

## **PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO DA CRISTALINIDADE DE BIOPOLÍMEROS DE CELULOSE BACTERIANA: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE SECAGEM.**

AIRES, Raiane Souza<sup>1C</sup>; OLIVEIRA, Paulo Henrique Marrocos de<sup>2C</sup>; **SANTOS, Gabriela Rodrigues dos**<sup>3C</sup>; SOUZA, Karina Carvalho<sup>4C</sup>; VINHAS, Glória Maria<sup>5D</sup>:

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Química (UFPE), Recife, Pernambuco, raianesouzaires@gmail.com; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Química (UFPE), Recife, Pernambuco, phmarrocos@gmail.com; <sup>3</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Química (UFPE), Recife, Pernambuco, gabisantos.k@hotmail.com; <sup>4</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química (UFRPE), Recife, Pernambuco, Karinacar\_souza@hotmail.com; <sup>5</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Química (UFPE), Recife, Pernambuco, gmvinhas@yahoo.com.br.

### **RESUMO**

A celulose bacteriana é uma promissora matéria prima para substituição da celulose vegetal, uma vez que aquela é mais pura que a segunda e biocompatível. Tendo em vista sua vasta aplicação e grande valia para ciência dos materiais, o presente trabalho teve como principal objetivo a produção de biopolímeros, utilizando a bactéria *Komagataeibacter rhaeticus*, bem como, fazer uma análise comparativa com relação a sua cristalinidade em função da temperatura de secagem. Os biopolímeros foram secos em temperaturas: -2°C, 25°C e 60°C e posterior análises de Difração de Raios-X (DRX). Ao final dessa etapa, observou-se que a membrana submetida à maior temperatura apresentou maior grau de cristalinidade e, com isso, maior rigidez. Contudo, a escolha de um determinado método de secagem dependerá da aplicação que se deseja para a celulose bacteriana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biopolímeros, Cristalinidade e Temperatura.

### **1. INTRODUÇÃO**

A celulose é o biopolímero mais abundante no mundo, com grande importância econômica e uma produção estimada de 10<sup>14</sup> toneladas por ano. Quanto à origem, é possível distinguir a celulose vegetal e a bacteriana, sendo a segunda considerada quimicamente pura em relação à primeira, que se encontra geralmente associada à lignina e à hemicelulose. Apesar de possuir a mesma fórmula química que a celulose vegetal, a celulose bacteriana (CB) apresenta propriedades distintas. Isso se deve às dimensões nanométricas de suas fibras, que conferem alta resistência mecânica e à tração, além da possibilidade de inserção de materiais, como por exemplo a hidroxiapatita e o colágeno em regeneração óssea guiada e nanotubos de carbono, para obtenção de compósitos.<sup>4, 7, 13</sup>

A produção de celulose por via microbiana possibilita a produção de diferentes formações estruturais da celulose, a depender da variação dos componentes nutricionais e condições de cultivo, além do processo de recuperação.<sup>1, 9</sup> Dentre algumas cepas que produzem celulose durante seu crescimento celular, destaca-se a espécie *Komagataeibacter rhaeticus*, que é capaz de produzir celulose a partir de fontes de carbono como glicose, etanol, glicerol, frutose e sacarose hidrolisada.<sup>6</sup> Um meio adequado para a produção de celulose por essa espécie é o meio de Hestrin, que utiliza glicose como fonte de carbono e extrato de levedura e peptona como fontes de nitrogênio. Sendo assim, a composição nutricional irá depender da aplicação tecnológica.<sup>12</sup>

Diante disso, o presente trabalho tem como principal objetivo produzir, recuperar e avaliar a influenciada da temperatura de secagem em membranas de celulose bacteriana crescidas em meio Hestrin pela bactéria *Komagataeibacter rhaeticus*.

### **2. METODOLOGIA**

#### **2.1 Produção e secagem dos biopolímeros**

O inóculo foi preparado em frasco de Erlenmeyer (500 mL), contendo 200 mL de meio Hestrin (Glicose 30 g L<sup>-1</sup>, Peptona 5 g L<sup>-1</sup>, Extrato de levedura 5 g L<sup>-1</sup>, Fosfato dissódico 5,1 g L<sup>-1</sup>, Ácido cítrico 1,15 g L<sup>-1</sup> e Água destilada). Para o meio produzido (inóculo), foram transferidas três alçadas de bactérias (*Komagataeibacter rhaeticus* previamente crescidas em meio sólido) e finalmente incubado por 3 dias a 30°C.

