

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

GISELE APARECIDA MOREIRA

**PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE
BACTERIANA A PARTIR DA G. XYLINUS**

BAURU
2012

GISELE APARECIDA MOREIRA

**PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE
BACTERIANA A PARTIR DA G. XYLINUS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências Exatas
e Sociais Aplicadas como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Química, sob orientação da
Profª Drª Márcia R. Morais Chaves

BAURU
2012

M838p

Moreira, Gisele Aparecida

Produção de nanofibras de celulose bacteriana a partir da *G. xylinus* / Gisele Aparecida Moreira -- 2012. 35f. : il.

Orientadora : Profa. Dra. Márcia R. Morais Chaves

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Sagrado Coração - Bauru - SP

1. Celulose bacteriana. 2. *Gluconacetobacter xylinus*. 3. Nanofibras. I. Chaves, Márcia R. Morais. II. Título.

GISELE APARECIDA MOREIRA

**PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA A
PARTIR DA G. XYLINUS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química sob orientação da Profª Drª Márcia R. Morais Chaves

Banca Examinadora:

Profª. Drª. Márcia R. Morais Chaves
Universidade do Sagrado Coração

Profº Ms. Carlos Henrique Conti
Universidade do Sagrado Coração

Profª. Drª. Ana Paula Cerino Coutinho
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 14 de dezembro de 2012.

Dedico este trabalho a uma pessoa muito especial em minha vida, meu Pai, que neste momento não pode mais compartilhar de minhas alegrias, meus sonhos, minhas frustrações e conquistas, mas ele sempre me ensinou o caminho correto a seguir e me fez entender que os obstáculos encontrados durante a minha caminhada serão muitos, mas com fé e perseverança nada se tornará impossível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à Professora Doutora Márcia R. Morais Chaves pela oportunidade, pelo incentivo, pelos conhecimentos adquiridos, pela paciência e dedicação durante a realização desse trabalho.

Aos pesquisadores da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (Botucatu) – Campus Lageado, em especial ao Prof^o Dr. Alcides L. Leão, por contribuir para a realização deste trabalho, disponibilizando os laboratórios e materiais necessários para que eu o desenvolvesse da melhor forma possível.

Aos meus mestres da Universidade Sagrado Coração, pelo carinho, ensinamentos e amizade.

À minha mãe Iracema pela compreensão e por me ensinar, com toda paciência do mundo, a importância de sermos felizes e nunca desistirmos dos sonhos.

Ao meu pai Maurício, que neste momento está ao lado do Senhor, mas que me proporcionou a oportunidade de fazer uma graduação e me ensinou coisas valiosas durante sua passagem pela Terra.

À minha irmã e ao meu irmão e familiares que me apoiaram em todas as minhas decisões e não me deixaram desistir mesmo nos momentos mais difíceis da minha vida.

À minha querida sobrinha Geovana que, com toda sua inocência me fazia rir e me distraía nos momentos tediosos e tensos de estudos.

Ao meu noivo e futuro esposo Sérgio Murilo, que desde o início me incentivou, me apoiou e me deu forças para superar cada obstáculo imposto durante este período de graduação.

As minhas grandes amigas Gabriela e Miriam que me acompanharam durante todo o período de graduação.

Enfim obrigada a TODOS que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho e para a minha formação como ser humano.

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. A produção de celulose bacteriana (CB) e suas aplicações são um exemplo destes estudos. A motivação para a execução desta pesquisa foi devido à nanocelulose ser um material muito versátil, de ampla aplicação em áreas médicas, odontológicas, materiais compósitos reforçados, cosmética, eletrônica, etc. A CB é produzida a partir da *Gluconacetobacter xylinus* e se difere de seu par vegetal, principalmente devido ao seu caráter de fibras nanométricas, contra o caráter micrométrico da vegetal. BCs são extraídas através da parede celular da *G xylinus*, com isso sua estrutura macroscópica é mecanicamente e fisicamente mais resistente, abrindo grandes oportunidades de aplicações tecnológicas e biológicas, muito além das obtidas pela celulose vegetal. O presente trabalho teve como finalidade produzir celulose bacteriana e, a partir dela, obter as nanofibras deste material através de hidrólise ácida utilizando ácido sulfúrico. Este tipo de tratamento é bastante utilizado na formação das nanofibras da CB e serve para quebrar as microfibras em nanofibras. Para a investigação dos resultados e possível confirmação da formação das nanofibras, foram realizadas várias caracterizações. As análises termogravimétricas, de infravermelho e microscopia eletrônica de varredura, foram realizadas utilizando apenas a celulose bacteriana e mostraram o comportamento térmico da celulose, os grupos funcionais característicos deste material e sua microestrutura. A microscopia de transmissão realizada após o tratamento ácido revelou a formação de um retículo tridimensional pelas nanofibras, comprovando a extração da nanocelulose.

Palavras-chave: Celulose Bacteriana. *Gluconacetobacter Xylinus*. Nanofibras.

ABSTRACT

The search for new materials takes into consideration factors such as the need for its use and sustainability. Currently studies have been conducted to create cleaner processes, using renewable feedstocks generating products not harmful to the environment without losing quality or performance. The production of bacterial cellulose (BC) and its applications are an example of these studies. The motivation for performing this study was due to nanocelulose be a very versatile material, with wide application in medical, dental, reinforced composites, cosmetics, electronics, etc.. The BC is produced from *Gluconacetobacter xylinus* and differs from its mate plant, mainly due to its character of nanoscale fibers, micrometer against the character of the vegetable. BCs are extracted through the cell wall of *G. xylinus* with macroscopic structure that is mechanically and physically tougher, opening great opportunities for technological and biological applications, far beyond those obtained by vegetable cellulose. This study aimed to produce bacterial cellulose, and from there, get the nanofibers this material by acid hydrolysis using sulfuric acid. This type of treatment is widely used in the formation of nanofibers from BC and serves to break the microfibrils into nanofibers. For research results and possible confirmation of the formation of nanofibers were several characterizations. The thermogravimetric analysis, infrared and scanning electron microscopy were performed using only the bacterial cellulose and showed the thermal behavior of cellulose, the functional groups characteristic of this material and its microstructure. The transmission microscopy performed after the acid treatment revealed the formation of a three dimensional lattice by nanofibers, confirming the extraction of nanocelulose.

Keywords: Bacterial Cellulose. *Gluconacetobacter Xylinus*. Nanofibers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Formação da cadeia de celulose pela união de unidades de β -D-glucose	11
FIGURA 2 - Estrutura linear da celulose	12
FIGURA 3 - Micrografias de celulose bacteriana (1) e vegetal (2) obtidas por microscópio eletrônico de transmissão (MET).....	14
FIGURA 4 - Esquema das ligações de hidrogênio intramoleculares na celulose bacteriana	15
FIGURA 5 - Grau de cristalinidade (X_c) de celuloses nativas.	15
FIGURA 6 - Aplicação de celulose bacteriana	16
FIGURA 7 - Modelo hipotético da rota metabólica para a biossíntese de celulose por <i>G. xylinus</i>	18
FIGURA 8 - 1ª cultura da <i>Gluconacetobacter Xylinus</i> mantida sob refrigeração	21
FIGURA 9 - Celulose bacteriana formada após 4 dias de incubação	22
FIGURA 10 - Purificação da Celulose Bacteriana	24
FIGURA 11- Processo de tratamento ácido da CB para obtenção das nanofibras .	26
FIGURA 12 - Celulose Bacteriana	28
FIGURA 13 - Microscopia Eletrônica de Varredura da membrana de CB	29
FIGURA 14 - TGA/DTG da Celulose Bacteriana	30
FIGURA 15 - FTIR da Celulose Bacteriana	30
FIGURA 16 - Microscopia Eletrônica de Transmissão – Nanofibras de Celulose Bacteriana	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVO	10
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1	CELULOSE	11
3.2	GLUCONACETOBACTER XYLINUM	13
3.2.1	Biossíntese da celulose bacteriana através da <i>G. xylinus</i>	16
3.3	NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA	18
3.3.1	Aplicações para as nanofibras de CB	18
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	PREPARAÇÃO DA 1ª CULTURA DA BACTÉRIA <i>G. XYLINUS</i>	21
4.2	PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	22
4.3	LAVAGEM E PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	23
4.4	CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE	24
4.4.1	Análise Morfológica feita Através de Microscopia Eletrônica de Varredura	24
4.4.2	Análise Termogravimétrica	25
4.4.3	Espectroscopia de Infravermelho	25
4.5	PREPARO DAS AMOSTRAS DE CELULOSE E EXTRAÇÃO DAS NANOFIBRAS	25
4.6	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1	LAVAGEM E PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	28
5.2	MORFOLOGIA DA MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA	28
5.3	ANÁLISE TÉRMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	29
5.4	ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO ..	30
5.5	OBTENÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE	31
5.6	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	31
6	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	34
	BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	37

1 INTRODUÇÃO

A busca por materiais alternativos como os biopolímeros vêm crescendo a cada dia, devido a crescente preocupação ambiental relativa à poluição causada pela utilização de produtos não renováveis (GOMES, 2011). Dentro deste contexto, entre os vários polímeros existentes, tem sido dada uma atenção especial àqueles com origem de materiais renováveis, onde se enquadra a celulose.

