DESENVOLVIMENTO DE UM HIDROGEL COMPÓSITO DE CELULOSE BACTERIANA E HIDROXIAPATITA

Rafael de Souza da Conceição, Afifeh Rafat Fadel Khader, Márcia Margarete Meier

INTRODUÇÃO

O NIPOL vem estudando diferentes polímeros formadores de hidrogel, como a celulose bacteriana, carragena e a gelatina metacrilada. Com intuito de produzir um hidrogel osseoindutor, para tal foi escolhida a celulose bacteriana (CB) como polímero formador, visto que sua estrutura química possui várias hidroxilas, responsáveis por sua reatividade, capacidade de modificação e caráter hidrofílico. Possui alta pureza (~97%) em celulose quando comparada com a celulose vegetal. Sua alta resistência mecânica e grande capacidade de reter água também foram características importantes para a escolha desse material. (Lahiri et al. 2021; Esa; Tasirin; Rahman, 2014; Khazeni et al. 2017).

Por sua vez a hidroxiapatita (HAP) foi escolhida como substância osseoindutora pois segundo Kylchbekov (2023), possui semelhança com o mineral que compõem ossos e dentes humanos, isso associado à sua boa biocompatibilidade, osseocondutividade e bioatividade a tornam um excelente material com capacidade de promover regeneração óssea. (Islam et al., 2020).

DESENVOLVIMENTO

Seguindo os procedimentos descritos por Khader (2026), as membranas de celulose bacteriana foram cultivadas usando a bactéria *Komagataeibacter xylinus* inoculada em meio de cultivo composto por uma fonte de carbono (20g/L), extrato de levedura (5g/L) e peptona (3g/L) dissolvidos em água (Figura 1.1). Foram depositados 45 mL de meio de cultivo cobertos com uma trouxa de gaze e algodão para evitar o contato direto do meio de cultivo inoculado com o ar.

A inoculação foi conduzida em ambiente estéril para evitar a proliferação de fungos prejudiciais a formação das membranas, dessa forma o meio de cultivo preparado foi autoclavado a 121°C por 20 minutos e levado para uma capela de fluxo laminar para exposição à radiação U.V. durante 15 minutos para total esterilização. Finalmente 5 mL do inóculo contendo as bactérias foram transferidas ao meio de cultivo esterilizado, sendo mantidos na estufa bacteriológica a 30°C durante 14 dias, tempo necessário para a formação da membrana de celulose. (Figura 1.1)

Após 14 dias, as membranas foram retiradas dos erlenmeyers e submetidas ao protocolo de limpeza para remoção de resíduos do meio de cultivo em que estavam. As membranas foram mantidas por 30 minutos em uma solução de NaOH 0,1 mol/L a 80°C. Em seguida foram lavadas com água destilada em abundância. Finalmente, foram mantidas em água destilada com o objetivo de garantir a eliminação por difusão de eventuais resíduos que restaram. A figura 1.2 mostra as membranas após tratamento com o NaOH. Foram produzidas membranas utilizando glicerol e manitol como fontes de carbono visando estudar seus rendimentos.

A HAP foi sintetizada utilizando a metodologia descrita por Junckes (2023), através da precipitação aquosa partindo do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) e ácido fosfórico (H_3PO_4) mantendo uma razão molar de Ca/P de 1,67.

Após total adição do ácido à suspensão aquosa de $CaCO_3$, manteve-se a agitação durante 24 horas. Em seguida o material foi filtrado a vácuo e seco em estufa a 70°C por 24 horas. Então, a calcinação do pó obtido foi realizada na mufla a 700°C por 2 horas com taxa de aquecimento de 5°C/min. O composto resfriado foi peneirado em malha 106 μm, armazenado e caracterizado.

Foram realizados dois métodos para obtenção do compósito de celulose bacteriana/Hap.