Para produção dos polímeros, foram preparados 1,5 L de meio Hestrin, que foram distribuídos em 3 garrafas roux (400ml de meio em cada garrafa). As garrafas contendo os meios de cultura foram esterilizadas em autoclave vertical da marca Prismatec e modelo CS durante 15 min a 121°C e 1 atm. Do inóculo previamente preparado, 10% (40mL) foi transferido para cada uma das 3 garrafas roux, as quais foram incubadas por um período de 30 dias. Por fim, as membranas formadas foram coletadas por filtração e tratadas com 200 mL de solução de NaOH (0,1M) em banho maria a 80°C por 20 minutos. Cada biopolímero foi lavado com água destilada e encaminhado para secagem em diferentes temperaturas (T-2°C, T25°C e T60°C). Após seco, cada polímero, foi posto em dessecador para armazenamento e estabilização de sua massa (por pesagem).

### 2.3 Difractometria de Raios X (DRX)

Para identificação das fases cristalinas das membranas de celulose, realizou-se a técnica de difratometria de raios x. Onde os filmes foram analisados no Instituto Tecnológico de Pernambuco – ITEP, por um difratômetro Rigaku com tubo de cobre em 40 kVe 20 mA na escala de 2θ com intervalo de 5° a 55° com velocidade de varredura de 0,5°/min. O modelo (Equação 1) foi utilizado para calcular o percentual de celulose cristalina (%C) baseando-se na diferença entre os picos de maior e menor intensidade, que correspondem, respectivamente, aos picos cristalinos (I<sub>c</sub>) e amorfos (I<sub>a</sub>).

$$\%C = \frac{I_c - I_a}{I_c} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Recuperação de Celulose

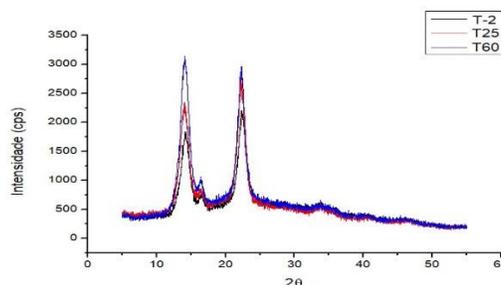
As membranas de celulose obtidas no meio estudado, podem ser visualizadas nas Figuras 1A (Temperatura de secagem: 25°C), 1B (Temperatura de secagem: -2°C), e 1C (Temperatura de secagem: 60°C) e suas condições de secagem. Após a secagem, os polímeros A, B e C obtiveram, respectivamente, massas de 2,215g, 2,117g e 2,569g.



**Figura 1.** Condições de secagem para os polímeros. 1A (Temperatura de secagem: 25°C), 1B (Temperatura de secagem: -2°C), e 1C (Temperatura de secagem: 60°C).

### 3.2 Difração de Raios-X (DRX)

A celulose bacteriana é um biopolímero semicristalino, de forma que duas fases cristalinas estão presentes em sua estrutura: I<sub>α</sub> e I<sub>β</sub>, referentes às estruturas triclinica e monoclinica, respectivamente.<sup>10</sup> Para confirmação dessa estrutura, os difratogramas de raios X das películas de CB obtidas neste estudo estão ilustradas na Figura 2.



**Figura 2.** Difratogramas das membranas submetidas a diferentes temperaturas de secagem.

A análise da Figura 1 acima permite verificar a existência de picos de difração  $2\theta$  em  $14,2^\circ$ ,  $16,5^\circ$  e  $22,3^\circ$ , apresentando concordância com os picos característicos da celulose bacteriana, que são associados à distância existente entre os planos cristalográficos das fases da estrutura cristalina. Além disso, verificam-se difratogramas com picos largos, por se tratar de um material semicristalino. Como as películas passaram pelo processo de secagem a temperaturas distintas, há variação nas intensidades dos picos, gerando graus de cristalinidade diferentes.<sup>2,11</sup>

Com o auxílio do software Origin, são verificados os valores de intensidade dos picos presentes na Figura 2, que aplicados à Equação 1 fornecem os graus de cristalinidade 79,8%, 79,4% e 72,4% das membranas de celulose bacteriana secas a  $60^\circ\text{C}$ ,  $25^\circ\text{C}$  e  $-2^\circ\text{C}$ , respectivamente.

