

# IDENTIFICAÇÃO DE CONDIÇÕES IDEAIS DE SOLUBILIDADE PARA A PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA E APATITA DE ESTRÔNCIO POR MEIO DE ELECTROSPINNING

Ana L. de B. Soares<sup>1</sup>, Erika P. C. G. Luz<sup>1</sup>, Marisa M. Beppu<sup>3</sup>, Marcos A. d'Ávila<sup>2</sup>, Fábria K. Andrade<sup>1</sup>, Rodrigo S. Vieira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dep. de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza (CE), Brasil

<sup>2</sup>Dep. de Engenharia de Materiais e Manufatura, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP), Brasil

<sup>3</sup>Dep. de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP), Brasil

E-mail: lorena.soares@gpsa.ufc.br

**Resumo.** Pesquisas mostram que a utilização de biomateriais híbridos como substituintes ósseos estão cada vez mais comuns, e técnicas como o Electrospinning são de fundamental importância para a fabricação de recobrimentos de implantes ósseos. As solubilidades da Celulose Bacteriana Desconstruída (CBD) e do Folato de Estrôncio (SrFO) foram investigadas nesse trabalho com o intuito de identificar as condições ideais para sua utilização na fabricação de nanofibras de CBD funcionalizadas com ApSr através da técnica de Electrospinning. A solução polimérica foi preparada solubilizando a CBD em um solvente compatível, no caso o que apresentou melhores resultados foi o TFA 100%. Para o SrFO, os testes foram feitos em diferentes concentrações de Sr, e finalmente observou-se que em concentrações menores que 146 ppm demonstrou-se melhores resultados. Os resultados encontrados foram satisfatório e serão utilizados posteriormente na produção de nanofibras de CB/SrAp por meio de Electrospinning.

**Palavras-chave:** Biomateriais, Electrospinning, Solubilidade, Celulose Bacteriana Desconstruída, Apatita de Estrôncio.

## 1. INTRODUÇÃO

Defeitos musculoesqueléticos mostram-se a cada dia mais comuns, inclusive, pesquisas na área apontam que, com o aumento na idade média da população houve também um aumento constante no número de casos associados a esses defeitos (BLACK et al., 2015). Dentre os vários causadores desse problema, podemos citar as falhas na estrutura óssea provenientes das malformações congênitas, acidentes, tumores e osteoporose. Diante desses fatores, um meio de tratamento continua sendo a substituição óssea por meio de implantes, porém os materiais usados para reparar e substituir defeitos ósseos são facilmente suscetíveis à rejeição imunológica e complicações adicionais (JANICKI; SCHMIDMAIER, 2011).

Com isso surge a necessidade de produção de biomateriais, os quais, além de apresentar biocompatibilidade, devem ser atóxicos, bioativos e biodegradáveis, não necessitando de procedimentos extra para retirada de material após o tratamento (FRAGAL et al., 2019; YANG et al., 2016). Os implantes produzidos a partir desses materiais geralmente apresentam resistência mecânica e à corrosão, alto desempenho fisiológico e biológico in vivo, e são biologicamente inertes, impedindo reações químicas entre o corpo e o implante (SOUZA et al., 2017).

Com os avanços das pesquisas busca-se ampliar os benefícios dos implantes, fazendo com que este deixe de ser inerte e passe a promover melhorias ao sistema em que está inserido. Com isso, é estudada a utilização de outros compostos para realizar o revestimento desses materiais como, por exemplo, a Hidroxiapatita (Hap), cerâmica com alta biocompatibilidade, não inflamatória, não tóxica, a qual promove uma conexão com os tecidos ósseos decorrente de sua

composição e estrutura química semelhantes ao sistema ósseo humano, porém esse material apresenta alta fragilidade mecânica e baixa taxa de degradação, o que limita suas aplicações clínicas (FRAGAL et al., 2019). Uma forma de contornar essa situação seria a junção desse material com a Celulose Bacteriana (CB), para a formação de um híbrido, pois esse biopolímero possui alta cristalinidade, altas propriedades mecânicas, biodegradabilidade e biocompatibilidade, etc. (ZHIJIANG et al., 2019).

