UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

PAULO DE TARSO LAIA DOS REIS E SILVA PUPIO

Produção e avaliação das propriedades de compósitos derivados de pululana e celulose bacteriana

Lorena
2020

PAULO DE TARSO LAIA DOS REIS E SILVA PUPIO

Produção e avaliação das propriedades de compósitos derivados de pululana e celulose bacteriana

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Concentração de Conversão de Biomassa.

Orientadora: Profa. Dra. Talita Martins Lacerda

Versão Corrigida

Lorena

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Pupio, Paulo de Tarso Laia dos Reis e Silva
Produção e avaliação das propriedades de compósitos derivados de pululana e celulose bacteriana / Paulo de Tarso Laia dos Reis e Silva Pupio; orientadora Talita Martins Lacerda - Versão Corrigida. - Lorena, 2020.
136 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2020

1. Pululana . 2. Celulose bacteriana. 3. Compósitos. 4. Hidrofobização . 5. Triclorometilsilano.. I. Título. II. Lacerda, Talita Martins , orient.

AGRADECIMENTOS

A DEUS primeiramente, porque uma vida sem DEUS é uma vida sem direção.

À minha mãe, que dedicou sua vida a mim.

Aos meus avós e ao meu querido tio, que me deram todo apoio necessário.

À minha Orientadora. Talita Lacerda, que não poupou gastos para que a pesquisa desse certo, e que aguentou meu atraso até o fim, com exigência, mas com parcimônia.

Ao estagiário Júlio Conti, que era melhor do que eu e a quem devo a melhor conclusão desse mestrado.

Ao Professor Júlio César, que esteve sempre presente.

À Rafaela Boesso, por ter estado comigo nos momentos mais cruciais.

À minha fisioterapeuta, Camila, por ter me tratado de todas as minhas lesões.

Ao Ruly Hilares, Lucas Ramos e Marcos Moacir, por terem estado presentes, sido bons companheiros e por terem me ensinado e compartilhado bons momentos. O laboratório foi muito melhor com vocês por perto. Em especial ao Lucas, por fazer eu me sentir Especial.

Ao Silvio Silvério, vulgo SSS, pela amizade, e por também ter provido seus recursos laboratoriais.

Aos ICs relacionados ao meu trabalho. Gabriel Godoy, Gabriel Martins, com quem eu tive tempos gloriosos e aprendi ensinando.

Aos Pós Docs Paulo Franco e Felipe Antunes, a quem conheço antes do mestrado, e que demos boas risadas.

Aos Estrangeiros, em especial Anuj, Avinash e Muñoz, pelas boas conversas e cumprimentos.

Ao Pastor Maurício, da Primeira Igreja Batista em Lorena, e sua mulher Viviam, que oraram muito por mim.

À Aliança Bíblica Universitária, por ter feito parte em mais uma etapa.

A todos os meus amigos com quem compartilhei bons momentos durante todo esse tempo, em especial Giulia, Laís, Beatriz, Juliana, Vitor, Emanuel, Thiago, Christian, Camila, Thalita, Vinicius, André, Thaís, Rebeca, Bruno e Joslaine.

Ao meu time de Cheerleading, esporte que pratiquei durante todo o mestrado.

À CAPES e FAPESP pelo financiamento dado para pesquisa da qual fiz parte.

À EEL-USP, ao DEBIQ e ao LBBSim por toda a estrutura e pessoas com as quais compartilhei.

À FEG e ao IAE pela colaboração em experimentos realizados.

RESUMO

PUPIO, P. T. L. R. S. **Produção e avaliação das propriedades de compósitos derivados de pululana e celulose bacteriana.** 2020. 136p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

O desenvolvimento de novos materiais poliméricos baseados em fontes renováveis vem sendo motivado pela crescente preocupação com a sustentabilidade. Uma série de materiais e produtos com conotação renovável, incluindo celulose, amido, proteínas, óleos e açúcares, tem recebido grande atenção recentemente. Neste contexto pode-se mencionar também os exopolissacarídeos de origem microbiana, principalmente por suas propriedades físico-químicas e pureza, em que se destacam: celulose bacteriana, com diversas aplicações já consolidadas na área biomédica e pululana, produzida por leveduras e com grande potencial de aplicação nas indústrias química, farmacêutica, e de alimentos. O presente trabalho está relacionado à utilização de polímeros unicamente obtidos de fontes renováveis (pululana e celulose bacteriana) para produção de compósitos. Para isso, diferentes materiais foram preparados por *casting*, baseados em (i) pululana e celulose bacteriana nativa (BC), e (ii) pululana e nanocristais de celulose bacteriana (NCC), em diferentes concentrações. Celulose bacteriana e seus nanocristais foram produzidos e caracterizados por espectroscopia de infravermelho, por difratometria de raios-x e por microscopia eletrônica de varredura, que confirmaram as características esperadas do material. Os compósitos foram confeccionados por *casting* e foram analisados quanto a permeabilidade ao vapor de água, propriedades óticas e mecânicas e espectroscopia de infravermelho. Com base nos resultados obtidos, foi possível averiguar a influência do reforço celulósico adicionado, constando-se impacto na proporção de BC quanto à mudança de cor e melhores propriedades mecânicas dos compósitos reforçados com NCC. Os ensaios mecânicos constataram limiar de percolação para reforços de celulose de 10% para BC e 1% para NCC. O acréscimo de BC e NCC também obtiveram diminuição de permeabilidade a vapor de água e aumento da hidrofobicidade, em que compósitos com BC superaram ângulos de contato de 100°. Adicionalmente, os compósitos foram submetidos a um processo de hidrofobização por reação sólido-gás com triclorometilsilano, e caracterizados por meio de espectroscopia de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e ângulo de contato, de modo que os compósitos com altos reforços de BC obtiveram resultados mais significativos em relação à hidrofobização em diferentes condições.

Palavras-chave: Pululana. Celulose Bacteriana. Compósitos. Hidrofobização. Triclorometilsilano.

ABSTRACT

PUPIO, P. T. L. R. S. **Production and evaluation of the properties of composites made of pullulan and bacterial cellulose.** 2020. 136p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

The development of new polymeric materials based on renewable sources has been motivated by the growing concern with sustainability. A number of renewable materials and products, including cellulose, starch, proteins, oils and sugars, have received wide attention recently. In this context we can mention exopolysaccharides of microbial origin, mainly for their physicochemical properties and purity, in which stand out: bacterial cellulose, with several applications already consolidated in the biomedical area and pullulan, produced by yeasts and with great potential of application in the chemical, pharmaceutical, and food industries. The present work is related to the use of polymers from renewable sources (pullulan and bacterial cellulose) for composites production. In this sense, different materials were prepared by casting, based on (i) pullulan and native bacterial cellulose (BC), and (ii) pullulan and bacterial cellulose nanocrystals (NCC), in different concentrations. Bacterial cellulose and its nanocrystals were produced and characterized by infrared spectroscopy, x-ray diffraction and scanning electron microscopy, which confirmed the expected characteristics of the material. The composites were made by casting and were analyzed for water vapor permeability, optical and mechanical properties and infrared spectrometry. Based on the results obtained, it was possible to ascertain the influence of the added cellulosic reinforcement, with an impact on the ratio of BC to color change and better mechanical properties of NCC reinforced composites. Mechanical tests found percolation threshold for cellulosic reinforcements of 10% for BC and 1% for NCC. The addition of BC and NCC also obtained decreased water vapor permeability and increased hydrophobicity, where BC composites exceeded 100° contact angles. Additionally, the composites were subjected to a solid-gas reaction hydrophobization process with trichloromethylsilane, and characterized by infrared spectroscopy, scanning electron microscopy and contact angle, so that the composites with high BC reinforcement obtained better hydrophobization results under different conditions.

Keywords: Pululan. Bacterial Cellulose. Composites. Hydrophobization. Trichloromethylsilane

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática das ligações glicosídicas a) do tipo α e b) do tipo β. 20
Figura 2 – Estrutura da molécula de pululana e respectivas ligações entre os monossacarídeos constituintes. 22
Figura 3 – Rota metabólica da biossíntese de pululana e enzimas envolvidas. 23
Figura 4 – Representação estrutural da cadeia de celulose. 29
Figura 5 – Representação esquemática das ligações intra e intermoleculares de cadeias de celulose paralelas, em um mesmo plano. 31
Figura 6 – Estrutura das cadeias celulósicas para a formação de nanofibrilas, microfibrilas e fibrilas. 31
Figura 7 – Representação de compósito laminar 38
Figura 8 – Representação de um compósito de concreto reforçado por material têxtil 39
Figura 9 – Evolução do número de publicações por ano com a palavra-chave “biocomposite” em busca realizada na plataforma Web of Science. 40
Figura 10 – a) Esquema “’Wenzel” de molhabilidade em superfície plana; superfície com topografia em micro-nano-escala b) em estado “Cassie-Baxter”.....45
Figura 11 – Modelos de hidrofobicidade. Topografias de superfície a) em escala micrométrica, b) em escala micro-nanométrica. (c) Esquema de estado de molhabilidade “Cassie-Baxter”. 45
Figura 12 – Representação esquemática de uma das possíveis reações entre grupos hidroxila e TCMS 47
Figura 13 – Composição, confecção, hidrofobização e análises dos compósitos.....49
Figura 14 – Heterogeneidade na topografia dos compósitos reforçados com BC produzidos por *casting*. 56
Figura 15 – Reator utilizado para hidrofobização. 57
Figura 16 – Representação das faces dos filmes e esquema dos tipos de hidrofobização. 58
Figura 17 – Micrômetro mecânico Marberg.....58
Figura 18 – Frascos dos testes de permeabilidade ao vapor de água 60
Figura 19 – Teste de permeabilidade ao vapor de água conduzido em dessecador 60
Figura 20 – Esquema da adaptação da amostra para ensaio de tensão 61
Figura 21 – Espectros de infravermelho das amostras de BC, NCC e Avicel 63

Figura 22 – Micrografias das membranas de BC antes da purificação, com ampliações de (a) 5000 x e (b) 15000 x..... 64
Figura 23 – Micrografias das membranas de BC após a purificação, com ampliações de (a) 15000 x e (b) 50000 65
Figura 24 – Micrografia das suspensões de a) BC a 50000x e b) NCC a 30000x.... 66
Figura 25 – Espectro de raios X das amostras de (a) BC in natura, (b) BC purificada e (c) NCC..... 68
Figura 26 – Espectro de infravermelho proveniente de amostra de pululana comercial. 70
Figura 27 – Diferença de cor dos compósitos em relação ao filme de pululana..... 73
Figura 28 – Variação da amarelidão dos filmes e compósitos..... 74
Figura 29 – Variação da porcentagem de transmitância em função do comprimento de onda..... 74
Figura 30 – Deformação na ruptura do filme de pululana e dos compósitos (%)..... 75
Figura 31 – Tensão na ruptura do filme e dos compósitos (Pa) 76
Figura 32 – Módulo de Young do filme e dos compósitos (Pa)..... 76
Figura 33 – Banda de celulose presente no compósito de BC 20 a) de 4000-650 cm^{-1} e b) com destaque para a banda em número de onda igual a 1280 cm^{-1} nos compósitos de BC10, 20 e 30..... 78
Figura 34 – Espectros de infravermelho das amostras BC1HB, BC30HA e NCC4HA a) de 4000-650 cm^{-1} e b) com destaque para a banda em número de onda igual a 1273 cm^{-1}..... 80
Figura 35 – Influência da topografia da superfície no ângulo de contato..... 81
Figura 36 – Ângulos de contato das amostras não hidrofobizadas: a) pululana e compósitos reforçados com NCC; b) compósitos reforçados com BC – medidas na face rugosa; c) compósitos reforçados com BC – medidas na face lisa..... 82
Figura 37 – Representação das faces dos filmes e esquema dos tipos de hidrofobização. 83
Figura 38 – Ângulos de contato das amostras hidrofobizadas que tiveram acréscimo significativo em relação aos seus análogos não hidrofobizados (colunas azuis). As colunas vermelhas correspondem aos compósitos que passaram por hidrofobização do tipo HA, e as colunas amarelas aos compósitos que passaram por hidrofobização do tipo HB..... 84
Figura 39 – Resultados de ângulo de contato para o compósito BC20, hidrofobizado após secagem em estufa à vácuo. 85

Figura 40 – Micrografias de a) NCC4 na face L com aumento de 25000x e b) na face R com aumento de 6000x; c) BC20 na face R a 6000x e d) na face L a 6000x. 86
Figura 41 – Micrografias de NCC4H a) na face que permaneceu em contato com a placa de vidro sinterizada no reator de hidrofobização (aumento de 1300x) e b) na face oposta à placa de vidro sinterizada no reator de hidrofobização (aumento 6000x). 87
Figura 42 – Micrografia do compósito BC20HBL (aumento de 1000x). 88
Figura 43 – Micrografias da superfície do compósito BC20HBRest com aumentos de a) 3000x e b) 6000x. 89

LISTA DE SIGLAS

BC	Celulose Bacteriana
BC1	Compósito de Matriz de Pululana com 1% de reforço de BC
BC5	Compósito de Matriz de Pululana com 5% de reforço de BC
BC10	Compósito de Matriz de Pululana com 10% de reforço de BC
BC20	Compósito de Matriz de Pululana com 20% de reforço de BC
BC30	Compósito de Matriz de Pululana com 30% de reforço de BC
CI	Índice de cristalinidade
EPS	Exopolissacarídeo
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho
HA	Hidrofobização do tipo HA
HAL	Face Lisa da Hidrofobização do tipo HA
HAR	Face Rugosa da Hidrofobização do tipo HA
HB	Hidrofobização do tipo HB
HBest	Hidrofobização do tipo HB após secagem prévia em estufa a vácuo
HBL	Face Lisa da Hidrofobização do tipo HB
HBLest	Face Lisa da Hidrofobização do tipo HB após secagem prévia em estufa a vácuo
HBR	Face Rugosa da Hidrofobização do tipo HB
HBRest	Face Rugosa da Hidrofobização do tipo HB após secagem prévia em estufa a vácuo
L	Face Lisa
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MEVEF	Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Feixe
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MFA	Microscopia de Força Atômica
NCC	Nanocristal de Celulose
NCC05	Compósito de Matriz de Pululana com 0,5% de reforço de NCC
NCC1	Compósito de Matriz de Pululana com 1% de reforço de NCC
NCC2	Compósito de Matriz de Pululana com 2% de reforço de NCC
NCC4	Compósito de Matriz de Pululana com 4% de reforço de NCC
PUL100	Filme de Pululana
R	Face Rugosa
TCMS	Triclorometilsilano

SUMÁRIO

1 Introdução 15
2 Revisão Bibliográfica 17
2.1 Polímeros 17
2.1.1 Polímeros de origem fóssil 18
2.1.2 Polímeros de origem renovável 19
2.2 Polissacarídeos 19
2.2.1 Pululana 21
2.2.2 Celulose 29
2.3 Compósitos 38
2.3.1 Nanocompósitos de celulose 40
2.3.2 Compósitos baseados em pululana e celulose bacteriana 42
2.4 Hidrofobização de materiais hidrofílicos 43
2.4.1 Hidrofobicidade 43
2.4.2 Hidrofobização de polissacarídeos 45
3 Objetivos 48
4 Experimental 49
4.1 Materiais 50
4.2 Produção de celulose bacteriana 50
4.2.1 Purificação das membranas de celulose bacteriana 51
4.2.2 Dispersão das fibras de celulose bacteriana 51
4.3 Produção de nanocristais de celulose bacteriana 52
4.4 Caracterização de BC, NCC e pululana 52
4.4.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR) 52
4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 53
4.4.3 Difração de raios X 53
4.5 Confecção dos compósitos 54

4.6 Hidrofobização 56
4.7 Caracterização dos compósitos 58
4.7.1 Medida de espessura 58
4.7.2 Permeabilidade ao vapor de água 58
4.7.3 Colorimetria 60
4.7.4 Ensaios Mecânicos 60
4.7.5 Espectroscopia de infravermelho (FTIR) 61
4.8 Avaliação da eficiência das reações de hidrofobização 61
4.8.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR) 61
4.8.2 Ângulo de contato 62
4.8.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 62
5 Resultados e Discussão 63
5.1 Caracterização da celulose bacteriana de partida 63
5.1.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR) 63
5.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 64
5.1.3 Difração de raios X 68
5.2 Caracterização da pululana comercial 70
5.2.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR) 70
5.3 Caracterização dos compósitos 70
5.3.1 Medida de espessura 70
5.3.2 Permeabilidade ao vapor de água 71
5.3.3 Colorimetria 73
5.3.4 Ensaios Mecânicos 75
5.3.5 Espectroscopia de infravermelho 78
5.4 Avaliação da eficiência das reações de hidrofobização 78
5.4.1 Espectroscopia de Infravermelho 79
5.4.2 Ângulo de Contato 81

5.4.3 Microscopia eletrônica de varredura.....85
6 Considerações finais 90
7 Sugestões para o trabalho.....92
REFERÊNCIAS.....93
APÊNDICE A – Gráficos de permeabilidade ao vapor de água 112
APÊNDICE B – Espectros de infravermelho dos compósitos hidrofobizados e não hidrofobizados.....116
APÊNDICE C – Quadro qualitativa de análises de ângulo de contato 136

1 Introdução

Atualmente, recursos renováveis de matéria-prima são utilizados para atender uma demanda crescente de mercado, com produtos consolidados e bem estabelecidos. Árvores e gramíneas constituem boa parte da biomassa vegetal disponível, empregadas na produção de papéis, tecidos, materiais, combustíveis e carvão e na geração de energia.

O forte apelo ao desenvolvimento de processos sustentáveis tem por objetivo minimizar o uso de substâncias nocivas. Esta tendência é principalmente baseada no conceito altamente difundido da “química verde”, definida pela IUPAC como “a invenção, desenvolvimento e aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias perigosas” (IUPAC, 2016) e regida por doze princípios que abrangem conceitos como (i) a concepção de processos para maximizar a quantidade de matéria-prima que é mantida no produto final; (ii) a utilização de matérias-primas e fontes de energia renováveis; (iii) a utilização de substâncias seguras e benignas para o ambiente, incluindo solventes; e (iv) a concepção de processos de eficiência energética, com o objetivo principal de indicar prioridades de pesquisa para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. Assim, torna-se fundamental uma associação entre a utilização de fontes não-fósseis e processos que atendam a todos, ou grande parte, dos preceitos da química verde, para o preparo de substâncias químicas e de materiais.

Entre os principais derivados da biomassa vegetal para a substituição de recursos fósseis destaca-se o etanol combustível, capaz de suprir parte da demanda energética e diminuir a emissão de poluentes advindos da queima de combustíveis fósseis. Adicionalmente, muitos esforços vêm sendo dedicados para a substituição de materiais poliméricos provenientes de recursos fósseis por similares baseados em recursos renováveis (MÜLHAUPT, 2013; ZHU; ROMAIN; WILLIAMS, 2016). Neste caso, há a possibilidade de incentivo fiscal por parte dos governos para amenizar os custos produtivos, que podem ser maiores que na indústria petroquímica. Além disso, a proposta de marketing de um material de origem natural é mais atraente para o público, e exemplo já empregado na indústria é o polietileno “verde”, produzido a partir do etanol derivado de cana-de-

açúcar pela empresa Braskem. Há também perspectivas de produção do polipropileno (PP) e do poli(cloreto de vinila) (PVC) a partir do etanol, estratégias que ainda demandam melhor desenvolvimento da tecnologia. A utilização de glicerol e derivados também tem servido para a produção de diferentes polímeros, expandindo as possibilidades de uso desse insumo, e produzindo uma nova gama de materiais (GANDINI et al., 2016).

Além da substituição de monômeros de origem fóssil por outros de origem renovável, a substituição de polímeros de fonte fóssil por análogos de fonte renovável também é possível, e pode-se citar a relação entre a borracha natural e a borracha sintética, em que cada uma ocupa sua porção do mercado em função das propriedades do material a ser utilizado (HOFMANN, 1989). Outro exemplo é a possibilidade de substituição de boa parte do poli(etileno tereftalato) (PET) por um equivalente renovável baseado em furano (poli(etileno furoato), PEF), cuja tecnologia vem sendo implementada pela Coca-Cola na confecção de garrafas plásticas (GANDINI et al., 2016).

Os recursos renováveis têm sido empregados em áreas como combustíveis, construção, automobilismo e eletrônica, utilizados juntos de derivados de petróleo ou na substituição dos mesmos (JOHN; THOMAS, 2008). No entanto, também podem ser processados para obtenção de produtos em aplicações que outrora não se ambicionava considerando apenas o nicho petroquímico. Por conta de propriedades tais como biocompatibilidade, atoxidade, hidrofilia, ampla faixa de densidade e resistência mecânica, diferentes tipos de biomassa têm sido explorados, propício às indústrias médica, farmacêutica, agrícola, química e de materiais (CARROW; GAHARWAR, 2015; ULLAH et al., 2015).

O presente trabalho está inserido neste contexto, e visa empregar materiais totalmente oriundos de fontes não-fósseis na preparação de compósitos para aplicações variadas, baseados em (i) pululana comercial e celulose bacteriana nativa, e (ii) pululana comercial e nanocristais de celulose bacteriana. Os compósitos também passaram por processo de hidrofobização, a partir de reação sólido gás com triclorometilsilano, ampliando os potenciais de aplicações. Os compósitos foram caracterizados pelas técnicas analíticas pertinentes e suas propriedades foram avaliadas.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Polímeros

Polímeros são macromoléculas formadas por dezenas de milhares de monômeros, ligados covalentemente (CANEVAROLO JR., 2006). Em geral, para que uma macromolécula seja considerada um polímero de interesse comercial, a massa molar média (MM) deve ser, no mínimo, aproximadamente 10 KDa, sendo o número mínimo de monômeros presentes na molécula, ou o grau de polimerização (GP), aproximadamente 750 (CANEVAROLO JR., 2006). No entanto, diferentes tipos de polímeros e mecanismos de polimerização levam a diferentes massas molares médias, e o tamanho das cadeias formadas exerce influência nas aplicações e nas propriedades, inclusive quando se trata de um mesmo material. Como exemplo tem-se polímeros baseados em ciclodextrina que quando ligados a um agente anticâncer apresentam atividade anti-tumoral consideravelmente superiores com MM de 97 kDa do que com MM 35 kDa (CHENG; KHIN; DAVIS, 2004; PUSKÁS et al., 2013).

Polímeros possuem, em geral, uma fase cristalina e uma fase não-cristalina. A fase cristalina possui alto grau de empacotamento, em que as interações intermoleculares entre as cadeias de polímeros é máxima (CANEVAROLO JR., 2006). Já na fase não-cristalina, as cadeias estão espacialmente posicionadas de maneira desorganizada. Relativo a essas duas fases, definem-se a temperaturas de transição vítrea (T_g), que representa a movimentação das cadeias na fase não-cristalina, e de fusão (T_m) em que se fornece energia suficiente para a separação das cadeias que constituem a porção cristalina. Acima destas temperaturas, há a temperatura de decomposição (T_d), a partir da qual o polímero irá se degradar, diminuindo gradativamente sua massa molar. Além dessas transições térmicas há uma série de outras características que podem ser analisadas em polímeros, como propriedades mecânicas, condutividade elétrica, solubilidade em diferentes solventes, difusividade e permeabilidade, resistência a degradação por luz UV, oxidação e umidade, entre outras (DANNHAUSER, 2009).

Na indústria química, polímeros são produzidos principalmente por quatro métodos, sendo estes polimerização em massa, em suspensão, em solução e em

emulsão. Além disso, os polímeros são também classificados em dois grandes grupos quanto ao mecanismo de polimerização, sendo estes adição e condensação. No primeiro grupo trata-se de reação que passa por intermediários radicalares, aniônicos ou catiônicos, em que é necessário um monômero insaturado e um iniciador (normalmente presente em baixas concentrações). Polietileno, polipropileno, poliestireno e poli(cloreto de vinila) são produzidos industrialmente por esta rota. No segundo grupo, necessita-se de monômeros com, pelo menos, dois grupos funcionais reativos e complementares, e assim são produzidos poliésteres, poliamidas, poliuretanas, entre outros (MANARESI; MUNARI, 1989).

No entanto, o presente trabalho fará uma delimitação de polímeros diferente das apresentadas acima, de modo a relacioná-los com suas fontes de origem, sendo (i) polímeros sintéticos, obtidos a partir de monômeros extraídos do petróleo, (ii) polímeros sintéticos classicamente obtidos de recursos fósseis, mas que também podem ser produzidos a partir de monômeros extraídos da biomassa, (iii) polímeros naturalmente disponíveis, extraídos diretamente da biomassa, e (iv) polímeros sintéticos, obtidos a partir de monômeros extraídos da biomassa, ou a partir de modificação química dos polímeros naturalmente disponíveis. Somando-se o contexto da indústria química com a biotecnológica, é possível descrever uma enorme gama de polímeros tanto no que diz respeito ao tipo de fonte da qual é advindo, quanto à disponibilidade em relação a recursos fósseis e renováveis.

2.1.1 Polímeros de origem fóssil

Polímeros fósseis sintéticos são aqueles produzidos por processos químicos a partir de monômeros de origem fóssil, como petróleo e carvão. Estima-se que no ano de 2017 aproximadamente 348 Mt de polímeros foram produzidos no mundo (GARSIDE, 2019), sendo a vasta maioria dos monômeros, tais como etileno e propileno, derivados de hidrocarbonetos fósseis (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). É importante salientar que nenhum destes materiais é biodegradável, o que leva a um acúmulo gradativo no meio ambiente (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). A reciclagem de tais materiais é, sem dúvida, uma alternativa interessante, mas que não modifica, obviamente, sua origem. No mesmo período, 7,4 Mt de

polímeros foram produzidos a partir de fontes renováveis, sendo que aproximadamente 25% são biodegradáveis (NOVA-INSTITUTE, 2019).

2.1.2 Polímeros de origem renovável

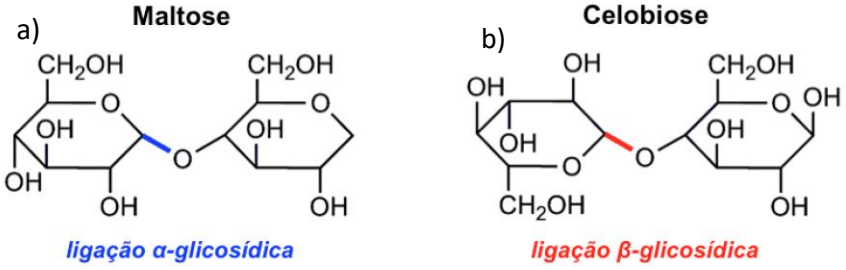
Polímeros de origem renovável podem ser produzidos de diferentes maneiras, com destaque para (i) a extração/produção de monômeros a partir da biomassa vegetal e animal, a fim de sintetizar polímeros idênticos àqueles de origem fóssil (MÜLHAUPT, 2013; PANG et al., 2016), em estratégia que correspondeu, no ano de 2014, a apenas 0,6% de todo polímero produzido no mundo, com destaque para PET e PE (ZHU; ROMAIN; WILLIAMS, 2016); (ii) a extração/produção de monômeros a partir da biomassa vegetal e animal, como açúcares e óleos vegetais (SCOTT, 2000), que não podem ser obtidos do petróleo, e são polimerizados por processos químicos convencionais; (iii) a extração de polímeros naturalmente disponíveis, de origem vegetal, animal ou microbiológica, que não são sintetizados em laboratório por uma via não-biológica, mas são extraídos em sua forma original; e (iv) a modificação química de polímeros naturais, como por exemplo a modificação química da celulose nativa (derivatização) para a produção de ésteres e éteres de celulose (GANDINI et al., 2016; GANDINI; LACERDA, 2015).

Vale mencionar que os polímeros naturalmente disponíveis são amplamente utilizados como matéria-prima, tanto para a conversão a novos polímeros (derivatização), quando para a obtenção de suas unidades monoméricas de origem. Como exemplo há polissacarídeos formados por unidades de açúcares (majoritariamente, glicose), que serão descritos na sequência.

2.2 Polissacarídeos

Polissacarídeos são formados por unidades monoméricas de açúcares, normalmente pentoses e hexoses. São majoritariamente obtidos por via vegetal, mas também por via animal ou microbiológica. A maior parte dos polissacarídeos possui ligação glicosídica do tipo α ou do tipo β entre diversos tipos de monômeros (Figura 1), que influenciam enormemente as configurações espaciais das cadeias poliméricas e, consequentemente, suas propriedades finais (WIEDERSCHAIN, 2009).

Figura 1 – Representação esquemática das ligações glicosídicas a) do tipo α e b) do tipo β.



Fonte: (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009)

Por serem de origem biológica, os polissacarídeos existem nos organismos com diversas finalidades, destacando-se as funções estruturais e energéticas. No que diz respeito à função estrutural, essas macromoléculas normalmente são compostas por ligações glicosídicas do tipo β (Figura 1b). Pode-se citar a celulose (alta cristalinidade) e a hemicelulose (baixa cristalinidade, mas alto grau de ramificação), que possuem alta interação entre si, o que possibilita uma maior adesão entre as cadeias poliméricas, conferindo a árvores uma forte e resistente estrutura. As ligações do tipo β conferem à celulose linearidade da cadeia, empacotamento e cristalinidade, características propícias para construção de fibras de alta resistência a tensão (BERG et al., 2015). Os polissacarídeos que exibem função estrutural são tão importantes que, além de serem essenciais para a biomassa vegetal, também servem de apoio para outros organismos, como fungos filamentosos. Pode-se mencionar, adicionalmente, a quitina, polissacarídeo de origem animal que serve de apoio estrutural e de revestimento para animais do filo *Arthropoda* (GANDINI; LACERDA, 2015).

Em relação à função energética, é interessante que o organismo tenha moléculas que, ao mesmo tempo que sejam facilmente armazenadas, seja igualmente fácil sua conversão a substâncias necessárias para processos metabólicos. Sendo assim, são idealmente solúveis em água, e normalmente formadas por ligações glicosídicas do tipo α, pois esse tipo de ligação proporciona estruturas menos cristalinas e mais facilmente passíveis a reações de hidrólise, em comparação a polissacarídeos do tipo β (BERG et al., 2015). Como exemplo há para os vegetais o amido, que é anabolizado durante a fotossíntese, mas catabolizado durante a respiração, de modo que o balanço entre anabolismo e catabolismo seja positivo. É também a principal fonte de energia das sementes para o processo de germinação (BERG et al., 2015). No reino animal, é possível citar o glicogênio,

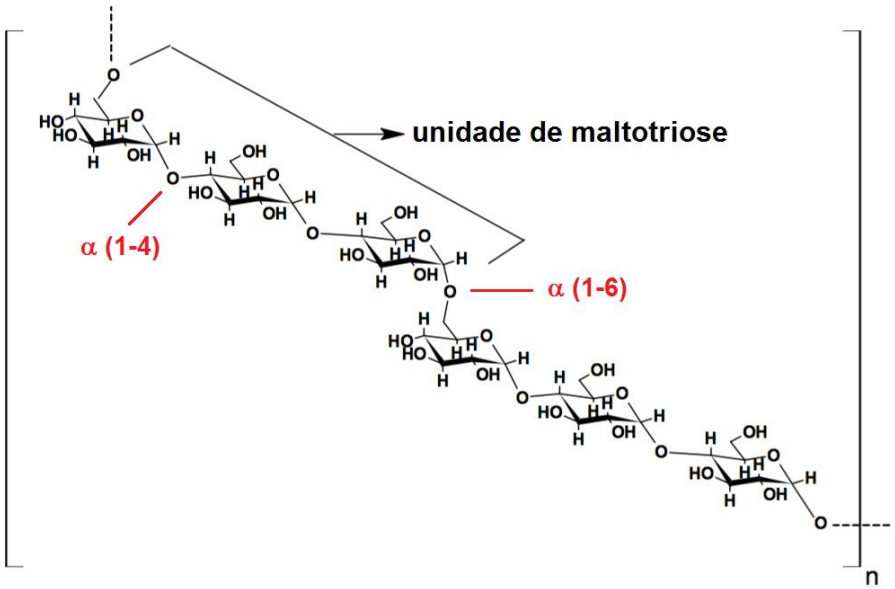
presente inclusive no metabolismo humano, mas também advindo de anabolismo heterotrófico (NELSON; LEHNINGER; COX, 2008).

Dentro de suas funções estrutural e de armazenamento, os polissacarídeos são bem característicos nos diferentes reinos. Nos animais, glicogênio e quitina são os principais polissacarídeos, de modo que a quitina está majoritariamente relacionada ao filo *Arthropoda*, enquanto nos vegetais é bastante característico encontrar-se celulose, amido e hemicelulose. Por outro lado, para microrganismos há uma série de polissacarídeos que podem ser encontrados, destacando-se a goma xantana, goma gelana, goma curdlana (LAROCHE; MICHAUD, 2010) e pululana, polissacarídeos que podem ter funções variadas, como de proteção para o microrganismo (WANG et al., 2008).