A celulose é o principal componente da parede celular das plantas e é normalmente obtida industrialmente a partir do processamento da madeira para a produção de pasta celulósica (KLEMM *et al.*, 2005), mas pode ser encontrada também sob diversas formas de vida como em plantas verdes, fungos, protozoários, e procariontes. (DONINI *et al.*, 2010).

Especificamente, a celulose bacteriana é produzida a partir de uma bactéria, podendo ser a *G. xylinus*, e se difere de seu par vegetal devido ao seu caráter de fibras nanométricas quanto as fibras microfibras da celulose vegetal, além disso, é considerada pura por não produzir lignina e hemicelulose. (JOZALA *et al.*, 2011).

A CB, como também é conhecida, é extraída da parede celular da bactéria que apresenta estruturas de múltiplas camadas bastante complexas. Sua síntese é um processo bastante oneroso, sendo a Uridina Difosfato-Glucose (UDPG) o precursor da celulose. (ROSS; MAYER; BENZIMAN, 1991).

Para obtenção das nanofibras de CB, utiliza-se a hidrólise ácida desta, sendo que este tipo de material é utilizado em diversas áreas, devido às suas características excepcionais. Estas nanofibras são fibras que têm dimensões laterais que variam de 3-30 nm e contém ambas as porções cristalinas e amorfas, assim chamados devido a suas características físicas de rigidez. (SILVA; D'ALMEIDA, 2009).

2 OBJETIVO

O principal objetivo deste trabalho foi produzir a celulose bacteriana a partir da *G. Xylinus* e, a partir desta, produzir as nanofibras deste material.

Desse modo, os objetivos específicos são:

- a) Produzir a Celulose Bacteriana a partir da *Gluconacetobacter Xylinus*;
- b) Purificar a celulose produzida com solução de 5% ou de 10% de NaOH (m/v);
- c) Produzir as Nanofibras de CB a partir de hidrólise ácida.
- d) Caracterizar as Nanofibras de CB por Microscopia Eletrônica de Transmissão.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CELULOSE

A celulose é o polímero orgânico presente em maior quantidade na face da Terra, representando $1,5 \times 10^{12}$ toneladas da produção anual de biomassa (MACHADO, 2004) e, de acordo com Pinto (2007), este tipo de material juntamente com seus derivados, são os principais materiais de exploração industrial (papel, nitro celulose, acetato de celulose, metil celulose, carboximetil celulose, indústria madeireira, como emulsificador, agente dispersante, agente gelificante, entre outras) com um investimento econômico considerável. A celulose é o principal constituinte da parede celular das plantas, além de sua matéria prima ser extremamente útil para a fabricação de produtos 'verdes' e biocompatíveis. A principal fonte para o processamento de celulose continua sendo a polpa de madeira, usada em sua maioria na produção de papel e papel cartão. (KLEMM *et al.*, 2005).

Por ser considerado um biopolímero de cadeias longas, a celulose ($C_6H_{10}O_5$) pode ser encontrada sob diversas formas de vida como em plantas verdes, fungos, protozoários, e procariontes; em relação à sua estrutura, é constituída por unidades de β -D-glicopirranose unidas por ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4), como mostra a Figura 1. (DONINI *et al.*, 2010; GOMES, 2011).

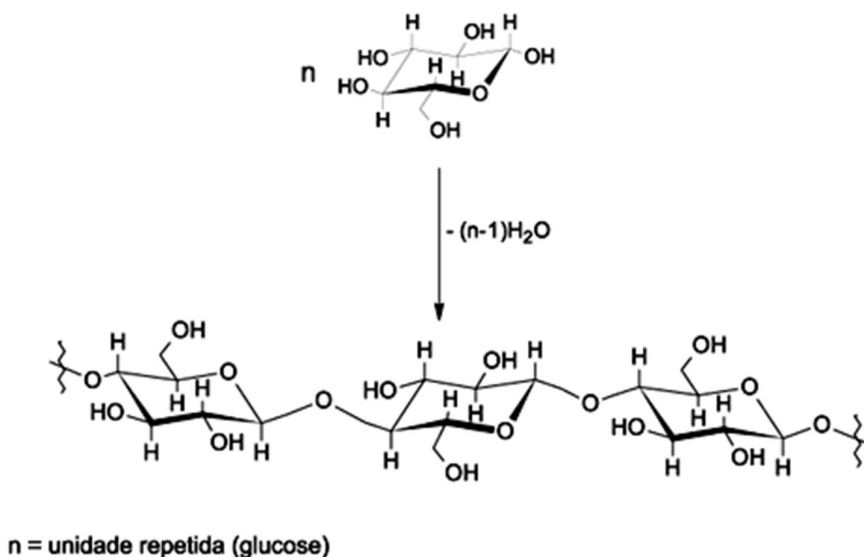


Figura 1 – Formação da cadeia de celulose pela união de unidades de β -D-glucose
 Fonte: Moraes, Nascimento e Melo (2005, p. 462)

O polímero linear de celulose é fortemente associado através das ligações de hidrogênio que são responsáveis pela formação das fibras de celulose. Moléculas de celulose formam ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares, como mostra a Figura 2, sendo que o primeiro tipo de interação é responsável pela rigidez da cadeia e o segundo pela formação da fibra vegetal. (DONINI *et al.*, 2010).

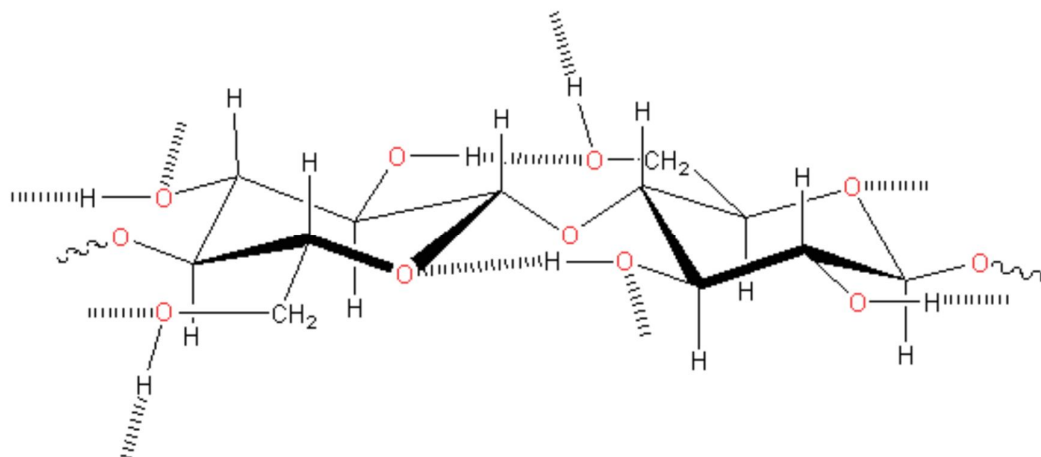


Figura 2 - Estrutura linear da celulose. As linhas pontilhadas esquematizam as ligações de hidrogênio possíveis.

Fonte: Barud (2006, p. 24).

Devido ao fato da celulose ser o principal componente da parede celular de plantas, ela contém impurezas como lignina, pectina e hemicelulose.

