

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITO UTILIZANDO DIFERENTES
FONTES DE CELULOSE COMO REFORÇO**

MARIANA DA SILVA CALDEIRA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU - SP

Novembro - 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITO UTILIZANDO DIFERENTES
FONTES DE CELULOSE COMO REFORÇO**

MARIANA DA SILVA CALDEIRA

Orientador: Alcides Lopes Leão

Dissertação apresentado à Faculdade de
Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus
de Botucatu para obtenção do título de Mestre
em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU - SP

Novembro - 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Caldeira, Mariana da Silva, 1983-
C146p Produção de nanocompósito utilizando diferentes fontes de celulose como reforço / Mariana da Silva Caldeira. - Botucatu : [s.n.], 2013
 ix, 57 f. : tab., ils. color., grafs., fots. color.

 Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013
 Orientador: Alcides Lopes Leão
 Inclui bibliografia

 1. Celulose. 2. Nanocelulose. 3. Grama. 4. Compósitos poliméricos. 5. Recursos naturais renováveis. I. Leão, Alcides Lopes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITO UTILIZANDO DIFERENTES
FONTES DE CELULOSE COMO REFORÇO"

ALUNA: MARIANA DA SILVA CALDEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. ALCIDES LOPES LEÃO

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. BIBIN MATHEW CHERIAN

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. ALCIDES LOPES LEÃO



PROF. DR. MARCIA RODRIGUES DE MORAIS CHAVES



PROF. DR. MARCELO TELASCRÊA

Data da Realização: 29 de novembro de 2013.

DEDICO

A Deus, por estar sempre a frente na minha vida, me guiando, me fortalecendo e me protegendo.

Aos meu pais, Nelson Caldeira e Maria Salete S Caldeira pelo amor, dedicação e carinho.

Ao meu irmão Nelson, pela amizade e por estar sempre ao meu lado me apoiando e incentivando.

Ao meu marido Henrique pelo companheirismo e confiança.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof Dr. Alcides Lopes Leão, pela oportunidade, ensinamentos, confiança e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu co-orientador Dr Bibin Mathew Cherian pelas sugestões e discussões para realização deste trabalho.

A prof. Dra Marcia Rodrigues de Moraes Chaves pela paciência, ensinamentos e apoio no desenvolvimento do trabalho.

À prof. Dra Denise Milleo, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que cedeu as bactérias para realização deste trabalho.

À prof Dra Gisele Faria, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/ Araraquara, que contribuiu com as análises de biocompatibilidade do material desenvolvido.

À Aline Rabonato e Thalita Cervezan, grandes amigas que me deram força e apoio. Serei eternamente grata por essa amizade conquistada.

Aos meus companheiros do Laboratório de Resíduos Sólidos e Compósitos: Maria Angélica Szymanski, Sivoney Souza, Daniele Chiarelli, Matheus Pao, Humberto Pupo, Vitor Gamba e Carlos Roberto de Souza.

A todos que colaboraram para a conclusão de mais uma etapa na minha vida e, embora não citados, não deixaram de merecer o meu Muito Obrigada!!!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMO.....	1
SUMMARY	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 COMPÓSITOS.....	5
2.2 NANOCOMPÓSITOS.....	6
2.3 BIOMATERIAIS	7
2.4 POLÍMEROS	12
2.5 CELULOSE.....	13
2.5.1 Biosíntese da celulose.....	16
2.5.2 Celulose de origem bacteriana.....	17
2.5.2.1 Principais características da Celulose Bacteriana	20
2.5.2.2 Aplicações da Celulose Bacteriana na Área Biomédica	21
2.5.3 Celulose de Origem Vegetal.....	24
2.6 ÁLCOOL POLI VINÍLICO (PVA).....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	29
3.2 PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	30
3.3 PRODUÇÃO DA NANOCELULOSE VEGETAL.....	31
3.4 PROCESSAMENTO DOS NANOMATERIAIS	31
3.5 TESTE IN VITRO.....	32
3.6 CARACTERIZAÇÕES.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO.....	36
4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	38
4.3 TERMO GRAVIMETRIA	39
4.4 DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X	41
4.5 TRAÇÃO.....	43
4.6 TESTE DE CITOTOXICIDADE – ADESÃO DE FIBROBLASTOS	45
5. CONCLUSÃO.....	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de estruturas dos nanocompósitos.....	7
Figura 2. Estrutura química da cadeia $\beta(1\rightarrow4)$ -glicana (celulose).....	14
Figura 3. Destino das exportações brasileiras de celulose.....	15
Figura 4. Principais formas de obtenção da celulose.....	17
Figura 5. Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) da rede de celulose bacteriana	18
Figura 6. Imagem de uma membrana de CB	19
Figura 7. Perspectivas para as várias aplicações biomédicas de materiais baseados em celulose bacteriana.....	23
Figura 8. Esquema das fibras, microfibras e cadeias celulósicas	25
Figura 9. Estrutura química do PVA	26
Figura 10. Em fase aquosa: formação de filme: PVA/Nanofibra.	27
Figura 11. Nas imagens A, B, C e D têm-se o processo de celulose bacteriana e, nas imagens E, F e G, o processo de purificação da CB	30
Figura 12. Na imagem A é mostrada a matéria prima utilizada na obtenção da nano e na imagem B as fases para obtenção da nanocelulose	31
Figura 13. Espectro de FTIR de PVA puro, nanocelulose CB 100%, nanocompósito de CB 1%, 3%, 5% e 7%.	37
Figura 14. Espectro de FTIR de PVA puro, nanocelulose de grama 100%, nanocompósito de grama 1%, 3%, 5% e 7%.	38
Figura 15. Microscopia eletrônica de varredura dos compósitos da Celulose bacteriana (CV) com concentração de 100%, 7% e 3% e da Nanocelulose de grama nas mesmas concentrações	39
Figura 16. Curva termogravimétrica do PVA puro, 100% de nanocelulose de grama e CB.	40
Figura 17. Curva termogravimétrica do PVA puro, nanocelulose de grama e compósito com 1% de nano de grama.....	40
Figura 18. Curva termogravimétrica do PVA puro, nanocelulose de CB e compósito com 7% de nano CB.	41
Figura 19. Padrão de DRX de PVA puro, 100% de nanocelulose de grama e 100% CB.42	42
Figura 20. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 1% de grama, nanocompósito 1% de CB.....	42
Figura 21. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 3% de grama, nanocompósito 3% de CB.....	42
Figura 22. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 5% de grama, nanocompósito 5% de CB.....	43

- Figura 23. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 7% de grama, nanocompósito 7% de CB..... 43
- Figura 24. Tratamentos submetidos a análise de tensão força máxima. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,58510; Coeficiente de Variação = 33,02. 44
- Figura 25. Microscopia eletrônica de varredura mostrando a adesão dos fibroblastos nos compósitos de celulose bacteriana/PVA (A) e nanocelulose de grama/PVA 45

RESUMO

A busca por novos materiais leva em consideração fatores como a necessidade de seu uso e a sustentabilidade. Atualmente, estudos têm sido realizados para criar processos mais limpos, com utilização de matérias-primas renováveis gerando produtos não agressivos ao meio ambiente sem perder em qualidade ou desempenho. Vários estudos vêm sendo realizados a fim de otimizar a utilização da celulose bacteriana (CB) e vegetal (CV) e, entre eles, o reforço em diferentes compósitos. O presente estudo teve como objetivo produzir a celulose bacteriana e de isolar nano celulose da grama batatais a fim de utilizar como reforços da matriz Álcool Poli Vinílico (PVA) e sua viabilidade na utilização como biomateriais. Para a investigação dos resultados e possível confirmação da formação das nanofibras, foram realizadas análises termogravimétricas, de infravermelho e microscopia eletrônica de varredura. As análises confirmaram a obtenção das estruturas em nano escala, assim como sua impregnação em PVA indicando elevado potencial para utilização como reforço.

Palavras-chave: celulose bacteriana, nanocelulose, grama batatais, PVA, compósitos

SUMMARY

The search for new materials takes into account factors such as the need for its use and sustainability. Currently, studies have been conducted to create cleaner processes using renewable feedstocks generating non-aggressive products to the environment without losing quality or performance. Several studies have been conducted to optimize the use of bacterial (BC) and vegetable cellulose (VC) such as use as reinforcing materials. The present study aimed to produce bacterial cellulose and isolate nano bahiagrass to use as reinforcements Poly Vinyl Alcohol matrix (PVA) and its feasibility for use as biomaterials cellulose. To research the possible results and confirmation of the formation of nanofibers, thermogravimetric analysis, infrared and scanning electron microscopy were performed. The analysis confirmed the achievement of nanoscale structures, as well as its permeation PVA indicating a high potential for use as reinforcement.

Keywords: bacterial cellulose, nanocelulose, bahiagrass, PVA Composites

1. INTRODUÇÃO

Tendo em vista o aumento do uso da celulose, inclusive para o desenvolvimento de novos materiais, é importante ter acesso a celuloses de procedências diversas, o que vem expandindo as áreas de aplicação. A via dominante de produção de celulose é a partir de plantas, no entanto, as plantas são compostas também por lignina e outros carboidratos (hemicelulose). O isolamento da celulose é feito em grande escala por meio de polpação química, separação e processos de purificação, processos bastante custosos e que ainda demandam bastante tempo (SIXTA, 2006). Além de plantas, certas bactérias, algas e fungos também produzem celulose. Atualmente, pesquisas têm sido desenvolvidas visando a produção de celulose de origem bacteriana que, somada à ampla aplicação e qualidade da fibra de celulose produzida, vem sendo caracterizada como uma nova commodity bioquímica. Entre as bactérias formadoras de celulose, as cepas de *Gluconacetobacter*, são especialmente adequadas para a formação de celulose. Elas não são patogênicas, são comumente encontradas em frutas e derivados de frutas e podem ser cultivadas em condições de laboratório. Uma das primeiras aplicações do produto natural da celulose bacteriana (CB) foi como uma sobremesa livre de calorias chamada “Nata de Coco”, hoje um alimento comum na Ásia, especialmente nas Filipinas (LILLARD et al., 1999).

A associação da celulose com outros polímeros pode ser um método efetivo para aumentar suas características e estrutura, proporcionando novas aplicações industriais e biomédicas. Estudos recentes sobre o uso da celulose na formação de compósitos pelo método de impregnação mostraram bom desempenho nas propriedades mecânicas dos filmes formados.

Este trabalho tem, portanto, o objetivo de comparar as características das celulosas bacteriana e vegetal utilizadas como reforço para a matriz de álcool poli vinílico (PVA) e avaliar, através de teste *in vitro*, a possibilidade da utilização destes compósitos em biomateriais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Compósitos

Um compósito é um material formado por uma mistura ou combinação de dois ou mais constituintes, distinguíveis entre si, que diferem na forma e na composição (SMITH, 1998). Devido à grande variedade de materiais que podem ser considerados compósitos a sua definição não é unânime. No entanto, pode restringir-se a definição de compósito aos materiais que sejam constituídos por pelo menos duas fases que se caracterizam por apresentarem propriedades mecânicas diferentes.

Segundo Leão (1997) o material de reforço pode ser fibra curta, longa, contínua, descontínua, pó, esfera, etc., e podem chegar a fornecer resistência como barras de ferro numa viga de concreto. A matriz envolve e “segura” o reforço, dando forma ao compósito. Abaixo do comprimento mínimo (“critical length”), as fibras deixam de atuar como reforço e fazem o papel de enchimento ou carga.

A ampla utilização destes materiais em engenharia deve-se ao fato da combinação de dois ou mais materiais diferentes poder resultar na obtenção de um material compósito cujas propriedades são superiores, em alguns aspectos, às propriedades dos seus componentes (MIRACLE; DONALDSON, 2001).

Os compósitos podem classificar-se como reforçados com fibras descontínuas caso as suas propriedades sejam influenciadas pelo comprimento das fibras de reforço. Quando o comprimento das fibras de reforço é muito superior às dimensões da sua secção transversal, e o seu comprimento é tal que o aumento deste não provoca alterações nas propriedades do compósito, o material pode designar-se como compósito reforçado com fibras contínuas (MIRACLE; DONALDSON, 2001).

As matrizes podem ser de natureza polimérica, mineral ou metálica. No caso das matrizes poliméricas podem distinguir-se entre termoplásticas e termoendurecíveis (GAY; HOA, 2007). Os termoendurecíveis não fundem e tem como característica baixas viscosidades antes da polimerização, enquanto os termoplásticos podem ser fundidos, reprocessados e apresentam viscosidades mais elevadas que os termoendurecíveis, sendo fundamental perceber a influência que o tipo de matriz tem nas propriedades do compósito, na sua processabilidade e no custo (MIRACLE; DONALDSON, 2001).

O importante num compósito é o efeito sinérgico que se observa no sistema, onde as propriedades finais do compósito são uma mistura melhorada das propriedades de seus componentes individualmente. Por exemplo, uma matriz reforçada com fibras beneficia-se mecanicamente quando a tensão a que é submetida é transferida para as fibras. Como as fibras naturais têm um dos maiores módulos (resistência/peso), isso faz delas um componente óbvio para a aplicação em compósitos. A madeira é um exemplo natural de compósito, onde se tem a celulose como reforço e a lignina como matriz (LEÃO, 1997).

2.2 Nanocompósitos

Os nanocompósitos são materiais mistos em que pelo menos um dos componentes tem dimensões nano métricas (1-100 nm). Segundo Kelly (1994), os compósitos são uma classe de materiais resultantes da combinação de dois ou mais componentes de fases distintas (orgânica, cerâmica ou metálica), podendo ser de natureza orgânica e inorgânica. Do mesmo modo que ocorre nos compósitos tradicionais, um dos componentes serve de matriz, na qual as partículas do segundo material se encontram dispersas (Figura 1) (OU et al., 1998).

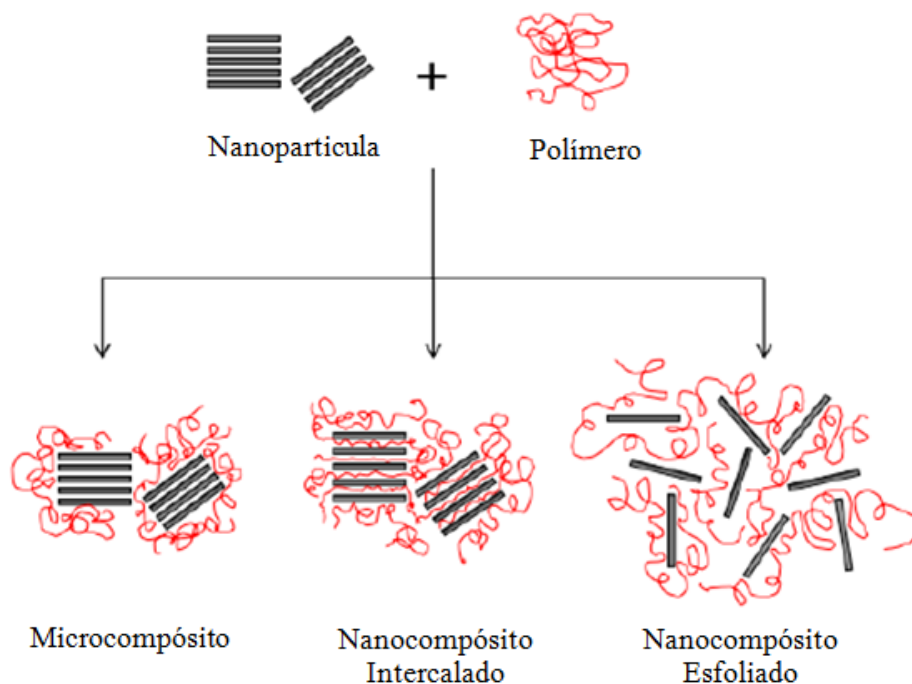


Figura 1. Tipos de estruturas dos nanocompósitos. Fonte: Adaptada de Alexandre e Dubois (2000)

A incorporação de cargas inorgânicas em polímeros origina materiais com maior resistência mecânica, maior estabilidade térmica (ZHU et al., 2001) ou com propriedades ópticas, magnéticas ou elétricas superiores (DU et al., 1998). As cargas tendo dimensões nanométricas apresentam uma área de superfície elevada, promovendo melhor dispersão na matriz polimérica e por isso uma melhoria das propriedades físicas do compósito que dependem da homogeneidade do material. Além disso, os recentes avanços na produção de biofibras, microfibrilas ou nanofibras, tornaram possível a fabricação dos materiais compósitos e/ou nanocompósitos de alto desempenho (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000). A preparação de nanocompósitos de matriz polimérica permite em muitos casos encontrar um compromisso entre um baixo custo, devido à utilização de menor quantidade de carga, e um elevado nível de desempenho, que pode resultar da sinergia entre os componentes.

