

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE  
MESTRADO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

**AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA APÓS  
EXPOSIÇÃO EM DIFERENTES MEIOS ABIÓTICOS E BIÓTICOS**

MICHELY SAYUMI ALVES CAMARGO

JOINVILLE - SC  
2018

MICHELY SAYUMI ALVES CAMARGO

**AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA APÓS  
EXPOSIÇÃO EM DIFERENTES MEIOS ABIÓTICOS E BIÓTICOS**

Dissertação submetida ao Mestrado de  
Engenharia de Processos da Universidade da  
Região de Joinville para a obtenção do título de  
Mestre em Engenharia de Processos

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra Ana Paula Testa Pezzin.

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra Andrea Lima dos Santos  
Schneider

JOINVILLE - SC

2018

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

C172a	<p>Camargo, Michely Sayumi Alves Avaliação da degradação de celulose bacteriana após exposição em diferentes meios abióticos e bióticos/ Michely Sayumi Alves Camargo; orientadora Dra. Ana Paula Testa Pezzin; coorientadora Dra. Andrea Lima dos Santos. – Joinville: UNIVILLE, 2018.</p> <p>177 p.: il. ; 30 cm</p> <p>Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos – Universidade da Região de Joinville)</p> <p>1. Celulose – Biodegradação. 2. Komagataeibacter xylinus. 3. Indústria de celulose. I. Pezzin, Ana Paula Testa (orient.). II. Santos, Andrea Lima dos (coorient.). III. Título.</p> <p>CDD 572.56682</p>
-------	---

## Termo de Aprovação

### “Avaliação da degradação de celulose bacteriana após exposição em diferentes meios abióticos e bióticos”

por

Michely Sayumi Alves Camargo

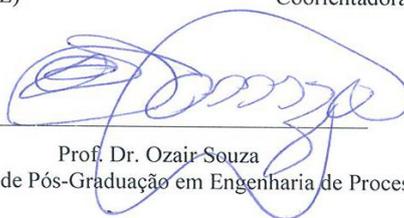
Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestra em Engenharia de Processos, área de concentração Engenharia de Processos e Tecnologias Limpas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos.



Prof. Dra. Ana Paula Testa Pezzin  
Orientadora (UNIVILLE)



Prof. Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider  
Coorientadora (UNIVILLE)

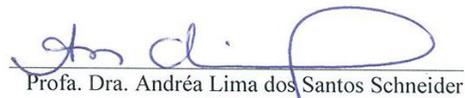


Prof. Dr. Ozair-Souza  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos (UNIVILLE)

#### Banca Examinadora:



Prof. Dra. Ana Paula Testa Pezzin  
Orientadora (UNIVILLE)



Prof. Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider  
Coorientadora (UNIVILLE)



Prof. Dra. Rosmary Nichele Brandalise  
(UCS)



Prof. Dra. Denise Abatti Kasper Silva  
(UNIVILLE)

Joinville, 31 de julho de 2018.

"CADA DIA É UMA NOVA VIDA, UMA NOVA EXPERIÊNCIA".

Cada experiência é um degrau para o progresso da alma. Não fique preso ao passado. Você está, agora, diante de uma nova experiência. Dedique-se a ela de corpo e alma, e verá surgir o próximo degrau de evolução.

Masaharu Taniguchi

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus e minha Nossa Senhora Aparecida, por fazerem parte da minha vida, iluminar e mostrar sempre o caminho a ser seguido.

Aos meus pais, Dejair e Florinda e meu sobrinho Matheus Henrique, obrigada por me darem forças para alcançar mais uma etapa importante em minha vida. Agradeço por me dedicarem amor, confiança e torcida. Ouvi-los me trazia serenidade, nos momentos que mais precisei.

Ao meu noivo Francisco Ricardo por sua paciência, carinho, amor e compreensão. Pelos abraços e palavras para me acalmar, nos momentos difíceis para conquistar esta etapa.

Às Profas. Dra. Ana Paula Pezzin e Andrea Schneider, pela orientação, pelas conversas, amizade e apoio!

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho cujos nomes não foram citados, mas que sabem da sua importância.

Muito obrigada a todos!

## RESUMO

A celulose bacteriana (CB) é um polímero que possui uma gama variada de aplicações em diferentes segmentos industriais por ser biocompatível, biodegradável, atóxica e por apresentar alta capacidade de absorção de líquidos. Embora a CB tenha inúmeras aplicações na área da saúde, ela vem sendo estudada para outras aplicações em áreas diversas, como, têxtil, embalagens ativas para alimentos, papel, eletrônica, entre outras. Dentro deste contexto, o presente trabalho almejou o estudo da degradação de CB em diferentes ambientes, pois as mesmas podem ser descartadas no ambiente. As membranas de CB produzidas foram analisadas secas e úmidas, sendo acompanhadas nesses ambientes em função do tempo de degradação e após caracterizadas, almejando conhecer as características de degradação, que poderão direcionar futuros estudos e aplicações nesta área de pesquisa. A metodologia empregada envolveu a biossíntese de membranas de CB por *Komagataeibacter* e purificação com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M, em banho-maria, a 80 °C por 1 h. A degradação das membranas de CB foi avaliada em diferentes tempos de degradação nos seguintes meios: solo (SO), ambiente estuarino (AE), intemperismo natural (IN) e câmara de envelhecimento acelerado (EA), sendo empregado membranas de CB secas em estufa de circulação de ar e úmidas. As membranas foram retiradas em períodos pré-determinados e acompanhadas por análise visual, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA). Na análise visual foi possível observar as alterações físicas, tais como: rugosidade, fissuras, alteração de cor. Os resultados de FTIR mostraram as mudanças químicas que as membranas sofreram no decorrer do tempo de exposição aos ambientes, em relação às estruturas da CB controle. As análises de TGA indicaram as mudanças térmicas e de perda de massa que ocorreram nas membranas após a degradação. Os resultados mostraram que, embora os ensaios tenham ocorrido em diferentes condições, de um modo geral, a intensidade da degradação das membranas ocorreu na seguinte ordem: SO > AE > IN > EA. No SO e AE a degradação foi mais intensa facilitada pela maior presença de micro-organismos nesses meios, que promovem o ataque microbiano. As membranas úmidas sofreram degradação mais acelerada que as secas. Este fato pode ser explicado, pois a membrana de CB é extremamente porosa, mas com a secagem em estufa, esses poros são colapsados, enquanto na membrana úmida os poros permanecem intactos, sendo a água um veículo que auxilia a transportar os micro-organismos para dentro da membrana e consequentemente aceleram a degradação.

**Palavras-chave:** Celulose bacteriana, *Komagataeibacter*, biodegradação, degradação, biocelulose.

## ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) is a polymer that has a range of applications in different industrial segments because it is biocompatible, biodegradable, non-toxic and has a high liquid absorption capacity. Although BC has many applications in the health area, it has been studied for other applications in diverse areas, such as textiles, food packaging, paper, electronics, among others. Within this context, the present work aimed at the study of the degradation of BC in different environmental conditions, since they can be discarded in the environment. The membranes of BC produced were analyzed dry and wet, being monitored in these environments as a function of degradation time and after characterization, aiming to know the degradation characteristics, which may direct future studies and applications in this research area. The methodology employed involved the biosynthesis of BC membranes by *Komagataeibacter* and purification with a solution of 0.1 M sodium hydroxide in a water bath at 80 ° C for 1 h. The degradation of the BC membranes was evaluated at different degradation times in the following media: soil (SO), estuarine environment (EE), natural weathering (NW) and accelerated aging (AA), using greenhouse dried BC membranes air circulation and humid conditions. The membranes were removed at predetermined periods and were monitored by visual analysis, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA). In the visual analysis, it was possible to observe the physical alterations, such as roughness, cracks, color change. The results of FTIR showed the chemical changes that the membranes suffered during the time of exposure to the environments, in relation to the structures of the control BC. The TGA analyzes indicated the thermal and mass loss changes that occurred in the membranes after degradation. The results showed that, although the tests took place under different conditions, in general the intensity of the membrane degradation occurred in the following order: SO > AE > IN > EA. In the SO and EE the degradation was more intense facilitated by the greater presence of microorganisms in these media, which promote the microbial attack. The wet membranes suffered more rapid degradation than the dry ones. This fact can be explained because the membrane of BC is extremely porous, but with drying in greenhouse, these pores are collapsed, while in the wet membrane the pores remain intact, the water being a vehicle that helps to transport the microorganisms to within the membrane and consequently accelerate degradation.

**Key words:** Bacterial cellulose, *Komagataeibacter*, biodegradation, degradation, biocellulose.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química e ligações de hidrogênio intra e inter-moleculares na celulose cristalina. ....	19
Figura 2: Pesquisa com a palavra-chave "Bacterial Cellulose" em diferentes bases de dados: a) patentes; b) artigos, teses e dissertações. ....	22
Figura 3: Formação da membrana de CB na interface líquido-ar.....	23
Figura 4: Micrografias no MEV de membrana de CB liofilizada, mostrando a superfície compacta A (aumento de 1000x) e seção transversal revelando as nanofibras soltas no lado poroso B (aumento de 3000 x) .....	23
Figura 5: Micrografias de MEV da rede de celulose bacteriana, mostrando (a) bactérias excretando as nanofibras celulósicas, (b) <i>Gluconacetobacter xylinum</i> , embutida na rede fibrilar de celulose.....	26
Figura 6: Fluxograma de produção da membrana de CB: .....	33
Figura 7: Incubadora – UNIVILLE. (a) Becker com camada de solo e membrana de CB sobre o solo; (b) Béqueres com solo e membranas de CB (seca e úmida), .....	35
Figura 8: (a) Lanterna tendo as membranas dispostas por andar, (b) Ambiente estuarino onde as membranas foram submersas, São Francisco do Sul –SC.....	36
Figura 9: Campus UNIVILLE – Estação meteorológica – Comitê Cubatão Cachoeira Joinville .....	36
Figura 10: Câmara de envelhecimento acelerado – Laboratórios de matérias – UNIVILLE. ....	37
Figura 11: Registros fotográficos das membranas de CB secas ao longo do tempo de exposição para cada condição ambiental.....	41
Figura 12: Registros fotográficos das membranas de CB úmida ao longo do tempo de exposição para cada condição ambiental.....	42
Figura 13: Espectro de FTIR, CB controle. ....	47
Figura 14: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em solo: a) secas; b) úmidas.....	52
Figura 15: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em ambiente estuarino: a) secas; b) úmidas. ....	53
Figura 16: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em intemperismo natural: a) secas; b) úmidas. ....	54

Figura 17: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em Câmara de envelhecimento: a) secas; b) úmidas.....	55
Figura 18: Curvas obtidas por TGA: Curvas TG (verde) e DTG (azul) da CB Controle. ....	57
Figura 19: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB seca degradada em SO.....	60
Figura 20: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB úmida degradada em SO.....	61
Figura 21: curvas TG (a) e DTG (b) da CB seca degradada em AE. ....	62
Figura 22: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB úmida degradada em AE. ....	63
Figura 23: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB SECA, degradada em IN. ....	64
Figura 24: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB Úmida, degradada em IN.....	65
Figura 25: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB seca, degradada em EA. ....	66
Figura 26: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB úmida, degrada em EA. ....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados do tempo, no período que as membranas de CB, ficaram expostas ao IN.....	45
Tabela 2: Dados obtidos das curvas TGA para as membranas CB SECA. ....	68
Tabela 3: Dados obtidos das curvas de TGA para as membranas CB ÚMIDA.....	69

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Produtos a base de celulose bacteriana comercializados. ....	21
Quadro 2: Aplicações da CB em diferentes segmentos: .....	28
Quadro 3: Bandas obtidas por FTIR da CB controle e respectivas atribuições.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Ambiente Estuarino
CB	Celulose bacteriana
CV	Celulose vegetal
DTG	Derivada da termogravimétrie
EA	Envelhecimento acelerado
ESEM	Environmental scanning electron microscopy
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
IN	Intemperismo natural
RSU	Resíduo sólido urbano
SO	Solo
TGA	Análise termogravimétrica
$T_{max}$	Temperatura na qual a taxa de degradação é máxima
$T_{onset}$	Temperatura de início de degradação extrapolada

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>12</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>13</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
2.1. OBJETIVOS GERAIS.....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
3.1. CELULOSE .....	19
3.2. CELULOSE BACTERIANA (CB) .....	20
3.2.1 Histórico da CB.....	20
3.2.2. Biossíntese.....	22
3.2.4 Aplicações .....	27
3.2.5. Degradação .....	29
3.2.6 Estado da Arte .....	31
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>32</b>
4.1 SÍNTESE DE CB.....	32
4.2 PURIFICAÇÃO E SECAGEM .....	33
4.3 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS .....	34
4.3.1 Solo (SO).....	34
4.3.2 Ambiente Estuarino (AE) .....	35
4.3.3 Intemperismo Natural.....	36
4.3.4 Câmara de Envelhecimento Acelerado (EA) .....	36

4.4	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DEGRADADAS .....	37
4.4.1	Análise Visual (AV) .....	37
4.4.2	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)37	
4.4.3	Análise termogravimétrica (TGA).....	37
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>39</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO.....	39
5.1.1	Caracterização da amostra após Análise Visual.....	39
5.1.2	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier – FTIR.....	43
5.1.3	TGA .....	56
5.1.4	Quadros fechamento discussão.....	66
	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>70</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A população brasileira apresentou um crescimento de 0,8 % entre 2015 e 2016, enquanto a geração total de resíduos de resíduos sólidos urbano (RSU), gerados no país, acompanhou o crescimento populacional. Somente no ano de 2016, foram gerados 71,34 milhões de toneladas de RSU, 45 milhões de toneladas de resíduos de construção e demolição e 256 mil toneladas de resíduos de serviços de saúde. Foram cerca de 117 milhões toneladas de resíduos, no ano de 2016. Solucionar um problema, que a cada dia fica mais grave e mais custoso de ser revertido, é um desafio dos órgãos públicos, já que a poluição e demais impactos causados pela má gestão dos resíduos atingem o meio ambiente e a saúde das pessoas de maneira indiscriminada, contaminando o solo, o ar e os recursos hídricos, essenciais para o bem estar e sobrevivência da espécie humana (ABRELPE, 2017, web).

Produtos à base de polímeros plástico estão incorporados ao cotidiano das pessoas em todo o mundo: embalagens, brinquedos, móveis, tecidos e automóveis. O uso do material revolucionou a indústria, mas também gerou um grande desafio para o planeta: o acúmulo de resíduos. Cientistas americanos descobriram que, de 1950 - data em que a produção em larga escala dos materiais sintéticos começou - até 2015, os seres humanos geraram 8,3 bilhões de toneladas de plástico. Desse número, 6,3 bilhões de t se tornaram resíduos. Menos de 10% desse montante foi reciclado. Os pesquisadores preveem que cerca de 12 bilhões de toneladas de resíduos polímeros terminarão em aterros sanitários ou no ambiente natural até 2050 (SOARES, 2017, web). A substituição de parte dos polímeros sintéticos por polímeros biodegradáveis constitui uma das alternativas viáveis para ajudar a solucionar este problema.

Dentre os polímeros considerados biodegradáveis está a celulose bacteriana (CB), que é o foco de estudo deste trabalho. A celulose  $(C_6H_{10}O_5)_n$  é considerada promissora, para inúmeras aplicações. É o polímero natural mais abundante na biosfera, sendo a celulose extraída de fonte vegetal a mais explorada comercialmente devido à sua disponibilidade, pois é base estrutural da parede celular de plantas. Porém, além desta fonte, a celulose pode ser produzida por

algas, e animais marinhos (como os tunicados) fungos e secretada extracelularmente por diversas cepas de bactérias, sendo as do gênero *Komagataeibacter a mais explorada* (ERENO, 2004)(DONINI *et al.*, 2010) (CZAJA *et al.*, 2007).

A CB surge como uma alternativa competitiva, possuindo como principais características: alta cristalinidade, alta resistência à tração, elasticidade, durabilidade, potencial hidrofílico (capacidade de retenção e absorção de água – cerca de 98 a 99% de seu volume é composto de líquidos), atoxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Estas importantes propriedades têm conduzido pesquisadores a encontrar uma gama de aplicações para este material (RECOUVREUX, 2008)(SOARES *et al.*, 2009)(VINHAS *et al.*, 2007)(ALMEIDA, 2010).

Embora a CB tenha inúmeras aplicações na área da saúde como na reconstrução e substituição temporária da pele, em queimaduras e outras situações (BARUD *et al.*, 2013), ela vem sendo estudada para uma gama de outras aplicações em áreas diversas, como, alimentícia, têxtil, embalagens ativas para alimentos, papel, eletrônica, comunicação, entre outras (DONINI *et al.*, 2010).

Em relação ao comportamento de degradação da CB, a literatura relata uma taxa de degradação *in vitro* lenta (OLIVEIRA *et al.*, 2013) limitando seu uso para aplicações onde se deseja que o material seja completamente reabsorvido no organismo. Com o objetivo de acelerar a taxa de degradação *in vitro*, Wang *et al.* (2016), adicionaram celulase à CB, permitindo o controle do tempo de degradação por meio do teor de celulase. Já em relação a degradação em outros ambientes, existe uma lacuna de conhecimento, o que justifica a relevância no aprofundamento de pesquisa nesta temática. Um dos artigos encontrado na literatura, relata que a CB, apresentou decréscimo de sua massa e alteração em sua superfície ao estudar a biodegradação em solo deste material, mostrando indícios de sua biodegradabilidade (SCHROPFER *et al.*, 2015). Já em outros ambientes, como ambiente estuarino, envelhecimento acelerado e intemperismo natural, não foram encontrados até o momento nenhuma publicação nas bases de dados pesquisadas.

Dentro deste contexto, o presente trabalho buscou avaliar a CB na condição úmida e seca após exposição em diferentes ambientes em distintas condições de degradação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVOS GERAIS**

Avaliar a degradação de membranas de CB, secas e úmidas, após exposição em: solo, estuário marinho, intemperismo natural e câmara de envelhecimento acelerado.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

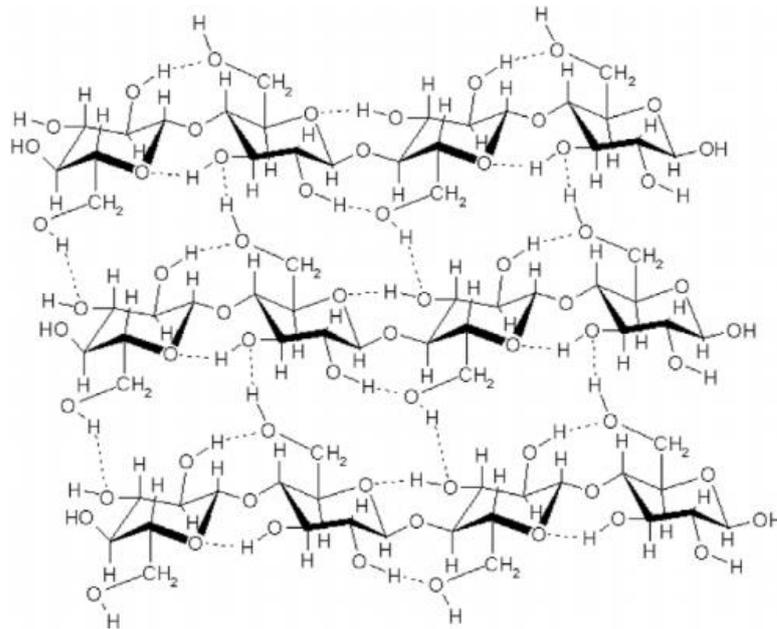
- ✓ Determinar a influência dos diferentes ambientes (solo, estuário marinho, intemperismo natural e câmara de envelhecimento acelerado), considerando os parâmetros do ambiente e do tempo, sobre as características físicas e químicas do processo de degradação da CB.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1. CELULOSE

A celulose é um homopolímero que apresenta fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , com  $n$  variando de 500 a 5000, sendo o material polimérico mais difundido na natureza, (MÜLLER *et al.*, 2006) cuja estrutura química está apresentada na figura 1.

Figura 1: Estrutura química e ligações de hidrogênio intra e inter-moleculares na celulose cristalina.



FONTE: SAMEERRAHATEKAR, 2008.

A celulose é um polímero formado por cadeia linear não ramificada de moléculas de glicose unidas por ligações do tipo  $\beta(1 \rightarrow 4)$  glicosídicas, que permitem uma rotação de  $180^\circ$  da unidade seguinte de glicose ao redor do eixo C1-C4 do anel de piranose, podendo ser obtida por diferentes rotas (KLEMM *et al.*, 2005).

É o biopolímero mais abundante do mundo com grande importância econômica, com produção estimada de  $10^{14}$  t/ano, podendo ser encontrados ou produzidos em diferentes formas de vida, como plantas verdes, fungos, protozoários e procariontes. A celulose é o principal componente da parede celular das plantas, contendo outras substâncias como lignina, pectina e hemicelulose, que tornam

oneroso o processo de extração quando relacionada para fins industriais. A celulose pode ser dividida em dois grupos: grupo da celulose complexa e o grupo da celulose pura, no qual se encontra a celulose bacteriana (DONINI *et al.*, 2010).

### 3.2. CELULOSE BACTERIANA (CB)

#### 3.2.1 Histórico da CB

A CB foi primeiramente relatada por Brown (1886) depois de descobrir um organismo no *Mycoderma aceti* ("mãe do vinagre") que produzia, quando cultivado em um meio contendo frutose, membranas extremamente fortes. Ele sugeriu para este organismo o nome *A. xylinum*. Em seu artigo original, Brown descreve suas observações como: "um cultivo puro da "planta de vinagre" quando começa a crescer em um líquido favorável ao seu desenvolvimento livre, é geralmente notado como uma massa translúcida gelatinosa na superfície meio de cultivo. Esse crescimento aumenta rapidamente até que toda a superfície do líquido seja coberta por uma membrana gelatinosa que, em circunstâncias muito favoráveis, pode atingir uma espessura de 25 mm" (LEE *et al.*, 2014).

O primeiro uso de CB como produção industrial foi em 1870 pela Hyatt Manufacturing Company, produzindo um polímero termoplástico, um material derivado de nitrocelulose e cânfora chamado celulóide, sendo que a celulose apareceu em muitas outras aplicações industriais. O celulóide ainda é aplicado hoje, por exemplo, em bolas de tênis de mesa, em instrumentos de música e como materiais de filme na indústria da fotografia e da música (OLABISI; ADEWALE, 2016).

Entre os anos de 1940 a 1960, pesquisadores da Hebrew University em Jerusalém investigaram intensamente a bioquímica da produção de CB por *G. xylinus*. Os autores publicaram vários artigos detalhando métodos simplificados para produção e quantificação da celulose produzida, sendo esses métodos amplamente utilizados nos dias atuais (HESTRIN; SCHRAMM, 1954).

Na década de 1980, alguns pesquisadores de empresas e organizações japonesas começaram a se concentrar na características da CB e fabricação do material com alta composição (SHIBAZAKI *et al.*, 2003). Outros cientistas que utilizam o *Acetobater xilinum* produziram CB de ligação cruzada por meio de fermentação submersa (YAMANAKA *et al.*, 1989).

