



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**BETÂNIA DE PINHO VERAS PEREIRA**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE CELULOSE  
BACTERIANA, GOMA DO ANGICO E SEUS QUATERNIZADOS**

**PARNAÍBA  
2019**

**BETÂNIA DE PINHO VERAS PEREIRA**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE CELULOSE  
BACTERIANA, GOMA DO ANGICO E SEUS QUATERNIZADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

**Linha de Pesquisa:** Química e Bioquímica

**Orientador:** Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva

**PARNAÍBA**

**2019**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba  
Serviço de Processamento Técnico

P436p Pereira, Betânia de Pinho Veras.

Produção e caracterização de filmes à base de celulose bacteriana, goma do angico e seus quaternizados [recurso eletrônico] / Betânia de Pinho Veras Pereira. – 2019.

1 Arquivo em PDF.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2019.

Orientação: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Durcilene Alves da Silva.

Linha de Pesquisa: Química e Bioquímica.

1. Goma do angico. 2. Quaternização. 3. Filmes poliméricos. 4. Biotecnologia. I. Título.

CDD: 660.6

**BETÂNIA DE PINHO VERAS PEREIRA**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE CELULOSE BACTERIANA, GOMA DO ANGICO E SEUS QUATERNIZADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva  
Universidade Federal do Piauí-(Orientador)

---

Prof. Dr. Jefferson Soares de Oliveira  
Universidade Federal do Piauí

---

Profa. Dra. Márcia Valéria Silva Lima  
Instituto Federal do Piauí

**Dedico a Deus, por ter me concedido força e proteção para conseguir realizar este trabalho, a Meus Professores que contribuíram para que eu chegasse até aqui e à Minha Família, por todo o apoio incondicional.**

**“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”**

**Eclesiastes 3:1**

## **AGRADECIMENTO**

A Deus, por ter me garantido força e proteção, diante das dificuldades que apareceram no meu caminho, pela perseverança nos momentos que precisei e por ter colocado tantas pessoas ao meu lado que me ajudaram nos momentos mais difíceis. À minha orientadora Durcilene Alves da Silva, pela paciência e contribuições dedicadas a mim. Ao professor Hernane S. Barud, por ter cedido a celulose bacteriana utilizada no desenvolvimento desta pesquisa. Aos professores Márcia Valéria e Jefferson pelas contribuições prestadas a este trabalho. Aos profissionais e colegas de laboratório (Biotec/UFPI) pela ajuda prestada durante a realização deste trabalho, em especial Fábio, Alyne, Rai Emanuel, Suzane, Taiane, Manoel, Rodrigo e Flaviane. À minha Família, pela paciência, por me apoiarem e sempre acreditarem em mim.

## RESUMO

A celulose bacteriana é um polissacarídeo produzido por diversas bactérias, principalmente do gênero *Gluconacetobacter*, na forma de um hidrogel secretada extracelularmente sob a forma de uma rede de nanofibras. A goma do angico é um polissacarídeo natural obtido na forma de exsudato do tronco do angico vermelho (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul) é um heteropolissacarídeo composto por 67% de arabinose, 24% de galactose, 2% de ramnose e 7% de ácido glucurônico. A modificação na estrutura dos polissacarídeos vem sendo bastante explorada visando à obtenção de materiais que apresentem características físicas e químicas diferenciadas, podendo também melhorar suas potencialidades tecnológicas. A quaternização de polímeros é um processo de modificação que pode acarretar o ganho de propriedades, tornando o material modificado um candidato viável para o desenvolvimento de biomateriais e dispositivos biotecnológicos. O presente trabalho tem o objetivo de produzir filmes poliméricos utilizando celulose bacteriana, goma do angico e seus modificados utilizando o Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio-CHPTAC. Os resultados obtidos através da Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho mostrou a formação de uma banda na região de  $1478\text{ cm}^{-1}$  e outra em  $1407\text{ cm}^{-1}$  que correspondem ao processo de modificação com substituintes de amônio quaternário, as análises de Potencial Zeta mostraram uma mudança de carga, indicando a inserção de grupamentos de amônio quaternário. Os filmes produzidos por *casting* foram caracterizados por medida de espessura, índice de intumescimento, teor de umidade, microscopia de força atômica e atividade antibacteriana. Os filmes apresentaram espessuras de 0,103 a 0,111mm, não apresentaram variações significativas quanto à umidade. Os filmes CB-GA e CB-GAQ apresentaram maiores índices de intumescimento. O filme CB-GAQ apresentou atividade antibacteriana contra a Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), realizado através do teste de difusão e a avaliação dos filmes após o teste por MFA mostrou a formação de aglomerados da bactéria no filme CB-GA.

**Palavras-Chave:** Filmes poliméricos, modificação, polímeros, quaternização.

## ABSTRACT

Bacterial cellulose is a polysaccharide produced by several bacteria, mainly of the genus *Gluconacetobacter*, in the form of a hydrogel secreted extracellularly in the form of a network of nanofibers. Angico gum is a natural polysaccharide obtained in the form of exudate from the stem of red angico (*Anadenanthera colubrina* var. *Cebil* (Griseb.) Altschul) is a heteropolysaccharide composed of 67% arabinose, 24% galactose, 2% rhamnose and 7% glucuronic acid. The modification in the structure of the polysaccharides has been extensively explored in order to obtain materials that have different physical and chemical characteristics, and may also improve their technological potential. Quaternization of polymers is a modification process that can result in the gain of properties, making the modified material a viable candidate for the development of biomaterials and biotechnological devices. The present work has the objective of producing polymeric films using bacterial cellulose, angico gum and its modified ones using (3-Chloro-2-hydroxypropyl) trimethylammonium-CHPTAC. The results obtained through Vibrational Spectroscopy in the Infrared Region showed the formation of a band in the region of 1478  $\text{cm}^{-1}$  and another in 1407  $\text{cm}^{-1}$  that correspond to the modification process with quaternary ammonium substituents, the Zeta Potential analyzes showed a load change, indicating the insertion of quaternary ammonium groups. The films produced by casting were characterized by thickness measurement, swelling index, moisture content, atomic force microscopy and antibacterial activity. The films presented thicknesses from 0.103 to 0.111 mm, with no significant variations in humidity. The CB-GA and CB-GAQ films showed higher swelling rates. The CB-GAQ film showed antibacterial activity against Gram-positive *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), carried out through the diffusion test and the evaluation of the films after the MFA test showed the formation of bacterial clusters in the CB-GA film.

**Key words:** Polymeric films, modification, polymers, quaternization.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Unidades de glicose presentes em uma molécula de celulose.....	16
<b>Figura 2</b>	Celulose bacteriana obtidas por diferentes processo .....	18
<b>Figura 3</b>	Goma do angico isolada e purificada.....	21
<b>Figura 4</b>	Processo de teste de difusão em ágar.....	32
<b>Figura 5</b>	Processo de quaternização da celulose bacteriana.....	33
<b>Figura 6</b>	Processo de quaternização da goma do angico.....	34
<b>Figura 7</b>	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho da CB e CBQ.....	35
<b>Figura 8</b>	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho da GA e GAQ.....	36
<b>Figura 9</b>	Filme com celulose bacteriana e goma do angico quaternizada.....	38
<b>Figura 10</b>	Imagens da Microscopia de força atômica.....	40
<b>Figura 11</b>	Rugosidade média dos filmes.....	41
<b>Figura 12</b>	Teor de umidade dos filmes.....	43
<b>Figura 13</b>	Índice de intumescimento dos filmes.....	44
<b>Figura 14</b>	Teste de difusão.....	45
<b>Figura 15</b>	Microscopia de força atômica do filme CB-GA e CB-GAQ testada contra <i>S. aureus</i> .....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Composição das soluções filmogênicas.....	29
<b>Tabela 2</b> Potencial Zeta dos polímeros e seus modificados.....	37
<b>Tabela 3</b> Espessura dos filmes produzidos.....	42

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

**CB**-Celulose Bacteriana

**CBQ**-Celulose Bacteriana Quaternizada

**GA**-Goma do Angico

**GAQ**-Goma do Angico Quaternizada

**CB-GA**-Celulose Bacteriana-Goma do Angico

**CB-GAQ**-Celulose Bacteriana-Goma do Angico Quaternizada

**PVA**-Álcool polivinílico

**TEOS**-tetraetoxisilano

**PZ**- Potencial Zeta

**MFA**-Microscopia de Força Atômica

**FTIR**-Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

**CHPTAC**-Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio

**NaOH**-Hidróxido de Sódio

**HCl**-Ácido Clorídrico

**EPM**-Erro Padrão da Média

**RM**-Rugosidade Média

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>15</b>
2.1 Celulose .....	15
2.2 Celulose Bacteriana (CB) .....	16
2.3 Goma do Angico .....	20
2.4 Modificações de polissacarídeos.....	21
2.4.1 Modificações da Celulose .....	21
2.4.2 Modificações da Goma do Angico .....	23
2.5 Filmes poliméricos.....	24
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
3.1 Objetivo geral .....	26
3.2 Objetivos específicos .....	26
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
4.1 Materiais e reagente .....	27
4.2 Isolamento e purificação da Goma do Angico.....	27
4.3 Reação de Quaternização da celulose bacteriana.....	27
4.4 Reação de Quaternização da goma do angico.....	28
4.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	28
4.6 Potencial Zeta .....	28
4.7 Produção dos filmes.....	29
4.8 Caracterização dos filmes .....	29
4.8.1 Microscopia de Força Atômica (MFA) .....	29
4.8.2 Espessura .....	30
4.8.3 Umidade.....	30
4.8.4 Intumescimento.....	30
4.8.5 Teste de Difusão em ágar.....	31
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
5.1 Quaternização da Celulose Bacteriana .....	33
5.2 Quaternização da goma do angico .....	34
5.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	34
5.4 Potencial Zeta .....	37
5.5 Produção dos filmes.....	38

5.5.1 Microscopia de Força Atômica-(MFA) .....	39
5.5.2 Espessura .....	41
5.5.3 Umidade.....	42
5.5.4 Intumescimento.....	43
5.5.5 Teste de Difusão em ágar.....	45
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A celulose é o biopolímero mais abundante de ocorrência natural. As fontes mais comuns de celulose são os vegetais, podendo ser encontrada em outros organismos, tais como algas e tunicatas, e também em várias espécies de bactérias (KHANDELWAL; WINDLE, 2013). Como por exemplo, pode ser sintetizada por algumas bactérias do gênero *Gluconacetobacter* (GODINHO et al., 2016).

A celulose bacteriana é secretada extracelularmente sob a forma de uma rede de nanofibras, randomicamente distribuídas, que estão interligadas e formam uma estrutura tridimensional. Muitos estudos relatam uma diversidade de aplicações para a nanocelulose bacteriana (ZHIJIANG; YANG, 2011). Tem sido empregada em vários setores como em aplicações em indústrias têxteis e de cosméticos, bem como em itens alimentares, e possui uma excelente capacidade para aplicações na área da saúde (JOZALA et al., 2016).

Este material possui propriedades físico-químicas muito interessantes para aplicações na área biomédica em uma diversidade de materiais, propriedades tais como capacidade de retenção de água, resistência à tração e rigidez, cristalinidade, porosidade, formação de uma rede de nanofibras, afinidade biológica e a possibilidade de ser modelada em diferentes estruturas tridimensionais por meio de seu modo de cultivo (YAN *et al.*, 2008).

Outro polímero natural que apresenta aplicações biotecnológicas é a goma do angico, que é um heteropolissacarídeo ramificado de baixa viscosidade obtido na forma de exsudato do tronco do angico vermelho (*Anadenanthera colubrina var. cebil* (Griseb.) Altschul (PAULA et al., 1997; SILVA et al., 2013).

Tem sido demonstrado considerável interesse no desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis devido ao seu potencial de aplicação nos setores alimentício, agrícola e pela sua capacidade de biodegradabilidade (ELIZONDO et al., 2009). Vários polissacarídeos são empregados como bons formadores de filmes biodegradáveis, como quitosana, amidos, alginatos, pectinas, gomas e derivados da celulose (GARCÍA et al., 2004).

Mesmo a celulose apresentando tantas propriedades interessantes é relatado que ela pode sofrer modificações e obter características físicas e químicas diferenciadas, podendo também melhorar suas potencialidades tecnológicas, isto é possível devido à reatividade hidrofílica da celulose (HUBBE et al., 2008). Além disso, o processo de modificação permite que os materiais possam ganhar novas funcionalidades (LAVOINE et al., 2014; MISSOUM et al., 2014; HOKKANEN et al., 2015; ZHU et al., 2015; ZHANG et al., 2016).

A modificação dos polissacarídeos se apresenta como uma ferramenta importante para a obtenção de novos agentes antimicrobianos (COUTINHO, et al., 2008). Tem sido sugerido que os derivados dos polissacarídeos são biologicamente ativos, atribuindo isso a seus grupos hidroxila que permitem à introdução de novos grupos substituintes como -SH, -COOH, -CO e -NH<sub>2</sub> (CHEN et al., 2014; KLEMM et al., 2009; ).

Uma alternativa para a busca de materiais com potencial aplicação como antibacteriano são produzidos por modificações de diversos materiais poliméricos com compostos de amônio quaternário que apresenta uma potente atividade antimicrobiana e é demonstrado ser efetivo contra algumas bactérias, incluindo estirpes resistentes a diversos fármacos (MUÑOZ-BONILLA; FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2012, JIAO et al., 2017, HU; WANG, 2016).

Os compostos de amônio quaternário apresentam características como alta variabilidade, baixo custo e excelente atividade antimicrobiana, tem despertado bastante interesse, pois modificações com estes compostos podem promover a diminuição da resistência bacteriana (HUANG et al., 2018). Um dos reagentes que pode ser utilizado para modificações de polímeros que buscam a inserção de grupos de amônio quaternário é o cloreto de N-(3-cloro-2-hidroxipropil) trimetilamônio (BANERJEE et al., 2013).

Numerosos agentes antimicrobianos são atualmente utilizados para prevenir o crescimento de microrganismos indesejados. Porém, o uso extensivo destes agentes pode acarretar poluição ambiental, danos à saúde pública e promovem o desenvolvimento de mecanismos de resistência bacteriana, resultando na formação de espécies resistentes a diversas drogas (MAGIORAKOS et al., 2012).

A *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) é classificada como bacilo Gram negativo, sendo o mais importante patógeno humano no gênero *Pseudomonas*, sendo resistente a diversos antimicrobianos de uso habitual comporta-se como um patógeno oportunista em indivíduos com comprometimento imunológico (MADIGAN et al., 2010).

A espécie *Staphylococcus aureus* é um patógeno oportunista relacionado a severas infecções cutâneas e de tecidos moles, além de infecções hospitalares, devido principalmente à sua habilidade em adquirir resistência aos antibióticos (YU et al., 2015).

Diante disso, o presente trabalho pretende produzir filmes poliméricos utilizando a celulose bacteriana, a goma do angico e suas formulações após o processo de quaternização, realizando a caracterização dos filmes e testando a capacidade de atuar como agente antimicrobiano contra as espécies de bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Celulose

A celulose é o biopolímero de maior abundância na natureza, abrangendo um terço da matéria vegetal no mundo, com uma produção anual estimada em aproximadamente  $1.5 \times 10^{12}$  toneladas (MIAO; HAMAD, 2013; NAKASHIMA et al., 2011). É considerada uma fonte quase inesgotável de matéria-prima para suprir a busca por produtos ecologicamente corretos e biocompatíveis (HE et al., 2014; KHALIL; BHAT; YUSRA, 2012).