A celulose é um polímero que pode ser classificado em dois grupos: grupo da celulose complexa e o grupo da celulose pura (SHODA, 2005 citado por DONINI *et al.*, 2010). A celulose nativa conhecida como pura, relaciona-se às obtidas diretamente de seu estado natural, por exemplo, algodão, celulose bacteriana e celulose produzida por algumas algas. A segunda forma nativa é a das celuloses complexas, que inclui a maior parte da celulose presente na natureza, como componente fundamental da parede celular das plantas superiores. (MACHADO, 2004).

De acordo com Ross, Mayer e Benziman (1991), a celulose bacteriana é um tipo de polissacarídeo extracelular excretado por várias bactérias, particularmente pela *Acetobacter xylinus*, como longas nanofibras. A celulose é um homopolímero linear natural da glicose $(C_6H_{10}O_5)_n$, com n variando de 500 a 5000. Este polímero é altamente cristalino, o que o distingue da celulose vegetal. Quando se faz uma comparação entre os diferentes tipos de celulose, estudos comprovam que a estrutura física da biocelulose (celulose bacteriana) é semelhante à celulose

produzida pelas plantas, entretanto a biocelulose possui alta pureza química, ou seja, não produz lignina e hemicelulose e, além disto, a celulose bacteriana possui alta cristalinidade e boa resistência à tração, elasticidade, durabilidade, elevada capacidade de absorção e retenção de água. É biodegradável e biocompatível, não tóxica e não alergênica. (JOZALA *et al.*, 2011).

A celulose bacteriana é um biopolímero bastante promissor, sendo um dos biomateriais mais prósperos para diversas áreas de aplicação, especialmente para aplicações em medicina reparadora. Pode ser obtida através de rotas de biossíntese por meio de bactérias de alguns gêneros como: *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes* e a forma de obtenção desta, a torna livre de impurezas além de diminuir o custo final do produto. (SHODA, 2005 citado por DONINI *et al.*, 2010).

3.2 GLUCONACETOBACER XYLINUS

A *Gluconacetobacter xylinus* é uma bactéria Gram-negativa, ou seja, a parede da célula é constituída por estruturas de múltiplas camadas bastante complexas, está composta por uma camada de peptidoglicano e três outros componentes que a envolvem externamente; lipoproteína, membrana externa e lipopolissacarídeo, tornando sua parede celular menos espessa. (BOSSOLAN, 2002). Este tipo de bactéria realiza a oxidação incompleta de diversos açúcares e alcoóis, além de converter diversos compostos de carbono (hexoses, glicerol, diidroxiacetona, piruvato e ácidos carboxílicos) em celulose, geralmente com 50% de eficiência. (BOSSOLAN, 2002).

A síntese de celulose bacteriana através da *G. xylinus* é um processo preciso e específico regulado por uma série de etapas, envolvendo um grande número de enzimas e complexos de proteínas catalíticas e regulatórias. Este processo inclui a síntese de Uridina Difosfato-Glucose (UDPG), que é o precursor da celulose, seguido da polimerização de glicose em cadeias β -1,4-glucanas e associação destas cadeias nascentes em estruturas supramoleculares características (de fitas), formadas por centenas, ou até milhares, de cadeias individuais de glicose, que dependem do organismo produtor de celulose. (BIELECKI, 2005 citado por SALVI, 2010).

A celulose bacteriana (CB) produzida pela *Gluconacetobacter xylinus* representa um polímero natural inovador por conseguir combinar eficientemente as importantes e bem conhecidas qualidades da celulose com as características únicas dos nanomateriais. (SALVI, 2010). É um biopolímero fascinante e sustentável, caracterizado por uma combinação específica de propriedades interessantes, tais como:

- Alta Pureza
- Fibrilas Finas (com elevada área superficial)
- Alta resistência mecânica
- Grande capacidade de retenção de água.

A distinta morfologia das fibras de celulose assegura sua função biológica e garante as inúmeras aplicações. Na figura 3 estão ilustradas as diferenças entre as fibras de celulose bacteriana e vegetal.

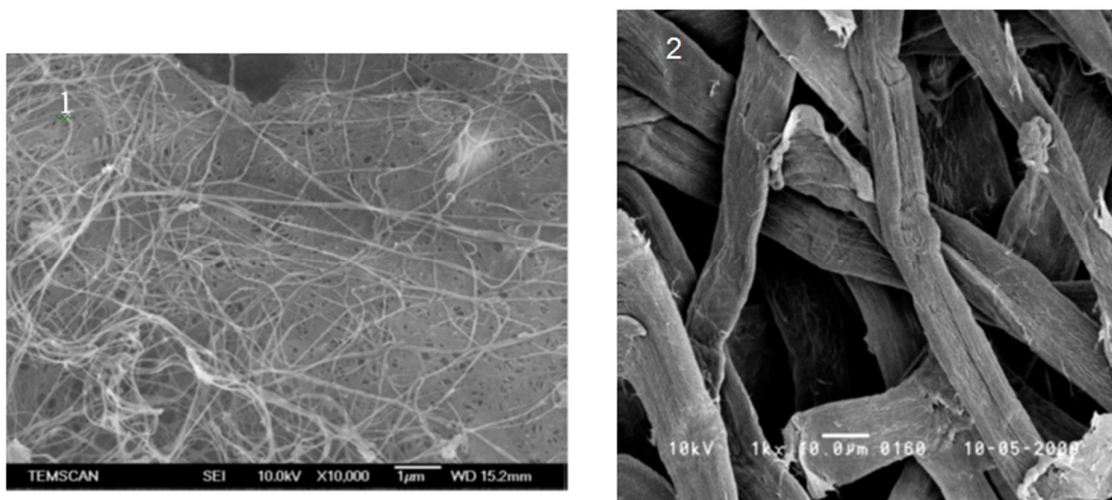


Figura 3 – Micrografias de celulose bacteriana (1) e vegetal (2) obtidas por microscópio eletrônico de transmissão (MET).

Fonte: Donini *et al.* (2010, p. 166)

Os grupos hidroxilas livres presentes nas moléculas de celulose podem formar ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Por meios dessas ligações de hidrogênio, os arranjos cristalinos são formados e, são geralmente imperfeitos a longas distancias. Deste modo, a celulose se apresenta como fibras compostas de regiões ordenadas (cristalinas) e desordenadas (não-cristalinas). A predominância de cada região varia de acordo com a origem da celulose. (PINTO, 2007).

Na celulose bacteriana, por exemplo, as unidades glucosídeas adjacentes são unidas por fortes ligações de hidrogênio intramoleculares, como ilustra a Figura 4.

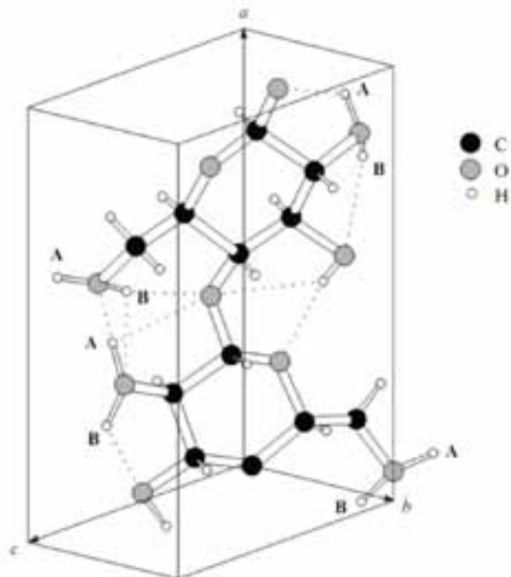


Figura 4 – esquema das ligações de hidrogênio intramoleculares na celulose bacteriana.
Fonte: Salvi (2010, p.31).

A figura 5 apresenta valores de cristalinidade para algumas fontes de celulose nativa.

Fonte de Celulose	X_c (%)
Celulose de Algas	> 80
Celulose Bacteriana	65 - 79
Linters de Algodão	56 - 65
Rami	44 - 47
Polpa Dissolida	43 - 56

Figura 5 - Grau de cristalinidade (X_c) de celuloses nativas.
Fonte: Salvi (2010, p 32).

A celulose bacteriana por ser diferente da celulose vegetal em algumas características, como em sua microestrutura, apresenta excelentes propriedades mecânicas sendo utilizada em diversas áreas industriais (Figura 6). Também, devido ao fato de ser bastante higroscópica, a CB desempenha um papel relevante nas

áreas químicas, físicas e tecnológicas, pelo fato de que, seus grupos hidroxila interagem com moléculas de água, mas não são dissolvidos em água por apresentar uma estrutura supramolecular organizada. (KLEMM *et al*, 1998).