Um gel de CB, chamado de nata, originário das Filipinas em 1990, foi a primeira produção conhecida de CB. É uma sobremesa tradicional no Sudeste Asiático. Devido à sensação suave da boca e ao processo de fabricação simples, este alimento tornou-se muito popular e tem se espalhando rapidamente em todo o mundo. Existem muitos tipos de nata, como nata de coco e nata de abacaxi, com o seu sabor sendo controlado pelo meio de cultivo (SHI *et al.*, 2014).

Alguns produtos comerciais encontrados utilizando a CB estão listadas no Quadro 1.

A Seven Indústria de Produtos Biotecnológicos Ltda é uma empresa brasileira situada em Londrina, no Paraná, que produz os curativos com as marcas comerciais Nexfill®, Dermafill® e Cuticellepigraft® (BSN - Europa), que representam substitutos eficazes para áreas de pele lesionadas, produzidos a base de celulose bacteriana.

A Bionext® Produtos Biotecnológicos Ltda é uma sociedade constituída para a produção industrial em larga escala de celulose bacteriana, tendo como um dos produtos o Bionext®, um tecido biológico a base de CB, sem a adição de outros componentes ou fármacos, para uso médico como substituto temporário da pele em feridas como queimaduras, feridas traumáticas, úlceras crônicas e úlceras em pacientes diabéticos.

Quadro 1: Produtos a base de celulose bacteriana comercializados.

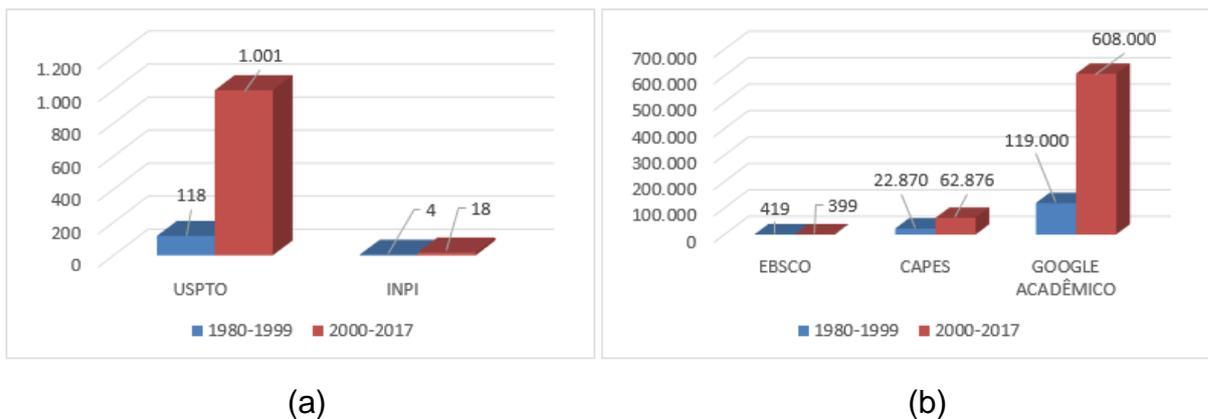
<b>PRODUTO/EMPRESA</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
Nexfill®, Dermafill® e Cuticellepigraft® / Seven Indústria de Produtos Biotecnológicos Ltda (Brasil)	Curativos de biocelulose	(NEXFILL, 2018, web)
Bionext®/Bionext® Produtos Biotecnológicos Ltda	Curativo para substituto temporário da pele	(BIONEXT, 2018, web)
Evophancie biotech Ltd. (Taiwan)	Máscaras faciais, curativos, produto para hidratação da pele, produtos para liberação controlada na agricultura a base de celulose bacteriana	(EVOPHANCIE, 2018, web)
Neurocel	Membrana de CB para substituição da dura-máter (meninge), em caso de lesões por tumores ou traumatismos.	(NEUROCEL, 2017, web)

A Evophancie biotech Ltda. é uma empresa localizada em New Taipei / Taiwan, sendo focada em pesquisa e desenvolvimento de aplicações relacionadas à CB, especialmente em máscaras médicas.

Em 2017, a Neurocel, uma empresa que ingressou na Incubadora Tecnológica do Tecpar, em Curitiba, vem desenvolvendo uma pesquisa na área da neurocirurgia, para produzir uma membrana a base de CB com a finalidade de substituir a dura-máter (meninge), em caso de lesões por tumores ou traumatismos.

O número de pesquisas de CB tem crescido ao longo das décadas, tendo a atenção de muitos pesquisadores. Figura 2 apresenta resultados do incremento das pesquisas utilizando a palavra-chave “bacterial cellulose” em diferentes bases de dados.

Figura 2: Pesquisa com a palavra-chave "Bacterial Cellulose" em diferentes bases de dados: a) patentes; b) artigos, teses e dissertações.



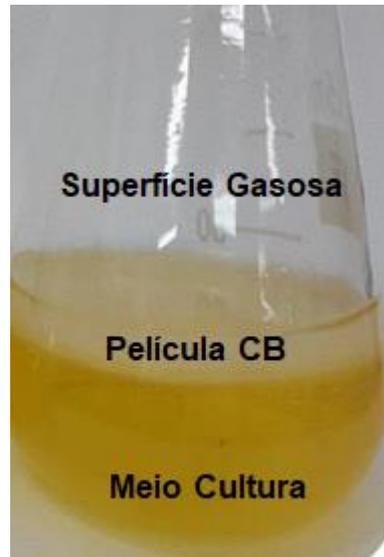
### 3.2.2. Biossíntese

A CB é um polímero linear de glicose, altamente cristalino, sintetizado extracelularmente por diversas bactérias. Entre as bactérias produtoras de CB, pode-se destacar a *Gluconacetobacter* (formalmente *Acetobacter* e recentemente renomeada para *Komagataeibacter*).

A CB é sintetizada extracelularmente como fibrilas nanométricas pela bactéria *Komagataeibacter*, que constrói uma película de CB, entre o meio de cultura e a

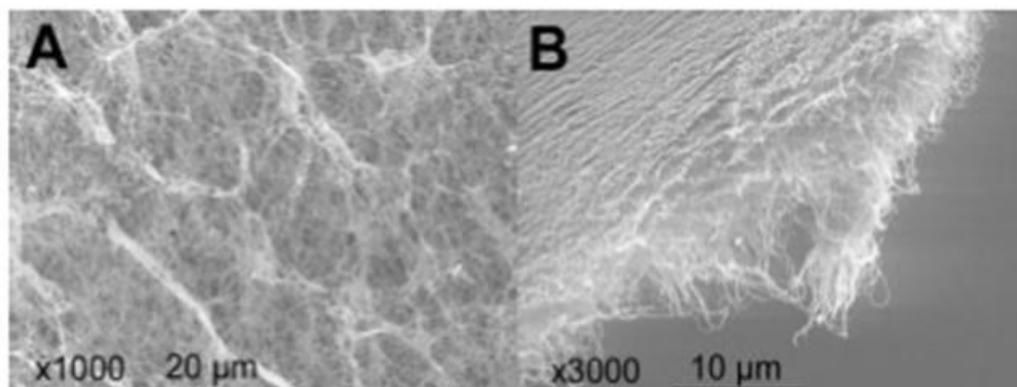
superfície gasosa, como ilustrado na Figura 3. Essa membrana é assimétrica (Figura 4), possuindo de um lado uma superfície densa e do lado oposto uma camada gelatinosa porosa, que está em contato com o líquido (HELENIUS *et al.*, 2006).

Figura 3: Formação da membrana de CB na interface líquido-ar.



Fonte: (REVISTA FAPESP, 2017)

Figura 4: Micrografias no MEV de membrana de CB liofilizada, mostrando a superfície compacta A (aumento de 1000x) e seção transversal revelando as nanofibras soltas no lado poroso B (aumento de 3000 x)



Fonte: (HELENIUS *et al.*, 2006).

A síntese de celulose por *G. xylinus* se dá a partir da glicose transportada do meio externo para o citoplasma da bactéria ou de fontes internas. A conversão da glicose transportada do meio externo para o citoplasma bacteriano é catalisada por quatro enzimas, sendo elas (DONINI *et al.*, 2010):

- ✓ glicoquinase, que é a enzima responsável pela fosforilação do carbono 6 da glicose;
- ✓ fosfoglicomutase que catalisa a reação de isomerização da glicose-6-fosfato para glicose-1-fosfato;
- ✓ UDPG- pirofosforilase (glicose-1-fosfato-uridililtransferase) que sintetiza a UDP - glicose (UDPG);
- ✓ celulose sintase (CS) que produz a celulose a partir de UDP-glicose.

A síntese da celulose, a partir de fontes endógenas, se dá a partir da gliconeogênese que, em *G. xylinus*, ocorre a partir do oxalacetato, via piruvato, devido a um mecanismo de regulação não comum das enzimas oxalacetato descarboxilase e a piruvato fosfato diquinase, que converte o piruvato a fosfoenolpiruvato. A reação de síntese de CB constitui um processo oneroso para a célula, consumindo cerca de 10 % do ATP gerado no metabolismo bacteriano. Assim, a energia empregada para a síntese da CB é proveniente do metabolismo aeróbio. Existem diferentes propostas quanto ao substrato utilizado pela CS. Uma hipótese propõe a ligação da UDP-glicose a lipídios da membrana plasmática e a outra considera que o precursor solúvel interage diretamente com a CS. Um modelo hipotético da rota metabólica para a biossíntese de CB por *G. xylinus* é descrito por Donini et al. (2010).

A formação da membrana de CB pode ocorrer não apenas em meio estático, mas também em cultivos dinâmicos, ou seja, agitados, como em biorreatores ou em frascos com agitação, feitos com o objetivo de aumentar a produção. Nestes casos, o material produzido tem baixa resistência mecânica e se apresenta na forma de *pellets* ou como um emaranhado de fibras. Durante a formação da membrana no meio de cultura é possível inserir diversos materiais no meio de cultura para o desenvolvimento de compósitos à base de CB (BAE; SHODA, 2005).

A membrana de CB começa a se formar quando cada bactéria dá origem a cadeias que se agregam formando microfibrilas com largura de, aproximadamente, 1,5 nm. Estas, posteriormente agrupam-se com outras 36 iguais a elas, formando então uma fibrila elementar com um diâmetro de 3,5 nm. As demais fibrilas adjacentes juntam-se por meio de ligação de hidrogênio formando uma fita. Essas fitas atingem comprimentos que variam entre 1 e 9  $\mu\text{m}$  e formam uma estrutura

reticulada densa, que é estabilizada por ligação de hidrogênio (PECORARO *et al.*, 2008). É importante salientar que, durante o processo de formação, a celulose é formada somente nas áreas próximas da superfície e não em todo o meio de cultivo, de modo que a produtividade depende principalmente da área de superfície e não do volume do recipiente.

Enquanto o sistema for mantido imóvel, a membrana se mantém suspensa na parede interna do frasco por coesão e desliza firmemente para baixo enquanto aumenta de espessura. Foi experimentado pelos autores que o crescimento da camada contínua de gel tende a falhar se um frasco de boca cônica é usado. As bactérias contidas na membrana podem ser facilmente removidas, através da imersão em soluções alcalinas diluídas em água (IGUCHI *et al.*, 2000).

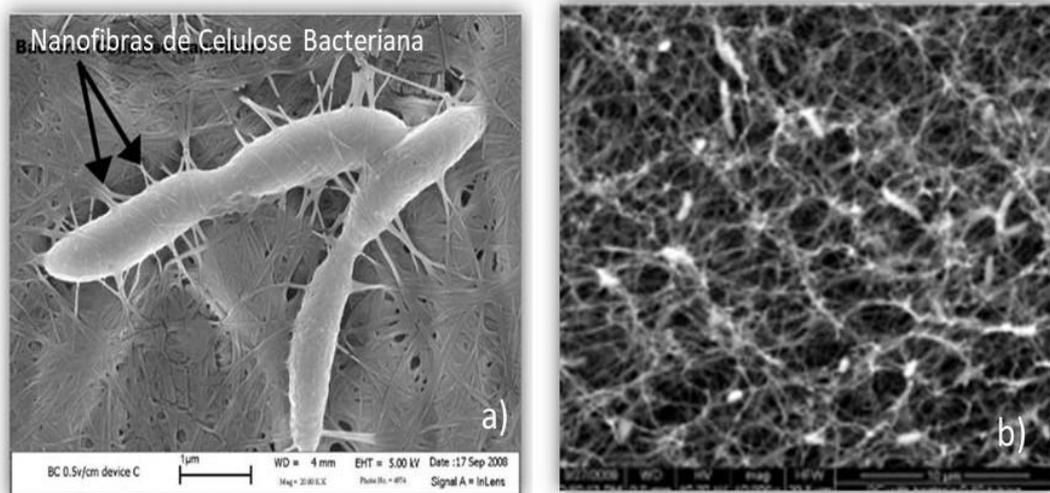
### 3.2.3 Propriedades

A estrutura da CB consiste em uma rede de nanofibras interligadas por ligações de hidrogênio (YAMANAKA *et al.*, 2000). Na Figura 5(a) observa-se as bactérias excretando as nanofibras celulósicas. No processo de formação dessas fibras, a polimerização e a cristalização ocorrem juntas para incluir ambas as características, produzindo um polímero altamente cristalino. As nanofibras, ilustradas na Figura 5(b), têm dimensões transversais na faixa de nm, que podem então ser agregadas para formar microfibrilas com uma largura de 50-80 nm e uma espessura de 3-8 nm (TABUCHI, 2007). Estes podem então formar uma estrutura de rede 3D altamente porosa, o que lhe confere uma alta capacidade de retenção de água. A capacidade de absorção de água da CB é elevada em comparação com outros produtos orgânicos. Normalmente, a CB pode reter 60-700 vezes mais água que a sua própria massa seca. Devido à estrutura superfina da CB e de seus grupos hidrofílicos, "túneis" são formados nas membranas de CB para reter a água, sendo que a CB retém cerca de 300 vezes mais água que a celulose de madeira (CHEN, 2014).

A CB, diferentemente da CV, não contém lignina, componentes de origem animal e nenhuma espécie de proteína estranha e portanto, não causa reações alérgicas (SANCHAVANAKIT *et al.*, 2006). É um material altamente hidrofílico e tem a possibilidade de ser moldada em estruturas tridimensionais durante a síntese

(HELENIUS et al., 2006). Além disso, ela é insolúvel em água sendo degradada na natureza por enzimas (MARTSON et al., 1999).

Figura 5: Micrografias de MEV da rede de celulose bacteriana, mostrando (a) bactérias excretando as nanofibras celulósicas, (b) *Gluconacetobacter xylinum*, embutida na rede fibrilar de celulose.



Fonte: (BACTERIAL-CELLULOSE, 2018, web)

A CB possui propriedades mecânicas únicas, não apresentadas por outros biomateriais (ROSS et al., 1991);(LILLARD et al., 1999). A CB apresenta alta resistência à tração e módulo de elasticidade. O módulo de Young de um único filamento de CB foi estimado por espectroscopia Raman, variando na faixa de 16 a 18 GPa isotropicamente na superfície do plano, extraordinariamente elevado para materiais bidimensionais de substâncias orgânicas, e foi melhorado até 30 GPa. Já o módulo de elasticidade da CB seca alcançou  $15 \times 10^9$  Pa. No entanto, os materiais orgânicos atingem apenas  $5 \times 10^9$  Pa. A resistência à tração é quase 6 vezes mais elevada que as membranas de polietileno e PVC na mesma espessura (CHEN, 2014).

Além da sua pureza e atoxicidade, ela é biocompatível, propriedades estas apropriadas para a obtenção de novos biomateriais para aplicações médicas e de Engenharia de tecidos (SVENSSON et al., 2005). De acordo com Williamns (1987), a biocompatibilidade pode ser definida como a “capacidade de o material ter uma resposta apropriada numa aplicação específica, com o mínimo de reações alérgicas, inflamatórias ou tóxicas, quando em contato com os tecidos vivos ou fluidos orgânicos”.

#### 3.2.4 Aplicações da CB.

Devido às propriedades anteriormente citadas, a CB apresenta características importantes que combinam várias propriedades, que são essenciais para aplicações *in vitro* e *in vivo*. Consequentemente, a CB é um dos materiais mais promissores para a utilização na área biomédica, seja como auxiliar na cura de lesões dérmicas, queimaduras, úlceras ou na engenharia de tecidos, auxiliando a regeneração celular ou no desenvolvimento de *scaffolds* (CZAJA *et al.*, 2007) (SANCHAVANAKIT *et al.*, 2006) (SVENSSON *et al.*, 2005) (CROCE *et al.*, 2004). No Quadro 2 estão relacionados exemplos de aplicações deste biopolímero em outras áreas.

Quadro 2: Aplicações da CB em diferentes segmentos:

Área	Aplicação	Referência
Indústria de alimentos	Nata de coco ou de abacaxi, agente estabilizante, agente espessante, agente gelificante, agente de suspensão, ingrediente para produtos de baixa caloria, produtos de baixo colesterol, embalagens ativas para alimentos	(SHI <i>et al.</i> , 2014) (SORATTO DA SILVA, 2017)
Indústria de bebidas	Kombucha é uma bebida artesanal tradicional produzida pelo bioprocessamento de chás adoçados por meio de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras. Entre as bactérias presentes na cultura encontra-se a <i>Gluconacetobacter xylinus</i> .	(MAFRA <i>et al.</i> , 2017)
Indústria Têxtil	Roupas para esportes, tendas e equipamento de camping, tecido, roupas orgânicas, sapatos, roupas, camisas e jaquetas.	(DONINI <i>et al.</i> , 2010) (BIOCOUTURE, 2018, web)
Indústria de papel	Substituição artificial de madeira, papéis especiais.	(DONINI <i>et al.</i> , 2010) (BASTA AND EL-SAIED, 2009) (IGUCHI <i>et al.</i> , 2000)
Comunicações	Diafragma sensíveis para fones de ouvido da multinacional japonesa Sony	(IGUCHI <i>et al.</i> , 2000) (DONINI <i>et al.</i> , 2014)
Eletrônica	Materiais opto-eletrônicos (telas de cristal líquido, suporte para OLEDs), papel eletrônico	(LEGNANI <i>et al.</i> 2008)
Cosméticos	Estabilizador de emulsões como cremes tônicos, condicionadores, polidores de unhas.	(DONINI <i>et al.</i> , 2010)
Mineração e refinaria	Esponjas para coletas de vazamento de óleos, materiais para absorção de toxinas	(DONINI <i>et al.</i> , 2010)
Tratamento de lixo e purificação de esgotos	Reciclagem de minerais e óleos. Ultra filtração de água	(DONINI <i>et al.</i> , 2010)
Laboratórios	Imobilização de proteínas de células, técnicas cromatográficas, meio para cultura de tecidos	(DONINI <i>et al.</i> , 2010)
Energia	Membranas células combustível (paládio)	(DONINI <i>et al.</i> , 2010)
Material acústico	Membrana vibrante de celulose, usado em estéreo, microfone e fone de ouvido. Tendo excelente velocidade de transferência, alta fricção interna.	(CHEN 2014)

### 3.2.5. Degradação

A degradação pode ser descrita como um processo irreversível, que leva a uma alteração significativa na estrutura do material, sendo caracterizada tipicamente pela alteração nas suas propriedades (integridade, massa molecular, estrutura e força mecânica) e/ou pela sua fragmentação. A degradação de um polímero depende da natureza do mesmo e das condições do ambiente, as quais podem variar desde a exposição a fatores abióticos (sol, calor, umidade) até a assimilação por um micro-organismo vivo (bactérias, fungos e algas), fator biótico. Dependendo do ambiente ativo, a degradação pode ser classificada em categorias como fotodegradação (por luz), termodegradação (por temperatura), biodegradação (por micro-organismo), hidrólise (presença de água), degradação oxidativa (presença de oxigênio) dentre outras (MEI et al. 2005).

É importante ressaltar a diferença entre os termos degradação e biodegradação, degradação é qualquer reação química destrutiva, que pode ser causada por agentes físicos e/ou químicos (NUNES *et al.*, 2017) e a biodegradação ou degradação biológica, refere-se às alterações pelo ataque destrutivo de micro-organismos, tais como fungos, bactérias e algas, indica a predominância da atividade biológica neste processo. Contudo, na natureza, fatores bióticos e abióticos agem sinergicamente para decompor a matéria orgânica. Vários estudos sobre a biodegradação de alguns polímeros mostram que a degradação abiótica precede a assimilação microbiana. Conseqüentemente, a degradação abiótica não deve ser negligenciada (PASIZNICK, 2012). Segundo estabelecido pela American Standard for Testing and Methods (ASTM-D-883), polímeros biodegradáveis são polímeros degradáveis nos quais a degradação resulta primariamente da ação de micro-organismos tais como bactérias, fungos e algas de ocorrência natural. Em geral, derivam desse processo  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ , componentes celulares microbianos e outros produtos (ROSA *et al.*, 2002). A biodegradação pode ser dividida em aeróbia ou anaeróbia. A aeróbia é a atividade biológica que transforma material orgânico em  $\text{CO}_2$ , água e húmus na presença de oxigênio, enquanto na anaeróbia, o material orgânico é transformado em gás metano ( $\text{CH}_4$ ), água e húmus na ausência de oxigênio (ASTM D833; ABNT/ONS, 2007).

Para que a biodegradação ocorra são necessários seis requisitos básicos (BEDIENT *et al.*, 1994): (i) presença de micro-organismos capacitados a degradar;

(ii) fonte de energia; (iii) fonte de carbono; (iv) presença de receptores de elétrons ( $O_2$ ,  $NO_3^-$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $CO_2$ ); (v) nutrientes (nitrogênio, fósforo, cálcio e outros) e (vi) condições do ambiente aceitáveis (temperatura, pH, salinidade, umidade....)

A degradação da CB não está completamente elucidada. Sabe-se que a degradação da celulose em tecidos animais e humanos é considerada lenta, em virtude da ausência da reação de hidrólise que ataca a ligação  $\beta(1\rightarrow4)$  da cadeia de celulose. As pontes de hidrogênio dos grupos hidroxila, que mantêm as cadeias da celulose juntas, fazem com que a CB tenha um alto grau de cristalinidade, baixa solubilidade e tênue degradação *in vivo*. Apesar da ideia de um material completamente degradável para ser utilizado na engenharia de tecidos ser interessante, as dificuldades enfrentadas com os materiais degradáveis, como a otimização e sincronia do tempo de degradação e as propriedades mecânicas, levam a acreditar que um material não degradável possa também ser vantajoso em relação aos *scaffolds* degradáveis (HELENIUS *et al.*, 2006).

Entretanto, existem poucos trabalhos na literatura, sobre a degradação da celulose bacteriana em outros ambientes.

As celulasas são enzimas pertencentes à classe das hidrolases, que constituem um complexo capaz de atuar sobre materiais celulósicos, promovendo sua hidrólise. Estas enzimas são biocatalisadores altamente específicos que atuam em sinergia para a liberação de açúcares, dos quais a glicose é o que desperta maior interesse industrial, devido à possibilidade de sua conversão em etanol (FLORENCIO, 2011).