A eletrofiação surge como opção de técnica de recobrimento dos materiais citados anteriormente, pois trata-se de um método simples e barato utilizado na produção de nanomateriais. Esse consiste em forçar uma solução polimérica viscosa através de um campo elétrico, onde esse transforma as gotículas que saem da agulha em fibras muito finas. Quando se trabalha com a CB, deve-se ter muita atenção com sua diluição, pois não se trata de algo trivial, pelo contrário, alguns artigos destacam a complexidade em diluí-la (BAZBOUZ et al., 2018; ZHIJIANG et al., 2019).

Com o intuito de aumentar as propriedades relacionadas à regeneração óssea, pesquisas abordam a utilização do Estrôncio (Sr) como substituinte dos íons de Cálcio (Ca) presentes na Hap, formando a Apatita de Estrôncio (SrAp) pois o Sr acelera a regeneração óssea, devido suas propriedades de estimular a atividade dos osteoblastos e inibir a dos osteoclastos (JIMÉNEZ et al., 2019). Inclusive, já existem medicamentos à base de Sr, como o Ranelato de Estrôncio (RE), o qual é indicado para o tratamento da osteoporose pós-menopáusia. Entretanto, o RE quando administrado a longo prazo pode trazer uma série de consequências negativas, como coágulos sanguíneos, reações cutâneas graves, perturbações da consciência, etc. (ROJO et al., 2015). Com isso, o Folato de Estrôncio (SrFO) surge como um possível substituto ao RE, porém por ser uma molécula estável apresenta maior dificuldade em seu processo de solubilização.

Desse modo, o objetivo desse estudo foi identificar as melhores condições de solubilidade da CB e do SrFO, para utilização na produção de revestimentos à base de nanofibras de CB/SrAp através da técnica de eletrofiação.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Reagentes**

Celulose Bacteriana produzida por pesquisadores da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, Ceará). Ácido Acético, Ácido Trifluoroacético (TFA) e Hidróxido de Sódio (NaOH) comprados da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA). N,N-Dimetilformamida e Tetrahidrofurano comprados da LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda (Diadema, São Paulo, Brasil). Folato de Estrôncio produzido pelo grupo de pesquisa do Dr. Luis Rojo del Olmo (Madrid, Espanha).

### **2.2. Métodos**

De início a CB foi desconstruída (CBD) (Fig.1a) e liofilizada (Fig. 1b), obtendo por fim um material fino branco (Fig. 1c).