ÁREA	APLICAÇÃO
Cosméticos	Estabilizador de emulsões como cremes tônicos, condicionadores, polidores de unhas.
Indústria Têxtil	Roupas para esportes, tendas e equipamentos de camping.
Mineração e Refinaria	Esponjas para coleta de vazamento de óleo, materiais para absorção de toxinas.
Tratamento de lixo	Reciclagem de minerais e óleos.
Purificação de esgotos	Purificação de esgotos urbanos, ultrafiltração de água
Comunicações	Diafragmas para microfones e fones estéreos.
Indústria de Alimentos	Celulose comestível (“nata de coco”).
Indústria de Papel	Substituição artificial de madeira, papéis especiais.
Medicina	Pele artificial temporária para queimaduras e úlceras, componentes de implantes dentários.
Laboratórios	Imobilização de proteínas de células, técnicas cromatográficas, meio para cultura de tecidos.
Eletrônica	Materiais opto-eletrônicos (telas de cristal líquido).
Energia	Membranas célula combustível (paládio).

Figura 6 - Aplicação de celulose bacteriana
Fonte: Barud (2006).

3.1.1 Biossíntese da celulose bacteriana através da *G. Xylinius*

A biossíntese da celulose bacteriana depende de duas vias anfibólicas importantes, a via das pentoses e o ciclo de Krebs. (ROSS; MAYER; BENZIMAN, 1991). A via das pentoses participa da oxidação dos carboidratos e, no ciclo de

Krebs, ocorre a oxidação dos ácidos orgânicos. A *G. xylinus* é incapaz de metabolizar a glicose anaerobicamente devido à carência da fosfofrutoquinase-1, enzima responsável pela catálise da reação de fosforilação da frutose-6-fosfato a frutose-1,6-difosfato, o que inviabiliza a glicólise. Assim, a síntese da celulose em *G. xylinus* resulta de um *pool* metabólico de hexose fosfato que é sustentada diretamente pela fosforilação de hexoses exógenas e indiretamente pela via das pentoses e gliconeogênese. A conversão da hexose fosfato em celulose é direta, não dependendo, necessariamente, de clivagens intermediárias do esqueleto carbônico. (ROSS; MAYER; BENZIMAN, 1991).

A síntese de celulose por *G. xylinus* se dá a partir da glicose transportada do meio externo para o citoplasma da bactéria ou de fontes internas. A conversão da glicose transportada do meio externo para o citoplasma bacteriano é catalisada por quatro enzimas, sendo elas: Glicoquinase, que é a enzima responsável pela fosforilação do carbono 6 da glicose, a Fosfoglicomutase que catalisa a reação de isomerização da glicose-6-fosfato para glicose-1- fosfato, a UDPG - pirofosforilase (glicose – 1 - fosfato uridililtransferase) que sintetiza a UDP - glicose (UDPG) e a Celulose Sintase (CS) que produz a celulose a partir de UDP-glicose (SWISSA *et al.*, 1980). A reação de síntese de CB constitui um processo oneroso para a célula, consumindo cerca de 10% do ATP gerado no metabolismo bacteriano. Assim, a energia empregada para a síntese da CB é proveniente do metabolismo aeróbio. (CHÀVEZ-PACHECO *et al.*, 2004, citado por DONINI *et al.*, 2010).

A Figura 7 ilustra um modelo hipotético da rota metabólica para a biossíntese de celulose por *G. xylinus*.

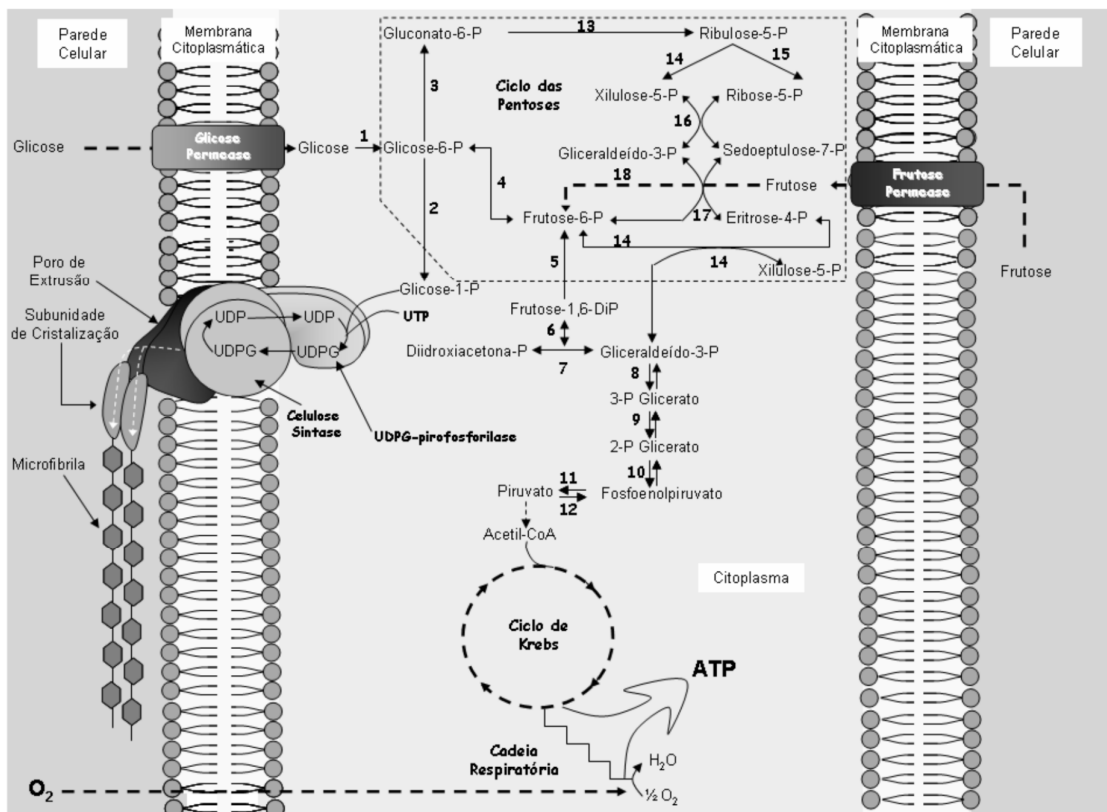


Figura 7 - Modelo hipotético da rota metabólica para a biossíntese de celulose por *G. xylinus*

Fonte: Donini *et al.* (2010, p. 166)

Nota: Glicoquinase ATP (1); Fosfoglicomutase (2); Glicose 6-fosfato desidrogenase (3); Fosfoglicoisomerase (4); Frutoquinase ATP (5); Aldalase (6); Triose fosfato isomerase (7); Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (8); Fosfogliceratomutase (9); Enolase (10); Piruvatoquinase (11); Piruvato difosfato quinase (12); 6-fosfogliconato desidrogenase (13); Fosforribulose epimerase (14); Fosforribulose isomerase (15); Transacetolase (16); Transaldolase (17); Frutoquinase (18); Piruvato desidrogenase (19).

3.2 NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA

As nanofibras de celulose são fibras com tamanho nanométrico que variam de 3 a 30 nm e contêm ambas as porções cristalinas e amorfas, assim chamados devido a suas características físicas de rigidez, de espessura e de comprimento. (SILVA; D'ALMEIDA, 2009). Estes materiais são uma forma fibrosa de celulose que têm dimensões laterais que variam 3-30 nm e é obtida através de vários tratamentos, como descreve a literatura.

A obtenção das nanofibras de CB é resultado da hidrólise ácida da celulose, assim, é necessário isolar as fibras de celulose para depois proceder com a hidrólise.

A hidrólise ácida de celulose (vegetal ou bacteriana) tem a função de quebrar as microfibras em nanofibras onde, os íons hidrônio atacam as regiões amorfas dessas, de menor densidade e maior área de contato devido a desorganização das nanofibras causando uma clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas, liberando a nanoestrutura. O ácido sulfúrico é comumente utilizado, mas pode-se realizar este procedimento utilizando o ácido clorídrico.