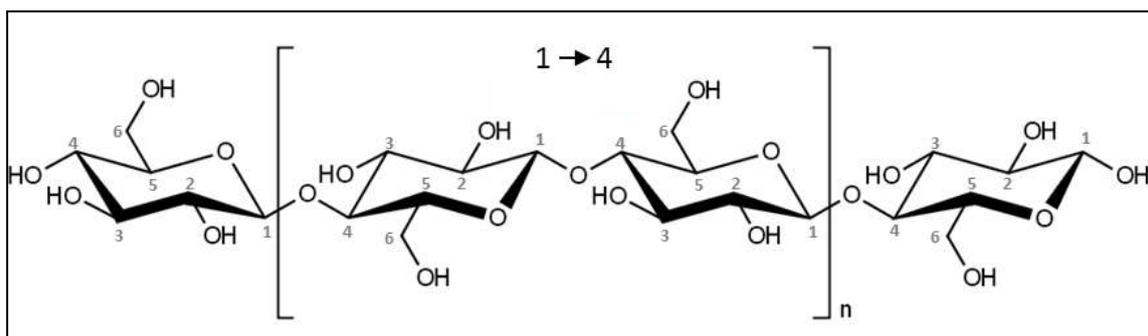
Devido a essas propriedades, este polímero vem ganhando reconhecimento e desenvolvimento de pesquisas e sendo utilizada para diversas aplicações (LIN et al., 2014; PIRANI; HASHAIKEH, 2013). Possui aplicação em várias áreas, bem como na indústria farmacêutica, síntese química, fabricação de papel, dentre outras (ZHU et al., 2006).

Segundo Klemm et al., (2001) já foram descobertas quatro formas diferentes para o processo de obtenção deste polímero, sendo isolamento a partir de plantas, que representa o processo mais utilizado em escala industrial, quimiossíntese utilizando derivados de glicose, síntese enzimática *in vitro* e biossíntese por diferentes tipos de microrganismos. A celulose é encontrada de forma predominante em plantas e em animais marinhos, no entanto, pode ser produzida também por alguns fungos e bactérias (KLEMM et al., 2005).

A celulose é caracterizada como um homopolissacarídeo linear que apresenta alta massa molar, formada por unidades D-glicose ( $C_6H_{10}O_5$ ) que são ligadas entre si por meio do átomo de oxigênio que se apresenta na posição  $\beta$ -1,4 (HABIBI et al., 2010; SOLOMONS; GRAHAM, 2002). Apresenta fórmula geral  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , onde  $n$  é o grau de polimerização e indica o número de unidades de glicose presentes em uma molécula (RAVEN et al, 2001). Duas unidades de glicose invertidas entre si, apresentando um ângulo de  $180^\circ$  em relação a um mesmo plano, formam uma unidade de celulose denominada celobiose (KLEM et al., 2005).

Os grupamentos hidroxilas que fazem parte da unidade repetitiva da celulose estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio, sendo que essas ligações de hidrogênio são responsáveis pela criação de estruturas cristalinas tridimensionais altamente ordenadas (HABIBI et al., 2010; KHALIL et al., 2012; MOON et al., 2011). A estrutura das unidades de glicose presentes na celulose é representada na Figura 1.

**Figura 1** Unidades de glicose presentes em uma molécula de Celulose



Fonte: KLEMM et al., (2005) com modificações.

A presença desses grupamentos hidroxila faz com que as macromoléculas da celulose formem ligações de hidrogênio intramoleculares (formada por grupos hidroxila da mesma cadeia) e intermoleculares (formada por grupos hidroxilas de cadeias adjacentes), que são responsáveis pela insolubilidade da celulose em água (BARUD, 2010).

Essas ligações formadas pelos grupos hidroxila também contribuem para outras propriedades relevantes da celulose, como seu caráter hidrofílico, sua estrutura microfibrilar, sua enorme natureza coesiva e sua organização hierárquica em regiões cristalinas e amorfas (LAVOINE et al., 2012; HABIBI et al., 2010).

Segundo Moon et al., (2011), existem nove principais tipos de partículas de celulose, apresentando distinção entre sua fonte ou método utilizado para a extração da partícula, sendo elas: fibra de madeira ou de planta; celulose microcristalina; celulose microfibrilada; celulose nanofibrilada; nanocristais de celulose; nanocristais de celulose de tunicado; partículas de celulose de algas e celulose bacteriana.

## 2.2 Celulose Bacteriana (CB)

A celulose bacteriana é um polissacarídeo produzido por diversas bactérias dos gêneros *Gluconacetobacter*, *Agrobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, entre outros, na forma de um hidrogel (99 % água) (LEITÃO et al., 2013, TANSKUL et al, 2013), dentre as espécies que podem sintetizá-las a *Gluconacetobacter xylinus* é a mais eficiente e por esta razão é a mais estudada (NGUYEN et al., 2008; KLEMM et al., 2011). Segundo Picchi (2010) essa bactéria pertence à família *Acetobacteriaceae*, sendo presente em vegetais e frutas que se encontram em processo de decomposição.

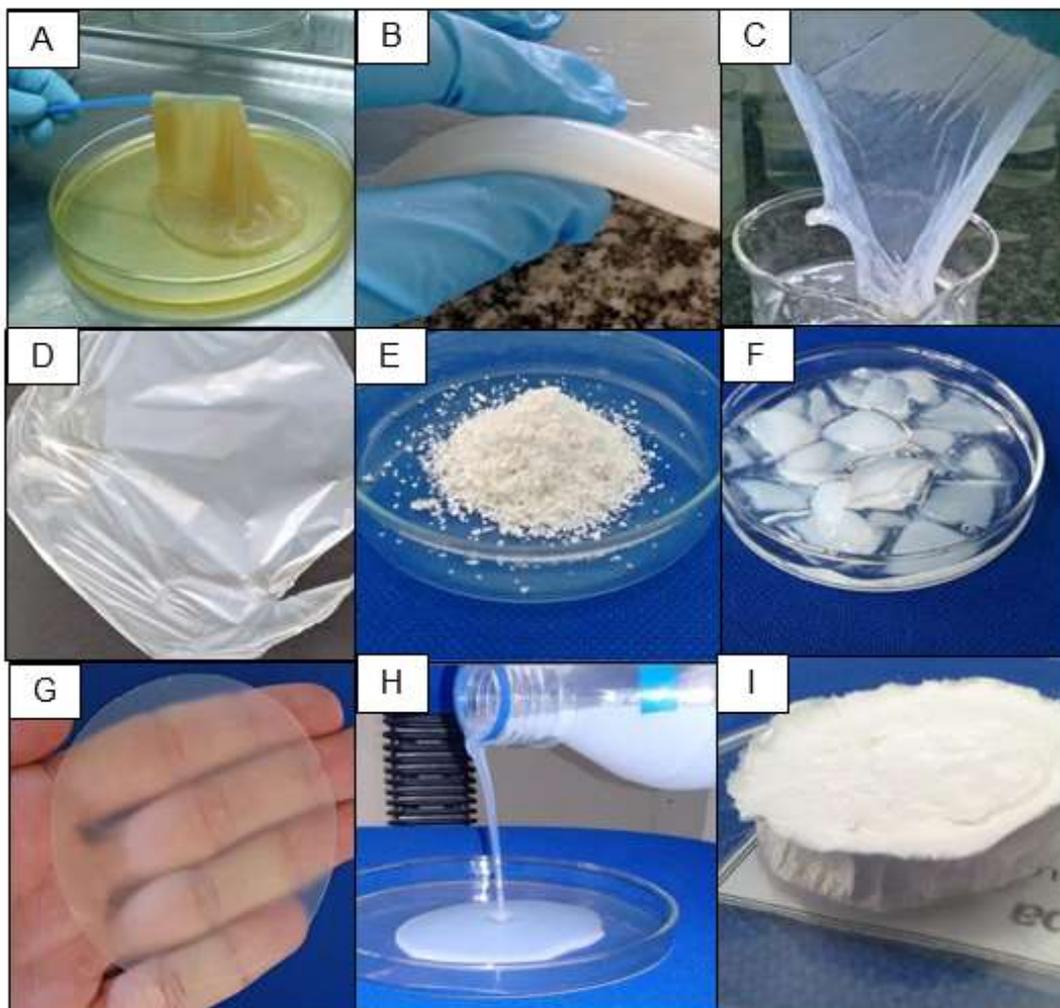
A *Gluconacetobacter xylinus* é considerada uma bactéria gram-negativa, aeróbia, que possui capacidade para sintetizar a celulose de forma abundante em um meio de cultura que apresente como nutrientes fontes de carbono e nitrogênio (KLEMM et al., 2005). Essa bactéria foi descrita pela primeira vez por Brown em 1886 (CHENG et al., 2002, KLEMM et al., 2001), inicialmente esta espécie era conhecida como *Acetobacter xylinum*, renomeada em 1997 como *Glucanacetobacter xylinus* (YAMADA; HOSHINO; ISHIKAWA, 1997).

O processo de síntese da celulose por *G. xylinus* é um processo que envolve três etapas principais, onde na primeira etapa ocorre a polimerização dos resíduos de glicose em cadeias  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glucanas, a segunda etapa corresponde à secreção extracelular das cadeias lineares e a terceira etapa se refere à organização e cristalização das cadeias de glucanas, através de interações do tipo ligações de hidrogênio e de forças de Van der Waals (BARUD, 2006).

A CB é um polímero natural que foi quimicamente caracterizado como celulose em 1886 (BROWN et al., 1886), sendo a celulose bacteriana uma rede tridimensional de nanofibras (TROVATTI et al., 2011; GODINHO et al., 2016). Segundo Klemm et al., (2011) existem outras nomenclaturas para a celulose bacteriana, podendo ser chamada de nanocelulose bacteriana, biocelulose e celulose microbiana.

A Figura 2 mostra imagens de algumas formas de CB que podem ser obtidas por diferentes processos. Membranas de diferentes espessuras são obtidas em cultivo estático (Figura 2A, 2B e 2C). Ao ser submetida a técnica de *casting* a suspensão fluida de CBNF apresenta aspecto mais delgado (Figura 2D) ou translúcido (Figura 2G) que a membrana de CB não funcionalizada. Já a suspensão de CB nanofibrilada (CBNF) tem aspecto líquido ou pastoso dependendo da concentração (Figura 2H). Quando liofilizada a CB apresenta aspecto mais esponjoso (Figura 2I) (LIMA, 2018).

**Figura 02** Celulose Bacteriana obtidas por diferentes processos



Celulose bacteriana: (A) Película sendo removida do Meio de cultivo após fermentação, (B) Película pura de CB de cultivo estático em estado úmido, (C) Película de CB com espessura reduzida, (D) Filme seco de CBNF, (E) CB seca moída, (F) CB carboximetilada, (G) Filme seco CBNF plastificado com sorbitol, (H) Suspensão de CBNF (CB nanofibrilada) 1%, m/m (I) Película de CB liofilizada.

Fonte: LIMA, (2018) com adaptações.

A estrutura química da CB é semelhante à celulose produzida pelas plantas, no entanto diferente da celulose vegetal, não contém lignina e hemicelulose (SANCHAVANAKIT et al., 2006). Sendo quimicamente pura, apresenta cadeias de celulose em escala nanométrica (LIN et al., 2014; FU et al., 2013; KLEMM et al., 2005).

Por ser livre de lignina, hemicelulose e outros biopolímeros típicos da parede celular dos vegetais a celulose bacteriana apresenta maior cristalinidade, essa característica é responsável pela insolubilidade na água, bem como na maioria dos solventes orgânicos (NAKAGAITO; NOGI; YANO, 2010; PINKER, et al., 2009; SILVA; D'ALMEIDA, 2009), resistência mecânica e pureza (CASTRO et al., 2011). É produzida como uma membrana de celulose altamente hidratada e relativamente pura, que dispensa qualquer tratamento químico

para a remoção da lignina e da hemicelulose. Já na produção da celulose a partir da madeira é preciso que sejam realizados tratamentos para retirar essas impurezas (BARUD et al., 2008).

A estrutura nanofibrillar original apresenta capacidade de retenção de água (ca. 99%) e exibe propriedades específicas tais como pureza, elevado grau de polimerização (até 8000), cristalinidade (70-80%), e estabilidade mecânica (KLEMM et al., 2001). A película de celulose bacteriana é transparente e não-toxica, tornando-se um atraente candidato para aplicações em biomédicas e de biotecnológicas (DAHMAN, 2009). As fibras da celulose bacteriana possuem um diâmetro que varia entre 20 a 100 nanômetros (KLEMM et al., 2011).

Uma das áreas mais promissoras da aplicação da celulose bacteriana como biomaterial é a utilização como substituto da pele no tratamento de feridas, queimaduras e úlceras. No entanto, a celulose bacteriana não possui atividade antimicrobiana para prevenir a infecção da ferida (CZAJA et al., 2007).

A celulose bacteriana é um excelente substrato que pode ser utilizado para a fabricação de filmes finos, visto que apresenta características, tais como: alta cristalinidade, elasticidade, durabilidade, elevada capacidade de absorção e retenção de água (DONINI, 2010). A estrutura única de rede tridimensional da celulose bacteriana lhe confere uma elevada capacidade de retenção de água, uma elevada resistência mecânica, excelente biocompatibilidade, propriedades permitem aplicação como um material polimérico natural para a regeneração de uma grande variedade de tecidos (SIRO; PLACKETT, 2010).

Trovatti et al, (2012) revelaram que as membranas de celulose bacteriana são um material promissor, que possuem a capacidade de aderir a superfícies irregulares da pele, bem como proteger feridas e absorver exsudados, também permitem aplicação como material polimérico natural para a regeneração de tecidos (SIRO; PLACKETT, 2010).

A celulose bacteriana possui aplicações na indústria cosmética como máscaras faciais que ajudam no tratamento de pele seca que já são largamente comercializados, em formulação de esfoliantes faciais naturais, como agente estruturante de limpeza pessoal e como um estabilizador de emulsões (HASAN et al., 2012). Destaca-se como uma alternativa promissora em relação à celulose derivada de plantas para aplicações específicas em biomedicina, cosméticos, diafragmas acústicos de alta qualidade, fabricação de papel, indústria alimentícia (LIN et al., 2014).

### 2.3 Goma do Angico

As gomas naturais são polissacarídeos (biopolímeros) extraídos de exsudatos de troncos de árvores, de sementes, de algas ou por fermentação microbiana (CORREA, 1926). Tradicionalmente, as gomas naturais têm sido aplicadas nas indústrias alimentícias e farmacêuticas como estabilizadores e espessantes (SELBY et al., 1983). Investigações apontaram o fato de que as propriedades específicas de cada goma está relacionada com a combinação de tipo e peso molecular dos monossacarídeos (BRITO et al. 2004).