2.2.1 Pululana

A pululana é um exopolissacarídeo (EPS) de origem microbiológica, produzido por fermentação pela levedura *Aerobasidium pullulans*. Para o microrganismo, este EPS tem função de proteção celular contra predadores, difusão de moléculas entre interior e exterior da célula e diminuição da desidratação celular (REHM, 2009). É uma α-glucana, em que seu monômero é uma maltotriose (três moléculas de glicose ligadas entre si por ligações α-1,4 glicosídicas), e a ligação entre monômeros é do tipo α-1,6 (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c) (Figura 2). Dessa forma, o polímero assume uma estrutura linear (TROVATTI et al., 2012a). Raramente, há ramificações entre monômeros de maltotriose que formam ligação α-1,3 com a cadeia principal (SOWA; BLACKWOOD; ADAMS, 1963).

Figura 2 – Estrutura da molécula de pululana e respectivas ligações entre os monossacarídeos constituintes.



Fonte: (SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008)

2.2.1.1 Propriedades

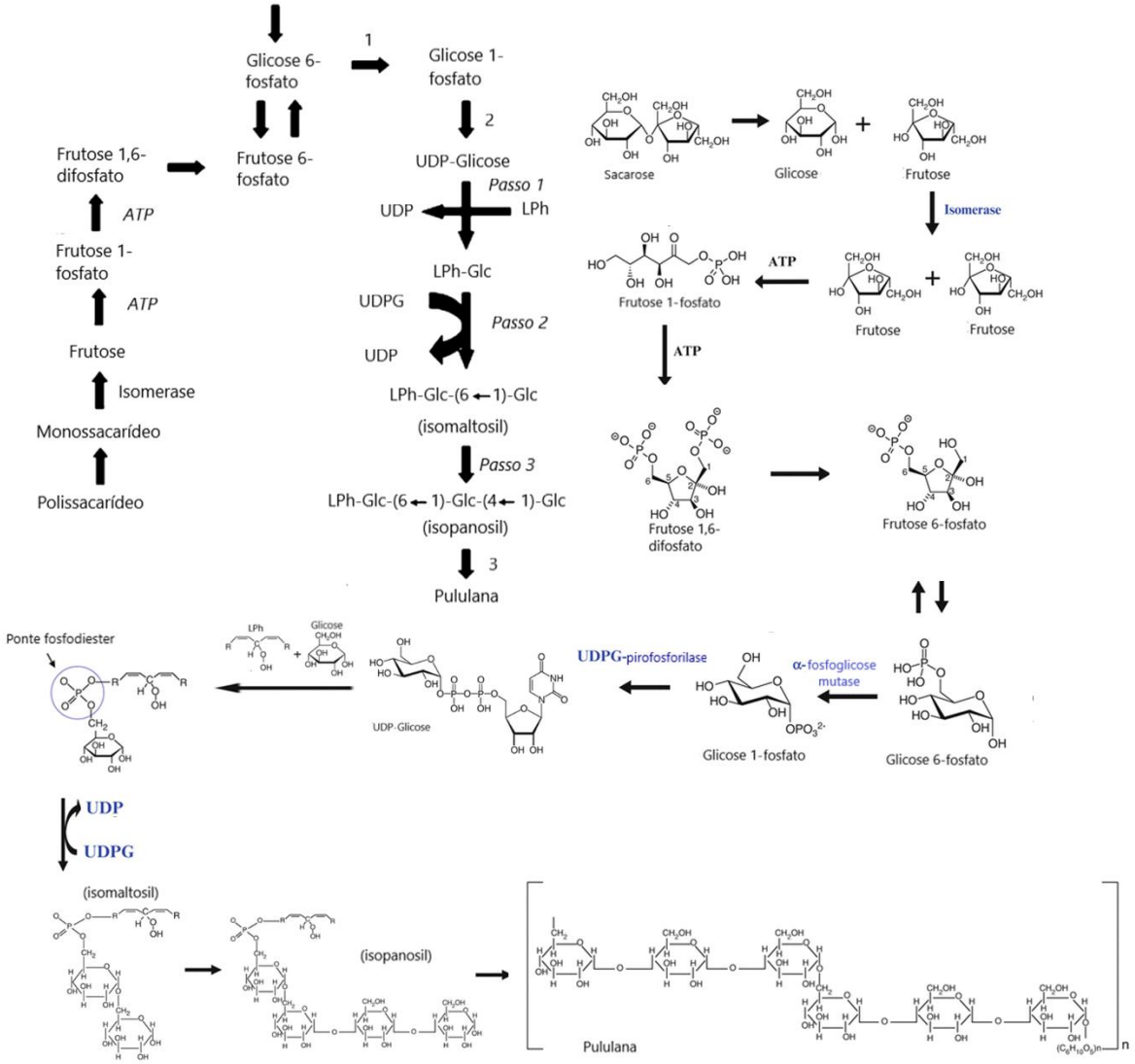
A Pululana é um polímero não cristalino que pode atingir massa molar entre 4,5 x 10^4 - 6,0 x 10^5 Da, dependente do meio fermentativo (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c). Com sua estrutura singular, a pululana apresenta características como capacidade adesiva e possibilidade de formar fibras e filmes finos biodegradáveis transparentes e impermeáveis a oxigênio. Possui boas propriedades mecânicas e é também solúvel em água (TROVATTI et al., 2012a). Além disso, a pululana não apresenta toxicidade, sendo comestível e biocompatível.

2.2.1.2 Biossíntese

Há registros da ocorrência de biossíntese de pululana em alguns microrganismos (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c), incluindo exemplares fora do gênero *Aureobasidium*, como *Tremella mesentérica* (FRASER; JENNINGS, 2006), *Cryphonectria parasítica* (FORABOSCO et al., 2006) e *Teloschistes flavicans* (REIS et al., 2002). Ainda assim *A. pullulans* continua a ser o mais amplamente usado para este fim (SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008). A biossíntese ocorre de maneira intracelular, na parede celular, e o polissacarídeo é em seguida secretado na superfície, formando uma camada em torno da célula (DUAN et al.,

2008). Para a síntese, a glicose é polimerizada a pululana e, de acordo com Duan et al. (2008), são necessárias três enzimas, a α-fosfoglicose mutase, a uridina difosfoglicose pirofosforilase (UDPG-pirofosforilase), e a glicosiltransferase. A Figura 3 ilustra uma possível rota de biossíntese da pululana.

Figura 3 – Rota metabólica da biossíntese de pululana e enzimas envolvidas.



Fonte: (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2010b; PONNUSAMI; GUNASEKAR, 2014)

Para a biossíntese ocorrer, *A. pullulans* pode consumir diversos açúcares, como sacarose, manose e galactose, além de resíduos agrícolas (CATLEY, 1971; LEATHERS, 2003; MADI; MCNEIL; HARVEY, 1997). No entanto o sacarídeo amplamente utilizado é a glicose. Quanto à polimerização, é importante considerar os efeitos das enzimas envolvidas nesse metabolismo. A hexoquinase e a isomerase são necessárias para a conversão de diferentes fontes de carbono para o precursor da pululana, o uridina 5'-(D-glucopiranosil pirofosfato), ou UDP-

Glicose (UDPG). O UDPG passa a ser importante pois, além de precursor, sua função é de carrear a glicose até a polimerização (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c). É notável que esse caminho metabólico para obtenção de UDPG é muito similar ao que seria o sentido inverso da glicólise, entre os passos da fosforilação da glicose a glicose 6-fosfato até a obtenção de frutose 1,6-difosfato. Pode-se observar na Figura 3 a diferenciação entre a glicólise e o metabolismo da pululana, até a produção de UDPG, que se trata da ação da enzima α-fosfoglicose mutase, em que glicose 6-fosfato é convertido a glicose 1-fosfato. Em seguida, tem-se a ação da UDPG-pirofosforilase para obtenção do precursor UDPG. A partir deste ponto, UDPG é convertido ao trímero isopanosil. Primeiramente, UDPG carreia glicose para ligá-la ao lipídeo hidroperóxido (LPh), que possui uma ponte de fosfoéster para a ligação, formando o “LPh-glicose” (LPh-Glc). Em seguida, uma segunda molécula de UDPG carreia uma glicose para o LPh-Glc, formando uma isomaltose ligada ao lipídeo (LPh-isom). Por fim, uma LPh-Glc liga-se ao LPh-isom, formando isopanosil, ligado ao lipídeo. Assim, por meio da enzima glicosiltransferase, ocorre a polimerização do isopanosil a pululana (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c).

De acordo com LeDuy et al. (1988), pululana é um metabolito secundário pois seu metabolismo não ocorre desde o início do ciclo de vida da célula, mas ao final. Acredita-se que primeiro o isopanosil é acumulado no interior da célula para a subsequente polimerização ao final do ciclo (SIMON et al., 1998).

A produção de pululana pela célula sempre está atrelada à produção do pigmento melanina. A razão disso é a natureza parasitária, principalmente de plantas, de algumas variantes de *A. pullulans*, e o pigmento confere proteção contra fagocitose do hospedeiro (COOKE, 1959). A melanina representa o maior problema para produção em larga escala de pululana devido à coloração escura do polímero que é isolado ao final do processo. Além dos recursos de *downstream* para contornar essa questão, variantes de *A. pullulans* podem ser utilizadas, pois produzem quantidade reduzida de melanina, e que mantêm as mesmas características da pululana, tais como viscosidade e dispersividade (Đ) (SINGH; SAINI, 2008; WEST; REED-HAMER, 1993; WEST; STROHFUS, 2001). Outros métodos foram recentemente apresentados, envolvendo a emissão de radiação em comprimentos de onda específicos ao meio fermentativo, que inibiu a

produção de melanina simultaneamente à pululana. Terán-Hilares et al. (2017) utilizaram um feixe de luz azul de 450 a 470 nm, com 440 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ de densidade de fluxo de fótons, e obtiveram consistentemente pululana com pureza de aproximadamente 94%.

2.2.1.3 Meios fermentativos

Como mencionado anteriormente, diversas fontes de carbono podem ser utilizadas para produção de pululana. Como exemplo, Terán-Hilares et al. (2017) utilizaram hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar, com o objetivo de fermentar as hexoses. De acordo com Singh e Saini (2008), a sacarose é o insumo mais amplamente utilizado, e demonstrou possuir melhor rendimento que a glicose para produção de pululana (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011a; GIBSON; COUGHLIN, 2002). Há também alguns resíduos de origem agrícola que são considerados como substratos economicamente viáveis (LEDUY et al., 1988; ROUKAS; MANTZOURIDOU, 2001; WU et al., 2010).

Quanto à composição do meio fermentativo, constatou-se que concentrações de fontes de carbono acima de 5% ocasionaram inibição da produção de pululana (KIM et al., 2000; SHIN et al., 1989), o que pode ser contornado com fermentação em fluxo contínuo, com variantes do microrganismo ou melhorando o meio de cultivo (MCNEIL; KRISTIANSEN; SEVIOUR, 1989; REESLEV et al., 1997; SHIN et al., 1989). Para tanto, Cheng, Demirci e Catchmark (2010) otimizaram as concentrações de fonte de carbono e de nitrogênio, e foi possível produzir pululana em concentrações de até 60,7 g/L com meio de cultura contendo 10% de sacarose.

As fontes e concentrações de nitrogênio, na forma de amônio (NH_4^+), possuem importância significativa na produção de pululana (CATLEY, 1971), uma vez que a biossíntese do polímero apenas ocorre quando o nitrogênio no meio é consumido (BULMER; CATLEY; KELLY, 1987; GIBBS; SEVIOUR, 1996). Além disso, maiores concentrações de nitrogênio no meio contribuem para o aumento da biomassa celular sem influenciar a concentração final de polissacarídeo (ORR et al., 2009). Isso é esperado, pois o nitrogênio é importante para o anabolismo de proteínas e, consequentemente, para o crescimento celular. Outro fator

importante é que uma concentração otimizada de NH_4^+ pode fornecer um maior rendimento de produção de pululana relativo ao crescimento da biomassa, uma vez que a interferência dessa fonte na obtenção do polissacarídeo é muito baixa, mas alta na concentração celular. Nesse sentido, foi reportado que uma razão de 10:1 carbono/nitrogênio é a condição mais favorável para a produção do exopolissacarídeo (SURESH KUMAR; MODY; JHA, 2007; WATANABE et al., 1998). Reportou-se também um acréscimo de produção de pululana de 15,0 para 25,0 g/L, em que a concentração da fonte de nitrogênio diminuiu de 3,00 g/L para 1,88 g/L, enquanto a concentração da fonte de carbono se manteve a mesma (TERÁN-HILARES et al., 2017).

Outros fatores importantes para a fermentação são concentração de sais, pH, temperatura e aeração. De acordo com Gao et al. (2010), a concentração de sais deve ser ajustada cuidadosamente, de modo a disponibilizar os micronutrientes para uma produção correta. Cheng, Demirci e Catchmark, (2011a) combinaram uma concentração de 75,0 g/L de sacarose com 3,0 g/L de extrato de levedura e 5,0 g/L de sulfato de amônio, obtendo assim 25,8 g/L de pululana com 94,5% de pureza. Concomitante a isso, o pH ótimo para o processo é sugerido entre 5,5 a 7,5 (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2010b; LEE; YOO, 1993; SHINGEL, 2004), enquanto a temperatura é de 25 a 30 °C (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011b; GIBSON; COUGHLIN, 2002; PRASONGSUK et al., 2006).

Adicionalmente, a aeração pode prover resultados significativos na produção do exopolissacarídeo, sendo que em condições anaeróbicas a biomassa não aumenta, e não há produção de pululana (LEATHERS et al., 1988). Uma intensa aeração (dois volume de ar por volume de meio por minuto, vvm) leva a um acréscimo da produção do polissacarídeo (ROUKAS; MANTZOURIDOU, 2001), mas Audet, Lounes e Thibault (1996) afirmaram que essa intensa aeração pode levar a cadeias poliméricas de menor massa molar média. Dentre essas condições, Cheng, Demirci e Catchmark (2011b) produziram um máximo de 25,8 g/L com 1,5 vvm, com maior taxa de produção e maior rendimento.

2.2.1.4 Aplicações

A pululana é frequentemente utilizada na indústria alimentícia e na indústria farmacêutica (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c), e na biomedicina, em função de sua biocompatibilidade e capacidade de mimetizar tecidos e funções biológicas (REKHA; SHARMA, 2007).

Na indústria alimentícia, a pululana tem boas propriedades para ser utilizada em diferentes aplicações. É capaz de formar filmes comestíveis com boa permeabilidade a oxigênio e com inibição a crescimento de fungos (YUEN, 1974), sendo possível a adição de aromatizantes, corantes e outros ingredientes funcionais (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c). É possível adicionar aditivos para potencializar a inibição ao crescimento bacteriano (KANDEMIR et al., 2005). Os filmes de pululana possuem boas propriedades adesivas e podem ser usados para o recobrimento de alimentos, de forma a evitar a perda de água e a mudança de cor dos alimentos em função de processos oxidativos (GOUNGA et al., 2008; KROCHTA; MULDER, 1997).

É possível a substituição do amido por pululana em alguns alimentos dietéticos devido a sua baixa capacidade calorífica (OKU; YAMADA; HOSOYA, 2011), além de ter função prebiótica, contribuindo para o crescimento de importantes bactérias do trato gastrointestinal (YONEYAMA et al., 1990). A pululana também possui boas propriedades análogas ao amido, como facilidade de dispersão, consistência, adesividade e retenção de umidade, de modo que pode substituir parcialmente o amido na produção de massas (SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008). Outra aplicação da pululana também inclui seu uso como espessante e estabilizante de baixa viscosidade em doces, massas, bebidas e condimentos, em que sua viscosidade é mantida com variação de temperatura e de pH (HASA et al., 2006; SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008).

A indústria farmacêutica também pode tomar proveito da pululana com a prerrogativa de usar um biopolímero compatível com o organismo, que seja facilmente degradado. Para tanto, a pululana tem sido usada na área odontológica na fabricação de adesivos dentais e filmes de recobrimento (SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008). Na forma de filmes, a pululana também serve para

fabricação de cápsulas e recobrimentos para diversos tipos de fármacos, dado o fato de que é de origem não animal e não possui toxicidade (KIMOTO; SHIBUYA; SHIOBARA, 1997).

Na formulação de fármacos e medicamentos, a pululana também pode contribuir para o melhor funcionamento dos princípios ativos. Em vacinas, a pululana pode formar ligações covalentes com vírus, imobilizando as ações virais e formando uma estrutura que contribui para o aumento de produção de anticorpos (YAMAGUCHI et al., 1985). Em forma de nanogel, nanopartículas e microesferas, pululana pode ser usada como eficiente sistema de liberação controlada de fármacos com melhorada permeabilidade e melhor efeito de retenção e adesão em tumores e órgãos (HAAS; PLOW, 1994; SEYMOUR et al., 1991; SINGH et al., 2017). Além de fármacos, pululana pode ser usada para o carreamento de genes e proteínas em aplicações específicas sem apresentar citotoxicidade (GRENHA; RODRIGUES, 2013; GUPTA, M.; GUPTA, A. K., 2004). Também é possível o preparo de sistemas de liberação de fármacos que sejam sensíveis a pH e a temperatura, para ações específicas no corpo (CHU et al., 2001; MAEDA et al., 2000).

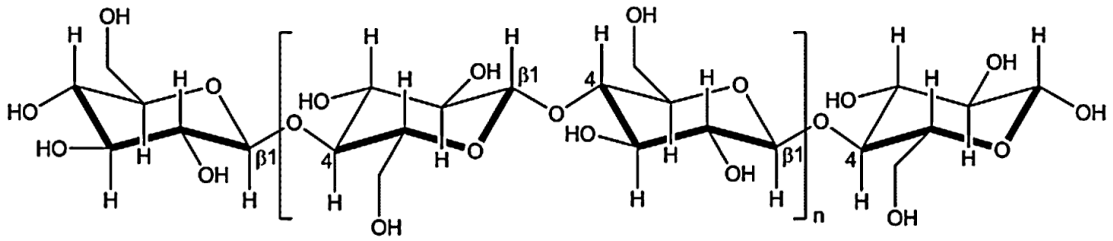
Além da área farmacêutica, a pululana é utilizada na bioengenharia devido a características de biocompatibilidade e biomimética. Pelo fato de possuir muitas hidroxilas na cadeia polimérica pode ser utilizada como polímero bioativo na substituição de plasma sanguíneo, sendo aplicada com modificação de suas hidroxilas e com valores específicos de massa molar média (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c; TSUJISAKA; MITSUHASHI, 1993). Em engenharia de tecidos, pululana e seus derivados provenientes de modificação química servem como matriz celular artificial para acomodar células e regular seu crescimento tridimensional, levando à regeneração do tecido alvo (REKHA; SHARMA, 2007). Diversas modificações de superfície em pululana têm sido pesquisadas com o objetivo de se criar materiais com diferentes graus de hidrofobicidade, para que possam interagir com diferentes proteínas e células (HASUDA et al., 2005; ITO et al., 2005). Pululana modificada com nanopartículas magnéticas em sua superfície tem seu funcionamento em sistemas de liberação de fármacos a partir do uso de imãs (GUPTA, A. K.; GUPTA, M., 2005; REKHA; SHARMA, 2007).

A pululana também pode servir para outras aplicações, tais como biorremediação, cromatografia, industrias têxtil e indústria de papel (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011c; SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008). Por conta de sua natureza adesiva, resultados interessantes foram publicados com a pululana servindo para a remoção de metais pesados (RADULOVIĆ et al., 2008) e de petróleo (IYER; MODY; JHA, 2005) no tratamento de águas contaminadas. Pululana reticulada pode ser usada como fase estacionária em colunas cromatográficas (MOTOZATO et al., 1986), enquanto pululana pura com massa molar precisa pode ser usada como padrão em cromatografia (KAWAHARA et al., 1984). Fibras de pululana confeccionadas por fiação a seco podem ser comparadas a fibras de *nylon*, enquanto pululana processada por compressão ou extrusão é similar a PVA e poliestireno (SINGH; SAINI; KENNEDY, 2008). Por conta de sua adesividade, pululana pode ser usada no recobrimento de papéis, melhorando suas propriedades mecânicas em relação ao papel tradicional, e facilitando a impressão com tinta devido a sua natureza hidrofílica (NAKASHIO et al., 1974).

2.2.2 Celulose

Desde os primórdios da humanidade, a biomassa vegetal vem sendo utilizada como lenha para fogueira e construção. Até então, a gama de usos foi ampliada drasticamente, dependendo do tipo da espécie vegetal da madeira a ser utilizada, sua composição e finalidade, sendo que a biomassa passou a ser processada para refinamento e separação de seus componentes para as mais diversas aplicações. A celulose destaca-se como o principal componente da biomassa vegetal, e um dos polímeros mais abundante da Terra (~10^{12} toneladas) (KLEMM et al., 2005).

Figura 4 – Representação estrutural da cadeia de celulose.



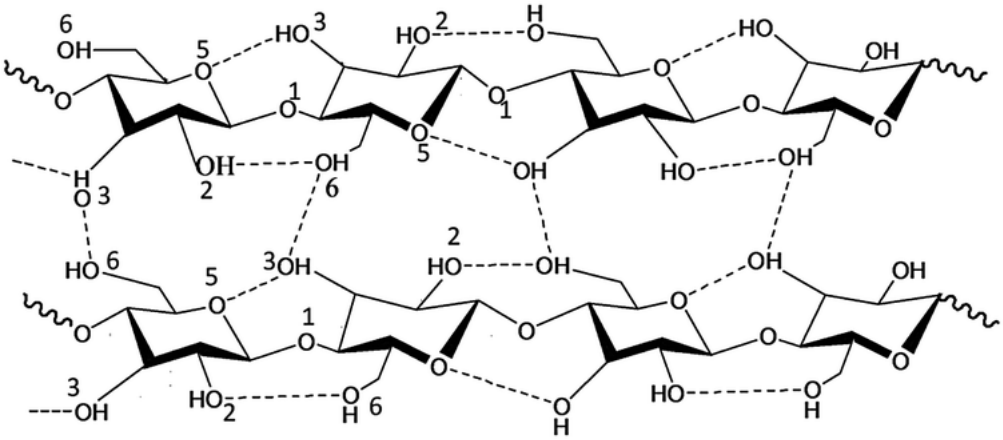
Fonte: (KLEMM et al., 2005)

Em células vegetais, encontra-se associada com hemiceluloses (polissacarídeos de estrutura não cristalina) e lignina (uma macromolécula fenólica altamente reticulada), e a proporção desses componentes na massa seca é de aproximadamente 40% de celulose, 30% de hemicelulose e 30% de lignina, excluindo-se a presença de outros compostos (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009), com variações em função do tipo de biomassa de condições edafoclimáticas. As proporções de celulose, hemicelulose e lignina para madeira dura variam entre 39-45%, 17-35% e 20-25%, respectivamente, enquanto que para madeira mole variam entre 37-43%, 20-30% e 25-33% (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). A biossíntese de celulose pode também acontecer em células de bactérias, fungos, algas, e alguns animais marinhos, com diferentes morfologias e de forma altamente pura (GANDINI; LACERDA, 2015).

Independentemente da origem, a estrutura molar da celulose é linear, sendo formada por unidades de β-D-glicopiranose com ligações β(1-4) glicosídicas, com uma conformação $^{4}C_{1}$. Sendo assim, seu elemento repetitivo é formado por duas unidades de glicose, mais especificamente anidroglicose (AGU). Essa estrutura faz com que a extremidade inicial, C_4 da primeira glicose da cadeia, seja um álcool, enquanto a outra, C_1 da última unidade de glicose, seja um aldeído redutor (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009) (Figura 4).

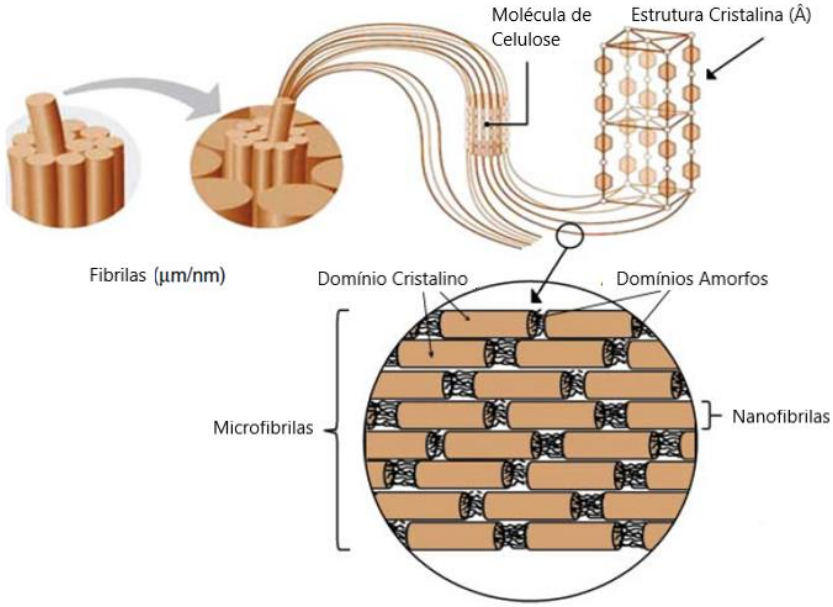
A estrutura puramente linear das cadeias de celulose, o tipo de ligação glicosídica e, consequentemente, a grande extensão de ligações de hidrogênio intra- e intermoleculares presentes, tornam a estrutura supramolecular da celulose altamente cristalina (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Na Figura 5 é possível observar as ligações (i) intramoleculares, entre as hidroxilas do C_6 e do C_2 e entre a hidroxila do C_3 e o oxigênio do anel; e (ii) intermoleculares, entre as hidroxilas do C_3 e do C_6. Essa conformação de ligações permite o empacotamento das cadeias de celulose, levando a estrutura de nanofibrilas até as fibras celulósicas (Figura 6).

Figura 5 – Representação esquemática das ligações intra e intermoleculares de cadeias de celulose paralelas, em um mesmo plano.



Fonte: (YUAN; CHENG, 2015)

Figura 6 – Estrutura das cadeias celulósicas para a formação de nanofibrilas, microfibrilas e fibrilas.



Fonte: (KARGARZADEH et al., 2017)

2.2.2.1 Aplicações

A celulose sempre foi amplamente utilizada, junto ou não a hemiceluloses e lignina, de forma que suas aplicações se estendem entre o uso da madeira em si e das próprias cadeias de celulose.

Com mínimo processamento, madeira e lenha simplesmente cortadas e livres de umidade servem para produção de energia através da queima (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Por outro lado, quando lixada e talhada, a madeira é

utilizada em construções e na fabricação de móveis, armas e acabamento de casas e de alguns carros.

Passando por processo de refinamento, sem tratamento químico, uma parte da lignina é retirada (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Esse material pode ser utilizado para produzir papelão e móveis de baixo custo. Adicionando-se o processo kraft de tratamento alcalino, retira-se ainda mais lignina do material, assim como hemicelulose, produzindo-se uma polpa celulósica branca com um rendimento e conservação de massa seca entre 45-55%, em que a perda de celulose chega a até 25% em relação à massa inicial (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Essa polpa é majoritariamente utilizada no processo de produção de papel, em que as fibras de celulose são alinhadas em uma mesma direção durante a produção.

A derivatização da celulose para a fabricação de materiais termoplásticos, como nitrato de celulose, acetato de celulose e éteres de celulose, foi reportada na segunda metade do século XIX (KLEMM et al., 2005). Para isso, a celulose é processada quimicamente, de maneira que funções orgânicas sejam adicionadas ou substituídas às hidroxilas dos carbonos C_2, C_3 e C_6, preservando os átomos de oxigênio.

Atualmente, no contexto da nanotecnologia, há um grande destaque para o desenvolvimento de novos produtos celulósicos, tendo em vista a dissociação das fibras, podendo também haver a diminuição das cadeias poliméricas. Processos hidrolíticos convertem a celulose da biomassa vegetal, por meio de enzimas e ácidos, em nanoceluloses, mais especificamente em nanocristais de celulose (NCC), e nanofibrilas de celulose (NFC), com vastas aplicações (ABITBOL et al., 2016; DUFRESNE; BELGACEM, 2010; KARGARZADEH et al., 2017; KONTTURI et al., 2018).

2.2.2.2 Obtenção de celulose a partir da biomassa vegetal

A obtenção de polpa de celulose purificada requer algumas etapas de separação, pois a celulose vegetal é fortemente associada à hemicelulose e à lignina. Na indústria de papel e celulose, o processamento inicia-se com operações unitárias para madeira, com o objetivo de diminuir-se o tamanho do material em pequenas

lascas, conhecidas como cavacos, posteriormente refinadas em moinho. Após esse tratamento, a madeira passa por um pré-tratamento de auto-hidrólise em alta temperatura, para uma maior remoção de lignina e hemicelulose, permitindo o acesso à celulose nas próximas etapas (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Em seguida, a polpa passa por processo kraft, em que grande parte da lignina e hemiceluloses remanescentes é retirada. Também é possível uma etapa posterior de branqueamento (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). As condições de cada etapa, que variam de relativamente brandas a muito severas, definem a pureza e as características da polpa celulósica final.

2.2.2.3 Formas nanométricas

A partir da biomassa animal e vegetal, com o uso de polpas celulósicas de alta pureza, é possível produzir celuloses em escala nanométrica. As mais comuns e estudadas são a celulose nanocristalina (NCC) e a celulose nanofibrilada (NFC). Contudo, ainda há nanoceluloses que não advém de biomassa vegetal, mas que são de origem microbiológica, como a celulose bacteriana (BC).

Para a produção de celulose nanocristalina, as cadeias de celulose nativas são clivadas por processos químicos ou enzimáticos, formando assim uma celulose com alto grau de cristalinidade, comprimentos de até 500 nm e larguras entre 5-20 nm (ABITBOL et al., 2016), e amplas possibilidade de aplicação. Destacam-se, neste contexto, as possibilidades de confecção de papéis com permeabilidade controlada, embalagem alimentícias, aparelhos fotônicos e tecidos biocompatíveis (ABITBOL et al., 2016; BOCCHIARO; ZAMPERINI, 2016).

Já na celulose nanofibrilada (NFC), as fibrilas de celulose nativa são separadas, também por processos químicos ou enzimáticos, não mais formando as macroestruturas de fibras encontradas na biomassa vegetal. A fibras são isoladas com uma das dimensões em escala nanométrica, com diâmetros entre 25-100 nm (ZIMMERMANN; BORDEANU; STRUB, 2010). Assim como a NCC, também possuem um alto grau de cristalinidade, de aproximadamente 90% (ABITBOL et al., 2016).

2.2.2.4 Celulose Bacteriana

A celulose bacteriana (BC) é produzida por bactérias ou culturas de bactérias. Pelo fato de ser de origem não vegetal, sua morfologia é diferente, assim como a forma que se apresenta também é bastante singular. Possui a vantagem de ser desprovida de hemicelulose e lignina, o que a torna mais facilmente aproveitável pelo fato de não haver a recalcitrância presente na biomassa vegetal, que exclui a necessidade de processos de pré-tratamento e de hidrólise para o isolamento de cada um desses materiais. Ela é normalmente produzida pela espécie *Gluconacetobacter xylinum* (ABITBOL et al., 2016), mas também pode ser sintetizada por *Gluconacetobacter spp, Komagataeibacter xylinus* (CACICEDO et al., 2016), *Rhizobium leguminosarum* e bactérias da espécie *Escherichia coli* (RÖMLING; GALPERIN, 2015).

2.2.2.4.1 Propriedades

A celulose de origem bacteriana (BC), assim como as provenientes de biomassa vegetal, é naturalmente produzida na forma de fibras e com alta cristalinidade. Estas fibras possuem diâmetros em torno de 20-100 nm (ABITBOL et al., 2016), muito similar aos de NFC. Quando produzida, a BC assume um formato de “manta” na superfície do meio de cultura, em que a estrutura pode possuir composição de até 99% de água (ABITBOL et al., 2016). Além disso, o fato de ser produzida em suspensão faz com que a biossíntese das cadeias por parte das bactérias não ocorra em uma única direção, em comparação ao sentido vertical que as fibras celulósicas possuem nas madeiras.

2.2.2.4.2 Produção

De maneira geral, BC normalmente é cultivada de forma estática, por meio de fermentação aeróbica, formando uma manta que permanece sobre a superfície do meio de cultura com grande capacidade de retenção de água (CAMPANO et al., 2016). No entanto, esse processo mais consolidado possui pouca produtividade e resulta em um produto de alto custo, pois demanda muito tempo e requer grande área superficial, dificultando a ampliação de escala (CARREÑO PINEDA; CAICEDO MESA; MARTÍNEZ RIASCOS, 2012). Adicionalmente, há a necessidade de matéria prima de alto custo para a produção, o que também

aumenta o custo de produção (BAETS; VANDAMME; STEINBUCHEL, 2002). Neste sentido, algumas estratégias têm sido pesquisadas, como a procura de linhagens mais produtoras (TROVATTI et al., 2011a), aperfeiçoamento da agitação e da aeração (WATANABE et al., 1998), e uso de fontes de carbono de baixo custo (HONG et al., 2012). Formas de fermentação agitada tem sido pesquisadas tendo em vista a melhor troca de oxigênio e menor tempo de processo. No entanto, tal forma muda as características do material obtido, incluindo a diminuição do tamanho das fibras, da ordem de 400 para 20 µm (WATANABE et al., 1998), menor resistência mecânica e a possibilidade de mutação de algumas células, causando a diminuição da produção (CAMPANO et al., 2016). Entre as fermentações agitada e estática, o desafio da produção de BC é uma adaptação dos dois métodos, visando alta produtividade sem haver perda das propriedades do material (CAMPANO et al., 2016).