A vantagem de se utilizar o ácido sulfúrico na hidrólise, é que ele gera uma solução coloidal estável, provocada pela repulsão eletrostática entre as nanofibras, causada pela carga superficial negativa obtida da substituição dos grupos hidroxila por grupos sulfatos, após hidrólise. Já o ácido clorídrico não provoca o mesmo efeito, isto é, carregar a superfície das nanofibras.

Com ácido sulfúrico as nanofibras não precipitam nem floculam. Fatores como o ácido utilizado, a concentração do ácido, tempo de hidrólise e temperatura podem determinar o tamanho das nanopartículas, o rendimento e a qualidade da solução das nanofibras (EICHHORN, 2010; PEREIRA, 2010), além disso, de acordo com Silva e D'Almeida (2009) devido a diferentes procedências e condições de processos de isolamento, embora constituídos por moléculas de celulose, as nanofibras podem apresentar particularidades em seu desempenho como partícula de reforço em compósitos.

3.2.1 Aplicações para as nanofibras de CB

O interesse por este tipo de matéria prima, as nanofibras de celulose, proveniente de fontes renováveis, como a celulose bacteriana, tem crescido principalmente por causa das características excepcionais desses materiais, dos benefícios ambientais e do baixo custo. (ROSA *et al.*, 2009).

Vários estudos são feitos em diversas áreas utilizando este material como base para o desenvolvimento de diversos produtos com características específicas. O preenchimento para reforço em materiais compósitos é uma das aplicações mais testadas por vários autores, visando compósitos mais leves, mais resistentes e biodegradáveis. Outras aplicações são: síntese de materiais com nanoporos uniformes, onde as nanofibras seriam misturadas com material resistente a altas temperaturas e depois de mineralizados são incinerados, deixando nanoporos,

aumentando a superfície; papel condutor para fabricação de dispositivos eletrônicos (capacitores, transistores, indutores) e papel inteligente (sensores, dispositivos de comunicação, campos eletromagnéticos); filmes utilizados como embalagens para alimentos e produtos farmacêuticos, como barreira contra umidade e oxigênio; filmes ópticos transparentes, para embalagens translúcidas, e para telas de aparelhos eletrônicos, como celulares e computadores. (HUBBE *et al.*, 2008).

Os nanocristais (e nanofibras) também exibem diferentes comportamentos em solução. Podem estar igualmente dispersos numa solução coloidal estável, ou agregados formando feixes ou malhas. Os hidrogéis são redes macromoleculares capazes de absorver e liberar a água de uma forma reversível, em resposta a estímulos ambientais específicos. Essas redes podem reter moléculas maiores entre os espaços criados por interações físicas e químicas, desse modo, tanto servem de peneiras moleculares como "soluções sólidas". Estes podem ser utilizados para a criação de dispositivos "inteligentes", aplicáveis em uma variedade de campos tecnológicos. Além disso, o hidrogel pode ser utilizado como absorventes de água para aplicações específicas, como por exemplo, produtos de higiene pessoal, ou como dispositivos biomédicos, incluindo lentes de contato gelatinosas, revestimentos de superfície lubrificantes, dispositivos de liberação controlada de drogas, curativos, imobilização de células e substratos de cultura celular tridimensional. (PEREIRA, 2010).

Além destas aplicações, diversos materiais à base de fosfato de cálcio como a CB/HAp (celulose bacteriana/hidroxapatita) também vêm sendo bastante estudados nos últimos anos principalmente para aplicações tecnológicas na área de saúde voltada ao uso clínico. (WAN *et al.*, 2007).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos desta pesquisa foram realizados na Universidade Estadual Paulista - Campus Lageado, na cidade de Botucatu- SP, utilizando-se a bactéria *Gluconacetobacter Xylinus* fornecida pelo Laboratório de Microbiologia sob responsabilidade do Prof^o Dr. Alcides L. Leão.

4.1 PREPARAÇÃO DA 1ª CULTURA DA BACTÉRIA G. XYLINUS

A preparação da 1ª cultura da bactéria foi realizada em ambiente totalmente esterilizado e posteriormente acondicionada em temperatura de 30° C por um período de 24 horas. Após este período, a 1ª cultura da bactéria foi mantida sob refrigeração. O meio de cultura utilizado foi o comercial (Alaban), que contém a seguinte composição: 20% (m/v) de sacarose (ou 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.

Para cada 100 ml do meio foi adicionado uma alçada da bactéria que estava mantida sob refrigeração em placa de petri.

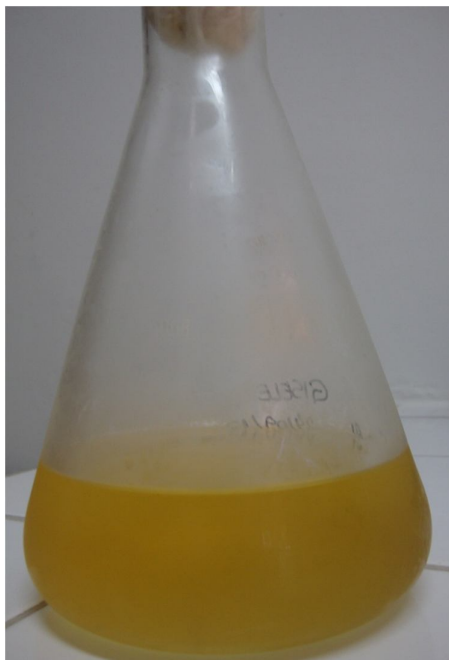


Figura 8 – 1ª cultura da *Gluconacetobacter Xylinus* mantida sob refrigeração
Fonte: Elaborado pela autora.

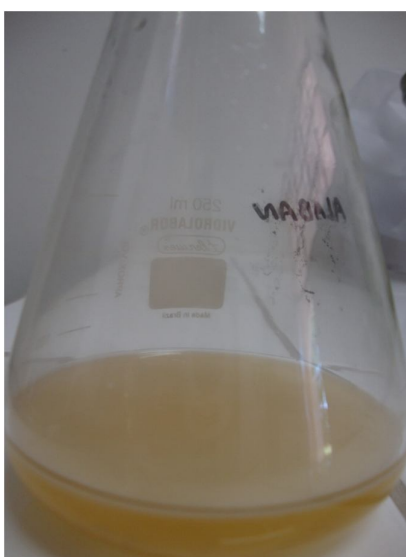
4.2 PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

A produção de CB, sintetizada pela bactéria *Gluconacetobacter xylinus*, ocorreu em meio de cultura Alaban (comercial) a 30° C por um tempo determinado de 3 a 6 dias, sob condições estáticas em erlenmeyer de 200 mL, onde foi adicionado, para cada 100 mL do meio de cultura, 5% da 1ª cultura da bactéria.

As Figuras 9 (a) e (b) mostram a celulose bacteriana formada na camada superior, após 4 dias de inoculação.



(a)



(b)

Figura 9 – Celulose bacteriana formada após 4 dias de incubação. (a) visão geral e (b) detalhe do frasco.

Fonte: Elaborado pela autora.

4.3 LAVAGEM E PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

Para realizar a lavagem da celulose bacteriana, após três a seis dias de inoculação, as membranas de CB foram retiradas dos respectivos Erlenmeyers e lavadas com uma solução de 5% ou 10% (m/v) de hidróxido de sódio sob aquecimento em uma temperatura de aproximadamente 80°C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido de três a 8 vezes (se necessário), até que se obtivesse uma celulose de coloração branca. Posteriormente realizou-se lavagens adicionais com água da torneira, até neutralizar o pH, e com água destilada para remoção dos sais. As membranas de celulose já purificadas foram acondicionadas em recipientes contendo apenas água destilada para futura utilização.

As figuras 10 (a) e 10 (b), mostram respectivamente as membranas de celulose sendo lavada em solução de NaOH, neste caso, com concentração de 5% e, a celulose bacteriana sob diversas fases de purificação.



(a)



(b)

Figura 10 – Purificação da Celulose Bacteriana. (a) Celulose Bacteriana sendo lavada em solução de NaOH 5%, com temperatura constante de 80 °C; (b) Celulose Bacteriana sob diversas fases de purificação.

Fonte: Elaborado pela autora.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE

Para a caracterização da membrana de celulose foram feitas análise de morfologia em equipamento de microscopia eletrônica de varredura, termogravimetria, determinada através de um equipamento TG/DTA, e de composição química feita através de espectroscopia de infravermelho.