A flora brasileira é fonte de polissacarídeos interessantes que, em seu estado nativo ou após a realização de modificações estruturais, apresentam aplicações potenciais, dentre esses polissacarídeos extraídos de plantas destaca-se a goma da espécie *Anadenanthera colubrina var. cebil* (Griseb.) Altschul que pertence à família Fabaceae (LORENZI, 2002). Esta espécie é conhecida popularmente por Angico Branco, Angico, Angico de Casca, Angico Vermelho, Angico Verdadeiro, Angico Jacaré (QUEIROZ 2009; WEBER et al., 2011).

O Angico vermelho é uma espécie que de ampla distribuição na América do Sul incluindo Argentina, Venezuela e Bolívia (WEBER et al., 2011), que tem ocorrência no nordeste do país e em São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 1998).

É relatado que essa espécie é bastante utilizada na medicina popular, a maceração da resina do caule é utilizada no tratamento de bronquite (BRANDÃO, et al., 2008). A inalação das sementes secas ao sol, assadas e moídas é usada pra o tratamento de dores de cabeça e resfriados (MONTEIRO et al., 2006). A solução hidroalcoólica é utilizada no tratamento de anemia, processo inflamatório, asma, gripe (ALBUQUERQUE et al., 2007). A casca é usada como anti-inflamatório, cicatrizante, no tratamento de gastrite e inflamações dos ovários (AGRA et al., 2007; LORENZI; MATOS, 2008).

A goma do angico é um polissacarídeo natural obtido na forma de exsudato do tronco do angico vermelho é um heteropolissacarídeo (arabinogalactana) ramificado de baixa viscosidade, apresentando composição de 67% de arabinose, 24% de galactose, 2% de ramnose e 7% de ácido glucurônico (PAULA et al.,1997). Possui uma larga distribuição de massa molar de  $MM = 3,7 \times 10^6$  g/mol e viscosidade intrínseca  $[\eta] = 11 \text{ cm}^3/\text{g}^{-1}$  (PAULA et al., 1997). A Figura 3 apresenta a goma do angico após o processo de isolamento e purificação.

**Figura 3** Goma do angico isolada e purificada.



Fonte: Autoria Própria, (2019).

Este polímero apresenta grande potencial para aplicações biotecnológicas, pois é fonte de carboidratos complexos e por possuir propriedades funcionais como sua capacidade de formar filmes e géis (SILVA et al., 1998).

Entre as propostas de aplicação para a goma do angico é relatada a sua utilização na formação de nanopartículas através da complexação com o polissacarídeo catiônico quitosana (PAULA et al., 2010) e fabricação de filmes biodegradáveis (SILVA et al., 2013).

## **2.4 Modificações de polissacarídeos**

A modificação na estrutura dos polissacarídeos vem sendo bastante explorada visando a obtenção de novos materiais que apresentem propriedades específicas. Estes materiais apresentam um grande número de grupos reativos, sendo eles hidroxilas e acetoaminos, que permitem uma série de reações de substituição como esterificação, etereificação, acetilação e sulfatação, podendo ainda ser modificados por reações de hidrólise, oxidação, enxerto de outro polímero e degradação enzimática (CRINI, 2005).

### **2.4.1 Modificações da Celulose**

O processo de modificação química da celulose pode ser feito explorando-se a reatividade dos grupamentos hidroxila (OH) que fazem parte da molécula de glicose que

forma a celulose, essas modificações podem ser realizadas com uso de reações de derivação, que consiste na introdução de diversos grupos funcionais (BARUD et al., 2008; KLEMM, et al., 2009).

A modificação da celulose bacteriana pode ser feita tanto pela modificação do meio de cultura durante o processo de cultivo da bactéria, que é um processo denominado como modificação “*in situ*”, como também pode se dar por meio da modificação no hidrogel previamente tratado, que é chamada de pós-modificação (KLEMM et al., 2009).

Pertile e colaboradores (2010) submeteram membranas de celulose bacteriana ao tratamento com plasma de nitrogênio com o objetivo de modificar quimicamente a superfície da celulose bacteriana, através da incorporação de grupamentos com nitrogênio, bem como morfologicamente, causando um aumento da porosidade. Nessas membranas modificadas foram cultivados fibroblastos, neuroblastos e células endoteliais, as quais demonstraram boa afinidade celular, pelo aumento da viabilidade celular, em até 48 horas de cultura.

Nanocompósitos híbridos de celulose bacteriana/sílica e nanocompósitos híbridos funcionais de celulose bacteriana/sílica/ácido úsnico foram produzidos, sendo os nanocompósitos híbridos de celulose bacteriana/sílica formados pela condensação/hidrólise “*in situ*” de sílica utilizando o precursor TEOS sobre as membranas umedecidas da celulose bacteriana. Os nanocompósitos híbridos obtidos apresentaram superfície hidrofóbica com interações fortes entre sílica e celulose e segundo os autores apresentaram potencial aplicação na área biomédica (GUZUN et al., 2014).

Zimmermann e colaboradores (2011) produziram membranas e tubos de celulose bacteriana, com hidroxiapatita com possíveis aplicações na regeneração de tecidos ósseos, esses materiais revelaram a potencialidade desses scaffolds para a referida aplicação, aumentando a aderência e a confluência de células osteoprogenitoras sobre a superfície.

Compósitos de celulose bacteriana e quitosana foram produzidos com o objetivo de aplicação na cicatrização de lesões cutâneas, o estudo revelou que estes compósitos possuem uma estrutura mais compacta, que apresenta menor diâmetro de poros, um aumento no módulo de elasticidade e redução na capacidade de absorção de água atribuída à interação entre a quitosana e as fibras de celulose (LIN et al., 2013)

Ashori e Colaboradores (2012) realizaram um estudo onde foi imerso celulose bacteriana numa solução coloidal de silanol, preparado a partir de TEOS (tetraetoxisilano) disperso em água com ácido acético como catalisador, e foi observado que partículas de sílica foram depositadas sobre os espaços vazios entre a celulose bacteriana e microfibras, essas

partículas apresentavam tamanho nanométrico, ligadas quimicamente à celulose bacteriana, também apresentavam um ganho nas propriedades mecânicas.

As membranas hidratadas de celulose bacteriana apresentam alta capacidade de absorver diferentes espécies iônicas, moleculares, bem como pode ser capaz de realizar a estabilização de partículas, tendo em vista que apresenta uma estrutura altamente hidratada de fibras nanométricas formadas por um sistema poroso (BARUD, 2008). Membranas antimicrobianas compostas de nanopartículas de prata (Ag) e celulose bacteriana foram obtidas pela preparação “*in situ*” de nanopartículas através da decomposição hidrolítica de solução de nitrato de prata usando trietanolamina como agente redutor e complexante, as membranas compósitas obtidas exibiram forte atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (BARUD et al., 2011).

Diante do exposto fica evidente que é possível aprimorar e adaptar as características da celulose bacteriana, visando uma aplicação específica com o uso de algumas variações no processo de produção, podem ser feitas alterações na composição do meio de cultura, no pH, na temperatura, no tempo de fermentação e também por modificações químicas (KLEMM et al., 2005; UL-ISLAM et al., 2012).

#### **2.4.2 Modificações da Goma do Angico**

As gomas possuem características atraentes para aplicações industriais, porém existem alguns problemas associados com o uso destes polissacarídeos em sua forma natural. Estes incluem variação na taxa de hidratação, solubilidade dependente do pH, perda da viscosidade durante o armazenamento. A modificação química das gomas é uma alternativa que além de minimizar estes inconvenientes, permite o melhoramento de propriedade e introduzir novas aplicações (RANA et al., 2011; LIANGA et al., 2011).

A carboximetilação das gomas é uma das estratégias mais utilizadas nos processos de modificação química para funcionalização desses polímeros naturais. Frequentemente o método utilizado para carboximetilar os polissacarídeos consiste no uso de base forte, normalmente o hidróxido de sódio concentrado, associado com o ácido monocloroacético seguida por neutralização do sistema com ácido clorídrico (SILVA et al., 2004).

Oliveira et al., (2006) realizaram a carboximetilação da goma de angico visando a ampliação das aplicações desta goma em formulações que precisam de polieletrólitos como agentes de adsorção. A carboximetilação de gomas também foi realizada utilizando a goma

Condagoku coletada da espécie *Cochlospermum gossypium* buscando a redução da sua viscosidade, o melhoramento da propriedade muco adesiva e seu comportamento de gelificação iônica (KUMAR, 2012).

A acetilação é empregada na modificação de gomas quando busca obter uma alteração da solubilidade, uma vez que esta modificação altera a hidrofobicidade e as propriedades de absorção de água e capacidade de intumescimento (XU et al.,2010).

Outra estratégia bastante utilizada nos processos de modificação de gomas é a ligação cruzada ou reticulação, que permite a formação de uma rede tridimensional, onde os grupos funcionais -OH,-COOH, -NH<sub>2</sub> presentes na estrutura dos polissacarídeos podem ser utilizados para a formação de ligações cruzadas (OLIVEIRA, 2005).

As gomas podem ser modificadas através do processo de quaternização, processo que é relatado por Quelemes et al., (2017) que modificou a goma do cajueiro com reagente de amônio quaternário, comprovando que o material modificado apresenta características que a torna candidata viável para o desenvolvimento de biomateriais e dispositivos biotecnológicos por apresentar atividade bactericida contra o gênero *Staphylococcus*.

De Sousa e Colaboradores (2019) realizaram a quaternização da goma do angico através de modificação química com amônio quaternário, onde foi obtido um biomaterial que apresentou atividade bactericida eficaz contra bactérias Gram-positivas do gênero *Staphylococcus*, sendo considerado promissor como agente antibacteriano para aplicações biomédicas e biotecnológicas, como curativos de cicatrização, filtros antimicrobianos e dispositivos médicos.

## **2.5 Filmes poliméricos**

Filmes são materiais que apresentam uma estrutura fina e são utilizados como barreiras para agentes externos, como umidade, gases e óleos. As formulações pelo método *casting*, muito utilizado em escala laboratorial (HORN, 2012), onde inicialmente é feita a solubilização do polímero em um solvente apropriado e na concentração desejada ao qual se pode incorporar aditivos como agentes reticulantes e/ou plastificantes, em seguida a solução é vertida em um suporte e seca em estufa ou à temperatura ambiente (BRESSEL, 2007). É um dos processos de preparação de filmes recorrente na literatura (DOLE et al., 2004; MÜLLER et al., 2008).

Outra técnica utilizada para a obtenção de filmes, é a automontagem, que também é conhecida como LbL (do inglês “Layer-by-Layer”) que significa deposição camada por camada, este método permite a produção de filmes ultrafinos organizados em um nível nanométrico, por meio de diferentes tipos de materiais (GREGORUT, 2012).

A produção ocorre na presença de macromoléculas para formar uma rede polimérica com os componentes utilizados, esse processo geralmente envolve associações inter e intramoleculares ou ligações cruzadas de cadeias de polímeros formando uma rede tridimensional semi-rígida que causa retenção do solvente (RINDLAV-WESTLING et al., 2002).

Biofilmes são definidos como filmes finos preparados a partir de materiais biológicos derivados de polissacarídeos, proteínas ou lipídios, que quando usados como embalagem, agem como barreira a elementos externos como umidade, óleo e gases (KROCHTA, 2002; PALMU et al., 2002). Os polissacarídeos mais utilizados na fabricação de biofilmes incluem derivados de amido e celulose, alginatos, pectinas, quitosanas e algumas gomas (KROCHTA, 2002; THARANATHAN, 2003).

Os biofilmes apresentam propriedades funcionais específicas de acordo com o tipo do biopolímero utilizado, do processo de formação e de sua aplicação. Plastificantes, antimicrobianos e antioxidantes podem ser adicionados para melhorar as propriedades funcionais do filme (GENNADIOS; WELLER, 1990). A aplicação dos filmes poliméricos produzidos depende das propriedades funcionais, como propriedades de barreira e mecânicas (KROCHTA, 2002).

Uma alternativa para o melhoramento das propriedades físicas dos filmes biopoliméricos é a preparação de filmes compostos através do uso combinado de polissacarídeos, proteínas e lipídios ou a adição de fibras (WOLLERDORFER; BADER, 1998).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Produzir filmes poliméricos utilizando celulose bacteriana, goma do angico e seus modificados por reação de quaternização, realizando a caracterização dos mesmos.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Isolar e purificar a goma do angico;
- Modificar quimicamente a celulose bacteriana e a goma do angico utilizando a reação de quaternização;
- Caracterizar por meio de Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho para avaliar o aparecimento de bandas características de materiais modificados com agentes de amônio quaternário;
- Avaliar o Potencial Zeta para verificar a mudança de carga após a reação de quaternização;
- Produzir filmes de celulose bacteriana, celulose bacteriana quaternizada, celulose bacteriana-goma do angico e celulose bacteriana-goma do angico quaternizado utilizando o processo de *casting*;
- Caracterizar os filmes por Microscopia de Força Atômica para avaliar a morfologia dos mesmos;
- Determinar a espessura dos filmes produzidos;
- Avaliar o índice de intumescimento e o teor de umidade dos filmes produzidos;
- Testar a atividade antibacteriana dos filmes sobre bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais e reagente

Para o processo de quaternização foi utilizado os seguintes reagentes grau analítico: Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio-CHPTAC (Aldrich); Hidróxido de sódio (Neon); ácido clorídrico (Vetec).

A celulose bacteriana utilizada foi cedida pelo Prof. Hernane S. Barud da Universidade Estadual Paulista (UNESP), que foi produzida a partir da biossíntese da bactéria *Gluconacetobacter xylinus*. A membrana utilizada para o processo de diálise foi obtida da Sigma-Aldrich. A goma do angico foi isolada e purificada.

### 4.2 Isolamento e purificação da Goma do Angico

Após a coleta dos exsudatos da *Anadenanthera colubrina* var. *Cebil* (Griseb.) Altschul foi realizado um depósito no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA), com número 3618.

Nos processos de isolamento e purificação foram adotados os métodos descritos por Rodrigues et al., (1993) e Costa et al., (1996) com pequenas modificações. Na etapa de isolamento a dissolução foi feita através de agitação magnética por 24 horas, com ajustes periódicos de pH (entre 6,0 e 7,0). A solução foi precipitada em um béquer contendo 300 mL de álcool etílico, para facilitar o processo de precipitação, foi necessária a adição de NaCl, o precipitado foi lavado duas vezes com álcool etílico e posteriormente lavado com acetona, transferido para o almofariz e secado com um jato de ar quente.

Na etapa de purificação foi realizada a dissolução sob agitação magnética por 24 horas, posteriormente foi precipitada em álcool etílico seguido de duas lavagens com álcool etílico, onde foi necessária a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para branquear o material e duas lavagens com acetona, ao final foi transferido para o almofariz e seco com um jato de ar quente.

### 4.3 Reação de Quaternização da celulose bacteriana

O processo de quaternização foi realizado por meio de uma reação de substituição nucleofílica seguindo a metodologia abordada por (QUELEMES et al., 2017) com algumas adaptações. O método consiste em adicionar 6,63 mL de Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio-CHPTAC a 5mL de uma solução aquosa de Hidróxido de

Sódio-NaOH 5M a 1,5 mL de Celulose bacteriana, e seguidos de agitação por 30 minutos. Posteriormente a mistura foi levada ao banho-maria por tempo e temperatura desejada, que são relatados logo a seguir. Ao retirar do banho-maria deve ser ajustado o pH para 5,5 utilizando o Ácido Clorídrico-HCl com o objetivo de por fim ao processo reacional. Em seguida a mistura de celulose bacteriana e os reagentes utilizados foi colocada na membrana de diálise, realizando trocas de água a cada 08 horas durante 05 dias.