O meio fermentativo para produção de BC é geralmente constituído de 2% m/v de glicose, 0,5% m/v de peptona, 0,5% m/V de extrato de levedura, 0,27% m/v de fosfato dissódico (Na_2HPO_4) e 0,115% m/v de ácido cítrico, com pH 6,0 (CARREÑO PINEDA; CAICEDO MESA; MARTÍNEZ RIASCOS, 2012). Há tentativas para utilização de subprodutos industriais, como glicerol (JUNG et al., 2010a) e diversos tipos de hidrolisados de carboidratos complexos, em que rendimentos melhores que o uso de glicose pura como fonte de carbono puderam ser obtidos (CARREÑO PINEDA; CAICEDO MESA; MARTÍNEZ RIASCOS, 2012).

Há algumas empresas produtoras de BC com diversas aplicações no mercado. Notoriamente, há alguns curativos de BC utilizados para feridas e queimaduras, como Nanoderm da Axcelon (AXCELON BIOPOLYMERS CORPORATION, 2015), XCell da Xylos Corporation (CZAJA et al., 2007), e alguns produtos das empresas Bowil (BOWIL BIOTECH, 2014) e Dermafill (DERMAFILL, 2019). No Brasil, a Biofill Produtos Biotecnológicos também produz membranas curativas, assim como produtos para doenças periodontais. Desde a década de 90, várias empresas japonesas participaram de um acordo para produção de BC com finalidade médica. No entanto, ineficiência no sistema fermentativo ainda é um grande problema (SINDHU; PRASANTH; THAKUR, 2014). “Nata de Coco” é uma sobremesa filipina que utiliza BC cultivada em água de coco enriquecida com

outros nutrientes (AZEREDO et al., 2019; IGUCHI; YAMANAKA; BUDHIONO, 2000).

2.2.2.4.3 Aplicações

A celulose bacteriana tem sido pesquisada para aplicações em diversas áreas, como alimentos, eletrônicos, biomedicina, farmacologia, agricultura, materiais e cosméticos (AZEREDO et al., 2019; MOHITE; PATIL, 2014; RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015). O motivo pelo qual as aplicações de BC podem ser tão diversas é devido às suas propriedades. Como biomaterial, BC é biocompatível, promove melhor interação celular e regeneração de tecido, é biodegradável e bioabsorvível, possuí uma estrutura de poros interconectados, e possuí boas propriedades mecânicas capaz de resistir a altas cargas e abrasão, e minimizar a geração de produtos de degradação (DAVIS, 2003; RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015).

Uma das áreas com maior pesquisa de celulose bacteriana é a bioengenharia. Nesta área, BC tem sido utilizada e pesquisada com sucesso no tratamento de queimaduras e feridas, por ser um material altamente biocompatível e possuir características desejáveis à proteção da ferida quando em formato de manta (TORGBO; SUKYAI, 2018). Mantas de BC são capazes de amenizar a dor e promoverem a cura mais rapidamente (DE OLYVEIRA et al., 2011). Além de mantas para curativos, BC também tem sido utilizada no desenvolvimento de implantes. Há pesquisas em que BC tem sido utilizada para implantes de coração (KLEMM et al., 2001), de menisco do joelho (SVENSSON et al., 2005), ósseos (FANG et al., 2009; HUTCHENS et al., 2006), neurais (PÉRTILE et al., 2012) e de córnea (WANG et al., 2010).

Na área de farmacologia, BC também tem sido pesquisada principalmente para liberação controlada de fármacos. Membranas de BC além de servirem para curativos também têm alta capacidade de absorção e de transporte de fármacos (STOICA-GUZUN et al., 2007). Neste tipo de aplicação, membranas de BC possuem liberação e capacidade de retenção precisas, aumentando a eficiência do fármaco (TROVATTI et al., 2011b). Similarmente, BC também pode ser usada como implante subcutâneo para liberação prolongada (SILVA et al., 2014). Além

do uso relacionado à pele, BC em forma de hidrogel pode ser usada oralmente e tem potencial de liberação de fármacos de forma controlada, podendo também ser ativado por meio de variações de pH (GUIMARD; GOMEZ; SCHMIDT, 2007; MOHD AMIN et al., 2012; PANDEY et al., 2013; SILVA et al., 2014).

Na área de alimentos a celulose bacteriana pode atuar como substituinte de alguns ingredientes, e como base para alguns alimentos (AZEREDO et al., 2019). BC possuí um bom potencial de atuar como substituinte de gorduras, tendo um ótimo desempenho com metade da substituição, melhorando a integridade do alimento sem alteração negativa do sabor (LIN, K. W.; LIN, H.Y., 2006). Similarmente, imitações de carne usando BC como matriz também podem ser preparados, provendo textura similar (PURWADARIA; GUNAWAN; WYDIA GUNAWAN, 2010; SHEU; WANG; SHYU, 2000). Na área de probióticos, celulose bacteriana serve como suporte para *Lactobacillus spp*, sendo estes impregnados nas membranas ou adicionados na cultura fermentativa de produção das membranas (FIJAŁKOWSKI et al., 2016). BC também pode ser utilizada em bio-embalagens, em que nanocristais de BC junto a quitosana e a nanopartículas de prata formam embalagem de recobrimento bioativas com propriedades antimicrobianas (SALARI et al., 2018).

Quando seca, BC pode formar um produto muito atraente por ter sua biossíntese desprovida de direcionamento de cadeia, formando um material muito similar ao papel, de celulose pura, com excelente resistência mecânica em todos as direções (CAMPANO et al., 2016). Compósitos de BC com nanotubos de carbono e recobertos com resina acrílica tem potencial para ser base de confecção de OLED para a fabricação de telas de vídeo planas e flexíveis e de papéis eletrônicos (NOGI et al., 2006; NOGI; YANO, 2008; SHAH; MALCOLM BROWN, 2005). Por BC ter estabilidade dimensional, ela é um material com condução de som que possuí ótima velocidade de som em uma ampla faixa de frequências, sendo utilizada como diafragmas de auto falantes e de fones (INDRARTI et al., 1998; MOHITE; PATIL, 2014).

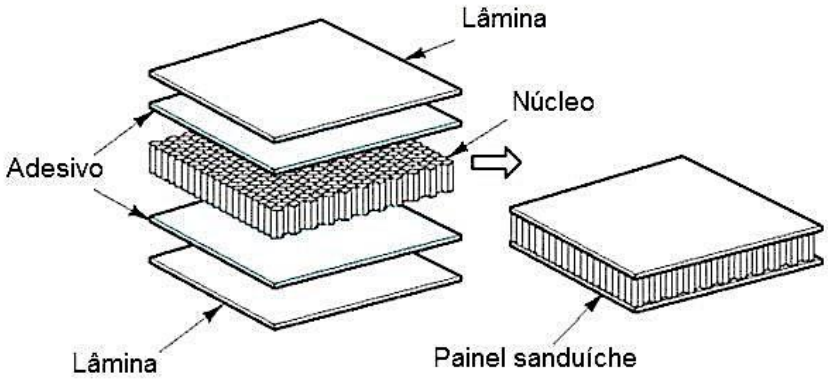
Por suas excelentes propriedades mecânicas, fibras de BC são frequentemente empregadas como reforço em materiais compósitos, que serão discutidos na sequência.

2.3 Compósitos

Compósitos são materiais heterogêneos formados por duas ou mais fases, sendo uma fase contínua chamada de matriz, que dá sustentação ao produto e uma fase dispersa chamada de reforço, que agrega melhores propriedades ao produto. Os compósitos podem ser produzidos pela combinação de materiais naturais ou artificiais, dentre polímeros, metais, cerâmicas e fibras vegetais (SHAFFER, 1993). As propriedades finais são obtidas a partir da combinação das propriedades dos constituintes individuais, sendo possível obter propriedades, por sinergia entre os componentes, inicialmente inexistentes em cada uma das fases. Um dos exemplos mais antigos de compósito é a *katana*, espada originária do Japão e composta por milhares de camadas de duas ligas de aço diferentes, em que uma delas confere maleabilidade enquanto a outra confere resistência ao material final (RONQUILLE, 2018).

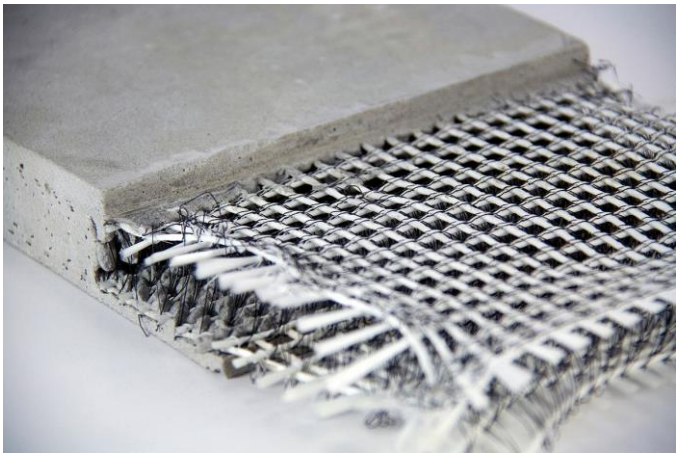
Existem vários tipos de compósitos, dependendo de seu formato e tipo de confecção, como o laminado (Figura 7), que possui várias camadas de materiais e uma aparência heterogênea, e o "*fabric reinforced composite"* (Figura 8), que são compósitos de fibras poliméricas semelhantes a tecidos e com aspecto visual uniforme (LUBIN, 1982).

Figura 7 – Representação de compósito laminar



Fonte: (FABRICAÇÃO DE COMPÓSITOS, 2012)

Figura 8 – Representação de um compósito de concreto reforçado por material têxtil



Fonte: (THYROFF, 2013)

Há registros da utilização de compósitos desde a pré-história, quando misturava-se palha com terra para fabricação de tijolos, e por séculos todos os compósitos fabricados foram de constituintes naturais, com foco na construção civil (SHAFFER, 1993; CAMARGO; SATYANARAYANA; WYPYCH, 2009).

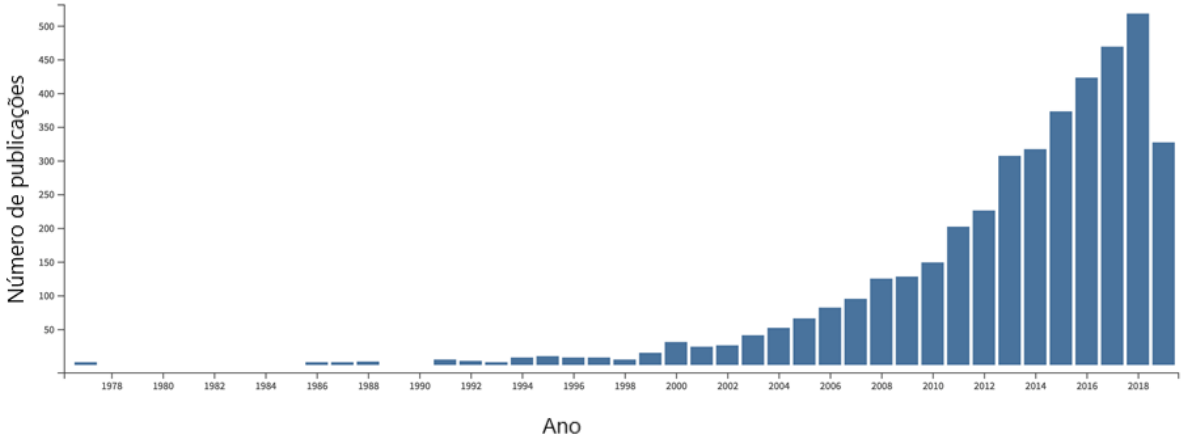
Atualmente, além dos compósitos naturais há compósitos artificias formados, como já mencionado anteriormente, por matrizes metálicas, cerâmicas ou poliméricas. Os compósitos de matriz polimérica estão presentes em diversos setores, tais como aeroespacial, eletrônico e construção civil (THOMAS et al., 2012). Em 2015, os componentes mais presentes na indústria foram o poliéster como matriz e a fibra de vidro como reforço (ACMA, 2019), ambos sintéticos.

A utilização de fibra de vidro como reforço é bastante interessante pois confere aos materiais grande resistência, atrelada à sua leveza e facilidade de moldagem em designs complexos. Foi comumente utilizada para fabricação de barcos (MARSH, 2008) e na área de telecomunicações, por conta de sua permeabilidade à radiofrequência (BANK, 2006).

Compósitos de matriz polimérica também podem ser reforçados por fibras naturais, para substituição de fibras de origem petroquímica (FARUK et al., 2012). Há estudos com diversas fibras lignocelulósicas por conta de sua baixa massa específica, alta resistência mecânica específica e baixo custo de processamento e produção, como alternativa à utilização de fibra de vidro (JOHN; THOMAS, 2008). Adicionalmente, estudam-se compósitos cujas matrizes também sejam baseadas em polímeros renováveis (THAKUR, V. K.; THAKUR, M., K.; KESSLER, 2017). De

maneira geral, a viabilidade técnica e econômica desses materiais ainda não foi totalmente estabelecida, no entanto, observa-se um crescente interesse da comunidade científica nos últimos anos na pesquisa e no desenvolvimento dos chamados “biocompósitos”, o que é demonstrado pelo número de publicações por ano que contém a palavra-chave “biocomposite” (Figura 9).

Figura 9 – Evolução do número de publicações por ano com a palavra-chave “biocomposite” em busca realizada na plataforma Web of Science.



Fonte: (WEB OF SCIENCE, 2019)

Atualmente, há estudos de biocompósitos totalmente baseados em recursos renováveis para aplicações na biomedicina e para engenharia de tecidos, liberação controlada de fármacos e terapia celular. Tais materiais se enquadram especialmente na área de nanocompósitos, sendo utilizados amido, celulose, quitosana e pululana como polímeros para essa finalidade (CARROW; GAHARWAR, 2015).

2.3.1 Nanocompósitos de celulose

Quando materiais compósitos possuem uma das fases com ao menos uma das dimensões menores do que 100 nm, são classificados como nanocompósitos (KAMIGAITO, 1991). Os primeiros estudos utilizando celulose em escala nanométrica como reforço em compósitos foram reportados em meados da década de 1990 (FAVIER; CHANZY; CAVAILLE, 1995), em trabalho relacionado à preparação de nanocristais a partir de celulose isolada de tunicados (animais marinhos), que foram incorporados a uma matriz polimérica de estireno, acrilato de butila e ácido acrílico. Propriedades mecânicas superiores puderam ser obtidas em função de diferentes concentrações de nanocristais.

Desde então, um número expressivo de trabalhos relacionados à utilização de celulose, de origem animal e vegetal, para a produção de nanofibras e nanocristais e posterior aplicação como reforço em compósitos vem sendo publicados, e uma série de textos que contemplam os principais avanços na área estão disponíveis (DUFRESNE; BELGACEM, 2010; KONTTURI et al., 2018; MOON et al., 2011; OKSMAN et al., 2016).

A principal razão para utilizar as nanofibras de celulose em materiais compósitos é explorar a alta rigidez do cristal de celulose como material de reforço. Entretanto, esta característica não é suficiente, sendo desejável que as fibras individuais apresentem uma alta razão comprimento/diâmetro, chamada de razão de aspecto. Fibras com alto valor de razão de aspecto (entre 50 e 100) (EICHHORN et al., 2010) são capazes de transferir de maneira muito eficiente a tensão da matriz para a fase de reforço. Esta característica é ainda mais pronunciada nos casos de nanocristais de celulose, que apresentam desempenhos mecânicos intrínsecos elevados, e compósitos preparados a partir deles possuem propriedades mecânicas (como módulo de Young) até 300% superiores em relação àqueles baseados em fibras celulósicas de tamanho micrométrico (EICHHORN et al., 2010).

As propriedades mecânicas superiores dos nanocompósitos de celulose também podem ser explicadas pela ocorrência do fenômeno de percolação, que consiste no desenvolvimento, em função da concentração, de uma rede entrecruzada em sistemas multifásicos (MOON et al., 2011; STAUFFER; AHARONY, 1994). Acima de uma determinada concentração da fase dispersa (limiar de percolação), as interações entre as partículas são máximas, favorecendo a formação de uma rede entrecruzada e, como consequência, algumas propriedades aumentam sobremaneira. No caso específico de fibras, o limiar de percolação diminui à medida em que se aumenta a razão de aspecto das fibras (GARBOCZI et al., 1995), o que quer dizer que concentrações muito baixas de nanofibras são suficientes para que ganhos significativos em propriedades mecânicas sejam alcançados (MOON et al., 2011).

2.3.2 Compósitos baseados em pululana e celulose bacteriana

A similaridade química entre celulose e pululana é um fator que abre caminhos para o desenvolvimento de materiais interessantes, em função da alta compatibilidade entre ambos componentes, sendo possível o desenvolvimento de materiais com propriedades superiores quando comparados àqueles produzidos a partir de cada polímero individualmente.

Nesse sentido, trabalhos relacionados à associação entre pululana e celulose ou seus derivados, como acetato de celulose (ATILA; KESKIN; TEZCANER, 2016), celulose nanofibrilada (TROVATTI et al., 2012b), e carboximetilcelulose (BANG et al., 2017) tem sido reportados.

Trovatti et al. (2012a) descreveram a incorporação de fibras de celulose bacteriana à matriz de pululana comercial para a preparação de biocompósitos via *casting* com propriedades térmicas e mecânicas superiores. Sueiro et al. (2016) demonstraram a viabilidade da produção de biocompósitos à base de amido de mandioca, pululana e celulose bacteriana, sendo que a adição de pululana e celulose bacteriana resultou em materiais com maior estabilidade térmica e propriedades mecânicas superiores comparativamente aos filmes unicamente baseados em amido.

Compósitos de pululana/celulose bacteriana podem ser produzidos na forma de filmes. No entanto, esses materiais são muito hidrofílicos, de modo que a pululana é solúvel em água (TROVATTI et al., 2012a) e a celulose é hidrofílica em sua superfície (CUNHA; GANDINI, 2010a), características essas que acarretam na perda de estabilidade mecânica desses materiais em contato prolongado com a água. Para tanto, processos de hidrofobização são uma opção para diminuir a afinidade superficial desses compósitos com a água aumentando assim a gama de potenciais usos.

2.4 Hidrofobização de materiais hidrofílicos

Materiais de origem renovável podem ser modificados com o intuito de melhorar certas propriedades, aumentando a gama de aplicações do produto. Sendo assim, é possível que o material renovável adquira as características necessárias para que substitua materiais de origem fóssil.

Nesse sentido, a hidrofobização de superfície é uma das formas de mudar as propriedades do material, com o objetivo de fazer com que se torne mais impermeável a água e a outras substâncias polares. Isso possibilita que um material de origem renovável que possui certa interação com a água seja tratado em sua superfície e possa ser equiparado a materiais que possuem pouca afinidade com água.

2.4.1 Hidrofobicidade

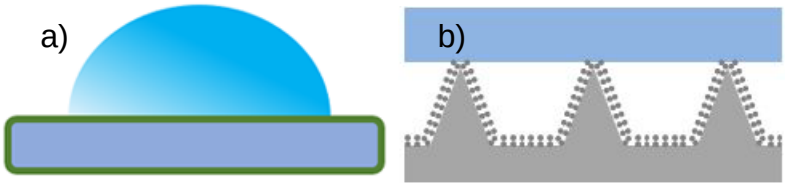
A hidrofobicidade de um material é relacionada à sua polaridade, de maneira que se o material for polar ele terá afinidade com solventes polares e demonstrará um comportamento hidrofílico, ao passo que terá pouca afinidade com solventes apolares, e demonstrará o que é chamado de comportamento lipofóbico. Analogamente, um material apolar é hidrofóbico e lipofílico.

A hidrofobicidade de um dado material pode ser avaliada pelo ângulo de contato que uma gota de água forma quando depositada sobre sua superfície. A tendência é que, em função das características do material, a gota se espalhe para um menor nível de energia (SI; DONG; JIANG, 2018). Em 1805, Thomas Young realizou estudos sobre esse conceito e propôs a equação de Young para definir a molhabilidade de materiais (YOUNG, 1805). Por meio dessa equação, estipulou que o ângulo limiar de molhamento da água era de 90° para superfícies lisas, o que foi estabelecido como o limite entre a hidrofobicidade e a hidrofilicidade. No entanto, considerando as interações da água com o sólido e com as estruturas da superfície do sólido (a nível micrométrico e nanométrico), estudos mais recentes consideram que esse ângulo de molhamento poderia chegar a 65° (SI; DONG; JIANG, 2018; TIAN; JIANG, 2013; VOGLER, 1998).

O nível de hidrofobicidade de um material depende majoritariamente de dois fatores: a topografia do material e a presença de “bolsões de ar” entre a gota e o material. Se a topografia do material for puramente lisa, a gota de água se espalhará numa menor condição de energia, molhando diretamente a superfície do material. Tal estado é conhecido como “Wenzel” (TEISALA; BUTT, 2018), como pode ser visto na Figura 10a. Dessa maneira, se numa superfície lisa o ângulo de contato da gota de água for maior que 65°, o material é considerado hidrofóbico, e esta característica pode ser alterada pela modificação de superfície do material (SI; DONG; JIANG, 2018), com o objetivo de se atingir o estado “Cassie-Baxter” (Figuras 10b e 11c). Esse estado caracteriza-se pela deposição da gota de água na superfície do material sem molhá-lo completamente, dado o fato que a gota estaciona em partes mais altas da topografia, e entre as partes mais baixas e a água encontra-se os bolsões de ar que estabilizam o espalhamento da gota pela superfície do material (TEISALA; BUTT, 2018). O estado “Cassie-Baxter” possui naturalmente ângulo de contato maior que o estado “Wenzel”, tanto que para um material com a mesma topografia, se o estado “Wenzel” for atingido, ele possuirá ângulo de contato menor que o estado “Cassie-Baxter”.

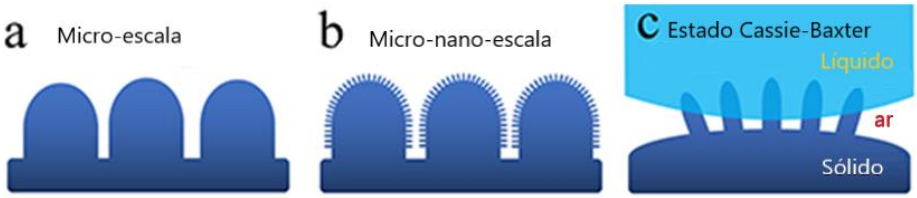
Uma das formas de aumentar a hidrofobicidade de um material é alterar a topografia de superfície do material, de modo que a água atinja preferencialmente o estado “Cassie-Baxter”. Para tanto, a inserção hierárquica de estruturas do próprio sólido na superfície pode ser utilizada, de modo a inserir micro-estruturas (Figura 11a) na superfície do material, seguido da inserção de nano-estruturas sobre as micro-estruturas (Figura 11b) e sobre o restante da superfície (SI; DONG; JIANG, 2018). Desse modo, o estado “Cassie-Baxter” pode possuir uma energia de espalhamento mais estável e é favorecido pelos bolsões de ar entre a água e o material que conferem pressão para que a água não passe para o estado “Wenzel”, como observado na Figura 10b.

Figura 10 – a) Esquema "'Wenzel" de molhabilidade em superfície plana; superfície com topografia em micro-nano-escala b) em estado "Cassie-Baxter".



Fonte: a) (SI; DONG; JIANG, 2018); b) (TEISALA; BUTT, 2018)

Figura 11 – Modelos de hidrofobicidade. Topografias de superfície a) em escala micrométrica, b) em escala micro-nanométrica. (c) Esquema de estado de molhabilidade "Cassie-Baxter".



Fonte: (SI; DONG; JIANG, 2018)

Quando o material liso possui o ângulo de contato menor que 65°, a inserção de estruturas hierárquicas de mesma composição não aumenta a hidrofobicidade do material, mas aumenta a hidrofilicidade. Sendo assim, para aumentar a hidrofobicidade é utilizado modificação química ou física de superfícies, de modo a adicionar componentes hidrofóbicos às superfícieis desses materiais mais hidrofílicos (SI; DONG; JIANG, 2018; WANG; PIAO, 2011).

Demonstra-se, portanto, que a topografia da superfície é tão relevante quanto a própria natureza química de um dado material em se tratando da interação com a água e, consequentemente, de sua hidrofobicidade.

2.4.2 Hidrofobização de polissacarídeos

Para aumentar a hidrofobicidade de um material é necessário modificar sua superfície. Nesse contexto, as estruturas hierárquicas presentes na superfície podem ser determinantes (TEISALA; BUTT, 2018). Adicionalmente, a modificação de superfície é capaz de tornar materiais hidrofílicos hidrofóbicos adicionando-se, por meio de processos físicos e químicos, estruturas de composição diferente do material inicial.

Modificações físicas de superfície são feitas por inserção de estruturas hierárquicas micrométricas e/ou nanométricas ligadas à superfície fisicamente.

Estruturas com geometria bem definida de escala micrométrica e nanométrica, como cubos, pirâmides e esferas, podem ser adicionadas à superfície por meio de processos como litografia a laser e impressão 3D (SI; DONG; JIANG, 2018).

Modificações químicas aderem à superfície do material elementos ligados covalentemente, tornando assim este material hidrofóbico. Esse procedimento é interessante para diversos polissacarídeos por conta da maioria deles serem hidrofílicos devido à presença de hidroxilas livres na cadeia polimérica (CUNHA; GANDINI, 2010a, 2010b). Para esse fim, polissacarídeos são modificados quimicamente por meio de reações químicas entre suas hidroxilas com moléculas ou com polímeros que possam aumentar a hidrofobicidade. Pululana e celulose são exemplos de polissacarídeos que são frequentemente modificados a partir dessa estratégia.

A confecção de filmes é uma das aplicações possíveis de pululana na qual é interessante que o material seja hidrofóbico. Para isso, Niu et al. (2019) modificaram cadeias de pululana via esterificação das hidroxilas com anidrido acético, anidrido propiônico e anidrido butírico em diferentes graus de substituição. Em seguida, confeccionaram filmes com esse polímero por *casting* e testaram o ângulo de contato desses materiais, obtendo resultados superiores ao de pululana nativa.

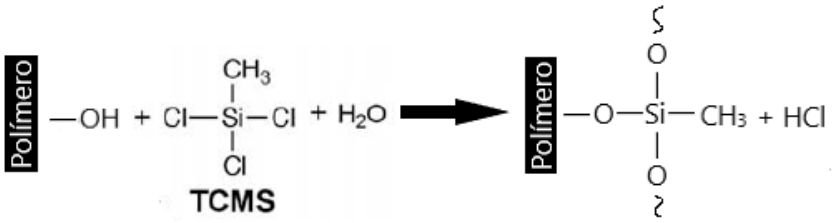
Além da confecção de filmes, a hidrofobização de pululana para liberação controlada de fármacos pode ser usada para formação de micelas em meio aquoso cujo interior seja hidrofóbico e o exterior hidrofílico. Neste caso, Tao et al. (2018) sintetizaram nanopartículas de moléculas de pululana ligadas a colesterol, com interior hidrofóbico e exterior hidrofílico, para o carreamento do fármaco hidrofóbico mitoxantrona.

Celulose também pode passar por processo de hidrofobização na indústria de papel. Com os objetivos de diminuir a absorção de líquidos, facilitar a secagem de tinta e manter as propriedades mecânicas em ambiente úmido (ROBERTS, 1996), tratamentos químicos no papel podem ser feitos com dímeros de alquil-ceteno (LINDSTRÖM; LARSSON, 2008) ou com anidrido alquenil-succínico (GESS; RENDE, 2005). Além de aplicações com papel, celulose também pode ser

modificada quimicamente por compostos fluorados e perfluorados e por silanos para aplicações em diferentes áreas (CUNHA; GANDINI, 2010a). Dentre esses compostos, triclorometilsilano (TCMS) é um silano que apresenta grande reatividade com a celulose.

Nesse caso, TCMS se liga às hidroxilas dos polissacarídeos e se autopolimeriza na superfície, liberando ácido clorídrico, conforme a Figura 12a. Cunha et al. (2010) desenvolveu um trabalho com reator de hidrofobização em que TCMS era carreado por gás nitrogênio reagindo com filtro de papel depositado sobre placa porosa, conforme a Figura 12b. Por meio deste processo foram obtidos papéis de celulose com aumento de hidrofobicidade lipofobicidade (CUNHA et al., 2010).

Figura 12 – Representação esquemática de uma das possíveis reações entre grupos hidroxila e TCMS (CUNHA et al., 2010).



Fonte: O autor

No presente trabalho, celulose bacteriana foi produzida e hidrolisada para obtenção de nanocristais de celulose. Ambos os formatos de celulose foram caracterizados por difração de raios-X, espectroscopia de infravermelho (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar composição química, cristalininadade e comprimento das fibras obtidas. Compósitos baseados em matriz de pululana e reforçados com celulose bacteriana (na forma nativa ou de nanocristais) foram preparados por *casting*, em diferentes concentrações. Os compósitos também passaram por modificação química de superfície, com o objetivo de torná-los hidrofóbicos. Triclorometilsilano foi empregado como reagente capaz de converter as hidroxilas da pululana sob condições brandas e sem o uso de solventes, em grupos –O–$SiCH_3$, via reação sólido-gás.

3 Objetivos

Objetivo geral: Empregar polímeros unicamente obtidos de fontes renováveis (pululana e celulose bacteriana) para produção de materiais compósitos.

Objetivos específicos: (i) produção de celulose bacteriana e caracterização por microscopia elêtronica de varredura e espectroscopia de infravermelho;

(ii) produção e caracterização de nanocristais de celulose bacteriana via hidrólise ácida e caracterização por microscopia elêtronica de varredura, difração de raios-X e espectroscopia de infravermelho;

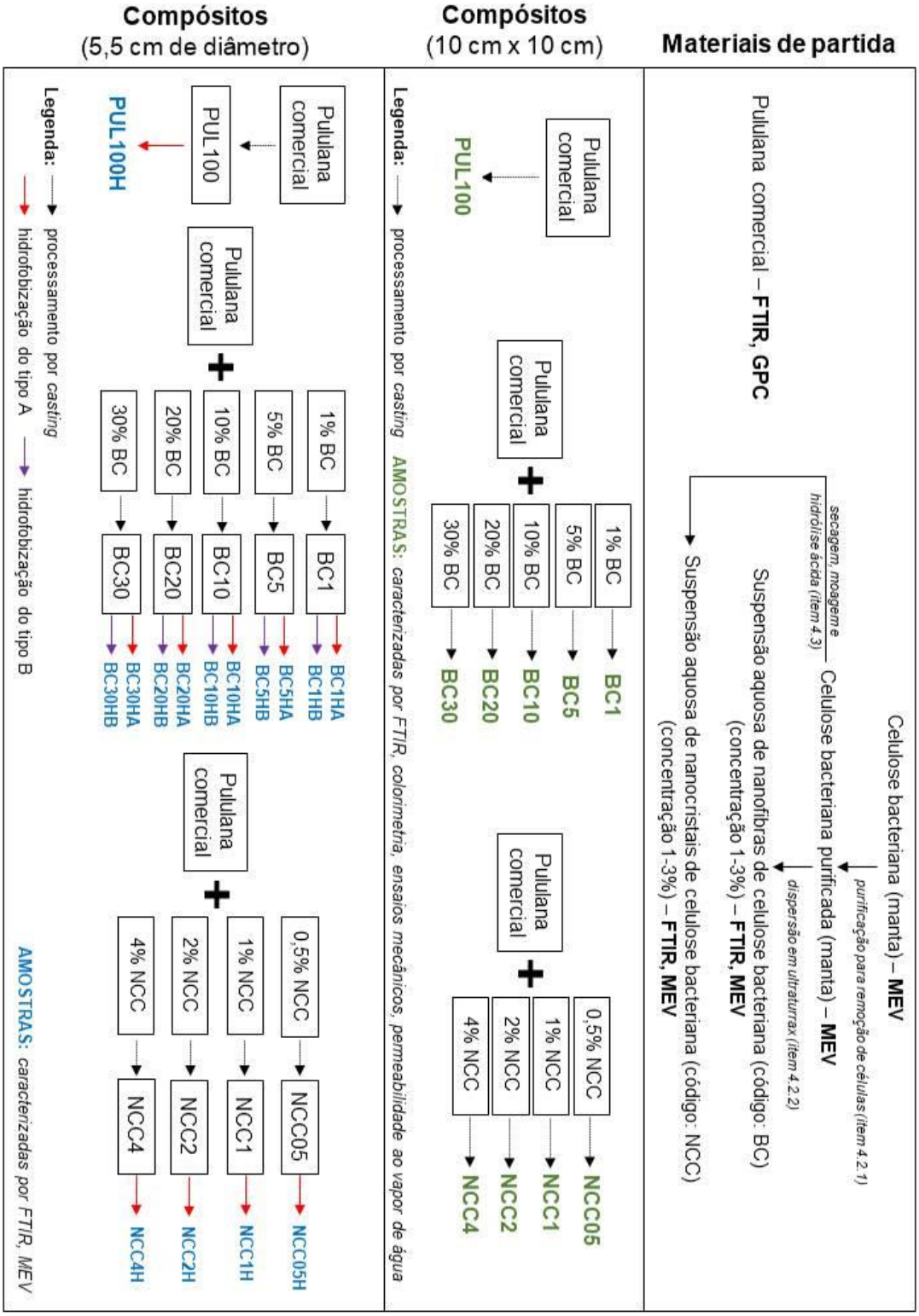
(iii) associação entre pululana comercial e celulose bacteriana (nativa e na forma de nanocristais), em diferentes proporções, para a produção de compósitos por *casting* e avaliação de suas propriedades ópticas e mecânicas, espessura, hidrofobicidade, homogeneidade e permeabilidade ao vapor de água;

(iv) hidrofobização por meio de modificação química dos compósitos de pululana e celulose (nativa e na forma de nanocristais) com TCMS, em sistema de reação sólido-gás;

(v) caracterização dos materiais por espectroscopia de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura, ângulo de contato, difração de raios-x, ensaios mecânicos, colorimetria e permeabilidade ao vapor de água.