Com objetivo de impregnar a HAP no hidrogel de CB, preparou-se uma suspensão aquosa contendo 5% de HAP. Em seguida, em um sistema de filtração a vácuo, a celulose bacteriana foi depositada em

um funil de Büchner, então o vácuo foi ligado e cerca de 50 mL da suspensão foi lentamente adicionada sobre a membrana forçando a passagem da HAP.
Uma segunda estratégia foi testada, uma membrana foi transferida para um béquer de 250 mL e adicionado 50 mL da suspensão de HAP. O sistema foi mantido em um banho ultrassônico por 10 minutos e, após repouso de 10 minutos, aplicou-se novo ciclo ultrassônico, totalizando 3 ciclos. Em seguida, a membrana foi mantida sob agitação em um shaker a 110 rpm por aproximadamente 12 horas. No dia seguinte, repetiu-se o mesmo processo de banho ultrassônico. Ambas as membranas foram congeladas e liofilizadas para serem caracterizadas por MEV.

RESULTADOS

As diferentes fontes de carbono apresentaram rendimentos distintos, com o glicerol apresentando rendimento de 1,638±0,3652 g/L e o manitol 1,260±0,0750 g/L. As membranas de glicerol apresentaram-se mais espessas e, por esse motivo, foram utilizados na produção do compósito. Imagens de MEV mostram a estrutura de nanofibras de celulose presentes em CB seca na estufa (Figura 2.1)
A caracterização da hidroxiapatita por DRX (figura 1.3) apresentou picos definidos decorrentes da alta cristalinidade característica da HAP, sendo os principais picos (211), (112), (300) e (002).
O espectro de infravermelho da hidroxiapatita (figura 2.2) apresentou bandas características de estiramentos de fosfatos de apatitas em 1096 cm^{-1} e 962 cm^{-1}. Em ~ 3600 cm^{-1} também foi observado a banda de estiramento de O-H de apatitas, similares as apresentadas por Junckes (2023).
O compósito de CB/HAP, produzido pelo método 1 (filtragem), após ser liofilizado apresentou uma camada de HAP sob a membrana que após ser manuseada foi facilmente removida. Porém, as imagens de MEV demonstraram uma grande quantidade de hidroxiapatita na superfície da membrana, dificultando a visualização das fibras da celulose, mas que ainda foram visíveis (figura 2.2).
Foi realizado uma tentativa de fratura criogênica do compósito para permitir a análise do seu interior, mas devido a maleabilidade da amostra não foi possível realizar a fratura frágil do material.
O compósito preparado seguindo o método 2, mesmo após o manuseio da amostra, continuou com uma camada espessa de HAP. Com a análise por MEV foi possível observar a camada de hidroxiapatita que cobriu as fibras de celulose, conforme demonstrado na figura 2.3.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As caracterizações da hidroxiapatita apresentaram resultados similares aos descritos na literatura, indicando que o material esperado foi obtido. De forma semelhante, a celulose bacteriana também foi produzida a partir das duas fontes de carbono investigadas. A análise por MEV da superfície do compósito de CB/HAP, obtida pelo método 1, exibiu algumas fibras com hidroxiapatita retidas, já as amostras obtidas pelo método 2 apresentaram total recobrimento das fibras de CB com camada grossa de HAP na superfície da membrana.

Palavras-chave: Celulose bacteriana; Hidroxiapatita; Compósito; *Komagaeterbacter xylinus*.

ANEXOS

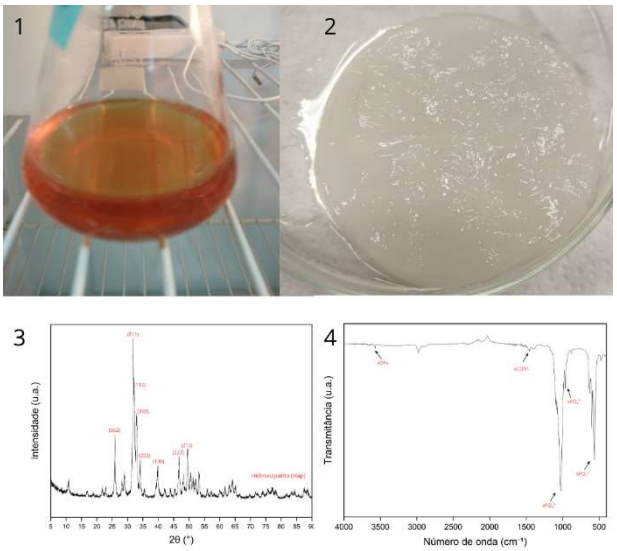


*Figura 1 - 1) Meio de cultivo, 2) Membrana de celulose após tratamento com NaOH, 3) DRX de HAP des*tacando *seus respectivos picos, 4) Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) de HAP*