#### **4.4 Reação de Quaternização da goma do angico**

Para a reação de quaternização foi seguida a metodologia proposta por Quelemes et al, (2017). Onde 1 g da goma do angico foi dissolvido em 1,5 mL água destilada à temperatura ambiente, e deixada sobre agitação por 30 minutos. Foi preparada uma solução contendo amônio quaternário (Cloreto de 3-cloro-2-hidroxi-propiltrimetilamônio-CHPTAC) e NaOH 5M foi preparada e adicionada a solução contendo a goma do angico e mantida sobre agitação por 30 minutos. A reação foi conduzida na temperatura de 60°C durante 24 horas em banho-maria. Ácido clorídrico (HCl) 1M diluído foi adicionado para baixar o pH (5,5) e cessar o processo de ionização. Em seguida a solução foi arrefecida até à temperatura ambiente e dialisada por 5 dias. Após a diálise o polímero foi precipitado em acetona na proporção de 1:4 (solução:acetona), armazenada por 24 h para efetiva precipitação e seca sob fluxo de ar quente.

#### **4.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho**

Os espectros das amostras foram obtidos usando um espectrofotômetro SHIMADZU IRAffinity-1S, pelo método de transmitância na faixa de absorção de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . O tratamento dos dados obtidos foi feito com o auxílio do software Origin (OriginLab®).

#### **4.6 Potencial Zeta**

Os valores de Potencial Zeta foram obtidos usando um aparelho Malvern Zetasizer Nano, Modelo ZS 90. As amostras analisadas foram preparadas em uma concentração de 10 mg/mL, as medidas foram realizadas em triplicata, com temperatura constante de 25°C.

#### 4.7 Produção dos filmes

A técnica utilizada na produção dos filmes foi o processo de *casting* que é definida como a desidratação da solução filmogênica sobre uma placa a determinadas temperaturas. Para o preparo da solução filmogênica foram utilizadas os valores descritos na Tabela 1, as soluções foram misturadas com um homogeneizador com rotação de 16000 rpm. Para as soluções filmogênicas de celulose bacteriana a homogeneização foi feita por 5 minutos. Para as soluções de goma do angico e celulose bacteriana, inicialmente foi dissolvido 0,02 g de goma do angico em 2 mL de água destilada e homogeneizados por 5 minutos e adicionados a celulose bacteriana homogênea e o processo repetido por mais 5 minutos. A secagem ocorreu em estufa a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 32 horas.

**Tabela 1** Composição das soluções filmogênicas

FILME	CB	GA (solução 10%)	GAQ (solução 10%)	CBQ
CB	7 mL	-	-	-
CBQ	-	-	-	7 mL
CB-GA	5 mL	0,02 g	-	-
CB-GAQ	5 mL	-	0,02 g	-

CB-celulose bacteriana; CBQ-celulose bacteriana quaternizada; GA-goma do angico; GAQ-goma do angico quaternizada.

#### 4.8 Caracterização dos filmes

Os filmes foram caracterizados por Microscopia de Força Atômica também foram caracterizados quanto à espessura, índice de intumescimento, umidade e teste de atividade antibacteriana.

##### 4.8.1 Microscopia de Força Atômica (MFA)

Um recorte de 8 mm de cada filme foi utilizado para realizar a análise por Microscopia de Força Atômica (MFA) com o equipamento TT-AFM (AFM Workshop - EUA) no modo contato intermitente, com pontas TED PELLA (TAP300-G10) em uma frequência de amplitude aproximadamente 237 kHz. O programa Gwyddion 2.45, foi utilizado para o tratamento das imagens.

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada com o uso do programa GraphPad Prism 6. Para obter a RM dos filmes foi aplicado teste One-way de uma via, com pós-teste de Tukey. Os resultados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) e um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

#### 4.8.2 Espessura

A espessura é definida como a distância entre as duas superfícies principais do material, sendo considerada um parâmetro muito importante no estudo de filmes.

A espessura dos filmes foi determinada com micrômetro digital marca Tmx com escala de 0-25 mm com precisão 0,001 mm, sendo feita a leitura de cinco pontos diferentes de cada amostra do filme, onde foi realizada a medida de quatro pontos laterais e um ponto central com os resultados expresso em milímetros (mm).

#### 4.8.3 Umidade

A determinação da umidade dos filmes foi realizada em triplicata, para isso foi cortado 3 corpos de prova de 1 cm<sup>2</sup>, que foram previamente pesados em uma balança analítica (Shimadzu ATX224) e inseridos na estufa a 36°C por 24 horas, este experimento foi realizado de acordo Mathieson (1967), com algumas modificações. A umidade foi obtida pela seguinte equação:

$$h = \frac{(mi - mf)}{mi} \times 100\% \text{ (Equação 1)}$$

onde  $h$  é o percentual de umidade,  $mi$  a massa inicial pesada e  $mf$  a massa final após o período de secagem. Foi aplicado teste One-way de uma via, com pós-teste de Tukey. Os resultados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) e um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

#### 4.8.4 Intumescimento

O índice intumescimento dos 4 filmes foi realizado com corpos de prova de 1 cm<sup>2</sup>. A massa inicial foi obtida após pesagem em balança analítica (modelo). Os corpos de prova foram imersos em 10 mL de água destilada por 60 minutos a temperatura ambiente. Após o intervalo de tempo pré-determinado os corpos de prova foram removidos com o auxílio de

uma pinça e o excesso de água foi absorvido em papel filtro, durante 1 minuto. Os filmes hidratados foram repesados, o procedimento foi repetido por 5 vezes. Este teste foi realizado de acordo com Almeida et al., (2013), com modificações. O índice de intumescimento (Ii) foi calculado conforme equação 2, e os resultados expressos em porcentagem (%).

$$Ii(\%) = \frac{(mf-mi)}{mi} \times 100 \text{ (Equação 2)}$$

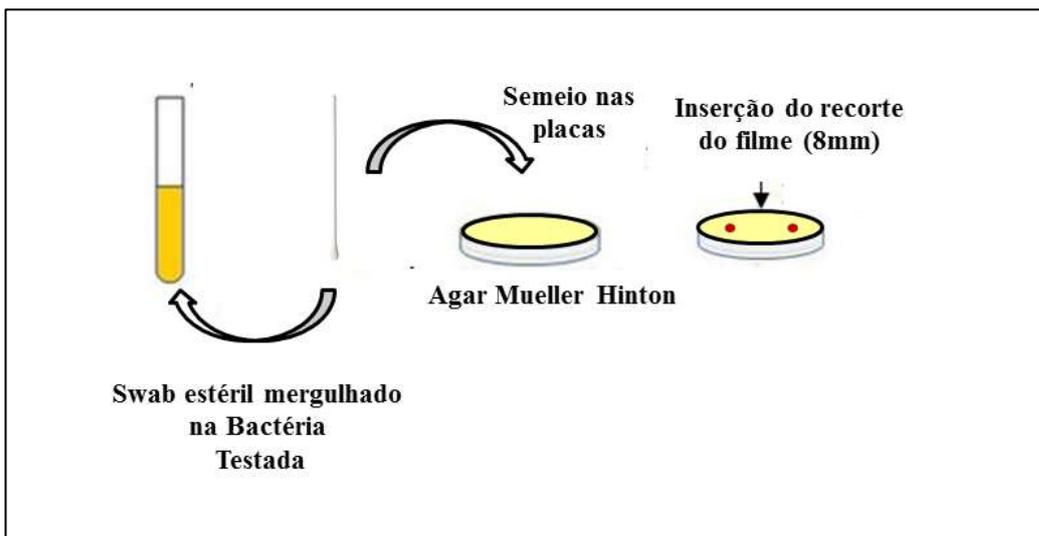
Onde, *mf* é a massa final do filme hidratado e *mi* é a massa inicial do filme seco.

#### 4.8.5 Teste de Difusão em ágar

Para a realização dos testes foram utilizados as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

O método em discos foi realizado de acordo com a CLSI (2017) com adaptações, através da fixação de dois recortes de 8 mm nas placas de Petri contendo Ágar Müeller-Hinton previamente inoculado com a bactéria teste, na concentração de  $10^8$  UFC/mL, pela técnica de plaqueamento em superfície. O teste foi realizado em duplicata. O resultado foi analisado através da presença ou ausência de um halo de inibição de crescimento microbiano em torno do filme, cujo diâmetro varia de acordo com a velocidade de difusão do antimicrobiano testado e a sensibilidade da bactéria. O método de difusão em ágar foi realizado em duplicata para os filmes de CB-GA e CB-GAQ de acordo com a Figura 4. Foi realizado a Microscopia de Força Atômica dos filmes para o melhor resultado apresentado, utilizando os mesmos parâmetros já citados no item 4.8.1.

**Figura 4** Processo do Teste de Difusão em ágar



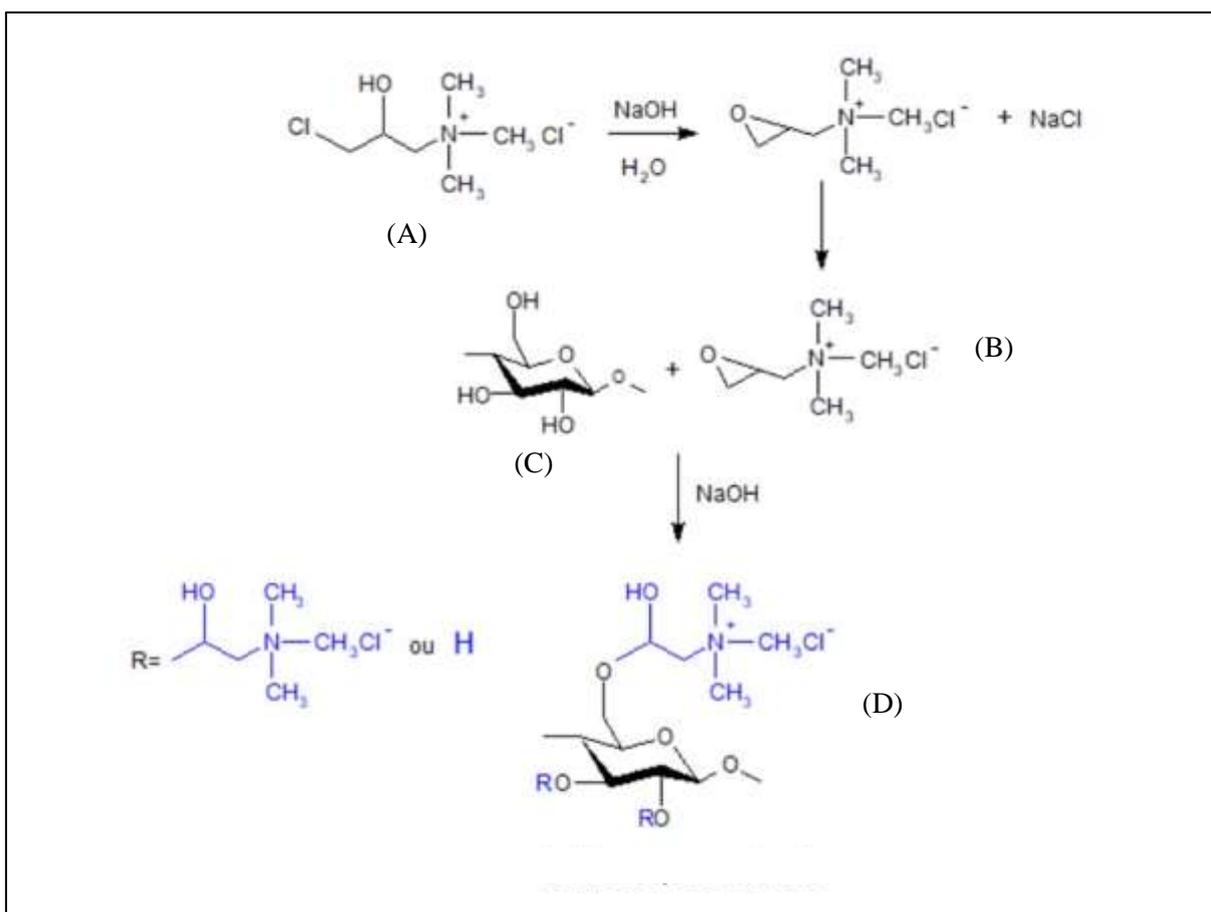
**Fonte:** Autoria Própria, (2019).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Quaternização da Celulose Bacteriana

Para obtenção dos derivados quaternizados de celulose bacteriana foi realizada a reação com o CHPTAC (Cloreto de 3-Cloro-2-hidroxiopropiltrimetilamônio) e uma solução aquosa de Hidróxido de Sódio, onde CHPTAC é utilizado como agente eterificante e o NaOH como agente catalisador da reação, assim ocorre a formação de um epóxido que é produzido *in situ* a partir do CHPTAC e posteriormente causa a substituição do grupo hidroxila da unidade de celulose bacteriana (SONG et al., 2008), o resumo da reação de quaternização pode ser observado na Figura 5.