A classificação das celulasas, de acordo com seu local de atuação no substrato celulósico, pode ser dividida em três grandes grupos: a) Endoglucanases (EGases), que clivam ligações internas da fibra celulósica; b) Exoglucanases (ExGases), que atuam na região externa da celulose; e c)  $\beta$ - glicosidases ( $\beta$ Gases), que hidrolisam oligossacarídeos solúveis a glicose. Quando atuam conjuntamente, as enzimas do complexo celulásico apresentam um rendimento melhor do que a soma dos rendimentos individuais, ou seja, quando atuam isoladamente umas das outras, efeito conhecido como sinergia (FLORENCIO, 2011).

### 3.2.6 Estado da Arte

Oliveira et al. (2013) desenvolveram estruturas tubulares semelhantes a vasos sanguíneos e avaliaram a degradação *in vitro* em solução *phosphate buffered saline* (PBS) - solução salina tamponada. Os tubos de CB apresentaram uma degradação muito lenta, confirmado por ensaios conduzidos por 20 semanas. A baixa velocidade de degradação dos vasos é de grande importância, visto que o processo para o estabelecimento de novos vasos (angiogênese) demanda tempo. Além disso, uma lenta degradação é interessante quando não se deseja que o implante celulósico se degrade rapidamente, permanecendo inalterado estruturalmente por muitos meses no organismo, como ocorre com os *stents* na aterosclerose.

Wang et al. (2016) desenvolveram materiais de CB/celulase que são biodegradáveis. O estudo *in vitro* revelou que os compósitos de BC/celulase degradaram gradualmente em SBF dentro de 24 semanas e que a taxa de degradação pode ser ajustada modulando o conteúdo de celulase. As propriedades mecânicas indicam que a CB/celulase pode manter a resistência à tração por 24 dias durante o processo de degradação. O crescimento celular e adesão celular indicaram boa compatibilidade *in vitro*. O estudo *in vivo* mostrou que não houve degeneração do tecido e nem aparecimento de necrose, indicando boa compatibilidade.

Schröpfer et al. (2015) avaliaram a biodegradação em solo da CB, celulose vegetal e poli(3-hidroxibutirato) utilizando TGA e MEV para acompanhar a degradação. As amostras foram removidas após 30 e 180 dias. Os resultados mostram que a massa do polímero, de todas as amostras, aumentou no primeiro mês, quando em contato com o solo, onde a celulose vegetal apresentou a maior porcentagem (80%), sugere que as amostras absorveram água, o que facilita o processo de degradação. Porém em seguida, ele foi degradado tal como evidenciado pela perda de massa e as alterações na superfície das amostras.

Não tendo sido relatado na literatura outros estudos de degradação da CB em outras condições ambientais, justificando assim a relevância desse estudo.

## 4 METODOLOGIA

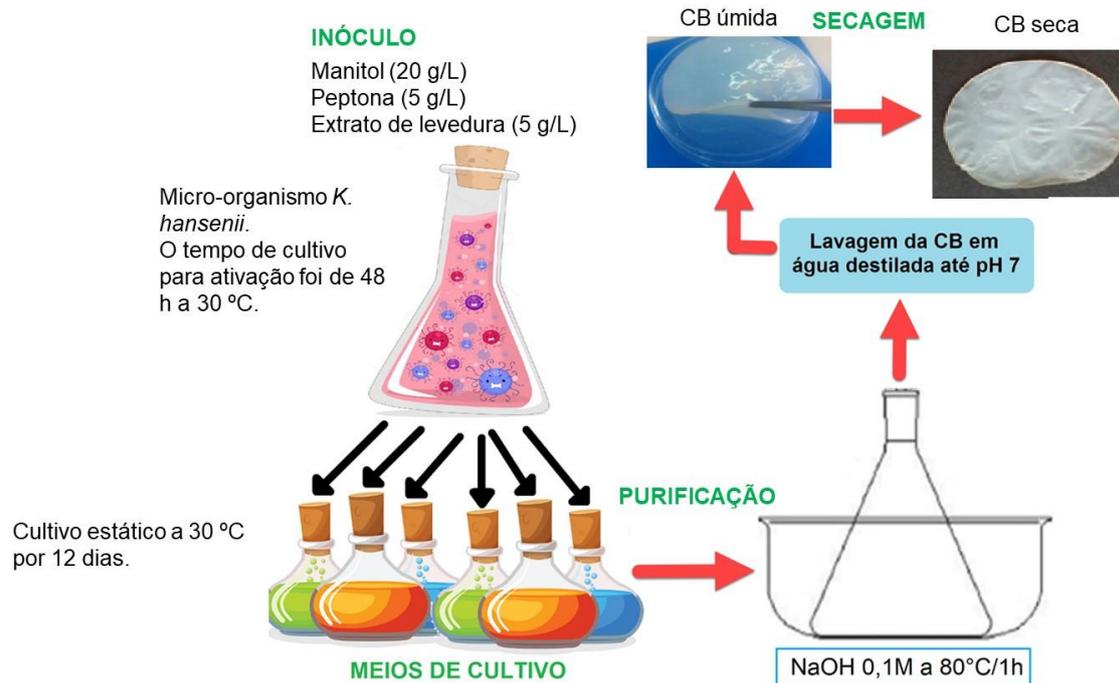
### 4.1 SÍNTESE DE CB

Para visualizar melhor a síntese da CB está representada no fluxograma ilustrado na Figura 8. As membranas de CB foram sintetizadas pela bactéria *Komagataeibacter* recentemente nominada *Komagataeibacter hansenii*, linhagem ATCC 23769.

Foi utilizado o meio de cultura Hestrin e Schramm (HS), a ativação das células foi conduzida em um frasco de Erlenmeyer com 50 mL de meio de cultivo contendo manitol (20 g/L), peptona (5 g/L), extrato de levedura (5g/L), ácido cítrico (1,15 g/L), fosfato dissódico (2,7 g/L) e um *vial* de *Komagataeibacter*, sendo a cultura mantida estática, sob temperatura ambiente 30°C, por 48 h. Cada *vial* possui 500 µL de suspensão de *K. hansenii* e 500 µL de glicerol a 40 % mantidos em freezer a -80 °C (SCHRAMM; HESTRIN, 1954).

Em seguida, foram preparados frascos de Erlenmeyer com 50 mL do mesmo meio de cultivo e inoculado a uma taxa de inoculação de 20 %. O cultivo foi mantido por 12 dias a 30 °C.

Figura 6: Fluxograma de produção da membrana de CB:



#### 4.2 PURIFICAÇÃO E SECAGEM

As membranas de CB foram lavadas com água destilada e transferidas para um Becker contendo 10 mL de solução de NaOH 0,1 M, mantido em banho-maria, a temperatura de 80 °C por 1 h para a remoção das células bacterianas. Em seguida, elas foram então lavadas com água destilada abundantemente, por repetidas vezes, para remover resíduos celulares bacterianos e o excesso de NaOH.

Posteriormente, as películas de CB foram deixadas imersas em uma solução de água destilada com pH 7,0. Neste processo de purificação, foi realizada a verificação do pH duas vezes ao dia e após cada verificação, foi descartada a solução em que as membranas se encontravam, realizando uma nova lavagem com água destilada. O processo de lavagem foi finalizado quando o pH da água de lavagem estivesse entre 6,5 e 7,0. Após a lavagem, as membranas foram secas em estufa de circulação de ar com temperatura de 30 °C por 24 h (TURECK, 2017).

No estado hidratado o biofilme formado na superfície do meio de cultura da bactéria *Komagataeibacter* é um gel resistente, moldável, transparente e homogêneo.

Foram geradas 50 membranas, das quais foram secas 25 membranas. A espessura média das membranas secas, foi de  $0,12 \pm 0,04$  mm, enquanto a espessura das membranas úmidas foi de  $1,65 \pm 0,79$  mm.

### 4.3 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS

As membranas secas e úmidas foram expostas a 4 tipos de degradação: solo (SO), ambiente estuarino (AE), intemperismo natural (IN) e câmara de envelhecimento acelerado (EA), em diferentes tempos de degradação (01 até o limite de 120 dias), devido ao processo de degradação que ocorre em cada ambiente.

Sabe-se que não é possível comparação da degradação das membranas de CB exposta nos diferentes ambientes deste estudo, (SO, AE, IN e EA), por se tratar de diferentes, condições, tempos, temperaturas, conteúdo de água (umidade), pH, micro-organismos, nutrientes. Contudo, considerando aspectos como resposta do material a uma dada exposição em termos de aspectos visuais, mudanças químicas que as membranas sofreram no decorrer do tempo de exposição aos ambientes, em relação às estruturas da CB controle e % de perda de massa do 2º estágio de degradação, entre outros parâmetros avaliados do material exposto, pretende-se apenas determinar as condições mais severas e menos severas do ponto de vista da degradação.

Assim, esse procedimento permitiu identificar, pelas características monitoradas da CB, o ambiente que melhor favorece ou não o processo de degradação, avaliando a resposta da membrana de CB nos diferentes meios.

#### 4.3.1 Solo (SO)

O preparo do solo e os ensaios de biodegradação em solo realizados neste trabalho foram executados com base na norma ASTM G160 – 98.

O solo foi preparado com partes iguais de solo fértil (com baixo teor de argila), esterco de cavalo e areia de praia (42 mesh). A massa total da terra seca foi de 15 kg. Após a mistura, a terra foi peneirada com uma peneira de 4 mesh. A terra foi envelhecida por três meses e reexaminada duas vezes por mês monitorando-se o pH (6,5 a 7,5) e a umidade (20 a 30%). O pH do solo foi monitorado nesse período e mantido entre 6,5 e 7,5 mediante adição de calcário ou enxofre, respectivamente para aumentar ou abaixar o pH.

Após os três meses foram realizados um controle de viabilidade que consistiu em enterrar um pano de algodão (400 a 475 g/m<sup>3</sup>) e medir a resistência à tração

após cinco dias. Havendo perda de 50 % dessa propriedade, a terra é considerada própria para uso.

O ensaio de biodegradação em solo seguiu-se da seguinte forma: foram utilizados copos de béqueres de 17 cm de altura, onde foram adicionados uma camada do solo preparado a aproximadamente 8 cm do fundo do frasco, sendo colocada uma amostra para cada copo de Becker, (Figura 9-a), dispostas as membranas secas e úmidas, ressaltando que as secas e úmidas foram colocadas em béqueres diferentes, sendo então adicionado solo numa segunda camada. Os copos foram acondicionados em uma sala com manutenção da temperatura em 30 °C (Figura 9-b), no período de 26/09/2017 a 01/10/2017. As membranas seca e úmida foram removidas após 1, 2, 3, 4 e 5 dias. Devido a impregnação do solo, foi utilizado pinceis para limpeza das membranas, removendo o excesso possível do solo, sem danificá-las.

Figura 7: Incubadora – UNIVILLE. (a) Becker com camada de solo e membrana de CB sobre o solo; (b) Béqueres com solo e membranas de CB (seca e úmida),



#### 4.3.2 Ambiente Estuarino (AE)

O ensaio de biodegradação em ambiente estuarino ocorreu no período de 23/10/2017 a 02/11/2017 em área pertencente a Univille em São Francisco do Sul-SC (Latitude 26°12'59.05"S e Longitude 48°35'18.89"O). As membranas secas e úmidas de CB foram alocadas em lanternas (Figura 10(a)) e lançadas na água garantindo que ficassem submersas (Figura 10(b)). As membranas permaneceram durante 2, 3, 4, 5, 7, 10 e 15 dias, para após serem coletadas e analisadas. O processo de limpeza, para remoção do lodo, foi realizado com água destilada de forma a não danificar as membranas.

Figura 8: (a) Lanterna tendo as membranas dispostas por andar, (b) Ambiente estuarino onde as membranas foram submersas, São Francisco do Sul –SC.



#### 4.3.3 Intemperismo Natural

As membranas foram expostas ao intemperismo em Joinville, SC (26° latitude S, 49° longitude O), no período de 22/07/2017 a 21/10/2017, na estação meteorológica do comitê Cubatão Cachoeira Joinville, sendo dispostas verticalmente sujeitas à ação da chuva, vento, radiação solar e umidade, conforme Figura 11. As amostras foram coletadas nos tempos 0, 30, 60, 75 e 90 dias. Nesta condição de exposição não foi necessário executar sua limpeza.

Figura 9: Campus UNIVILLE – Estação meteorológica – Comitê Cubatão Cachoeira Joinville



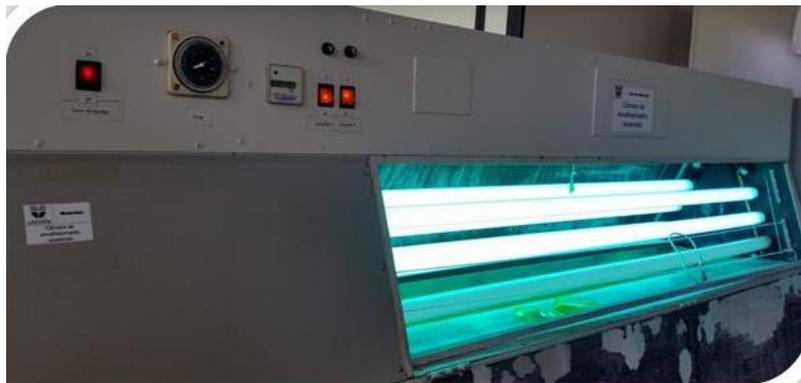
#### 4.3.4 Câmara de Envelhecimento Acelerado (EA)

Este experimento consistiu na exposição das membranas à agentes degradantes, tais como, luz, calor, vapor de água e radiação, que simulam o ambiente natural, mas em um processo acelerado.

As membranas foram acondicionadas em uma câmara de envelhecimento, no período de 22/07/2017 a 22/11/2017, como ilustrado na Figura 12, de acordo com a norma ASTM G154 – 06 e possui oito lâmpadas de mercúrio fluorescentes (Cleo Desempenho 80 W - PHILIPS), UVA = 22 W e UVA / UVB = 0,8%. A fonte de radiação foi de lâmpadas fluorescentes Philips de 80 W, com irradiação de 310 nm e 400 nm, com uma média de radiação de cerca de 340 nm, com boa equivalência

com a radiação solar. Sob as condições utilizadas a dose diária de radiação ultravioleta é de cerca de  $0,77 \text{ Wh/m}^2$ . Sendo mantida a temperatura de  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , umidade do ar em 65% e sob incidência direta dos raios de lâmpadas UV. As membranas de CB, foram viradas, a cada 7 dias, para que houvesse incidência em ambos os lados da membrana. As amostras foram retiradas em 0, 30, 60, 90 e 120 dias.

Figura 10: Câmara de envelhecimento acelerado – Laboratórios de matérias – UNIVILLE.



#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DEGRADADAS

##### 4.4.1 Análise Visual (AV)

As amostras foram analisadas visualmente e por registros fotográficos, em câmera de lente intercambiável, (18-200 mm) tipo mirrorless, Sony Alpha NEX-F3 a fim de observar a degradação macroscópica por meio de mudanças no aspecto físico da membrana e variações na tonalidade, orifícios e dimensões.

##### 4.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos grupamentos funcionais das membranas de CB foi feita em equipamento da Perkin Elmer Spectrum One (Laboratório de Caracterização de Materiais/UNIVILLE), no intervalo de  $4.000$  a  $650 \text{ cm}^{-1}$ , resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  e utilizando acessório de refletância total atenuada (ATR).

##### 4.4.3 Análise termogravimétrica (TGA)

O TGA dos polímeros foi realizado visando determinar a degradação térmica, perda de massa (amostras degradadas), estabilidade térmica dos polímeros, temperatura de degradação ( $T_{onset}$ ) e temperatura máxima de degradação ( $T_{máx}$ ). As

curvas TGA foram obtidas em uma termobalança (TGA-Q50/TA Instruments (Laboratório de Materiais/UNIVILLE), sob atmosfera de N<sub>2</sub>. As amostras foram aquecidas de 25 a 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, sob atmosfera de nitrogênio. Os ajustes dos parâmetros experimentais foram feitos no *software* TA Universal Analysis e representados graficamente para melhor interpretação.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO

#### 5.1.1 Caracterização da amostra após Análise Visual

As membranas de CB, secas e úmidas, foram fotografadas após a degradação como se observa nas Figuras 13 e 14, respectivamente, após diferentes tempos de degradação, submetidos ao SO, AE, IN e EA.

##### 5.1.1.1 Caracterização visual após exposição ao Solo

Para as membranas secas degradadas em solo, o ensaio foi acompanhado por 5 dias, devido à sua rápida biodegradação (Figura 13). Após 1 dia em solo, observou-se um leve embranquecimento na membrana. Após 2 dias, a membrana apresentou um aspecto terroso, devido ao solo que ficou impregnado na superfície da mesma, mesmo após sua limpeza com um pincel. Verificou-se os primeiros sinais de degradação sobre a mesma, por meio do aparecimento de pequenas colônias de micro-organismos na superfície do filme. Estudos dos processos de biodegradação em solo de polímeros de poli(3-hidroxibutirato) (P(3HB)), também observaram o aparecimento de colônias na superfície das membranas (GRIGULL *et al.*, 2015). Os autores argumentaram que alguns micro-organismos secretam enzimas (despolimerases) capazes de degradar o polímero. Cabe salientar que no solo existe uma grande variedade de microrganismos que produzem celulasas, mas apenas alguns são conhecidos como verdadeiros celulolíticos, isto é, são capazes de degradar a celulose natural (FLORENCIO, 2011). Aos 3 dias foi possível observar a intensificação das colônias e visualizar orifícios esféricos, que possivelmente são decorrentes de uma ação microbiana e a presença de rugosidade na superfície da membrana de CB. O surgimento de orifícios também ocorreu na degradação de P(3HB), sendo devido à erosão, sugerindo adesão microbiana (SCHRÖPFER *et al.*, 2015). Com 4 dias, a membrana apresentou-se já bem fragilizada, iniciando o processo de fragmentação e intensificação do processo de rugosidade. Com 5 dias, restaram apenas alguns fragmentos, bem mais deteriorados que nos tempos anteriores e os resquícios se encontravam aglomerados. A membrana apresentou-se mais escurecida, com a presença de solo incrustado, impossível de ser removido sem danificar a membrana. As características observadas nas membranas

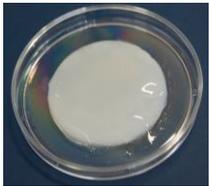
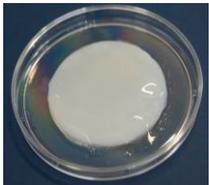
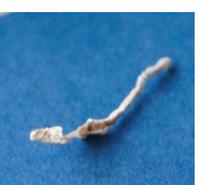
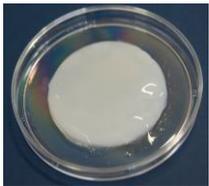
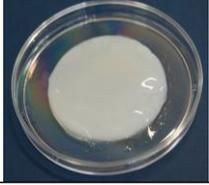
degradadas tais como; rugosidade da superfície, formação de orifícios, desfragmentação, alterações na cor, não provam a presença de um processo de biodegradação, em termos de metabolismo, mas as alterações visuais podem ser usadas como uma primeira indicação do ataque microbiano.

Na Figura 14, estão ilustradas as membranas úmidas de CB nos diferentes tempos de degradação. Após 1 dia em solo, observou-se que encontrava com aspecto terroso e havia iniciado o processo de enrugamento, processos esses observados no segundo e terceiro dia. Após 2 dias, foi visualizado orifícios. Em 3 dias, observou-se apenas um pequeno resquício de CB, contendo maior aglomeração de solo e facilmente se deteriorando com a movimentação e limpeza da membrana. Após 4 dias, o seu processo de limpeza ficou prejudicado, devido ao solo que ficou incrustado sobre a membrana já bem fragmentada de CB. Em alguns fragmentos foi possível observar os orifícios citados por Schröpfer (2015). Em 5 dias, já não foi mais localizado resquícios de CB. As membranas úmidas aparentemente sofreram degradação mais acelerada que as secas. Pode-se considerar que houve uma invasão microbiana mais profunda, em função da umidade, o que leva à uma aceleração da degradação. Este fato pode ser explicado, pois a membrana de CB é extremamente porosa, mas com a secagem em estufa, esses poros são colapsados, enquanto nas membranas úmidas os poros permanecem intactos. Segundo Nunes e colaboradores (2017), a água é um veículo que auxilia a transportar os microorganismos para dentro da membrana e conseqüentemente acelera o processo degradação.

Figura 11: Registros fotográficos das membranas de CB secas ao longo do tempo de exposição para cada condição ambiental.

S O		<b>1 Dia</b> 	<b>2 Dias</b> 	<b>3 Dias</b> 	<b>4 Dias</b> 	<b>5 Dias</b> 
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
A E		<b>4 Dias</b> 	<b>7 Dias</b> 	<b>10 Dias</b> 	<b>15 Dias</b> TOTALMENTE DEGRADADA	
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	
I N		<b>30 Dias</b> 	<b>60 Dias</b> 	<b>75 Dias</b> 	<b>90 Dias</b> TOTALMENTE DEGRADADA	
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	
E A		<b>30 Dias</b> 	<b>60 Dias</b> 	<b>90 Dias</b> 	<b>120 Dias</b> 	
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	

Figura 12: Registros fotográficos das membranas de CB úmidas ao longo do tempo de exposição para cada condição ambiental.

S O		<b>1 Dia</b> 	<b>2 Dias</b> 	<b>3 Dias</b> 	<b>4 Dias</b> 	<b>5 Dias</b> TOTALMENTE DEGRADADA
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
A E		<b>2 Dias</b> 	<b>3 Dias</b> 	<b>4 Dias</b> 	<b>5 Dias</b> 	
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	
I N		<b>30 Dias</b> 	<b>60 Dias</b> 	<b>75 Dias</b> 	<b>90 Dias</b> 	
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	
E A		<b>30 Dias</b> 	<b>60 Dias</b> 	<b>90 Dias</b> 	<b>120 Dias</b> 	
	CB Controle	(a)	(b)	(c)	(d)	

#### 5.1.1.2 Caracterização visual após exposição ao ambiente estuarino

Os ensaios para as membranas secas e úmidas, submetidas ao ambiente estuarino foram conduzidos em diferentes tempos, como mostrado nas Figura 13 e 14, respectivamente.

Para as membranas de CB secas, após 4 dias, observou-se um leve embranquecimento. Após 7 dias, a mesma começou a apresentar o processo de enrugamento na sua superfície e bordas amareladas. Em 10 dias, a membrana estava fragmentada, com grandes orifícios na superfície e aspecto amarelado. Entre 10 e 15 dias, no momento da coleta, já não havia resquício de membrana na lanterna. A rápida degradação nesse ambiente, deve-se ao fato da presença de água, pois a umidade é considerada um dos fatores que acelera o processo de biodegradação. Os micro-organismos necessitam de uma quantidade adequada de água para seu crescimento, ou seja, a atividade dos micro-organismos está intimamente ligada à presença de água. De acordo com Campos e colaboradores (2011), a hidrólise enzimática de poliésteres biodegradáveis prossegue principalmente por meio dos mecanismos de erosão de superfície. As alterações morfológicas causadas pela colonização microbiana são fator importante para a ruptura das cadeias de polímero e para a biodegradação.