Os materiais compósitos podem, portanto, ser selecionados para dar combinações não usuais de propriedades não existentes em um único material, como resistência mecânica, tenacidade, peso, dureza, condutividade, resistência à corrosão, desempenho em altas temperaturas, dentre outras (JOSEPH et al., 1999).

Foi relatado que os nanoreforços podem aumentar a resistência, sem sacrificar o índice de alongamento do material. Em alguns casos, os nanoreforços têm mostrado aumento da resistência e módulo, ao mesmo tempo. A razão para a

melhoria relatada é consequência dos reforços nanométricos, os quais têm uma superfície muito maior do que o micro reforços convencionais, além de atenuar os defeitos na matriz, os quais são reduzidos em nano escala. Além disso, as fibras ou partículas com diâmetro inferior a 100nm não afetam a transparência dos polímeros e estas propriedades têm sido uma grande motivação no desenvolvimento de materiais nanocompósitos (SEYDIBEYOGLU; OKSMAN, 2008).

O baixo teor de carga necessário para melhorar as propriedades mecânicas torna os nanocompósitos competitivos com outros materiais de alta performance e de custos elevados e ainda, são compatíveis com o processo de reciclagem de plásticos. Além disto, estes se mostram muito mais leves comparados aos compósitos convencionais o que pode promover grande impacto ambiental. Há dados na literatura mostrando que o uso de nanocompósitos por fabricantes de automóveis nos Estados Unidos poderia poupar 1,5 bilhões de litros de gasolina durante um ano e, conseqüentemente, reduzir as emissões de CO₂, em mais de 7,5 milhões de toneladas (VAIA, GIANNELIS, 2008).

A utilização das propriedades da nanocelulose é ampla, e ainda há muito a ser descoberto, desde a sua produção, incorporação em novos materiais, assim como as inúmeras aplicações existentes e aquelas a serem desenvolvidas (SAMIR et al., 2005). Algumas das aplicações mais conhecidas destes materiais são na indústria das tintas, onde pigmentos inorgânicos são dispersos em componentes orgânicos (solventes, surfactantes, polímeros, etc.), de modo a gerar e/ou melhorar as propriedades mecânicas e ópticas (SANCHEZ et al., 2001). Embora o nome de materiais compósitos não seja normalmente invocado, o trabalho em estruturas do tipo orgânico-inorgânico tem prosseguido com o desenvolvimento da indústria de polímeros (SANCHEZ et al., 2005).

Milewski (1994), citado por Samir et al. (2005) reporta que os nanocristais de celulose são regiões que crescem sob condições controladas, o que permite a formação de cristais individuais de alta pureza. Sua estrutura altamente ordenada pode conferir não somente alta resistência, mas também mudanças significativas em algumas propriedades importantes de materiais, tais como elétrica, óptica, magnética, ferromagnética, dielétrica e de condutividade.

O polímero de celulose que constitui os nanocristais é formado por unidades de glicose que contém três grupos hidroxilas livres ligados aos carbonos 2, 3 e 6, os quais são responsáveis pelas interações intermoleculares. A partir dessas

interações, sucessivas estruturas são formadas, dando origem à parede celular da fibra: micelas, agrupamento das cadeias em feixes; microfibrilas, agregados de micelas; e fibrilas, agregados de microfibrilas que também podem ser denominados de macrofibrilas. Portanto, as microfibrilas que compõem as fibras, resultantes do arranjo das moléculas de celulose, são constituídas de regiões cristalinas, altamente ordenadas, e amorfas, desordenadas. As regiões cristalinas são resultados da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos enzimáticos. As regiões amorfas são resultados da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização.

Essas são denominadas, por alguns autores, de regiões em que a cristalização ocorreu com defeito (HABIBI et al., 2007). A proporção entre as regiões cristalina e amorfa, que determina o grau de cristalinidade e as características dimensionais dos domínios cristalinos, é variável. Além disso, os processos de isolamento podem originar nanocristais com características diferentes que influenciarão de maneira distinta os compósitos com eles formados. Nanocristais de celulose são isolados a partir de diferentes fontes de fibras celulósicas, de fonte vegetal, (LU et al., 2005) tais como algodão, eucalipto e outros, e de fonte animal, (ELAZZOUZI-HAFRAOUI, 2008). No Brasil, podem ser citados alguns estudos utilizando a fibra de coco e os nanocristais provenientes do amido e de resíduos agrícolas de mandioca.

A celulose bacteriana (CB) tem demonstrado ser um material muito promissor para o reforço mecânico de materiais termoplásticos e termofixos (KIM et al., 2009). Os valores estimados de 78 ± 17 GPa (GUHADOS et al., 2005) e 114 GPa (HSIEH et al., 2008) para o módulo de Young de filamentos CB têm sido relatadas, indicando seu grande potencial para uso em materiais compósitos. No entanto, permanece uma questão importante sobre a natureza da transferência de tensão entre as fibras de celulose e resinas poliméricas de CB, e como isso pode ser melhor otimizado. CB cultivada em condições estáticas normalmente encontram-se na forma de uma rede de fibras reticulares e podem formar estruturas de laminados com ligações fracas entre as camadas (NOGI; YANO, 2008).

Interação com resinas poliméricas e da estrutura laminada de redes CB não foram completamente investigadas. Por conseguinte, é importante estudar essa interação, a fim de determinar as cargas ótimas necessárias para a transferência de estresse, utilizando o mínimo de material possível. Isto poderia reduzir os custos de produção desses compostos em larga escala.

Não está claro que as resinas possam interpenetrar os poros pequenos e a estrutura laminada presente nas redes fibrosas de CB. A rigidez e a resistência de um material compósito CB baseia-se tanto a interação da resina com a rede de fibras de CB, bem como nas interações entre as fibras dentro da rede (CZAJA et al., 2007).

2.3 Biomateriais

Os biomateriais são caracterizados como compostos orgânicos e inorgânicos, de origens naturais ou sintéticas, que são toleradas de forma transitória ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos seres vivos (SANTOS et al., 1999).

As três principais classes de biomateriais utilizados são os metais, polímeros, cerâmicas e combinações destes três tipos em compósitos. Quanto ao tipo de material, os biomateriais podem ser (HENCH; WILSON, 1993):

- Polímeros sintéticos não degradáveis: acrílicos, fluorcarbonetos, hidrogéis, poliacetatos, poliamidas, policarbonatos, poliésteres, poliimidas, silicones, poliuretanos, entre outros.
- Polímeros biorreabsorvíveis: poliaminoácidos, policaprolactonas, copolímeros de poliácido, lático/ácido glicólico, poli-hidroxil butiratos, poliortoésteres, colágeno, hidroxiapatita de baixa densidade;
- Biopolímeros: albumina, acetatos de celulose, celulose de cupramônia, quitosana, colágeno, elastina, gelatina, ácido hialurônico, fosfolípido, gomas;
- Metais e ligas metálicas: ligas cobalto-cromo, ligas níquel-cromo, ligas nitinol, aços inoxidáveis, tântalo, titânio e suas ligas;
- Cerâmicas, inorgânicos e vidros: vidros bioativos, alumina de alta densidade, hidroxiapatita, alumina monocristalina, fosfatos tricálcios, zircônia;
- Compósitos: compósitos de fibra de carbono baseados em uma matriz de epoxi, polieteracetonas, poli-imida, polissulfona, radiopacificadores (BaSO_4 ; BaCl_2 ; TiO_2) misturados em polímeros de poliolefinas, poliuretanos, silicones, radiopacificadores em polimetimetacrilato, ou algum dos biopolímeros citados anteriormente.

Os biopolímeros, em particular, quer sejam proteínas, lipídeos, carboidratos, quer sejam outros compostos de diferentes tamanhos e funções orgânicas,

têm sido aplicados na busca de produtos médicos, ou para uso em diferentes setores industriais.

A relação entre biomateriais e nanotecnologia é maior do que se imagina, pois o desenvolvimento de produtos passa, na maioria das vezes, pelo entendimento do papel da interação (em escala nano) do material com o meio biológico. Entre as várias aplicações dos biomateriais, destaca-se o uso na nanomedicina, pois muitos desses polímeros são biorreabsorvíveis; e, após serem implantados no organismo para uma determinada finalidade, são absorvidos pelo mesmo (WILLIAMS, 1987). Os biomateriais poliméricos não devem exibir toxicidade, comportamento irritante, ou quaisquer respostas fisiológicas adversas (LYMAN; ROWLAND, 1989).

Os biomateriais podem ser bioinertes ou biodegradáveis. Materiais bioinertes não sofrem alterações, durante o período de implantação, causando resposta mínima nos tecidos adjacentes, e mantendo as propriedades estruturais durante longos períodos [GILDING, 1981]. Os biomateriais degradáveis degradam-se quando em contato com os fluidos orgânicos. A taxa de degradação deve permitir a substituição gradual do novo tecido, transferindo progressivamente a tensão para o tecido em recuperação, evitando assim uma segunda intervenção cirúrgica para a remoção do implante [PEREIRA et al., 1998]. Os polímeros biodegradáveis apresentam grande potencial em aplicações biomédicas, como por exemplo, em placas ósseas, parafusos de fixação ou suturas.

A bioatividade é também importante na funcionalidade de um biomaterial. Um material é bioativo quando há uma resposta biológica específica na interface do material, por exemplo, permitindo o crescimento ósseo e a ligação entre o tecido e o material (DUCHEYNE, 1987).

Produtos a base de hidrogel têm sido inovadores, tanto por suas aplicações específicas (por exemplo, produtos de higiene pessoal) como por seu uso em dispositivos biomédicos (BAKASS et al., 2002). Sua aplicação inclui na fabricação de lentes de contato gelatinosas, substratos de cultura de células tridimensionais e andaimes bioativos para a medicina regenerativa (QUI et al., 2001). Hidrogéis a base de celulose torna-se muito atrativo devido à característica de biodegradabilidade, além de disponibilidade de celulose na natureza e baixo custo.

A utilização de biomaterial vem crescendo constantemente, principalmente por novas aplicações de produtos a base de celulose como, por exemplo, a encapsulação de compostos ativos e material de implante.

Nos últimos anos, em especial a celulose produzida pela bactéria *Gluconoacetobacter xylinum* destaca-se como biomaterial para cicatrização de feridas e produção de *scaffolds* (arcabouços) na engenharia de tecidos. A produção em larga escala da membrana de celulose bacteriana contribui fortemente para o seu uso em diversas aplicações, mas principalmente para o tratamento das feridas da pele e queimaduras (HOENICH, 2006).

2.4 Polímeros

Os polímeros são compostos químicos de elevada massa molecular, resultantes de reações químicas de polimerização.

Trata-se de macromoléculas formadas a partir de unidades estruturais menores (os monômeros). O número de unidades estruturais repetidas numa macromolécula é chamado grau de polimerização. Em geral, os polímeros contêm os mesmos elementos nas mesmas proporções relativas que seus monômeros, mas em maior quantidade absoluta.

A polimerização é uma reação em que as moléculas menores (monômeros) se combinam quimicamente (por valências principais) para formar moléculas longas, mais ou menos ramificadas com a mesma composição centesimal. Estes podem formar-se por reação em cadeia ou por meio de reações de poliadição ou policondensação. A polimerização pode ser reversível ou não e pode ser espontânea ou provocada (por calor ou reagentes).

Exemplo: O etileno é um gás que pode polimerizar-se por reação em cadeia, a temperatura e pressão elevadas e em presença de pequenas quantidades de oxigênio gasoso resultando uma substância sólida, o polietileno. A polimerização do etileno e outros monômeros pode efetuar-se à pressão normal e baixa temperatura mediante catalisadores. Assim, é possível obter polímeros com cadeias moleculares de estrutura muito uniforme.

Na indústria química, muitos polímeros são produzidos através de reações em cadeia. Nestas reações de polimerização, os radicais livres necessários para iniciar a reação são produzidos por um iniciador que é uma molécula capaz de formar radicais livres a temperaturas relativamente baixas. Um exemplo de um iniciador é o peróxido de benzoíla que se decompõe com facilidade em radicais fenilo. Os radicais assim formados vão atacar as moléculas do monômero dando origem à reação de

polimerização. Uma das principais e mais importantes características dos polímeros são as mecânicas.

Os polímeros podem ser divididos em termoplásticos, termorrígidos (termofixos) e elastômeros (borrachas):

- Termoplásticos: é um dos tipos de plásticos mais encontrados no mercado. Pode ser fundido diversas vezes, alguns podem até dissolver-se em vários solventes. Logo, sua reciclagem é possível, característica bastante desejável atualmente.
- Termorrígidos: são rígidos e quebráveis, porém bastante resistentes, sendo muito estáveis a variações de temperatura. Uma vez transformados (moldados), não mais se fundem. O aquecimento do polímero acabado promove decomposição do material antes de sua fusão, tornando impossível sua reciclagem.
- Elastômeros (Borrachas): classe intermediária entre os termoplásticos e os termorrígidos: não são fusíveis, mas apresentam alta elasticidade, não sendo rígidos como os termofixos e a reciclagem é complicada pela incapacidade de fusão.

Pode-se dizer que a indústria de polímeros no Brasil passou a existir formalmente a partir da instalação, na década de 70, de três pólos petroquímicos. Anteriormente, existiam unidades isoladas produzindo um ou outro tipo de polímero, porém sem grande representatividade no PIB nacional.

Hoje a indústria pode ser classificada como um grande produtor de polímeros do tipo commodity que representam, em geral, tecnologias sedimentadas, disponíveis de diversas fontes, que têm seus ciclos completamente dominados e em fase de maturação. A indústria se caracteriza, também, por controle completo de seu processo produtivo, tendo algumas empresas desenvolvido grades específicos, a partir de desenvolvimentos endógenos, e feito o desgargalamentos da produção.

2.5 Celulose

A celulose foi descrita pela primeira vez em 1838 por um químico francês, Anselme Payen, como sendo uma fibra sólida proveniente do tratamento químico (com ácido ou amônia) em tecidos de plantas e posterior extração com água, álcool e éter. A sua composição molecular foi determinada por análise elementar como sendo isômero do amido, cuja fórmula empírica equivale a $C_6H_{10}O_{5(n)}$.

Outro fato observado na época foi que através do processo de hidrólise, a celulose dá origem a unidades estruturais de glicose (RAVEN et al., 2001).