4 Experimental

Figura 13 – Composição, confecção, hidrofobização e análises dos compósitos



Fonte: O autor

O presente trabalho foi dividido em cinco partes principais, sendo (i) produção e caracterização de fibras de celulose bacteriana (BC), (ii) produção e caracterização de nanocristais de celulose bacteriana (NCC), (iii) produção e caracterização de compósitos de matriz de pululana comercial (grau alimentício) reforçados com BC e NCC em diferentes concentrações; (iv) hidrofobização dos compósitos; (v) caracterização dos compósitos hidrofobizados e não-hidrofobizados. A Figura 13 apresenta, na forma de fluxograma, os compósitos que foram preparados, bem como as etapas procedentes de caracterização e hidrofobização. Nesse fluxograma também estão apresentados os códigos dados a cada amostra.

4.1 Materiais

Membrana celulósica contendo microrganismos (obtida a partir de cultura de chá de kombucha) foi generosamente fornecida pelo Prof. Dr. Ismael Mancilha, do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena, e a pululana (grau alimentício, 120 kDa) foi concedida pela empresa Nagase do Brasil. Sacarose, ácido acético glacial (Qhemis), hidróxido de sódio (P.A., Synth), ácido sulfúrico (96-98%, Synth) e triclorometilsilano (TCMS, 99% Sigma-Aldrich), foram usados sem purificação prévia. Outros solventes e reagentes também fizeram parte deste trabalho e foram usados sem prévia purificação.

4.2 Produção de celulose bacteriana

A celulose bacteriana (BC) foi obtida a partir de cultura de chá de kombucha (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Como meio de cultura, utilizou-se solução contendo 20 g de sacarose, 20 mL de vinagre comercial (concentração de ácido acético nominal de 5% v/v), e extrato de chá preto comercial (20 g, marca Mate Leão), dissolvidos em 1 litro de água sob ebulição. Após atingida temperatura ambiente, uma membrana quadrada de 20 cm de aresta e 1 cm de espessura contendo os microrganismos produtores de celulose foi então imersa no meio de cultura previamente preparado, em recipiente quadrado de 20 cm de aresta e 15 cm de profundidade. Este recipiente foi coberto com um pano para evitar

contaminação e sobre o pano foi colocada a tampa do recipiente sem encaixá-la completamente para permitir a passagem de ar. A fermentação foi conduzida em modo estático, por aproximadamente 7 dias, quando foi possível observar a presença de uma nova membrana que ocupava toda área relativa ao tamanho da abertura do recipiente. O meio líquido, enriquecido com microrganismos, pôde ser utilizado para a síntese de novas membranas.

Para a manutenção do cultivo, retirou-se uma fração de aproximadamente dois terços do meio fermentado, e substituiu-se, na mesma quantidade, por um novo meio, de modo a manter a fonte de carbono disponível aos microrganismos.

4.2.1 Purificação das membranas de celulose bacteriana

Para a utilização das membranas celulósicas que foram produzidas, uma etapa prévia de purificação se fez necessária a fim de remover as células aderidas das fibras (LIMA et al., 2015). Assim, as membranas foram suspensas em solução 0,1 M de NaOH, a 60 ^{o}C por 30-60 minutos. Durante o processo foi possível observar o escurecimento da solução e o branqueamento das membranas. Ao fim da purificação, as membranas foram retiradas do meio alcalino, lavadas com água destilada, e armazenadas em água destilada.

4.2.2 Dispersão das fibras de celulose bacteriana

As membranas de celulose bacteriana foram dispersas em água com um dispersor Ultra Turrax T25 IKA, a 10000 rpm, por 40 ciclos de 50 segundos.

A concentração (m/v) de cada suspensão foi determinada por gravimetria, com o auxílio de placas de Petri de vidro, condicionadas em estufa a 100 ^{o}C por no mínimo 12 horas. Às placas foram adicionados 5 mL da suspensão contendo as fibras de celulose, levando-as novamente à estufa a 100 ^{o}C por 12 horas. A concentração das suspensões foi calculada pela razão entre a massa de celulose e o volume inicial adicionado às placas. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

4.3 Produção de nanocristais de celulose bacteriana

As membranas celulósicas purificadas foram secas em estufa a 60 °C por 24 horas e moídas em moinho de impacto (IKA A11). Os nanocristais foram preparados por hidrólise ácida, a partir de suspensão contendo aproximadamente 59 g de celulose por litro de solução de ácido sulfúrico 64 wt% (levando em consideração a umidade da celulose, medida em balança de infravermelho Marte, modelo Id50), a 50 °C, por 15 minutos, sob agitação magnética.

Após a hidrólise, a suspensão foi lavada com 10 volumes de água destilada e centrifugada a 3000 rpm por 20 minutos. Os sobrenadantes foram separados dos precipitados, com os quais repetiu-se subsequentes lavagens e centrifugações, até que os nanocristais de celulose permanecessem em suspensão (o que pôde ser observado pelo surgimento de turbidez no sobrenadante).

O sobrenadante contendo os nanocristais foi então neutralizado usando membrana de diálise (Sigma-Aldrich, MWCO 12 kDa), mantida imersa em água destilada (pH corrigido para 7,0). A água foi trocada até pH constante.

A concentração (m/v) das suspensões contendo os nanocristais foi determinada por gravimetria, em procedimento similar ao descrito no item 4.2.2. Todas as medidas foram feitas em triplicata (LIMA et al., 2015).

4.4 Caracterização de BC, NCC e pululana

4.4.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

BC e NCC foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho, e os espectros obtidos foram comparados com o proveniente de celulose microcristalina comercial (Avicel, FMC *BioPolymer*). A pululana comercial também foi caracterizada por esta mesma técnica. As amostras foram analisadas usando pastilhas de KBr em um espectrômetro de infravermelho *Perkin Elmer*, modelo Spectrum GX localizado no Departamento de Biotecnologia Industrial da Escola de Engenharia de Lorena (USP) no modo transmissão. Para preparação das pastilhas, adicionou-se 1,5 mg de amostra a 150 mg de KBr (grau espectroscópico), e mantidos em estufa a 105 °C por 60 minutos. As misturas

foram homogeneizadas em gral de ágata (almofariz) e prensadas (1-1,5 kgf/cm^2) sob vácuo durante 5 minutos para a formação das pastilhas.

4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das fibras de celulose bacteriana, antes e depois da purificação, foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para realizar o teste nas membranas de celulose foi utilizado o microscópio eletrônico modelo Zeiss EVO LS-15 do Departamento de Materiais da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (UNESP), com tensão de aceleração de 5 a 15 kV e ampliação de 100 a 50000 vezes. Para a análise das fibras de celulose em suspensão foi utilizado o miscroscópio eletrôncico LEO 435 VPi – ZEISS, da Divisão de Materiais do Instituto de Aeronáutica e Espaço, com tensão de 5 a 30 kV e ampliação de 100 a 50000 vezes.

As membranas a serem testadas foram secas em estufa por 24 horas a 70 ºC. Em seguida o material seco foi submetido à metalização (Au) e fixado ao suporte do microscópio com fita de carbono para condução dos elétrons. Por fim, o material foi condicionado dentro do equipamento para análise.

Para avaliar a morfologia das fibras nas suspensões de BC e NCC, estas foram diluídas 100 vezes com água destilada, resultando em concentrações finais de 0,016 g/L. Após a diluição, as suspensões foram submetidas a ultrassom (100 W e 20 KHz em pulsos de 5 segundos, com 2 segundos de pausa entre os pulsos, até atingirem 10000 J de energia, de acordo com metodologia proposta por Lima et al. (2015), para favorecer a dispersão. Em seguida, as suspensões foram gotejadas sobre fita de carbono em suporte metálico para MEV e secas em estufa a 30 °C por 1 hora. O suporte com as amostras foi então submetido à metalização (Au) e condicionado dentro do equipamento para análise.

4.4.3 Difração de raios X

Amostras de BC in natura, BC purificada e NCC foram caracterizadas por difração de raios X. Membranas de BC foram secas em estufa por 24 horas. Para NCC, uma suspensão foi depositada em placa de Petri e mantida em estufa por aproximadamente 24 horas até secagem e formação de um filme. As membranas

e o filme foram então depositados em uma lâmina de vidro para análise em um difratômetro da marca *Panalytical*, modelo *Empyrean* com radiação Cu Kalfa, localizado no Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de Lorena (USP).

O índice de cristalinidade relativo (CI) foi calculado a partir de espectros de intensidade por ângulo (2θ) na faixa de 10° a 40° com o auxílio do software Origin. Para o cálculo utilizou-se a equação de Segal (Equação 1):

$$CI(\%) = \frac{(I_{200} - I_{am})}{I_{200}} \text{ x } 100 \quad (1)$$

Em que I_{200} é a intensidade do pico correspondente ao índice do plano 200 da celulose I, com 2θ igual a 22.8°, e I_{am} é a intensidade da fração amorfa, com 2θ igual a 18°, que funciona como uma linha de base no espectro (SEGAL et al., 1959).

4.5 Confecção dos compósitos

Os compósitos foram confeccionados por *casting* em placas de Petri de duas dimensões diferentes. O primeiro grupo de compósitos foi preparado em placas de Petri quadradas de dimensões 10 x 10 cm, e o segundo grupo de compósitos, em placas de Petri redondas de aproximadamente 5,5 cm de diâmetro. Conforme mencionado, a matriz dos filmes foi de pululana (1 g), e o reforço de celulose bacteriana nativa (BC) ou de celulose nanocristalina (NCC), cujas proporções mássicas relativas à massa de pululana estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição dos compósitos de matriz de pululana reforçados com BC ou com NCC.

Amostra	% mássica de BC	% mássica de NCC
PUL100	0	0
BC1	1	0
BC5	5	0
BC10	10	0
BC20	20	0
BC30	30	0
NCC05	0	0,5
NCC1	0	1
NCC2	0	2
NCC4	0	4

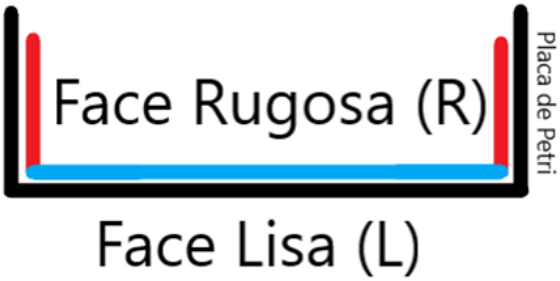
Fonte: O autor

Para a confecção do branco (material contendo apenas pululana), 1 g de pululana foi mantido sob agitação com 50 mL de água destilada, a uma temperatura de 100 ^{o}C. Após homogeneização, (aproximadamente 15 minutos), a solução foi desaerada à vácuo para minimizar a formação de bolhas durante a etapa de *casting.* Em seguida, a solução foi vertida em placa de Petri, e mantida em estufa a 35 ^{o}C, por aproximadamente 24 horas, até completa eliminação da água. Um filme de BC puro foi confeccionado da mesma maneira.

Para confecção dos compósitos reforçados com BC e NCC, adicionou-se pululana às respectivas suspensões, de forma que os materiais finais, após secagem, possuíssem as concentrações descritas na Tabela 1. De modo similar ao descrito anteriormente, as suspensões foram desaeradas a vácuo, vertidas em placa de Petri, e mantidas em estufa a 35 ^{o}C.

É importante mencionar que o processamento por *casting* leva a compósitos heterogêneos quando reforçados com BC. Isso pode ser observado após a secagem, de modo que a face que permaneceu em contato com a placa de Petri possuía topografia lisa, enquanto a face que permaneceu exposta ao ar possuía topografia rugosa, conforme apresentado na Figura 14. Para a apresentação dos procedimentos e discussão dos resultados, essa nomenclatura será usada quando pertinente.

Figura 14 – Heterogeneidade na topografia dos compósitos reforçados com BC produzidos por *casting*.

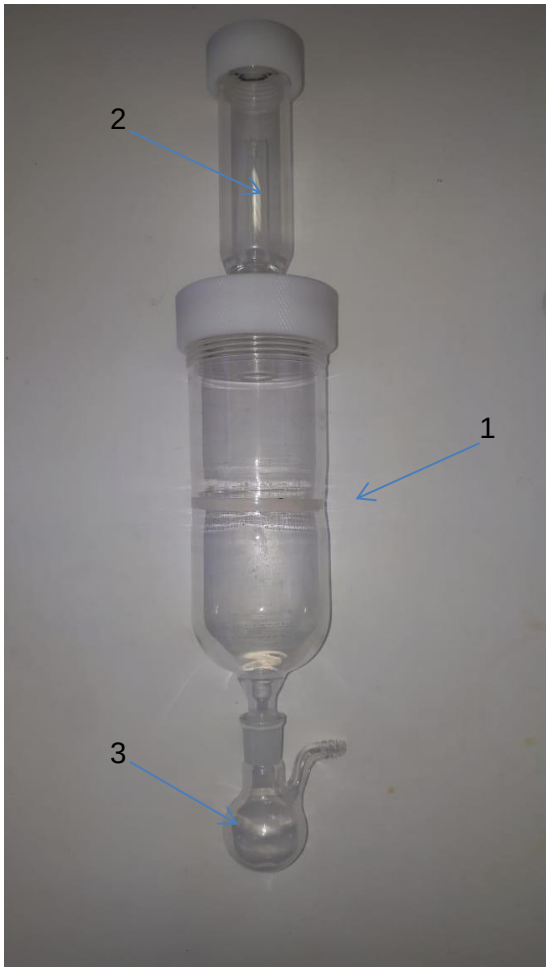


Fonte: O autor

4.6 Hidrofobização

A hidrofobização dos compósitos foi realizada a partir de reação sólido-gás entre as hidroxilas e triclorometilsilano (TCMS) gasoso carreado por gás nitrogênio, conforme descrito por Cunha et al. (2010). Os experimentos foram conduzidos com os compósitos confeccionados na forma circular (aproximadamente 5,5 cm de diâmetro). Todas as reações foram feitas a temperatura ambiente, em capela, com uso de reator cilíndrico de vidro Figura 15 de 6 cm de diâmetro e 14 cm de comprimento, com uma placa de vidro sinterizada (1) no meio do comprimento para suporte dos filmes e que permite a passagem do gás contendo TCMS. Acoplado a esse reator havia (2) um balão volumétrico com uma segunda entrada para gás nitrogênio, onde o TCMS líquido era armazenado, e (3) um sifão para neutralização do HCl produzido como subproduto da reação, contendo aproximadamente 100 mL solução de hidróxido de sódio a 0,1 M. A vazão de gás era de 100 mL/min e o tempo de hidrofobização de 15 segundos para compósitos com celulose bacteriana e 12 segundos para compósitos com nanocristais de celulose. Em seguida, os compósitos foram extraídos em sistema soxhlet, com etanol, por duas horas.

Figura 15 – Reator utilizado para hidrofobização.

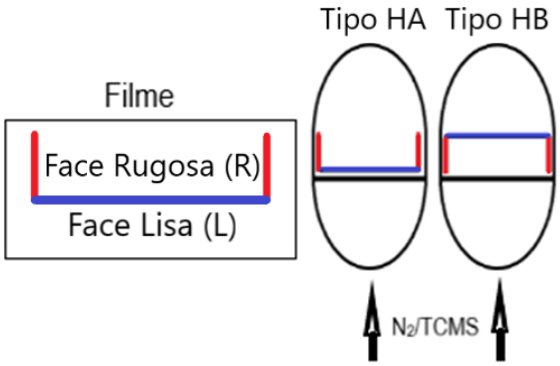


Fonte: O autor

Ao final do processo, o reator era desmontado e mantido em solução de NaOH 0,5 M por 24 horas para neutralização do TCMS remanescente.

As reações de hidrofobização foram realizadas de duas maneiras, conforme apresentado na Figura 16. Nas reações de hidrofobização do tipo HA, a face lisa dos compósitos permaneceu em contato direto com a placa de vidro sinterizada, e nas reações de hidrofobização do tipo HB, a face rugosa dos compósitos permaneceu em contato direto com a placa de vidro sinterizada.

Figura 16 – Representação das faces dos filmes e esquema dos tipos de hidrofobização.



Fonte: O autor

4.7 Caracterização dos compósitos

4.7.1 Medida de espessura

A espessura dos compósitos foi medida de acordo com a norma ASTM D6988 (“ASTM D6988-13: Standard Guide for Determination of Thickness of Plastic Film Test Specimens”, 2013). Foram realizadas ao menos cinco medidas em regiões diversas dentro da área do filme utilizando um micrômetro mecânico da marca Marberg (Figura 17). Em seguida foi possível calcular a média das medidas realizadas.

Figura 17 – Micrômetro mecânico Marberg

Fonte: O autor.

4.7.2 Permeabilidade ao vapor de água

As medidas de permeabilidade ao vapor de água foram feitas em dessecador com o auxílio de frascos de vidro de 2 mL com tampa com orifício, de acordo com a ASTM E96/E96M-16.

Primeiramente, os frascos e as tampas foram condicionados em estufa por 24 horas a 60 ºC; a sílica, utilizada para manter a umidade do dessecador, foi condicionada em estufa a 100 ºC; os compósitos foram condicionados em dessecador a temperatura ambiente sob vácuo.

Os frascos foram preenchidos com 1 g de cloreto de cálcio (umidade relativa de 0%) e cobertos com um pedaço de cada compósito a ser testado. Os frascos foram então fechados com tampa (Figura 18), cujo orifício tem área de $2{,}26 \times 10^{-4}$ m^2, pesados em balança analítica, medindo-se os valores na precisão de 0,0001 g, e em seguida mantidos em dessecador a 25 ºC (Figura 19). Junto aos frascos, uma solução saturada de cloreto de sódio estava presente para manter a umidade relativa em 75% a 25°C (ADJOUMAN et al., 2017). Foram realizadas pesagens diariamente por 7 dias, de modo a avaliar a variação da massa dos frascos em função do tempo, e cada amostra foi testada em triplicata.

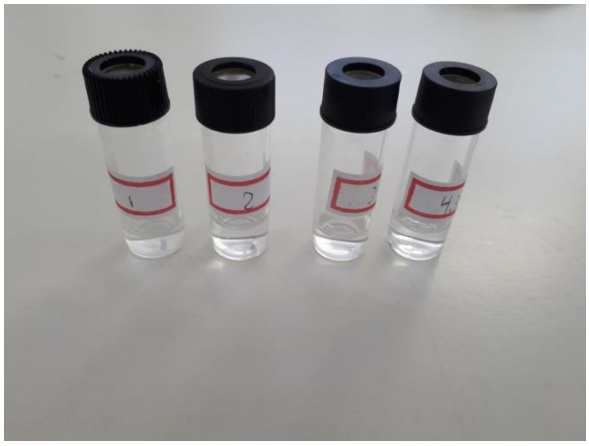
O valor de permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculado, primeiramente, pela taxa de transmissão de vapor de água (TTVP) em $g.s^{-1}m^{-2}$, obtida pelo coeficiente angular médio dos gráficos de cada amostra dividido pela área de abertura. Em seguida, aplicou-se a Equação 2, adaptado de Adjouman et al. (2017).

$$PVA = \frac{TTVP \times E}{(S \times (R1 - R2))} \quad (2)$$

Em que E é a espessura dos filmes (m), S é a pressão de vapor da água a 25 ºC em Pa, R1 é a umidade relativa no dessecador (75%) expressa como fração e R2 é a umidade relativa na abertura do frasco (0%) expressa como fração (“ASTM E96 / E96M-05", 2016). Os valores de PVA são dados em $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$.

ANOVAS conforme o método *Unequal N HSD* pelo software Statistica 10 foram realizadas para averiguar diferença estatística entre os resultados de permeabilidade.

Figura 18 – Frascos dos testes de permeabilidade ao vapor de água



Fonte: O autor

Figura 19 – Teste de permeabilidade ao vapor de água conduzido em dessecador

Fonte: O autor

4.7.3 Colorimetria

O teste de colorimetria foi feito em espectrofotômetro ColorMate da marca Scinco, localizado no Departamento de Biotecnologia Industrial da Escola de Engenharia de Lorena (USP), usando suporte adequado, com o objetivo de medir a porcentagem de transmitância em cada material e de avaliar a diferença de cor nas escalas CIE L*a*b* e amarelidão, ambos em relação ao filme de pululana. O teste de cor mede as diferenças no claro e escuro (d*L), do verde para o vermelho (d*a) e do azul para o amarelo (d*b). Os testes foram feitos comparativamente para avaliar eventuais diferenças nas propriedades óticas dos compósitos produzidos.

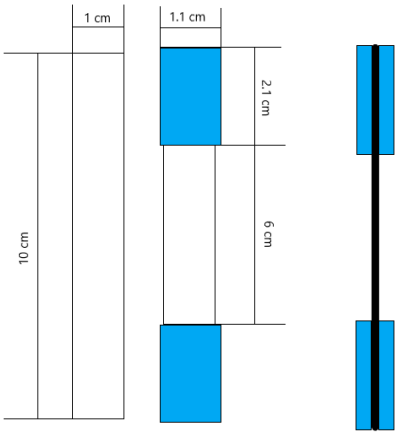
4.7.4 Ensaios Mecânicos

Corpos de prova retangulares (10 x 1 cm) foram confeccionados com o auxílio de estilete em superfície de papelão sobre um molde, e em seguida adaptados com pedaços de borracha de 1 mm de espessura, 1,1 cm de largura e 2,1 cm de comprimento, colados em ambas as faces, nas extremidades das amostras, de modo que estivesse submetido à tensão 6 cm do meio do corpo de prova (Figura 20) (TROVATTI et al., 2012a).

Os ensaios mecânicos foram realizados em um LTM-300 da Kratos Equipamentos, localizado na Divisão de Materiais do Instituto de Aeronáutica e Espaço, adaptado para célula de carga de 2 Kgf, com um deslocamento de 0,5 mm/min. A tensão na ruptura, a deformação e o módulo de Young foram obtidos.

ANOVAS conforme o método *Unequal N HSD* pelo software Statistica 10 foram realizadas para averiguar diferença estatística entre os módulos de Young.

Figura 20 – Esquema da adaptação da amostra para ensaio de tensão



Fonte: O autor

4.7.5 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Análises de espectroscopia de infravermelho (FTIR) foram conduzidas em um Espectômetro PerkinElmer Spectrum 100 com módulo de ATR (reflectância total atenuada), Localizado no Departamento de Física da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (UNESP), nas condições de 16 escaneamentos e com precisão de 2 cm^{-1}.

4.8 Avaliação da eficiência das reações de hidrofobização

Para a avaliação da eficiência da reação com TCMS, os compósitos foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e ângulo de contato.

4.8.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Os compósitos hidrofobizados foram analisados por FTIR para avaliar a extensão da reação com TCMS, indicada pela presença de bandas características, em números de onda (cm^{-1}) iguais a 1270, referente à deformação angular da ligação $Si\text{-}CH_3$; 1080 a 1100 cm, característica de grupos Si-O-C; 950, referente às ligações Si-OH e Si-O-Si; e 1100, referente à ligação Si-Cl (BELLAMY, 1975). As análises foram conduzidas no mesmo espectrômetro do item 4.7.5, nas condições de 16 escaneamentos e com precisão de 2 cm^{-1}. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos a partir dos compósitos não hidrofobizados.

4.8.2 Ângulo de contato

O ângulo de contato dos filmes hidrofobizados e não hidrofobizados foram medidos com o uso de um goniômetro Ramé-Hart, modelo 300, Localizado no Departamento de Física da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (UNESP). Os filmes foram fixados com fita dupla face em lâminas de vidro e posicionados no suporte do aparelho. Gotas de água de 15 µL foram depositadas nas superfícies dos filmes e os ângulos de contato foram medidos ao menos quatro vezes em diferentes regiões dos filmes. Dessa forma, calculou-se a média de todos os valores medidos para todas as gotas de cada amostra, com o seu respectivo desvio padrão. ANOVAS conforme o método *Unequal N HSD* pelo software Statistica 10 foram realizadas para averiguar diferença estatística entre os resultados de ângulo de contato.

4.8.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia superficial dos compósitos hidrofobizados foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), de modo a identificar modificações na superfície relativas ao processo de hidrofobização. As amostras foram fixadas em um suporte adequado com fita de carbono e, em seguida, foram metalizadas com fina camada de ouro, e analisadas com o auxílio de um microscópio LEO 435 VPi – ZEISS, da Divisão de Materiais do Instituto de Aeronáutica e Espaço. As micrografias foram comparadas com aquelas obtidas a partir dos compósitos não hidrofobizados.

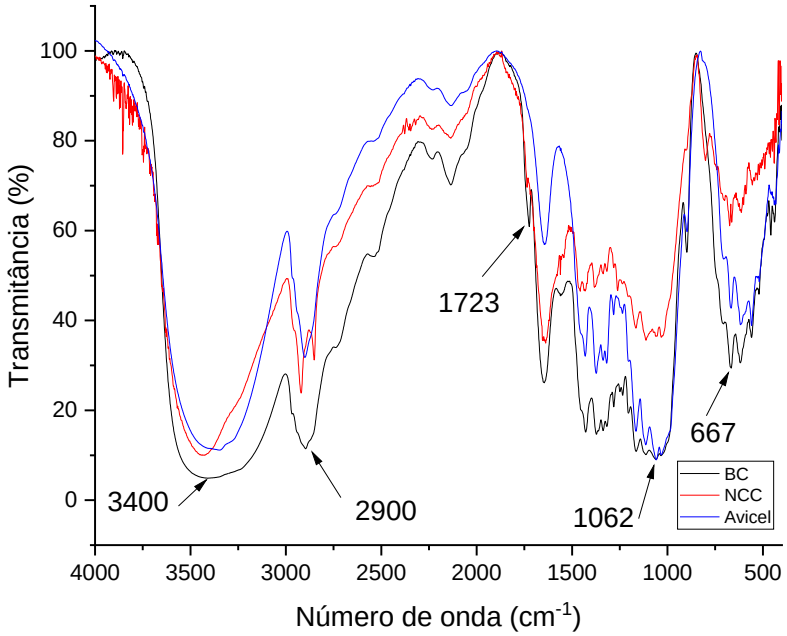
5 Resultados e Discussão

5.1 Caracterização da celulose bacteriana

5.1.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

A Figura 21 ilustra os espectros de infravermelho obtidos para as amostras de celulose bacteriana após purificação (BC), nanocristais de celulose bacteriana (NCC) e celulose cristalina comercial (Avicel), analisada para fins de comparação.

Figura 21 – Espectros de infravermelho das amostras de BC, NCC e Avicel



Fonte: O autor

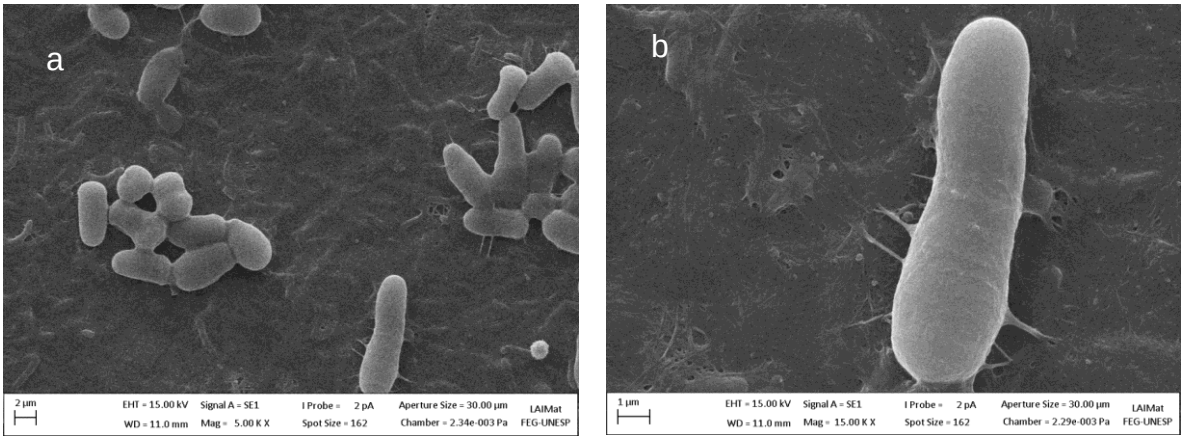
É possível observar, pela análise dos espectros apresentados na Figura 21, que há coincidência entre as bandas apresentadas nos três casos, nos mesmos números de onda, mas com intensidades distintas. Observa-se picos (cm^{-1}) na região de (i) 3000-3600 cm^{-1}, típicas de estiramento O-H, associado às hidroxilas das unidades de glicopiranose; (ii) 2900 cm^{-1}, proveniente de estiramento das ligações C-H; (iii) entre 1050-1100 cm^{-1}, associado a vibração das ligações C-O; e (iv) próximos de 700 cm^{-1}, relacionado a vibrações de ligações C-H e H-C-H (KARGARZADEH et al., 2017). É importante mencionar o aparecimento de uma banda (cm^{-1}) em 1723 cm^{-1}, tipicamente corresponde a carbonila de éster, na amostra de BC. A presença desta banda pode ser justificada por contaminação de células, ou de resíduos de proteínas nas membranas (FULLER; ANDAYA; MCCLAY, 2018). É provável que, mesmo após

a etapa de purificação, ainda reste células nas membranas, ou haja resquícios celulares, como proteínas e debris.

5.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As Figuras 22 e 23 correspondem às micrografias obtidas para as membranas de BC antes (Figura 22) e depois (Figura 23) da purificação.

Figura 22 – Micrografias das membranas de BC antes da purificação, com ampliações de (a) 5000 x e (b) 15000 x

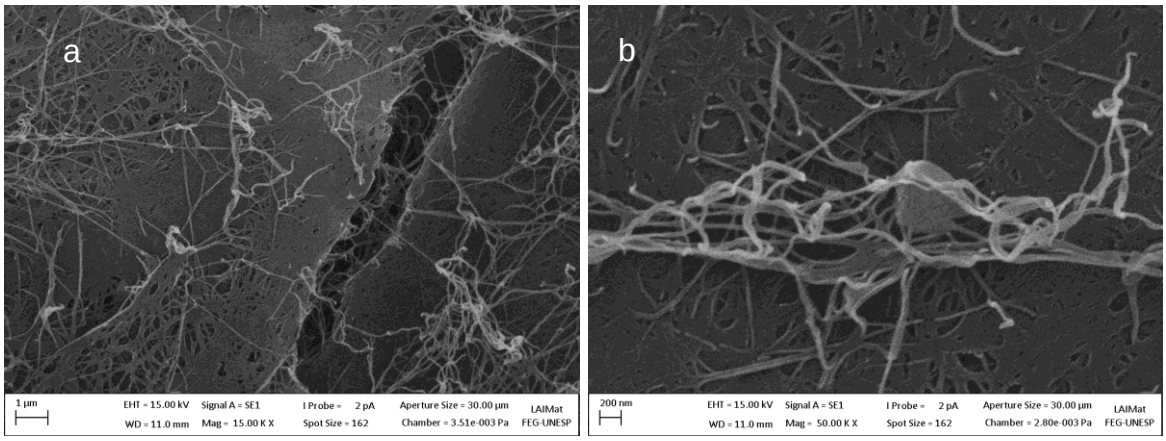


Fonte: O autor

Observa-se claramente a presença de células de bactérias em grande quantidade, espalhadas por toda membrana. É possível ver o formato de bacilo das células e a formação das colônias nas membranas. Essa grande quantidade de bactérias reflete o comportamento aeróbio de crescimento celular, uma vez que em fermentação estática as bactérias se aglomeram imensamente na superfície do meio fermentativo (BERGEY, 1994; DONINI et al., 2010).

Em ampliações maiores, é possível ver como as bactérias estão fixas nas membranas e a excreção das fibras de celulose para fora das células, mostrando o caráter de exopolissacarídeo que a celulose possui.