As membranas de CB úmidas apresentaram visualmente uma maior velocidade de degradação, tendo os tempos de coleta sido reduzidos para 2, 3, 4 e 5 dias. Após 2 dias, observou-se que a membrana estava com enrugamento e leve amarelecimento. Após 3 dias, a membrana de CB, já apresentou orifícios e sinais de maior degradação, com a redução de seu tamanho. Após 4 dias, a membrana apresentou maior intensidade da cor amarelada, restando apenas uma fração. Após 5 dias, apenas um pequeno resquício da membrana foi encontrado.

Acredita-se que em solo e ambiente estuarino a biodegradação da membrana de CB foi intensificada, pois foi facilitada pela água e pela maior presença de micro-organismos nesses meios, o que favorece o ataque microbiano.

#### 5.1.1.3 Caracterização visual após exposição ao Intemperismo natural

Os ensaios da degradação das membranas no IN, foram conduzidos nos tempos de 30, 60, 75 e 90 dias, como ilustrado nas Figuras 13 e 14.

Com 30 dias, a membrana de CB seca encontrava-se com rugosidade, linhas brancas e fissura exposta. Aos 60 dias, foi possível observar maior rugosidade, pontos escurecidos, que podem ser devido à ação de micro-organismos e/ou da ação do tempo (vento, sol, chuva) e indícios da degradação em sua periferia. Após 75 dias, havia somente parte da membrana, que apresentou mudança em sua coloração em toda a superfície, ficando amarelada, com afinamento em sua espessura e rugosidade em outras regiões. O início do processo de biodegradação na superfície do polímero é colonizada por micro-organismos que formam biofilmes, ou seja, células aderidas a uma matriz de polissacarídeos e proteínas produzida pelas próprias células (FLEMMING, 1998). Após 90 dias, não foi localizada a membrana, o que sugere que tenha sido totalmente degradada. A Tabela 1 demonstra o período que as membranas foram expostas ao intemperismo, podendo ser verificado que houve aumento significativo de temperatura e chuvas, nos últimos dias, favorecendo o processo de degradação das membranas. Campos e colaboradores (2011) em seus estudos, relatam que as mudanças visíveis, utilizadas para descrever a degradação que incluem a rugosidade da superfície, formação de buracos ou fissuras, fragmentação, alterações na cor ou formação de biofilmes na superfície não provam a presença de um processo de biodegradação em termos de metabolismo, mas o parâmetro de alterações visuais pode ser usado como uma primeira indicação de qualquer ataque microbiano (CAMPOS *et al.*, 2011), indo ao encontro dos aspectos verificados e mostrando a necessidade de outros processos de caracterização.

As membranas de CB úmidas sofreram um processo de degradação mais acelerado em comparação aos mesmos tempos das membranas CB secas, processo que ocorreu também nas membranas CB em AE e SO. Aos 30 dias, a membrana se encontrava deteriorada apresentando rugosidades, presença de micro-organismos e pequenos orifícios. Após 60 dias, acrescentou em sua apresentação, um aspecto de queimada, podendo ser por maior incidência de sol. Aos 75 dias, a membrana, diferente dos tempos anteriores, apresentou degradação menos acentuada e sem alteração de cor, apresentando maior proliferação de micro-organismos e aglomeração. No processo da membrana de CB úmida ainda era possível encontrar resquício da membrana, estando com alteração de cor e aglomeradas. Alterações físicas ou químicas na membrana de CB resultante de fatores ambientais, tais como luz, calor, umidade levam a alterações nas

propriedades, resultando na cisão de ligações e subsequentes transformações químicas, facilitando a biodegradação da membrana. As mudanças incluem cisão de ligação, transformação química e formação de novos grupos funcionais (POSPISIL; NESPUREK, 1997).

Tabela 1: Dados do tempo, no período que as membranas de CB, ficaram expostas ao IN.

Período	Temperatura Média °C	Precipitação mm
20/07 a 20/08	19,56	3,91
21/08 a 20/09	20,94	0,56
21/09 a 20/10	21,87	17,14
21/10 a 20/11	21,73	15,50

Fonte: (ACCUWEATHER, 2018, web)

#### 5.1.1.4 Caracterização visual após exposição a câmara de envelhecimento acelerado

Os ensaios de degradação das membranas de CB seca, observados na Figura 13, em EA, foram conduzidos nos tempos de 30, 60, 90 e 120 dias. Aos 30 dias, a CB apresentou rugosidade, alguns pontos de alteração de cor e aspecto quebradiço. Aos 60 dias, apresentou rugosidade e pontos de rompimento, podendo ser do estado quebradiço, evidenciando possível aumento da cristalinidade. Segundo Chandra (1998) a degradação pode ser percebida quando a cristalinidade do polímero é aumentada, fato percebido pelo desaparecimento das porções amorfas. O processo de degradação de um polímero é geralmente iniciado na fase amorfa, pois as lamelas cristalinas apresentam baixa permeabilidade ao oxigênio, o que dificulta a foto e termo-oxidação (CHANDRA, 1998). Após 90 dias, a membrana manteve sua cor esbranquiçada, porém apresentando linhas brancas, orifícios de degradação e suas periferias com sinais de degradação. Aos 120 dias, no centro da membrana não houve transparências, rugosidades ou orifícios, porém em suas extremidades foi possível observar rugosidades, transparência e alteração da coloração, para amarelada. Estas duas membranas (90 e 120 dias) apresentaram visualmente menor sinal de degradação, fato que pode ser explicado pela espessura mais elevada que as outras 3 membranas (controle, 30 e 60 dias), evento este observado somente na coleta das membranas da câmara.

Analisando as amostras de CB úmida ilustrada na Figura 14, em 30 dias, a membrana apresentava características de possível cristalinidade em sua periferia e

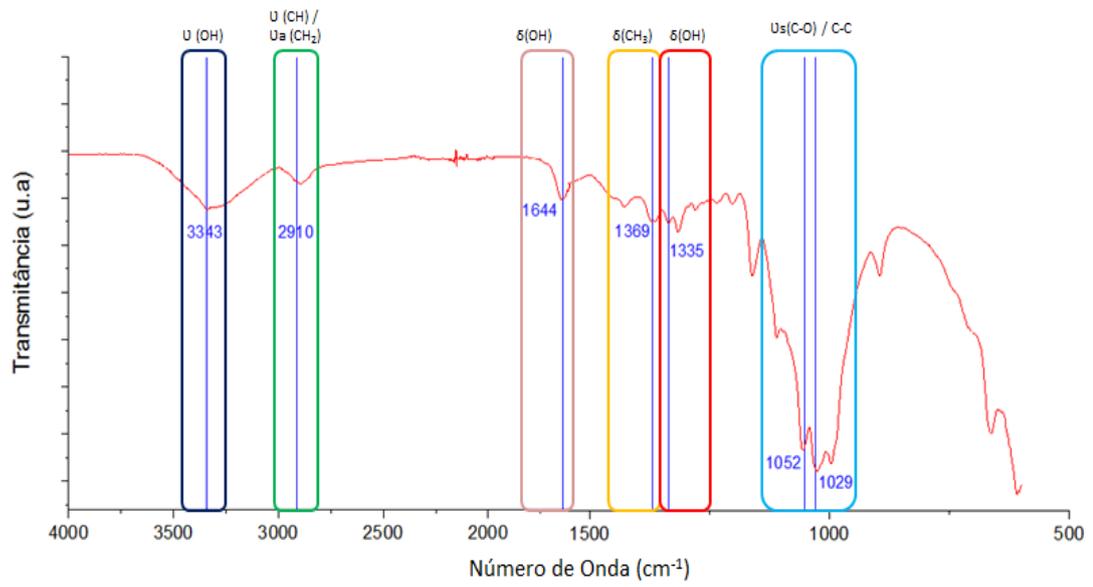
leve rugosidade ao centro. Após 60 dias, apresentou maior cristalinidade em sua superfície e aos 90 dias, observou-se um aspecto quebradiço, maior rugosidade e cristalinidade. Porém, é perceptível a sua fragilidade na quebra. Em estudo com filmes de P(3HB) fototratados, os mesmos tornaram-se fisicamente frágeis e altamente quebradiços, após os tratamentos com luz UV e biodegradação (PEREIRA, 2010).

#### 5.1.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier - FTIR

A análise de FTIR das membranas de CB degradadas nos diferentes ambientes foram realizadas em função do tempo a fim de determinar a ocorrência de novas bandas ou a alteração de qualquer banda que pudesse ser atribuído à cisão da molécula, à fragmentação da membrana, como alterações químicas. Na Figura 15, está ilustrado o espectro de FTIR da membrana controle, sem degradação, onde se observam os principais grupos funcionais característicos da membrana de CB, enquanto as bandas obtidas do espectro e respectivas atribuições estão listadas no Quadro 4.

O espectro de FTIR da membrana analisada segue o perfil característico da CB citados na literatura (PECORARO et al., 2008)(BARUD, 2010)(CHEN, 2014). As principais bandas sinalizadas em azul, referentes à CB são:  $3343\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento (OH);  $2910\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento U(CH) e estiramento assimétrico  $U_a(\text{CH}_2)$ ;  $1641\text{ cm}^{-1}$  característica da deformação  $\delta(\text{OH})$ ;  $1369\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação  $\delta(\text{CH}_3)$ ;  $1335\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação angular no plano  $\delta(\text{OH})$  e  $1052$  e  $1029\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento simétrico  $U_s(\text{C-O})/(\text{C-C})$ . Outras bandas foram atribuídas a CB também são apresentadas no Quadro 4 e estão em branco. Nas figuras 16 a 19 são apresentados os espectros de FTIR das membranas de CB secas e úmidas, em função do tempo de degradação nos diferentes ambientes.

Figura 13: Espectro de FTIR, CB controle.



U=estiramento; U<sub>s</sub>=estiramento simétrico; U<sub>a</sub>=estiramento assimétrico; δ=deformação angular.

Quadro 3: Bandas obtidas por FTIR da CB controle e respectivas atribuições.

Ligação	Frequência (cm <sup>-1</sup> ) Observada	Frequência (cm <sup>-1</sup> ) Literatura	Referência
U (OH) celulose I 3-OH...O-5	3343	3340	PECORARO et al. (2008)
U (CH), Ua(CH <sub>2</sub> )	2910	2900	CHEN (2014)
C=O		1726	GEA et al. (2011)
δ(OH)	1644	1640	CHEN (2014)
C=C		1600	BARUD (2010)
δ(HCH, OCH) no plano	1427	1427	TURECK (2017)
δ(CH <sub>3</sub> )	1369	1370	TURECK (2017)
δ(OH) no plano	1335	1340	BARUD (2010)
UC-O (C-O-H)	1161	1162	BARUD (2010)
Ua (C-O-C) C-2...O-2	1109	1110	PECORARO et al. (2008)
Us(C-O)/C-C	1052 1029	1060 1025	PECORARO et al. (2008)
Ua(C-O-C) C-3...O-3	1003	1003	CHEN (2014)
δ(CH <sub>2</sub> ) no plano δ(C-H)	897	897	BARUD (2010)
δ(C-O-H), fora do plano	662	662	PECORARO et al. (2008)

U= estiramento; Us = estiramento simétrico; Ua = estiramento assimétrico; δ = deformação angular

### 5.1.2.1 Solo

No ensaio de biodegradação em solo com a membrana de CB seca, ilustrada na Figura 16(a), observa-se várias alterações nas bandas em função do tempo de degradação. A banda em  $3345\text{ cm}^{-1}$  referente ao U(OH) da celulose I, ou seja, a ligação intermolecular (3-OH...O-5) diminuiu de intensidade a partir do segundo dia no solo e desapareceu no tempo de 5 dias. Isso significa que está ocorrendo cisão das ligações intermoleculares da molécula. A banda que desapareceu nos tempos de 2, 3, 4 e 5 dias de biodegradação foi a banda em  $2910\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao U(CH), Ua(CH<sub>2</sub>). De acordo com Ciolacu et al. (2011), quanto menor é a intensidade da banda, maior a cristalinidade da amostra. A banda em  $1641\text{ cm}^{-1}$ , referente a  $\delta$ (OH) também desapareceu nos tempos de 4 e 5 dias em solo. Outra alteração evidente em todas as membranas degradadas foi o aparecimento de uma banda em  $1736\text{ cm}^{-1}$ . Essa banda é atribuída a carbonila (C=O), que pode ser de um aldeído ( $1740$  a  $1720\text{ cm}^{-1}$ ) ou de um ácido carboxílico ( $1760$  a  $1710\text{ cm}^{-1}$ ) (STUART, 2004). Outra banda que apareceu no 5º dia de degradação foi em  $777\text{ cm}^{-1}$ .

O solo possui fungos que excretam celulases, compostas por três enzimas: endoglucanases, exoglucanases e betaglicosidases, que degradam a celulose, podendo ser esse seu provável mecanismo de degradação em solo. Cada enzima quebra uma parte da molécula. As endoglucanases quebram as cadeias grandes em cadeias menores no meio da cadeia. As exoglucanases quebram a cadeia nas extremidades e as betaglicosidases quebram a celobiase (dímero de glicose) em 2 glicoses (REFERÊNCIA, ano).

Na Figura 16(b), referente à degradação em solo das membranas de CB úmidas, a banda em  $3345\text{ cm}^{-1}$  referente ao U(OH) da celulose I, diminuiu de intensidade após 2 dias desaparecendo por completo após 3 e 4 dias. Em  $1641\text{ cm}^{-1}$ , referente a  $\delta$ (OH) teve sua banda evidente após 1 dia menor intensidade em 2 dias e desaparecendo nos tempos de 3 e 4 dias. As bandas no intervalo de  $1500$  a  $899\text{ cm}^{-1}$  apresentaram redução de intensidade nessa região e de acordo com Lengowski (2012), há a diminuição da cristalinidade.

### 5.1.2.2 Ambiente Estuarino

No ensaio de biodegradação em AE, membranas de CB secas Figura 17(a) pode-se observar que a banda em  $3345\text{ cm}^{-1}$  somente diminuiu de intensidade com 10 dias não chegando a desaparecer como em solo. Sua redução indica o

rompimento da ligação intermolecular (3-OH...O-5) referente U(OH) da celulose I. Cada grupo de glicose possui 3 grupos de hidroxilas alcoólicas e átomos de hidrogênio na proximidade do oxigênio formam as pontes de hidrogênio com distâncias entre 0,28 a 0,30 nm. Essas pontes impedem o ataque das enzimas à celulose. A redução dessa banda no espectro indica o rompimento das pontes de hidrogênio entre as glicoses, aumentando a acessibilidade dos micro-organismos (RIBEIRO, 2013). A banda em  $2910\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao U(CH), Ua(CH<sub>2</sub>) também diminuiu de intensidade no 10º dia em AE, enquanto no solo ela desapareceu nos tempos de 2, 3, 4 e 5 dias. A banda em  $1641\text{ cm}^{-1}$ , referente a  $\delta(\text{OH})$  diminuiu de intensidade a partir de 10 dias.

Para as membranas de CB úmidas degradadas em AE, ilustrado na Figura 17 (b), verificou-se de uma forma geral a diminuição das bandas de  $3345\text{ cm}^{-1}$  e  $2910\text{ cm}^{-1}$ . Em 5 dias ocorre intensa diminuição da banda, em comparação a CB seca aos 10 dias as bandas se equivalem. As demais bandas de  $1369\text{ cm}^{-1}$  a  $1029\text{ cm}^{-1}$ , mantiveram suas intensidades próximas do 2º ao 4º dia e houve diminuição de intensidade, expressiva no 5º dia.

Comparando os bandas do espectros de FTIR das CB seca e úmida, fica evidente o processo de biodegradação de maior intensidade nas CB úmidas, indo ao encontro do estudo de Hakkarainen e colaboradores, quanto à eficiência da disponibilidade de água no processo de degradação (HAKKARAINEN *et al.*, 2003).

### 5.1.2.3 Intemperismo natural

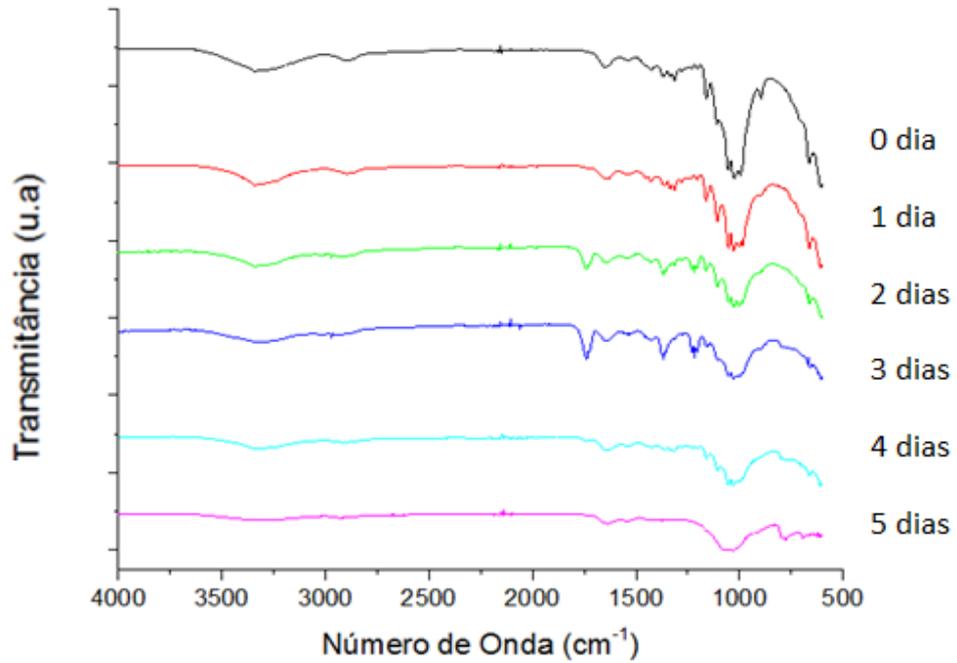
No ensaio de IN para as membranas de CB seca, Figura 18(a), observa-se que a banda em  $3345\text{ cm}^{-1}$  apresentou intensificação de banda somente aos 75 dias, em relação aos 30 e 60 dias. Essa banda refere-se ao U(OH) da celulose I, ou seja, a ligação intermolecular (3-OH...O-5). Observa-se que os bandas entre  $1052$  e  $1029\text{ cm}^{-1}$ , também se intensificaram em 75 dias. Para as membranas de CB úmidas, observadas na Figura 18(b), observa-se uma diminuição da banda em  $3345\text{ cm}^{-1}$  somente aos 90 dias. As bandas que também se intensificaram tanto na CB seca como a úmida, foram em  $1732$  e  $1540\text{ cm}^{-1}$  que são atribuídas à proteína de amida II e estruturas proteicas, sendo indicativo de impureza na membrana de CB (TURECK, 2017)(GEA *et al.*, 2011), fato este que não foi observado na membrana controle.

#### 5.1.2.4 Câmara de envelhecimento acelerado

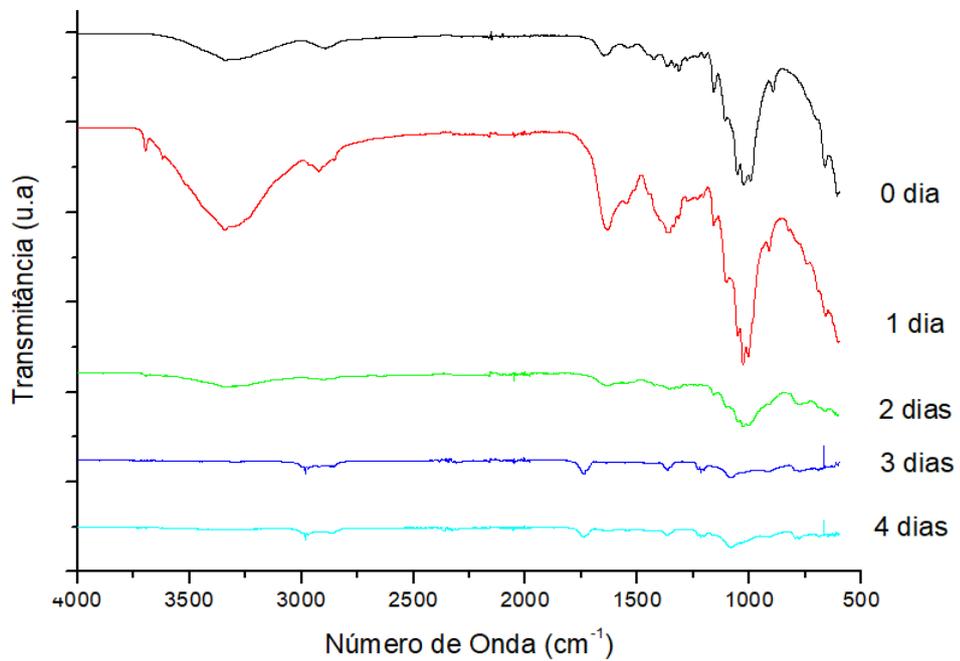
No ensaio de EA da membrana de CB seca, ilustrado na Figura 19(a), pode-se observar que a banda  $3345\text{ cm}^{-1}$  aumentou de intensidade com 90 e 120 dias, semelhante ao que ocorreu no intemperismo natural aos 75 dias. De acordo com Ciolacu e colaboradores (2011), no momento em que há este aumento de intensidade observa-se maior cristalinidade da membrana, podendo ser correlacionada com a cisão intra-intermolecular das ligações de hidrogênio. A banda em  $2910\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao  $\text{U}(\text{CH})$ ,  $\text{Ua}(\text{CH}_2)$ , também ocorre na membrana envelhecida em 90 e 120 dias. A última alteração foi o aumento de intensidade da banda  $1335\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação angular no plano  $\delta(\text{OH})$  que se intensifica com 90 e 120 dias. A diferença entre as intensidades das bandas dos espectros pode estar associada a variações de espessura das amostras (TAIPINA, 2012). Outras bandas de alta intensidade aparecem em torno de  $1000$  a  $1500\text{ cm}^{-1}$ , também nas membranas de 90 e 120 dias, que representa o  $\text{U}(\text{C-O})$ . O mesmo se identificou na análise visual, da CB seca aos 90 e 120 dias, apresentando menor sinal de degradação.

Na membrana de CB úmida, Figura 19(b), as bandas características da CB controle,  $3345$  e  $2910\text{ cm}^{-1}$  aparecem com leve intensidade nos tempos de 60 e 90 dias e ocorreu aumento de intensidade em 120 dias, corroborando com o aspecto visual de menor degradação aos 120 dias. Na membrana de 120 dias, as demais bandas, entre  $1000$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$ , tiveram um aumento de intensidade considerável. Isso também ocorreu com a CB seca e pôde ser identificado na análise visual, que tiveram menor aspecto de degradação podendo ser característica de pouca degradação (CHANDRA, 1998).