Segundo Lavoine et al. (2012) a celulose é um material fibroso, branco e inodoro que consiste de uma cadeia linear de homopolímero de unidades de D-glucopiranosose ligadas por β β -(1 \rightarrow 4) glicosídicas

Na natureza, a celulose não existe como uma única cadeia. As moléculas longas e rígidas combinam-se formando microfibrilas, cada uma consistindo de várias cadeias de celulose. Essas cadeias da microfibrila estão orientadas paralelamente com ligações de hidrogênio intermolecular (entre unidades de glicose de moléculas de celulose adjacentes) e intramolecular (entre unidades de glicose de uma mesma molécula de celulose) (RAVEN et al., 2001). Na Figura 2, tem-se a estrutura da cadeia β (1 \rightarrow 4)-glicana denominada celulose e as ligações de hidrogênio intramolecular e intermolecular.

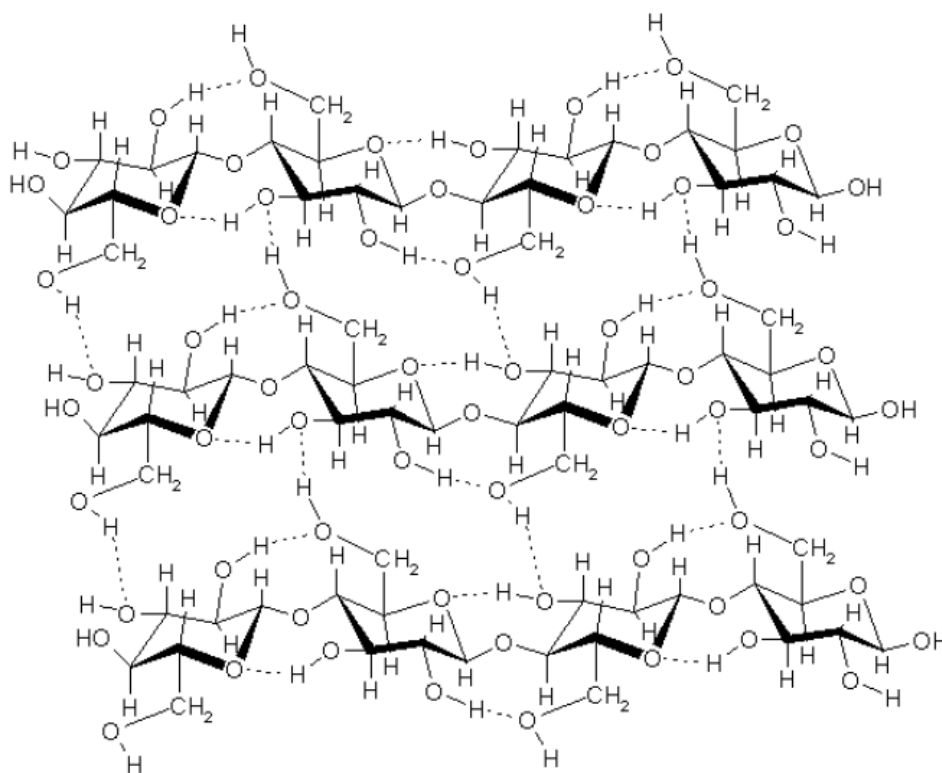


Figura 2. Estrutura química da cadeia β (1 \rightarrow 4)-glicana (celulose), mostrando as ligações de hidrogênio intra e inter cadeias de celulose

Há milhares de anos, a celulose vem sendo utilizada na forma de madeira, algodão e outras fibras de plantas como fonte de energia. Sua aplicação é tão ampla que pode ser usada nas indústrias farmacêutica e alimentícia, em materiais de

construção, vestimentas, adesivos, resinas sintéticas, papéis, bioetanol, etc., (LIMA NETO; PETROVICK, 1997). No entanto, apesar da diversidade de produtos oriundos da celulose, o papel ainda é o principal alvo de seu beneficiamento.

Desde o papiro egípcio, uma parte considerável da cultura humana tem se adaptado com materiais derivados da celulose. A celulose é o polímero orgânico mais comum e representa cerca de $1,5 \times 10^{12}$ biomassa por ano. É considerada uma fonte de matéria prima quase inesgotável, no aumento da demanda por produtos ambientalmente seguros e biocompatíveis (KLEMM et al., 2005).

A produção mundial de celulose no ano de 2012 foi equivalente a 166.64 toneladas. Os maiores países produtores de celulose nesse período foram o Estados Unidos com 50.351 T, seguido pela China com 18.198 T, Canadá com 17.073 T e Brasil com 13.997 T (BRACELPA, 2013). Desde o ano de 2008, o Brasil se manteve como o quarto maior produtor de celulose do mundo, mantendo uma posição competitiva no mercado.

No setor de exportação, a Europa e a China foram os maiores importadores de celulose do Brasil (Figura 3) durante os meses de janeiro a agosto de 2012 e 2013 (BRACELPA, 2013).

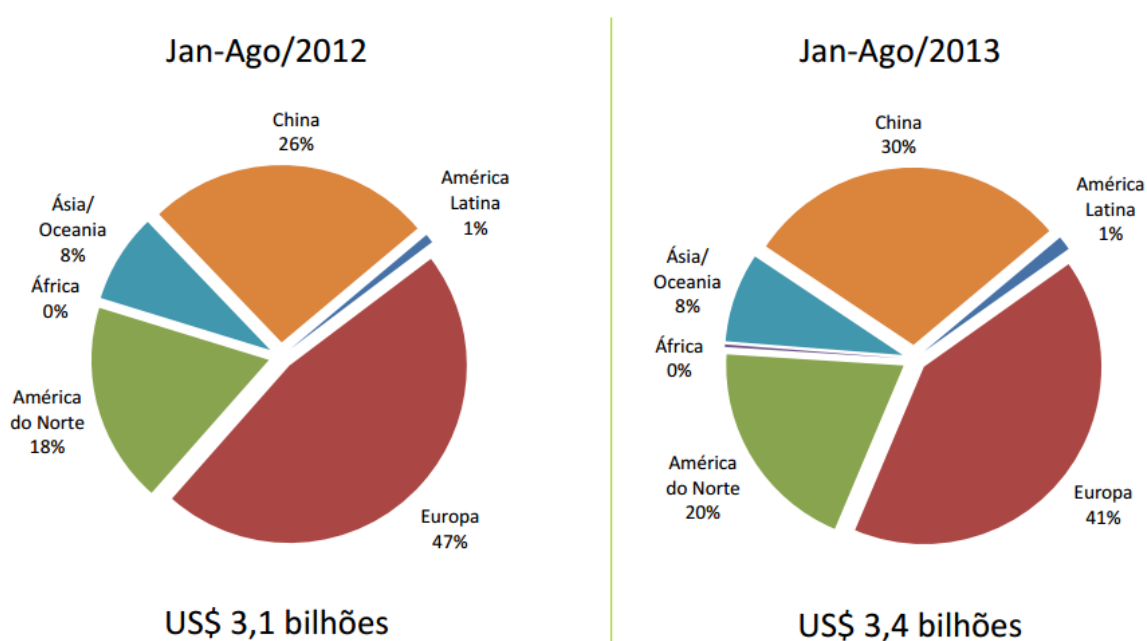


Figura 3. Destino das exportações brasileiras de celulose

Os dados mostram que a produção brasileira de celulose é suficiente para atender ao mercado interno e ainda ampliar sua participação no mercado

externo. A produção pode alcançar maiores patamares com a criação de novas fábricas e com a expansão das já existentes, para suprir a demanda crescente nos próximos anos, tanto do mercado interno como do mercado externo.

2.5.1 Biosíntese da celulose

Segundo Pinto (2007), a elucidação da estrutura polimérica da celulose deu-se pelo trabalho pioneiro de Hermann Staudinger em 1920. Através de acetilação e desacetilação, ele reconheceu que as estruturas não consistiam meramente de uma agregação de unidades D-glicose. Ao contrário, as unidades glicosídicas foram descobertas por estarem ligadas uma a outra covalentemente formando longas cadeias moleculares. Daí por diante, a pesquisa com outras cadeias moleculares, marcou a descoberta do estado polimérico de moléculas e das reações correspondentes, que são únicas aos polímeros e representam a origem dessa ciência.

Até agora foram descobertas quatro formas diferentes de obter este polímero (Figura 4): isolamento a partir de plantas (processo mais vulgar e o mais importante a nível industrial); quimiossíntese a partir de derivados de glicose; síntese enzimática *in vitro*; e por fim biossíntese por diferentes tipos de microrganismos (KLEMM et al., 2001).

Devido às suas estruturas supramoleculares específicas, estas formas de celulose são frequentemente usadas como substâncias molde para posterior pesquisa em aspectos estruturais, cristalinidade e reatividade, assim como no desenvolvimento de novos materiais e biomateriais. Assim, a biossíntese da celulose tem sido investigada com detalhes por muitas décadas. Portanto, é conhecido que a biosíntese da celulose faz parte do ciclo de vida de cianobactérias por mais de 3,5 bilhões de anos.

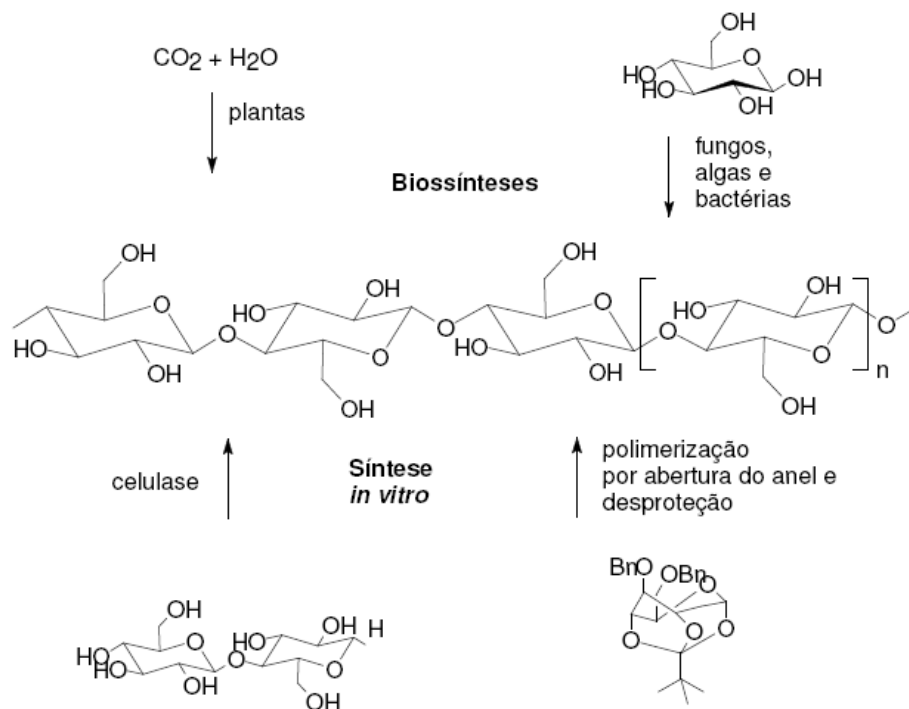


Figura 4. Principais formas de obtenção da celulose

2.5.2 Celulose de origem bacteriana

Em termos de fórmula molecular, a celulose bacteriana (CB) é idêntica à celulose de origem vegetal, contudo, características estruturais importantes e propriedades significativas da aplicação prática da CB são completamente diferentes de celulose de madeira: alta pureza, elevado grau de polimerização, alta cristalinidade, alto teor de água e elevada estabilidade mecânica. Estes parâmetros específicos são oriundos da formação biosintética e da conseqüente estrutura particular supramolecular da celulose bacteriana como uma rede de nanofibras formadas durante a auto-montagem das moléculas de celulose na cultura aquosa, livres de compostos existentes durante a biossíntese da celulose de madeira, com os compostos de baixo peso molecular. A CB, trata-se, portanto, de um produto extremamente puro, com importantes propriedades. Porém, a sua biosíntese, bem como a manipulação biotecnológica e desenvolvimento da produção em grande escala, ainda são um desafio.

A celulose bacteriana é usualmente obtida através da fermentação pela bactéria aeróbia e gram negativa *Acetobacter xylinum*, reclassificada como *Glucanoacetobacter xylinus* uns anos mais tarde. Apesar de existirem outras

bactérias produtoras CB, nem todas as espécies são capazes de secretar na forma de fibrilas extracelulares (Figura 5).

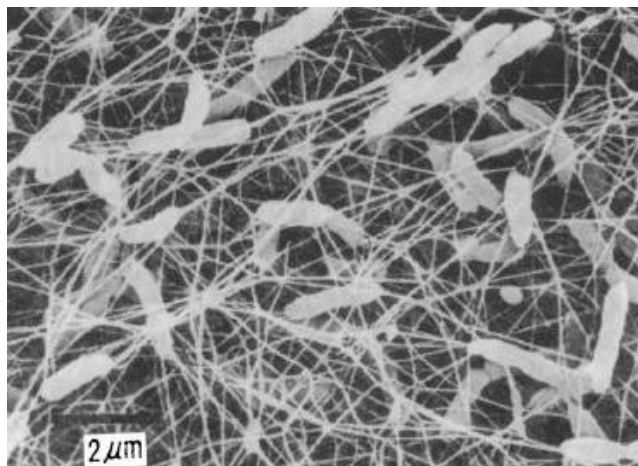


Figura 5. Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) da rede de celulose bacteriana, mostrando as bactérias excretando as nanofibras celulósicas (retirada de IGUCHI et al., 2000)

Na Tabela 1 é apresentada uma visão global dos produtores conhecidos de CB (JONAS; FARAH, 1998). A estrutura deste polímero depende do organismo, apesar do processo de biossíntese e do mecanismo que o regulam ser provavelmente comuns para a grande maioria das bactérias produtoras de CB.

Tabela 1. Exemplos de diferentes espécies produtoras de CB (“adaptado por Bielecki e colaboradores”) (DOURADO et al, 1998).

Gênero	Estrutura da celulose
<i>Acetobacter</i>	Película extracelular composto por fibras
<i>Achromobacter</i>	Fibrilas
<i>Aerobacter</i>	Fibrilas
<i>Agrobacterium</i>	Fibrilas curtas
<i>Alcaligenes</i>	Fibrilas
<i>Pseudomonas</i>	Fibrilas não definidas
<i>Rhizobium</i>	Fibrilas curtas
<i>Sarcina</i>	Celulose amorfa
<i>Zooglona</i>	Não muito bem definido

Embora em 1886 A.J. Brown já tivesse relatado a síntese extracelular de uma membrana gelatinosa pela bactéria *Gluconacetobacter xylinus*, a CB só atraiu atenção na segunda metade do século vinte. Assim, estudos intensivos sobre a sua síntese, usando *G. xylinus* como bactéria modelo, foram iniciados por volta de 1954 por Hestrin e colaboradores, que provaram que células desta bactéria em repouso, sintetizam celulose na presença de glicose e oxigênio. O processo de síntese da CB é preciso e regulado por várias etapas, envolvendo um grande número quer de enzimas individuais, quer de complexos de proteínas catalíticas e reguladoras, cujas estruturas supramoleculares ainda não estão bem definidas (JONAS; FARAH, 1998). Tradicionalmente, a cultura de CB faz-se em meio estacionário acumulando-se, ao longo do tempo, uma membrana gelatinosa e espessa na superfície do meio de crescimento (WU; LIA, 2008). Esta película é uma estrutura que compreende os ingredientes do meio de cultura e uma grande proporção de água. Na sua forma final, este biomaterial apresenta-se no formato de uma membrana flexível de cor esbranquiçada (Figura 6). Estudos realizados, relativos à morfologia da CB, revelam que existem duas texturas distintas entre a parte superior e inferior da membrana. A superfície que se forma na interface entre o meio de crescimento e o ar possui uma textura, mas lisa e homogênea, enquanto que a superfície que não se encontra em contacto com o oxigênio é mais gelatinosa, rugosa e até mesmo heterogênea (KLEMM, et al, 2001). A morfologia da membrana depende da forma da interface, que pode ser facilmente manipulada ou controlada.