4.4.1 Análise Morfológica feita Através de Microscopia Eletrônica de Varredura

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. (SOUZA, 1996 citado por PEREIRA, 2010).

A morfologia da fibra analisada por microscopia eletrônica de varredura foi feita em um microscópio eletrônico da Universidade Estadual Paulista – UNESP de Botucatu, com a respectiva marca e voltagem: MEV Quanta 200 (FEI Company); voltagem de 10-12 kV. Para a realização desta análise, utilizou-se uma amostra previamente metalizada (recobrimento de cobre).

4.4.2 Análise Termogravimétrica

Na análise termogravimétrica que, de acordo com Wendhausen, P. A. P fornece informações características sobre o comportamento de materiais diante de um aumento progressivo de temperatura e 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, foi utilizado um equipamento TG/DTA Universal Analysis, cujas condições de análises foram:

Atmosfera de arraste: nitrogênio;

Fluxo gás arraste: 40 mL/min

Taxa de aquecimento: 10°C/min;

Intervalo de temperatura: ambiente até 600°C.

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 na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

4.4.3 Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (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 na Central Analítica do Instituto de Química da USP em equipamento Bomem MB-100, com resolução de 4 cm⁻¹ e 24 scans.

4.5 PREPARO DAS AMOSTRAS DE CELULOSE E EXTRAÇÃO DAS NANOFIBRAS

Para produzir as nanofibras de celulose bacteriana, inicialmente a celulose foi parcialmente secada por um período aproximado de 2 horas (apenas para a remoção da maior parte da água) e, posteriormente tratada com uma solução de ácido sulfúrico 50% (v/v) sob aquecimento com temperatura controlada em 45 °C por 2 horas e 10 minutos, segundo metodologia descrita por Orts *et al.* (2005) e

adaptada pela autora. Após a hidrólise, a solução foi colocada em centrífuga em rotação de 12000 rpm por 10 minutos para precipitar as nanofibras. O líquido foi retirado e o produto de fundo foi lavado com água deionizada até a neutralidade do pH.

As figuras 11 (a), (b) e (c), mostram respectivamente o processo de tratamento ácido da celulose bacteriana com ácido, no início, após 1 hora e ao final do tratamento.



(a)



(b)



(c)

Figura 11 – Processo de tratamento ácido da CB para obtenção das nanofibras. (a) início do tratamento da CB com ácido. (b) CB sendo tratada com ácido após 1 hora. (c) CB ao final do tratamento com ácido.
Fonte: Elaborado pela autora.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE

As nanofibras de celulose foram analisadas através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), que permite visualizar as dimensões, a forma e a disposição das nanofibras de celulose. O equipamento utilizado na realização deste procedimento foi o MET CM100 (Philips) com voltagem de 80 kV. Para esta análise, após o tratamento ácido e posterior centrifugação, foi realizado o preparo da amostra descrito a seguir:

A amostra de nanocelulose foi diluída em água para uma concentração de 0,5% em peso. Para examinar sua morfologia, uma gotícula de suspensão foi colocada sobre uma grade revestida de Cu com filme de carbono, deixando-se secar a 70 °C, durante 10 min. Para melhorar o contraste na Microscopia Eletrônica de Transmissão, a nanocelulose foi corada em uma solução de 3% de acetato de uranila durante 3 minutos, para aumentar o contraste e, conseqüentemente, aumentar a definição da imagem e secou-se a 70 °C, durante 10 min. Após a secagem da amostra, foi realizada a caracterização, utilizando o microscópio eletrônico de transmissão do Laboratório de microscopia da UNESP - Botucatu.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 LAVAGEM E PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

No processo de lavagem da celulose bacteriana, observou-se que, a celulose lavada em solução de NaOH 5% demorou um pouco mais de tempo para ser purificada e obter a coloração desejada. O procedimento descrito acima teve que ser repetido de 5 a 8 vezes. Já em comparação com a celulose lavada com a solução de NaOH 10%, esta teve que ser lavada apenas 4 vezes, obtendo assim a celulose purificada em um tempo reduzido. Nas duas concentrações de NaOH utilizadas, os resultados finais foram idênticos, com a celulose totalmente purificada.

As Figuras 12 (a) e (b) mostram a celulose antes e após a lavagem e purificação.

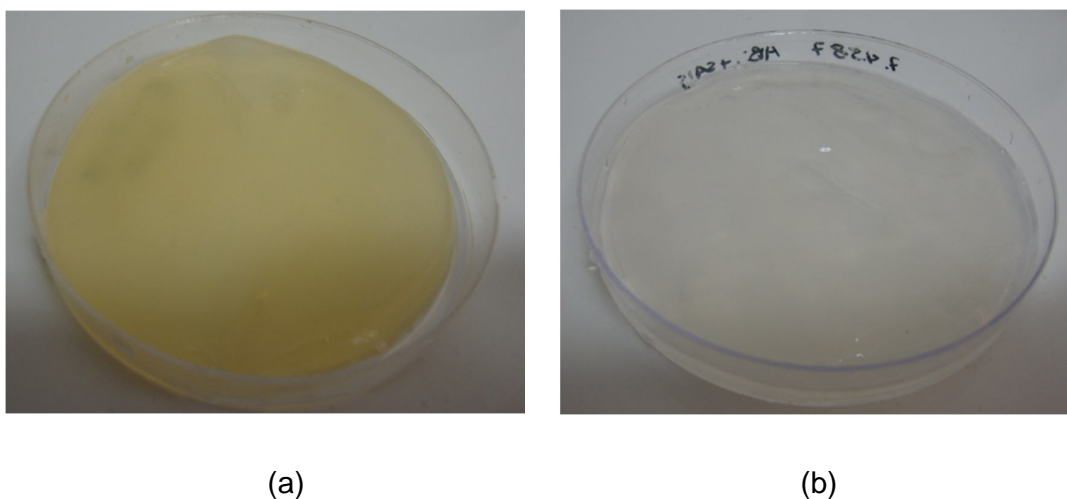


Figura 12 – Celulose Bacteriana. (a) Celulose Bacteriana sem ser lavada e purificada. (b) Celulose Bacteriana após lavagem e purificação.

Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 MORFOLOGIA DA MEMBRANA DE CELULOSE BACTERIANA

A organização morfológica da celulose bacteriana é definida por fibras que são formadas pela junção das microfibrilas. As microfibrilas possuem dimensões maiores que 30 nm. A análise morfológica da CB obtida por MEV (Figura 13) mostra que as fibras de CB têm um alto entrelaçamento sem direção preferencial, com estrutura fibrilar em que os poros estão compactados.

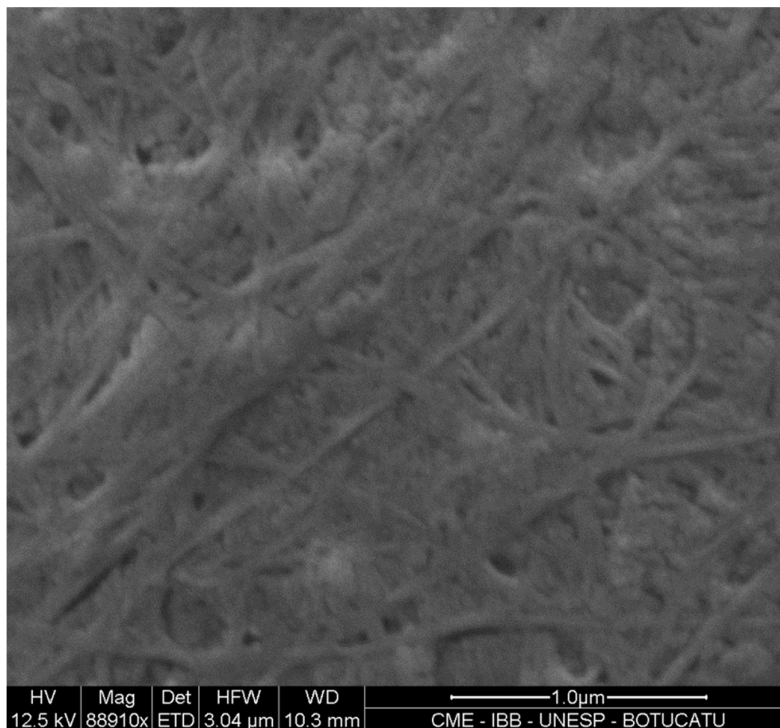


Figura 13: Microscopia Eletrônica de Varredura da membrana de CB.
Fonte: Elaborado pela autora.