Figura 14: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em solo: a) secas; b) úmidas.

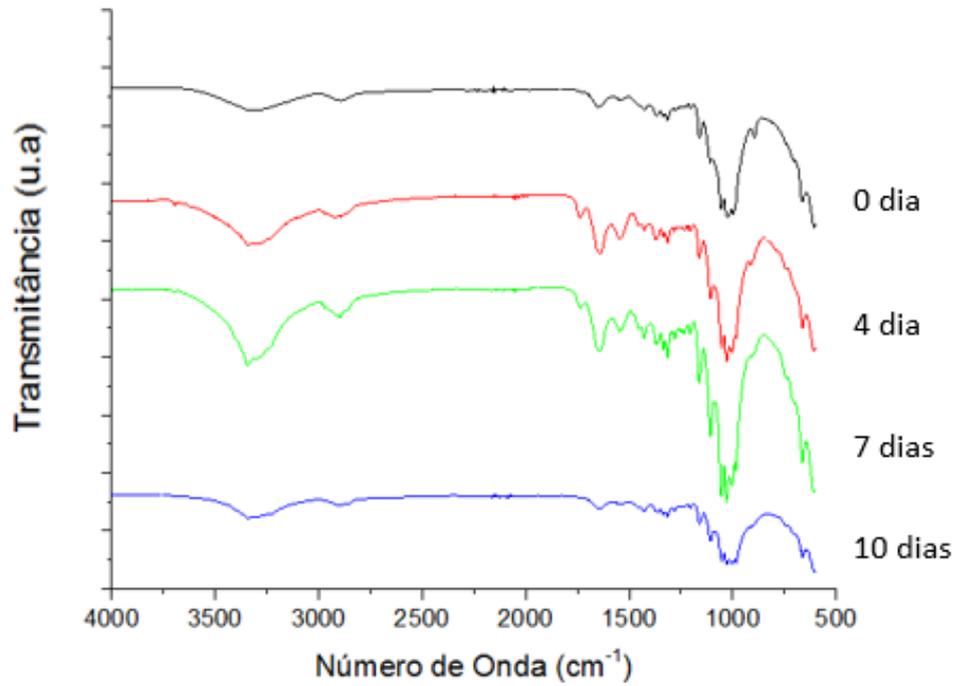


(a)

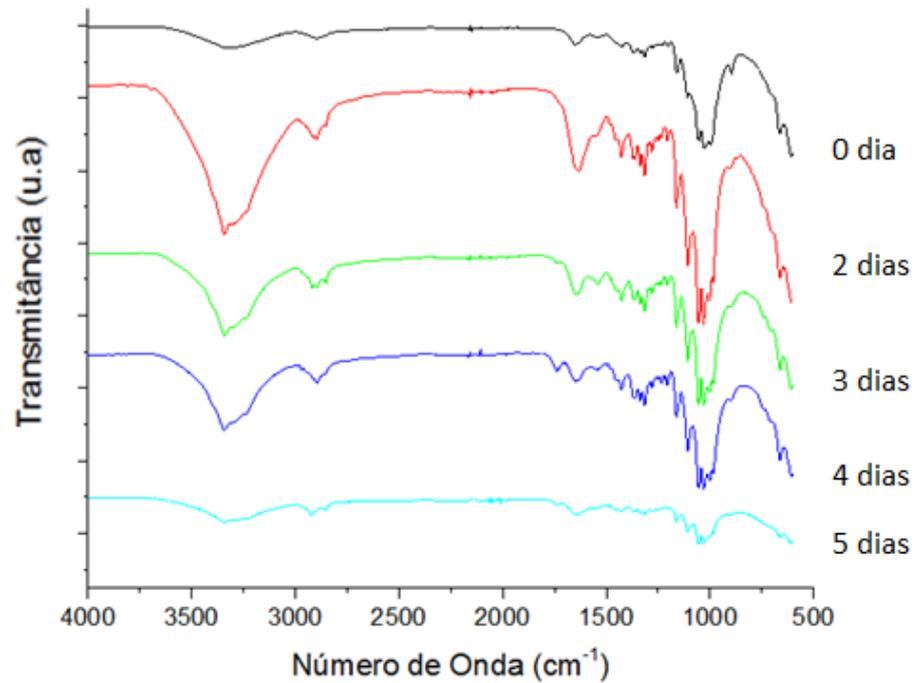


(b)

Figura 15: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em ambiente estuarino: a) secas; b) úmidas.

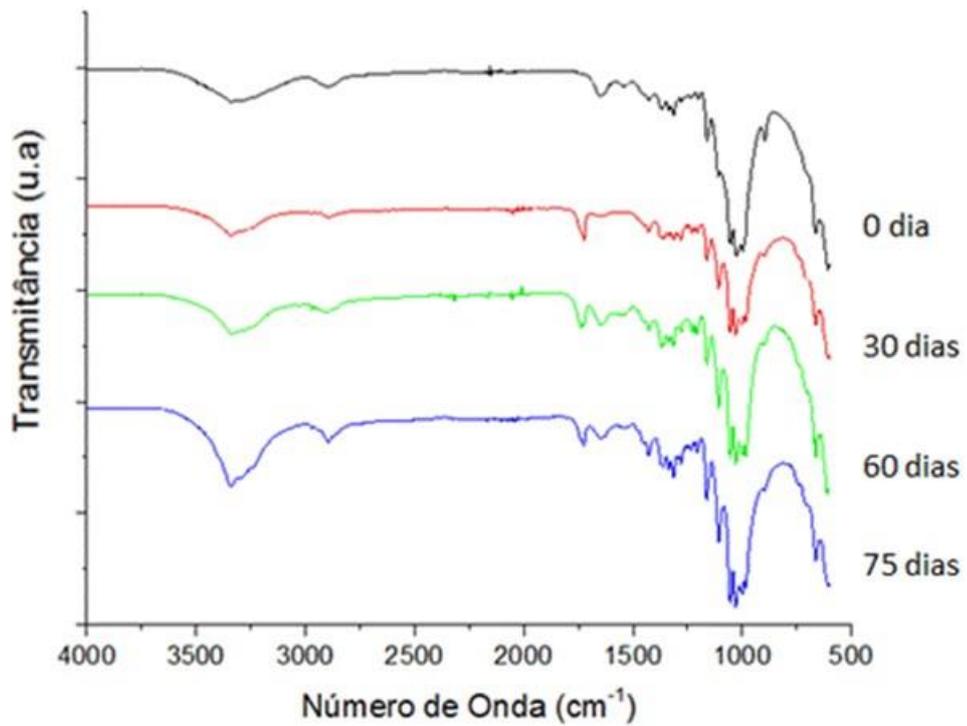


(a)

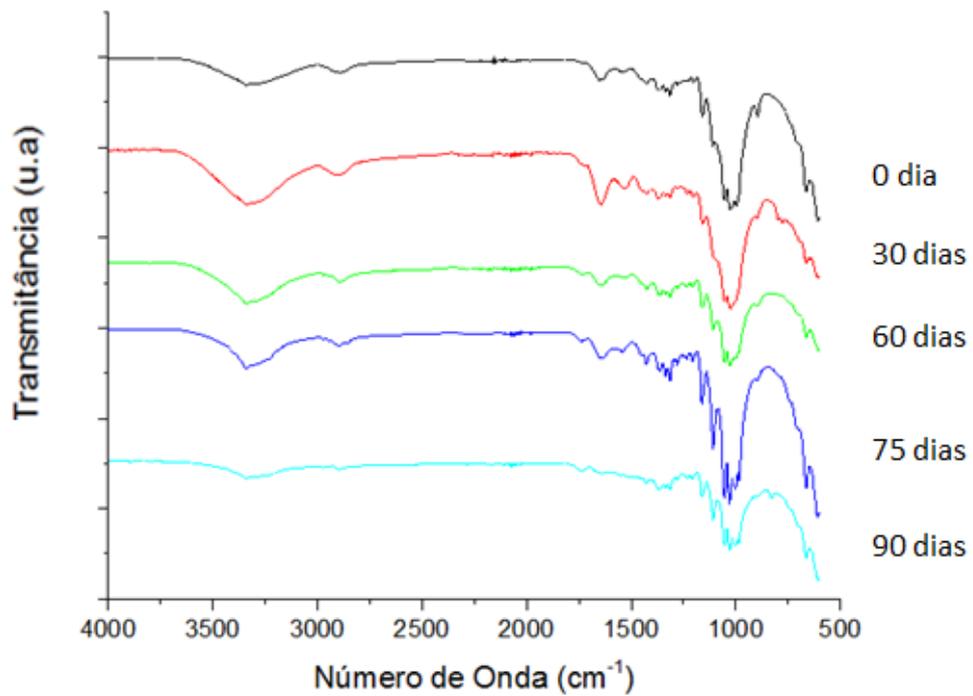


(b)

Figura 16: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em intemperismo natural: a) secas; b) úmidas.

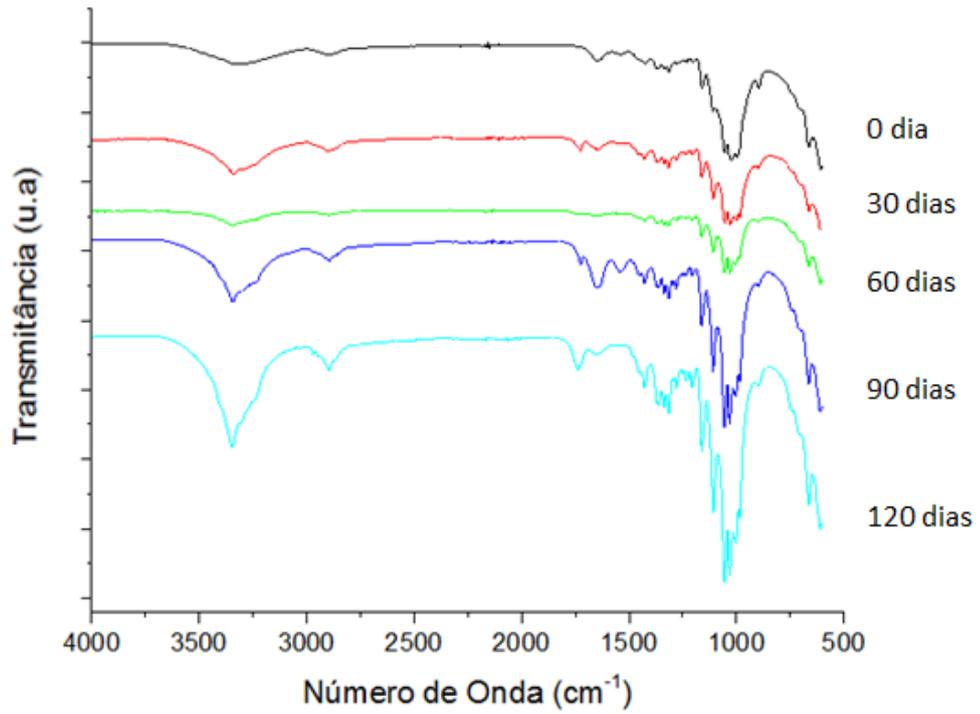


(a)

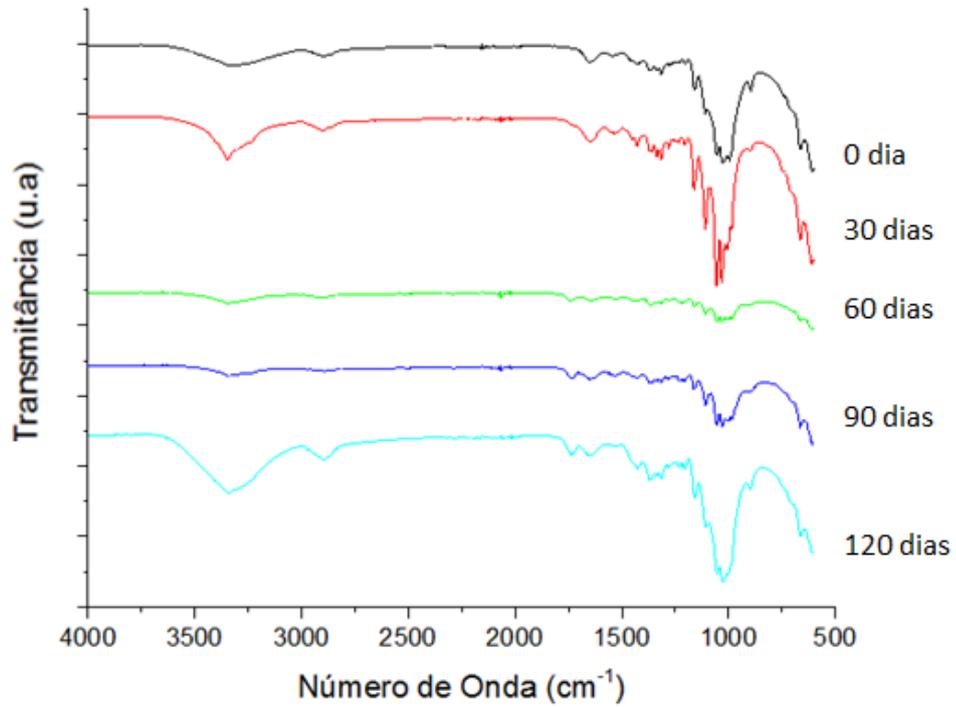


(b)

Figura 17: Espectros de FTIR das membranas de CB em função do tempo de degradação em Câmara de envelhecimento: a) secas; b) úmidas.



(a)



(b)

### 5.1.3 TGA

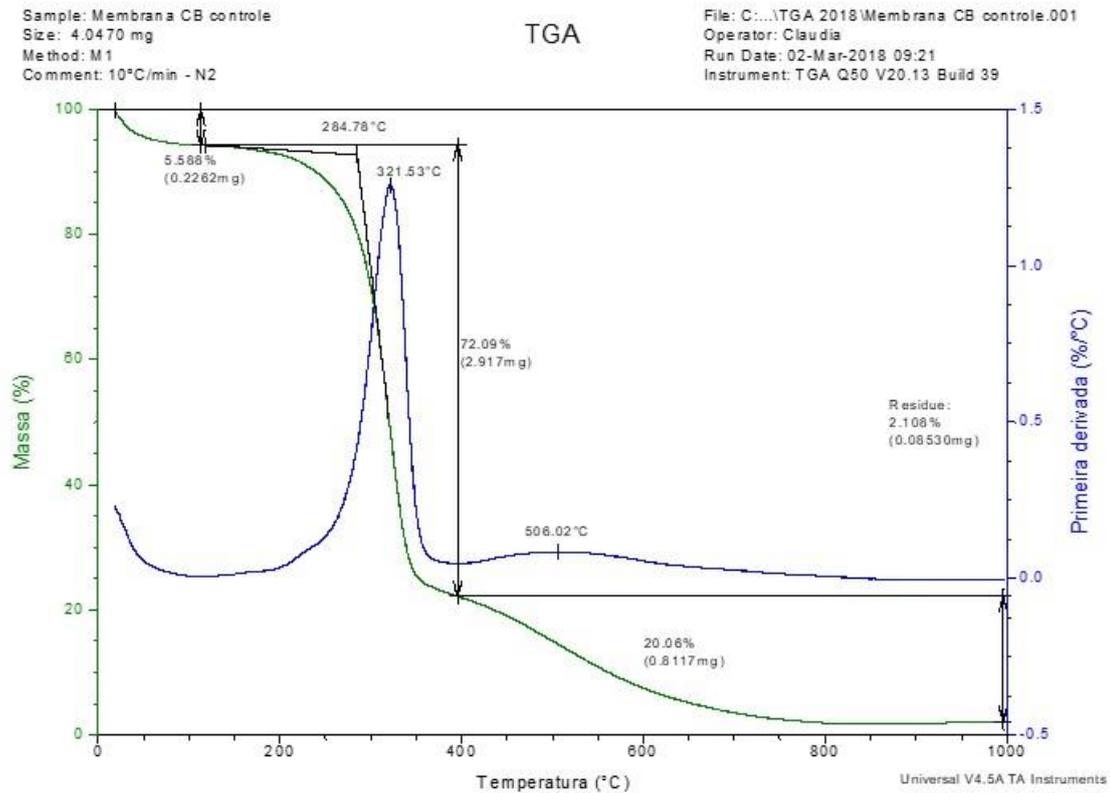
As curvas termogravimétricas (TG) representam o percentual de perda de massa em função da temperatura e as curvas DTG representam a primeira derivada das curvas TG. O perfil de degradação das membranas de CB controle, ilustrado na Figura 20, mostra a ocorrência de três eventos térmicos relacionados às perdas de massa:

A primeira ocorrência está relacionada à perda de água superficial, que ocorreu no intervalo de temperatura entre 30 a 150 °C, com 5,58 % de perda de massa. Segundo a literatura este estágio é equivalente à evaporação de água, evidenciando a elevada capacidade de absorção da CB e seu caráter hidrofílico (GEA et al., 2011) (LIMA et al., 2015).

O segundo estágio de perda de massa apresentou temperatura de degradação extrapolada ( $T_{\text{onset}} = 284,78$  °C) e temperatura onde a taxa de degradação é máxima ( $T_{\text{max2}} = 321,53$  °C) com 72,09 % de perda de massa, corroborando com valores citados na literatura este evento (SILVEIRA, 2016); (LIMA et al., 2015); (BARUD, 2010). De acordo com a literatura, ele ocorre no intervalo de temperatura entre 150 a 400 °C, sendo atribuído à degradação da celulose, da à cisão da ligação entre nitrogênio e carbono da carbonila, seguida da liberação de amônia que é formada pela protonação do átomo de nitrogênio e por último, a descarboxilação e a carbonização, processos decorrentes da degradação da cadeia principal (JABLONSKI et al. 2008) (BIANCO et al., 2003) (TURECK, 2017).

O terceiro estágio de decomposição apresentou  $T_{\text{max3}} = 502,02$  °C, com perda de massa de 20,06 %. A literatura diz que este estágio é devido à degradação de resíduos carbonáceos que se estende até cerca de 800 °C (DONINI et al., 2010). Ao final do processo obteve-se um percentual de resíduo de 2,10 %.

Figura 18: Curvas obtidas por TGA: Curvas TG (verde) e DTG (azul) da CB Controle.



### 5.1.3.1 Solo

Para as membranas biodegradadas em solo, as membranas de CB seca, Figura 21, expostas nos tempos de 1, 2, 3 e 4 dias, observou-se em relação à CB pura, houve uma diminuição do percentual da perda de massa do 2º estágio de decomposição e de forma abrupta a intensificação dessa perda de massa aos 5 dias em solo, conforme o tempo de degradação, passando de 72,1 % da CB pura para 16,40 % para a membrana degradada 5 dias em solo (Tabela 2). Este resultado indica que uma diminuição do percentual de celulose na amostra. Como já observado no FTIR apresentado, as interações intermoleculares estão se rompendo, ou seja, está ocorrendo uma desestruturação do polímero da celulose. Por outro lado, a  $T_{max}$ , não sofreu expressiva variação com o tempo de degradação, indicando que a celulose está íntegra.

Para as membranas de CB úmida, Figura 22, a perda de massa no 2º estágio, teve o seu percentual diminuído drasticamente no 3º e 4º dia, em relação à CB seca passando de 72,10% da CB controle para 35,4 % e 11,1 % nos 3º e 4º dia

respectivamente, com os dados foi possível reconfirmar a maior degradação da CB úmida em relação à CB seca, vista na análise visual, demonstrando que houve maior diminuição do percentual da amostra e maior degradação da membrana de CB.

#### 5.1.3.2 Ambiente Estuarino

Para as membranas secas biodegradadas em AE, Figura 23, nos tempos de 4, 7 e 10 dias, observa-se que ocorreu uma redução do percentual de massa do segundo estágio de degradação considerável em relação a CB controle aos 10 dias, indo de 72,1% para 52,3%. Observa-se um aumento do  $T_{max2}$  com 7 dias de biodegradação,  $T_{max2}$  era de 353 °C e com 10 dias reduziu para 315 °C, como observado na Tabela 2.

Na biodegradação as membranas de CB úmidas, Figura 24, observa-se para as amostras degradadas um deslocamento da temperatura da banda da celulose ( $T_{max2}$ ) para temperaturas menores em função do tempo de degradação. Além disso, observa-se várias bandas em temperaturas menores (entre 120 e 300 °C). Este comportamento corrobora que está ocorrendo cisão da cadeia da celulose em cadeias menores de massa molar mais baixa, pois sofrem degradação a temperaturas mais baixas. Já o 3º estágio de decomposição da celulose, percebe-se um deslocamento da  $T_{max3}$  para temperaturas maiores, sendo bandas largas e baixa simetria. Este resultado sugere que o polímero esteja mais cristalino, pois a fração mais cristalina é mais difícil de sofrer degradação. De acordo Silveira, a degradação geralmente se inicia pela parte amorfa, que é mais desorganizada e mais suscetível a decomposição. Logo o polímero remanescente torna-se mais cristalino. Foi determinado um aumento do percentual de resíduo ao final da análise (1000 °C), reforçando a hipótese de que tenha restado no cadinho uma fração maior de material cristalino, que não se degradou na temperatura de análise estudada. Pois, quanto maior a cristalinidade da celulose, maior é a temperatura de decomposição térmica, devido ao menor teor de componente amorfo, que foram os bandas do  $T_{Max3}$ , chegando a 905 °C (SILVEIRA, 2016) (Tabela 3)

#### 5.1.3.3 Intemperismo natural

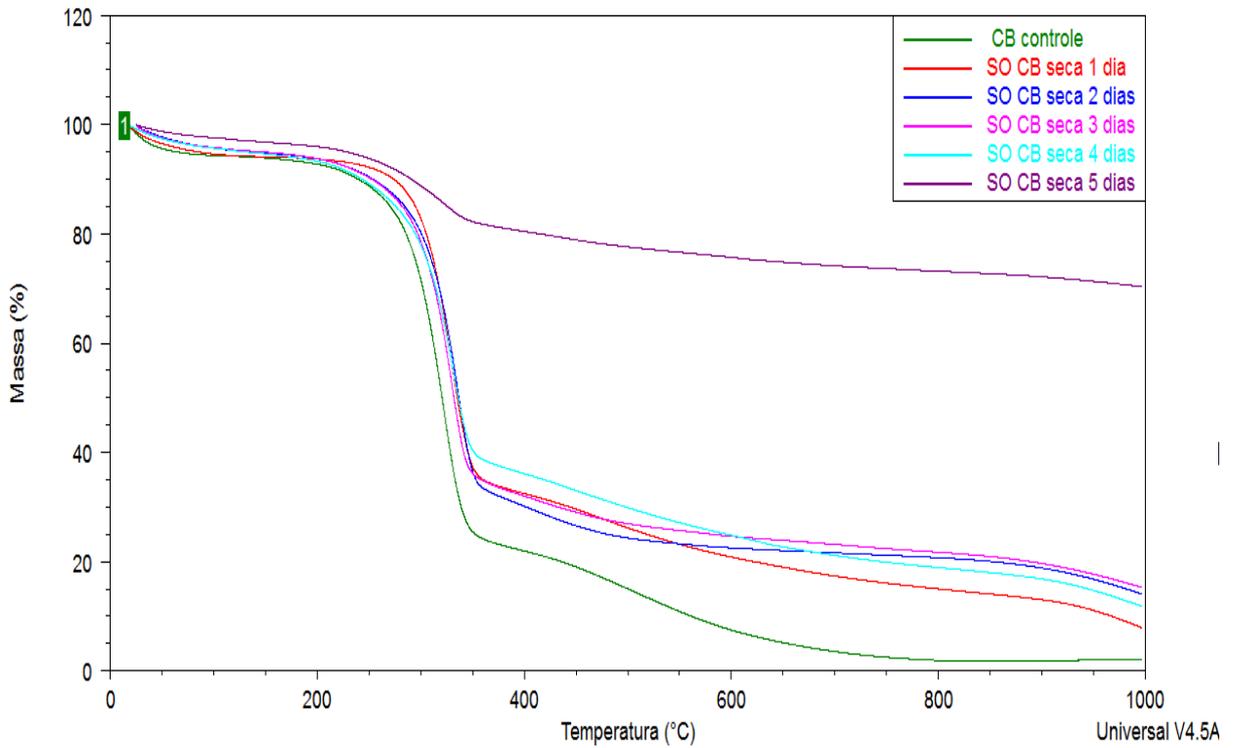
Conforme a literatura, as amostras submetidas ao IN, sofrem atuação de fatores mecânicos que promoveram a cisão das amostras, enquanto àquelas submetidas ao EA apresentaram apenas a fragilização (GRIGULL *et al.*, 2015).