Figura 6. Imagem de uma membrana de CB

As cepas de *Gluconacetobacter xylinus* ocorrem individualmente, em pares ou em cadeias, dividem-se por fissão binária, se movem por flagelos, e não formam endósporos. Em condições limitantes, produzem formas de involução, ou seja, filamentos inchados ou alongados. Em condições adequadas para o crescimento ocorre a atrofia dessas formas seguida de recuperação das células normais. A temperatura ótima para o crescimento é de 25-30 °C e pH ótimo varia no intervalos de 5,4 a 6,2.

Segundo Mateos (2004), a bactéria *G. xylinus* sintetiza celulose pura em 48 a 72 horas, enquanto que as *Gluconacetobacter* comuns de frutas em decomposição (na mesma quantidade) levam de 10 a 20 dias para produzir uma tonelada de celulose, o que uma planta de eucalipto tardaria meses.

Embora a *G. xylinus* seja a bactéria que possui maior potencial para a comercialização na indústria, os valores de produtividade de celulose são demasiados baixos para a produção em larga escala. Para a produção de 1 Kg de CB em peso seco, em um sistema sem agitação, são necessários cerca de 650 m² de área de interface ar-líquido do cultivo, por aproximadamente 5 dias de cultivo, o que torna o produto muito caro. Por esse motivo a melhoria da produtividade de celulose chama o interesse de muitos pesquisadores na tentativa de isolar microrganismos de alta produção (LEE,1999; VANDAMME,1998).

2.5.2.1 Principais características da Celulose Bacteriana

A CB possui propriedades singulares e bastante promissoras que têm sido muito procuradas por diversas áreas, das quais se destacam a medicina moderna e a investigação biomédica. As características fundamentais da CB, que fazem deste um biomaterial de excelência, estão em seguida mencionadas: (KLEMM, et al, 2001; WU; LIA, 2008; ANDRADE, et al, 2008; SOKOLNICKI, et al, 2006)

- Elevada cristalinidade – possui um grau de cristalinidade entre 60 e 90%, determinado por difração raio-x; o estado de cristalinização da celulose é determinado pelo arranjo das cadeias de glicose em relação umas às outras, dentro da unidade celular;
- Permeabilidade seletiva – esta característica pode ser alterada através de tratamentos após a sua produção;

- Excelentes propriedades físicas e mecânicas – a estrutura nanofibrilar única e a elevada cristalinidade determinam estas propriedades; este biomaterial possui elevada resistência e estabilidade mecânica, características estas que podem também ser alteradas por tratamentos pós produção;
- Elevada capacidade de retenção de água – esta característica da CB hidratada inclui valores na gama de 100%; um ponto importante a salientar é que estes valores de retenção de água (VRA) parecem depender do volume de meio de cultura;
- Elevada hidrofiliçidade e porosidade – hidrofiliçidade explicada pela presença de estruturas porosas e “túneis” no interior da película úmida e que depende da extensão da área superficial interior dos espaços intersticiais da matriz hidratada; porosidade aproximadamente de 94%;
- Elevada pureza química e elevada área superficial;
- Dimensões – estrutura reticulada de fibras ultrafinas, na ordem dos micrometros a nanômetros, entrelaçadas de tal maneira que formam uma espécie de rede tridimensional.

Frente ao apresentado, é possível constatar a versatilidade dos materiais compostos por CB. Estas características, juntamente com a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e disponibilidade, fazem da CB um material com imenso potencial para as mais diversas aplicações biomédicas.

2.5.2.2 Aplicações da Celulose Bacteriana na Área Biomédica

A aplicabilidade da CB se estende a diversas áreas. Os polímeros à base de celulose têm amplas aplicações em engenharia tecidual, como em sistemas de liberação “controlável” de fármacos, de purificação do sangue, como sensor, na agricultura, bem como na purificação de água (CHANG; ZHANG, 2011). Além disso, a sua biocompatibilidade, hidrofiliçidade, transparência e não-toxicidade a torna um candidato atraente para uma ampla gama de aplicações em diversas áreas, especialmente aquelas relacionadas com aplicações biomédicas e de biotecnologia (DAHMAN, 2009). Na indústria de cosméticos a CB é utilizada em hidratantes e adstringentes; em empresas de aparelhos eletroacústicos ela é utilizada como membrana para aparelhos de áudio de alta qualidade; é utilizada como papel eletrônico (SHAH; BROWN, 2005); como membranas de células a combustível (EVANS et al., 2003) e

também na indústria alimentícia é utilizada na produção de doces, sorvetes de baixas calorias, aperitivos, espessantes e soro para redução do colesterol (PHISALAPHONG, SUWANMAJO et al., 2008).

Nos últimos anos a aplicação da CB como material na área biomédica tem atraído muita atenção, devido às suas propriedades e sua biocompatibilidade, a qual vem sendo avaliada in vivo. Recentemente, alguns pesquisadores estudaram a utilização da CB em cirurgias de restituição da laringe (DE SOUZA et al., 2011). Esses estudos de biocompatibilidade da CB in vivo que utilizam modelos animais têm demonstrado uma excelente integração da CB com o tecido lesado sem a presença de processos inflamatórios agudos. Helenius et al., (2006) mostraram que a CB é um material que se integra totalmente ao tecido hospedeiro in vivo e não induz processos inflamatórios e nem rejeição ao longo do tempo (HELENIUS, BACKDAHL et al., 2006). Na Figura 7 é mostrado as perspectivas para as várias aplicações biomédicas de materiais de CB.

Devido à sua estrutura única de rede tridimensional em nanoescala, a CB possui uma capacidade de retenção de água elevada, uma elevada resistência mecânica, excelente biocompatibilidade, propriedades que lhe permitem servir como um material polimérico natural para a regeneração de uma grande variedade de tecidos (SIRO; PLACKETT, 2010). Porém, a CB não é apenas um material interessante para soluções de cura da pele, mas estudos recentes têm proposto a CB como biomaterial para os vasos sanguíneos artificiais e substituição de menisco (KLEMM et al., 2001; BACKDAHL; HELENIUS et al., 2006; OLIVEIRA, 2011).



Figura 7. Perspectivas para as várias aplicações biomédicas de materiais baseados em celulose bacteriana. Adaptado de (Fu, Zhang et al., 2013).

Embora a CB tenha um grande potencial para se tornar um biomaterial importante no futuro, no momento a sua comercialização é limitada: por exemplo, as empresas "Celulose Soluções" e "Xylos Corporation" têm produtos de CB para curativo no mercado, com as marcas Dermafill™ e XCell®, respectivamente. Algumas das razões pelas quais o mercado de CB não cresceu ainda são a necessidade de uma otimização do processo de fermentação e de uma análise completa das propriedades físico-mecânicas do material.

Apesar dos avanços recentes e da existência de alguns produtos de CB no mercado, ainda são necessárias mais pesquisas interdisciplinares para fazer da CB um produto de sucesso comercial. É necessário uma melhor caracterização dos novos produtos à base de CB, e testes *in vitro* devem ser realizados com uma maior variedade de células animais para verificar sua viabilidade e proliferação e também há necessidade de um grande número de estudos clínicos para provar sua utilidade e funcionalidade.

A celulose bacteriana também tem aplicação na indústria cosmética como máscaras faciais para o tratamento da pele seca que já são amplamente comercializados, em formulação de esfoliante facial naturais, como agente estruturante de limpeza pessoal e como um estabilizador de emulsões (HASAN; BIAK, 2012).

A celulose bacteriana também tem sido avaliada como um sistema de libertação tópica do fármaco. Duas drogas terapeuticamente relevantes,

cloridrato de lidocaína e ibuprofeno, foram incorporados em membranas CB, produzindo membranas com distribuição homogênea das drogas. O efeito terapêutico da membrana com as drogas foram avaliadas através da penetração da epiderme humana. A lidocaína (droga hidrofílica) revela a liberação a logo prazo da droga, possivelmente resultado da maior interação com a CB. Já o ibuprofeno (droga hidrofóbica), devido as interações com a CB serem mais fracas, possuem rápida liberação e, portanto é adequado para o tratamento de condições que requerem rápida liberação da droga.

Finalmente, os resultados obtidos revelaram que as membranas de CB são um material promissor, que possui tanto a capacidade de aderir a superfícies irregulares da pele quanto de proteger a ferida e absorver exsudados (TROVATTI, et al, 2012)

2.5.3 Celulose de Origem Vegetal

Embora a madeira seja a mais importante fonte industrial de fibras celulósicas, a concorrência de diferentes setores, tais como produtos para construção civil, móveis e indústrias de celulose e papel, bem como a combustão da madeira para energia, torna desafiador o fornecimento em quantidade necessária e a custos razoáveis. Por esta razão, fibras de plantas como o linho, cânhamo, sisal e outros, especialmente a partir de resíduos dessas diferentes fontes, também têm tido um interesse crescente. Estas plantas não-madeireiras geralmente contêm menos lignina e, portanto, os processos de branqueamento são menos exigentes. Outros exemplos de subprodutos agrícolas que poderiam ser usados para extrair nanocelulose incluem aqueles obtidos a partir do cultivo das culturas de milho, trigo, arroz, sorgo, cevada, cana-de-açúcar, abacaxi, banana e coco. Estes subprodutos agrícolas ou são queimados ou usados para outras finalidades, tais como alimentação animal ou produção de biocombustíveis. A natureza renovável dos resíduos de culturas agrícolas e a sua disponibilidade fazem com que se tornem fontes valiosas de nanofibras naturais (REDDY; YANG, 2005). Além disso, quando os subprodutos, como polpas após a extração de suco, são usados como matérias-primas para obtenção de celulose, poucas etapas de processamento são necessários (BRUCE et al., 2005).

Os principais componentes das fibras das plantas são: celulose, hemicelulose, lignina, pectinas, extrativa (componentes de baixo peso molecular) e cera. As fibras naturais podem ser consideradas compósitos naturais, que são constituídos

principalmente de fibrilas de celulose incorporada numa matriz de lignina. As fibrilas de celulose são alinhadas ao longo do comprimento da fibra, o que resulta em máxima resistência à tração e flexão, além de fornecer rigidez no eixo das fibras, portanto é também um material anisotrópico. A eficiência do reforço da fibra natural está relacionada com a natureza da celulose e sua cristalinidade (LEÃO et al., 2009).

Na Figura 8 pode-se observar um esquema que compreende as células vegetais, a disposição do conjunto de fibras, passando pelas fibras elementares que são as microfibrilas, até chegar às cadeias de celulose propriamente ditas.

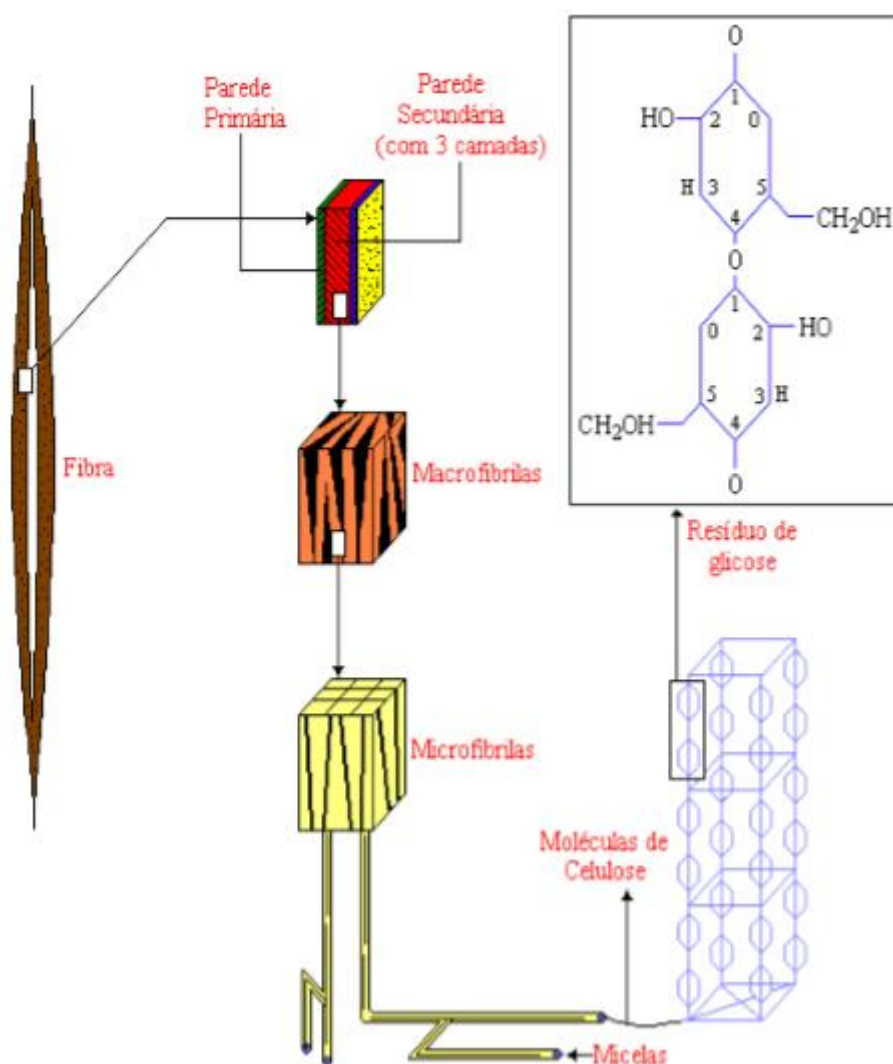


Figura 8. Esquema das fibras, microfibrilas e cadeias celulósicas

Os pesquisadores relataram o isolamento de nanopartículas de celulose a partir de diversas fontes não-madeireiras, onde nanopartículas de celulose foram sintetizadas em forma esférica (PU et al, 2007; ZHANG et al. 2007; ZHANG et

al. 2008), nanocristais de celulose altamente cristalina obtidos por hidrólise ácida de fibras celulósicas e celulose microfibriladas (MFC), resultante da desintegração da fibras de celulose com alto cisalhamento e forças de impacto (DUFRESNE, 2008). Segundo Dufresne (2008), uma rede de microfibrilas interligada com as dimensões de 10-100 nm de espessura e vários microns de comprimento são obtidos.

Celulose nanoestruturas a partir de resíduos agrícolas como banana (ZULUAGA et al., 2007), palha de trigo e casca de soja (ALEMDAR; SAIN, 2008), folha de abacaxi (LEÃO et al., 2010) já foram relatados.

2.6 Álcool Poli Vinílico (PVA)

O PVA (Figura 9) é uma resina sintética, solúvel em água, produzida em maior volume no mundo. Foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, pela hidrólise do poli (acetato de vinila), que é ainda a forma de obtenção comercial utilizada até hoje. O PVA é totalmente biodegradável e é um dissolvente rápido, possui ponto de fusão de 230 °C e de 180-190 °C, para as classes totalmente hidrolisadas e parcialmente hidrolisadas, respectivamente. Ele se decompõe rapidamente acima de 200 °C e pode ser submetido à pirólise a altas temperaturas. O PVA é um polímero sensível à preparação, de modo que, alterações significativas podem ocorrer dependendo do ambiente de trabalho e tratamentos térmicos aplicados (PANAITESCU et al., 2011).