5.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

O comportamento termogravimétrico da CB seca (Figura 14) foi típico de celulose, com degradação térmica ocorrendo no intervalo de temperatura de 250°C e 400 °C, com máxima degradação em 333°C. Pode-se observar que a base do pico, de forma não simétrica, indica a presença de degradação de impurezas com temperatura ligeiramente inferior a da celulose, podendo assumir que o processo de purificação não foi completamente satisfatório devido a possível presença de sais de NaOH ou de alguma impureza presente no frasco de armazenamento.

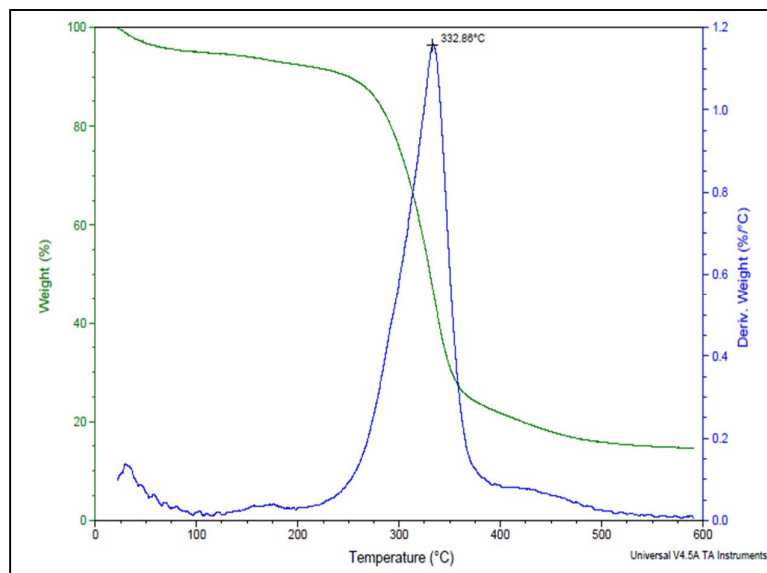


Figura 14: TGA/DTG da Celulose Bacteriana
Fonte: Elaborado pela autora.

5.4 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

O espectro de infravermelho (FTIR) da CB foi característico de celulose. É identificada na Figura 15 a presença de alguns grupos funcionais característicos da molécula de celulose, como no pico de número 1 que apresenta uma banda de absorção que varia entre 3400-3650 cm^{-1} referente à deformação da ligação OH (alcoóis) e o pico de número 2, que apresenta uma banda de absorção que varia entre 1050-1150 cm^{-1} referente à deformação da ligação C-O.

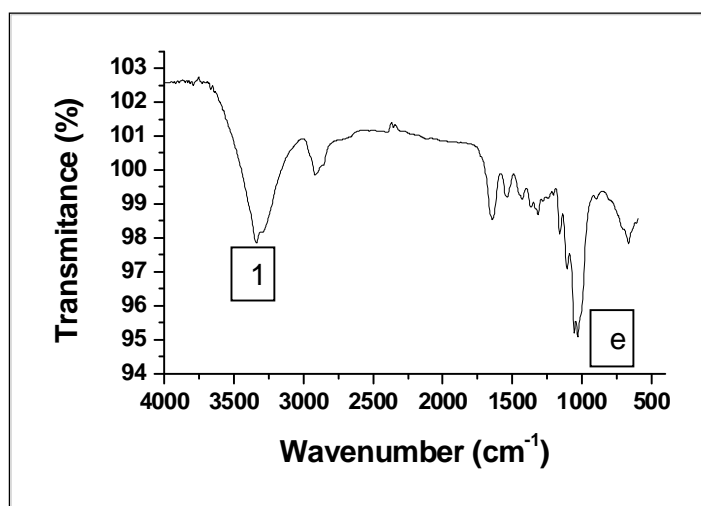


Figura 15: FTIR da Celulose Bacteriana
Fonte: Elaborado pela autora.

5.5 OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE

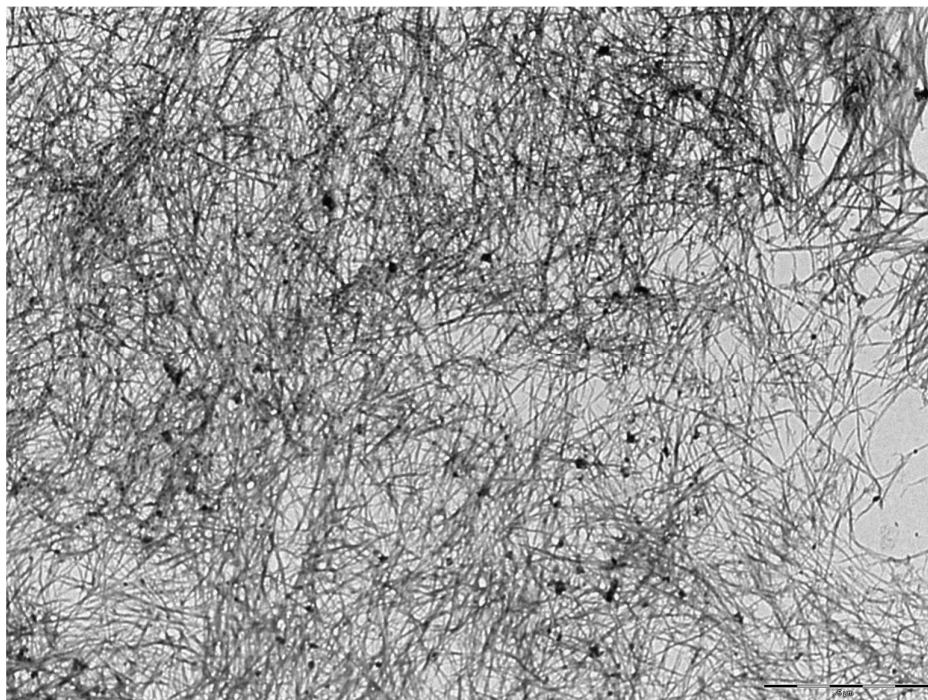
Nas primeiras tentativas, realizou-se o procedimento de hidrólise ácida utilizando-se a membrana hidratada e não se obteve um resultado favorável na produção das nanofibras de CB. Em outra tentativa, a hidrólise ácida das membranas parcialmente secas com solução de ácido sulfúrico 64% em 80 °C, levou à completa dissolução da celulose. Com a mesma concentração de ácido, porém com a temperatura de 50 °C, durante 45 minutos, a BC ficou completamente degradada.

Então se optou por diminuir a concentração do ácido sulfúrico para 50%, mantendo-se a temperatura em 50 °C durante 130 minutos. Este procedimento levou à hidrólise das fibras de celulose à nanofibras, como apresentada pela Figura 16.

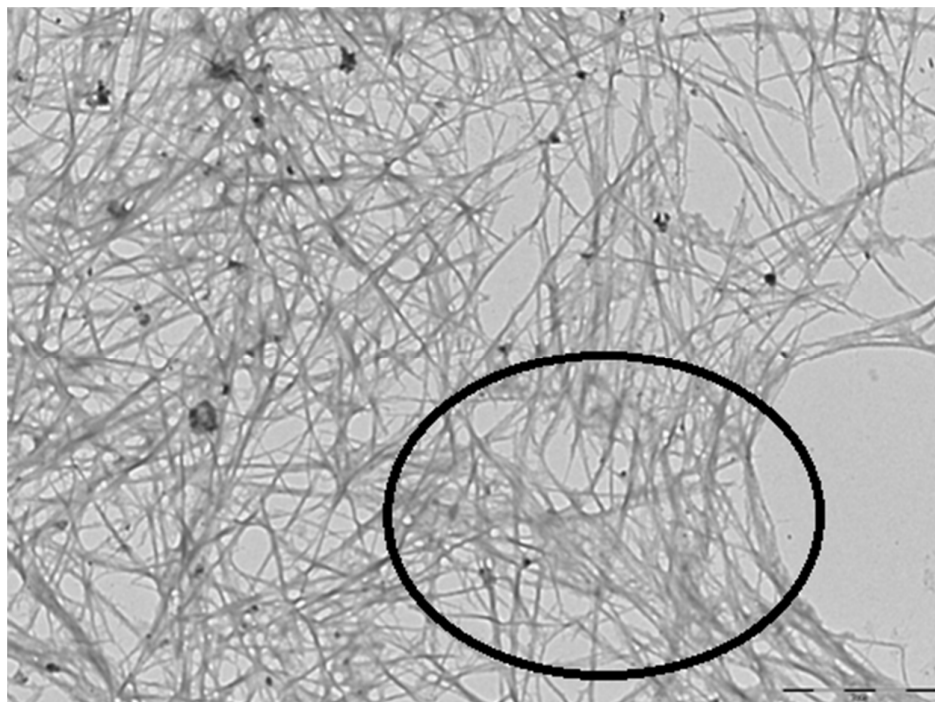
Após adaptações da literatura e várias outras tentativas, os resultados começaram a ser favoráveis, sem problemas para obter o material desejado.