Para as membranas de CB secas, Figura 25, expostas ao IN, se observou no segundo estágio, que a diminuição da  $T_{onset}$ , perda de massa e  $T_{max}$ , na membrana de 75 dias, demonstrando sua maior degradação em relação aos 30 e 60 dias, que também foi verificado nos bandas de FTIR e observado na análise visual das membranas. Nas membranas úmidas, Figura 26, observa-se através da variação de aumentos e quedas, no segundo estágio de degradação das membranas, da  $T_{max}$  (30 dias – 325 °C), (60 dias – 317 °C), (75 dias – 323 °C) e (90 dias – 335 °C), tabela 3, que houve as diferenças de degradação em relação a integridade das membranas. Em relação à CB controle, houve maior degradação e perda de massa na CB úmida, onde a análise visual, levaram aos mesmos resultados. Estes resultados vão ao encontro ao relatado de pesquisadores, quanto a CB ser hidrofílica (RECOUVREUX, 2008)(SOARES et al., 2009)(VINHAS et al., 2007)(ALMEIDA, 2010).

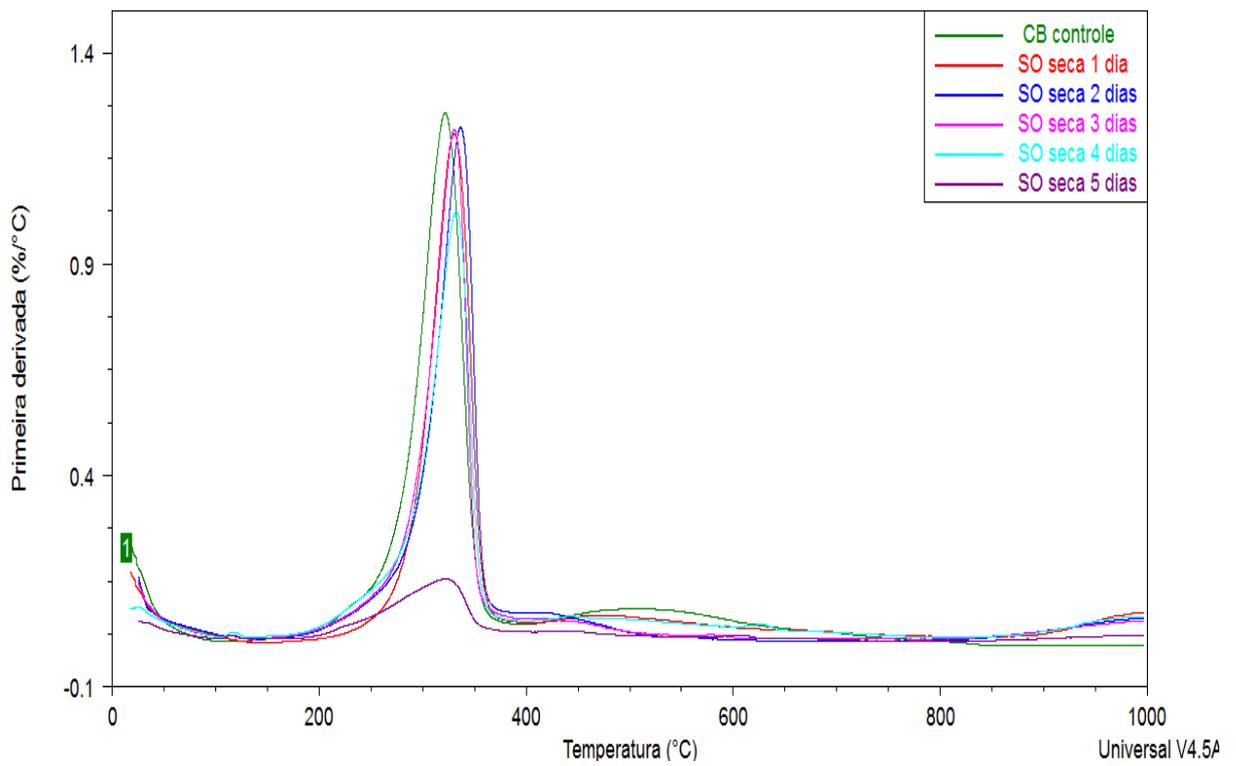
#### 5.1.3.4 Câmara de envelhecimento acelerado

Pode-se observar nos ensaios das membranas CB secas, Figura 27, submetidas ao envelhecimento acelerado, que não ocorreram grandes variações. Observa-se que a perda de massa do primeiro estágio, em 60 dias houve a menor, perda de massa, quando comparada aos outros tempos. A  $T_{max2}$ , referente ao segundo estágio teve sua maior banda em 120 dias, demonstrando menor grau de degradação, como foi observado na análise visual. A CB úmida, Figura 28, tiveram aumento da  $T_{max2}$  e perda de massa 2 e diminuição da Perda de massa1, após 120 dias, corroborando com o verificado na análise de FTIR, que as membranas mantiveram constância nas bandas características da CB controle.

Figura 19: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB seca degradada em SO.

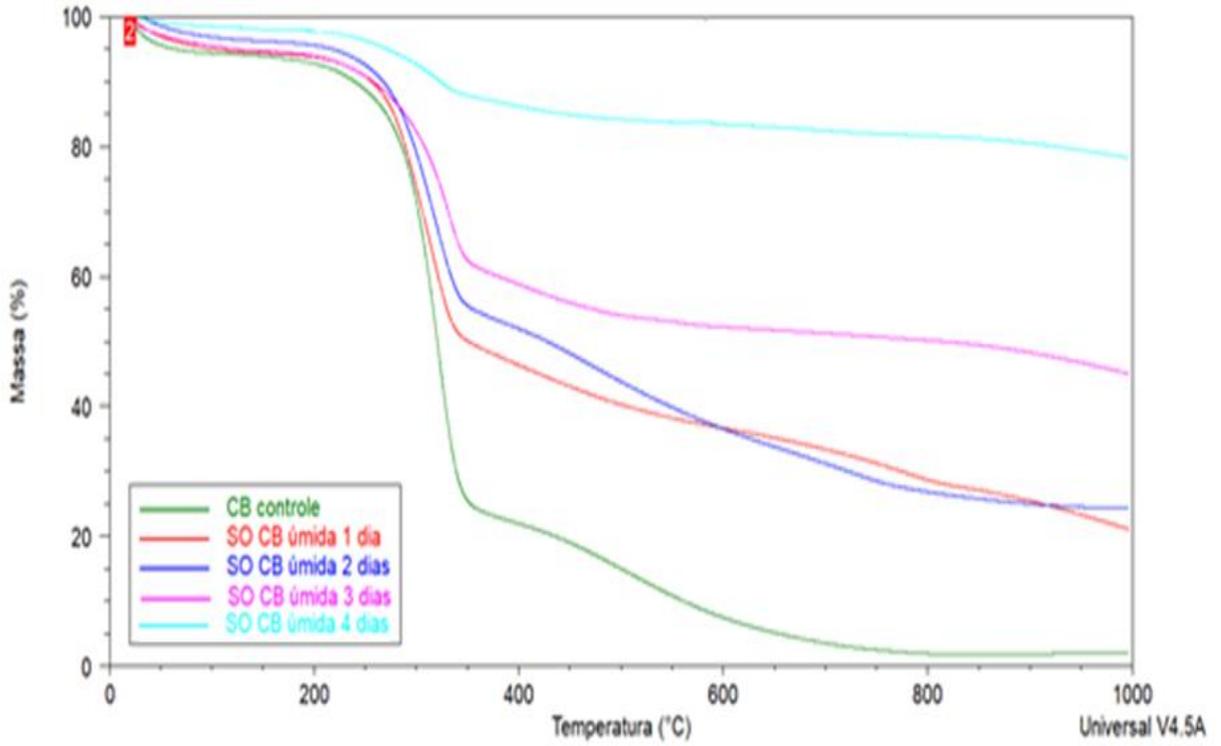


(a)

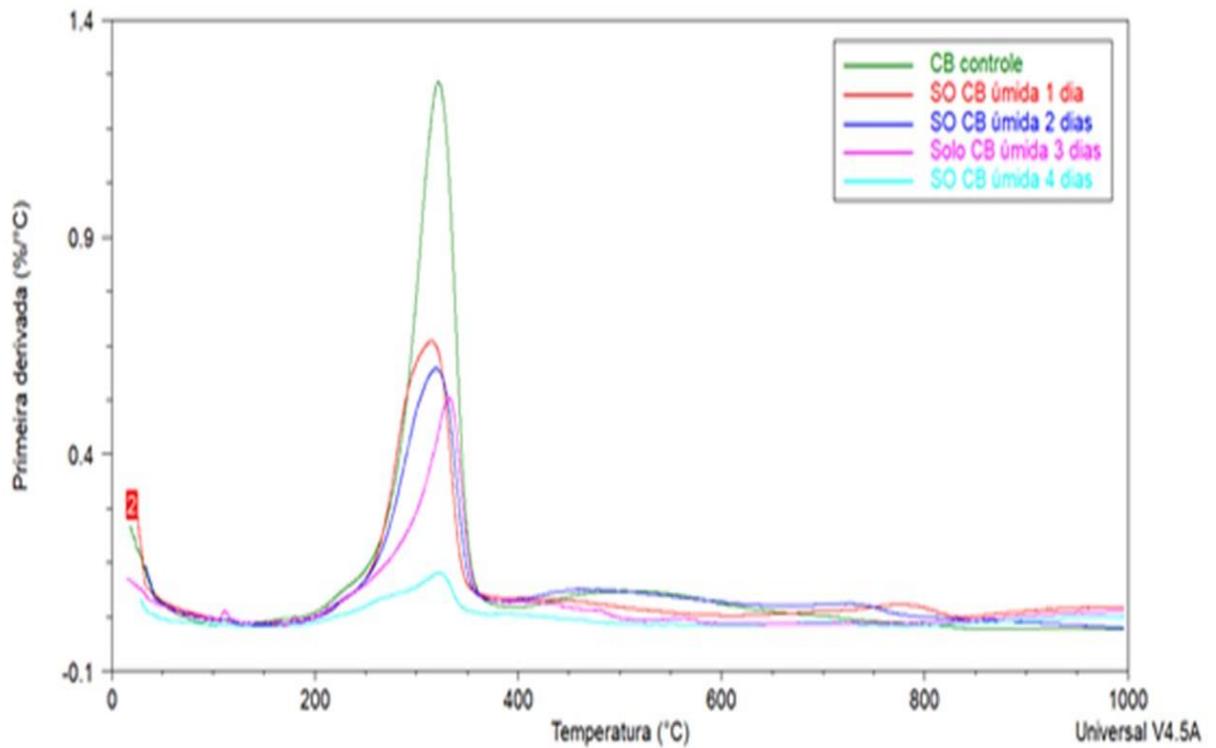


(b)

Figura 20: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB úmida degradada em SO.

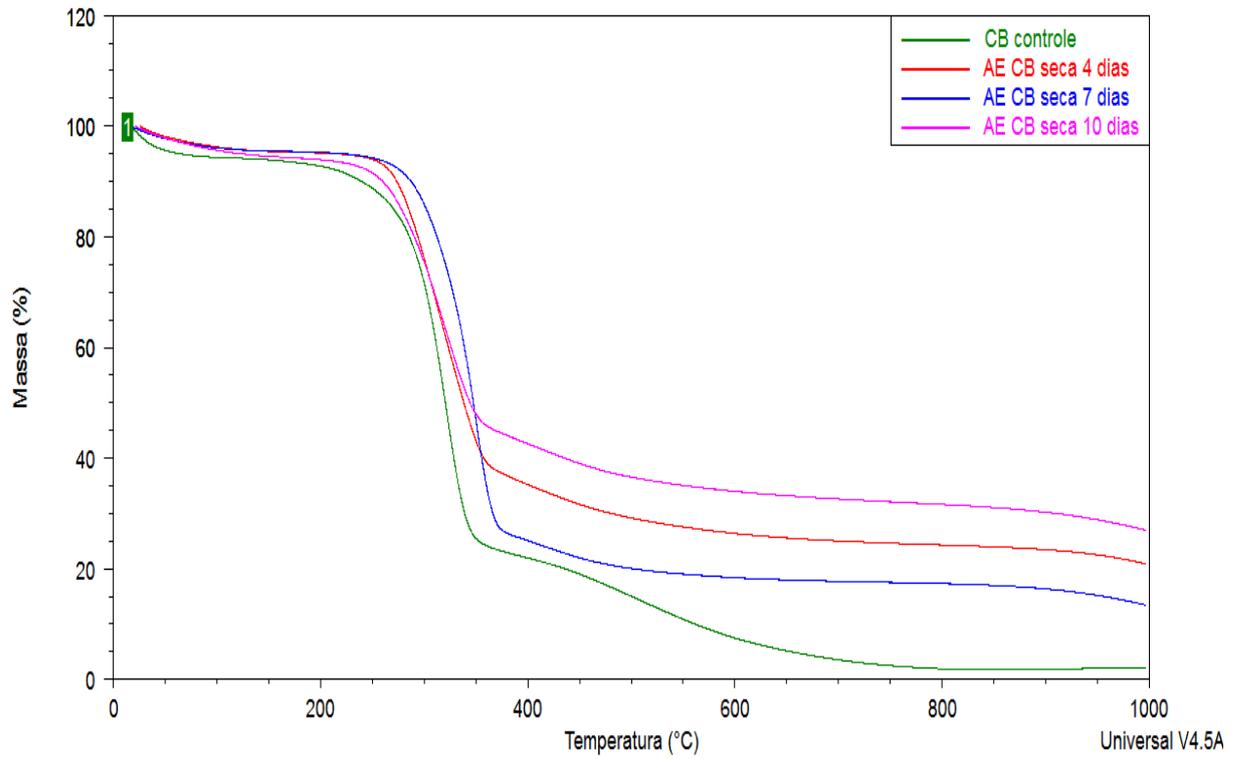


(a)

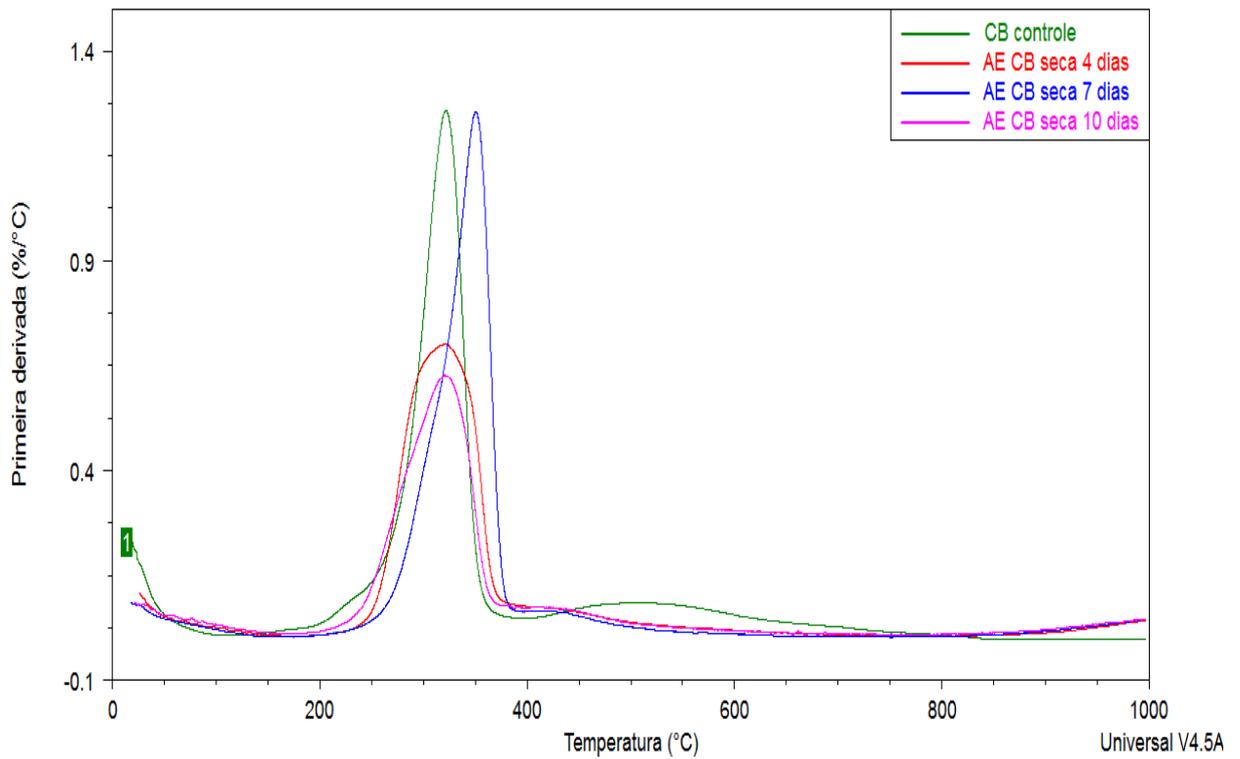


(b)

Figura 21: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB seca degradada em AE.



(a)



(b)

Figura 22: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB úmida degradada em AE.