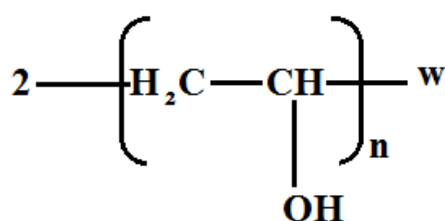


Figura 9. Estrutura química do PVA

As propriedades básicas do PVA dependem dos graus de polimerização e de hidrólise. Por suas excelentes propriedades, o PVA tem sido utilizado em um grande número de aplicações industriais. Este polímero é um excelente adesivo, possui boa resistência a solventes, óleos e graxas e sua resistência a passagem de oxigênio é superior a de qualquer polímero conhecido (MARTEN, 1985). É um dos

poucos polímeros semicristalinos solúveis em água com boas características interfaciais e mecânicas. O PVA tem sido usado em processamento de papel e fibras e como estabilizante de emulsão, além de ser importante como matéria-prima para filmes (Figura 10). Estudos de obtenção de PVA vêm sendo desenvolvidos para controle da cristalinidade e, pela introdução de grupos funcionais, para melhorar ou conferir propriedades específicas (YUN-SHENG et al., 2012).

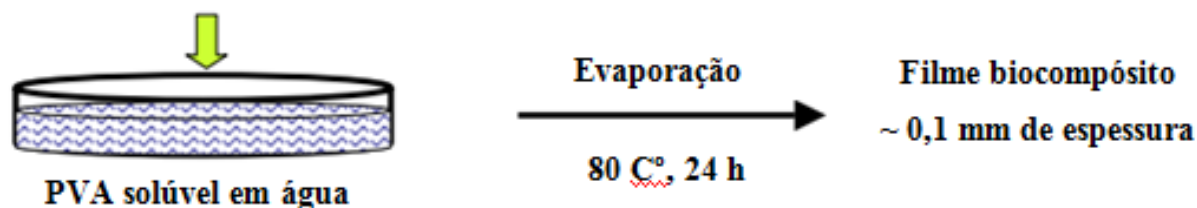


Figura 10. Em fase aquosa: formação de filme: PVA/Nanofibra. Fonte: WANG, 2008

Recentemente, o PVA tem sido utilizado como carreador de medicamento, devido às suas propriedades de degradabilidade e não toxicidade. Algumas aplicações visam alterar a permeabilidade a gases, aumentar a processabilidade e a resistência térmica, a capacidade de estabilização de dispersões, a biocompatibilidade, a permeabilidade e a biodegradabilidade (BATYRBEKOV et al., 1998).

Materiais produzidos a partir de fibras de PVA têm sido extensivamente estudados ao longo dos últimos anos no que diz respeito à efeitos dos parâmetros de produção, peso molecular, concentração, solvente e pH, bem como a presença de aditivos. Além disso, as propriedades mecânicas e térmicas, bem como a estabilidade estrutural das fibras de PVA, também são de fundamental importância para estudos (GADIM, 2012).

Atualmente, vários esforços estão focados no uso de materiais provenientes de fontes renováveis, como agentes de reforço em nanocompósitos. Entre esses materiais facilmente disponíveis, nanocristais de celulose têm atraído grande interesse devido à sua renovabilidade, biodegradabilidade, e espetacular propriedade mecânica (PERESIN et al., 2010). Muitos estudos enfatizaram a eficácia de grande quantidade de fibras de celulose em melhorar as propriedades mecânicas do PVA. Alcançar uma melhor propriedade mecânica com a menor concentração de fibras de celulose é desejável para preservar a transparência e flexibilidade das películas de PVA (PANAITESCU et al., 2011).

Zimmermann et al., (2004) relataram uma melhoria do módulo de elasticidade (de até 5x) à força de tração (de até 3x), no caso de dispersão de 20% em peso fibras de celulose em PVA. Um aumento de aproximadamente cinco vezes a força de tração em relação ao polímero de referência foi relatado por Bruce et al., (2005) a 50% em peso de fibras de celulose e PVA.

Os resultados obtidos em diferentes laboratórios de polímero composto contendo fibras de celulose são muitas vezes contraditórios por causa de muitos fatores que controlam o processo como tamanho e teor de material de enchimento, a aderência da interface, razão de aspecto e orientação da fibra, a dispersão de fibras na matriz e da eficiência de transferência de tensão através da interface (DUFRESNE et al., 2003). Em suma, enquanto em baixas concentrações, o PVA parece promover a porosidade da membrana, para concentrações mais altas, o polímero poderá preencher os poros da matriz, diminuindo a porosidade da membrana modificada.

Apesar da grande importância do desenvolvimento de nanocompósitos envolvendo nanofibras de celulose, a aplicação desses materiais ainda é bastante limitado por várias situações. Uma delas é a dificuldade da separação das fibras de plantas em menor componentes com características uniformes e reprodutíveis. Outra razão é o alto demanda de energia para a maioria dos processos de isolamento. Problemas relativos à adesão interfacial e dispersão uniforme das fibras de celulose na matriz polimérica também atrasou a ampla aplicação destes materiais (PANAITESCU et al., 2011).

O PVA foi escolhido como matriz polimérica deste trabalho, devido à sua compatibilidade com nanofibras de celulose e por ambos serem de natureza hidrofílica, o que aumenta a compatibilidade interfacial entre a nanocelulose e a matriz escolhida. Além disso, sabe-se que celulose tem alta resistência à tração, mas a elasticidade um pouco limitada. Por outro lado, o PVA é altamente elástico, mas a sua força de tensão é limitada. Sendo assim, a mistura destes materiais pode contribuir com a obtenção de um compósito resistente à tração e com elasticidade suficiente para permitir maior adesão mecânica, características desejáveis em um biomaterial.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Produção da celulose bacteriana

As células de *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 23769, utilizadas no experimento, foram doadas pela Prof. Dra Denise Milleo da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

O meio de cultura utilizado para crescimento das células foi meio Alaban modificado (20% (m/v) açúcar cristal, 1% (m/v) de fosfato ácido de potássio, 0,5% (m/v) de extrato de levedura, 0,012% (m/v) de sulfato de magnésio heptahidratado e 0,04% (m/v) de sulfato de amônio). Os compostos foram diluídos em 1 L de água destilada e, em seguida, a solução foi esterilizada por autoclavagem a 121 °C durante 20 minutos.

Após a ativação das células em meio de cultura descrito acima, foram adicionados 3% (v/v) de inóculo em 100 mL de meio estéril. A fermentação ocorreu em condições estáticas a 30°C por quatro dias.

Todo procedimento de inoculação foi realizado em ambiente estéril, dentro de uma capela microbiológica de fluxo laminar vertical, a fim de evitar qualquer contaminação.

3.2 Purificação da celulose bacteriana

Após a fermentação, as películas de celulose formadas foram recolhidas e purificadas através de tratamento alcalino a fim de eliminar qualquer resquício de célula bacteriana

As membranas foram lavadas com água e submetidas em solução de NaOH 4% (m/v) a 60°C por 1 hora. Posteriormente, as películas foram lavadas em água destilada até a neutralização. Após este passo de lavagem todos os discos de CB foram armazenados na forma hidratada (em água destilada) sob refrigeração. A massa de celulose foi determinada através de secagem e pesagem da película a 60 °C em estufa.

Na figura 11 está demonstrado o passo-a-passo para obtenção da celulose bacteriana purificada.

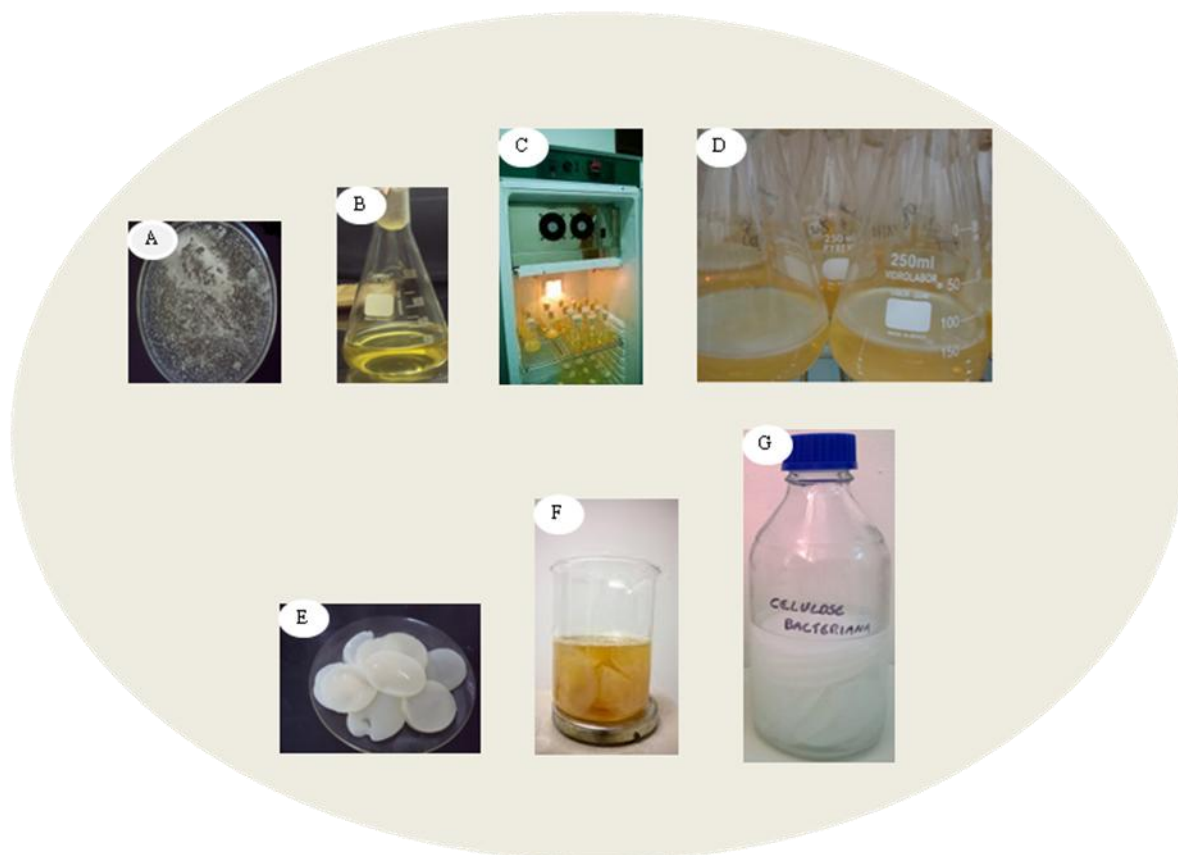


Figura 11. Nas imagens A, B, C e D têm-se o processo de celulose bacteriana e, nas imagens E, F e G, o processo de purificação da CB

3.3 Produção da nanocelulose vegetal

A microfibrila de celulose vegetal foi obtida a partir de fibras da grama Batatais (*Paspalum notatum* Flüegge) (Figura 12).

A grama foi submetida a um processo de polpação por solução de hidróxido de sódio (4% em peso) e peróxido de hidrogênio (5% em peso), na proporção grama/solução alcalina de 1:20. Este processo foi realizado em autoclave pressurizada a 1,5 atm, 127 °C, durante 1 hora, seguido da rápida descompressão, o que confere ao material um efeito conhecido por “explosão por vapor”. O processo foi realizado três vezes. Após a polpação, a microcelulose foi filtrada e lavada com água deionizada até pH 7 e posteriormente reservada sob refrigeração para usos posteriores.

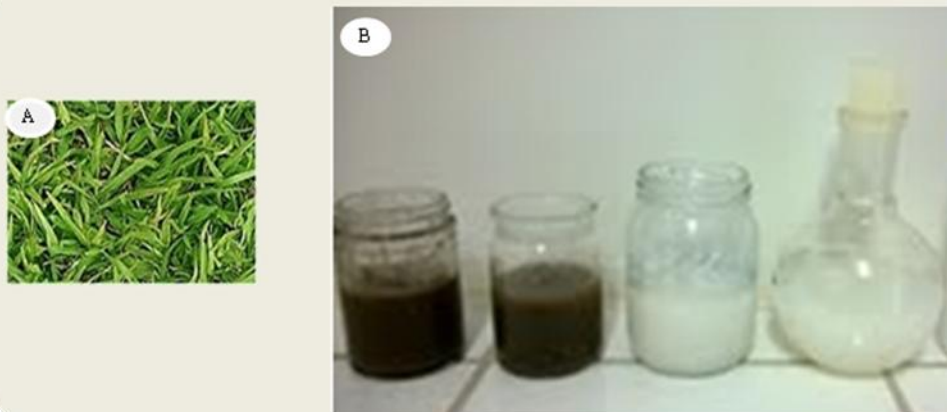


Figura 12. Na imagem A é mostrada a matéria prima utilizada na obtenção da nano e na imagem B as fases para obtenção da nanocelulose

3.4 Processamento dos nanomateriais

Os compósitos foram preparados de acordo com o método descrito por Iguchi et al (2000). O PVA foi dissolvido em 150 mL de água deionizada e misturado com a suspensão de nanofibras por 1 hora em condições de baixo

aquecimento para promover uma melhor mistura e total dissolução do polímero. A concentração em massa de nanofibras (CB e de grama) foi de 1%, 3%, 5% e 7% em peso em relação à quantidade de PVA. Em seguida, o processo por solução casting, também conhecido como solução/evaporação, foi realizado visando preparar o filme compósito. Os filmes foram processados em temperatura de 50 °C até secagem completa.

Foram também produzidos filmes do polímero PVA 100 %, de celulose bacteriana e nano celulose de grama para melhor compreensão da capacidade de reforço das nanofibras com o filme compósito de PVA.

3.5 Teste in vitro

3.5.1 Cultura de fibroblastos L929

As células da linhagem L929 (fibroblastos aneuplóides isolados do tecido subcutâneo de camundongo) foram cultivados em garrafas, na presença de meio de cultura DMEN (Gibco, Grand Island, NY, EUA), suplementado com soro bovino fetal a 5% (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA), 2-mercaptoetanol (5×10^{-5} M), l-glutamina (2 mM), penicilina (100 U/ml), estreptomicina (100 mg/ml), aminoácidos não essenciais (1 mM), piruvato de sódio (2.2 M), HEPES (N-2- hidroxiethylpiperazina, N-2-ácido etanosulfônico) (10 mM), e bicarbonato de sódio (todos da Gibco). As células foram mantidas em estufa a 37°C, com atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂ e 95% de ar. Para a realização dos experimentos, os fibroblastos foram destacados das garrafas empregando tripsina a 0,25% (Gibco). O sobrenadante foi centrifugado a 1000 RPM por 10 minutos a 5°C, o pellet foi ressuspensionado em 1 mL de DMEM completo e as células foram contadas em hemocítmetro (Reichert, Buffalo, NY).

3.5.2 Adesão dos fibroblastos

Para esterilização, as membranas foram passadas em álcool 70% , lavadas com água destilada autoclavada e, posteriormente submetidas a radiação UV por 45 minutos.

Após esterilização as membranas foram colocadas em placas de 24 poços (Corning, NY, NY, EUA) e os fibroblastos L929 foram cultivados/incubados sobre elas numa concentração de 1×10^5 células/mL, durante 48 horas. Após o período

de incubação o meio de cultura foi removido e as membranas foram lavadas duas vezes com solução tampão cacodilato de sódio 0,1 M e fixadas em aldeído glutárico a 4%, diluído em tampão cacodilato de sódio 0,2 M, pH 7,4, por 20 minutos, a 37°C. O material foi lavado em tampão cacodilato de sódio 0,1 M por 3 vezes e pós-fixado em tetróxido de ósmio a 1%, por uma hora. Após novas lavagens em tampão cacodilato de sódio 0,1M (3 vezes de 15 minutos), as células foram desidratadas em série crescente de álcool (50%, 70% e 95%, 10 minutos cada e 100%, 2 trocas de 20 minutos cada). O material foi seco por 24 horas em estufa a 37 °C.

3.6 Caracterizações

Para caracterização da celulose bacteriana foram realizadas análises morfológicas, termogravimétricas e de composição química.