Figura 23 – Micrografias das membranas de BC após a purificação, com ampliações de (a) 15000 x e (b) 50000

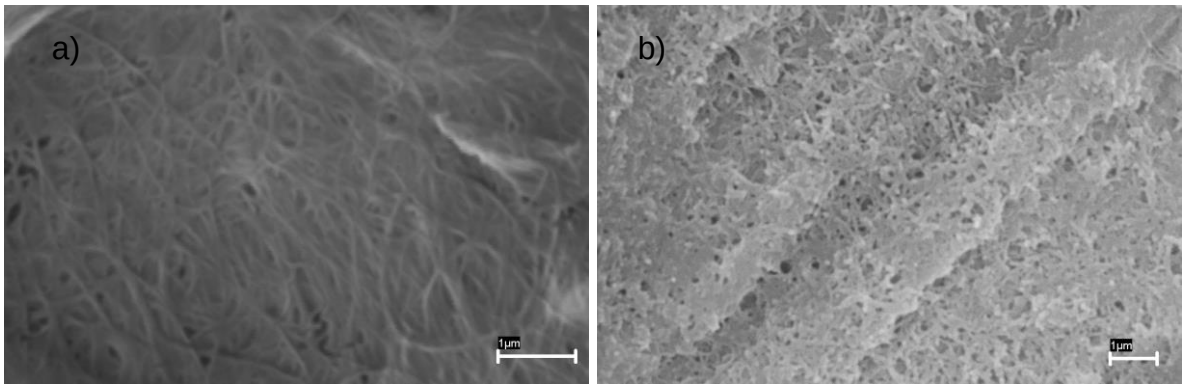


Fonte: O autor

É possível observar que as fibrilas de celulose bacteriana possuem comprimento consideravelmente maiores em comparação ao diâmetro, o que é indicativo de valores altos de razão de aspecto. Entretanto, para o cálculo preciso deste valor, é necessária uma maior dispersão das fibras, de modo a permitir a medida das dimensões utilizando ferramentas de softwares específicos de tratamento de imagens. Comparando os resultados das membranas purificadas (Figura 23) com as não purificadas (Figura 22), é possível observar a remoção das células de bactérias que apareciam associadas à membrana antes da purificação. Vale mencionar também que, devido ao fato do processo de purificação ser realizado em meio alcalino a 60 °C, existe a possibilidade da ocorrência de interações entre os íons sódio com os átomos das cadeias de celulose, principalmente grupamentos hidroxila, o que pode levar a rupturas e reposicionamentos e, consequentemente, mudanças conformacionais, resultando em diferentes formas cristalinas (celulose I para celulose II). Este fato será posteriormente averiguado por análises de difração de raios X.

De acordo com o item 4.4.2, as suspensões de BC e NCC usadas para a confecção dos compósitos foram diluídas, gotejadas sobre fita de carbono em suporte metálico, secas, metalizadas e analisadas por microscopia eletrônica de varredura. Na Figura 24 estão apresentadas as micrografias referentes à suspensão de BC (Figura 24a), com ampliação de 50000 vezes, e à suspensão de NCC (Figura 24b), com ampliação de 30000 vezes.

Figura 24 – Micrografia das suspensões de a) BC a 50000x e b) NCC a 30000x.



Fonte: O autor

A tensão utilizada que foi capaz de identificar as imagens foi de 15 kV. A partir da Figura 24a (BC) é possível observar o longo comprimento das fibras em relação a espessura, assim como observado na micrografia referente à membrana celulósica produzida no meio fermentativo (Figura 23). Não é possível, entretanto, visualizar a dispersão das fibras de forma clara, o que seria desejável tendo em vista a posterior aplicação na confecção dos compósitos. É possível que mesmo no baixo valor de concentração usado para o preparo da amostra, houve aglomeração e agregação das fibras, o que impede de estimar os valores de comprimento e diâmetro com precisão. Este comportamento é típico para suspensões de NCC após secagem. Na Figura 24b (NCC) observa-se uma incrustação de pequenos pedaços de fibras visivelmente menores que em BC. Entretanto, não foi possível identificar a natureza nanocristalina da celulose nesse caso, o que pode ser justificado pela inadequação da técnica escolhida.

As técnicas mais frequentemente reportadas na literatura para avaliação morfológica de NCC são a microscopia de força atômica (MFA) e a microscopia eletrônica de transmissão (MET), ao passo que também é possível visualizar os cristais de celulose por microscopia eletrônica de varredura por emissão de feixe (MEVEF), menos comum do que as outras duas técnicas (KARGARZADEH et al., 2017; KAUSHIK et al., 2015).

O MFA é uma técnica distinta das demais por se utilizar de um processo mecânico de confecção de imagem. A microscopia se dá pela utilização de um *cantilever*, uma espécie de agulha feita normalmente de silicone, que toca na superfície e registra as deflexões do contato com a amostra por laser. Os modos de operação do MFA são de contato, semi-contato ou não-contato, de tal modo que para amostras orgânicas é preferível o uso das duas últimas modalidades (KARGARZADEH et al., 2017). Lahiji

et al. (2010) usaram MFA com o objetivo de analisar topografia e as propriedades elásticas e adesivas de NCC. Uma suspensão de 1,2% m/v foi gotejada sobre um quadrado de mica de 1 x 1 cm e a MFA foi empregada nos modos de contato, semi-contato e não contato. Com isso, estruturas de NCC de espessuras entre 2 e 8 nm e comprimentos entre 100 e 300 nm foram identificadas, com variação de altura entre 2 a 4 nm, adesão e rigidez uniformes no decorrer do comprimento. Valores de módulo de Young entre 18 e 50 GPa foram obtidos.

O MET é uma técnica de microscopia bastante poderosa, pois enquanto o MEV possui uma tensão de aceleração de até 30 kV, o MET tem tensão de 120 kV, resultando em ampliações de até 10^6 vezes (KAUSHIK et al., 2015). Nesse tipo de micrografia, um *grid* de cobre de 300 a 400 mesh recoberto com *lacey carbon* é usado como suporte. Para um aprimoramento da imagem, utiliza-se um contraste que ajuda a delinear melhor as imagens (KAUSHIK et al., 2015). No trabalho de LIMA et al. (2015), NCCs foram isolados a partir de BC via hidrólise ácida. Para a avaliação morfológica, suspensões de 0,005% m/v de concentração e um contraste de ácido fosfotúngstico foram utilizados, sendo possível identificar nanocristais com espessuras entre 10 e 50 nm e comprimentos de 100 nm a vários micrômetros.

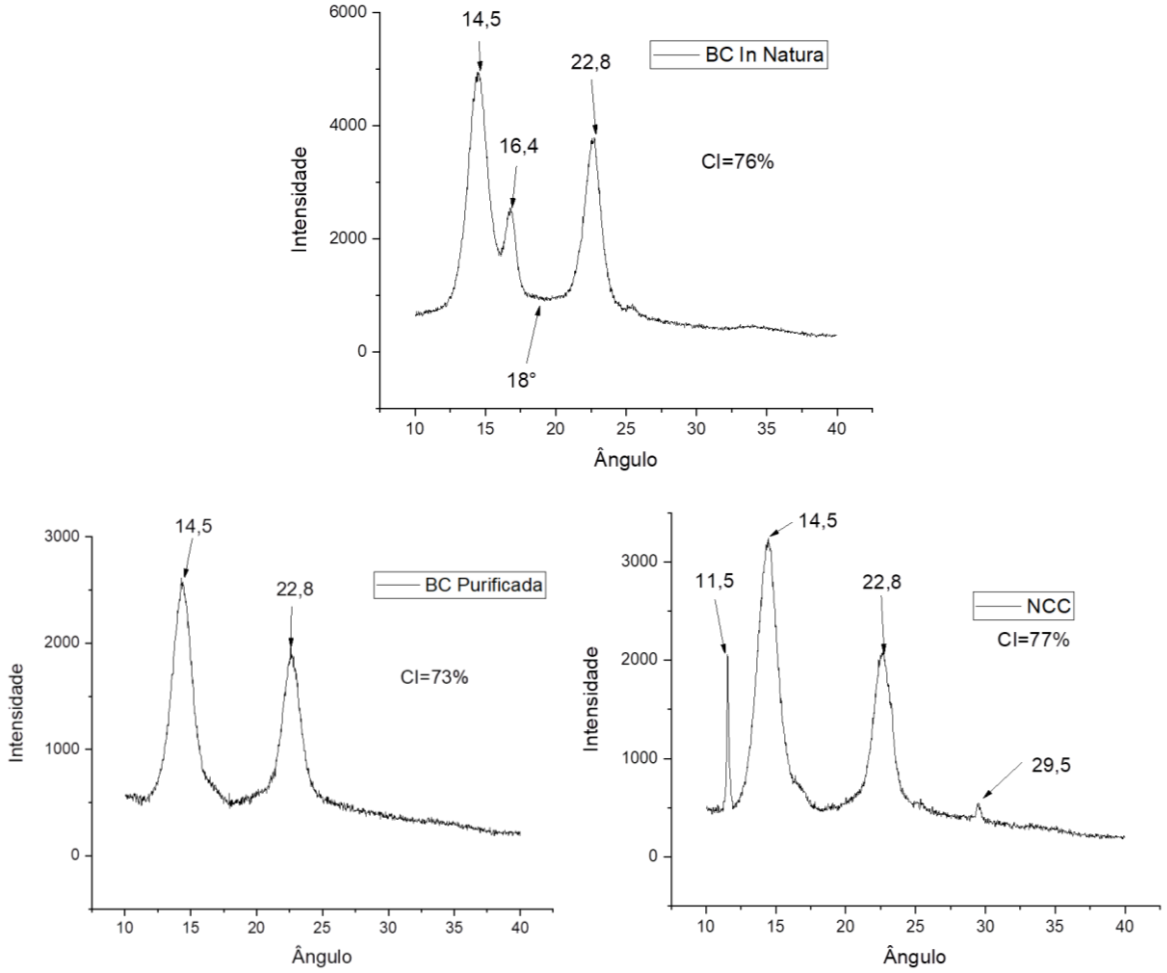
O MEVEF é uma técnica microscópica muito similar à MEV, com mesmo preparo de amostras, mas sem a aplicação de feixe de elétrons durante e análise. Por ter um espalhamento de elétrons menor que a MEV, MEVEF atinge resoluções maiores que a MEV com tensões de aceleração menores (ZHOU et al., 2006). Boluk e Danumah (2014) avaliaram diferentes métodos para determinar as dimensões de nanocristais de celulose comerciais, incluindo espalhamento de luz dinâmico, MET e MEVEF. Os autores encontraram valores similares usando MET e MEVEF (em torno de 250 nm de comprimento e 15 nm de espessura), e concluíram que a combinação de técnicas de microscopia com espalhamento de luz dinâmico é viável para a determinação de estruturas de NCC e de outras partículas similares.

A técnica empregada no presente trabalho, portanto, não foi adequada para a avaliação morfológica dos NCCs. Observa-se também uma grande aglomeração de NCCs, mesmo usando concentração de suspensão compatível com outros trabalhos reportados na literatura, que dificultou consideravelmente a distinção dos cristais individuais e a medida de suas dimensões.

5.1.3 Difração de raios X

A Figura 25 apresenta o espectro de raios X das amostras de BC in natura (Figura 25a), purificada (Figura 25b) e da amostra de NCC (Figura 25c). Os valores de índice de cristalinidade calculados a partir da Equação 1 estão apresentados na Tabela 2.

Figura 25 – Espectro de raios X das amostras de (a) BC in natura, (b) BC purificada e (c) NCC.



Fonte: O autor

Tabela 2 – Índice de cristalinidade de BC in natura, BC purificada e NCC.

Amostra	Cristalinidade
BC *in natura*	76
BC purificada	73
NCC	77

Fonte: O autor

A partir dos espectros apresentados na Figura 25, foi possível calcular o índice de cristalinidade relativa para BC *in natura*, BC purificada e NCC usando a Equação 1.

Os valores calculados para BC *in natura* e BC purificada (Tabela 2) estão de acordo com o esperado para os materiais celulósicos (ABRAL et al., 2018; KARGARZADEH et al., 2017). O valor de índice de cristalinidade calculado para a amostra de NCC também está de acordo com os valores frequentemente reportados na literatura para celulose nanocristalina, que variam entre 73 e 88% (KARGARZADEH et al., 2017). Vale ressaltar também os picos presentes além dos utilizados para o cálculo. O pico em 2θ = 14,5°, presente em todos os espectros, refere-se ao índice do plano 101 da celulose I, fase alomórfica da celulose natural presente na biomassa in natura. Na BC in natura e na NCC ainda é possível observar o plano $10\bar{1}$ de celulose I pela presença de pico em 2θ = 16,4° (JUNG et al., 2010b). Apesar do tratamento alcalino, a ausência de pico em 2θ = 12°, 20°, 22° e 34.6° (KARGARZADEH et al., 2017), referente a planos de celulose II, indica que não houve qualquer mudança de conformação do retículo cristalino da celulose após a purificação (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Sendo assim, a denominação "BC *in natura*" será mantida ao longo de todo o texto para diferenciá-la da NCC. Já na amostra de NCC, existe um pico em 2θ = 11,5° que é próximo do índice do plano 101 da celulose III. No entanto, o pico está muito distinto dos demais e pode apenas se apresentar como um ruído, pois não houve um tratamento correspondente que gerasse celulose III neste trabalho (GELLERSTEDT; EK; HENRIKSSON, 2009). Os picos em 2θ = 25,4° e 29,5° presentes nos espectros não possuem correspondência de qualquer forma alomórfica da celulose e, portanto, possivelmente consistem em ruído de fundo (KARGARZADEH et al., 2017).

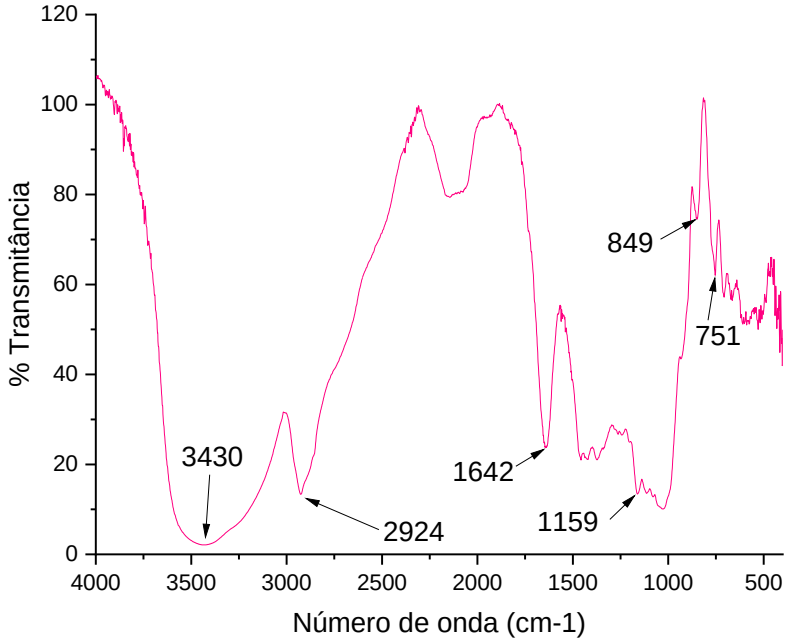
A equação de Segal (Equação 1) leva em consideração apenas a fase cristalina do plano 200 da celulose I, caracterizado por 2θ = 22,8°(SEGAL et al., 1959). Em comparação a outros trabalhos com celulose e nanocelulose (ABRAL et al., 2018; FRENCH; SANTIAGO CINTRÓN, 2013; PARK et al., 2010; SEGAL et al., 1959) o pico em 2θ = 14,5° é consideravelmente menor que o pico em 2θ = 22,8°, diferente do que foi obtido no presente trabalho, em que o pico do plano 101 é maior que o pico do plano 200. Possivelmente, para as amostras avaliadas no presente trabalho, outros planos cristalinos podem ser considerados, assim como outras metodologias, a fim de se obter valores de índice de cristalinidade mais próximos do valor real (PARK et al., 2010).

5.2 Caracterização da pululana comercial

5.2.1 Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

A Figura 26 apresenta o espectro de infravermelho obtido para a amostra de pululana comercial.

Figura 26 – Espectro de infravermelho proveniente de amostra de pululana comercial.



Fonte: O autor

É possível observar, pela análise do espectro apresentado na Figura 26, bandas de absorção (cm^{-1}) (i) entre 3000-3500, atribuídas ao estiramento das ligações O-H das unidades repetitivas da pululana, (ii) entre 2900-1600, atribuídos ao estiramento de C-H de carbono tetraédrico (CAO et al., 2006), (iii) entre 1125-1200, provenientes de vibrações do tipo C-O-H e C-O-C, associadas a grupos éter e hidroxila, (iv) em 851, corresponde à configuração α das unidades α-D-glicopiranose, e (v) em 750 e 930, associados, respectivamente, a ligações glicosídicas do tipo α (1-4) e α (1-6) (CHENG; DEMIRCI; CATCHMARK, 2011a; TERÁN HILARES et al., 2017; WANG et al., 2014).

5.3 Caracterização dos compósitos

5.3.1 Medida de espessura

A espessura dos compósitos foi medida de acordo com a norma ASTM D6988, descrita no item 4.7.1. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados de espessura dos compósitos

Amostra	Espessura (μm)	Desvio Padrão
PUL100	86	3,14
BC1	100	7,18
BC5	106	3,63
BC10	118	8,07
BC20	130	6,70
BC30	130	8,54
NCC05	76	3,01
NCC1	69	3,21
NCC2	58	5,60
NCC4	86	5,46

Fonte: O autor

A espessura dos compósitos depende, principalmente, da quantidade de massa por área. Por esse motivo, os resultados de espessura apresentados têm uma tendência a demonstrar maior espessura conforme a adição de reforço à matriz polimérica. No entanto, nem todos os compósitos de composição intermediária mostram resultados dentro da progressão de crescimento.

Os compósitos reforçados com NCC, apesar de possuírem a mesma massa de pululana que o filme unicamente formado por pululana, apresentam espessuras diferentes, mesmo sendo confeccionados sob as mesmas condições. Os compósitos reforçados com BC apresentaram certa consistência quanto a adição de reforço, pois houve aumento da espessura conforme o acréscimo de material. No entanto, quando os dados são interpolados, não apresentam linearidade conforme a proporção de BC adicionada.

5.3.2 Permeabilidade ao vapor de água

O ensaio de permeabilidade ao vapor de água foi feito de acordo com procedimento descrito no item 4.7.2. Os gráficos de variação de massa em função do tempo de todas as amostras testadas estão apresentados no Apêndice A, e os valores de coeficiente angular das retas obtidas em todos os casos foram usados para o cálculo do valor de permeabilidade ao vapor de água (Equação 2), que estão ilustrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados de permeabilidade ao vapor de água dos compósitos

Amostra	PVA ($x10^{-11}$) ($g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$)	Desvio Padrão ($x10^{-11}$) ($g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$)
PUL100	**5,64 a**	**1,53**
BC 1	**5,80 a**	**1,68**
BC 5	**3,05 a**	**1,11**
BC 10	**4,79 a**	**2,68**
BC 20	**4,41 a**	**1,94**
BC 30	**2,04 a**	**1,05**
NCC 05	**2,31 a**	**0,55**
NCC 1	**4,11 a**	**0,98**
NCC 2	**3,36 a**	**1,05**
NCC 4	**2,46 a**	**0,38**

Fonte: O autor

As letras presentes dos lados dos números representam os grupos de resultados das ANOVAS feitas para cada composição conforme o método *Unequal N HSD*, demonstrando quais dessas amostras apresentaram permeabilidades estatisticamente diferentes conforme o agrupamento dos resultados em cada letra.

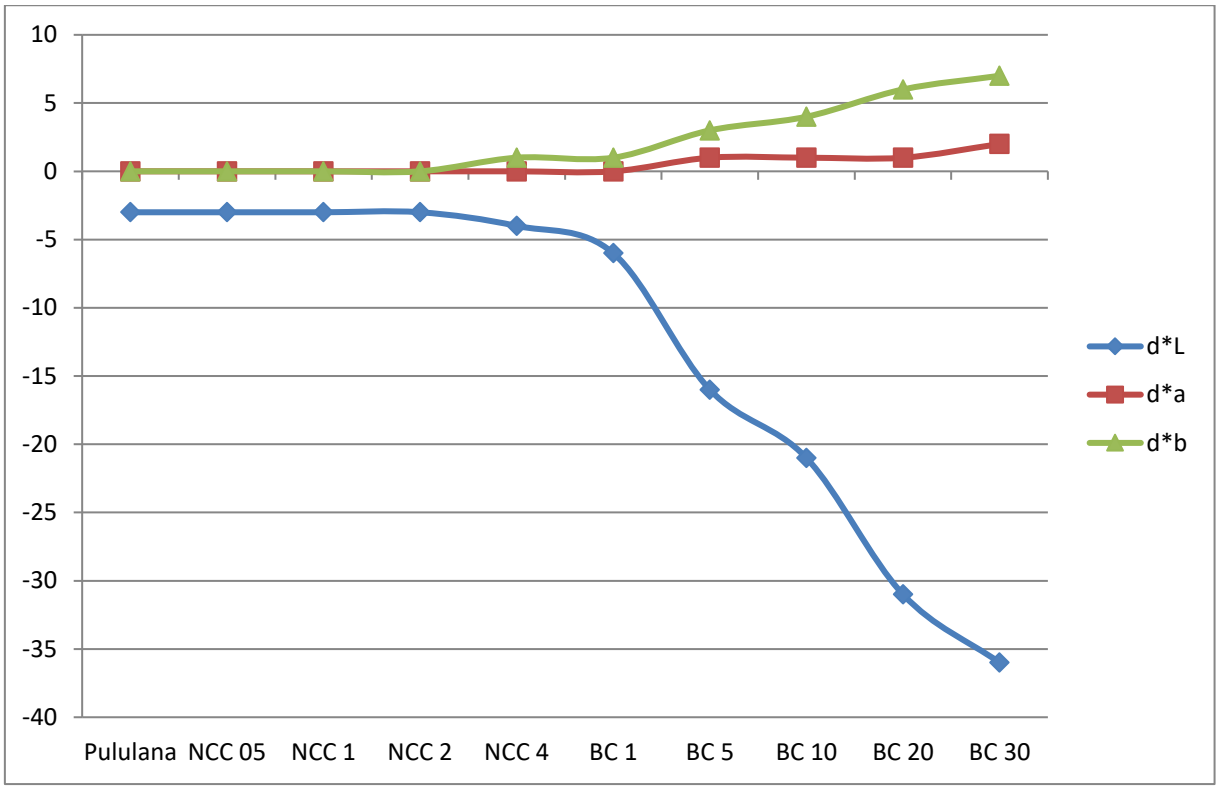
É possível observar que todos os compósitos avaliados apresentaram uma variação de massa constante em função do tempo. O desvio padrão de cada ponto é representado por σ, já que o experimento foi conduzido em triplicata. A partir desses resultados não se observa uma diferença significativa no valor de permeabilidade ao vapor de água entre os compósitos de BC e NCC, sendo que pelos grupamentos apresentados não há diferença estatística. Considerando a semelhança entre os resultados obtidos para o material preparado unicamente com pululana e o compósito BC1, verifica-se que compósitos com maior reforço de BC ou compósitos com reforço de NCC apresentaram decréscimo na permeabilidade ao vapor de água em relação ao filme de pululana. No entanto, esse decréscimo não é proporcional à quantidade de reforço adicionada.

Os resultados obtidos são consistentes com filmes comestíveis de amido de diferentes formulações dos trabalhos de Adjouman et al. (2017) e de Garcia, Martino e Zaritzky (2000), que reportaram igualmente valores na ordem de grandeza de 10^{-11} para a permeabilidade ao vapor de água dos materiais desenvolvidos.

5.3.3 Colorimetria

Os compósitos de diferentes composições foram testados por transmitância conforme descrito no item 4.7.3, e as Figuras 27, 28 e 29 ilustram os resultados obtidos.

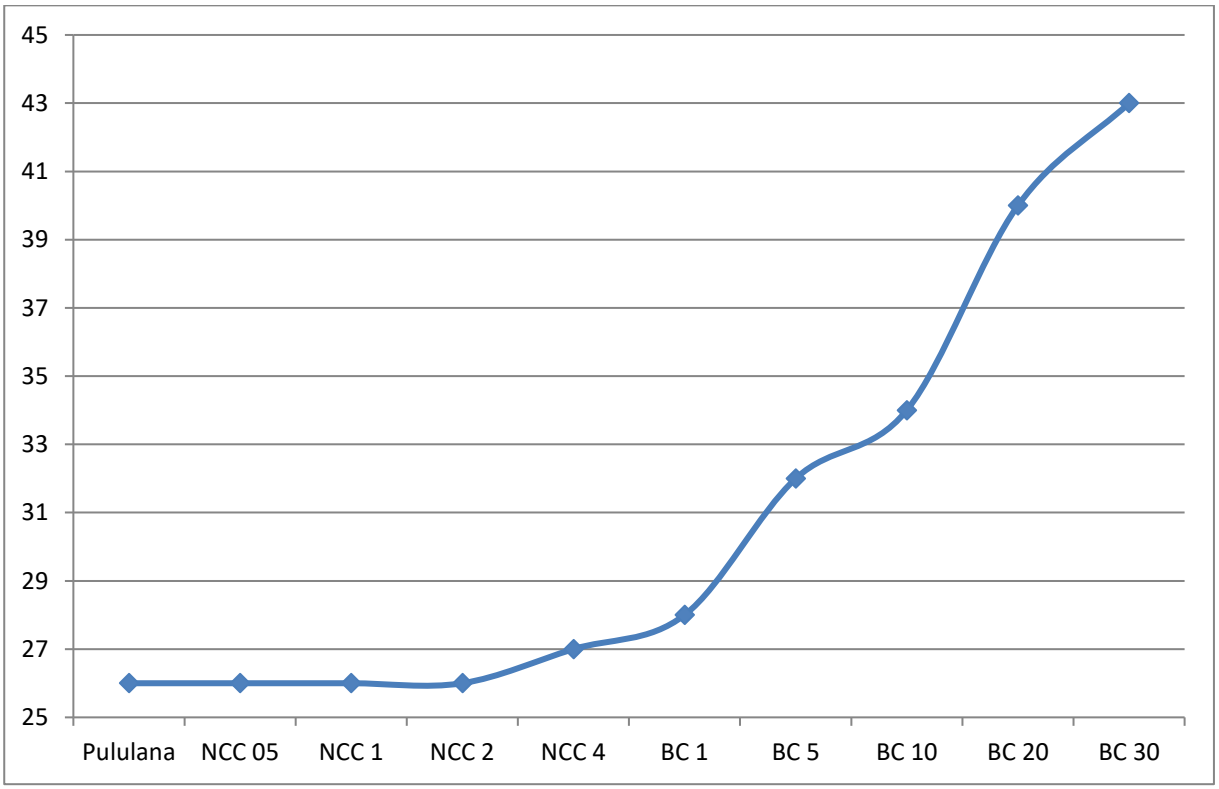
Figura 27 – Diferença de cor dos compósitos em relação ao filme de pululana



Fonte: O autor

É possível observar, a partir da Figura 27, a variação de cor desde o filme de pululana até o compósito BC30, o que está de acordo com a diferença de cor observável entre as amostras. É possível notar como a variação de cor é afetada também pela proporção de celulose bacteriana, mais intenso no claro e escuro que para as cores (a e b).

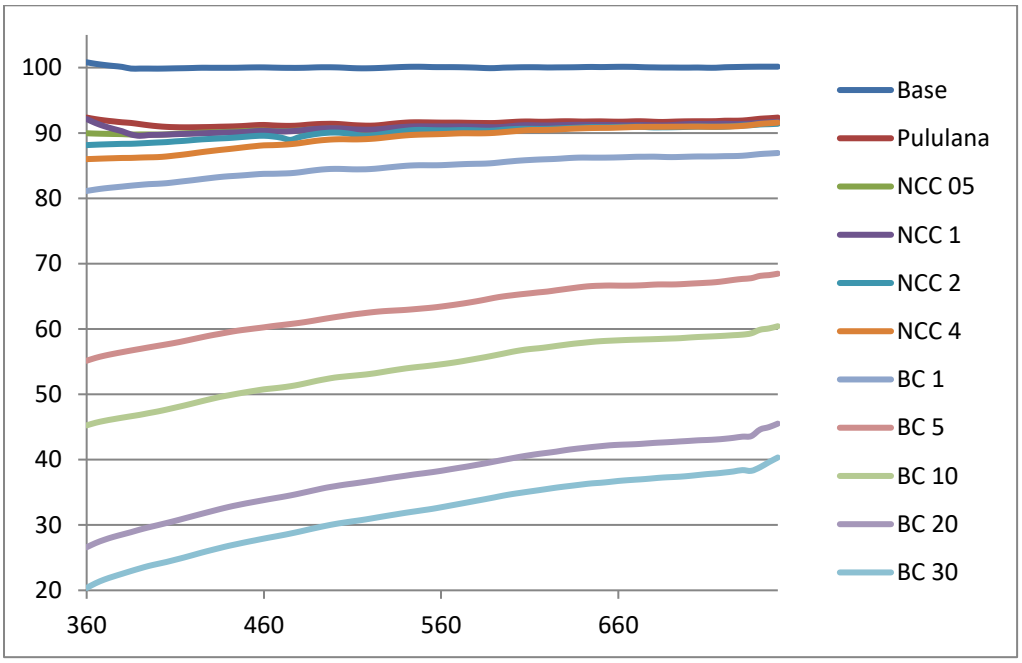
Figura 28 – Variação da amarelidão dos filmes e compósitos



Fonte: O autor

A Figura 28 ilustra os resultados de amarelidão obtidos para os filmes e compósitos. Verifica-se como a intensidade de amarelo aumenta conforme aumenta-se a proporção de BC, assim como pôde ser observado com os resultados de variação de cor (Figura 27).

Figura 29 – Variação da porcentagem de transmitância em função do comprimento de onda



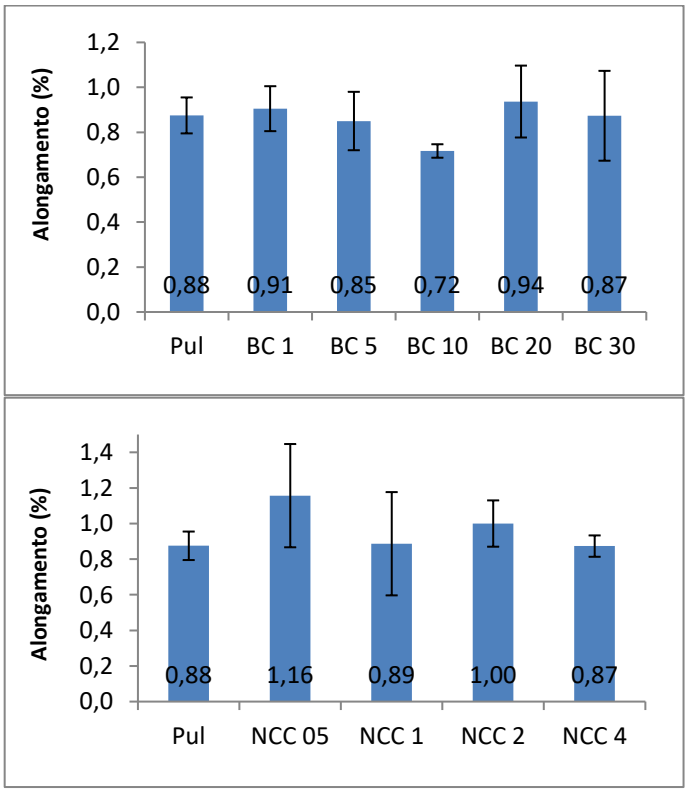
Fonte: O autor

É possível observar, a partir da Figura 29, que similarmente ao gráfico de cor (Figura 27), também é possível observar uma diminuição da transmitância conforme o aumento de proporção de BC nas amostras. Referente aos compósitos preparados com NCC, nota-se que não há diferença significativa entre eles e o filme obtido unicamente com pululana, tanto no que diz respeito à diferença de cor (Figura 27) quanto no que diz respeito à transmitância (Figura 29). Comparando os compósitos reforçados com NCC com o compósito BC1, é possível observar que a concentração de NCC não exerce influência significativa nos resultados, uma vez que o compósito BC1 tem a mesma ordem de grandeza de reforço que os filmes de NCC, mas apresenta resultados mais distantes do filme de pululana do que os mesmos.