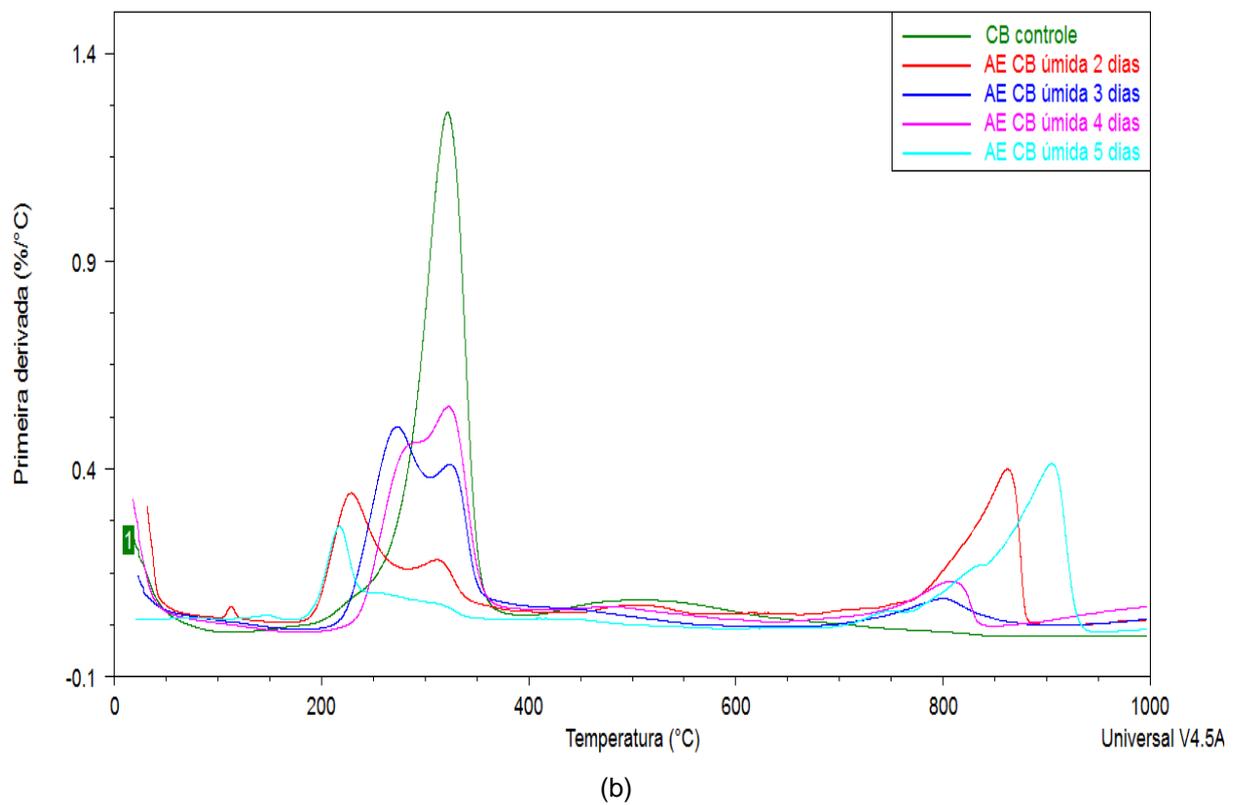
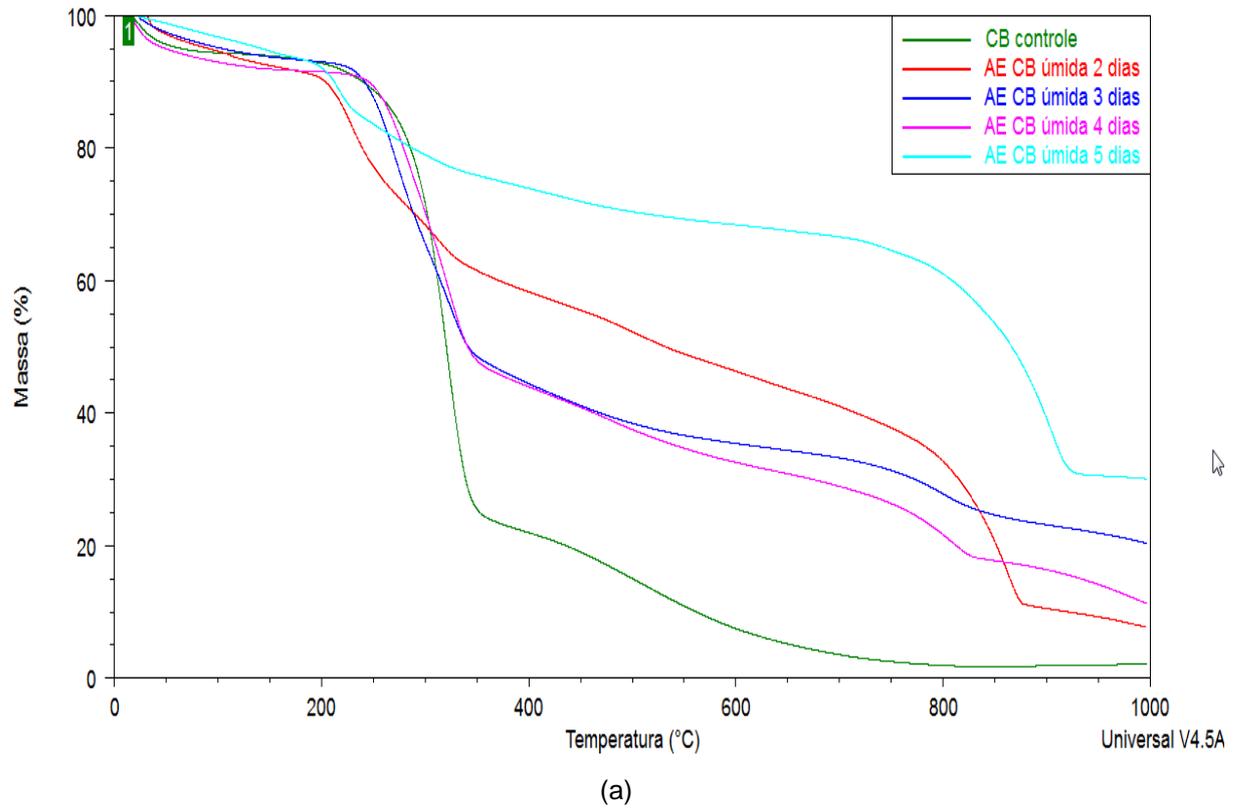
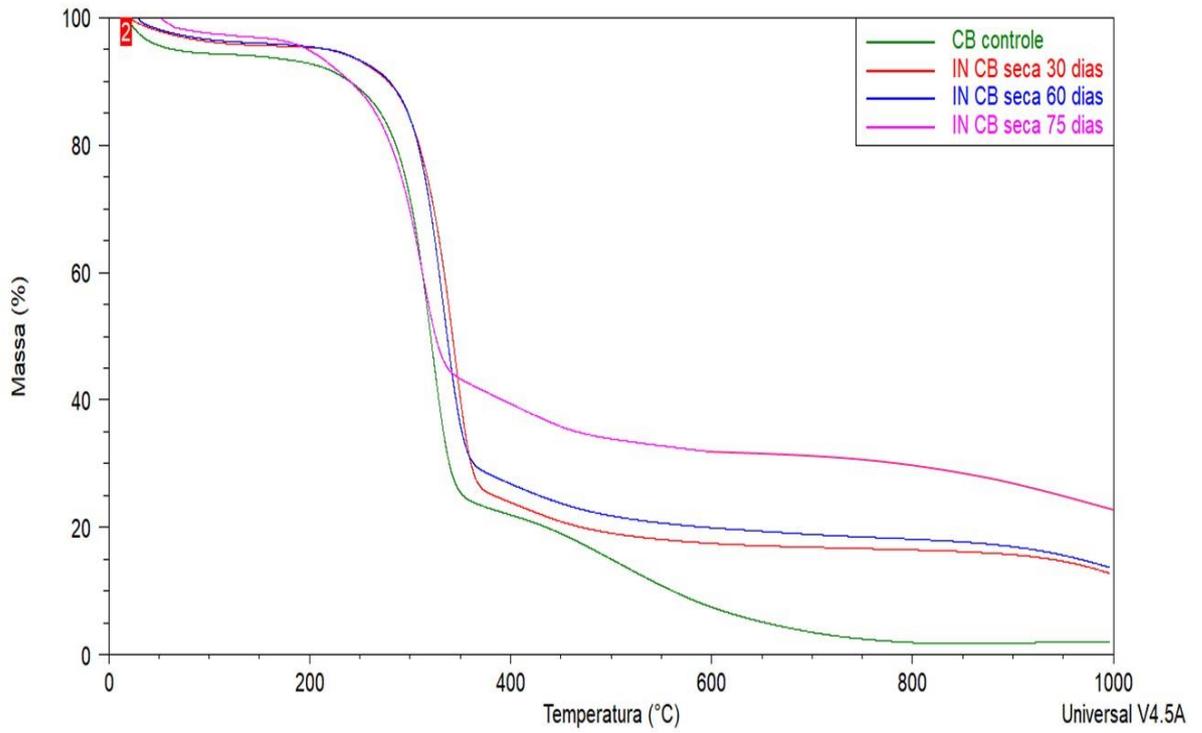
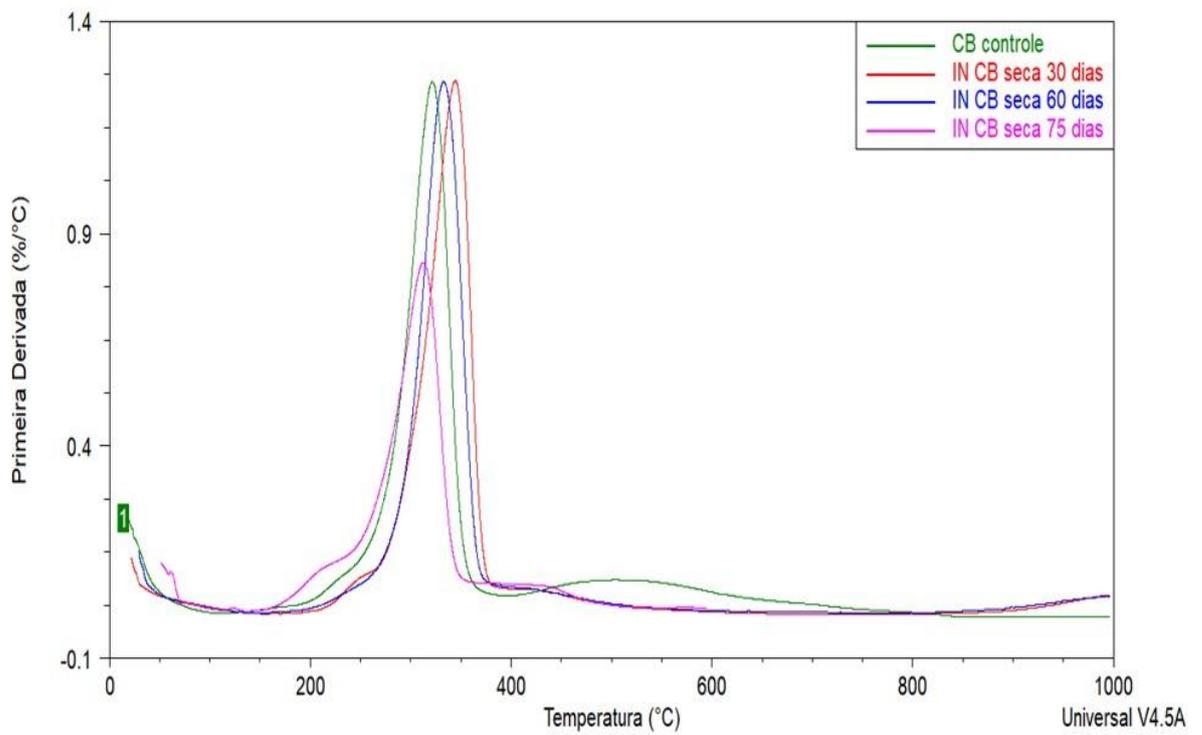


Figura 23: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB SECA, degradada em IN.

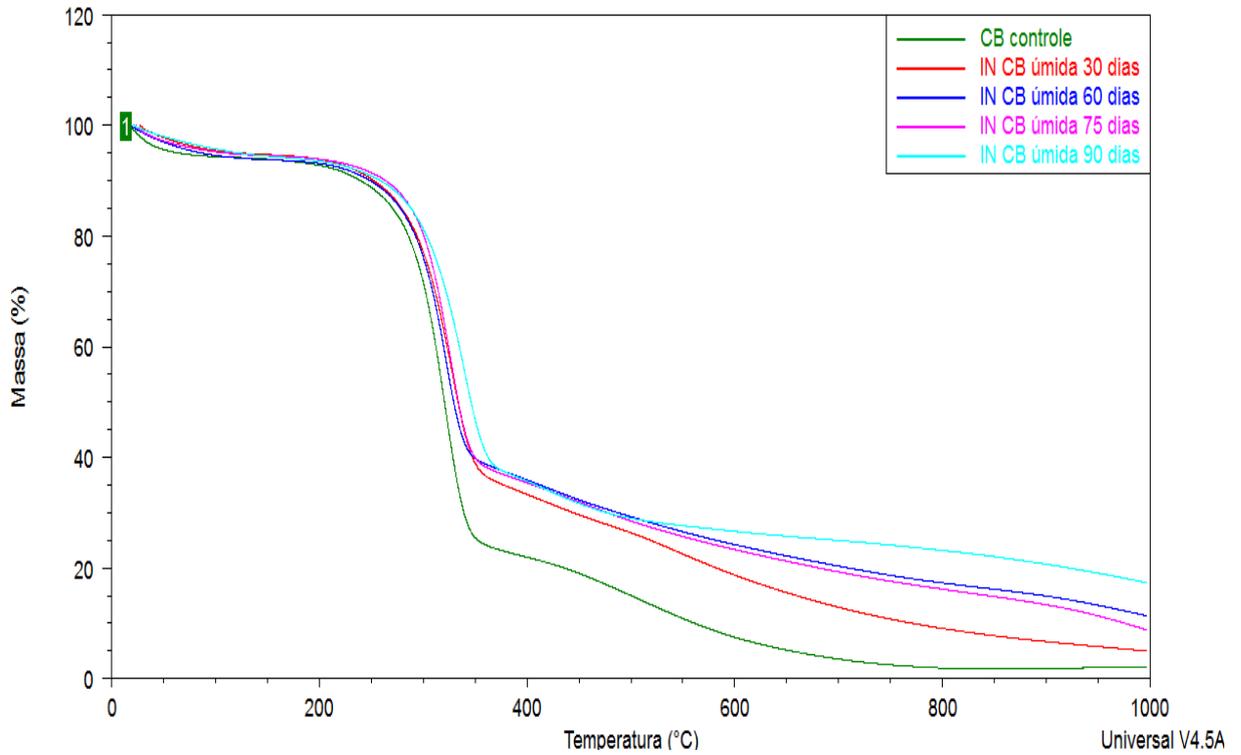


(a)

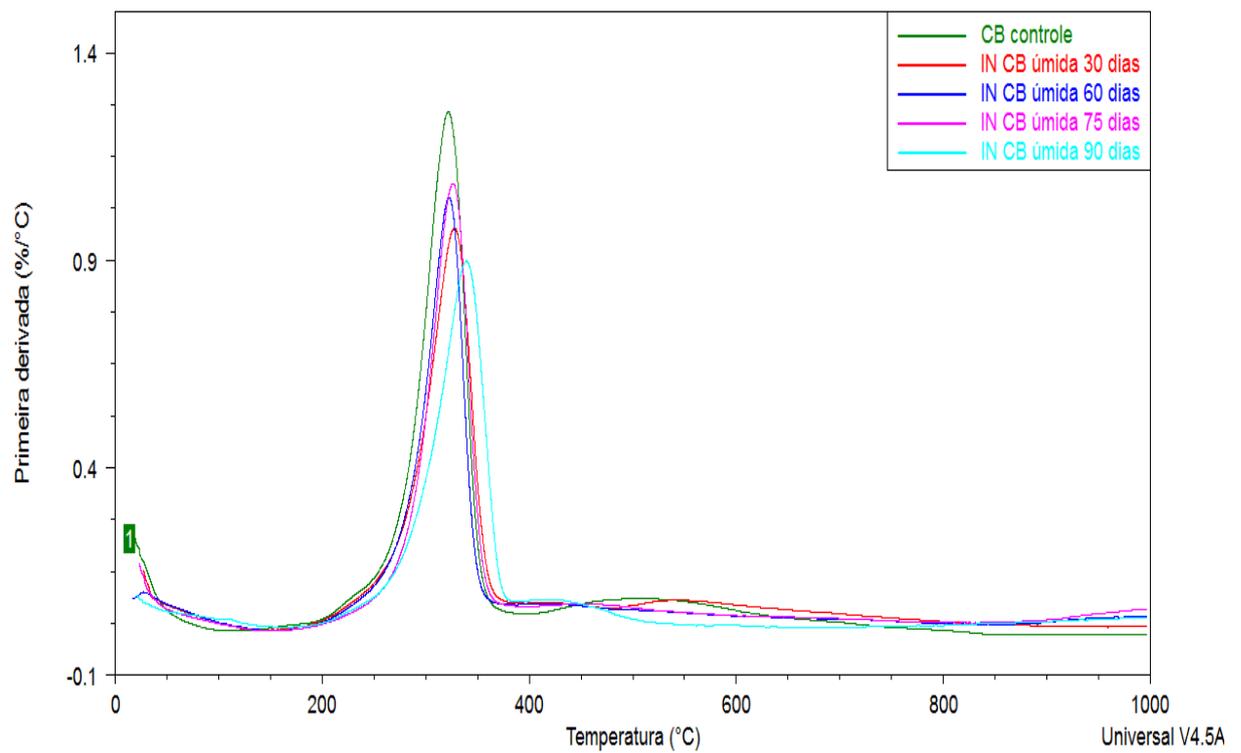


(b)

Figura 24: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB Úmida, degradada em IN.

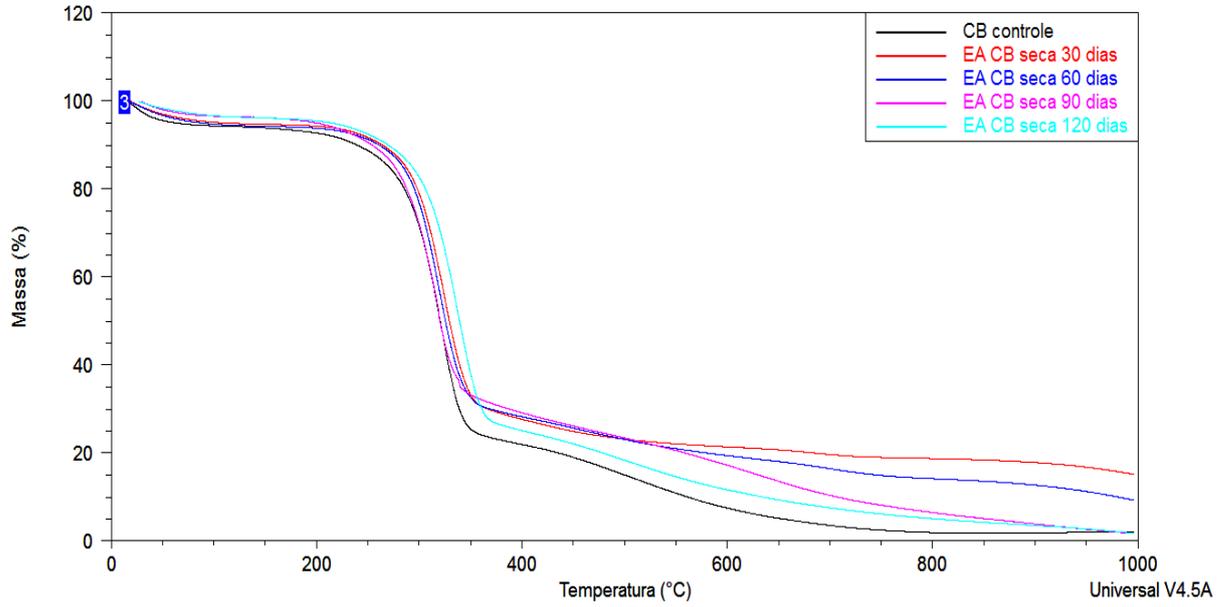


(a)

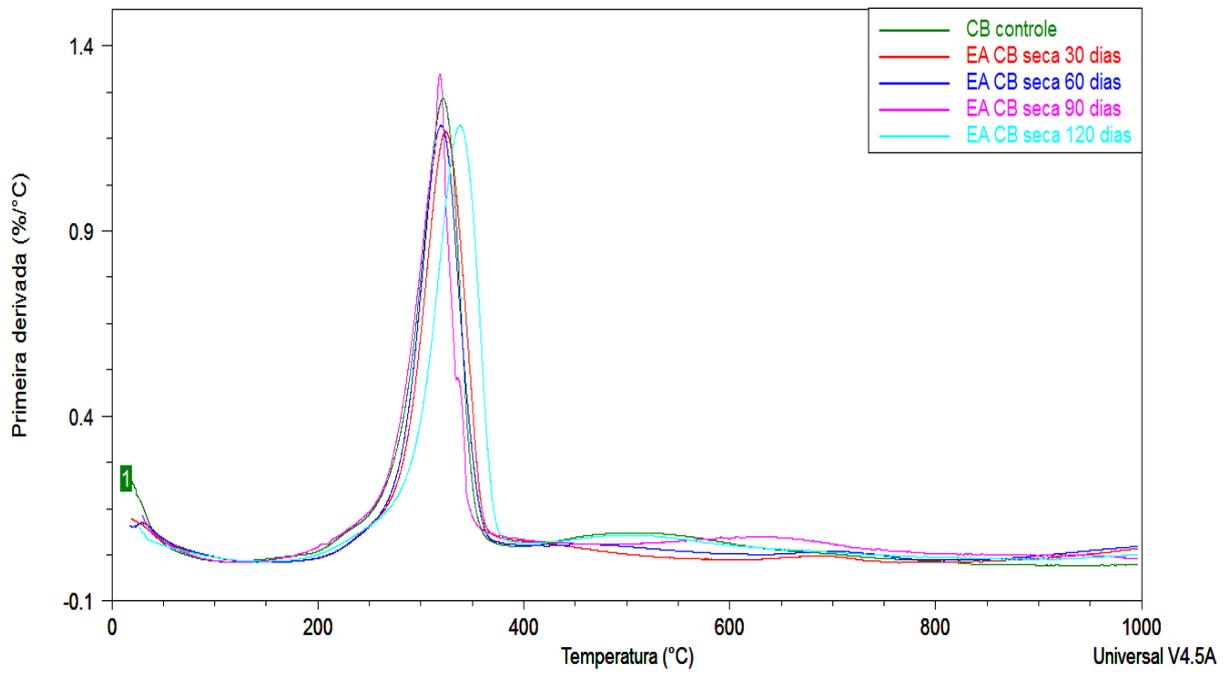


(b)

Figura 25: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB seca, degradada em EA.

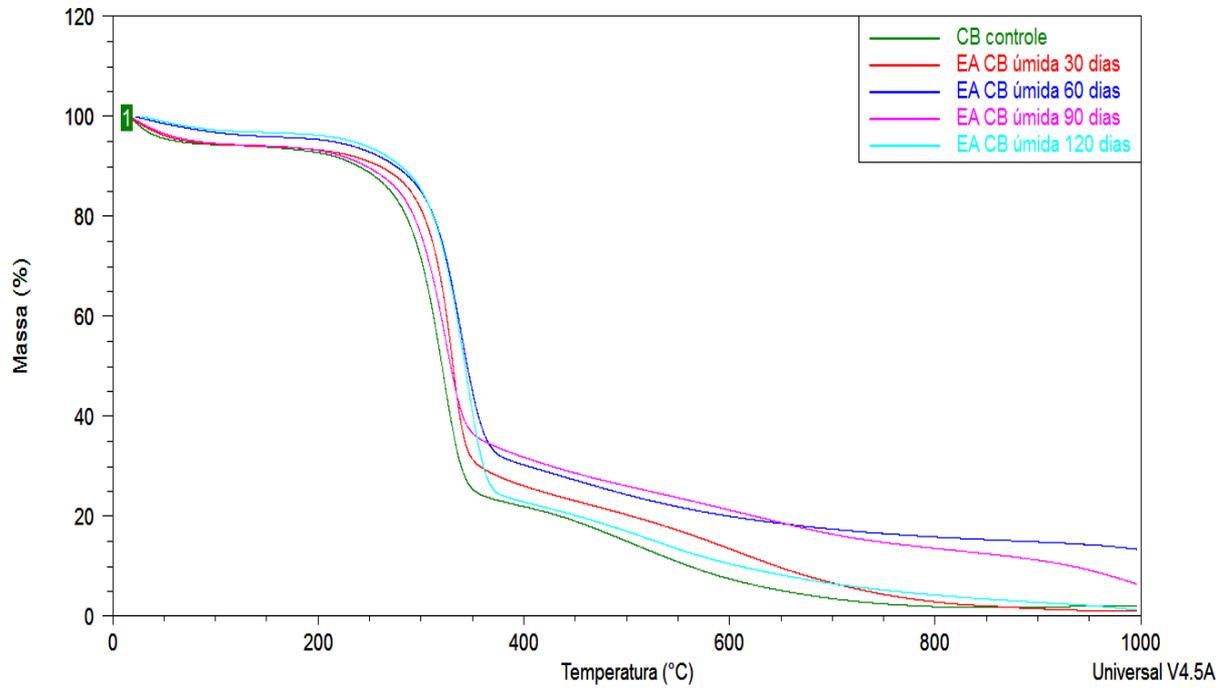


(a)

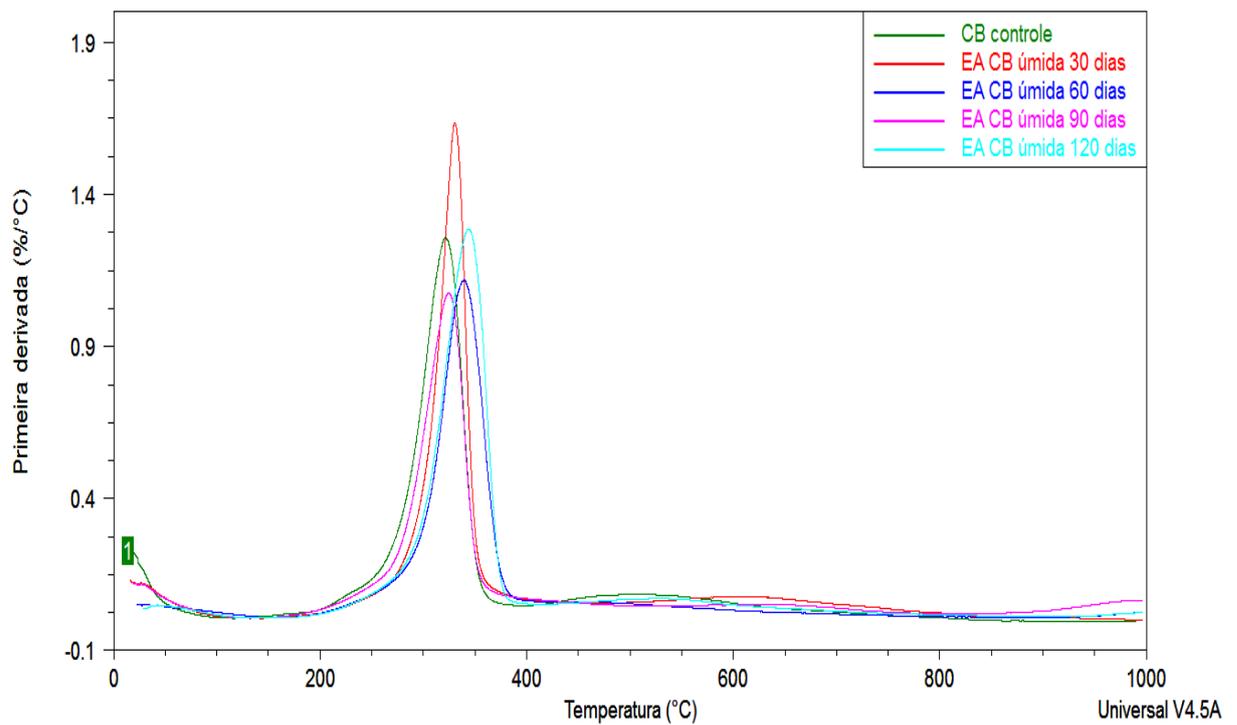


(b)

Figura 26: Curvas TG (a) e DTG (b) da CB úmida, degradada em EA.