**Figura 5** Processo Quaternização da Celulose Bacteriana



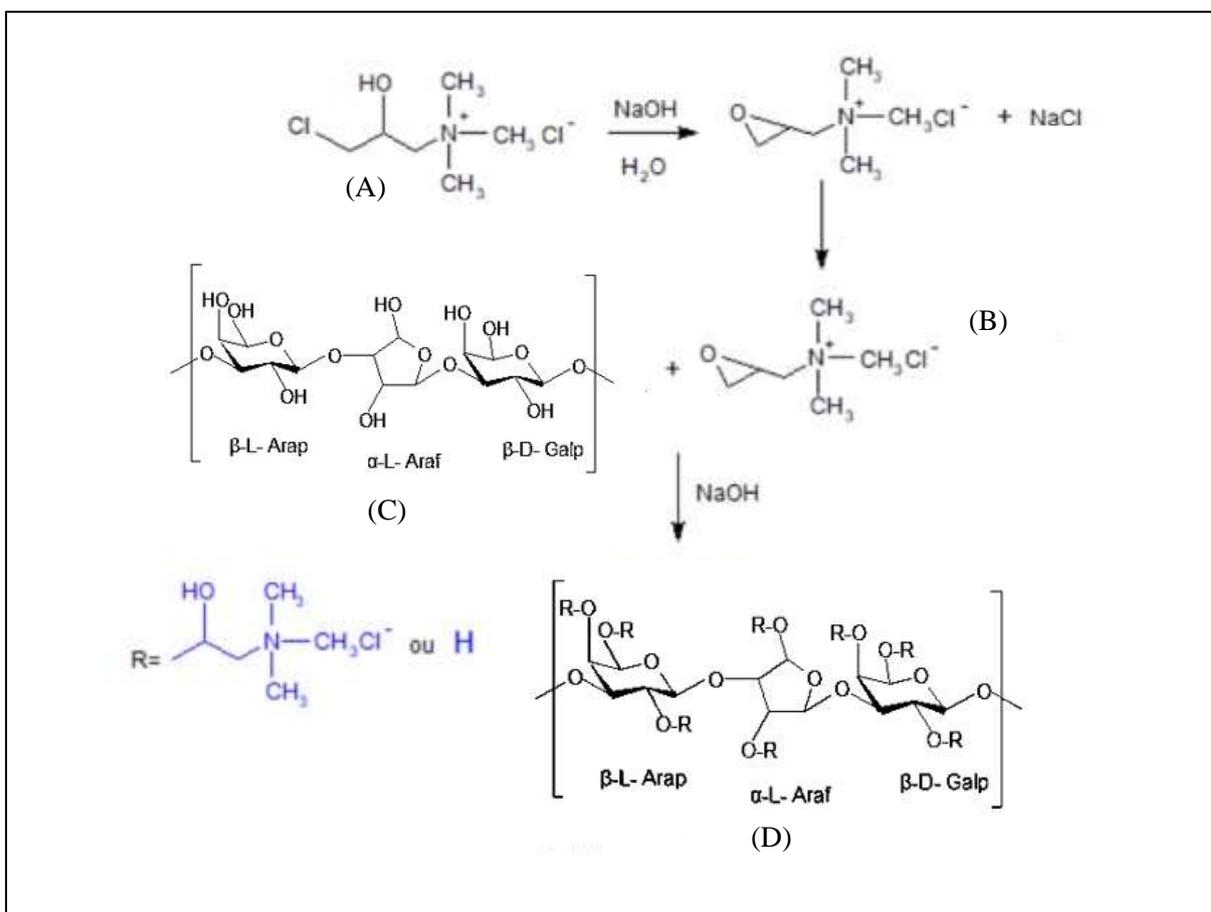
(A) Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxiopropil)trimetilamônio-CHPTAC; (B) epóxido formado à partir do CHPTAC; (C) Celulose bacteriana; (D) Celulose quaternizada.

Fonte: Adaptado de SONG et al., (2008).

## 5.2 Quaternização da goma do angico

O processo de quaternização da goma do angico foi realizado utilizando o reagente de amônio quaternário (Cloreto de 3-cloro-2-hidroxipropil trimetil amônio) como agente de eterificação sob condições alcalinas. A reação é caracterizada pela substituição dos grupamentos hidroxila presentes na estrutura da goma do angico pelo reagente amônio quaternário. A goma do angico quaternizada é produzida através da reação entre a goma e o epóxido (DE SOUSA et al, 2019; QUELEMES et al., 2017; BANERJEE et al., 2014). A Figura 6 representa o processo de quaternização da goma do angico.

**Figura 6** Processo Quaternização da Goma do Angico



(A) Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio-CHPTAC; (B) epóxido formado à partir do CHPTAC; (C) Goma do Angico ; (D) Goma do Angico quaternizada.

Fonte: De Sousa et al, com adaptações (2019).

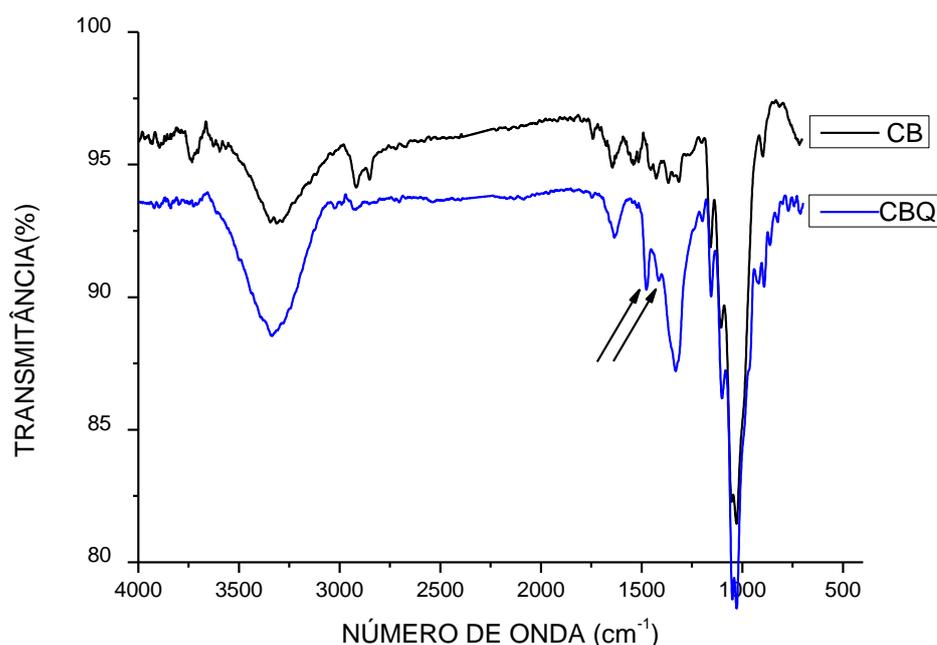
## 5.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) apresenta-se como uma ferramenta importante para a identificação de compostos, fornecendo evidências

da presença de grupos funcionais presentes na estrutura de substâncias e pode ser usada para investigar a composição química de um composto, através da identificação das diferentes ligações químicas entre átomos pelas deformações rotacionais e vibracionais, as quais absorvem energia em determinada frequência de ressonância, de acordo com as características químicas dos átomos envolvidos (SKOOG et al., 2010).

A Figura 7 apresenta os espectros obtidos com o uso da Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho para amostra de celulose bacteriana liofilizada, apresentando atribuições características deste polímero que são:  $3500\text{ cm}^{-1}$  que representa estiramento OH;  $2900\text{ cm}^{-1}$  que representa estiramento CH de alcanos e estiramento assimétrico CH; em  $2700\text{ cm}^{-1}$  representa estiramento simétrico  $\text{CH}_2$ ; em  $1600\text{ cm}^{-1}$  apresenta deformação OH; em  $1400\text{ cm}^{-1}$  que representa deformação  $\text{CH}_2$ ; em  $1370\text{ cm}^{-1}$  representando deformação  $\text{CH}_3$ ; em  $1340\text{ cm}^{-1}$  deformação OH e  $1320\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$  deformação CO (BARUD, 2006; SASKA, 2011).

**Figura 7** Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho da CB e CBQ



CB-Celulose Bacteriana e CBQ-Celulose bacteriana quaternizada.

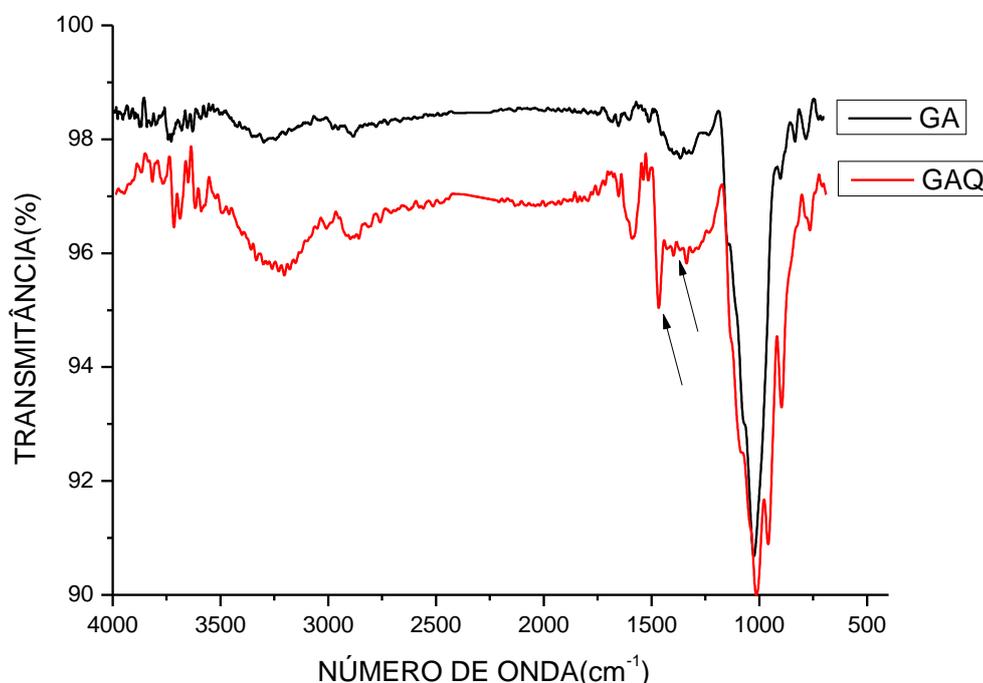
Para os espectros da celulose bacteriana após os processos da reação de quaternização, a diferença mais notável que pode ser observada é devido a presença de uma banda que aparece na região de  $1478\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde às ligações simétricas C-H dos grupos metil dos substituintes amônio quaternários (NOVAC et al., 2014) e outra banda que

pode ser observada na região de  $1407\text{ cm}^{-1}$ , que está relacionada à presença do modo de estiramento vibracional C–N (SONG et al., 2008), também foi referenciada por (PAL et al., 2005) referindo-se as bandas de estiramento vibracional C-N.

Os espectros de infravermelho da Goma do angico e da goma do angico quaternizada apresentaram bandas características de polissacarídeos. No espectro da GA a banda na região de  $3362\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à vibração de estiramento O-H (PAVIA et al. 2010; ZHANG et al., 2013) e banda na região  $2926\text{ cm}^{-1}$  corresponde à vibração de estiramento C–H de metilas (PITOMBEIRA et al., 2015; ZHANG et al., 2013).

A goma do angico quaternizada apresenta o surgimento de um pico na região de  $1478\text{ cm}^{-1}$  característico de C-H do grupo metil do amônio quaternário, e a presença do pico em  $1407\text{ cm}^{-1}$  de C-N, que são característicos de materiais modificados com reagentes de amônio quaternário (NOVAC et al., 2014; QUELEMES et al., 2017). A Figura 8 exibe os espectros na região do infravermelho para a goma do angico e goma do angico quaternizada.

**Figura 8** Espectroscopia vibracional na região do infravermelho da GA e GAQ



GA-Goma do Angico e GAQ- Goma do Angico Quaternizada

## 5.4 Potencial Zeta

A análise de potencial Zeta tem como objetivo avaliar a presença de cargas superficiais na molécula, bem como obter informações sobre sua estabilidade (VASCONCELOS et al., 2017).

A baixa estabilidade relacionada com valores de potencial zeta baixos, entre ( $\pm 0-10$  mV) ocorre quando as interações do tipo Van der Waals entre as partículas são maiores que as forças de repulsão da dupla camada elétrica, assim são formados agregados, flóculos ou micelas coloidais no lugar de partículas dispersadas. Coloides que apresentam valores de Potencial Zeta maiores ( $\pm 10-20$  mV), são classificados como relativamente estáveis e moderadamente estáveis ( $\pm 20-30$  mV) e com boa estabilidade (valores maiores do que  $\pm 30$  mV), já as partículas que apresentam valores de Potencial Zeta (maiores do que  $\pm 60$  mV) são consideradas muito estáveis (BHATTACHARJEE, 2016).

Os valores de potencial zeta obtidos são mostrados na Tabela 2, onde pode ser observado que o valor de potencial zeta da celulose bacteriana (CB) é  $-25,63$  mV, sendo que já é relatada na literatura o valor de potencial Zeta de  $-12,9$  mV (JIA et al., 2016).

Os dados da Tabela 2 mostram que ocorreu uma mudança de carga com os valores de potencial zeta da celulose bacteriana e da celulose obtida após o processo de modificação, tendo em vista que o valor obtido para a celulose bacteriana, bem como já relatados na literatura apresenta um valor negativo e após o processo de modificação foi obtido um potencial zeta positivo, característica dada pelo ganho de cátions provenientes do processo de modificação.

**Tabela 2** Potencial Zeta dos polímeros e seus modificados

Amostras	Potencial Zeta (mV)
<b>CB</b>	$-25,63$
<b>CBQ</b>	$+6,99$
<b>GA</b>	$-20,0$
<b>GAQ</b>	$+24,7$

CB-Celulose Bacteriana; CBQ- Celulose Bacteriana Quaternizada; GA-Goma do Angico e GAQ-Goma do Angico Quaternizada.

A análise da goma do angico também mostrou que a carga efetiva ficou mais positiva após o processo de quaternização (GAQ) em relação ao potencial zeta da goma do angico em sua forma natural, sugerindo também que houve adição de grupamentos  $-NH_3$  na GA, alterando assim as interações do material.

Esse fato também foi observado por Quelemes et al., (2017) que realizou a quaternização da goma do cajueiro e obteve um valor de potencial zeta negativo para a goma de cajueiro e todos os derivados quaternizados apresentaram carga negativa, ocorrendo assim uma mudança na carga do polímero em solução.

No processo de quaternização da goma do angico realizado por De Sousa e colaboradores (2019) também foi observado a mesma mudança no potencial zeta para as amostras modificadas em relação a goma do angico pura.

### 5.5 Produção dos filmes

Os filmes foram produzidos utilizando a técnica *casting* que consiste na produção dos filmes a partir de uma solução filmogênica, onde após a evaporação total do solvente utilizado, o filme é formado sobre a superfície da placa, essa secagem do solvente pode ser acelerada por aquecimento (HORN, 2012; JESUS, 2009; BRESSEL, 2007).

É uma das técnicas mais utilizadas na produção de filmes biodegradáveis (BUKZEM et al., 2012), sendo necessário que a solução filmogênica colocada sobre a placa de superfície lisa se solidifique de forma coesa para ocorrer a formação do filme.

Os filmes obtidos com as soluções filmogênicas de celulose bacteriana, celulose bacteriana quaternizada, celulose bacteriana-goma do angico e celulose bacteriana-goma do angico quaternizada não apresentaram problemas no momento de sua retirada da placa, tendo em vista que uma das desvantagens da produção de filmes por *casting* é a dificuldade de retirar os filmes das placas (MALI, 2010). A Figura 9 apresenta um dos filmes produzidos (CB-GAQ), que apresenta características de transparência, homogeneidade e flexibilidade.

**Figura 9** Filme com celulose bacteriana e goma do angico quaternizada



Filme Celulose bacteriana-goma do angico quaternizada.  
Fonte: Autoria Própria, (2019).

### 5.5.1 Microscopia de Força Atômica-(MFA)

A Microscopia de Força Atômica é uma técnica que em sido muito utilizada para estudar diversos materiais, tendo em vista que fornece imagens sobre as superfícies dos materiais e assim tem se tornado um dos equipamentos mais completos em estudo de materiais tanto em micro como nano escala (GIRALDO, 2016).