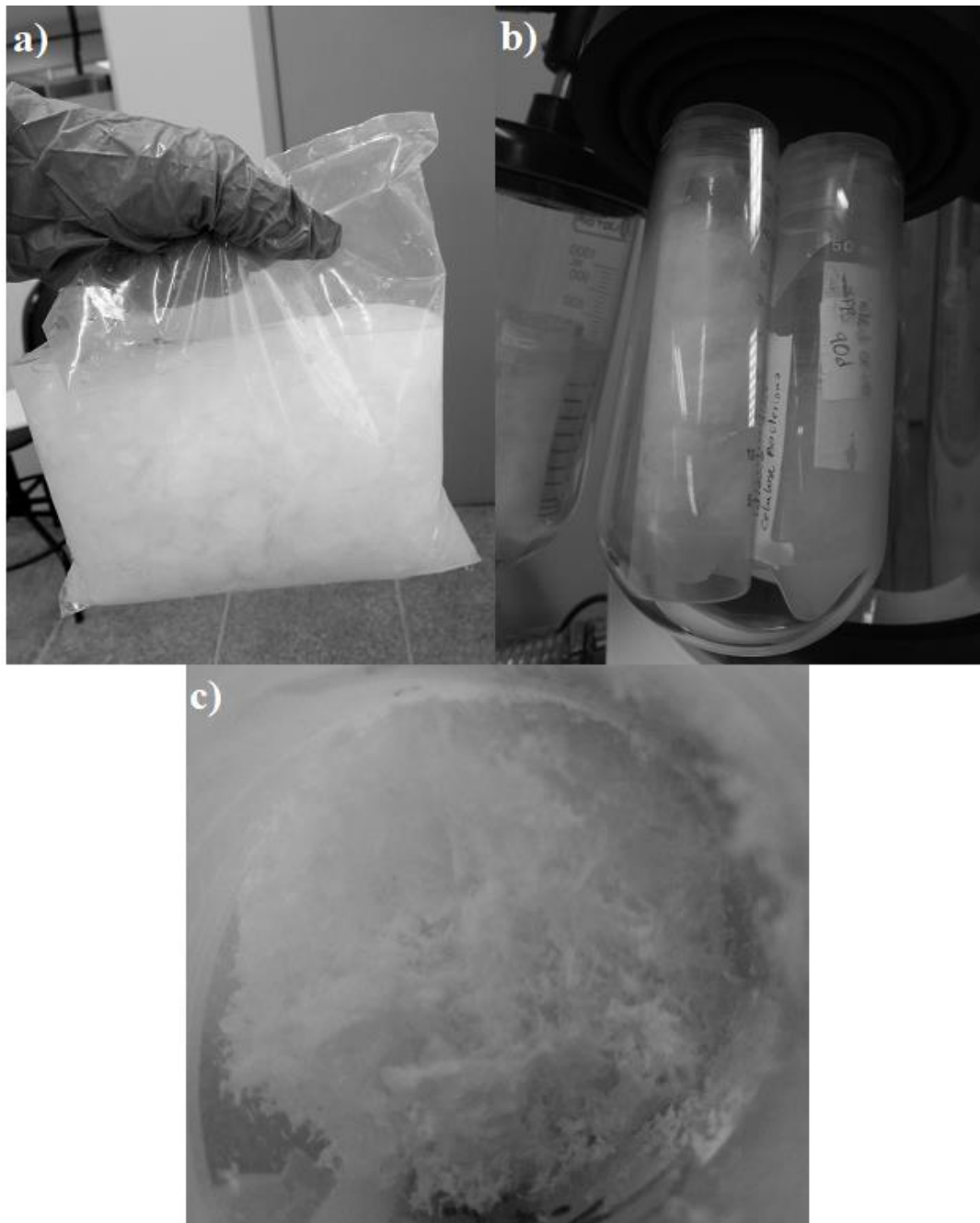


Figura 1. Celulose Bacteriana Desconstruída congelada (a), liofilizando (b) e liofilizada (c).

A solução polimérica foi preparada solubilizando a CB Desconstruída (CBD) em um solvente compatível. Nesse trabalho, investigou-se como solventes o Ácido Acético (AcOH), Ácido Trifluoroacético (TFA) (ZHIJIANG et al., 2019), Hidróxido de Sódio (NaOH) (HEINZE; KOSCHELLA, 2005), N,N-Dimetilformamida (DMF) e o Tetrahydrofurano (THF). A Tabela 1 apresenta as condições de trabalho para cada solvente e mistura de solventes. Para todos eles, foi utilizada a mesma concentração de CBD (0,2% p/v). O teste durou aproximadamente 24 h para cada um dos solventes utilizados, onde, nesse período mantiveram-se em agitação constante.

Tabela 1. Condições utilizadas na diluição da Celulose Bacteriana Desconstruída.

<b>SOLVENTE</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (% v/v)</b>	<b>TEMPERATURA (°C)</b>
<b>AcOH</b>	1	~ 25
	5	
	10	
<b>TFA</b>	5	~ 25
	20	
	100	
<b>NaOH</b>	8,5*	~ -5
<b>DMF</b>	100	~ 50
<b>THF</b>	100	~ 50
<b>DMF/AcOH</b>	50:50	~ 50
	70:30	
	30:70	
<b>THF/AcOH</b>	50:50	~ 50
	70:30	
	30:70	
<b>DMF/THF</b>	50:50	~ 50

\* Das soluções descritas acima, o NaOH foi o único a ser trabalhado em % p/v.

Para o SrFO (Figura 2), foram estudadas diferentes soluções desse material diluído em água ultrapura, variando apenas sua concentração, a qual foi determinada de acordo com a quantidade de Sr presente em cada uma delas. Essas escolhas basearam-se principalmente em estudos realizados anteriormente (LUZ et al., 2018), diferenciando-se apenas na fonte de Sr trabalhada pelos autores envolvidos, pois Luz et al. (2018) trabalhou com o Cloreto de Estrôncio (SrCl<sub>2</sub>). As concentrações utilizadas foram de 100, 146, 500 e 1000 ppm de Sr.