5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

A análise de microscopia eletrônica de transmissão demonstrou que foram obtidas as nanofibras de CB com a aparência de um reticulado tridimensional, com fibras menos entrelaçadas e com dimensões laterais menores que as microfibras de CB antes do tratamento ácido (Figura 16 (a) e (b)). Apesar de obter nanofibras de celulose, o processo de hidrólise não foi perfeito, visto que ainda aparecem domínios da membrana original (figura 16 b), sendo necessário um aperfeiçoamento do método de obtenção.



(a)



(b)

Figura 16: Microscopia Eletrônica de Transmissão - Nanofibras de Celulose Bacteriana – (a) 6 μm ; (b) 8 μm .

Fonte: Elaborado pela autora.

6 CONCLUSÃO

A produção da celulose bacteriana a partir da bactéria *Gluconacetobacter xylinus* foi realizada a partir do meio de cultura comercial Alaban, sob condições controladas de temperatura e por tempo determinado, obtendo assim resultados positivos com relação ao produto final. A celulose obtida foi então analisada em equipamento de microscopia de varredura que somente comprovou sua organização morfológica que se apresentou em forma de fibras entrelaçadas sem direção preferencial, formadas pela junção das microfibrilas, além da análise termogravimétrica e de infravermelho que analisaram a perda de massa da celulose e os grupos funcionais característicos deste material.

Após a lavagem e purificação da celulose bacteriana e tratamento da matéria prima com ácido sulfúrico, foi obtido as nanofibras de CB. A caracterização por microscopia eletrônica de transmissão, demonstrou que a hidrólise da membrana tratada gerou as nanofibras, que interligadas, formaram uma rede tridimensional.

REFERÊNCIAS

BARUD, H. S. **Preparo e caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana**. 2006. 114 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/biq/33004030072P8/2006/barud_hs_me_araiq.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2012.

BOSSOLAN, N. R. S. **Introdução à microbiologia**. São Carlos: Instituto de Física de São Carlos. 64 p. Apostila.

DONINI, I. A. N. *et al.* Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética Química**, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/eq/v35n4/21.pdf>>. Acesso em: 17 ago. 2012.

EICHHORN, S. J. Cellulose nanowhiskers: promising materials for advanced applications. **The Royal Society of Chemistry**, Londres, v. 7, p. 303-315, jul. 2011.

GOMES, F. P. A. **Biossíntese de Celulose Bacteriana a partir de Resíduos Industriais**. 2011. 65 f. Dissertação (Mestre em Biotecnologia Alimentar). Universidade de Aveiro, Aveiro, 2011. Disponível em: <<http://ria.ua.pt/bitstream/10773/8054/1/246712.pdf>>. Acesso em: 17 ago. 2012.

HUBBE, A. M. *et al.* Cellulosic nanocomposites: a review. **BioResources**, 2008. Disponível em: <http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_03_3_0929_Hubbe_RLS_Cellulosic_Nanocomposites_Rev/274>. Acesso em: 16 ago. 2012.

JOZALA, A. F. *et al.* Produção de celulose bacteriana: uma nova tendência. **Ciência in Foco**, Campinas, p. 14-17, jan. 2011.

KLEMM, D. *et al.* **Comprehensive cellulose chemistry: fundamentals and analytical methods**. Weinheim: Wiley, 1998. v. 1.

MACHADO, G. O. **Preparação e Caracterização de Eletrólitos Sólidos Poliméricos a partir dos Derivados de Celulose: Hidroxietilcelulose e Hidroxipropilcelulose**. 2004. 127 f. Dissertação (Doutorado em Ciências e Engenharia dos Materiais). Interunidades Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/88/.../tde.../GilmaraMachado.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2012.

MORAES, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de pinus oocarpa parte 1 – estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Sociedade de Investigações Florestais**, v. 29, n. 3, p. 461-470, maio 2005.

ORTS, W. J. *et al.* Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 13, n. 4, out. 2005.

PEREIRA, A. L. S. **Extração de Nanocelulose de Fibras Vegetais**. 2010. 46 f. Dissertação (Graduação em Engenharia Química). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010. Disponível em: < http://www.eq.ufc.br/TFC/TFC_2010_Pereira.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2012.

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. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/biq/33004030072P8/2007/pinto_er_p_me_araiq.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2012.

ROSA, M. F. *et al.*, Nanocompósitos de borracha natural reforçados com nanowhiskers de fibra de coco imaturo. **Rede AgroNono**, set. 2009. Disponível em: < <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/573813/1/AT09006.pdf> >. Acesso em: 21 ago. 2012.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Microbiological Reviews**, mar. 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372800/>>. Acesso em: 20 ago. 2012.

SALVI, D. T. B. **Membranas Condutoras Iônicas de Celulose Bacteriana**. 2010. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química). Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/biq/33004030072P8/2010/salvi_dt_b_me_araiq.pdf >. Acesso em: 21 ago 2012.

SILVA, D. J; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. **O Papel**, São Paulo, v.70, n. 7. p. 34-52, jul 2009.

SWISSA, M. *et al.* Intermediary steps in acetobacter xylinum cellulose synthesis: studies with whole cells and cell-free preparations of the wild type and a celluloseless mutant. **Journal of Bacteriology**, set. 1980. Disponível em: <jb.asm.org/content/143/3/1142.full.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2012.

WAN, Y. Z. *et al.* Biomimetic synthesis of hidroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. **Materials Science & Engineering**, v. 27, p. 855-864, 2007.

WENDHAUSEN, P. A. P. **Análises térmicas**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 47 p. Apostila.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

SHORI, A. *et al.* Bacterial cellulose/silica nanocomposites: preparation and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 413-418, 2012.

BIELECKI, S. *et al.* **Bacterial cellulose**. [S.l.]: Wiley, 2005. Disponível em: <http://www.wiley-vch.de/books/biopoly/pdf_v05/bpol5003_37_46.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2012.

CASTRO, C. *et al.* Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of gluconacetobacter genus. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 1033-1037, 2012.

CHAWLA P.R. *et al.* Fermentative production of microbial cellulose. **Food Technol. Biotechnol**, 2009. Disponível em: <hrcak.srce.hr/file/59853>. Acesso em: 16 ago. 2012.

COSTA, A. C. F. M. *et al.* Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, nov. 2009. Disponível em: <<http://www.dema.ufcg.edu.br/revista/index.php/REMAP/article/viewFile/105/123>>. Acesso em: 18 ago. 2012.

DAHMAN, Y.; OKTEM, T. Optically transparent nanocomposites reinforced with modified biocellulose nanofibers. **Journal of Applied Polymer Science**, mar. 2012. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.36756/full>>. Acesso em: 20 ago. 2012.

GUO, J.; CATCHMARK, J.M. Surface area and porosity of acid hydrolyzed cellulose nanowhiskers and cellulose produced by gluconacetobacter xylinus. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1026-1037, 2012.

SHI, Q. *et al.* The osteogenesis of bacterial cellulose scaffold loaded with bone morphogenetic protein-2. **Biomaterials**, v. 33, p. 6644-6649, 2012.

YANG, L.; ZHANG, H.; LU, D. Bacterial cellulose–poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels prepared by chemical crosslinking. **Journal of Applied Polymer Science**, abr. 2012. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.36854/full>>. Acesso em: 15 ago. 2012.