(a)



(b)

Tabela 2: Dados obtidos das curvas TGA para as membranas CB SECA.

<b>CB SECAS</b>								
<b>Amostras</b>	<b>Perda de massa 1 (%)</b>	<b>T<sub>onset2</sub> (°C)</b>	<b>Perda de massa 2 (%)</b>	<b>T<sub>max 2</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>onset3</sub> (°C)</b>	<b>Perda de massa 3 (%)</b>	<b>T<sub>max3</sub> (°C)</b>	<b>Resíduo (%)</b>
<b>EXPOSTA AO SOLO</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>1 dia</b>	5,8	300	61,8	327	nd	24,3	nd	8,0
<b>2 dias</b>	4,9	303	64,6	334	nd	16,0	nd	14,2
<b>3 dias</b>	4,8	297	63,1	327	nd	16,7	nd	15,4
<b>4 dias</b>	5,2	297	58,7	237	nd	24,2	nd	12,2
<b>5 dias</b>	3,2	260	16,4	317	nd	443,3 610,3 763,5	nd	70,4
<b>EXPOSTA AO AMBIENTE ESTUARINO</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>4 dias</b>	4,7	274	60,1	325	nd	14,2	nd	21,0
<b>7 dias</b>	4,5	313	70,5	353	nd	11,6	nd	13,5
<b>10 dias</b>	5,7	273	52,3	315	nd	15,0	nd	27,1
<b>EXPOSTA AO INTEMPERISMO NATURAL</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>30 dias</b>	4,41	307,53	71,62	341,37	nd	11,15	nd	12,82
<b>60 dias</b>	4,04	301,48	69,06	329,97	nd	13,09	nd	13,87
<b>75 dias</b>	3,08	270,49	57,55	315,45	nd	7,46	nd	31,96
<b>EXPOSTA A CÂMARA DE ENVELHECIMENTO ACELERADO</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>30 dias</b>	5,3	288	66,7	325	nd	12,6	nd	15,2
<b>60 dias</b>	5,7	286	66,0	320	nd	19,0	nd	9,3
<b>90 dias</b>	3,6	280	67,2	319	nd	27,5	nd	1,8
<b>120 dias</b>	3,7	298	70,4	338	nd	23,8	nd	1,8

Tabela 3: Dados obtidos das curvas de TGA para as membranas CB ÚMIDA.

<b>CB ÚMIDAS</b>								
<b>Amostras</b>	<b>Perda de massa 1 (%)</b>	<b>T<sub>onset2</sub> (°C)</b>	<b>Perda de massa 2 (%)</b>	<b>T<sub>max 2</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>onset3</sub> (°C)</b>	<b>Perda de massa 3 (%)</b>	<b>T<sub>max3</sub> (°C)</b>	<b>Resíduo (%)</b>
<b>EXPOSTA AO SOLO</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>1 dia</b>	5,5	271	48,1	313	nd	25,2	783	21,6
<b>2 dias</b>	3,8	275	44,1	315	nd	27,8	nd	24,4
<b>3 dias</b>	5,1	283	35,4	332	nd	14,2	nd	45,0
<b>4 dias</b>	1,6	256	11,1	322	nd	8,8	nd	78,3
<b>EXPOSTA AO AMBIENTE ESTUARINO</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>2 dias</b>	7,2	nd	34,2	228 312	nd	50,6	863	7,7
<b>3 dias</b>	6,5	nd	48,8	274 325	nd	24,1	801	20,4
<b>4 dias</b>	8,1	nd	48,3	286 322	nd	32,0	473 813	11,3
<b>5 dias</b>	4,4	nd	21,7	217	nd	43,7	907	30,1
<b>EXPOSTA AO INTEMPERISMO NATURAL</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>30 dias</b>	5,2	290	62,0	325	nd	27,7	nd	5,1
<b>60 dias</b>	6,1	290	57,8	317	nd	24,5	nd	11,5
<b>75 dias</b>	5,5	294	58,0	323	nd	27,7	nd	8,9
<b>90 dias</b>	5,7	299	57,6	335	nd	19,3	nd	17,4
<b>EXPOSTA A CÂMARA DE ENVELHECIMENTO ACELERADO</b>								
<b>Controle</b>	5,6	285	72,1	322	nd	20,1	506	2,1
<b>30 dias</b>	5,9	308	70,1	327,70	nd	22,9	nd	1,1
<b>60 dias</b>	4,2	306	66,6	340,52	nd	15,9	nd	13,5
<b>90 dias</b>	5,7	290	67,8	331,36	nd	19,9	nd	6,7
<b>120 dias</b>	3,2	308	73,9	341,21	nd	21,7	nd	1,3

## CONCLUSÕES

A partir do estudo sobre degradação da CB em diferentes ambientes e as seguintes conclusões são apresentadas.

As imagens obtidas por análise visual foram importantes para a investigação da morfologia dos filmes, mostrando os orifícios, sua aparência, entre outras características observadas, tais como rugosidade, coloração, fragilidade em função do tempo de degradação, mostrando o ataque microbiano na superfície das membranas para algumas condições ambientais de degradação, como solo e ambiente estuarino.

As análises de TGA e FTIR, juntamente com a análise visual permitem concluir que a cinética de degradação das membranas ocorreu na seguinte ordem: SO > AE > IN > EA. No SO a membrana de CB úmida, foi a que obteve seu processo de degradação em menor tempo de exposição, enquanto em EA, a de maior tempo.

Acredita-se que no SO e no AE a degradação foi mais intensa que nos outros ambientes, pois foi facilitada pela presença da água e pela maior presença de micro-organismos nesses meios, que promovem o ataque microbiano, sendo que a degradação das membranas úmidas foi mais acelerada que as secas. O fato da membrana de CB ser extremamente porosa e com a secagem em estufa, os poros foram colapsados, enquanto na membrana úmida os poros permaneceram intactos, sendo a água um veículo que auxiliou a transportar os micro-organismos para dentro da membrana e conseqüentemente aceleraram a degradação.

## REFERÊNCIAS

ABRELPE. **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil 2016**. p. 64. 2017. Disponível em: <http://www.abrelpe.org.br/Panorama/panorama2016.pdf> Data de acesso: 10 nov 2017

ACCUWEATHER, 2018. Disponível em: <<https://www.accuweather.com>>. Data de acesso: 02 jul 2018.

ALMEIDA, A.S. **Obtenção e caracterização de nanocompósitos de poli(L-lactídeo) e nanopartículas de argila sódica. Argilas organofílicas e óxidos de sílica**. 2010. 133 f. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Polímeros) - Ciência e Tecnologia de Polímeros, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

**ASTM D833**: Standard Methods of identification and quantitative analysis of synthetic elastomers. (Withdrawn 1959)

**ASTM DESIGNATION G 154 - 06**: Standard Practice for Operating Fluorescent Light Apparatus for UV Exposure of Nonmetallic Materials. September 2000. p.1–11. 2011.

BAE, S.O.; SHODA, M. **Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* BPR2001 using molasses medium in a jar fermentor**. Applied Microbiology and Biotechnology. v.67. n.1. p.45–51. 2005.

Pharmacological sciences - carbohydrate research, **BACTERIAL CELLULOSE**. Disponível em <<https://www.pharmacologicalsciences.us/carbohydrate-research/bacterial-cellulose.html>>. Acesso em: 02 jul 2018.

BARUD, H.S. *et al.* Antimicrobial Brazilian propolis (EPP-AF) containing biocellulose membranes as promising biomaterial for skin wound healing. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2013, Article ID 703024, 10 pages, 2013.

BARUD, H.S. et al. Thermal behavior of cellulose acetate produced from homogeneous acetylation of bacterial cellulose. **Thermochimica Acta**. v.471, n.5. p. 61–69, 2008.

BARUD, H.S. **Novos materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana**. 2010. 172 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

BASTA, A.H.; SAIED, H. EL.; CELZARD, A. 2-Steps koh activation of rice straw: an efficient method for preparing high-performance activated carbons. **Bioresource Technology**. v.100, n.17, p.3941-3947, 2009.

BEDIENT, P.B.; RIFAI, H. S.; NEWELL, C. J. **Ground water contamination: transport and remediation**. New Jersey: Prentice Hall PTR: 2000

BIANCO, G. et al. Thermal stability of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone-co-methacrylic acid) copolymers in inert atmosphere. **Polym Degrad. Stab**. v. 80. p. 567-574. 2003.

BIOCUTURE. Disponível em <<http://caosarrumado.com/moda/moda-democratica/biocouture-designer-suzanne-lee-no-cultivo-de-sua-propria-roupa/>>. Acesso em: 2 jul 2018.

BROWN, E.; LABORIE, M.P. Bioengineering bacterial cellulose/poly(ethylene oxide) nanocomposites. **Biomacromolecules**. v.8, n.10, p.3074–3081, 2007.

BIONEXT. Disponível em <<http://www.bionext.com.br/bionext-curativo-biotecnologico/>>. Acesso em :15 jun 2018.

CAMPOS, A.; MARCONATO, J.C.; FRANCHETTI, S.M.M. Biodegradation of blend films PVA/PVC, PVA/PCL in soil and soil with landfill leachate. **Brazilian Archives Biology and Technology**. v.54, p.1367–1378, 2011.

CHANDRA, R.R.R. **Biodegradable polymers**. v.23. Pergamon, 1998.

CHEN, X. **Degradation studies on plant cellulose and bacterial cellulose by FT-IR and ESEM**. 2014. 59f. Dissertação (Mestrado) - University Birmingham. 2014.

CIOLACU, D.; CIOLACU, F.; POPA, V. I. Amorphous cellulose – structure and Characterization. **Cellulose Chemical Technology**. v.45, p.13–21, 2011.

CROCE, R. et al. Origin of the 701-nm fluorescence emission of the Lhca2 subunit of higher plant photosystem I. **Journal of Biological Chemistry**. v.279, n.47, p. 48543–48549, 2004.

CZAJA, W. et al. Microbial cellulose - The natural power to heal wounds. **Biomaterials**. v. 27, n.2, p.145–151, 2006.

CZAJA, W.K. et al. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. **Biomacromolecules**. v. 8, n. 1, p. 1–12, 2007.

DONINI, Í.A.N. et al. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Ecletica Quimica**. v. 35, n. 4, p. 165–178, 2010.

ERENO, D. Celulose Na Pele. **Tecnologia**. p.1–4. 2004.

EVOPHANCIE, Disponível em <<http://www.evophancie.com.tw/en/technical.html/>>. Acesso em: 15jun2018

FLEMMING, H.C. Microbially Influenced Corrosion of Materials. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v.41. p.1–11, 1998.

FLORENCIO, C. **Microrganismos Produtores de Celulases: Seleção de Isolados de *Trichoderma spp.*** 2011. 86f. Dissertação (Pós-Graduação em Biotecnologia) Universidade Federal de São Carlos, SP

GEA, S. *et al.* Investigation into the structural. morphological. mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. **Bioresource Technology**. v. 102, n.19, p. 9105–9110, 2011.

- GRIGULL, V.H. et al. Estudo da degradação de blendas de poli(hidroxi-butilato-co-hidroxi-valerato)/ poli(L-ácido láctico). **Engevista**. v. 17, n.4, p. 444–462, 2015.
- HAKKARAINEN, M.; KHABBAZ, F.; ALBERTSSON, A. Biodegradation of polyethylene followed by assimilation of degradation products *In*: MATSUMURA, S.; STEINBÜCHEL, A. **Miscellaneous biopolymers and biodegradation of polymers**. v. 9. p. 369–394. 2003.
- HELENIUS, G. *et al.* *In vivo* biocompatibility of bacterial cellulose. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**. v. 76, n. 2, p. 431–438, 2006.
- HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochemical Journal**. v. 58, n. 2, p. 345–352, 1954.
- IGUCHI, M.; YAMANAKA, S.; BUDHIONO, A. Bacterial cellulose a masterpiece of nature's. **J. Mat. Science**. v. 35, p. 261–270, 2000.
- JABLONSKI, A. E.; VYAZOVKIN, S.; LANG, A. J. **Thermochim. Acta**. v. 474, p. 78, 2008.
- KACURAKOVA, M. *et al.* Molecular interactions in bacterial cellulose composites studied by 1D FT-IR and dynamic 2D FT-IR spectroscopy. **Carbohydrate Research**. v. 337, n.12, p.1145–53, 2002.
- KLEMM, D. et al. Bacterial synthesized cellulose - Artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**. v.26, n. 9, p. 1561–1603, 2001.
- KLEMM, D. et al. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie International Edition**. p. 3358–3393. 2005.
- LEE, A.Y. et al. Mapping the cellular response to small molecules using chemogenomic fitness signatures. **Science**. v. 344, n.6180, p.208-211, 2014.

LEGNANI, C. *et al.* Bacterial cellulose membrane as flexible substrate for organic light emitting devices. **Thin Solid Films** v.517, n.3, p.1016-1020, 2008

LILLARD, J.W. *et al.* The haemin storage (Hms+) phenotype of *Yersinia pestis* is not essential for the pathogenesis of bubonic plague in mammals. **Microbiology**. v. 145. p. 197–209. 1999.

LIMA, L. R. *et al.* Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Quimica Nova**. v. 38. n. 9. p. 1140–1147. 2015.

LIN, N.; DUFRESNE, A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. **European Polymer Journal**. v. 59. p. 302–325. 2014.

LUCAS, Elizabete F.; SOARES, Bluma G.; MONTEIRO, Elisabeth. **Caracterização de polímeros**: determinação de peso molecular e análise térmica. Rio de Janeiro: E-papers, 2001.

MAFRA, A. C.; SILVEIRA, M. L. L.; APATI, G.P. **Influência do tipo de chá na produção de celulose bacteriana em chás de kombucha e avaliação de sua ação antimicrobiana**. Trabalho conclusão de curso (Engenharia Química). Universidade da Região de Joinville. 2017.

MARTSON, M. *et al.* Is cellulose sponge degradable or stable as implantation material? An *in vivo* subcutaneous study in the rat. **Biomaterials**. v.20, n.21, p.1989–1995, 1999.

MEI, L.H.I., MARIANI, P.D.S.C. **Visão geral sobre polímeros ou plásticos ambientalmente degradáveis (PADs)**. Campinas: Editora e Gráfica Flamboyant, v.1, p.41, 2005.

MÜLLER, F.A. *et al.* Cellulose-based scaffold materials for cartilage tissue engineering. **Biomaterials**. v. 27. n. 21, P.3955-3963, 2006.

NEUROCEL. Disponível em <<https://biocellbrasil.com.br/>>. Acesso em:15jun2018.

NEXFILL. Disponível em < <http://nexfill.com.br/tecnologia/>>. Acesso em:15jun2018.

NUNES, M.B.S.; BARDI, M.A.G.; CARVALHO, L.H. Biodegradação em solo simulado de blendas de PBAT / TPS e seus biocompósitos com mesocarpo de babaçu. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.11, n.2, 105–111, 2016.

OLABISI, O.; ADEWALE, K. (Ed) **Handbook of Thermoplastics**. 3 ed, Boca Raton: CRC Press, 2016. 994p.

OLIVEIRA, V. A.; RAMBO, C.R.; PORTO, L.M. Produção e degradação in vitro de estruturas tubulares de celulose bacteriana. **Polímeros Ciência e Tecnologia**. v.23. n.4, p.559–564, 2013.

PASIZNICK, G.A. **Síntese, caracterização e degradação de P(3HB) por Cupriavidus necator, utilizando glicerol como substrato**. 2012. 164f. Tese (Doutorado) UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. Florianópolis, 2012.

PECORARO, É. *et al.* Bacterial Cellulose from *Glucanacetobacter xylinus*: Preparation. Properties and Applications. In: BELGACEM; GANDINI (Eds.). **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. Amsterdam: Elsevier. 2008. p. 289–304.

PEREIRA, V.C. **ESTUDOS DE FOTO TERMO E BIODEGRADAÇÃO DE BLENDA DE PEBD/PHB EM COLUNAS DE SOLO**. 2010. 64f. Trabalho conclusão de curso - Ecologia, UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”. Rio Claro - SP, 2010.

POSPISIL, J.; NESPUREK, S.J. Os destaques em química e física do polímero estabilização. **Macromol Symp**. p.115–143, 1997.

PICHETH, G.F. Bacterial cellulose in biomedical applications: a review. **Int J Biol**

**Macromol.** v.104, p.97–106, 2017.

RECOUVREUX, D.O.S. **Desenvolvimento de Novos Biomateriais Baseados em Celulose Bacteriana para Aplicações Biomédicas e de Engenharia de Tecidos.** 2008. 145f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis - SC, 2008.

RIBEIRO, M.A. **Pré-tratamento do bagaço de cana utilizando o processo de oxidação avançada por feixe de elétrons para hidrólise enzimática da celulose.** 2013. 100f. Tese (Doutorado)- Ciencia na área de tecnologia nuclear, IPEN - Autarquia Associada à Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

ROSA, D.S. et al. The biodegradation of poly- $\beta$ -(hydroxybutirate-co-valerate) and poly- $\beta$ -(hydroxybutirate-co-valerate) and poly- $\epsilon$ -(caprolactone) in compost derived from municipal solid waste. **European Polymer Journal**, v.39, p.233-237, 2003.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Microbiological Reviews**. v. 55. n.1. p.35–58, 1991.

SANCHAVANAKIT, N. et al. Growth of Human Keratinocytes and Fibroblasts on Bacterial Cellulose Film. **Biotechnol Prog.** v.22, n.4, p.1194-1199,2006.

SCHRÖPFER, S.B. et al. Biodegradation evaluation of bacterial cellulose. vegetable cellulose and poly(3-hydroxybutyrate) in soil. **Polímeros**. v.25, n.2, p.154–160, 2015.

SHAH, A.A. et al. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**. v. 26, n.3, p. 246–265, 2008.

SHI, Z. et al. Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**. v.35. p. 539–545, 2014.

SHIBAZAKI, H.; KUGA, S.; FUMIHIKO, O. Bacterial cellulose membrane as separation medium. **Journal of Applied Polymer Science**. v.50. n.6. p.965–969,

2003.

SILVEIRA, J.F.C. **Nanocristais de celulose bacteriana: da obtenção sob diferentes condições de hidrólise à incorporação como reforço em poli(L-ácido láctico)**. 2016. 87f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Processos, Universidade da Região de Joinville. Univille, Joinville - SC, 2016.

SOARES, Disponível em <[https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/ciencia-e-saude/2017/07/22/interna\\_ciencia\\_saude,611649/plastico-mundo-produziu-8-3-bi-de-toneladas-em-65-anos-e-reciclou-so.shtml](https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/ciencia-e-saude/2017/07/22/interna_ciencia_saude,611649/plastico-mundo-produziu-8-3-bi-de-toneladas-em-65-anos-e-reciclou-so.shtml)>. Acesso em: 02 jul 2018.

SOARES, N. et al. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**. v. 56, n.4, p. 370–378, 2009.

SORATTO, G.B. **O desenvolvimento e caracterização de membranas de celulose bacteriana visando aplicação em embalagens ativas**. 2017. 69f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Processos, Universidade da Região de Joinville. Univille, Joinville - SC, 2017.

STUART, B.H. **Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications**. 1. ed. 2004.

SVENSSON, A. et al. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. **Biomaterials**. v.26, n.4, p.419–431, 2005.

TABUCHI, M. Nanobiotech versus synthetic nanotech. **Nat. Biotechnol.** v.25, p.389–390, 2007.

TAIPINA, M.D.O. **Nanocristais de celulose: obtenção, caracterização e modificação de superfície**. 2012. 116f. Dissertação (Mestrado) - Pós graduação Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2012

TURECK, B.C. **Obtenção e caracterização de celulose bacteriana sintetizada por gluconacetobacter hansenii a partir de diferentes condições de cultivo**. 2017. 75f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Processos, Universidade da Região

de Joinville. Univille, Joinville - SC, 2017.

VINHAS, G.M. et al. Estudo das propriedades e biodegradabilidade de blendas de poliéster/amido submetidas ao ataque microbiano. **Quimica Nova**. v.30, n.7, p. 1584–1588, 2007.

VOGELSANGER, N. et al. Blendas biodegradáveis de poli(3-hidroxi-butarato)/poli(ε-caprolactona): obtenção e estudo da miscibilidade. **Materials Research**. v.6, n.3, p. 359–365, 2003.

WANG, B. et al. *In vitro* biodegradability of bacterial cellulose by cellulase in simulated body fluid and compatibility in vivo. **Cellulose**. v 23, n.5, p.3187–3198. 2016.

WATANABE. A.; MORITA. S.; OZKI. Y. Temperature-dependent changes in hydrogen bonds in cellulose I alpha studied by infrared spectroscopy in combination with perturbation-correlation moving-window two-dimensional correlation spectroscopy: comparison with cellulose I beta. **Biomacromolecules**. v.8, n.9, p. 2969–75, 2007.

WILLIAM, D. F. **Definitions in Biocompatibility**. N. Amsterdam: CSR Press, v.1, 1987.

YAMANAKA, S.; ISHIHARA. M.; SUGIYAMA. J. Structural modification of bacterial cellulose. **Cellulose**. v.7, p.213–225, 2000.

YAMANAKA, S.; WATANABE, K.; KITAMURA, N. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. **Journal of Materials Science**. v.24, n.9, p.3141–3145, 1989.

ZHOU, Y, et al. Core regulatory components of the PHO pathway are conserved in the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*. **Curr Genet**. v.62, n.3, p.595-605, 2016.

# AUTORIZAÇÃO

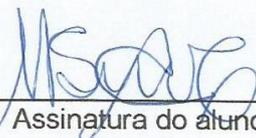
Nome do autor: Michely Sayumi Alves Camargo

RG: 6335783

Título da Dissertação: **Avaliação Da Degradação De Celulose Bacteriana  
Após Exposição Em Diferentes Meios Abióticos E Bióticos**

Autorizo a Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, através da Biblioteca Universitária, disponibilizar cópias da dissertação de minha autoria.

Joinville, 02 de outubro de 2018.

  
Assinatura do aluno