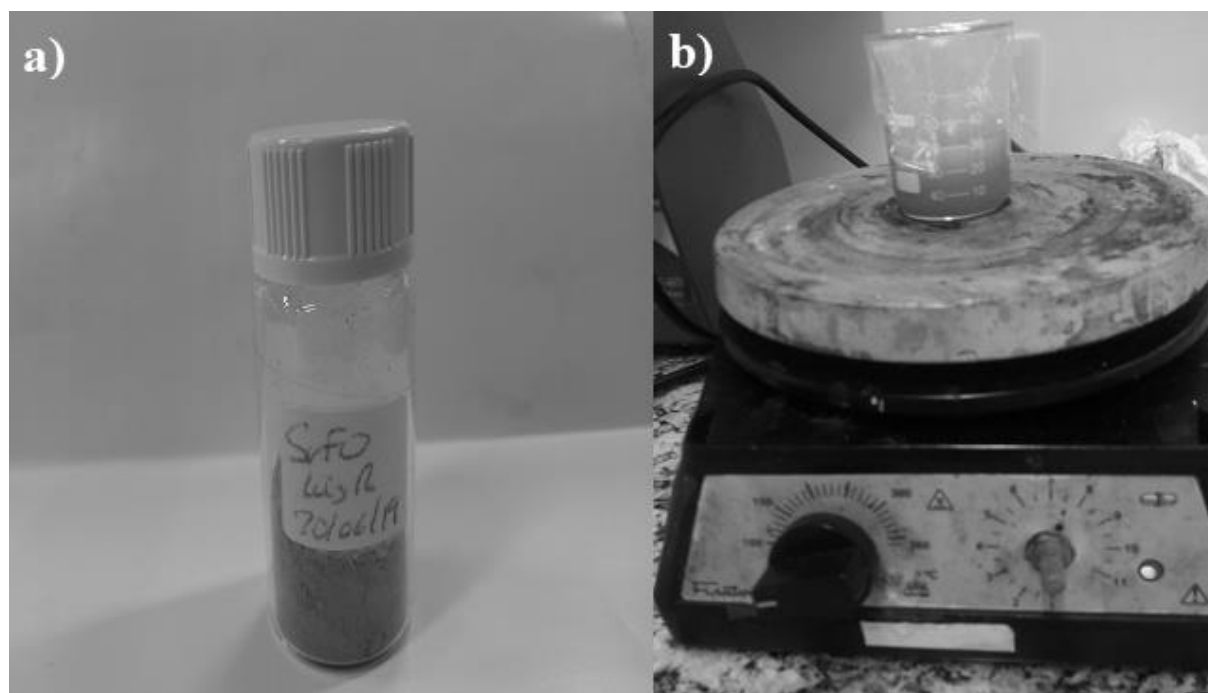


Figura 2. Folato de Estrôncio em pó (a) e diluído em concentração ideal (b).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados obtidos para a CBD, durante o período de testes foi possível observar as mesmas características para a maioria dos solventes utilizados, a aglomeração da CBD ao decorrer das 24 h. Apenas um dos solventes foi capaz de dissolver a CBD nas condições estudadas, o TFA 100%, os outros demonstraram no final a mesma aparência (Figura 3).



Figura 3. Celulose Bacteriana Desconstruída em solução de NaOH 8,5 % p/v em  $\sim -5^{\circ}\text{C}$

Quando se trata da solubilidade do SrFO, pode-se notar que ao diluir em concentrações muito altas, há uma grande deposição de material no fundo, demonstrando que a solução se encontra saturada. Já em concentrações abaixo de 146 ppm observa-se a completa diluição do material

#### 4. CONCLUSÕES

Foi possível observar claramente a complexidade em diluir os materiais desejados, CBD e SrFO, mas com os testes de solubilidade as condições ideais foram definidas, podendo assim posteriormente utilizar os resultados alcançados na produção de nanofibras de CB/SrAp por meio da técnica de eletrospiação.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ter fomentado essa pesquisa; à Embrapa Agroindústria Tropical pelo fornecimento de material fundamental ao trabalho e de sua estrutura para realizar parte dos processos necessários; e ao Dr. Luis Rojo del Olmo por ter colaborado com o envio de um dos materiais estudados.