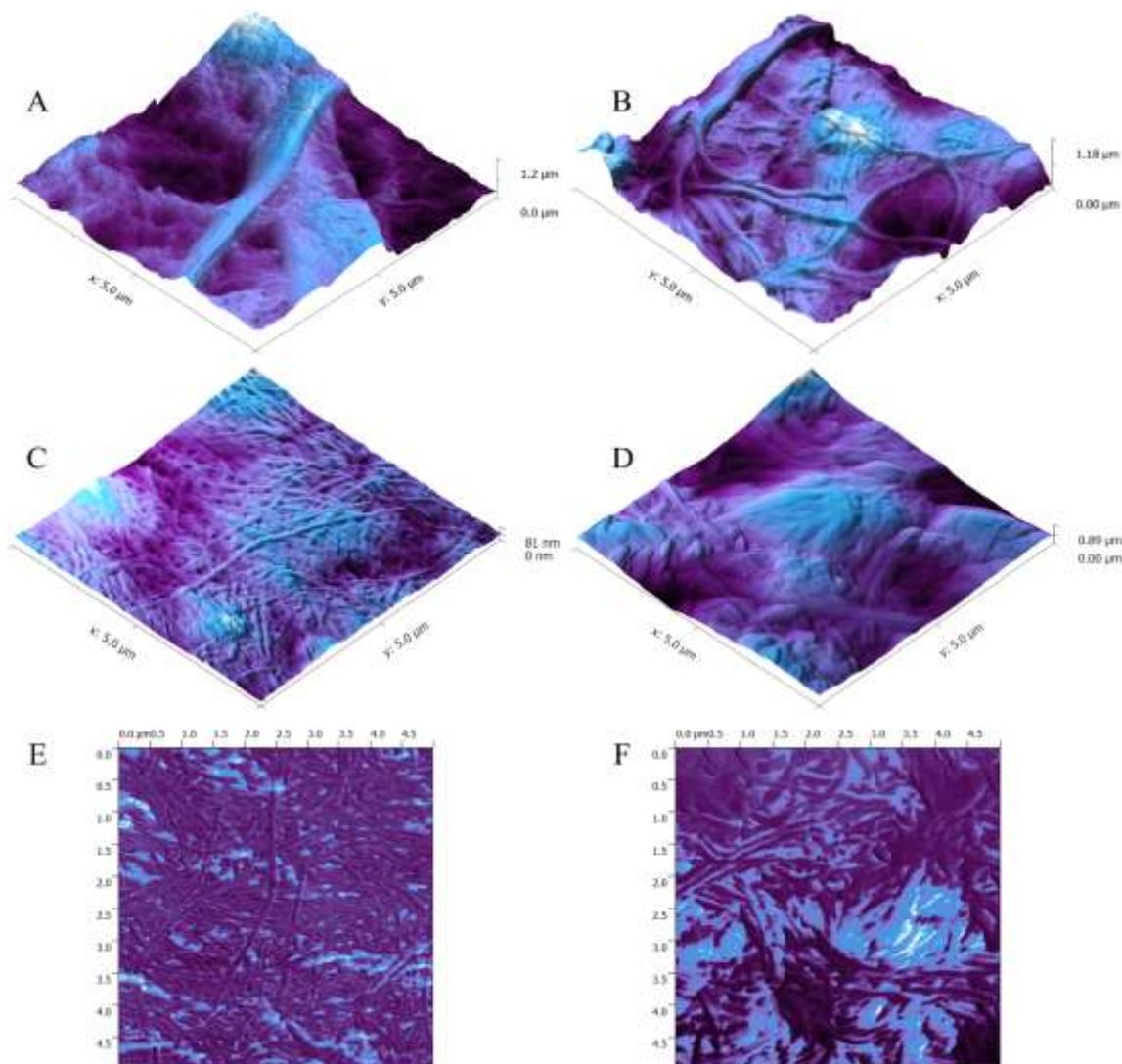
O uso do Microscópio de Força Atômica permite o estudo de propriedades como elasticidade, atrito e desgaste que dependem da morfologia da superfície (ou asperezas microscópicas) e da adesão fornecendo resultados com uma ótima precisão, essas propriedades influenciam diretamente na construção de materiais nanoestruturados, sendo assim, é uma ferramenta bastante importante para o desenvolvimento da nanotecnologia e áreas afins (PINTO et al., 2015)

Pei et al., (2013) utilizaram o Microscópio de Força Atômica para estudar a morfologia e distribuição de tamanho da superfície de nanofibrilas de celulose quaternizada.

A Figura 10 mostra as imagens de MFA para os filmes de celulose bacteriana (CB), celulose bacteriana quaternizada (CBQ), celulose bacteriana-goma do angico(CB-GA) e celulose bacteriana-goma do angico quaternizada(CB-GAQ) onde podemos observar as microfibrilas presentes na superfície celulose bacteriana como relata Barud et al (2008).

De acordo com a Figura 10 podemos visualizar que os filmes apresentam imagens de contraste de acordo com o material presente na solução filmogênica, ao analisar as imagens Figura 10E e Figura 10F, podemos observar as diferenças devido à presença da goma do angico e da goma do angico quaternizada.

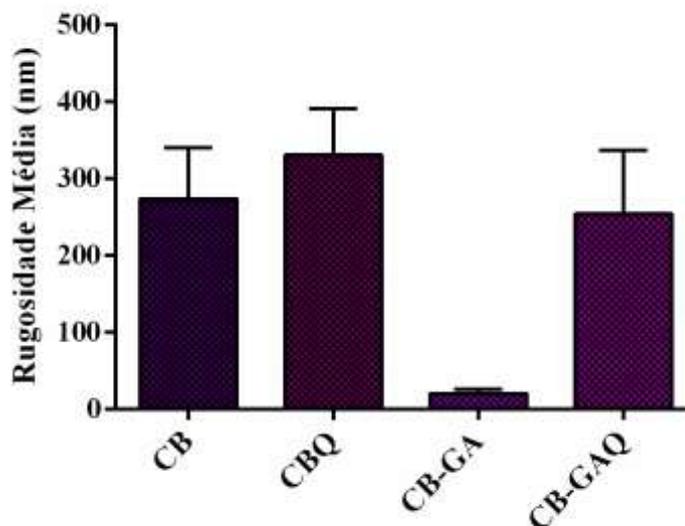
**Figura 10** Imagens da Microscopia de Força Atômica



Microscopia de Força Atômica das amostras: (A) CB – Imagem 3D; (B) CBQ – Imagem 3D; (C) CB-GA - Imagem 3D; (D) CB-GAQ - Imagem 3D; (E) CB-GA - Imagem 2D – PHASE e (F) CB-GAQ - Imagem 2D – PHASE Imagens com escala de tamanho de 5  $\mu\text{m}$  e uma resolução de 512 pixels.

Neste estudo, apresentamos que o processo de modificação com o Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio-CHPTAC causou uma variação na rugosidade, onde a celulose bacteriana quaternizada apresentou uma rugosidade média maior que os filmes de celulose bacteriana. Podemos também observar este fato para o filme formado com a celulose bacteriana e a goma do angico quaternizada que apresentou uma rugosidade média bem mais elevada do que para o filme de celulose bacteriana e goma do angico. Este fator pode estar relacionado com a inserção de grupamentos provenientes do reagente de amônio quaternário utilizado na modificação. A Figura 11 traz a rugosidade média dos filmes.

**Figura 11** Rugosidade média dos filmes.



CB(celulose bacteriana); CBQ(celulose bacteriana quaternizada); CB-GA(celulose bacteriana-goma do angico) e CB-GAQ(celulose bacteriana-goma do angico quaternizada). Os resultados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).

A Figura 11 mostra as medidas de rugosidade para os filmes produzidos, onde podemos observar que ambos os filmes com polímeros quaternizados apresentou uma maior rugosidade média, também é mostrado que o filme CB-GAQ apresentou um diferença mais notável.

Gao et al., (2016) em estudo com substratos contendo ligações C–H, como plásticos, tecidos e vidro modificado com amônio quaternário dodecil-alquilado para formar um filme polimérico, observaram por Microscopia de Força Atômica que após o processo de modificação houve uma variação na rugosidade de 0,26 a 1,2 nm.

A rugosidade é um aspecto muito importante nos estudos de produção de compósitos e diversos outros que envolvem a utilização de celulose, pois se relacionam diretamente com as características de adesão das amostras (JELIL, 2015).

### 5.5.2 Espessura

A espessura dos quatro filmes produzidos foi determinada pela leitura de 5 pontos de cada filme, com o auxílio do micrômetro digital, onde foi calculado a média e o desvio padrão desses pontos e são relatados na Tabela 3.

**Tabela 3** Espessura dos filmes produzidos

Filmes	CB	CBQ	CB-GA	CB-GAQ
<b>Espessura</b>	0,111mm	0,103 mm	0,109 mm	0,108 mm
<b>Desvio Padrão</b>	0,003 mm	0,002 mm	0,002 mm	0,002 mm

CB(celulose bacteriana); CBQ(celulose bacteriana quaternizada); CB-GA(celulose bacteriana-goma do angico) e CB-GAQ(celulose bacteriana-goma do angico quaternizada).

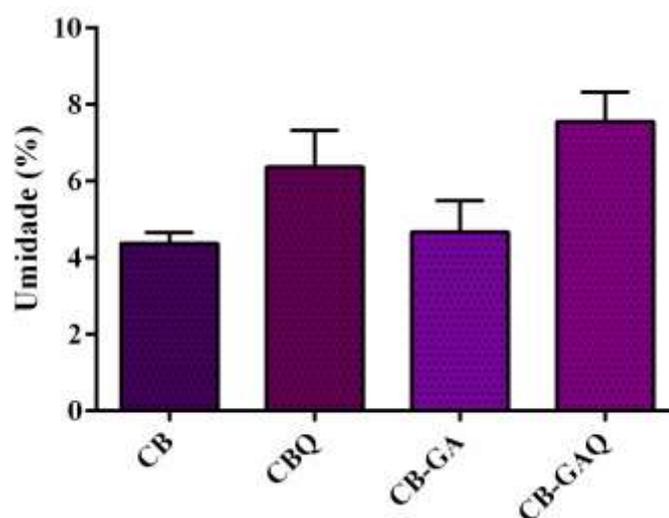
Almeida e Colaboradores (2013) analisaram as propriedades físicas, químicas e de barreira em filmes formados por misturas de celulose bacteriana e fécula de batata, e obtiveram filmes de celulose bacteriana pura com uma espessura de 0,02 mm e observaram que nos filmes com celulose bacteriana e fécula de batata, quanto maior a concentração de celulose maior seria a espessura do filme.

Oliveira (2013) estudou o desenvolvimento de filmes biodegradáveis a base de proteína de mamona reforçada com fibras de celulose, encontrando valores médios de espessura de  $0,127 \pm 0,004$  mm, apresentando valores próximos aos encontrados para os filmes produzidos neste trabalho e um desvio padrão maior.

A espessura dos filmes sofre variação decorrente do método utilizado para a sua produção, na técnica de *casting* os filmes são produzidos a partir de uma solução filmogênica vertida sobre uma placa, onde o solvente é evaporado e o filme formado pode apresentar variação na sua espessura (MALI, 2002; SOBRAL et al., 2000).

### 5.5.3 Umidade

Para a obtenção do teor de umidade dos filmes produzidos foi utilizado à verificação através das medidas de perda de peso conforme Ferreira (2005). A Figura 12 apresenta o teor de umidade dos filmes produzidos. As análises demonstram que os filmes compostos por polímeros quaternizados apresentaram um teor de umidade um pouco maior que os outros filmes, no entanto ao realizar o teste de Turkey, com um nível de significância de 5%, não foi observado diferença estatisticamente significativa, demonstrando assim que a adição tanto da goma do angico a celulose bacteriana, bem como os polímeros após o processo de quaternização não alteram a característica dos filmes em relação ao teor de umidade de forma significativa.

**Figura 12** Teor de umidade dos filmes

CB-Celulose bacteriana; CBQ-Celulose bacteriana quaternizada; CB-GA-Celulose bacteriana-goma do angico e CB-GAQ-Celulose bacteriana-goma do angico quaternizado.

Wan e colaboradores (2009) em estudo sobre a produção de biocompósitos de nanofibrilas de celulose bacteriana e amido e concluíram que este material apresentava alta eficiência nas propriedades de tensão, resistência a umidade e ao ataque de microrganismos.

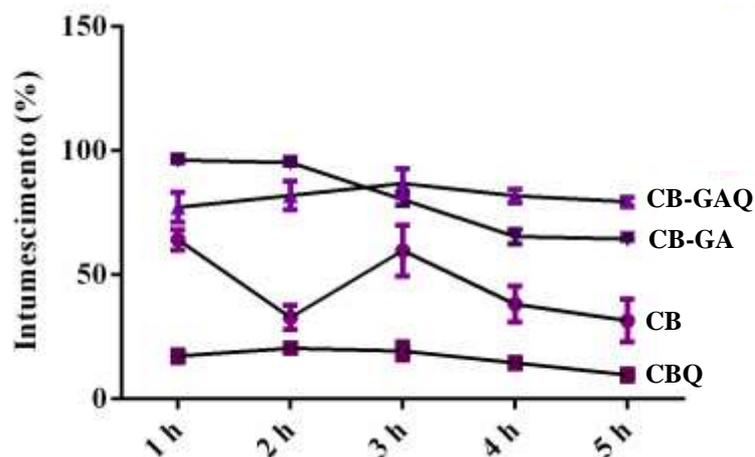
Em estudo sobre o desenvolvimento de filmes poliméricos de agarose e filmes poliméricos de agarose contendo nanopartículas de prata para atuar como agente antimicrobiano, foi observado que os filmes de agarose possuíam cerca de 30% de teor de umidade e os filmes contendo as nanopartículas de prata possuíam cerca de 29% de teor de umidade, inferindo assim que as nanopartículas de prata não causaram alterações no teor de umidade dos filmes poliméricos (ONOFRE, 2014).

#### 5.5.4 Intumescimento

A avaliação da capacidade de absorção de água (intumescimento) é uma análise de grande relevância em estudos sobre produção e caracterização de filmes, pois sua interação com a água pode vir a interferir nas propriedades mecânicas. O índice de intumescimento é avaliado de acordo com um aumento de massa devido à absorção de água, conforme descrito por Lima e Colaboradores (2007).

Na Figura 13 é possível observar os resultados do índice de intumescimento dos filmes celulose bacteriana, celulose bacteriana quaternizada, celulose bacteriana-goma do angico e celulose bacteriana-goma do angico quaternizada de acordo com a massa dos filmes secos com a massa obtidos após imersão dos filmes em água, por um período de 1 a 5 horas. Podemos observar que todos os filmes apresentaram um índice de intumescimento que foi diminuindo de acordo com o tempo em contato com a água, tendo em vista que ambos os materiais apresentam grupamentos hidroxilas que apresentam interações do tipo ligação de hidrogênio. Os filmes com polímeros quaternizados causam um aumento das interações com a água como é relatado na literatura (QUELEMES et al., 2017; SINGH et al., 2010; WANG et al., 2015).

**Figura 13** Índice de intumescimento dos filmes



CB-Celulose bacteriana; CBQ-Celulose bacteriana quaternizada; CB-GA-Celulose bacteriana-goma do angico e CB-GAQ-Celulose bacteriana-goma do angico quaternizada

O filme de celulose bacteriana apresentou um maior índice de intumescimento quando comparada com o filme de celulose bacteriana quaternizada, a celulose bacteriana é um polímero que apresenta alta capacidade de absorção e retenção de água (BARUD, 2008).

