



MODIFICAÇÃO DA LIGNINA COM O DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA VISANDO ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Palavras-Chave: Lignina, Antimicrobiano, Polímeros Naturais

Autores(as):

Diego Augusto dos Santos, LEQUIP – FEQ, UNICAMP

Deise Ochi, LEQUIP – FEQ, UNICAMP

Celso Fidelis Moura Júnior, LEQUIP - FEQ, UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). Marisa Masumi Beppu , LEQUIP – FEQ, UNICAMP

1. INTRODUÇÃO:

A pandemia do covid-19 trouxe à tona a necessidade de novos materiais capazes de inativar microrganismos e, assim, conter a propagação de doenças. Neste viés, materiais versáteis e sustentáveis com capacidade bactericida e/ou vermífida podem proporcionar uma solução inovadora para tal problemática.

A lignina é um material obtido como subproduto do processo de fabricação de papel e extração de celulose, sendo extremamente versátil e podendo ser usado para a geração de polímeros (ZEVALLOS TORRES et al., 2020), ademais, tal composto é extremamente abundante, tendo uma produção estimada de 70 milhões de toneladas por ano (LORA, 2008). Juntamente a isso, tem-se a clorexidina, que é muito usada na assepsia e desinfecção de ferimentos, além de evitar infecções no geral (ZANATTA, 2007).

A partir desse pressuposto, o projeto aqui desenvolvido busca as melhores condições para a modificação de lignina com a clorexidina. Ainda não há muita pesquisa acerca desse tema, mas com essa ideia, uma nova alternativa de material pode surgir no mercado, fazendo com que a lignina se valorize muito e contribua para a sociedade.

2. METODOLOGIA:

2.1 Materiais

A lignina Kraft, o agente reticulante isopropóxido de titânio TTE (Tyzor®) e o solvente 1,4-Dioxano serão adquiridos comercialmente (Sigma-Aldrich, EUA). O ativo digluconato de clorexidina será adquirido na forma de solução 20% m/m (Magispharma, Brasil). Hidróxido de sódio e ácido serão adquiridos pela Synth (Brasil).

2.2 Modificação da Lignina

A modificação será baseada na metodologia proposta por Chen *et al.* (2008). A lignina Kraft será dissolvida em uma mistura de água e DMSO com proporção mássica de 50%. Após isso, acrescenta-se clorexidina à solução, que será agitada e aquecida até uma temperatura específica. A partir do momento que a solução estiver na temperatura correta, verte-se o reticulante na solução, mantendo-a em agitação por 1 hora.

O material obtido da reação será colocado para secar na estufa e guardado em ambiente seco e protegido da luz.

Para se determinar as melhores condições de reação para o máximo de reticulação com o CHX (clorexidina), será feito um planejamento experimental 2²+3 no qual as variáveis independentes serão a temperatura de reação e a proporção CHX:lignina, conforme a tabela 1. As variáveis dependentes serão as propriedades finais do material obtido.

Tabela 1 – Planejamento experimental

Experimento	Variável independente (Nível)	
	Temperatura (horas)	Proporção CHX:lignina (m/m)
1	30 (-1)	2:1 (-1)
2	70 (+1)	2:1 (-1)
3	30 (-1)	4:1 (+1)
4	70 (+1)	4:1 (+1)
5	50 (0)	3:1 (0)
6	50 (0)	3:1 (0)
7	50 (0)	3:1 (0)

Fonte: o próprio autor

2.3 Métodos Analíticos

- Determinação de grupos hidroxilas
- Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)
- Análise estatística
- Ensaio de atividade bactericida
- Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bacteriana Mínima (CBM)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Inicialmente, as reações foram realizadas sem o uso do DMSO, porém, devido ao fato desse solvente dissolver melhor a lignina, decidiu-se usar ele para um teste. A análise do número de hidroxilas presentes em cada reação mostrou que, ao usar como solvente uma mistura de água/DMSO com proporção mássica de 50%, a quantidade de hidroxilas fenólicas é menor, ou seja, mais hidroxilas foram modificadas.

Tabela 2 – Número de hidroxilas fenólicas

Reação sem DMSO	Reação com DMSO
-0,804 mmol/g	0,946 mmol/g

Fonte: o próprio autor

Outro detalhe é que também foi testado uma reação com uma quantidade menor de reticulante, visando maximizar o custo-benefício da reação. No entanto, a eficiência da reação caiu drasticamente, indicando que a proporção original deveria ser mantida.