5.3.4 Ensaios Mecânicos

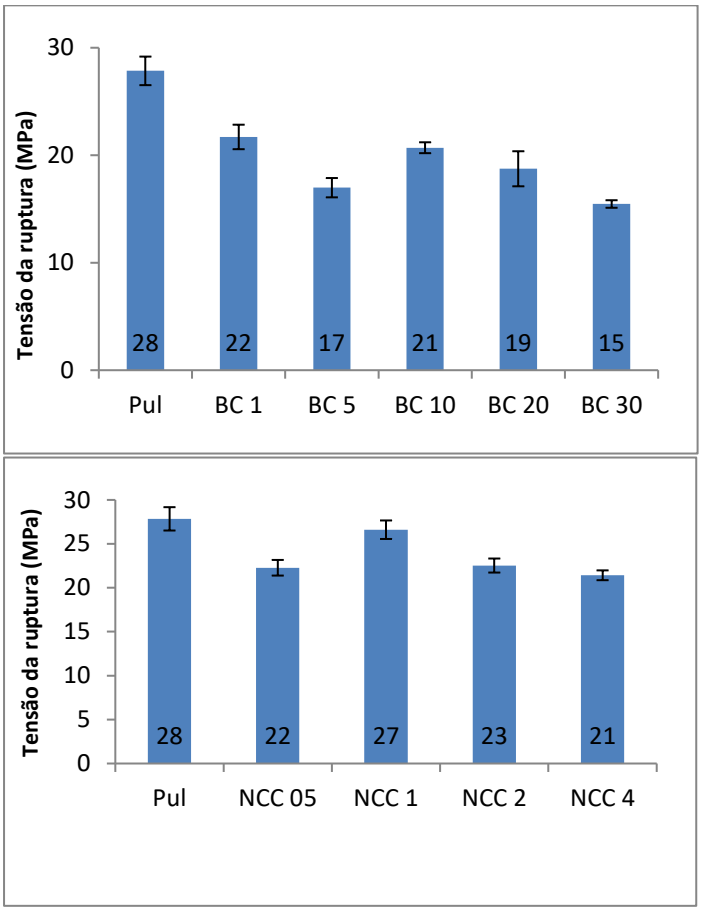
Nas Figuras 30, 31 e 32 encontram-se os resultados dos ensaios mecânicos conduzidos de acordo com o descrito no item 4.7.4.

Figura 30 – Deformação na ruptura do filme de pululana e dos compósitos (%)



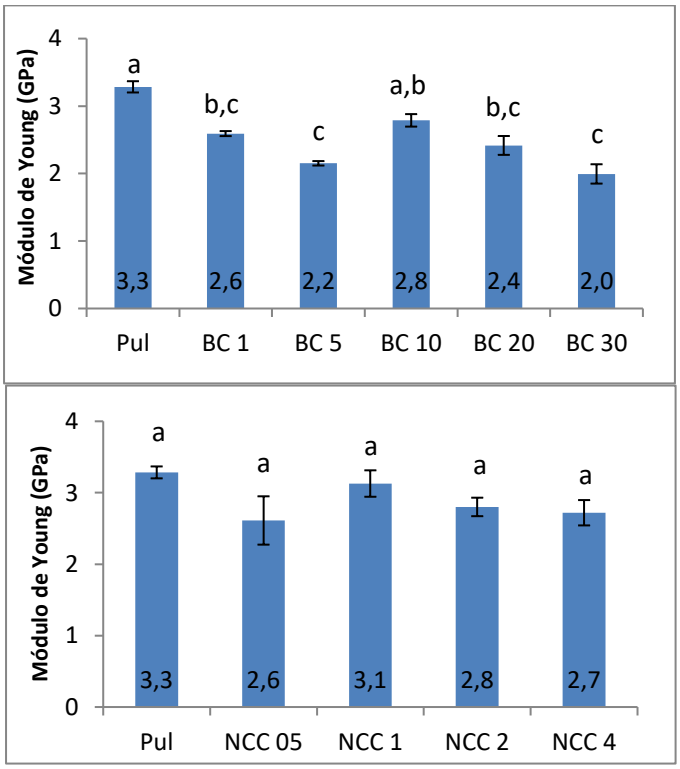
Fonte: O autor

Figura 31 – Tensão na ruptura do filme e dos compósitos (Pa)



Fonte: O autor

Figura 32 – Módulo de Young do filme e dos compósitos (Pa)



Fonte: O autor

As Letras acima das barras nos gráficos de módulo de Young (Figura 30) representam os grupos de resultados das ANOVAS feitas para cada composição conforme o método *Unequal N HSD*, demonstrando quais amostras obtiveram módulo de elasticidade estatisticamente diferentes conforme o agrupamento dos resultados em cada letra.

A força na ruptura de todos os corpos de prova testados permaneceu próxima de 18 N. Como pode-se observar pela Figura 30, tanto o filme de pululana quanto os compósitos com BC e NCC tiveram resultados de deformação em torno de 1%, de modo que não houve diferença significativa entre as composições e o tipo de material utilizado para reforço. Esses resultados foram coerentes com o trabalho de Trovatti et al. (2012a), e esses materiais se provaram muito pouco deformáveis se comparado ao trabalho de Sueiro et al. (2016), que utilizaram amido em suas composições.

Pelas Figuras 31 e 32 é possível observar que o filme de pululana obteve os maiores resultados para as propriedades mecânicas. A tensão na ruptura obtida para o filme de pululana foi similar ao valor reportado no trabalho de Trovatti et al. (2012), mas o módulo de Young obtido foi mais que 40% superior a de outros trabalhos na literatura (HORINAKA; HASHIMOTO; TAKIGAWA, 2018; TROVATTI et al., 2012a).

Observa-se valores grandes para BC 1 em relação aos outros compósitos do grupo, mas é importante mencionar que não foi possível preparar este compósito de forma que as fibras de BC permanecessem homogeneamente distribuídas, o que pode ser fonte de erros principalmente no que diz respeito às propriedades mecânicas.

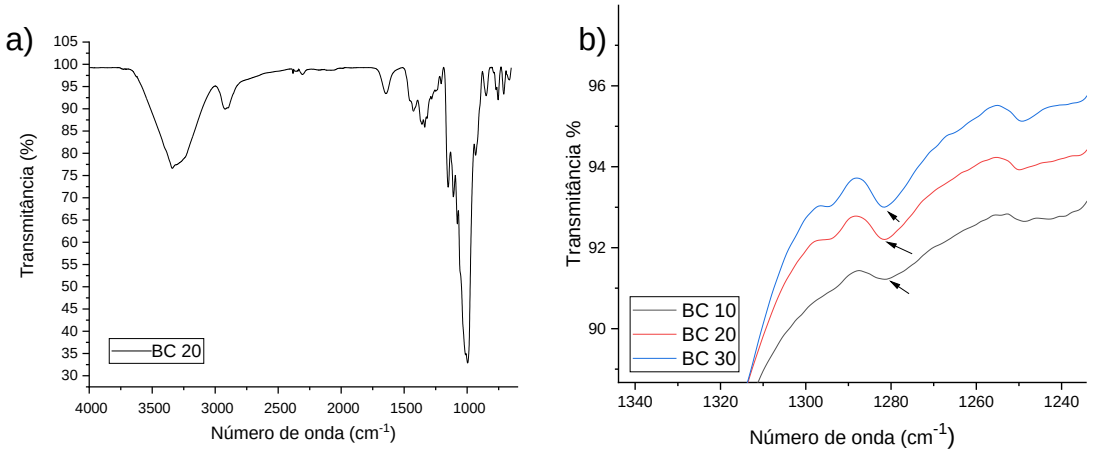
Para os demais compósitos, é possível verificar propriedades mecânicas superiores para os compósitos reforçados com NCC comparativamente àqueles reforçados com BC. Tanto para os compósitos de BC quanto para os compósitos de NCC, é importante verificar que há um máximo de módulo de Young e tensão mecânica para BC 10 e NCC 1. No entanto, a análise estatística demonstrou que não há diferença estatística entre os módulos dos compósitos e o filme de pululana. Vale mencionar que os compósitos de BC20 e BC30 se apresentaram frágeis e quebradiços após o processamento por *casting*. Além disso, as concentrações de 10% e 1% para BC e NCC (amostras BC10 e NCC1) podem ser o limiar em que a adição de reforço não atribui melhoria nas propriedades mecânicas (KHAN et al., 2012).

No trabalho descrito por Trovatti et al. (2012a), o filme de pululana apresentou propriedades mecânicas inferiores àquelas correspondentes aos compósitos reforçados com BC e um valor de limiar para uma concentração de reforço próxima de 40%. Essa diferença possivelmente se dá pelas metodologias distintas que foram utilizadas para a confecção dos compósitos, resultando em diferentes organizações estruturais entre pululana e fibras de celulose.

5.3.5 Espectroscopia de infravermelho

Os compósitos reforçados com BC e NCC apresentaram as mesmas bandas apresentadas nos FTIR de celulose e de pululana já mostrados (Figuras 21 e 26). Os compósitos com BC acima de 10% apresentaram uma banda presente na celulose em 1280-1281 cm^{-1} referente às ligações C-O. Além disso, a banda de éster encontrada nas celuloses no item 5.1.1 não foi identificada nestes compósitos. A Figura 33 mostra o espectro de FTIR obtido a partir da amostra BC 20, com destaque para o número de onda de 1280 cm^{-1} comparando-a com BC 10 e 30. Os demais espectros se encontram no Apêndice B.

Figura 33 – Banda de celulose presente no compósito de BC 20 a) de 4000-650 cm^{-1} e b) com destaque para a banda em número de onda igual a 1280 cm^{-1} nos compósitos de BC10, 20 e 30.



Fonte: O autor

5.4 Avaliação da eficiência das reações de hidrofobização

Nesta etapa do trabalho, os compósitos confeccionados com diâmetro de 5,5 cm (Figura 13) foram submetidos a reações sólido-gás com triclorometilsilano (TCMS), conforme descrito no item 4.6. As reações foram baseadas no trabalho descrito por Cunha et al. (2010), em que as superfícies de fibras de celulose foram recobertas por macromoléculas derivadas de silício, conferindo aos materiais finais alto grau de

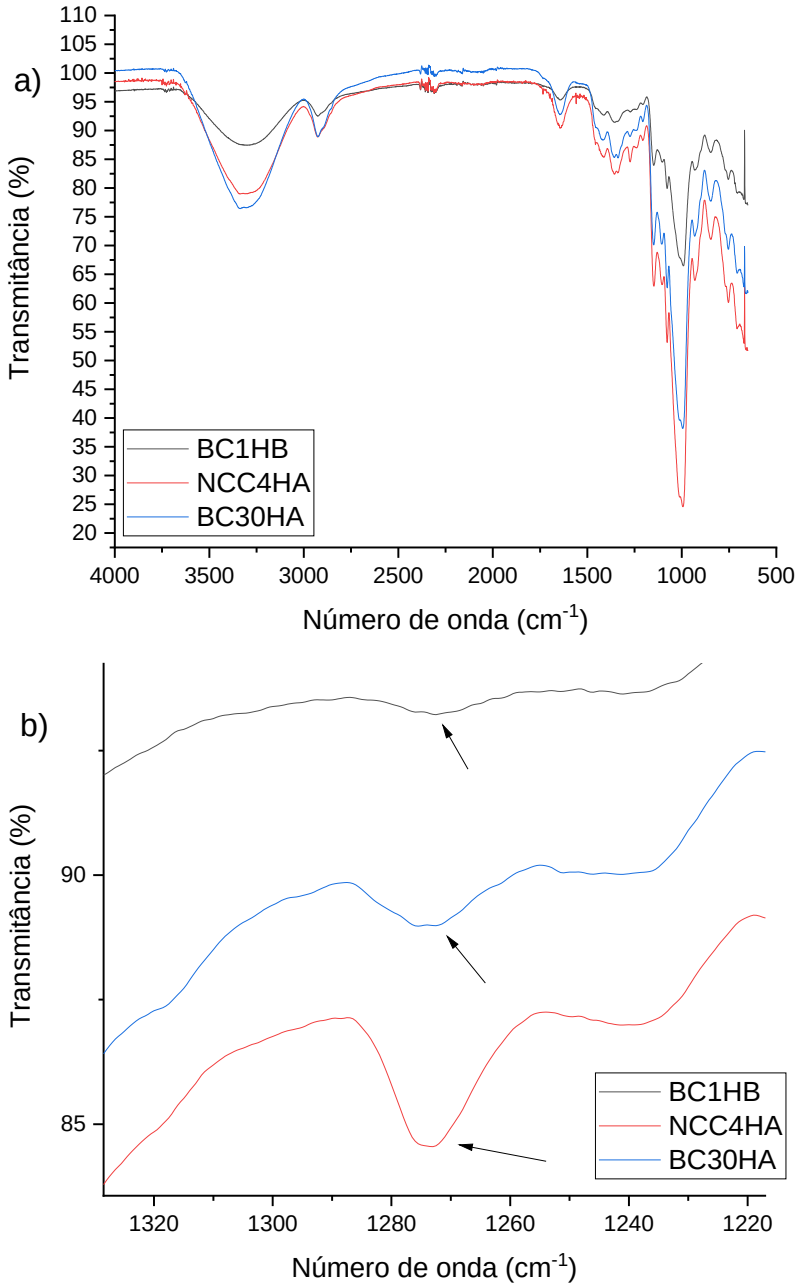
hidrofobicidade. Os experimentos aqui descritos foram inicialmente conduzidos de forma exploratória, de modo a definir as condições reacionais adequadas para materiais baseados em pululana. No trabalho de Cunha et al. (2010), as reações foram feitas em tempos variando de 30 segundos a 30 minutos e com fluxo de N_2 de 100 mL/min. Ao final do processo, os materiais eram submetidos a processo de extração em sistema soxhlet com refluxo de etanol por 7 horas. No presente trabalho, constatou-se que o tempo de 30 minutos de reação causou perda total da integridade estrutural dos materiais. Adicionalmente, verificou-se que tempos de 7 horas de extração em soxhlet faziam com que os compósitos ficassem quebradiços. Após uma série de ensaios, as condições experimentais mais favoráveis foram determinadas, sendo 15 segundos o tempo máximo de permanência dos compósitos no sistema a um fluxo de N_2 de 100 mL/min. Ao final do processo, os compósitos foram extraídos em sistema soxhlet com refluxo de etanol por 2 horas, conforme descrito no item 4.6.

É importante enfatizar que, conforme descrito no item 4.5, em função do método de processamento por *casting*, há uma diferença importante na topografia das faces de cada compósito individual. Uma das faces, que permaneceu em contato direto com a placa de Petri, apresentou superfície puramente lisa, enquanto a face que esteve em contato com o ar adquiriu, ao final do processamento, uma superfície rugosa pela presença de maiores concentrações de fibras celulósicas. Esse fenômeno é mais evidente no caso dos compósitos reforçados com BC.

5.4.1 Espectroscopia de Infravermelho

As amostras hidrofobizadas foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho (FTIR/ATR) para a identificação de bandas referentes à presença de átomos de silício ligados à superfície polimérica. As bandas características, nesse caso, se apresentam em números de onda (cm^{-1}) iguais a 1270, referente à deformação angular da ligação $Si-CH_3$; 1080 a 1100 cm, característica de grupos Si-O-C; 950, referente às ligações Si-OH e Si-O-Si; e 1100, referente à ligação Si-Cl (BELLAMY, 1975). A não ser pela banda em 1270 cm^{-1}, todas as outras bandas características de silício não puderam ser vistas pois havia sobreposição com as bandas características de celulose e pululana.

Figura 34 – Espectros de infravermelho das amostras BC1HB, BC30HA e NCC4HA a) de 4000-650 cm^{-1} e b) com destaque para a banda em número de onda igual a 1273 cm^{-1}.



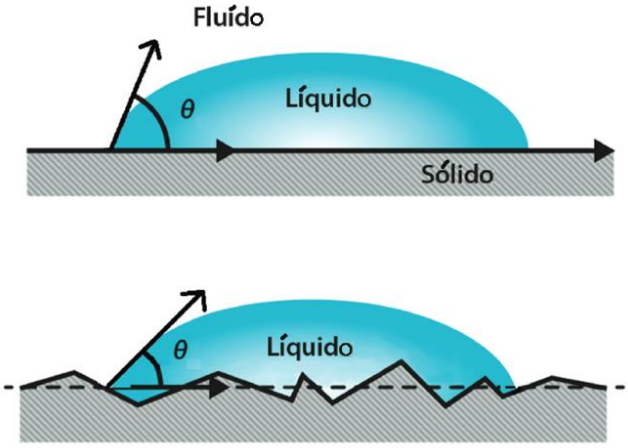
Fonte: O autor

A Figura 34 ilustra os espectros dos compósitos BC 1B, BC 30A e NCC 4A, com ênfase no número de onda 1273-1274 cm^{-1}, presente com diferentes intensidades, sendo que os compósitos NCC 4A e NCC 4B foram os que apresentaram banda mais significativa neste número de onda. Compósitos com reforço de BC maior ou igual a 10% apresentaram picos em 1280 cm^{-1}, correspondente à presença de celulose, que podem se sobrepor às bandas em 1273 e 1274 cm^{-1} provenientes do silício.

5.4.2 Ângulo de Contato

Considerando que (i) os compósitos foram submetidos a um sistema reacional que envolvia a permeação de gás nitrogênio carreando TCMS para que este pudesse reagir com as hidroxilas presentes nos materiais; (ii) os compósitos permaneceram apoiados em uma placa de vidro sinterizada (Figura 16), de modo que o fluxo de N2/TCMS atravessava a placa e atingia, primeiramente, a face diretamente em contato com ela; (iii) o tempo curto de reação (15 s) possivelmente favoreceu reações na face que estava em contato com a placa de vidro sinterizada; e (iv) a topografia das duas faces dos compósitos era distinta, gerada pelo processamento por *casting*, optou-se por conduzir experimentos considerando dois conjuntos de reação de hidrofobização. As reações do tipo HA foram realizadas com a face lisa dos compósitos diretamente em contato com a placa de vidro sinterizada do reator, e as reações do tipo HB foram realizadas com a face rugosa dos compósitos diretamente em contato com a placa de vidro sinterizada do reator. Essa diferença de topografia é particularmente importante quando os materiais são submetidos a análises de ângulo de contato, uma vez que a interação da gota depositada com a superfície pode variar, conforme ilustrado na Figura 35 (SI; DONG; JIANG, 2018; TEISALA; BUTT, 2018).

Figura 35 – Influência da topografia da superfície no ângulo de contato.



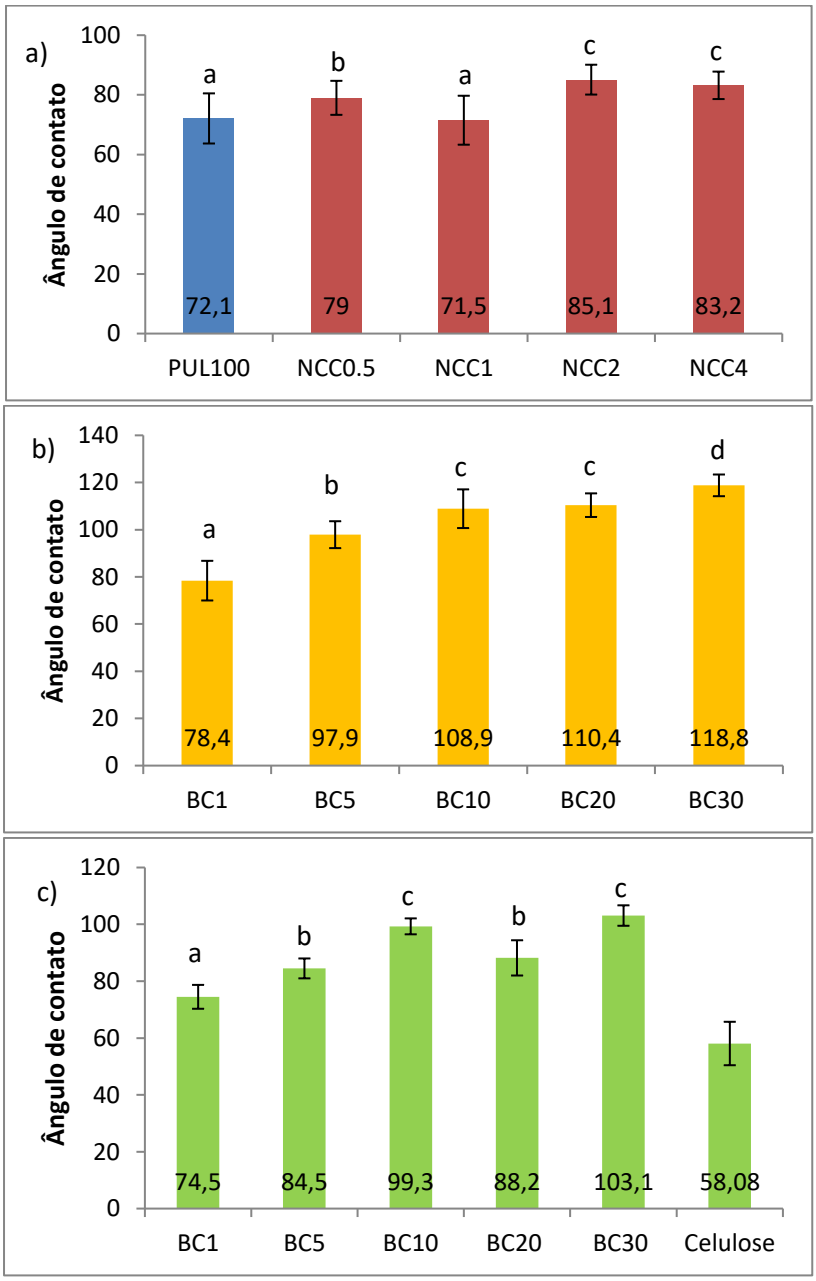
Fonte: (BIOLIN SCIENTIFIC, 2019)

5.4.2.1 Compósitos não hidrofobizados

Os ângulos de contato das amostras de compósitos não hidrofobizados estão representados pela Figura 36. Testou-se os ângulos de contato para ambas as faces (lisa e rugosa) dos compósitos reforçados com celulose bacteriana. Para o filme de

pululana (PULL100) e para os compósitos reforçados com nanocristal de celulose, considerou-se a homogeneidade desses materiais e por isso foi testado o ângulo de contato de apenas uma das faces, que é a que permaneceu exposta ao ar no momento do processamento por *casting*.

Figura 36 – Ângulos de contato das amostras não hidrofobizadas: a) pululana e compósitos reforçados com NCC; b) compósitos reforçados com BC – medidas na face rugosa; c) compósitos reforçados com BC – medidas na face lisa.



Fonte: O autor

As Letras acima das barras representam os grupos de resultados das ANOVAS feitas para cada composição conforme o método *Unequal N HSD*, demonstrando quais desses compósitos obtiveram ângulo de contato estatisticamente diferentes conforme o agrupamento dos resultados em cada letra.

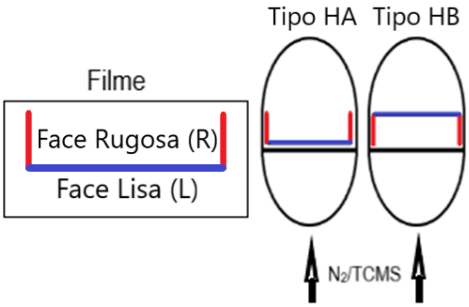
Observou-se que a maioria dos compósitos apresentaram ângulo de contato maior que do filme de pululana, principalmente nos compósitos reforçados com BC. No entanto, não há uma contribuição significativa da celulose, pois o ângulo de contato do filme de celulose para as duas faces foi menor do que 60°.

Observam-se valores de ângulos de contato (superiores a 65°) para as faces lisas desses materiais, tendo algumas amostras de compósitos reforçados com BC ângulos muito superiores, como BC10, BC20 e BC30. Uma possível explicação para isso seria pela presença de possíveis impurezas hidrofóbicas na matriz de pululana, associada à sua produção microbiológica, o que faz os compósitos exibam valores maiores de ângulo de contato do que seria esperado a princípio (FARRIS et al., 2011; NIU et al., 2019). Tal efeito foi avaliado e comprovado para filmes de quitosana (CUNHA et al., 2008), amplamente apresentados na literatura com altos valores de ângulo de contato com a água.

5.4.2.2 Compósitos hidrofobizados

Os compósitos de diversas composições foram submetidos a reações de hidrofobização do tipo HA e do tipo HB, conforme descrito no item 4.6 (Figura 37). Em seguida, a hidrofobicidade dos compósitos que mantiveram integridade estrutural após extração em soxhlet foi testada a partir de medidas de ângulo de contato nas faces R e L. Os experimentos foram conduzidos em ambas as faces para avaliar se a reação teve o mesmo efeito na face que não permaneceu diretamente em contato com a placa de vidro sinterizada.

Figura 37 – Representação das faces dos filmes e esquema dos tipos de hidrofobização.

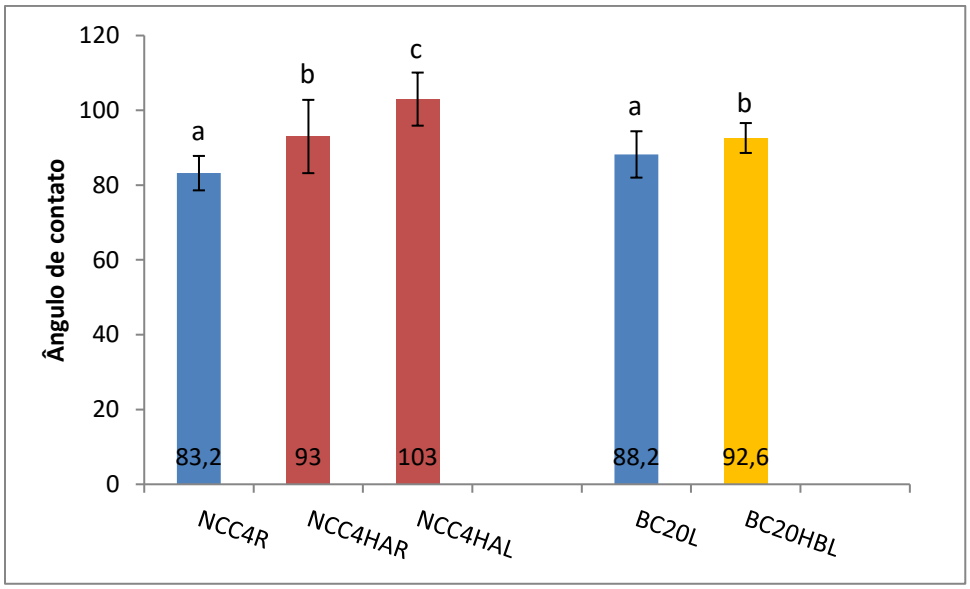


Fonte: O autor

Na Figura 40 estão apresentados os resultados de ângulo de contato obtidos para os compósitos que apresentaram maior hidrofobicidade, comparativamente aos análogos que não foram submetidos a reação com TCMS. É importante mencionar

que, aos códigos originalmente definidos na Figura 13, adicionaram-se aqui as letras L e R para indicar em qual superfície a gota de água foi depositada para medida de ângulo de contato. No Apêndice C encontra-se uma tabela com informações qualitativas de todas as análises que foram conduzidas.

Figura 38 – Ângulos de contato das amostras hidrofobizadas que tiveram acréscimo significativo em relação aos seus análogos não hidrofobizados (colunas azuis). As colunas vermelhas correspondem aos compósitos que passaram por hidrofobização do tipo HA, e as colunas amarelas aos compósitos que passaram por hidrofobização do tipo HB.



Fonte: O autor

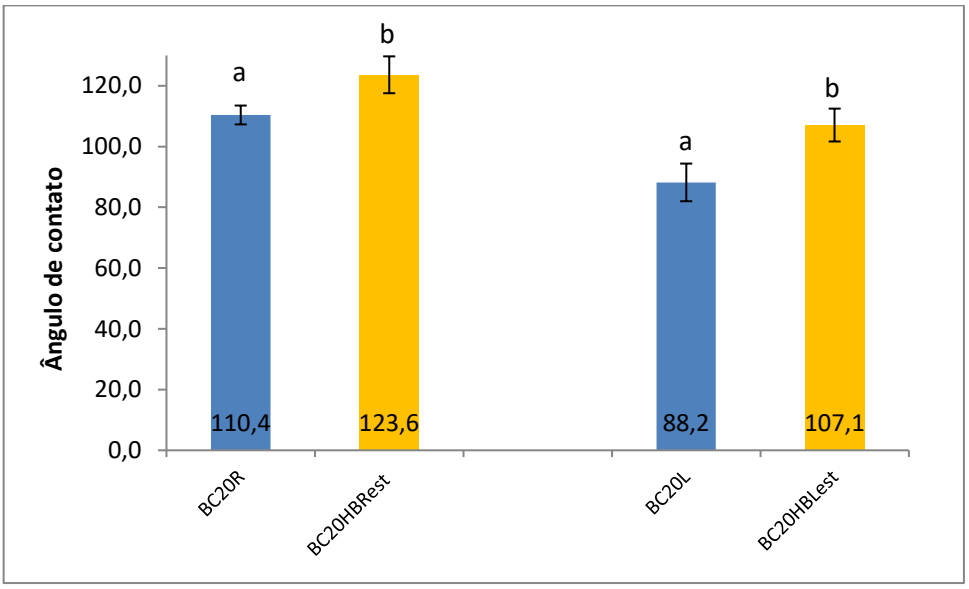
Dentre as amostras analisadas, o filme PUL100 e os compósitos BC1, BC5, BC10, BC30, NCC05, NCC1 e NCC2 não tiveram sua hidrofobicidade melhorada quando submetidos a reação com TCMS, sendo que alguns apresentaram diminuição da nesta propriedade. Por outro lado, algumas amostras tiveram aumento da hidrofobicidade, mas dentro dos intervalos de desvio padrão.

É importante mencionar que alguns compósitos não puderam ser caracterizados por ângulo de contato, pois, após a extração em sistema soxhlet, apresentaram perda estrutural significativa. Conforme apresentado na Figura 12, a reação do TCMS gasoso com as hidroxilas da pululana leva à formação de HCl como subproduto, e considerando a umidade intrínseca da pululana, é possível que ocorra, em menor ou maior extensão, reações de hidrólise, levando a cadeias com menor valor de massa molar média, o que reflete, consequentemente, em suas propriedades filmogênicas. Além disso, moléculas de água presentes nos compósitos podem reagir prontamente com o TCMS gasoso, diminuindo a eficiência da reação de modificação

da pululana, principalmente considerando os curtos intervalos de tempo de reação (15 segundos).

Nesse sentido, um teste foi realizado com o compósito BC20, que foi seco em estufa à vácuo por 4 horas e, na sequência, passou pelo processo de hidrofobização do tipo HB. A esta amostra foi dado o código BC20HBest. Os resultados das análises de ângulo de contato são apresentados na Figura 39.

Figura 39 – Resultados de ângulo de contato para o compósito BC20, hidrofobizado após secagem em estufa à vácuo.



Fonte: O autor

Nesse caso, houve um aumento do ângulo de contato em comparação com o branco, tanto para a face R (BC20HBRest) quanto para face L (BC20HBLest). É possível que a redução da umidade dos compósitos tenha levado a uma maior substituição dos grupos -OH da pululana pela reação com TCMS, mas análises complementares seriam necessárias para confirmar essa hipótese.

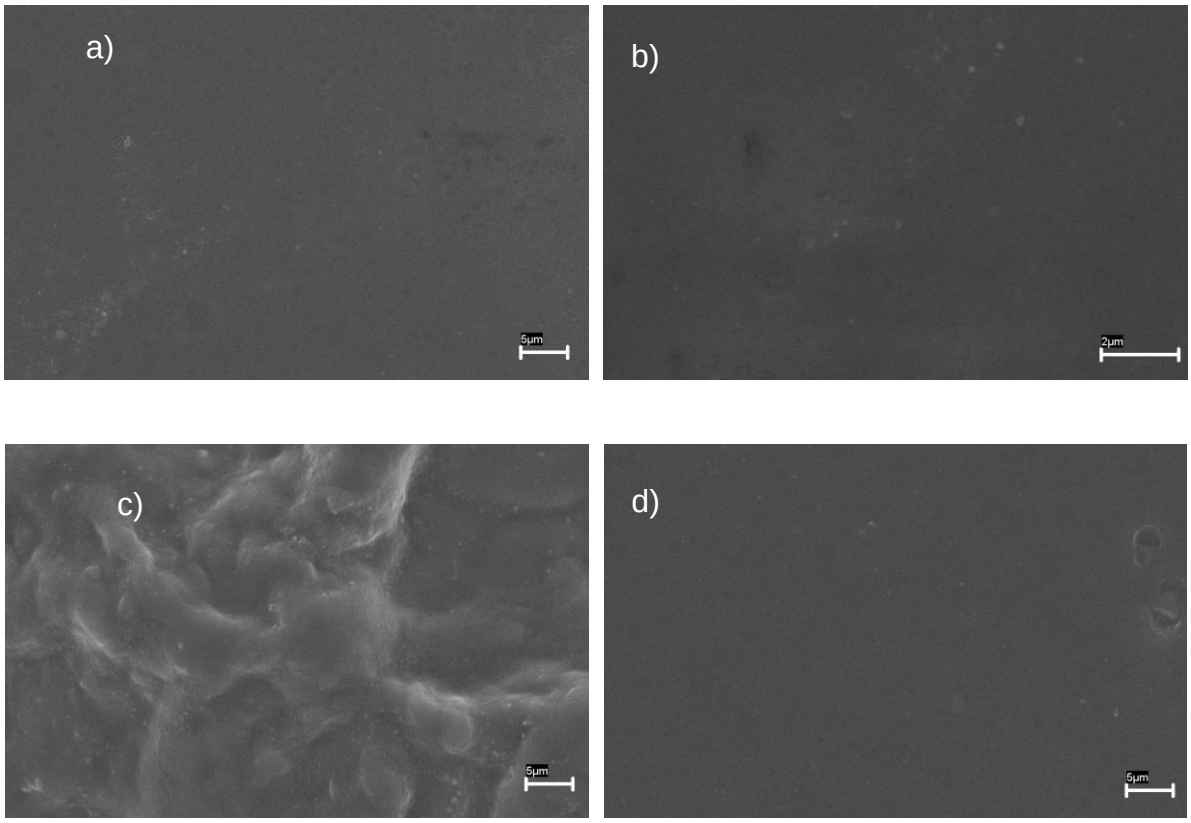
5.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia dos compósitos submetidos à reação com TCMS foi avaliada, de modo a observar a presença ou não de estruturas esféricas características do recobrimento dos materiais por macromoléculas derivadas de silício, conforme reportado por Cunha et al. (2010).