Após as 3 horas de imersão é observado que o filme CB-GA apresenta um maior índice de intumescimento e que apresentou maiores índices para todos os horários comparada com o filme CB. O Filme CBQ apresentou um pequeno aumento no índice de intumescimento após o 2 horas e para os resultados seguintes ocorreu uma diminuição que pode ser explicado pela desintegração do filme e conseqüente perda de massa. Para as composições que apresentavam goma do angico foi observado um índice de intumescimento maior quando comparado as formulações contendo somente celulose, é relatado na literatura que filmes com composições contendo goma arábica, foram registrados aumentos dos valores de hidratação

proporcionais ao aumento da participação deste polissacarídeo (GABAS, CAVALCANTI, 2003).

### 5.5.5 Teste de Difusão em ágar

O teste de difusão em ágar foi realizado utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

A Figura 14 traz os resultados do teste de difusão para os filmes CB-GA e CB-GAQ, onde podemos observar que não apresentou halo de inibição para ambos os filmes testados e para as respectivas bactérias. No entanto, na Figura 14(A) podemos observar que no filme de CB-GAQ testada contra a *S. aureus* não houve crescimento da bactéria.

**Figura 14** Teste de difusão

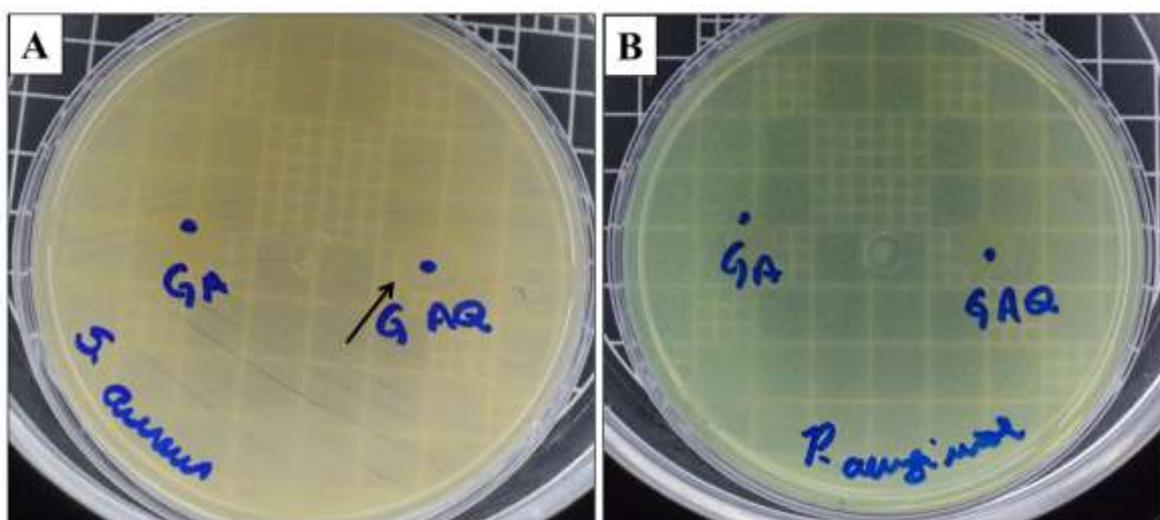


Figura A: Teste para a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) com o filme CB-GA-Goma do Angico-Celulose bacteriana e com o filme CB-GAQ-Goma do Angico-Celulose Bacteriana Quaternizada e Figura B: Teste para a bactéria e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) com o filme CB-GA-Goma do Angico-Celulose Bacteriana e com o filme CB-GAQ-Goma do Angico-Celulose Bacteriana Quaternizada.

Fonte: Autoria Própria, (2019).

Quelemes e Colaboradores (2017) propôs a modificação da goma do cajueiro com o reagente de amônio quaternário utilizado neste trabalho e produziu derivados quaternizados com carga positiva apresentando atividade antibacteriana contra bactérias do gênero *Staphylococcus*.

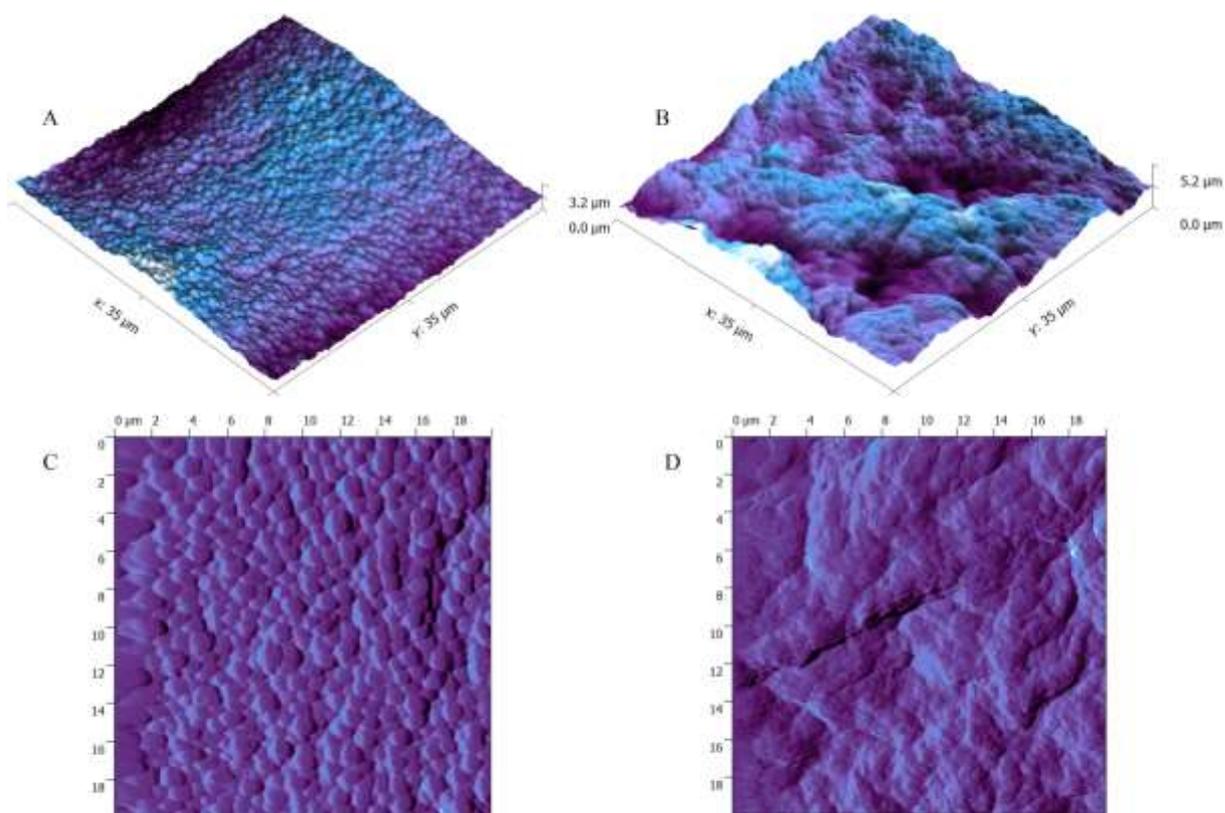
De acordo com dados da literatura, as bactérias *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) é uma das bactérias mais testadas com relação à atividade antibacteriana de

polissacarídeos catiônicos (DE SOUSA et al., 2019; QUELEMES et al., 2017; HU et al., 2016).

É reportado pela literatura que a *S. aureus* é uma espécie resistente e que os agentes catiônicos surgem como materiais capazes de contribuir para a prevenção e tratamento de infecções cutâneas, particularmente aquelas causadas por bactérias do gênero *Staphylococcus* (YU et al., 2015).

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma Gram-negativa, por tanto este resultado está de acordo com Jennings et al., (2015) que afirma que o efeito de materiais modificados com compostos de amônio quaternário é reduzido em espécies Gram-negativas devido a presença de uma membrana adicional externa, constituída por uma camada dupla de fosfolípidos, atuando como barreira para a penetração de tais agentes. Os resultados obtidos no teste de difusão podem ser confirmados pela Microscopia de Força Atômica, de acordo com a Figura 15.

**Figura 15** Microscopia de Força Atômica do Filme CB-GA e CB-GAQ testada contra *S. aureus*.



A - Imagem 3D do filme CB-GA de 35 µm; B - Imagem 3D do filme CB-GAQ de 35 µm; C - Imagem 2D do filme CB-GA de 20 µm D - Imagem 2D do filme CB-GAQ de 20 µm. Todas as imagens possuem resolução de 512 pixels.

A Figura 15 (A e C) mostram os filmes de CB-GA após o teste de difusão em ágar com a bactéria *S. aureus*, onde podemos observar que houve o crescimento bacteriano, pois o filme não apresentava atividade. Na Figura 15 (B e D) é mostrado o filme CB-GAQ após o teste com a bactéria *S. aureus*, onde é observado que sofre alteração quando comparado com as Figuras 15 A e C. Essas imagens de micrografia correspondem ao filme CB-GAQ após o teste de atividade antibacteriana para a mesma espécie Gram-positiva, constatando assim que o filme CB-GAQ apresentou atividade antibacteriana contra a bactéria *S. aureus*.

O filme CB-GA apresentou um aglomerado de bactérias presentes no filme após a realização do teste de difusão, de acordo com o que é citado por Quelemes et al., (2017) ao realizar a avaliação por Microscopia de Força Atômica da mesma espécie de bactéria, apresentando-se da mesma forma.

De Sousa et al., (2019) avaliou o efeito da goma do angico quaternizado por Microscopia de Força Atômica e observou que o grupo controle não causou alteração na morfologia da *S. aureus* e observou que foram causadas alterações na escala de tamanho e aspectos morfológicos das bactérias tratadas com o material testado.

## 6 CONCLUSÃO

- A modificação quimicamente da celulose bacteriana e da goma do angico foi realizada utilizando a reação de quaternização com o reagente de amônio quaternário Cloreto de (3-Cloro-2-hidroxipropil)trimetilamônio-CHPTAC.
- A caracterização por meio da Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho comprovou o aparecimento de duas bandas características de materiais modificados por quaternização.
- Os modificados apresentaram uma variação na mudança de carga após a reação de quaternização confirmada por Potencial Zeta.
- Foram produzidos 4 filmes utilizando a técnica de *casting* com soluções filmogênicas com CB-celulose bacteriana, CBQ-celulose bacteriana quaternizada, CB-GA-celulose bacteriana e a goma do angico e CB-GAQ-celulose bacteriana e a goma do angico quaternizada.
- Após o processo de modificação foi observado que a rugosidade média dos filmes sofreu variação, onde a celulose bacteriana quaternizada apresentou a rugosidade média maior que a celulose bacteriana antes da quaternização.
- Os filmes produzidos não apresentaram um teor de umidade com diferença estatisticamente significativa, demonstrando assim que a adição tanto da goma do angico a celulose bacteriana, bem como os polímeros após o processo de quaternização não alteram a característica dos filmes em relação ao teor de umidade.
- O teste de atividade antibacteriana para os filmes CB-GA e CB-GAQ contra espécie Gram-negativa e Gram-positiva por método de difusão em ágar demonstrou que o filme CB-GAQ apresentou atividade contra a espécie *S. aureus*, sendo confirmado por microscopia de força atômica, apresentando-se assim como um biomaterial promissor em aplicações biotecnológicas.

## REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. et al. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007.

ALMEIDA, D. M. et al. Propriedades físicas, químicas e de barreira em filme formados por blenda de celulose bacteriana e fécula de batata. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 23, n. 4, p. 538-546, 2013.

ASHORI, A. et al. Bacterial cellulose/silica nanocomposites: Preparation and characterization. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 1, p. 413-418, 2012.

BANERJEE, C., et al. Study of algal biomass harvesting using cationic gum from the natural plant source as flocculant. **Carbohydrate Polymers**, v.92, p.675-681, 2013.

BANERJEE, C., et al. Study of algal biomass harvesting through cationic cassia gum, a natural plant based biopolymer. **Bioresource Technology**, v. 151, p. 6–11, 2014.

BARUD, H. S. et al. Antimicrobial bacterial cellulose-silver nanoparticles composite membranes. **Journal of Nanomaterials**, v. 2011, p. 10, 2011.

BARUD, H. S. Materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana. 2010.

BARUD, H. S. Preparo e caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana. 2006.

BARUD, H. S. et al. Self-supported silver nanoparticles containing bacterial cellulose membranes. **Materials Science and Engineering: C**, v. 28, n. 4, p. 515-518, 2008.

BARUD, H. S. et al. Thermal behavior of cellulose acetate produced from homogeneous acetylation of bacterial cellulose. **Thermochimica Acta**, v. 471, n. 1-2, p. 61-69, 2008.

BRANDÃO, M. G. L et al. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 141-148, 2008.

BRESSEL, T. A. B. Sistema gerador de microcápsulas de alginato. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 70 p. (2007)

BRITO, A. C. F. et al. Sterculia striata exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with Sterculia urens (karaya) polysaccharide. **Polymer International**, v. 53, n. 8, p. 1025-1032, 2004.

BROWN, A. J. XLIII.—On an acetic ferment which forms cellulose. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 49, p. 432-439, 1886.

CASTRO, C. et al. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 96-102, 2011.

CHAWLA, P. R. et al. Microbial cellulose: fermentative production and applications. **Food Technology & Biotechnology**, v. 47, n. 2, 2009.

CHENG, H. P. et al. Cultivation of *Acetobacter xylinum* for bacterial cellulose production in a modified airlift reactor. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 35, n. 2, p. 125-132, 2002.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**, 27th ed. Wayne: CLSI; 2017.

CORREA, M. P. - **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro (1926).

COSTA, S. M. O. ; RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. Monitorização do processo de purificação de gomas naturais: Goma do cajueiro. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 2, p. 49-55, 1996.

Coutinho, M. A. S., et al. Flavonóides: **Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório**. *Revista Virtual de Química*, v. 3, n. 1, 2008.

CRINI, G. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. **Progress in Polymer Science**, v. 30, n. 1, p. 38-70, 2005.

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, n. 9, p. 5105-5122, 2009.

DE SOUSA, A. K. A et al. Quaternization of angico gum and evaluation of anti-staphylococcal effect and toxicity of their derivatives. **International journal of biological macromolecules**, 2019.

DOLE, P.; JOLY, C.; ESPUCHE, E.; ALRIC, I.; GONTARD, N. Gas transport properties of starch based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 335-343, 2004.

DONINI, Í. A. N. et al. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética Química**, p. 165-178, 2010.

ELIZONDO, N. J. et al. Development of films based on blends of Amaranthus cruentus flour and poly (vinyl alcohol). **Carbohydrate polymers**, v. 75, n. 4, p. 592-598, 2009.

FU, L.; ZHANG, J.; YANG, G. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 2, p. 1432-1442, 2013.

GABAS, V. G. S.; CAVALCANTI, O.A. Influência da adição da goma arábica em filmes isolados de polímero acrílico: estudo das propriedades de intumescimento e de permeabilidade. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 4, p. 440-448, 2003.

GAO, J. et al. Surface grafted antimicrobial polymer networks with high abrasion resistance. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 2, n. 7, p. 1169-1179, 2016.

GARCÍA, M. A. et al. Characterization of composite hydrocolloid films. **Carbohydrate polymers**, v. 56, n. 3, p. 339-345, 2004.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, v. 44, p. 63-69, 1990.