3.6.1 FTIR

A espectroscopia de infravermelho com (FTIR) é uma técnica analítica que permite a determinação da estrutura molecular, identificando grupos funcionais presentes e tipos de ligações químicas. Esta análise foi realizada no Laboratório de Física da Unesp/Bauru.

3.6.2 MEV

As microscopias das amostras de celulose bacteriana e nanocelulose vegetal foram realizadas no Laboratório de Microscopia da Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu a fim de avaliar a microestrutura dos materiais e caracterizar morfológicamente as fibras.

A visualização da amostra por microscopia eletrônica só é possível após a metalização da mesma para que este sofra um bombardeio de feixe de elétrons altamente energéticos e a imagem deste seja formada através da emissão de elétrons secundários e raios X pela amostra no estado excitado e do retroespalhamento de elétrons primários originados de colisões inelásticas com o sólido em análise.

Para a metalização, uma pequena amostra da fibra a ser analisada foi colada, com uma fita de carbono, em suportes metálicos específicos para a realização de microscopia, recobertos com papel alumínio. Posteriormente, foi feita a deposição de ouro pelo método de “Sputtering”, utilizando um equipamento (EMITECH K550)

Após a metalização, as amostras foram analisadas em um microscópio eletrônico de varredura da marca Philips, modelo XL-30, com fonte de elétrons de tungstênio e detector de elétrons secundários e retro espalhados. As amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro por um metalizador, marca BALTEC, modelo SCD 005. Todas as amostras foram examinadas usando uma voltagem de aceleração de 20 kV.

3.6.3 DTA/TG

A análise termogravimétrica (TGA) fornece informações características sobre o comportamento de materiais diante de um aumento progressivo de temperatura, ou seja, é a técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto esta é submetida a uma programação controlada. Por meio de gráficos foi possível comparar as curvas e picos visualizando o efeito dos tratamentos. Esta técnica é muito utilizada para determinar a temperatura de estabilidade térmica e avaliar a pureza das amostras. Esta análise foi realizada no Laboratório de Física da Unesp/Bauru.

A termogravimetria (TG) permite registrar as variações de massa em função do tempo do ciclo de aquecimento ou arrefecimento e/ou temperatura. Desta forma, as curvas obtidas podem fornecer informações referentes à estabilidade térmica e à pureza da substância. A termogravimetria derivada é a derivada primeira da curva TG e possibilita uma melhor identificação da decomposição do composto. Entretanto, nem todos os eventos térmicos que ocorrem durante o aquecimento de uma amostra são acompanhados de mudança de massa (Brown, 1995).

A estabilidade térmica permite a determinação da capacidade de uma substância de manter suas propriedades sob variações térmicas.

3.6.4 DRX

A técnica de difração de raios-X (DRX) é um método preciso e eficiente largamente empregado em pesquisa científica e tecnológica, particularmente, para ensaios não-destrutivos em aplicações industriais. Trata-se de uma técnica para a determinação precisa de estruturas cristalinas e amorfas.

3.6.5 Tração

Os filmes de nanofibras, celulose bacteriana, álcool polivinílico puro e nanocompósitos de PVA foram avaliados quanto ao seu desempenho mecânico seguindo a norma ASTM D638 (ensaios de tração de plásticos). A tração foi medida no equipamento EMIC do Laboratório de Resíduos da Unesp/Botucatu com velocidade de 2,5 mm/minuto.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de FTIR (Espectroscopia de Infravermelho) das amostras de CB, nanocelulose de grama, PVA puro e dos nanocompósitos são apresentados nas figuras 13 e 14. Observa-se uma banda de absorção de aproximadamente 3250 cm^{-1} que representa a vibração de estiramento dos grupos OH das pontes de hidrogênio inter e intramolecular entre os grupos hidroxila do PVA e nanocelulose e do PVA puro. A banda mais larga em 3400 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de OH livre em moléculas de nanocelulose (KHALIL et al., 2001; MANDAL and CHAKRABARTY, 2014).

O pico por volta de 2920 cm^{-1} representa o estiramento dos grupos alquila do PVA e dos nanocompósitos. A banda em torno de 1700 cm^{-1} está relacionada ao acetato residual na matriz de PVA, demonstrado pela vibração de estiramento de C=O e C-O (THOMAS et al., 2001). A absorção em 1440 cm^{-1} também está associada ao grupo C-O (CHANG et al., 2007).

Nota-se um pico intenso na região de 1060 cm^{-1} , relacionado ao componente celulósico pelo estiramento de C-O-C do anel de piranose (ZHAO et al., 2008). A matriz de PVA apresenta a vibração de estiramento de C-O em 1088 cm^{-1} , o que significa uma possível interação da matriz de PVA com a nanocelulose (ZHAO et

al., 2008; LIU et al., 2013). O PVA puro apresenta um pico de absorção em 1143 cm^{-1} , associado ao estiramento de C-C, que é relacionado com sua cristalinidade (TADOKORO et al., 1956; LIU et al., 2013).

Nota-se por volta de 900 cm^{-1} uma banda de absorção de nanocelulose referente à vibração de C-H, que diminui nos compósitos. A banda presente no PVA em torno de 850 cm^{-1} é gradualmente reduzida pela adição de nanocelulose, provavelmente, devido à interação entre a nanocelulose e o PVA (PERESIN et al., 2010; MANDAL and CHAKRABARTY, 2014).

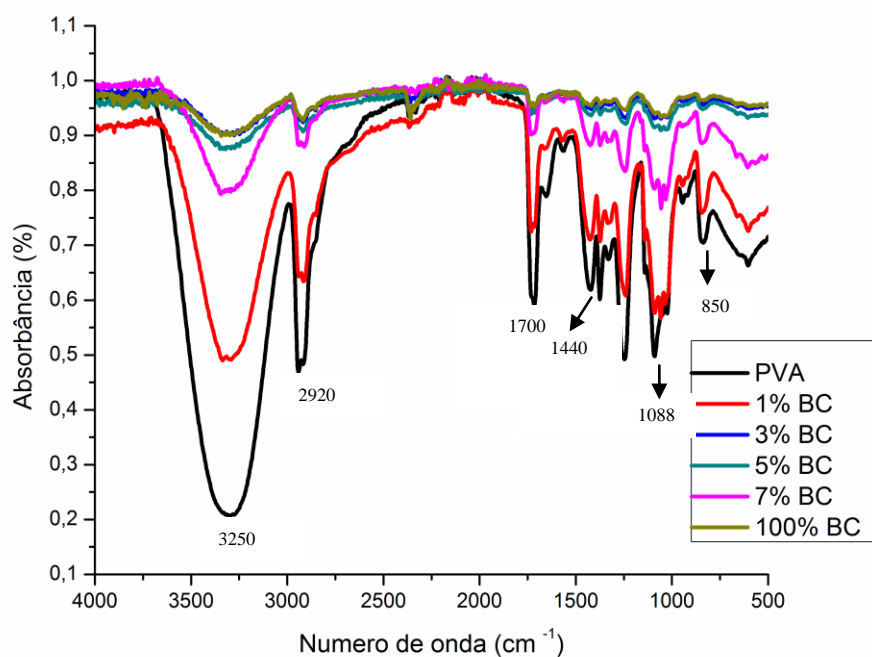


Figura 13. Espectro de FTIR de PVA puro, nanocelulose CB 100%, nanocompósito de CB 1%, 3%, 5% e 7%.

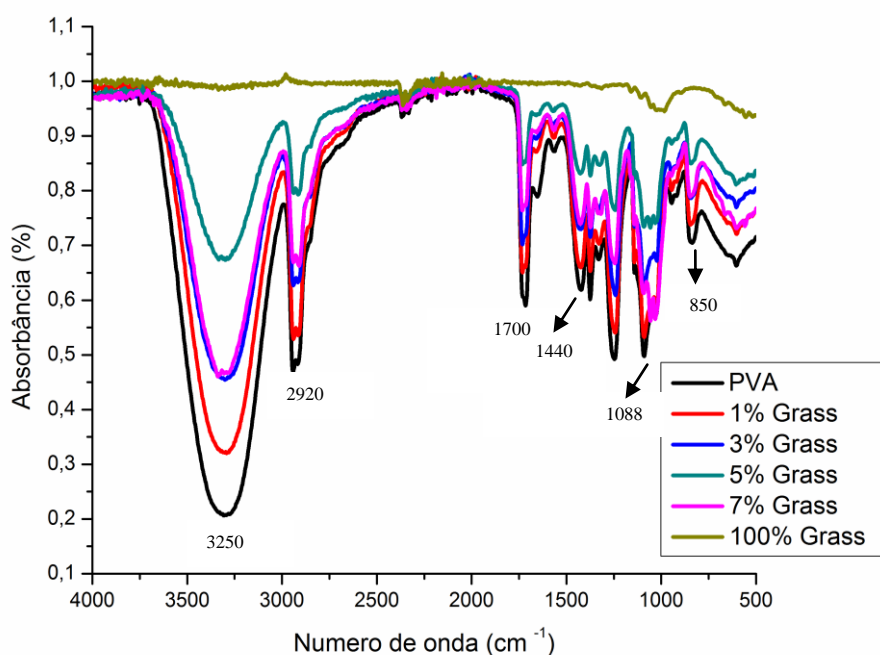


Figura 14. Espectro de FTIR de PVA puro, nanocelulose de grama 100%, nanocompósito de grama 1%, 3%, 5% e 7%.

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

A organização morfológica da celulose bacteriana é definida por fibras que são formadas pela junção das microfibrilas. A análise morfológica da CB obtida por MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) (Figura 15) mostra que as fibras de CB possuem maior entrelaçamento sem direção preferencial do que as nanocelulose de grama, com estrutura fibrilar em que os poros estão compactados.

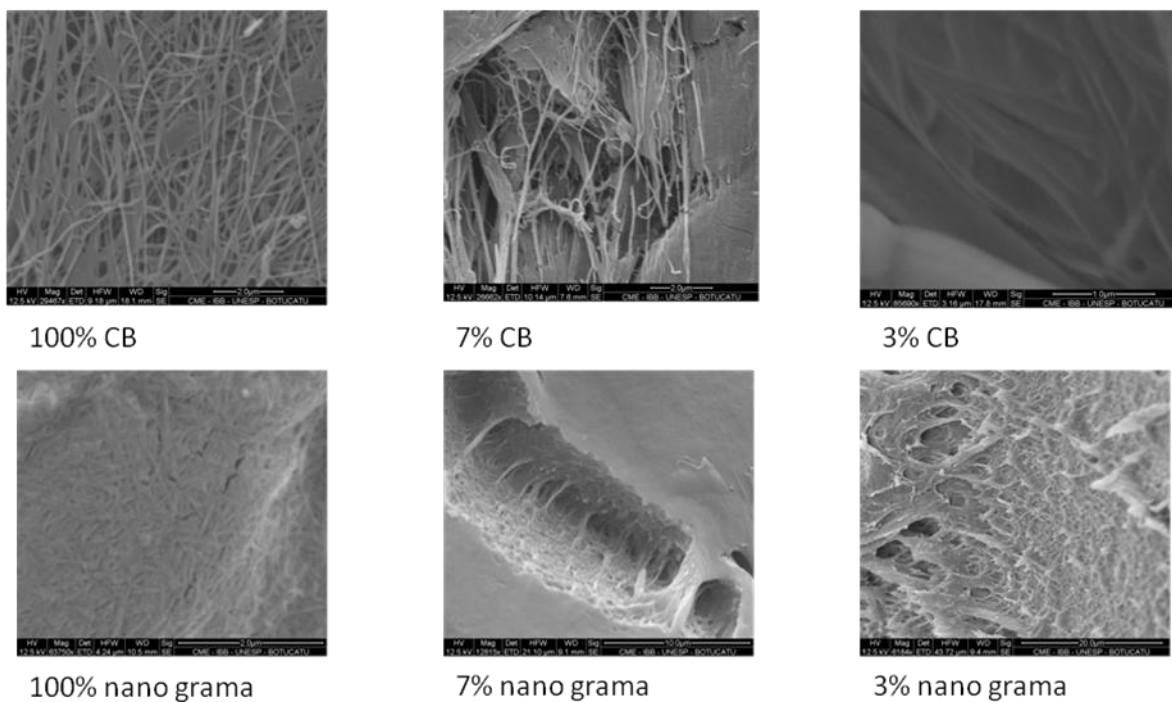


Figura 15. Microscopia eletrônica de varredura dos compostos da Celulose bacteriana (CV) com concentração de 100%, 7% e 3% e da Nanocelulose de grama nas mesmas concentrações

4.3 Termo Gravimetria

As análises de TG (Termo Gravimetria) das Figuras 16, 17 e 18 apresentaram três estágios distintos de perda de massa dos materiais. Todas as amostras apresentaram, entre 50-180 °C, 5% de perda de massa devido à umidade absorvida. A maior degradação do PVA ocorreu entre 250 e 380 °C, que corresponde à decomposição da cadeia lateral de PVA. Já a decomposição da cadeia principal ocorreu entre 380 e 550 °C.

A temperatura inicial de degradação térmica (Ti) da nanocelulose de grama e de CB foram, respectivamente, 280 e 290 °C. Este passo de perda de massa pode ser atribuído ao início da despolimerização da celulose. (SILVA, AQUINO 2008; LEÃO et al 2000; YANG et al 2007). Comparando com a Ti do PVA puro a 270 °C, nota-se maior estabilidade térmica para as amostras de nanocelulose pura. O aumento na estabilidade térmica deve-se às ligações de hidrogênio dos grupos OH presentes na superfície da celulose, que necessitam de mais energia para iniciar o processo de degradação térmica (CORRÊA et al., 2010; MANDAL and CHAKRABARTY, 2014).

Quanto maior o índice de cristalinidade, melhor a estabilidade térmica da amostra (ALENDAR and SAIN, 2008; LIU et al., 2013)

O compósito contendo 1% de CB apresenta uma curva de degradação semelhante a do PVA puro, o que indica que não houve efeito significativo na estabilidade térmica do material. No entanto, a análise de TG do compósito de 7% de nanocelulose de grama mostrou que a temperatura média de degradação, no segundo estágio da curva, foi deslocada para uma temperatura mais elevada. Esse resultado indica uma maior estabilidade térmica para os compósitos, devido à cristalinidade e estabilidade térmica da nanocelulose.

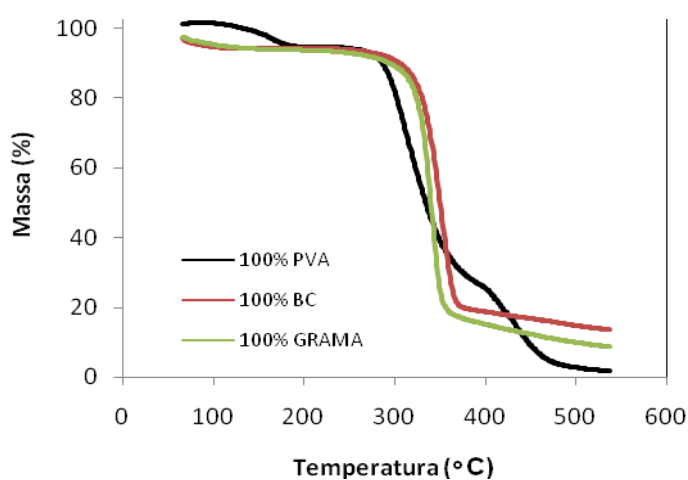


Figura 16. Curva termogravimétrica do PVA puro, 100% de nanocelulose de grama e CB.