Segue-se então para as reações feitas utilizando DMSO/água como solvente. Como mostrado no procedimento experimental, foram feitas 7 reações, sendo 3 delas com as mesmas quantidades nas variáveis.

De acordo com a quantidade de hidroxilas fenólicas, pode-se concluir que a reação 2, foi a mais promissora no quesito de substituição dos sítios da molécula de lignina pela clorexidina.

Tabela 3 – Quantidade de hidroxilas fenólicas para todas as reações (mmol/g)

Reações	Quantidade de hidroxilas fenólicas (mmol/g)
Reação 1	0,628
Reação 2	-0,118
Reação 3	2,095
Reação 4	0,797
Reação 5	0,258
Reação 6	0,632
Reação 7	1,110

Fonte: o próprio autor

Em relação à textura e facilidade de manejo do produto, as reações feitas em temperaturas acima de 30 °C ficaram com um aspecto de argila seca, sendo mais fácil de trabalhar. Enquanto que as reações feitas à 30 °C possuem um aspecto muito grudento e se aglutinam muito facilmente, o que dificulta a secagem final do produto.



Figura 1 - Reação 1 feita a 30 °C



Figura 2 – Reação 2 feita à 70 °C

O teste de FT-IR apresentou resultados satisfatórios, sendo que, praticamente todas as reações realizadas obtiveram um espectro muito semelhante. Ao comparar, o espectro da lignina original com a lignina modificada é possível notar a presença de grupos aminas (C-N) na lignina modificada (banda na região de 1100 cm^{-1}), ou seja, houve reticulação da clorexidina, pois a molécula dela possui grupos aminas.

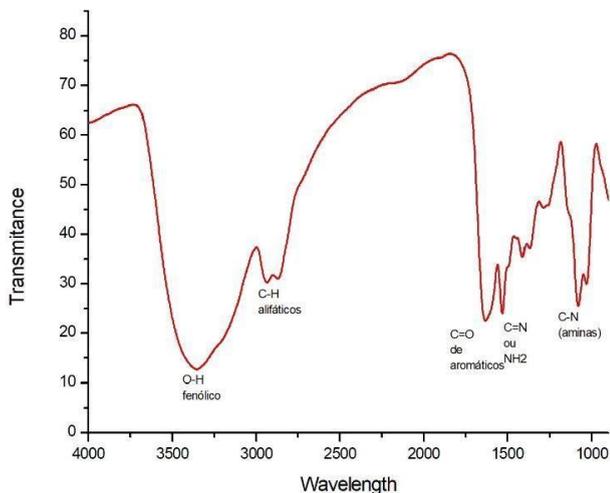


Figura 3 – Espectro no infravermelho da lignina modificada (reação 2)