#### REFERÊNCIAS

BAZBOUZ, Mohamed Basel et al., Dry-jet wet electrospinning of native cellulose microfibers with macroporous structures from ionic liquids. **Journal Applied Polymer Science**, v. 136, n. 10, p. 47153 (1) – 4753 (15), 2018.

- BLACK, Cameron R. M. et al. Bone Tissue Engineering. **Current Molecular Biology Reports**, v. 1, n. 3, p. 132-140, 2015.
- FRAGAL, Elizângela H. et al. Biomimetic nanocomposite based on hydroxyapatite mineralization over chemically modified cellulose nanowhiskers: An active platform for osteoblast proliferation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 133–142, 2019.
- HEINZE, Thomas; KOSCHELLA, Andreas. Solvents Applied in the Field of Cellulose Chemistry - A Mini Review. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 2, p. 84-90, 2005.
- JANICKI, Patricia; SCHMIDMAIER, Gerhard. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. **Injury**, v. 42, p. 77-81, 2011.
- JIMÉNEZ, Mirta et al. Bibliographic review on the state of the art of strontium and zinc based regenerative therapies. Recent developments and clinical applications. **Journal Of Materials Chemistry B**, v. 7, n. 12, p. 1974–1985, 2019.
- LUZ, Erika Patricia Chagas Gomes et al., Strontium delivery systems based on bacterial cellulose and hydroxyapatite for guided bone regeneration. **Cellulose**, v. 25, n. 11, p. 6661-6679, 2018.
- ROJO, L. et al. The synthesis and characterisation of strontium and calcium folates with potential osteogenic activity. **Journal Of Materials Chemistry B**, v. 3, n. 13, p. 2708-2713, 2015.
- SOUZA, Marisa Aparecida et al. Immobilisation of apatite on Ti30Ta alloy surface by Electrospinning of PCL. **Surface Innovations**, v. 5, n. 2, p. 68-74, 2017.
- YANG, Mao et al. Biomimetic design of oxidized bacterial cellulose-gelatin-hydroxyapatite nanocomposites. **Journal Of Bionic Engineering**, v. 13, n. 4, p. 631-640, 2016.
- ZHIJIANG, Cai et al. Soy protein nanoparticles modified bacterial cellulose electrospun nanofiber membrane scaffold by ultrasound-induced self-assembly technique: characterization and cytocompatibility. **Cellulose**, v. 26, n. 10, p. 6133-6150, 2019.

## **IDENTIFICATION OF IDEAL SOLUBILITY CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE AND STRONTIUM APATITE NANOFIBERS BY ELECTROSPINNING**

Ana L. de B. Soares<sup>1</sup>, Erika P. C. G. Luz<sup>1</sup>, Marisa M. Beppu<sup>3</sup>, Marcos A. d'Ávila<sup>2</sup>, Fábria K. Andrade<sup>1</sup>, Rodrigo S. Vieira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dep. of Chemical Engineering, Federal University of Ceará, Pici Campus, Fortaleza (CE), Brazil

<sup>2</sup>Dep. of Manufacturing and Materials Engineering, University of Campinas, Campinas (SP), Brazil

<sup>3</sup>Dep. of Materials and Bioprocesses Engineering, University of Campinas, Campinas (SP), Brazil

E-mail: lorena.soares@gpsa.ufc.br

**Abstract.** *Research shows that the use of hybrid biomaterials as bone substitutes is increasingly common, and techniques such as electrospinning are of fundamental importance for the manufacture of bone implant coatings. The solubilities of Deconstructed Bacterial Cellulose (DBC) and Strontium Folate (SrFO) were investigated in this work in order to identify the ideal conditions for their use in the manufacture of DBC nanofibers functionalized with ApSr by the Electrospinning technique. The polymeric solution was prepared by solubilizing DBC in a compatible solvent, in which case the best results were TFA 100%. For SrFO, the tests were done at different Sr concentrations, and finally it was observed that at concentrations lower than 146 ppm better results were shown. The results were satisfactory and will be used later in the production of CB/SrAp nanofibers by electrospinning.*

**Keywords:** *Biomaterials, Electrospinning, Solubility, Deconstructed Bacterial Cellulose, Strontium Apatite.*