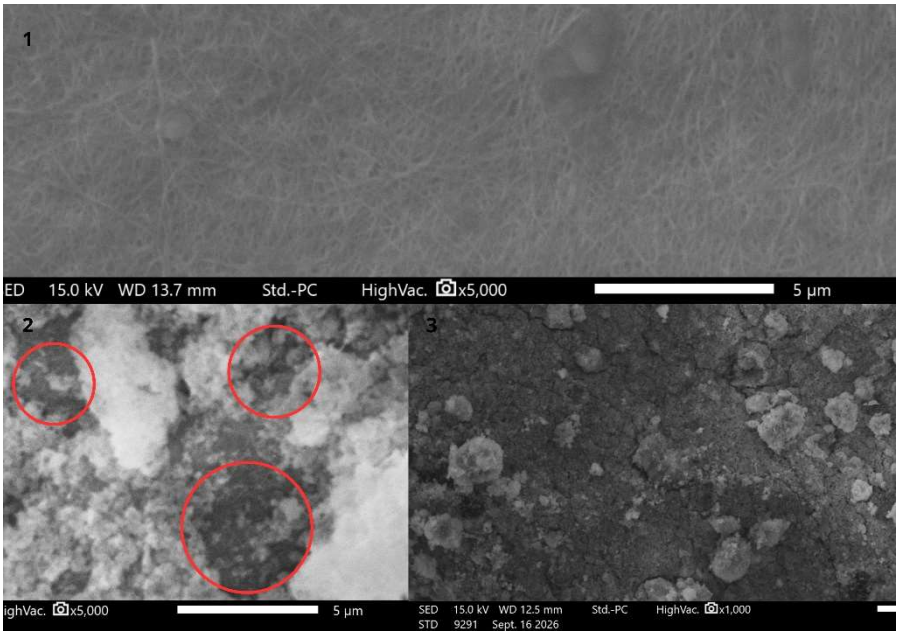


Figura 2 – 1) MEV da membrana de celulose pura, pode ser observado as fibras de celulose. 2) Imagem de MEV do compósito preparado pelo método 1 (filtragem), com destaque para as regiões onde foi observado HAP retido nas fibras de celulose. 3)Imagem de MEV do compósito obtido pelo método 2, com total recobrimento da superfície da celulose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ESA, Faezah; TASIRIN, Siti Masrinda; RAHMAN, Norliza Abd. Overview of bacterial cellulose production and application. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 113–119, 2014.

ISLAM, Md Minhajul *et al.* Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review. **Bioactive Materials**, v. 5, n. 1, p. 164–183, 2020.

JUNCKES, Ermelinda Silvana. Desenvolvimento de cimento endodôntico experimental: efeito da incorporação de nano hidroxiapatita e N-acetilcisteína. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada), Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2023.

KHADER, Afifeh Rafat Fadel. MODIFICAÇÃO DE MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA PARA ADSORÇÃO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada), Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2023.

KHAZENI, Sepideh *et al.* Production of nanocellulose in miniature-bioreactor: Optimization and characterization. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 47, n. 4, p. 371–378, 2017.

KYLCHBEKOV, Salizhan. Bioactivity and structural properties of hydroxyapatite on Ti6A. Dissertação (Mestrado em Física e Astronomia), Western Kentucky University. Disponível em: <**https://digitalcommons.wku.edu/theses/3692/**>. Acesso em: 3 set. 2026.

LAHIRI, Dibyajit *et al.* Bacterial cellulose: Production, characterization, and application as antimicrobial agent. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12984, 2021.