cristalográficos (101), (10 $\bar{1}$ ) e (002) [11,12] Foram obtidos índices de cristalinidade para CB de 92% e para CBOX de 83%. Este menor índice de cristalinidade da CBOX provavelmente relaciona-se a uma diminuição dos grupos hidroxilas livres devido ao processo de oxidação. Esses grupos tendem a ser envolvido num certo número de ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares, o que pode dar origem a vários arranjos cristalinos ordenados [13].



**Figura 2** – Difratogramas de Raios X de CB e CBOX

A fig. 3 mostra as curvas termogravimétricas e suas respectivas DTG's da CB e CBOX. Nota-se que as amostras possuem perfis semelhantes com um evento em torno de 100 °C referente a perda de umidade das amostras, porém na CBOX há um pico em torno de 233 °C, o que provavelmente corresponde à degradação do glucoronato de sódio presente na molécula. O último pico da DTG, na CBOX, ocorre em torno de 295 °C e é menor que o da CB (329 °C), mostrando que as unidades de glucoronato exercem influência na temperatura de degradação da CBOX, por serem termicamente mais instáveis [7].



**Figura 3** – A) Termogramas de celulose bacteriana (CB) e celulose bacteriana TEMPO-oxidada (CBOX). B) DTG'S de CB e CBOX.

## Conclusões

Através da análise de FTIR verificou-se que a oxidação mediada a TEMPO ocorreu de forma eficiente, apresentado grupamentos característicos de CB oxidada. A estabilidade térmica, embora levemente diminuída, manteve-se dentro dos padrões esperados, mostrando perfil característico de CB. O difratograma de raios X apresentou perfil característico de CB, com uma pequena diminuição no índice de cristalinidade, mas este se mantendo dentro dos padrões esperados. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a celulose bacteriana possui condições de ser oxidada utilizando radical TEMPO sem grandes perdas com a possibilidade de ser inserida em posteriores aplicações na área de nanocompósitos

## Referências Bibliográficas

1. Kiziltas E.E.; Kiziltas, A.; Gardner, D. J. Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars, *Carbohydr. Polymer*, 2015, 25, 124.
2. Hu, W., Chen, S., Yang J., Zhe Li, Huaping Wang, Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites, *Carbohydrate Polymers*, Volume 101, 30 January 2014, Pages
3. Klemm, D.; Schumann D.; Udhardt U.; Marsch S. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery. *Prog. Poly. Scie.* 2001, 26, 9,1561-1603.

4. Huang, H. C.; Chen, L.; Lin, S.; Hsu, C.; Chen, H. In situ modification of bacterial cellulose network structure by adding interfering substances during fermentation, *Biores.Techn.*, 2010, 101, 15,6084-6091.
5. Saito, T., Isogai, A., TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. *Biomacr.* 2004, 5, 1983-1989
6. Saito, T., Kimura, S., Nishiyama, Y., Isogai, A., Celulose Nanofibers Prepared by TEMPO Mediated Oxidation of Native Cellulose. *Biomacr.* 2007, 8, 2485-2491.
7. Fukuzumi, H., Saito, T., Okita, Y., Isogai, A. Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. *Polym. Degrad. Stab.* 2010,95, 1502-1508.
8. Luo, H., Xiong, G., Hu, D., Ren, K., Yao, F., Zhu, Y., Gao, C., Wan, Y. Characterization of TEMPO-oxidized bacterial cellulose scaffolds for tissue engineering applications. *Mater. Chemi. and Phys.* 2013, 143, 373-379
9. Cruz, M.R.; Martins, L. P.; Morais, J. P. S.; Brígida, A. I. S.; Ito, E. N.; Rosa, M. F. Obtenção de nanocelulose de línter utilizando rotas alternativas de hidrólise ácida. *Anais do VI Whorkshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio*, p. 234-236, 2012.
10. Socrátes, G., *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies*. John Wiley & Sons, England, 2001.
11. Maeda, H. et al. Bacterial cellulose/ silica hybrid fabricated by mimicking biocomposites. *J. Mater. Sci.* 2006,41, 17.
12. Vazquez, A.; Forest, M.L.; Cerruti, P.; Galvano, M. Bacterial Cellulose from Simple and Low Cost Production Media by *Gluconacetobacter xylinus*. *J. Polym. Environ.* 2013, 21, 2.
13. Poletto, M.; Pistor, V.; Zattera, A.J.; *Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose*. Dr. Theo G.M. Van De Ven (Ed.), 2013.