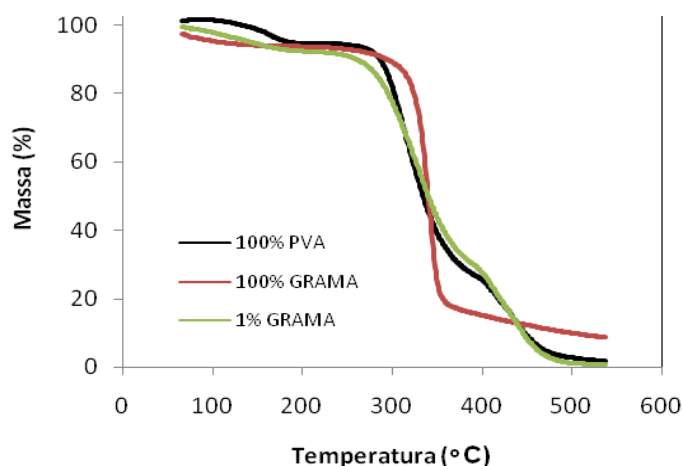


Figura 17. Curva termogravimétrica do PVA puro, nanocelulose de grama e compósito com 1% de nano de grama.

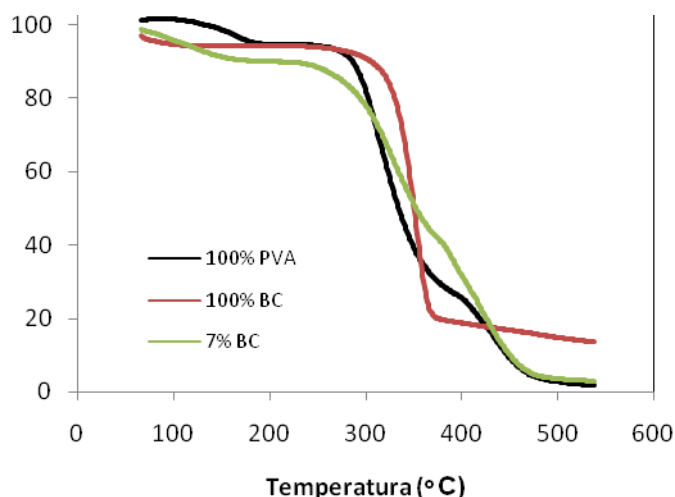


Figura 18. Curva termogravimétrica do PVA puro, nanocelulose de CB e compósito com 7% de nano CB.

4.4 Difratoograma de Raios-X

O difratograma de raios-X (DRX) da nanocelulose de grama e da CB comparada com o PVA puro está apresentado na figura 19. O pico de difração $2\theta \sim 22.5$ e o pico ~ 14.32 foram atribuídos ao típico plano de reflexão da celulose I, 002 e 101 respectivamente (LIU et al., 2010). As figuras 20, 21, 22 e 23 demonstram o padrão de difração dos nanocompósitos contendo 1, 3, 5 e 7% de nanocelulose, respectivamente. Um amplo pico em $2\theta \sim 19.4$ é observado no perfil de PVA puro, sendo atribuído à estrutura ortorrômbica semi-cristalina do PVA (KURUMOVA et al., 2000; LIU et al., 2013). Ocorre uma diminuição na intensidade desse pico com a adição de nanocelulose à matriz de PVA para formar os compósitos. A nanocelulose apresenta uma maior cristalinidade do que o PVA puro e, portanto, com o aumento do teor de nanocelulose, a cristalinidade do filme PVA/nanocelulose aumenta gradualmente (LIU et al., 2013).

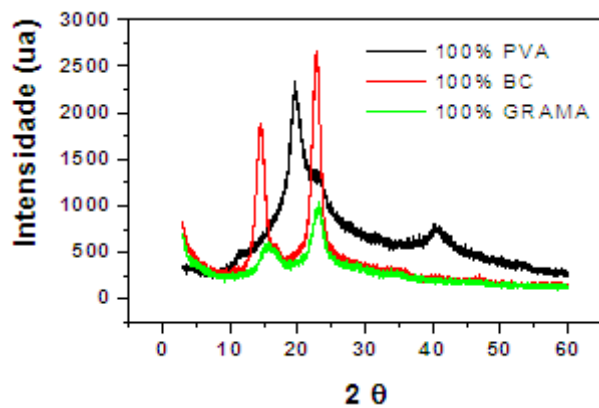


Figura 19. Padrão de DRX de PVA puro, 100% de nanocelulose de grama e 100% CB.

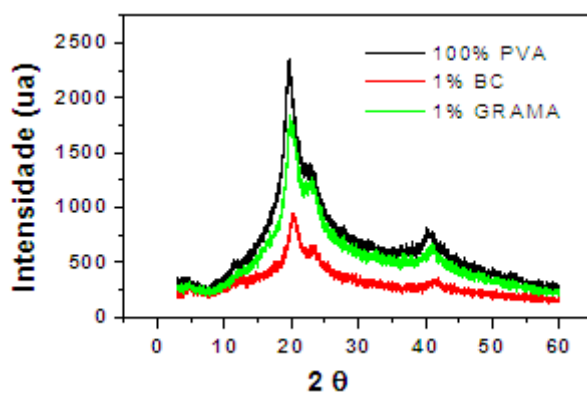


Figura 20. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 1% de grama, nanocompósito 1% de CB.

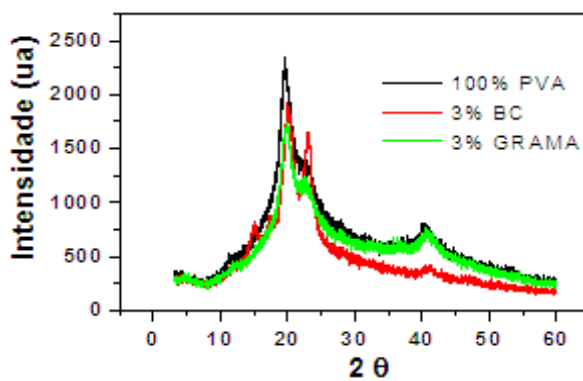


Figura 21. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 3% de grama, nanocompósito 3% de CB.

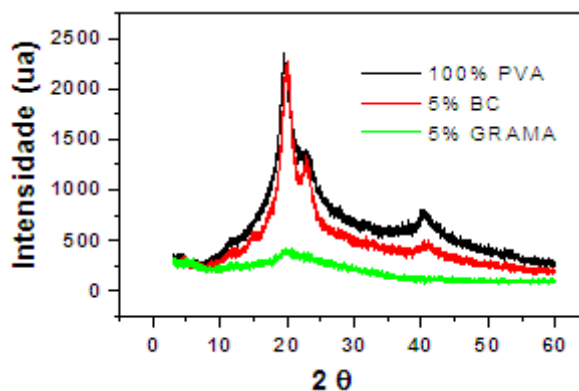


Figura 22. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 5% de grama, nanocompósito 5% de CB.

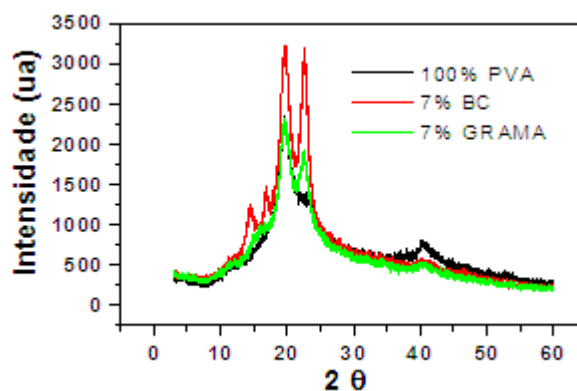


Figura 23. Padrão de DRX de PVA puro, nanocompósito 7% de grama, nanocompósito 7% de CB.

4.5 Tração

Entre todos os tratamentos avaliados, a membrana proveniente da celulose bacteriana com 7% em massa, se sobressaiu sobre as demais, apresentando o valor de tensão força máxima equivalente a 0,9619 Mpa. O segundo melhor tratamento foi constatado para a membrana derivada de celulose vegetal com 7% em massa, com índice de 0,7232 Mpa (Figura 24).

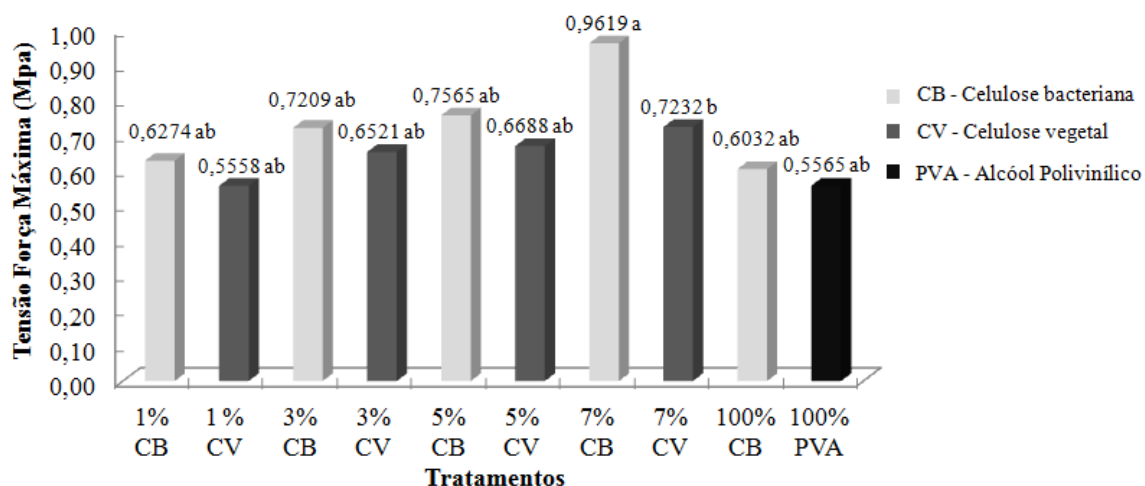


Figura 24. Tratamentos submetidos a análise de tensão força máxima. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). DMS = 0,58510; Coeficiente de Variação = 33,02.

Os compósitos com adição de 1% em peso de nanofibras proporcionou resistência maior em 12% do filme de PVA puro, já com adição de 7% de nanofibras, o aumento foi de até 58%.

No entanto, de modo geral, as membranas provenientes da celulose bacteriana não se diferiram estatisticamente das derivadas de celulose vegetal.

4.6 Teste de citotoxicidade – adesão de fibroblastos

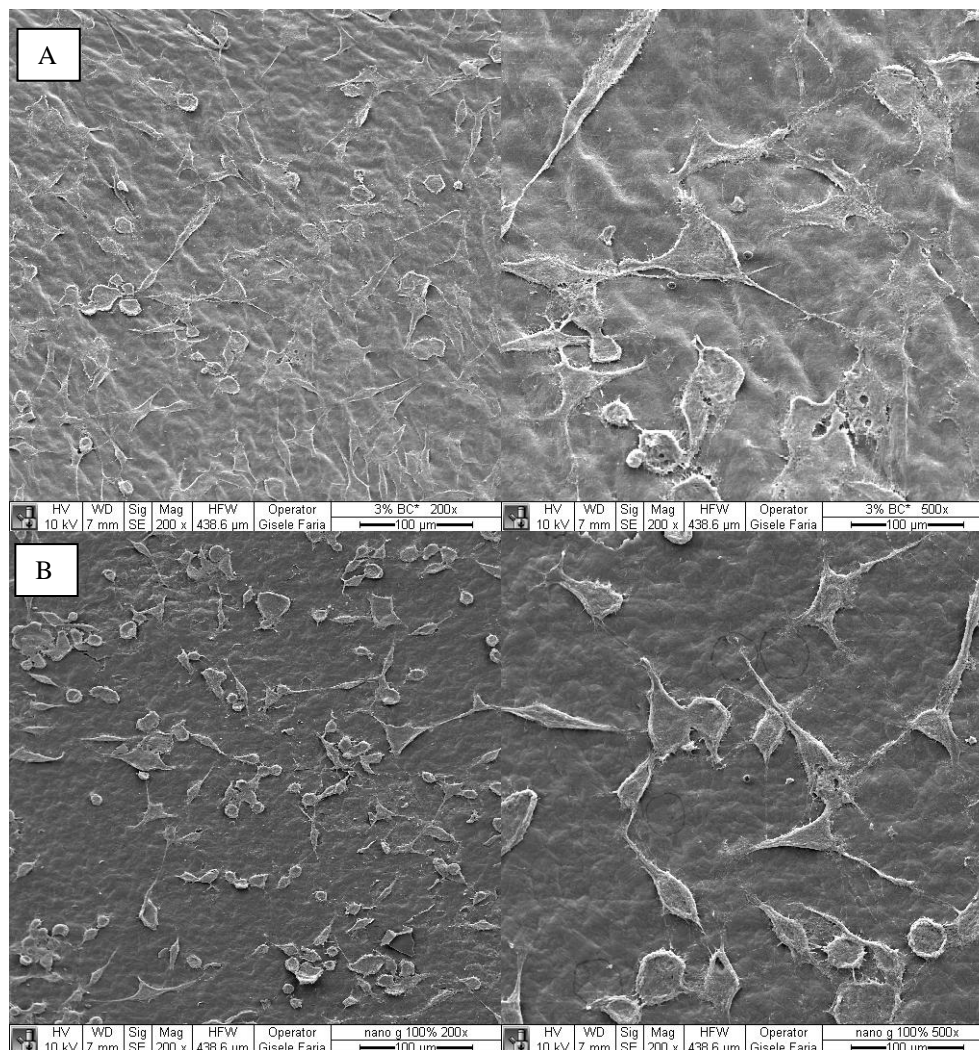


Figura 25. Microscopia eletrônica de varredura mostrando a adesão dos fibroblastos nos compósitos de celulose bacteriana/PVA (A) e nanocelulose de grama/PVA (B)

De acordo com a Figura 25 observamos que houve adesão tanto no compósito com celulose bacteriana quanto no de nanocelulose vegetal. Estudos posteriores serão realizados para verificar o potencial de proliferação das células de fibroblasto, porém podemos afirmar que não houve rejeição das células, o que é um ótimo indicador, principalmente com relação ao compósito de celulose de grama, que trata de um estudo inicial ainda não encontrado em literatura.

5. CONCLUSÃO

Com os estudos realizados foi possível verificar que houve afinidade entre a matriz e as celulosas e com o aumento do teor da celulose, por tratar de um material mais cristalino, houve também um incremento na resistência mecânica do material, sendo observado o incremento de até 58% no teste de tração.

Além das propriedades mecânicas os materiais mostraram-se bastante promissores na aplicação biomédica, visto que não houve inibição de crescimento das células de fibroblastos em nenhuma das membranas avaliadas, porém estudos complementares deverão ser realizados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, F. K., et al, Improving the affinity of fibroblasts for bacterial cellulose using carbohydrate-binding modules fused to RGD. Centre of Biological Engineering, Universidade do Minho, **Journal of Biomedical Materials Research**, 2008.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibres from agricultural residues: wheat straw and soy hulls. **Bioresour Technol**, v. 99, p. 1664-1671, 2008.

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. *Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials*. **Materials Science and Engineering**, v. 28, p. 1-63, 2000.

BACKDAHL, H., et al. P. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. **Biomaterials**, v. 27, n. 9, p. 2141-2149, 2006.

BAKASS, M.; MOKHLISSE, A.; LALLEMANT, M. Absorption and desorption of liquid water by a superabsorbent polymer: effect of polymer in the drying of the soil and the quality of certain plants. **J. Appl. Polym. Sci.**, 83 (2), p. 234-243, 2002.

BATYRBEKOV, E. O.; ISKAKOW, R.; ZHUBANOV, B. A. $\frac{3}{4}$ **Makromol. Symp.**, v. 127, p. 251, 1998.

BROWM, M. E. Introduction to thermal analysis: techniques and applications. New York: Chapman & Hall, 1995.