Na Figura 40 estão apresentadas as micrografias das superfícies dos compósitos não hidrofobizados NCC4 (Figura 40a e b) e BC20 (Figura 40c e d). Estes

compósitos foram selecionados pois foram os que, após a reação de hidrofobização, apresentaram maior variação nos valores de ângulo de contato.

Figura 40 – Micrografias de a) NCC4 na face L com aumento de 25000x e b) na face R com aumento de 6000x; c) BC20 na face R a 6000x e d) na face L a 6000x.



Fonte: O autor

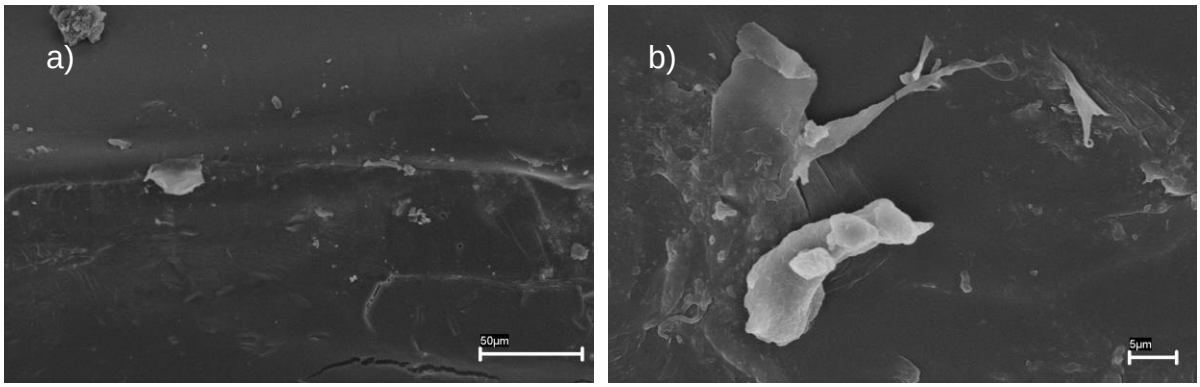
É possível observar a homogeneidade superficial do compósito NCC4 em ambas as faces, tanto aquela que permaneceu em contato com a placa de Petri durante o processamento por *casting* (Figura 40a), quanto a que permaneceu exposta ao ar (Figura 40b). Sendo assim, o ângulo de contato registrado nesse compósito é resultante apenas da interação direta entre a gota de água depositada e a superfície do material. Observa-se, pelas micrografias do compósito BC20, esta mesma homogeneidade na face L (Figura 40c) e a presença de rugosidades na face R (Figura 40d). Esta rugosidade pode atuar como uma estrutura hierárquica causada pela presença de celulose, o que pode exercer influência nos valores de ângulo de contato obtidos (Figura 36) muito superiores ao valor de 65°, limiar entre um material hidrofílico e hidrofóbico.

Nas Figuras 41-43 encontram-se as micrografias de alguns compósitos que apresentaram maior hidrofobicidade após reação com TCMS, comparativamente aos compósitos de origem (Figura 38). Observa-se, em alguns casos, a presença de

partículas aderidas à superfície dos materiais, com diferentes aspectos de formato, que não estão presentes nas superfícies dos compósitos não-hidrofobizados.

Na Figura 41 encontram-se as micrografias das superfícies do compósito NCC4H, sendo que a Figura 41a corresponde à superfície que permaneceu em contato com a placa de vidro sinterizada no reator de hidrofobização, e a Figura 41b à superfície oposta. O compósito NCC4H apresentou aumento no valor de ângulo de contato em ambas as faces (Figura 38).

Figura 41 – Micrografias de NCC4H a) na face que permaneceu em contato com a placa de vidro sinterizada no reator de hidrofobização (aumento de 1300x) e b) na face oposta à placa de vidro sinterizada no reator de hidrofobização (aumento 6000x).

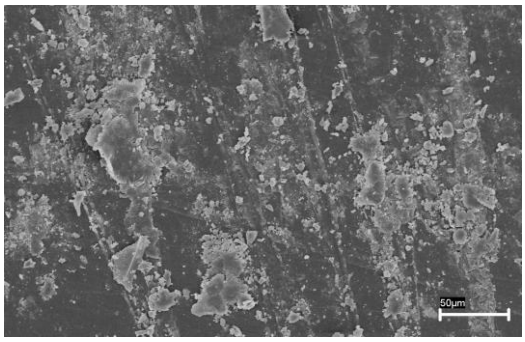


Fonte: O autor

A partir dessas micrografias é possível observar uma série de partículas depositadas na superfície do compósito NCC4H, ausentes no compósito NCC4 (Figura 40). No trabalho reportado por Cunha e Gandini (2010b), variações semelhantes foram observadas nas fibras celulósicas hidrofobizadas em relação às não hidrofobizadas, com a formação de estruturas esféricas típicas de macromoléculas de silício. Tais estruturas não puderam ser vistas nos materiais produzidos no presente trabalho.

A Figura 42 é referente à superfície do compósito BC20HBL, e a Figura 43 à superfície do material hidrofobizado após secagem do compósito BC20 em estufa à vácuo (amostra denominada BC20HBLest). A micrografia do compósito BC20HBRest não foi realizada.

Figura 42 – Micrografia do compósito BC20HBL (aumento de 1000x).



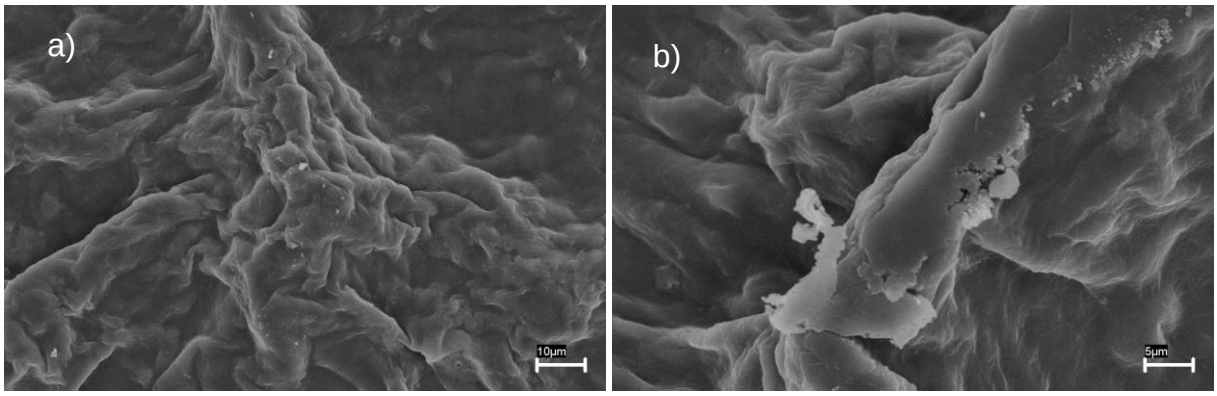
Fonte: O autor

Nota-se também, a partir da Figura 42, uma série de partículas aderidas formando uma cobertura sobre a superfície, similar ao trabalho descrito por Cunha e Gandini (2010b). A partir destas micrografias é possível observar que houve modificação da superfície em comparação com as micrografias dos compósitos não hidrofobizados. No entanto, essas modificações não são homogêneas. Tal aspecto pode ter sido causado pela ocorrência de hidrólise ácida catalisada pelo HCl liberado como subproduto da reação de polimerização do TCMS, o que pode ter contribuído para a diminuição da hidrofobicidade de alguns materiais, e da fragilidade estrutural dos compósitos já citados no item 5.4. Adicionalmente, não é possível descartar uma eventual degradação da superfície em função da etapa de extração em sistema soxhlet.

Além disso, o presente trabalho utilizou condições de processo muito mais amenas que o trabalho de Cunha e Gandini (2010b). Desse modo, um tempo de 15 segundos de hidrofobização pode não ter sido suficiente para criar uma camada polimérica significativa de -Si-O-Si- na superfície dos materiais, mas suficiente para causar a degradação de algumas das amostras submetidas a esse processo.

A Figura 43 mostra as micrografias do compósito de BC20 que passou por estufa e depois por hidrofobização do tipo HB (BC20HBest).

Figura 43 – Micrografias da superfície do compósito BC20HBRest com aumentos de a) 3000x e b) 6000x.



Fonte: O autor

Verifica-se, nestas micrografias, a presença de algumas partículas aderidas à superfície. Este aspecto fica mais evidente no caso da imagem com maior ampliação (Figura 43b), sendo possível identificar uma camada depositada sobre a região rugosa com aspecto de cobertura. De forma análoga, não é possível afirmar que se trata de estrutura polimérica proveniente da reação com TCMS, ou se essas estruturas são fruto, em maior ou menor escala, de processos de degradação da matriz de pululana causados pela própria reação de hidrofobização ou pelo processo de extração em soxhlet.

6 Considerações finais

Os recursos renováveis têm sido empregados para a substituição de derivados de petróleo em áreas como combustíveis, construção civil, automobilismo e eletrônica. Neste trabalho utilizou-se polímeros unicamente obtidos de fontes renováveis (pululana e celulose bacteriana) para produção de compósitos com potencial de aplicação interessante.

Celulose bacteriana e seus nanocristais foram produzidos e caracterizados por espectroscopia de infravermelho, e compósitos de matriz de pululana reforçados com as fibras celulósicas foram preparados por *casting*.

Os compósitos foram caracterizados quanto à espessura e permeabilidade ao vapor de água, suas propriedades óticas foram avaliadas por colorimetria, algumas de suas propriedades mecânicas foram avaliadas e, com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que:

- As espessuras médias dos filmes variaram entre 58 µm (no caso do compósito NC2) e 130 µm (no caso dos compósitos BC20 e BC30) e, em alguns casos, foi possível relacioná-las à quantidade de massa por área.
- Os resultados de permeabilidade ao vapor de água foram calculados e apresentaram-se na ordem de 10^{-11} $g.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$, o que está de acordo com dados apresentados na literatura para materiais semelhantes. Entre todas as amostras avaliadas, o compósito BC30 foi o que apresentou menor permeabilidade ao vapor de água.
- As análises das propriedades óticas dos filmes indicaram uma diminuição da transmitância em função do aumento da proporção de fibras de celulose bacteriana nativa nos compósitos. Entretanto, os compósitos reforçados com nanocristais de celulose não apresentaram diferenças significativa em relação ao filme de pululana, o que é um bom indicativo tendo em vista aplicações em que transparência dos materiais é uma característica desejável.
- Compósitos reforçados com NCC possuem melhor propriedades mecânicas do que os compósitos reforçados com BC. Porém, as propriedades mecânicas da pululana sozinha foram superiores a todos os outros compósitos preparados.

Os compósitos passaram por processo de hidrofobização via reação sólido-gás, cuja eficiência foi avaliada por análises de espectroscopia de infravermelho, ângulo de contato e microscopia eletrônica de varredura. Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que:

- Bandas em 1274 cm^{-1}, correspondentes à deformação angular da ligação $Si\text{-}CH_3$, puderam ser identificadas em alguns compósitos hidrofobizados, o que é indicativo da ocorrência de modificação química nesses materiais.
- O processo de hidrofobização empregado se mostrou mais adequado para compósitos reforçados com BC, de modo que apresentaram maiores aumentos de ângulo de contato em diferentes condições.
- As micrografias obtidas mostraram diferenças nas superfícies dos compósitos hidrofobizados para os não hidrofobizados, nos quais foi possível identificar camadas e partículas sobre as superfícies desses materiais. No entanto, não foi possível afirmar que houve de fato a formação de estrutura polimérica proveniente da reação com TCMS.

Estudos adicionais a respeito do emprego dessa reação de hidrofobização para a pululana se fazem necessários, de modo a definir as condições experimentais que levam a um aumento da hidrofobicidade sem que haja perda das propriedades filmogênicas e mecânicas dos materiais.

7 Sugestões para o trabalho

- Utilização de Glicerol como plastificante para possível melhor homogeneidade e propriedades mecânicas dos filmes.
- Testes Hidrofobização de menos composições, mas de mais amostras, para verificação do aumento da hidrofobicidade.
- Testes de MFA em superfície para hidrofobizados e não hidrofobizados.
- Teste de MFA para NCC.
- Modificação química da pululana antes de *casting* para aumentar a hidrofobicidade.
- Trabalho com formulações de compósitos mais finos e mais grossos, além de 1 g de pululana para placa de Petri de 10 x 10 cm.
- Uso de *Design of Experiments* para otimizar o número de experimentos necessário.
- Trabalho com agente antimicrobianos, para enriquecimento das aplicações dos compósitos.

REFERÊNCIAS

ABITBOL, T. et al. Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 39, n. I, p. 76–88, 2016.

ABRAL, H. et al. Preparation of nano-sized particles from bacterial cellulose using ultrasonication and their characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 191, n. September 2017, p. 161–167, 2018.

ACMA. **American Composites Manufacturers Association**. Disponível em: https://acmanet.org/composites-industry-overview/. Acesso em: 19 ago. 2019.

ADJOUMAN, Y. D. et al. Water Vapor Permeability of Edible Films Based on Improved Cassava (Manihot esculenta Crantz) Native Starches. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 08, n. 03, 2017.

ASTM D6988-13: Standard Guide for Determination of Thickness of Plastic Film Test Specimens. West Conshohocken ASTM International, 2013. Disponível em: www.astm.org. Acesso em: 22 jul. 2019.

ASTM E96 / E96M-05, Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, ASTM International. Disponível em: www.astm.org. Acesso em: 22 jul. 2019.

ATILA, D.; KESKIN, D.; TEZCANER, A. Crosslinked pullulan/cellulose acetate fibrous scaffolds for bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 69, p. 1103–1115, dez. 2016.

AUDET, J.; LOUNES, M.; THIBAULT, J. Pullulan fermentation in a reciprocating plate bioreactor. **Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 4, p. 209–214, set. 1996.

AXCELON BIOPOLYMERS CORPORATION. **Overview | Axcelon Biopolymers Corporation**. Disponível em: https://axcelonbp.com/companay/about-us/. Acesso em: 16 ago. 2019.

AZEREDO, H. M. C. et al. Bacterial Cellulose as a Raw Material for Food and Food Packaging Applications. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 3, p. 7, 18 fev. 2019.

BAETS, S. D.; VANDAMME, E. J.; STEINBUCHEL, A. **Biopolymers, Vol. 6 (Polysaccharides II)**. New York: Wiley-VCH, New York, 2002. v. 6.

BANG, S. et al. Preventing postoperative tissue adhesion using injectable carboxymethyl cellulose-pullulan hydrogels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 886–893, dez. 2017.

BANK, L. C. **Composites for Construction: Structural Design with FRP Materials**. Wiley, 2006.

BELLAMY, L. J. **The Infra-red Spectra of Complex Molecules**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1975.

BERG, J. M. et al. **[Stryer's] Biochemistry**. 8th. ed. New York: W.H. Freeman, 2015.

BERGEY, D. H. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Lippincott Williams & Wilkins, 1994.

BIOLIN SCIENTIFIC. **Influence of surface roughness on contact angle and wettability**. Disponível em: https://www.biolinscientific.com/measurements/surface-roughness. Acesso em: 22 jul. 2019.

BOCCHIARO, P.; ZAMPERINI, A. World ' s largest Science , Technology & Medicine Open Access book publisher c. **Agricultural and Biological Sciences Grain Legumes**, 2016.

BOLUK, Y.; DANUMAH, C. Analysis of cellulose nanocrystal rod lengths by dynamic light scattering and electron microscopy. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 16, n. 1, p. 2174, 11 jan. 2014.

BOWIL BIOTECH. **Bowil Biotech**. Disponível em: https://www.bowil.pl/bowil-biotech/o-nas/. Acesso em: 16 ago. 2019.

BULMER, M.; CATLEY, B.; KELLY, P. The effect of ammonium ions and pH on the elaboration of the fungal extracellular polysaccharide, pullulan, by Aureobasidium pullulans. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 4, jan. 1987.

CACICEDO, M. L. et al. Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological

applications. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 172–180, 1 ago. 2016.

CAMARGO, P. H. C.; SATYANARAYANA, K. G.; WYPYCH, F. Nanocomposites: synthesis, structure, properties and new application opportunities. **Materials Research**, v. 12, n. 1, p. 1–39, mar. 2009.

CAMPANO, C. et al. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. **Cellulose**, v. 23, n. 1, p. 57–91, 2016.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos Polímeros - Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2006.

CAO, W. et al. Structure of an anti-tumor polysaccharide from Angelica sinensis (Oliv.) Diels. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, n. 2, p. 149–159, out. 2006.

CARREÑO PINEDA, L. D.; CAICEDO MESA, L. A. C. M.; MARTÍNEZ RIASCOS, C. A. Fermentation Tecniques and Applications of Bacterial Cellulose: a Review. **Ingeniería y Ciencia**, v. 8, n. 16, p. 307–335, 2012.

CARROW, J. K.; GAHARWAR, A. K. Bioinspired Polymeric Nanocomposites for Regenerative Medicine. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 216, n. 3, p. 248–264, fev. 2015.

CATLEY, B. J. Utilization of Carbon Sources by Pullularia pullulans for the Elaboration of Extracellular Polysaccharides. **Applied microbiology**, v. 22, n. 4, p. 641–649, 1971.

CHENG, J.; KHIN, K. T.; DAVIS, M. E. Antitumor activity of beta-cyclodextrin polymer-camptothecin conjugates. **Molecular pharmaceutics**, v. 1, n. 3, p. 183–93, 2004.

CHENG, K.-C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Enhanced pullulan production in a biofilm reactor by using response surface methodology. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 37, n. 6, p. 587–594, 2010a.

CHENG, K.-C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Effects of plastic composite support and pH profiles on pullulan production in a biofilm reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, n. 3, p. 853–861, 20 abr. 2010b.

CHENG, K.-C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Evaluation of medium composition and fermentation parameters on pullulan production by Aureobasidium pullulans. **Food Science and Technology International**, v. 17, n. 2, p. 99–109, 2011a.

CHENG, K.-C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Continuous pullulan fermentation in a biofilm reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 3, p. 921–927, 16 maio 2011b.

CHENG, K. C.; DEMIRCI, A.; CATCHMARK, J. M. Pullulan: Biosynthesis, production, and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 92, n. 1, p. 29–44, 2011c.

CHU, L. Y. et al. Preparation of thermo-responsive core-shell microcapsules with a porous membrane and poly(N-isopropylacrylamide) gates. **Journal of Membrane Science**, 2001.

COOKE, W. B. An ecological life history of Aureobasidium pullulans (de Bary) Arnaud. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 12, n. 1, p. 1–45, 1959.

CUNHA, A. G. et al. What is the real value of chitosan's surface energy? **Biomacromolecules**, v. 9, n. 2, p. 610–614, 2008.

CUNHA, A. G. et al. Preparation of highly hydrophobic and lipophobic cellulose fibers by a straightforward gas–solid reaction. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 344, n. 2, p. 588–595, abr. 2010.

CUNHA, A. G.; GANDINI, A. Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 1. Cellulose. **Cellulose**, v. 17, n. 5, p. 875–889, 11 out. 2010a.

CUNHA, A. G.; GANDINI, A. Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 2. Hemicelluloses, chitin/chitosan, starch, pectin and alginates. **Cellulose**, v. 17, n. 6, p. 1045–1065, 1 dez. 2010b.

CZAJA, W. K. et al. The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 1, p. 1–12, jan. 2007.

DANNHAUSER, W. Polymers: chemistry and physics of modern materials (Cowie, J.M.G.). **Journal of Chemical Education**, v. 51, n. 11, p. A550, 2009.

DAVIS, J. Handbook of Materials for Medical Devices. **ASM International**, 2003.

DE OLYVEIRA, G. M. et al. Bacterial Nanocellulose for Medicine Regenerative. **Journal of Nanotechnology in Engineering and Medicine**, v. 2, n. 3, p. 034001, 2011.

DERMAFILL. Disponível em: https://www.dermafill.com/index.php?option=com_content&view=article&id=11&Itemid=20. Acesso em: 16 ago. 2019.

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

DUAN, X. et al. Influence of different sugars on pullulan production and activities of α-phosphoglucose mutase, UDPG-pyrophosphorylase and glucosyltransferase involved in pullulan synthesis in Aureobasidium pullulans Y68. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 4, p. 587–593, 2008.

DUFRESNE, A.; BELGACEM, M. N. Cellulose-reinforced composites: From micro-to nanoscale. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2010.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 409–421, jul. 2000.

EICHHORN, S. J. et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 45, n. 1, p. 1–33, 24 jan. 2010.

FABRICAÇÃO de compósitos. Disponível em: http://fabricacaodecompositos.blogspot.com/2012/06/paineis-sanduiche.html. Acesso em: 19 ago. 2019.

FANG, B. et al. Proliferation and Osteoblastic Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells on Hydroxyapatite/Bacterial Cellulose Nanocomposite Scaffolds. **Tissue Engineering Part A**, v. 15, n. 5, p. 1091–1098, maio 2009.

FARRIS, S. et al. Wetting of Biopolymer Coatings: Contact Angle Kinetics and Image Analysis Investigation. **Langmuir**, v. 27, n. 12, p. 7563–7574, 21 jun. 2011.

FARUK, O. et al. Progress in Polymer Science Biocomposites reinforced with natural fibers : 2000 – 2010. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 11, p. 1552–1596, 2012.

FAVIER, V.; CHANZY, H.; CAVAILLE, J. Y. Polymer Nanocomposites Reinforced by Cellulose Whiskers. **Macromolecules**, v. 28, n. 18, p. 6365–6367, ago. 1995.

FIJAŁKOWSKI, K. et al. Survival of probiotic lactic acid bacteria immobilized in different forms of bacterial cellulose in simulated gastric juices and bile salt solution. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 322–328, maio 2016.

FORABOSCO, A. et al. Pullulans produced by strains of Cryphonectria parasitica - I. Production and characterisation of the exopolysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, 2006.

FRASER, C. G.; JENNINGS, H. J. A Glucan from Tremella mesenterica NRRL-Y6158. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 1804–1807, jun. 2006.

FRENCH, A. D.; SANTIAGO CINTRÓN, M. Cellulose polymorphy, crystallite size, and the Segal Crystallinity Index. **Cellulose**, v. 20, n. 1, p. 583–588, 1 fev. 2013.

FULLER, M. E.; ANDAYA, C.; MCCLAY, K. Evaluation of ATR-FTIR for analysis of bacterial cellulose impurities. **Journal of Microbiological Methods**, v. 144, p. 145–151, jan. 2018.

GANDINI, A. et al. Progress of Polymers from Renewable Resources: Furans, Vegetable Oils, and Polysaccharides. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 3, p. 1637–1669, 2016.

GANDINI, A.; LACERDA, T. M. From monomers to polymers from renewable resources: Recent advances. **Progress in Polymer Science**, v. 48, p. 1–39, 2015.

GAO, W. et al. Optimization of mineral salts in medium for enhanced production of pullulan by Aureobasidium pullulans HP-2001 using an orthogonal array method. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 5, p. 837–845, out. 2010.

GARBOCZI, E. J. et al. Geometrical percolation threshold of overlapping ellipsoids. **Physical Review E**, v. 52, n. 1, p. 819–828, 1 jul. 1995.

GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 941–944, set. 2000.

GARSIDE, M. **Global plastic production | Statista**. Disponível em: https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/. Acesso em: 18 ago. 2019.

GELLERSTEDT, G.; EK, M.; HENRIKSSON, G. **Wood Chemistry and Wood Biotechnology**. Berlin, New York: Walter de Gruyter, 2009. v. 1

GESS, J. M.; RENDE, D. S. Alkenyl Succinic Anhydride (ASA). **Tappi Journal**, v. 4, p. 25–30, 2005.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, n. 7, p. 19–24, 2017.

GIBBS, P. A.; SEVIOUR, R. J. Does the agitation rate and/or oxygen saturation influence exopolysaccharide production by Aureobasidium pullulans in batch culture? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 46, n. 5–6, p. 503–510, 17 dez. 1996.

GIBSON, L. H.; COUGHLIN, R. W. Optimization of high molecular weight pullulan production by Aureobasidium pullulans in batch fermentations. **Biotechnology Progress**, v. 18, n. 3, p. 675–678, 2002.

GOUNGA, M. E. et al. Effect of whey protein isolate-pullulan edible coatings on the quality and shelf life of freshly roasted and freeze-dried Chinese chestnut. **Journal of Food Science**, 2008.

GRENHA, A.; RODRIGUES, S. Pullulan-based nanoparticles: future therapeutic applications in transmucosal protein delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 4, n. 11, p. 1339–1341, nov. 2013.

GUIMARD, N. K.; GOMEZ, N.; SCHMIDT, C. E. Conducting polymers in biomedical engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8–9, p. 876–921, ago. 2007.

GUPTA, A. K.; GUPTA, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3995–4021, 1 jun. 2005.

GUPTA, M.; GUPTA, A. K. Hydrogel pullulan nanoparticles encapsulating pBUDLacZ plasmid as an efficient gene delivery carrier. **Journal of Controlled Release**, v. 99, n. 1, p. 157–166, set. 2004.

HAAS, T. A.; PLOW, E. F. Integrin-ligarid interactions: a year in review. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 6, n. 5, p. 656–662, out. 1994.

HASA, Y. et al. Preparation of anti-sticking substance for cooked noodles by fungal hydrolysis of potato pulp. **Food Biotechnology**, 2006.

HASUDA, H. et al. Synthesis of photoreactive pullulan for surface modification. **Biomaterials**, v. 26, n. 15, p. 2401–2406, 1 maio 2005.

HOFMANN, W. **Rubber technology handbook**. Hanser Publishers. 1989.

HONG, F. et al. Bacterial cellulose production from cotton-based waste textiles: Enzymatic saccharification enhanced by ionic liquid pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 503–508, 1 jan. 2012.

HORINAKA, J. ICHI; HASHIMOTO, Y.; TAKIGAWA, T. Optical and mechanical properties of pullulan films studied by uniaxial stretching. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 584–587, 15 out. 2018.

HUTCHENS, S. et al. Biomimetic synthesis of calcium-deficient hydroxyapatite in a natural hydrogel. **Biomaterials**, v. 27, n. 26, p. 4661–4670, set. 2006.

IGUCHI, M.; YAMANAKA, S.; BUDHIONO, A. Bacterial cellulose - a masterpiece of nature’s arts. **Journal of Materials Science**, v. 35, n. 2, p. 261–270, 2000.

INDRARTI et al. Application of biocellulose as acoustic membrane. **Indones J Biotechnol**, p. 180–184, 1998.

ITO, Y. et al. Photo-reactive polyvinylalcohol for photo-immobilized microarray. **Biomaterials**, v. 26, n. 2, p. 211–216, jan. 2005.

IUPAC. Disponível em: http://www.iupac.org. Acesso em: 20 jul. 2016.

IYER, A.; MODY, K.; JHA, B. Biosorption of heavy metals by a marine bacterium. **Marine Pollution Bulletin**, 2005.

JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 3, p. 343–364, 2008.

JUNG, H.-I. et al. Influence of glycerol on production and structural–physical properties of cellulose from Acetobacter sp. V6 cultured in shake flasks. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 10, p. 3602–3608, 1 maio 2010a.

JUNG, H.-I. et al. Production and Characterization of Cellulose by Acetobacter sp. V6 Using a Cost-Effective Molasses–Corn Steep Liquor Medium. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 2, p. 486–497, 4 set. 2010b.

KAMIGAITO, O. What can be improved by nanometer composites? **Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy**, v. 38, n. 3, p. 315–321, 1991.

KANDEMIR, N. et al. Production of antimicrobial films by incorporation of partially purified lysozyme into biodegradable films of crude exopolysaccharides obtained from aureobasidium pullulans fermentation. **Food Technology and Biotechnology**, v. 43, n. 4, p. 343–350, 2005.

KARGARZADEH, H. et al. (EDS.). **Handbook of Nanocellulose and Cellulose Nanocomposites**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2017.

KAUSHIK, M. et al. Transmission Electron Microscopy for the Characterization of Cellulose Nanocrystals. In: MAAZ, K. (Ed.). . **The Transmission Electron Microscope - Theory and Applications**. InTech, 2015.

KAWAHARA, K. et al. Preparation and solution properties of pullulan fractions as standard samples for water-soluble polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 4, n. 5, p. 335–356, 1984.

KHAN, A. et al. Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1601–1608, 6 nov. 2012.

KIM, J. H. et al. Production of high molecular weight pullulan by Aureobasidium pullulans using glucosamine. **Biotechnology Letters**, v. 22, n. 12, p. 987–990, 2000.

KIMOTO, T.; SHIBUYA, T.; SHIOBARA, S. Safety studies of a novel starch, pullulan:

Chronic toxicity in rats and bacterial mutagenicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, n. 3–4, p. 323–329, mar. 1997.

KLEMM, D. et al. Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v. 26, n. 9, p. 1561–1603, nov. 2001.

KLEMM, D. et al. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 30 maio 2005.

KONTTURI, E. et al. Advanced Materials through Assembly of Nanocelluloses. **Advanced Materials**, v. 1703779, 2018.

KROCHTA, J. M.; MULDER, J. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and Opportunities. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 61–74, 1997.

LAHIJI, R. R. et al. Atomic Force Microscopy Characterization of Cellulose Nanocrystals. **Langmuir**, v. 26, n. 6, p. 4480–4488, 16 mar. 2010.

LAROCHE, C.; MICHAUD, P. Microbial polysaccharides. In: PANDEY, A. et al. (Eds.). . **Comprehensive food fermentation biotechnology**. 2010.

LEATHERS, T. D. et al. Pullulan production by color variant strains ofAureobasidium pullulans. **Journal of Industrial Microbiology**, 1988.

LEATHERS, T. D. Biotechnological production and applications of pullulan. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 62, n. 5–6, p. 468–473, 2003.

LEDUY, A. et al. Pullulan. In: **Encyclopedia of polymer science and engineering**. 2nd. ed. New York: Wiley, 1988.

LEE, K. Y.; YOO, Y. J. Optimization of pH for high molecular weight pullulan. **Biotechnology Letters**, v. 15, n. 10, p. 1021–1024, out. 1993.

LIMA, L. R. et al. Cellulose nanocrystals from bacterial cellulose. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1140–1147, 2015.

LIN, K. W.; LIN, H. Y. Quality Characteristics of Chinese-style Meatball Containing Bacterial Cellulose (Nata). **Journal of Food Science**, 2006.

LINDSTRÖM, T.; LARSSON, P. T. Alkyl Ketene Dimer (AKD) sizing – a review. **Nordic Pulp & Paper Research Journal**, v. 23, n. 2, p. 202–209, 1 maio 2008.

LUBIN, G. **Handbook of Composites**. Boston, MA: Springer US, 1982.

MADI, N.; MCNEIL, B.; HARVEY, L. M. Effect of exogenous calcium on morphological development and biopolymer synthesis in the fungus Aureobasidium pullulans. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 21, n. 2, p. 102–107, 1997.

MAEDA, H. et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. **Journal of Controlled Release**, v. 65, n. 1–2, p. 271–284, mar. 2000.

MANARESI, P.; MUNARI, A. General Aspects. **Comprehensive Polymer Science and Supplements**, p. 11–34, 1 jan. 1989.

MARSH, G. **50 years of reinforced plastic boats**. Disponível em: https://www.materialstoday.com/composite-applications/features/50-years-of-reinforced-plastic-boats/.

MCNEIL, B.; KRISTIANSEN, B.; SEVIOUR, R. J. Polysaccharide production and morphology ofAureobasidium pullulans in continuous culture. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, n. 9, p. 1210–1212, 5 abr. 1989.

MOHD AMIN, M. C. I. et al. Synthesis and characterization of thermo- and pH-responsive bacterial cellulose/acrylic acid hydrogels for drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p. 465–473, 2 abr. 2012.

MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. A novel biomaterial: Bacterial cellulose and its new era applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry,** v. 61, n 2, p. 101-110, 2014.

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

MOTOZATO, Y. et al. Preparation and gel permeation chromatographic properties of pullulan spheres. **Journal of Chromatography A**, v. 355, p. 434–437, jan. 1986.

MÜLHAUPT, R. Green polymer chemistry and bio-based plastics: Dreams and

reality. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 214, n. 2, p. 159–174, 2013.

NAKASHIO, S. et al. **Paper coating material containing pullulan**, 1974.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. Macmillan, 2008.

NIU, B. et al. Structural and physiochemical characterization of novel hydrophobic packaging films based on pullulan derivatives for fruits preservation. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, p. 276–284, mar. 2019.