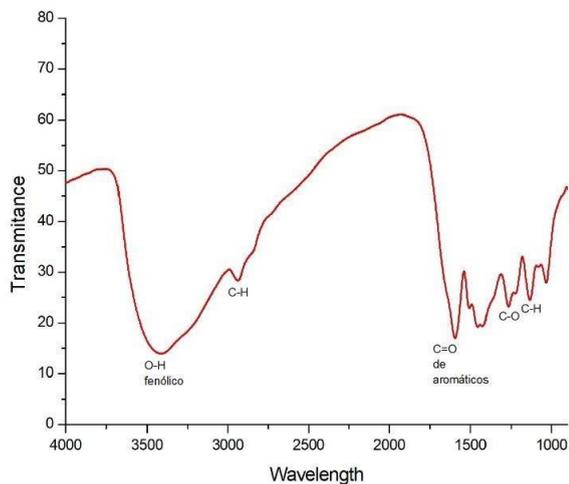


Figura 4 – Espectro no infravermelho da lignina original

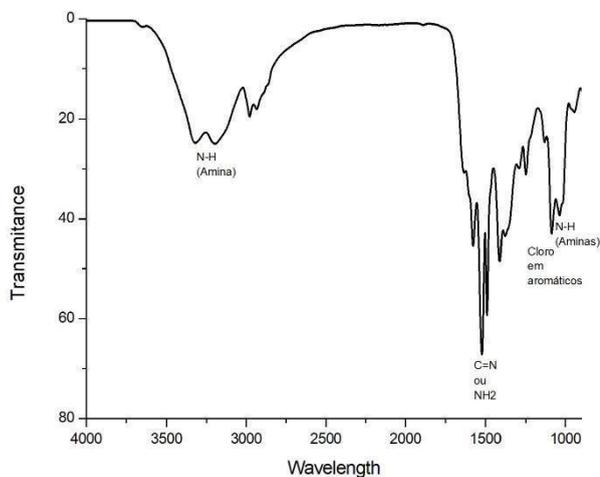


Figura 5 – Espectro no infravermelho da clorexidina

Outro fator que deve ser notado é que na clorexidina há uma banda na região de $3500\text{ cm}^{-1} - 3000\text{ cm}^{-1}$, sendo que esta banda se refere a grupos aminos (N-H), provavelmente tal banda é sobreposta pela banda do OH fenólico na lignina modificada.

Apesar da semelhança nos espectros entre lignina modificada e original, a presença do grupo amina na lignina modificada confirma a reticulação.

No que se refere à análise estatística, foi utilizado o software Statistica® versão 10 (Statsoft, USA) considerando intervalo de confiança de 5%. Os resultados foram avaliados estatisticamente, aplicando teste Tukey com $p < 0,05$.

A partir disso, ambas as variáveis do planejamento experimental foram analisadas usando o parâmetro p, inclusive a combinação das duas.

Tabela 4 - Parâmetro p para cada variável

Variáveis	Valor de p
Proporção de CHX (m/m)	0,050378
Temperatura °C	0,072429
Combinação das variáveis	0,515734

Fonte: o próprio autor

De acordo com os valores de p, apenas a variável proporção de CHX pode ser considerada relevante o suficiente para interferir na quantidade de hidroxilas fenólicas, porém o valor de p desta variável está praticamente no limite para que ela seja considerada relevante.

Infelizmente, devido a atrasos dos fornecedores na entrega dos reagentes usados no projeto, não foi possível realizar os testes de atividade bactericida, concentração inibitória mínima e concentração bacteriana mínima. No entanto, tais testes ainda serão realizados antes do fim do projeto.

4. CONCLUSÕES:

Diante de todos os testes realizados, pode-se perceber que o manejo do produto é mais fácil quando a reação de reticulação é feita em altas temperaturas e em um recipiente fechado. Isso faz com que a lignina modificada tenha uma menor aglutinação e possa ser transformada em pó e até mesmo diluída sem muita dificuldade, o que é importante para a sua aplicação industrial.

Os resultados dos espectros de absorção no infravermelho para cada reação foram interessantes devido à semelhança entre eles, todas as reações feitas apresentaram bandas nas mesmas regiões de comprimento de onda, indicando que a reação ocorre em diferentes temperaturas e até mesmo com proporções baixas de CHX.

Partindo para a quantidade de hidroxilas fenólicas, nota-se que a reação 2 obteve o melhor resultado, pois indicou a menor quantidade de hidroxilas fenólicas, ou seja, houve uma alta taxa de substituição dessas hidroxilas pela clorexidina. Entretanto, esse teste tem um viés qualitativo, haja vista que não é possível uma quantidade negativa de hidroxilas fenólicas

BIBLIOGRAFIA

CHEN, L. et al. Electrospun cellulose acetate fibers containing chlorhexidine as a bactericide. **Polymer**, v. 49, n. 5, p. 1266–1275, 2008

LORA, J. H. Industrial Commercial Lignins: Sources, Properties and Applications. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**, p. 225–241, 1 jan. 2008.

Zanatta, F. B. & Rösing, C. K. Chlorhexidine: actions's mechanisms and recent evidences of it's efficacy over supragingival biofilm. **Scientifica**, 1(2), 35-43, 2007

ZEVALLOS TORRES, L. A. et al. Lignin as a potential source of high-added value compounds: A review. **Journal of Cleaner Production**, 2020.

SERRANO, L. *et al.* Fast, Easy, and Economical Quantification of Lignin Phenolic Hydroxyl Groups: Comparison with Classical Techniques. **Energy and Fuels**, v. 32, n. 5, p. 5969–5977, 2018.

KONG, F. et al. Preparation of cationic softwood kraft lignin and its application in dye removal. **European Polymer Journal**, v. 67, p. 335–345, jun. 2015.

MCMURRY, J. Química orgânica : combo. São Paulo: Cengage Learning, 2012.