CHANG, Y. W., WANG, E., SHIN, G., HAN, J. E., MATHER, P. T. Poly(vinyl alcohol) (PVA)/sulfonated polyhedral oligosilsesquioxane (sPOSS) hybrid membranes for direct methanol fuel cell applications. **Polym. Adv. Technol.** v. 18, p. 535–543, 2007.

CORRÊA, A.N., TEIXEIRA, E.M., PESSAN, L.A., MATTOSO, L.H.C. Cellulose nanofibers from curaua fibers. **Cellulose**, v. 17, p. 1183-1192, 2010.

BRACELPA. **Associação Brasileira de Papel e Celulose. Dados do setor.** Disponível em: <http://www.bracelpa.org.br/bra2/sites/default/files/estatisticas/booklet.pdf>. Setembro, 2013. Acessado em 31 de outubro de 2013.

BRUCE, D. M.; et al. High-performance composites from low-cost plant primary cell walls. Composites Part A: **Applied Science and Manufacturing**, v. 36, p. 1486–1493, 2005.

CHANG, C. Y.; ZHANG, L. N. Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 40-53, 2011.

CZAJA, W. K.; et al. The Future Prospects of microbial cellulose in biomedical Applications. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 1, p.1-12. 2007.

DAHMAN, Y. Nanostructured Biomaterials and Biocomposites from Bacterial Cellulose Nanofibers. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 9, p. 5105-5122, 2009.

DE SOUZA, F. C. et al. Bacterial Cellulose as Laryngeal Medialization Material: An Experimental Study. **Journal of Voice**, v. 25, p. 765-769, 2011.

DOURADO, F., et al, "Characterization of Cellulose surface free energy". **J.Adhesion Sci. Technol**, v. 12, p. 1081-1090 , 1998.

DU, H.; et al. **J. Phys. Chem. B**, v. 102, 232 p., 1998.

DUCHEYNE, P. Bioceramics: material characteristics versus in vivo behaviour. **J. Biomedical Materials Research: Appl. Biomaterials**, v. 21, p. 219-236, 1987.

DUFRESNE, A., DUPEYRE, D., E PAILLET, M. Lignocellulosicflour reforçado poli (hidroxibutirato-co-valerato) compósitos. **J Appl Polym Sci** , vol. 87, p. 1302 -1315, 2003.

DUFRESNE, A. Polysaccharide nano crystal reinforced nanocomposites. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 86, p. 484–494, 2008.

ELAZZOUZI-HAFRAOUI, S., et al. The Shape and Size Distribution of Crystalline Nanoparticles Prepared by Acid Hydrolysis of Native Cellulose. **Biomacromolecules**. v. 9, p. 57-65, 2008.

EVANS, B. R. et al. Palladium-bacterial cellulose membranes for fuel cells. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 18, p. 917-923, 2003.

FU, L.; ZHANG, J.; YANG, G. Present Status and Applications of Bacterial Cellulose-based Materials for Skin Tissue Repair. **Carbohydrate Polymers**, 2013.

GADIM, T. D. O. Membranas à base de celulose bacteriana para pilhas de combustível. Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica. Dissertação. Universidade de Aveiro, 2012.

GAY, D.; HOA, S.V. Composite materials: design and applications. **CRC Press**. 2007.

GILDING, D. K. Biodegradable polymers. In: Biocompatibility of clinical implants materials. **CRC Press**, p. 210-228, 1981.

GUHADOS, G.; WAN, W.; HUTTER, J. L. Measurement of the Elastic Modulus of Single Bacterial Cellulose Fibers Using Atomic Force Microscopy. **Langmuir**, v. 21, p. 6642-6646, 2005.

HASAN, N.; BIAK, D.R.A.K.. Application of Bacterial Cellulose (BC) in Natural Facial Scrub. **International Journal on Advanced Science, Engineering Information Technology**, v. 2, 2012.

HABIBI, Y., et al. Langmuir–Blodgett films of cellulose nanocrystals: Preparation and characterization. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 316, p. 388-397, 2007.

HELENIUS, G. et al. In vivo biocompatibility of bacterial cellulose. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 76A, p. 431- 438, 2006.

HENCH, L.L.; WILSON, J. Introduction to bioceramics. Singapore. **Word Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.**1993.

HOENICH, N. Cellulose for medical applications: past, present and future. **BioResources**, v. 1, n. 2, p.270-280, 2006.

HSIEH, Y. C.; et al. An estimation of the Young's modulus of bacterial cellulose filaments. **Cellulose**, v. 15, p. 507-513, 2008.

IGUCHI, M.; YAMANAKA, S.; BUDHIONO, A. Bacterial cellulose: A masterpiece of nature's arts. **J. Mater. Sci.**, v. 35, p. 261-270, 2000.

JONAS, R., FARAH, L. F. Production and application of microbial cellulose. **Polym Degrad Stab.** v. 59, p. 101-106, 1998.

JOSEPH, K.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, L. H. Polímeros. **Cienc Tecnol.**, v. 9, p.136-141, 1999.

KELLY A., **Concise Encyclopedia of Composite Materials**, New York, 1994.

KHALIL, H.P.A., ISMAIL, H., ROZMAN, H.D., AHMAD, M.N. The effect of acetylation on interfacial shear strength between plant fibres and various matrices. **European Polymer Journal**, v.37, p. 1037-1045, 2001.

KIM, T.H., KIM, J.S., SUNWOO, C., LEE, Y.Y. Pretreatment of corn stover by aqueous ammonia. **Bioresource. Technol.** v. 90, p. 39–47, 2003.

KURUMOVA, M., LOPEZ, D., BENEVENTE, R., MIJANGOS, C., PERENA, J.M. Effect of crosslinking on the mechanical and thermal properties of poly(vinyl alcohol). **Polymer**. v. 41, p. 9265–9272, 2000.

KIM, Y., et al. Transparent nanocomposites prepared by incorporating microbial nanofibrils into poly(l-lactic acid). **Current Applied Physics**, v. 9, p. 69-71, 2009.

KLEMM, D. et al. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v. 26, p. 1561-1603, 2001.

KLEMM, D.; et al. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material, **J Angew Chem Int**, Ed, v. 44, p. 3358, 2005.

LAVOINE, N. DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose - its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. **Carbohydrate polymers**, p. 735–64, 2012.

LEÃO, A. L. **Produção de compósitos não estruturais a base de lignocelulósicos**. 1997. Tese (Livre Docência) FCA- UNESP, Botucatu, 147p., 1997.

LEÃO, A. L., CARASCHI, J. C., TAN, I.H. Curaua fiber—A tropical natural fibers from amazon potencial and applications in composites. In: Frollini E, Leão AL, Mattoso

LHC (eds) **Natural Polymers and Agrofibers Composites**. São Carlos, Brazil, p. 257–272, 2000.

LEÃO, A. L.; et al. **Pulping natural fibers as a raw material aiming the production of nanocellulose nanocomposites**. In: PROCEEDINGS OF THE SECOND INTERNATIONAL CONFERENCE ON INNOVATIVE NATURAL FIBRE COMPOSITES FOR INDUSTRIAL APPLICATIONS, Roma, 2009.

LEÃO, A. L.; CHERIAN, B. M.; SOUZA, S. F. Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. **Carbohydr Polym**, v. 81, p. 720-725, 2010.

LEE, H.C.e ZHAO, X. Effects of mixing conditions on the production of microbial cellulose by *Acetobacter xylinum*. **Biotechnol. Bioprocess Eng.** v.4 , p.41- 45, 1999.

LILLARD, J. W., JR.; BEARDEN, S. W.; FETHERSTON, J. D.; PERRY, R. D. 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 NETO, S. A. PETROVIVK, P. R. **A celulose na Farmácia: Caderno de Farmácia**, v.13, n.1., p.19-23, 1997.

LIU, D., ZHONG, T., CHANG, P.R., LI, K., WU, Q. Starch composites reinforced by bamboo cellulosic crystals. **Bioresour Technol.** v. 101, n. 7, p. 2529–2536, 2010.

LIU, D., SUN, X., TIAN, H., MAITI, S., MA, Z. Effects of cellulose nanofibrils on the structure and properties on PVA nanocomposites. **Cellulose.** v. 20, p. 2981-2989, 2013.

LU, Y., WENG, L., CAO, X. Biocomposites of Plasticized Starch Reinforced with Cellulose Crystallites from Cottonseed Linter. **Macromol. Biosci**, v. 5 p. 1101-1107, 2005.

LYMAN, D. J.; ROWLAND, S. M. **Biomaterials**. In KROSCHWITZ, J. I.; *Polymers: biomaterials and medical applications*, John Wiley and Sons, p. 52-71, 1989.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Studies on the mechanical, thermal, morphological and barrier properties of nanocomposites based on poly(vinyl alcohol) and nanocellulose from sugarcane bagasse. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**.v.20,2ed.,p.462-473,2014.(inpress)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2013.05.003>

MARTEN, F. L. **Vinyl alcohol polymers**. IN: ENCYCLOPEDIA OF POLYMER SCIENCE AND ENGINEERING, vol. 17, H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger & G. Menges (eds.), John-Wiley, New York, 1985.

MATEOS, SB. **Pele descartável**. Indústria brasileira, v.44, p.38-41, 2004.

MIRACLE, D.B.; DONALDSON, S.L. **ASM Handbook - Composites**. ASM, International, v. 21, 2001.

NOGI, M.; YANO, H. Transparent Nanocomposites Based on Cellulose Produced by Bacteria Offer Potential Innovation in the Electronics Device Industry. **Adv. Mater**, v.20, p. 1849-1852, 2008.

OLIVEIRA, V. A. Produção e degradação *in vitro* de vasos sanguíneos artificiais à base de celulose bacteriana. 2011. 65 f. (Master). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

OU, Y.; YANG, F.; YU, Z. Z.; **J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys**, v. 36, 789 p., 1998.

PANAITESCU, D. M. et al. Propriedades de Polímeros Compósitos com Microfibrilas de celulose. Avanços em Materiais Compósitos- Ecodesign e Análise. **Intechop Europa**, p; 103-122, 2011.

PEREIRA, C. S., GOMES, M. E., REIS, R. L., CUNHA, A. M. **Hard cellular materials in the human body: properties and production of foamed polymers for bone replacement**. In: Emulsions and cellular materials, p. 193-204, 1998.

PERESIN, M. S. et al. Anofiber Composites of Polyvinyl Alcohol and Cellulose Nanocrystals: Manufacture and Characterization. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 674-681, 2010.

PINTO, E. R. P. **Estudo do Sistema Celulose Bacteriana – Poliuretana para a Produção de novos Compósitos**. 2007. 151f. Dissertação (Mestrado em Química). Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

PHISALAPHONG, M.; SUWANMAJO, T.; SANGTHERAPITIKU, P. Novel nanoporous membranes from regenerated bacterial cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 107, p. 292-299, 2008.

PU, Y. Q; et al. **Investigation into nanocellulosics versus acacia reinforced acrylic films**. Composites Part B: Engineering, v. 38, p. 360–366, 2007.

QIU, Y.; PARK K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. **Adv. Drug Delivery Rev.**, 53 (3), p. 321-339, 2001.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biology Vegetal**. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan. p. 906, 2001.

REDDY, N.; YANG, Y. Biofibres from agricultural by products for industrial applications. **Trends in Biotechnology**, v. 23, p. 22–27, 2005.

SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research in cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposites field. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 612-626, 2005.

SANCHEZ, C., et al. Designed Hybrid Organic-Inorganic Nanocomposites from Functional Nanobuilding Blocks, **Chem. Mater**, 13(10), p. 3061-3083, 2001.

SANCHEZ, C., et al. Applications of hybrid organic–inorganic nanocomposites, **J. Mater. Chem**, v. 15, p. 3559-3592, 2005.

SANTOS, L. A., et al. **Influence of polymeric assitives on the mechanical properties of a-tricalcium phosphate cement**. Bone, v.25; p.99-102, 1999.

SEYDIBEYOGLU, M. O.; OKSMAN, K. Novel nanocomposites based on polyurethane and micro fibrillated cellulose. **Composites Science and Technology**, v. 68, p. 908-914, 2008.

SHAH, J.; BROWN, R. M. Towards electronic paper displays made from microbial cellulose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, p. 352-355, 2005.

SILVA, R.V.; AQUINO, E.M.F. Curaua fiber: a new alternative topolymeric composites. **J Reinf Plast Comp**. v. 27, n. 1, p. 103:112, 2008.

SIXTA, H. Pulp Properties and Applications. In: **Handbook of Pulp**. Weinheim, p. 1009-1067, 2006.

SIRO, I.; PLACKETT, D. **Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review**. Cellulose, v. 17, p. 459-494, 2010.

SMITH, W.F., **Princípios de ciência e engenharia de materiais**. 3ª Edição ed 1998: McGraw-Hill.

SOKOLNICKI, A. M., et al, Permeability of bacterial cellulose membranes. **Journal of Membrane Science**, 272: 15-27, 2006.

TADOKORO, H., SEKI, S., NITTA, I. Some information on the infrared absorption spectrum of polyvinyl alcohol from deuteration and pleochroism. **J Polym Sci**. v. 22, p. 563-566, 1956.

THOMAS PS, GUERBOIS JP, RUSSELL GF, BRISCOE, B.J. FTIR study of the thermal degradation of poly(vinyl alcohol). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 64, p. 501-508, 2001.

TROVATTI, E. et al. Bacterial cellulose membranes applied in topical and transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: In vitro diffusion studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 435, p.83–87, 2012.

VAIA, R. A.; GIANNELIS, E. **Polymer nanocomposites: status and opportunities**. Disponível em: <<http://www.mrs.org/publications/bulletin/>>. Acesso em 3 de maio de 2013.

VANDAMME, E.J., et al. Improved production of bacterial cellulose and its application potential. **Polymer Degradation and Stability**. v. 59, p. 93-99, 1998.

WANG, B. **Dispersion of cellulose nanofibers in biopolymer based nanocomposites**. Ph.D. Faculty of Forestry, University of Toronto, 145 p, 2008.

WILLIAMS, D. F. Tissue-biomaterial interactions. **Journal of Materials science**, v. 2, n.10, p. 3421-3445, 1987.

WU, S.C.; LIA, Y.K. Application of bacterial cellulose pellets in enzyme immobilization. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 54, p. 103-108, 2008.

YANG, H.; YAN, R.; CHEN, H.; LEE, D.H.; ZHENG, C. Characteristics of hemicelluloses, cellulose and lignin pyrolysis. **Energy Fuel**; v. 86, p. 1781 - 1788, 2007

YUN-SHENG, Y.E.; RICK, J.; HWANG, BING-JOE; Water Soluble Polymers as Proton Exchange Membranes for Fuel Cells. **Polym.**, v. 4, p. 913-963, 2012.

ZHANG, J. G.; ELDER, T. J.; PU, Y.Q. Facile synthesis of spherical cellulose nanoparticles. **Carbohydr Polym.**, v. 69, p. 607–611, 2007.

ZHANG, J.; JIANG, N.; DANG, Z. **Oxidation and sulfonation of celluloses**. Cellulose, v. 15, p. 489–496, 2008.

ZHAO, X.B., WANG, L., LIU, D.H. Technical Note Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. v. 83, p. 950-956, 2008.

ZHU, J.; et al. **Chem. Mater**, v. 13, p. 46-49, 2001.

ZIMMERMANN, T.; PÖHLER, E.; GEIGER, T. Fibrilas de celulose para Polymer Reforço. **Engenharia de Materiais Avançados** , v. 6, n. 9, p. 754-761, 2004.

ZULUAGA, R.; PUTAUX, J. L.; RESTREPO, A. Cellulose microfibrils from banana farming residues: Isolation and characterization. **Cellulose**, v. 14, p. 585–592, 2007.