De acordo com a literatura, a CB apresenta alto grau de cristalinidade, situado entre cerca de 70 e 90%, de forma que os graus de cristalinidade alcançados confirmam essa faixa. A mais alta cristalinidade foi apresentada pela membrana seca a  $60^\circ\text{C}$ , uma vez que temperaturas mais altas permitem uma maior redução da quantidade de água, elevando a rigidez da película de CB como resultado da estrutura mais densa que se forma. A CB que foi submetida à temperatura ambiente apresentou grau de cristalinidade próximo, de forma que a depender das aplicações desejadas a secagem a  $25^\circ\text{C}$  já seria suficiente para fornecer películas com cristalinidade próxima da obtida a  $60^\circ\text{C}$ , sem necessitar de investimentos para secagem em forno. A membrana de celulose bacteriana que foi submetida a secagem por meio de resfriamento ( $-2^\circ\text{C}$ ) demonstrou ser um material menos cristalino, o que, no entanto, não limita suas aplicações.<sup>5, 8,11.</sup>

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Ao final do estudo, a membrana seca a  $60^\circ\text{C}$  demonstrou maior grau de cristalinidade, já que temperaturas de secagem mais altas possibilitam uma maior redução da quantidade de água, o que aumenta a rigidez da película como resultado da estrutura mais densa que se forma. Portanto, a depender da aplicação que se deseja para a CB, pode ser utilizado um determinado método de secagem em detrimento de outro, devendo ser ponderadas variáveis como custo para realizar a secagem e rigidez ou elasticidade necessárias para a finalidade em questão. Além disso, um importante fator na secagem a  $-2^\circ\text{C}$  refere-se aos menores índices de contaminação aos quais os polímeros são expostos.

#### **5. REFERÊNCIAS**

1. A.F. JOZALA; R.A.N. PÉRTILE; C.A. SANTOS; E.V.C. SANTOS; M.M. SECKLER; F.M. GAMA. *Applied microbiology and biotechnology*. 2015, 99, 1181.
2. A. Vazquez; M.L. Forest; P. Cerruti; M. Galvano. *Journal Polymer Environment*. 2013, 1-10.
3. D. R. Ruka; G. P. Simon; K. M. Dean. *Carbohydr.Polymer*. 2012, 89, 613-622.
4. E.B. Duarte. Tese de doutorado. Universidade Federal do Ceará Fortaleza, 2014.
5. E. Trovatti; L. S. Serafim; C. S. R. Freire; A. J. D. Silvestre; C. P. Neto. *Carbohydr. Polym.* 2011, 86, 1417-1420.
6. F. Dellaglio; I. Cleenwerck; G.E. Felis; K. Engelbeen; D. Janssens; M. Marzotto. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55, 2365–2370.
7. I.A.N. Donini; D.T.B. Salvi; F.K. Fukumoto; W.R. Lustrí; H.S. Barude; R. Marchetto; Y. Messaddeq; S.J.L. Ribeiro, *Eclat, Quím.* 2010, 35, 165-178.
8. M. Ul-Slam; S. Khan; M.W. Ullah; J.K. Park. *Biotechnology Journal*. 2015, 47-61.
9. P. R. Chawla; I. B.Bajaj; S. A. Survase; R. S. Singhal. *Food Technol. Biotechnol.* 2009, 4, 107-124.
10. R.H. Atalla; D.L. Vanderhart, *Science*. 1984, 223:283-285.
11. R.T.A. Machado; J. Gutierrez; A. Tercjak; E. Trovatti; F.G.M. Uahib; G.P. Moreno; A.P. Nascimento; A.A. Berreta; S.J.L. Ribeiro; H.S. Barud. *Carbohydr Polym.* 2016, 152, 841-849.
12. S. HESTRIN. M. SCHRAMM. *Biochemical Journal*. 1954, 58, 345-352.
13. S. Saska; H. S. Barud; A. M. M. Gaspar; R. Marchetto; S. J. L. Ribeiro; Y. Messaddeq. *Internation Journal of Biomaterials*. 2011, 2011.



**4º. Encontro Nordeste de Ciência e Tecnologia de Polímeros  
27 e 28 de Setembro de 2018, Aracaju SE  
Local: Universidade Tiradentes - UNIT**