GIRALDO, G. A. G. Funcionalização De Nanocelulose De Celulose Bacteriana Com Colágeno Hidrolisado. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Estadual de Londrina, 2016.

GODINHO, J. F. et al. Incorporation of Aloe vera extracts into nanocellulose during biosynthesis. **Cellulose**, v. 23, n. 1, p. 545-555, 2016.

GREGORUT, C. Avaliação do desempenho de uma língua eletrônica na identificação de cultivares de soja. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

GUZUN, A. S. et al. Plackett–Burman experimental design for bacterial cellulose–silica composites synthesis. **Materials Science and Engineering: C**, v. 42, p. 280-288, 2014.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. **Chemical reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.

- HASAN, N.; BIAK, D. R. A.; KAMARUDIN, S. Application of bacterial cellulose (BC) in natural facial scrub. **International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology**, v. 2, n. 4, p. 272-275, 2012.
- HE, X. et al. Uniaxially aligned electrospun all-cellulose nanocomposite nanofibers reinforced with cellulose nanocrystals: scaffold for tissue engineering. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 2, p. 618-627, 2014.
- HORN, M. M. Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química. 147 f., 2012.
- HUANG, J. et al. Nonleaching antibacterial glass surfaces via “grafting onto”: the effect of the number of quaternary ammonium groups on biocidal activity. **Langmuir**, v. 24, n. 13, p. 6785-6795, 2008.
- HU, D.; WANG, L. Preparation and characterization of antibacterial films based on polyvinyl alcohol/ quaternized cellulose. **Reactive and Functional Polymers**, v.101, p.90-98, 2016.
- JELIL, R. A. A review of low-temperature plasma treatment of textile materials. **Journal of materials science**, v. 50, n. 18, p. 5913-5943, 2015.
- JENNINGS, M. C.; MINBIOLE, K. P. C.; WUEST, W. M. Quaternary ammonium compounds: an antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance. **ACS Infectious Diseases**, v.1, p.288-303, 2015.
- JESUS, C.G. D. **Filmes automontados do cloreto de 3-n-Propilpiridínio silsesquioxano e Ftalocianina de cobre obtidos pela técnica LbL: preparação, caracterização e aplicações.** 2009.
- JIAO, Y. et al. Quaternary ammonium-based biomedical materials: State-of-the-art, toxicological aspects and antimicrobial resistance. **Progress in Polymer Science**, v. 71, p. 53-90, 2017.
- JOZALA, A. F. et al. Produção de Celulose Bacteriana: Uma Nova Tendência. **Micro. in foco**, v. 14, p. 14-17, 2011.
- JOZALA, A. F. et al. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 5, p. 2063-2072, 2016.
- KHALIL, H. P. S. A.; BHAT, A. H.; YUSRA, A. F. I. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.87, p.963-979, 2012.

KHANDELWAL, M.; WINDLE, A. H. Self-assembly of bacterial and tunicate cellulose nanowhiskers. **Polymer**, v. 54, n. 19, p. 5199-5206, 2013.

KLEMM, D. et al. Bacterial synthesized cellulose—artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in polymer science**, v. 26, n. 9, p. 1561-1603, 2001.

KLEMM, D. et al. Nanocellulose materials – different cellulose, different functionality. **Macromolecular Symposia**, v. 280, p. 60-71, 2009.

KLEMM, D. et al. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358-3393, 2005.

KLEMM, D. et al. Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 24, p. 5438-5466, 2011.

KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunities. In: GENNADIOS, A. **Protein-Based Films and Coatings**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 672, 2002.

KUMAR, M.A. A. Carboxymethyl gum kondagogu: Synthesis, characterization and evaluation as mucoadhesive polymer. **Carbohydrate Polymers**, 2012. 90: p. 637– 643.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose coatings as new release systems for active packaging. **Carbohydrate polymers**, v. 103, p. 528-537, 2014.

LAVOINE, N. et al. Microfibrillated cellulose—Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 2, p. 735-764, 2012.

LIANG, S. et al. Comparative investigation of the molecular interactions in konjac gum/hydrocolloid blends: Concentration addition method (CAM) versus viscosity addition method (VAM). **Carbohydrate polymers**, v. 83, n. 3, p. 1062-1067, 2011.

LIMA, H.L.S. **Filmes antioxidantes comestíveis de celulose bacteriana e hidrolisado de gelatina de pele de peixe**. Embrapa Agroindústria Tropical-Tese/dissertação (ALICE), 2018.

LIMA, A. M. F. et al. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Quím. Nova**, v.30, n.4, p.832-837, 2007.

LIN, D. et al. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. **Bioresource technology**, v. 151, p. 113-119, 2014.

LIN, W. C. et al. Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. **Carbohydrate polymers**, v. 94, n. 1, p. 603-611, 2013.

LORENZI, H. Árvores brasileiras. **Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1998. v. 1, p. 172 e 174, 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v.1, p. 368, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª edição. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

MADIGAN, T. M. et al. **Microbiologia de Brock**. 12ª edição, São Paulo: Artmed, 2010.

MAGIORAKOS, A.P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical microbiology and infection**, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. **Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

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

MATHIESON, D. W. Standard methods of chemical analysis. Instrumental analysis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 19, n. 1, p. 72-72, 1967.

MISSOUM, K. et al. Antibacterial activity and biodegradability assessment of chemically grafted nanofibrillated cellulose. **Materials Science and Engineering C**, Raleigh, v. 45, p. 477–483, Dec. 2014.

MISSOUM, K. et al. Effect of chemically modified nanofibrillated cellulose addition on the properties of fiber-based materials. **Industrial Crops and Products**, v. 48, p. 98-105, 2013.

MOON, R. J. et al. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 7, p. 3941-3994, 2011.

MONTEIRO, J. M. et al. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 1-2, p. 173-186, 2006.

MÜLLER, C.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 82-87, 2008.

MUÑOZ-BONILLA, A. ; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Polymeric materials with antimicrobial activity. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 2, p. 281-339, 2012.

NGUYEN, V. T. et al. Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from Kombucha. **Current Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 449, 2008.

NOVAC, O. et al. Antibacterial quaternized gellan gum based particles for controlled release of ciprofloxacin with potential dermal applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 35, p. 291-299, 2014.

NAKASHIMA, K. et al. The crystalline phase of cellulose changes under developmental control in a marine chordate. **Cellular and molecular life sciences**, v. 68, n. 9, p. 1623-1631, 2011.

NAKAGAITO, A. N.; NOGI, M.; YANO, Hiroyuki. Displays from transparent films of natural nanofibers. **MRS bulletin**, v. 35, n. 3, p. 214-218, 2010.

OLIVEIRA, J. F. **Deposição de filmes de ZrO<sub>2</sub> modificados sobre substratos metálicos**. Dissertação. Mestrado em Química – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 71 f., 2010.

OLIVEIRA, M. A. Modificação Química da Goma do angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth): utilização como adsorvente de metais pesados. Dissertação. Mestrado em Química – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 89 f., 2005

OLIVEIRA, M. A., et al. Synthesis and Characterization of Carboxymethylated Red Angico (*Anadenanthera macrocarpa*) Exudate Polysaccharide. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, p. 2985–2991, 2006.

ONOFRE, N. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos a partir de ágar, agarose e kefirana com incorporação de nanopartículas de prata. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2014.

PALMU, P. T.; FAKHOURI, M. F.; GROSSO, C. R. F. Extensão da vida útil de frutas tropicais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, p. 12-17, 2002.

PAL, S.; MAL, D.; SINGH, R. P. Cationic starch: an effective flocculating agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 4, p. 417-423, 2005.

PAULA, R. C. M de; BUDD, P. M.; RODRIGUES, J.F. Characterization of *Anadenanthera macrocarpa* exudate polysaccharide. **Polymer international**, v. 44, n. 1, p. 55-60, 1997.

PAULA, H. C. B. et al. Lippia sidoides Essential Oil Encapsulation by Angico Gum/Chitosan Nanoparticles. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 21, N.12, 2359-2366, 2010.

PAVIA, D. et al. **Espectroscopia no infravermelho. Introdução à Espectroscopia**. Tradução d ed., p.15–98, 2010. São Paulo-SP: Cengage Learning.

PECORARO, É. et al. Bacterial cellulose from *Glucanacetobacter xylinus*: preparation, properties and applications. In: **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Elsevier, 2007. p. 369-383.

PEI, A. et al. Surface quaternized cellulose nanofibrils with high water absorbency and adsorption capacity for anionic dyes. **Soft Matter**, v. 9, n. 6, p. 2047-2055, 2013.

PERTILE, R. A. N. et al. Surface modification of bacterial cellulose by nitrogen-containing plasma for improved interaction with cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 692-698, 2010.

PINTO, E. P.; RAMOS, G. Q; DA FONSECA FILHO, H. D. O Microscópio de Força Atômica (AFM): importante ferramenta no estudo da morfologia de superfícies na escala nanométrica. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 3, n. 2, p. 41-50, 2015.

PIRANI, S.; HASHAIKEH, R. Nanocrystalline cellulose extraction process and utilization of the byproduct for biofuels production. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 1, p. 357-363, 2013.

PINKERT, A. et al. Ionic liquids and their interaction with cellulose. **Chemical reviews**, v. 109, n. 12, p. 6712-6728, 2009.

PITOMBEIRA, N. A. O. et al. (2015). Self-assembled nanoparticles of acetyled cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, (6)117, 610-615.

QUEIROZ, L. P. Leguminosas da caatinga. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana; Kew. **Royal Botanic Gardens**, 2009.

QUELEMES, P.V. et al. Quaternized cashew gum: An anti-staphylococcal and biocompatible cationic polymer for biotechnological applications. **Carbohydrate Polymers**, 157, 567-575, 2017.

RANA, V. et al. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate polymers**, v. 83, n. 3, p. 1031-1047, 2011.

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

RINDLAV-WESTLING, A., STADING, M., GATENHOLM, P. Crystallinity and morphology in films of starch, amylose and amylopectin blends. **Biomacromolecules**, v. 3, p. 84-91, 2003.

RODRIGUES, J. F.; Paula, R. C. M.; Costa, S. M. O. Métodos de Isolamento de Gomas Naturais: Comparação Através da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 3, nº 1, 31, 1993.

SANCHAVANAKIT, N. et al. Growth of human keratinocytes and fibroblasts on bacterial cellulose film. **Biotechnology progress**, v. 22, n. 4, p. 1194-1199, 2006.

SASKA, S. **Materiais compósitos orgânicos-inorgânicos a base de celulose bacteriana com peptídeos regulatórios de fatores de crescimento, OGP e OGP [10-14], para regeneração óssea.** 2011.

SHAH, N. et al. Overview of bacterial cellulose composites: a multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1585-1598, 2013.

SELBY, H. H. et al. In: **Industrial gums**. Academic Press, p. 87-103, 1993.

SHI, S. et al. Biomimetic mineralization synthesis of calcium-deficient carbonate-containing hydroxyapatite in a three-dimensional network of bacterial cellulose. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v. 84, n. 2, p. 285-290, 2009.

SILVA, D. J. et al., Nanocristais de celulose. **O Papel**, vol. 70, n. 07, p. 34-52, 2009.

SILVA, F. E. F. et al. PVA/polysaccharides blended films: mechanical properties. **Journal of Materials**, p.1-6, 2013.

SILVA, D. A. et al. Carboxymethylation of cashew tree exudate polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 2, p. 163-171, 2004.

SILVA, A.G. et al., Composição e Propriedades Reológicas da Goma do Angico (*Anadenanthera Macrocarpa* Benth). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 1998.

SINGH, M. et al. Investigations on interpolymer complexes of cationic guar gum and xanthan gum for formulation of bioadhesive films. **Research in pharmaceutical sciences**, v. 5, n. 2, p. 79, 2010.

SIRO, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. **Cellulose**, v. 17, n. 3, p. 459-494, 2010.

SOBRAL, P.J.A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciencia e engenharia**. Uberlândia, v.8, n.1, p.60-67, 1999.

SOLOMONS, T.; GRAHAM, W. **Química orgânica**, volume 2, 7ª edição (2002). Editora LTC, Rio de Janeiro.

SONG, Y. et al. Flocculation properties and antimicrobial activities of quaternized celluloses synthesized in NaOH/urea aqueous solution. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 3, p. 1242-1246, 2009.

SONG, Y. et al. Homogeneous quaternization of cellulose in NaOH/urea aqueous solutions as gene carriers. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 8, p. 2259-2264, 2008.

TANSKUL, S.; AMORNTHATREE, K.; JATURONLAK, N. A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 1, p. 421-428, 2013.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, p. 71-78, 2003.

TROVATTI, E. et al. Biocellulose membranes as supports for dermal release of lidocaine. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 11, p. 4162-4168, 2011.

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, n. 1, p. 83-87, 2012.

UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; PARK, J. K. Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p. 596-603, 2012.

WANG, S. et al. Production of cationic xylan–METAC copolymer as a flocculant for textile industry. **Carbohydrate polymers**, v. 124, p. 229-236, 2015.

WAN, Y. Z. et al. Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 69, n. 7-8, p. 1212-1217, 2009.

WEBER, C.R. et al., *Anadenanthera colubrina*: um estudo do potencial terapêutico. Artigo de revisão. **Revista brasileira de farmácia**. 92(4): 235-244, 2011.

WOLLERDORFER, M.; BADER, H. Influence of natural fibers on the mechanical properties of biodegradable polymers. **Industrial Crops and Products**, v. 8, p. 105-112, 1998.

XU, C. A. S.L. et al. Acetylation and characterization of spruce (*Picea abies*) galactoglucomannans. **Carbohydrate Research**, v.345, p. 810–816, 2010.

YAMADA, Yuzo; HOSHINO, Ken-ichiro; ISHIKAWA, Tetsuya. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16S ribosomal RNA: the elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to the generic level. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 61, n. 8, p. 1244-1251, 1997.

YAN, Z.; CHEN, S.; WANG, H.; WANG, B.; JIANG, J. (2008). Biosynthesis of bacterial cellulose / multi-walled carbon nanotubes in agitated culture. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 659–665, 2008.

YU, F.; LIU, et al. Antimicrobial susceptibility, virulence determinant carriage and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates associated with skin and soft tissue infections. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.19, n.6, p.614-622, 2015.

ZHANG, G. et al. Acetylation of rice straw for thermoplastic applications. **Carbohydrate polymers**, v. 96, n. 1, p. 218-226, 2013.

ZHANG, K.; PEI, Z.; WANG, D. Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: a review. **Bioresource technology**, v. 199, p. 21-33, 2016.

ZHIJIANG, C.; GUANG, Y. Bacterial cellulose/collagen composite: characterization and first evaluation of cytocompatibility. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, n. 5, p. 2938-2944, 2011.

ZHU, X. et al. Cationic amphiphilic microfibrillated cellulose (MFC) for potential use for bile acid sorption. **Carbohydrate polymers**, v. 132, p. 598-605, 2015.

ZHU, S. et al. Dissolution of cellulose with ionic liquids and its application: a mini-review. **Green Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 325-327, 2006.

ZIMMERMANN, K. A. et al. Biomimetic design of a bacterial cellulose/hydroxyapatite nanocomposite for bone healing applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, n. 1, p. 43-49, 2011.