NOGI, M. et al. Fiber-content dependency of the optical transparency and thermal expansion of bacterial nanofiber reinforced composites. **Applied Physics Letters**, v. 88, n. 13, p. 133124, 27 mar. 2006.

NOGI, M.; YANO, H. Transparent Nanocomposites Based on Cellulose Produced by Bacteria Offer Potential Innovation in the Electronics Device Industry. **Advanced Materials**, v. 20, n. 10, p. 1849–1852, 19 maio 2008.

NOVA-INSTITUTE. **2018 was a very good year for bio-based polymers: Several additional capacities were put into operation - Bio-based News -**. Disponível em: http://news.bio-based.eu/2018-was-a-very-good-year-for-bio-based-polymers-several-additional-capacities-were-put-into-operation/. Acesso em: 18 ago. 2019.

OKSMAN, K. et al. Review of the recent developments in cellulose nanocomposite processing. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 83, p. 2–18, 2016.

OKU, T.; YAMADA, K.; HOSOYA, N. Effects of Pullulan and Cellulose on the Gastrointestinal Tract of Rats. **Eiyo To Shokuryo**, 2011.

ORR, D. et al. Culture conditions affect the chemical composition of the exopolysaccharide synthesized by the fungus Aureobasidium pullulans. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 691–698, ago. 2009.

PANDEY, M. et al. Rapid synthesis of superabsorbent smart-swelling bacterial cellulose/acrylamide-based hydrogels for drug delivery. **International Journal of Polymer Science**, 2013.

PANG, J. et al. Synthesis of ethylene glycol and terephthalic acid from biomass for producing PET. **Green Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 342–359, 2016.

PARK, S. et al. Cellulose crystallinity index: Measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, n. 1, p. 10, 24 maio 2010.

PÉRTILE, R. et al. Bacterial cellulose modified using recombinant proteins to improve neuronal and mesenchymal cell adhesion. **Biotechnology Progress**, v. 28, n. 2, p. 526–532, mar. 2012.

PONNUSAMI, V.; GUNASEKAR, V. Production of Pullulan by Microbial Fermentation. In: **Polysaccharides**. Cham: Springer International Publishing, 2014. p. 1–13.

PRASONGSUK, S. et al. Pullulan production by tropical isolates of Aureobasidium pullulans. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 55–61, 11 dez. 2006.

PURWADARIA, T.; GUNAWAN, L.; WYDIA GUNAWAN, A. The Production of Nata Colored by Monascus purpureus J1 Pigments as Functional Food. **Microbiology Indonesia**, 2010.

PUSKÁS, I. et al. Aspects of determining the molecular weight of cyclodextrin polymers and oligomers by static light scattering. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 124–128, 2013.

RADULOVIĆ, M. D. et al. Simultaneous production of pullulan and biosorption of metals by Aureobasidium pullulans strain CH-1 on peat hydrolysate. **Bioresource Technology**, 2008.

RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 6, p. 2491–2511, 11 mar. 2015.

REESLEV, M. et al. The ability of the yeast form of Aureobasidium pullullans to elaborate exopolysaccharide in chemostat culture at various pH values. **Mycological Research**, v. 101, n. 6, p. 650–652, 1997.

REHM, B. H. A. **Microbial production of biopolymers and polymers precursors**. Caister Academic Press, 2009.

REIS, R. A. et al. A new pullulan and a branched (1→3)-, (1→6)-linked β-glucan from the lichenised ascomycete Teloschistes flavicans. **FEMS Microbiology Letters**, 2002.

REKHA, M. R.; SHARMA, C. P. Pullulan as a promising biomaterial for biomedical applications: A perspective. **Trends in Biomaterials and Artificial Organs**, v. 20, n. 2, p. 111–116, 2007.

ROBERTS, J. C. Neutral and alkaline sizing. In: **Paper Chemistry**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1996. p. 140–160.

RÖMLING, U.; GALPERIN, M. Y. Bacterial cellulose biosynthesis: diversity of operons, subunits, products, and functions. **Trends in microbiology**, v. 23, n. 9, p. 545–57, set. 2015.

RONQUILLE, B. **Medium**. Disponível em: https://medium.com/@bryceronquille/the-ancient-japanese-methods-of-sword-making-21de1348d14d. Acesso em: 19 ago. 2019.

ROUKAS, T.; MANTZOURIDOU, F. Effect of the aeration rate on pullulan production and fermentation broth theological properties in an airlift reactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 76, n. 4, p. 371–376, 2001.

SALARI, M. et al. Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 414–423, nov. 2018.

SCOTT, G. ‘Green’ polymers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 68, n. 1, p. 1–7, 1 abr. 2000.

SEGAL, L. et al. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786–794, 2 out. 1959.

SEYMOUR, L. W. et al. Intraperitoneal and subcutaneous retention of a soluble polymeric drug-carrier bearing galactose. **Journal of Controlled Release**, 1991.

SHAFFER, G. D. An Archaeomagnetic Study of a Wattle and Daub Building Collapse. **Journal of Field Archaeology**, v. 20, n. 1, p. 59–75, 1993.

SHAH, J.; MALCOLM BROWN, R. Towards electronic paper displays made from microbial cellulose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 4, p. 352–355, 5 jan. 2005.

SHEU, F.; WANG, C. L.; SHYU, Y. T. Fermentation of Monascus purpureus on Bacterial Cellulose-nata and the Color Stability of Monascus-nata Complex. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 342–345, mar. 2000.

SHIN, Y. C. et al. Production of Exopolysaccharide pullulan from inulin by a mixed culture of Aureobasidium pullulans and Kluyveromyces fragilis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, n. 1, p. 129–133, 5 jan. 1989.

SHINGEL, K. I. Current knowledge on biosynthesis, biological activity, and chemical modification of the exopolysaccharide, pullulan. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 3, p. 447–460, fev. 2004.

SI, Y.; DONG, Z.; JIANG, L. Bioinspired Designs of Superhydrophobic and Superhydrophilic Materials. **ACS Central Science**, v. 4, n. 9, p. 1102–1112, 26 set. 2018.

SILVA, N. H. C. S. et al. Bacterial cellulose membranes as transdermal delivery systems for diclofenac: In vitro dissolution and permeation studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 264–269, jun. 2014.

SIMON, L. et al. Studies on pullulan extracellular production and glycogen intracellular content in Aureobasidium pullulans. **Canadian journal of microbiology**, v. 44, n. 12, p. 1193–1199, 1998.

SINDHU, K. A.; PRASANTH, R.; THAKUR, V. K. Medical Applications of Cellulose and its Derivatives: Present and Future. In: **Nanocellulose Polymer Nanocomposites**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2014. p. 437–477.

SINGH, R. S. et al. Pullulan: A novel molecule for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 171, p. 102–121, 1 set. 2017.

SINGH, R. S.; SAINI, G. K. Pullulan-hyperproducing color variant strain of

Aureobasidium pullulans FB-1 newly isolated from phylloplane of *Ficus* sp. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3896–3899, 2008.

SINGH, R. S.; SAINI, G. K.; KENNEDY, J. F. Pullulan: Microbial sources, production and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 4, p. 515–531, 5 set. 2008.

SOWA, W.; BLACKWOOD, A. C.; ADAMS, G. A. NEUTRAL EXTRACELLULAR GLUCAN OF PULLULARIA PULLULANS (DE BARY) BERKHOUT. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 41, n. 9, p. 2314–2319, set. 1963.

STAUFFER, D.; AHARONY, A. **Introduction To Percolation Theory: Revised Second Edition**. 2nd. ed. Philadelphia: Taylor & Francis, 1994.

STOICA-GUZUN, A. et al. Effect of electron beam irradiation on bacterial cellulose membranes used as transdermal drug delivery systems. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 265, n. 1, p. 434–438, dez. 2007.

SUEIRO, A. C. et al. BIODEGRADABLE FILMS OF CASSAVA STARCH, PULLULAN AND BACTERIAL CELLULOSE. **Química Nova**, v. 39, n. 9, p. 1059–1064, 2016.

SURESH KUMAR, A.; MODY, K.; JHA, B. Bacterial exopolysaccharides – a perception. **Journal of Basic Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 103–117, abr. 2007.

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

TAO, X. et al. Novel Delivery of Mitoxantrone with Hydrophobically Modified Pullulan Nanoparticles to Inhibit Bladder Cancer Cell and the Effect of Nano-drug Size on Inhibition Efficiency. **Nanoscale Research Letters**, v. 13, n. 1, p. 345, 30 dez. 2018.

TEISALA, H.; BUTT, H.-J. Hierarchical Structures for Superhydrophobic and Superoleophobic Surfaces. **Langmuir**, p. acs.langmuir.8b03088, 4 dez. 2018.

TERÁN HILARES, R. et al. Low-melanin containing pullulan production from sugarcane bagasse hydrolysate by Aureobasidium pullulans in fermentations assisted by light-emitting diode. **Bioresource Technology**, v. 230, p. 76–81, 2017.

THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K.; KESSLER, M. R. (EDS.). **Handbook of Composites from Renewable Materials**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2017.

THOMAS, S. et al. (EDS.). **Polymer Composites**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012.

THYROFF, R. **Textilbewehrung in Beton**, 2013.

TIAN, Y.; JIANG, L. Intrinsically robust hydrophobicity. **Nature Materials**, v. 12, n. 4, p. 291–292, 20 abr. 2013.

TORGBO, S.; SUKYAI, P. Bacterial cellulose-based scaffold materials for bone tissue engineering. **Applied Materials Today**, v. 11, p. 34–49, 2018.

TROVATTI, E. et al. Gluconacetobacter sacchari: An efficient bacterial cellulose cell-factory. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1417–1420, 30 ago. 2011a.

TROVATTI, E. et al. Biocellulose Membranes as Supports for Dermal Release of Lidocaine. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 11, p. 4162–4168, 14 nov. 2011b.

TROVATTI, E. et al. Sustainable nanocomposite films based on bacterial cellulose and pullulan. **Cellulose**, v. 19, n. 3, p. 729–737, 2012a.

TROVATTI, E. et al. Pullulan–nanofibrillated cellulose composite films with improved thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology**, v. 72, n. 13, p. 1556–1561, ago. 2012b.

TSUJISAKA, Y.; MITSUHASHI, M. PULLULAN. In: **Industrial Gums**. Elsevier, 1993. p. 447–460.

ULLAH, F. et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 57, p. 414–433, 2015.

VOGLER, E. A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 74, n. 1–3, p. 69–117, 1 fev. 1998.

WANG, C.; PIAO, C. From Hydrophilicity to Hydrophobicity: A critical review - Part II: Hydrophobic Conversion. **Wood and Fiber Science**, v. 43, n. 1, p. 41–56, 2011.

WANG, D. et al. Efficient production of pullulan using rice hull hydrolysate by adaptive laboratory evolution of Aureobasidium pullulans. **Bioresource Technology**, v. 164, p. 12–19, jul. 2014.

WANG, J. et al. Preparation and in vitro characterization of BC/PVA hydrogel composite for its potential use as artificial cornea biomaterial. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, n. 1, p. 214–218, jan. 2010.

WANG, P. et al. Current Understanding on Biosynthesis of Microbial Polysaccharides. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 2, p. 141–151, 1 jan. 2008.

WATANABE, K. et al. Structural Features and Properties of Bacterial Cellulose Produced in Agitated Culture. **Cellulose**, v. 5, n. 3, p. 187–200, 1998.

WEB OF SCIENCE. **Biocomposite**. Disponível em: https://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch_input.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&SID=5AM2LgNk3feXadmzYBb&preferencesSaved=. Acesso em: 18 ago. 2019.

WEST, T. P.; REED-HAMER, B. Polysaccharide production by a reduced pigmentation mutant of the fungus Aureobasidium pullulans. **FEMS Microbiology Letters**, v. 113, n. 3, p. 345–349, 1993.

WEST, T. P.; STROHFUS, B. Polysaccharide production by a reduced pigmentation mutant of Aureobasidium pullulans NYS-1. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, n. 2, p. 169–172, 2001.

WIEDERSCHAIN, G. Y. Essentials of glycobiology. **Biochemistry (Moscow)**, v. 74, n. 9, p. 1056–1056, 2009.

WU, S. et al. Effect of two-stage temperature on pullulan production by Aureobasidium pullulans. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 4, p. 737–741, 2010.

YAMAGUCHI, R. et al. Conjugation of Sendai Virus with Pullulan and Immunopotency of the Conjugated Virus. **Microbiology and Immunology**, 1985.

YONEYAMA, M. et al. Effects of pullulan intake in humans. **Journal of the Japanese**

Society of Starch Science, v. 37, n. 3, p. 123–127, 1990.

YOUNG, T. III. An essay on the cohesion of fluids. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 95, p. 65–87, jan. 1805.

YUAN, X.; CHENG, G. From cellulose fibrils to single chains: understanding cellulose dissolution in ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 47, p. 31592–31607, 2015.

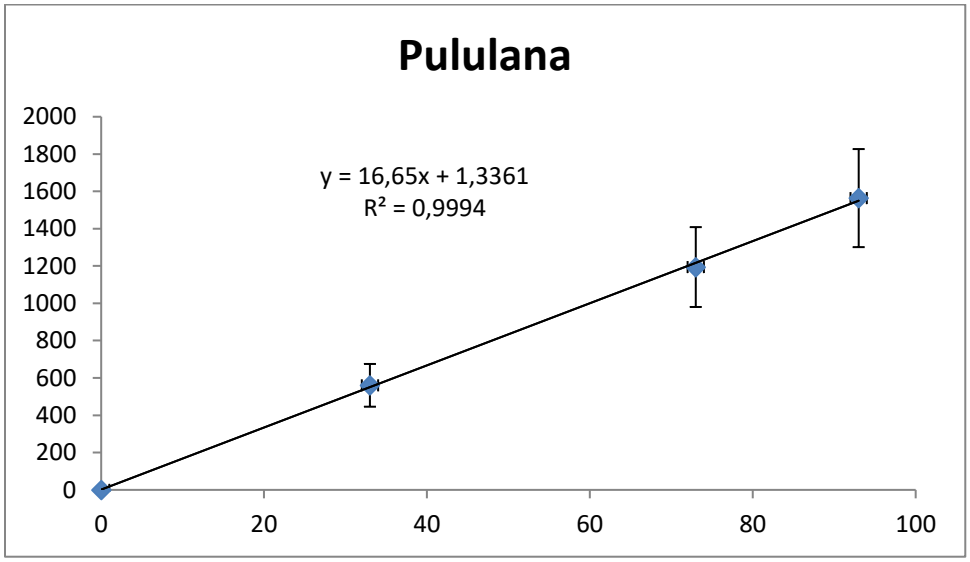
YUEN, S. Pullulan and its applications. **Process Biochemistry**, v. 22, p. 7–9, 1974.

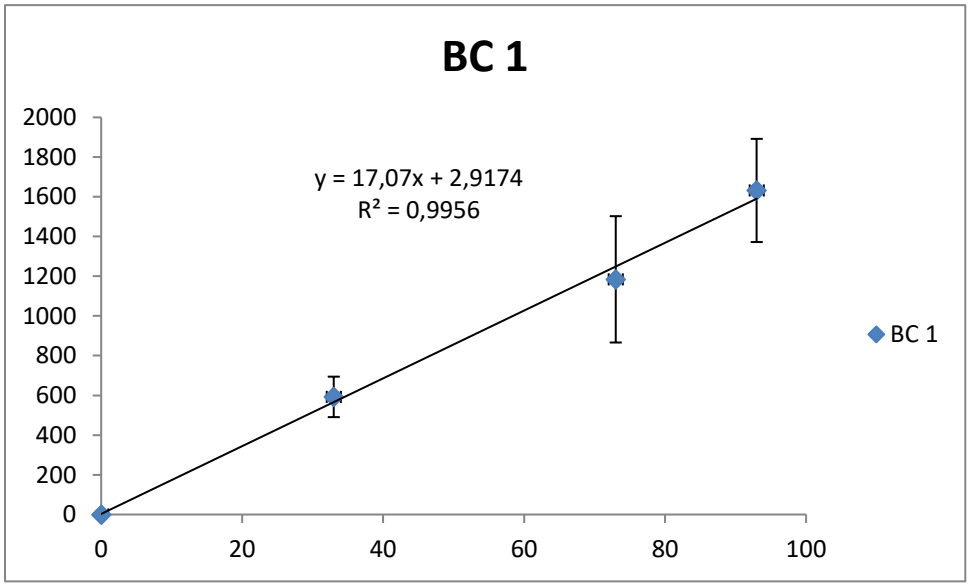
ZHOU, W. et al. Fundamentals of Scanning Electron Microscopy (SEM). In: **Scanning Microscopy for Nanotechnology**. New York, NY: Springer New York, 2006. p. 1–40.

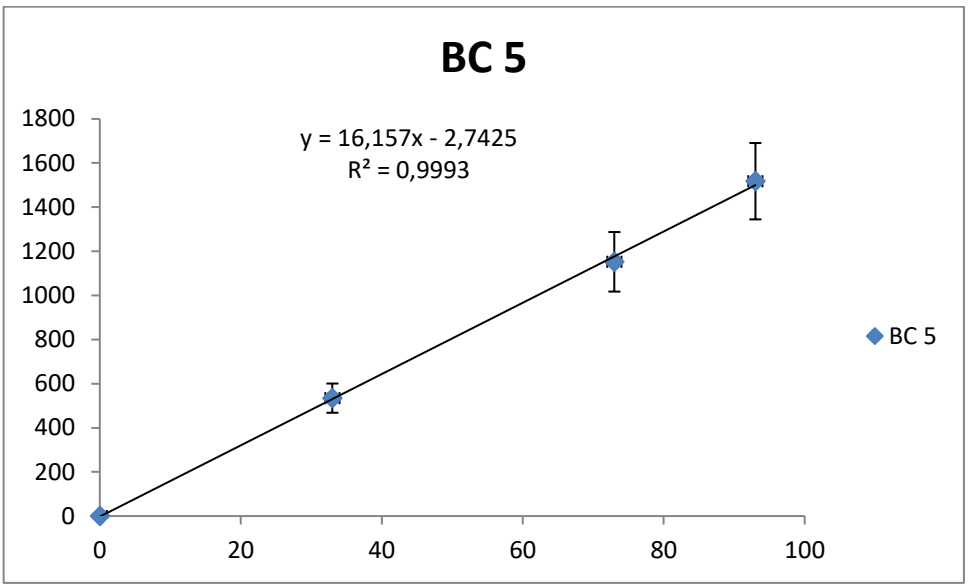
ZHU, Y.; ROMAIN, C.; WILLIAMS, C. K. Sustainable polymers from renewable resources. **Nature**, v. 540, n. 7633, p. 354–362, 2016.

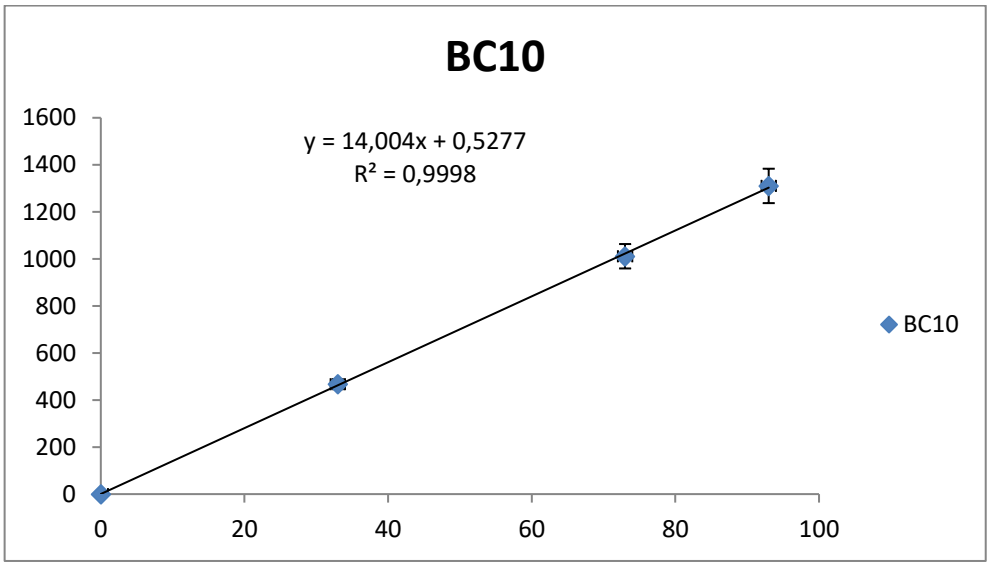
ZIMMERMANN, T.; BORDEANU, N.; STRUB, E. Properties of nanofibrillated cellulose from different raw materials and its reinforcement potential. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 4, p. 1086–1093, 17 mar. 2010.

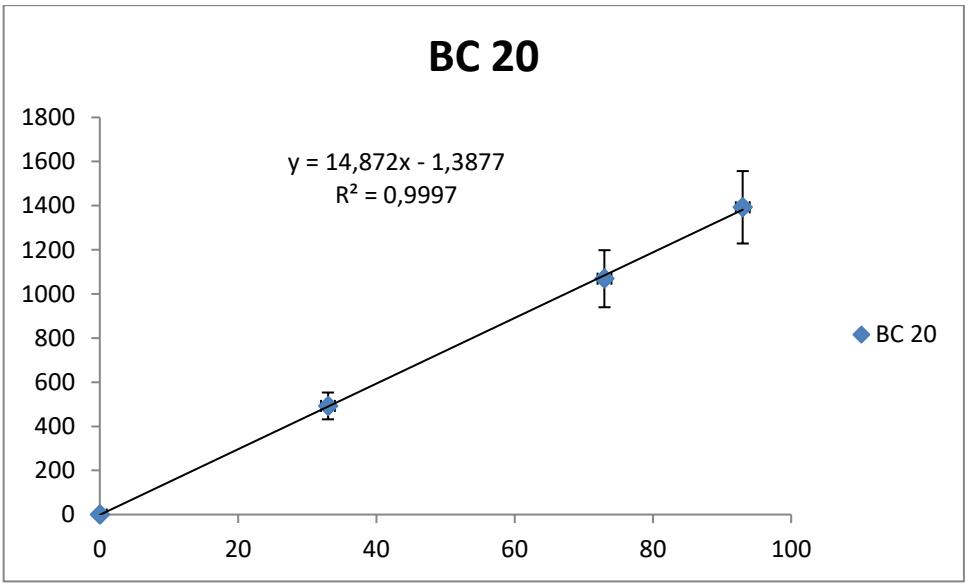
APÊNDICE A – Gráficos de permeabilidade ao vapor de água

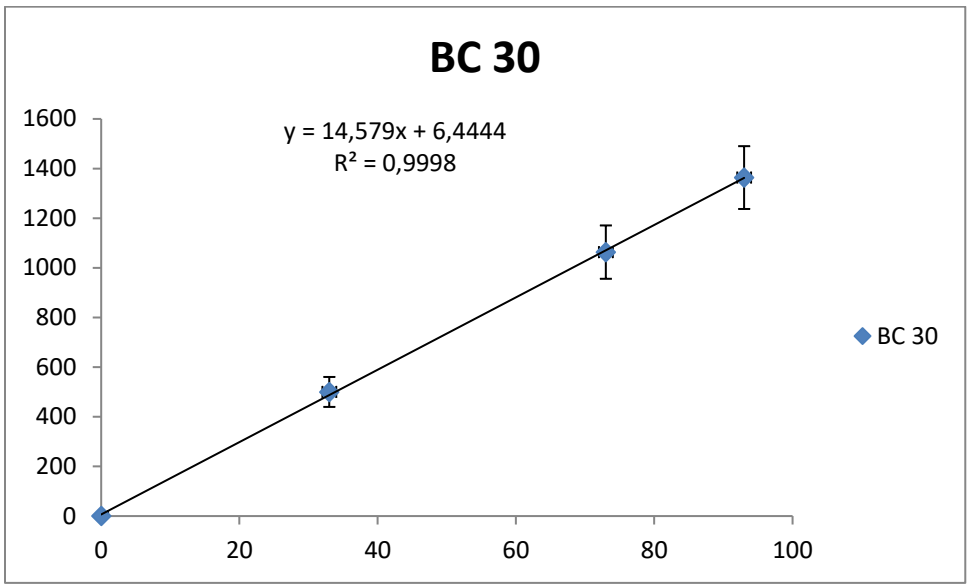


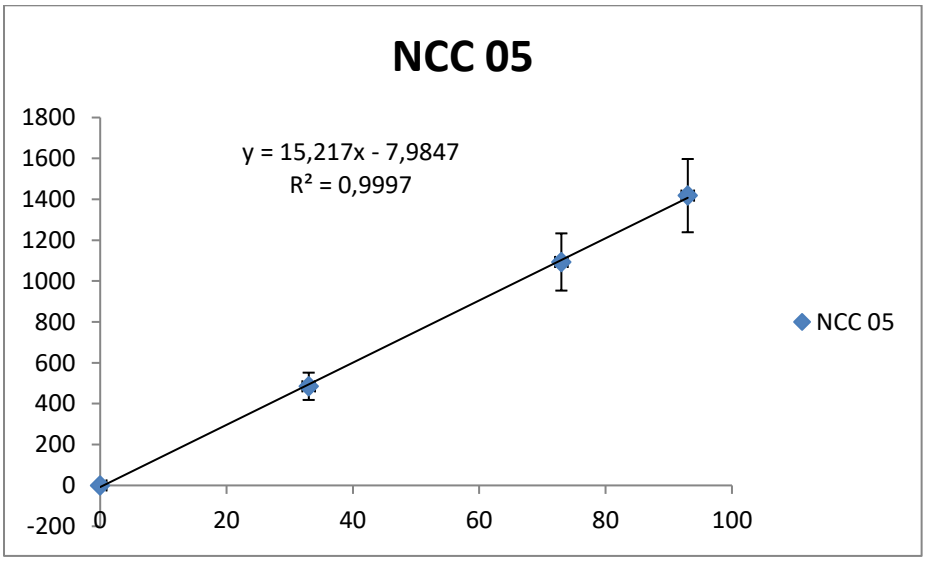


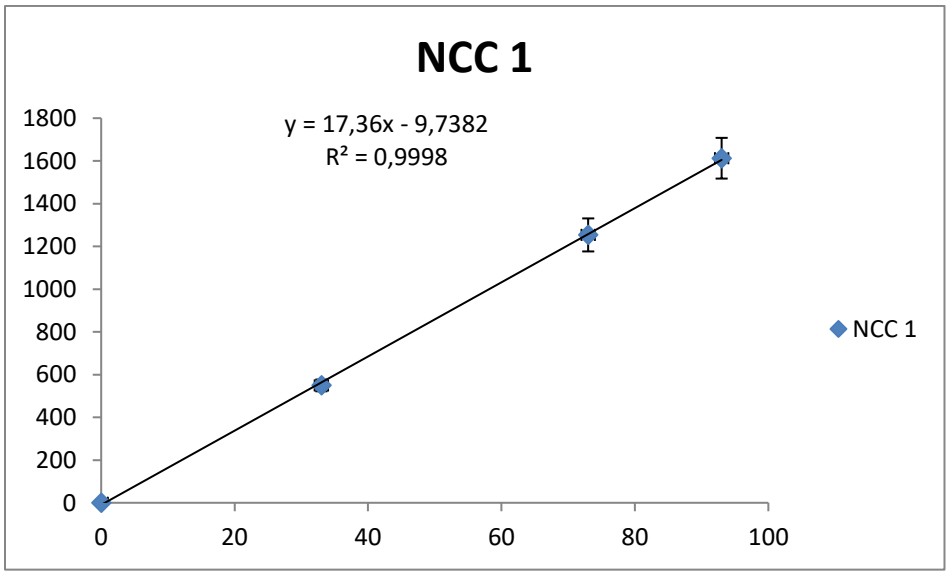

BC 5
y = 16,157x - 2,7425
R² = 0,9993
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
BC 5

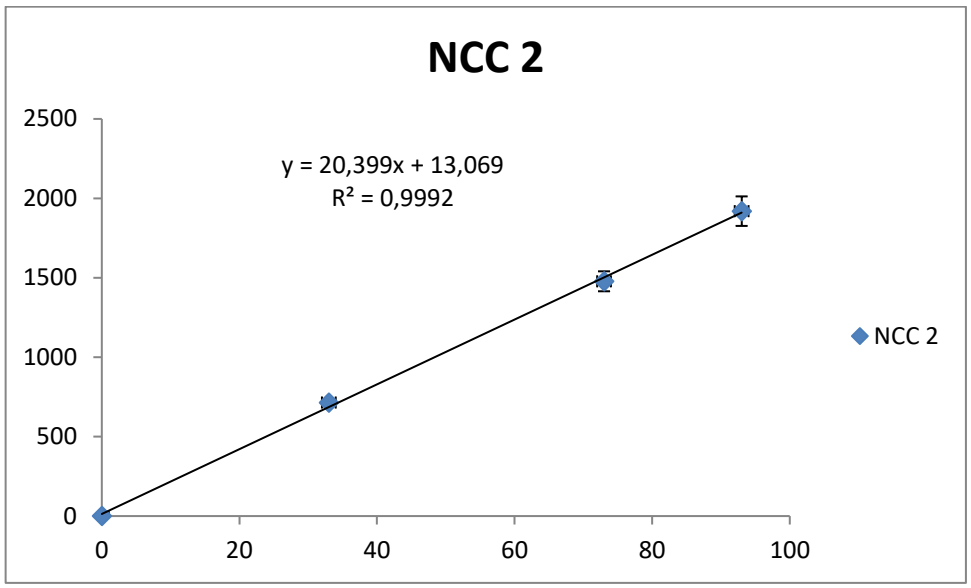

BC10
y = 14,004x + 0,5277
R² = 0,9998
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
BC10

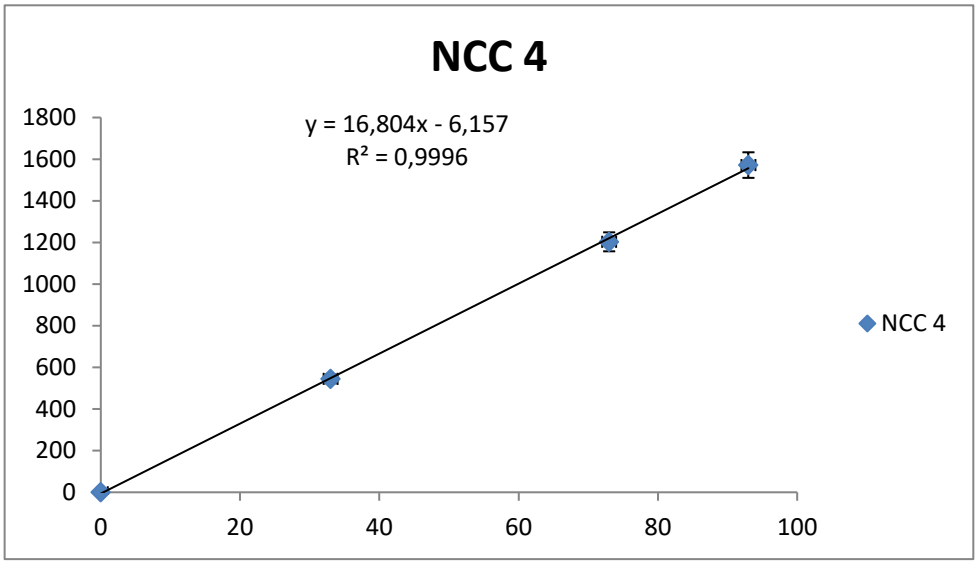

BC 20
y = 14,872x - 1,3877
R² = 0,9997
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
BC 20


BC 30
y = 14,579x + 6,4444
R² = 0,9998
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
BC 30


NCC 05
y = 15,217x - 7,9847
R² = 0,9997
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
-200
0
20
40
60
80
100
NCC 05

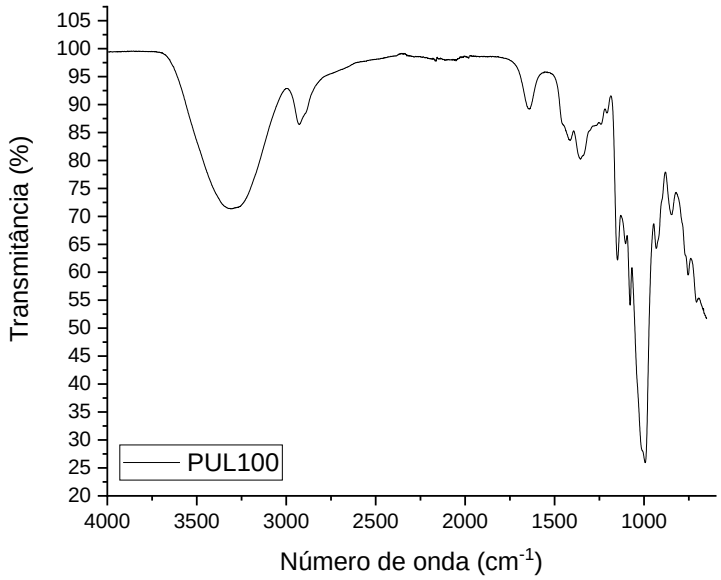

NCC 1
y = 17,36x - 9,7382
R² = 0,9998
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
NCC 1

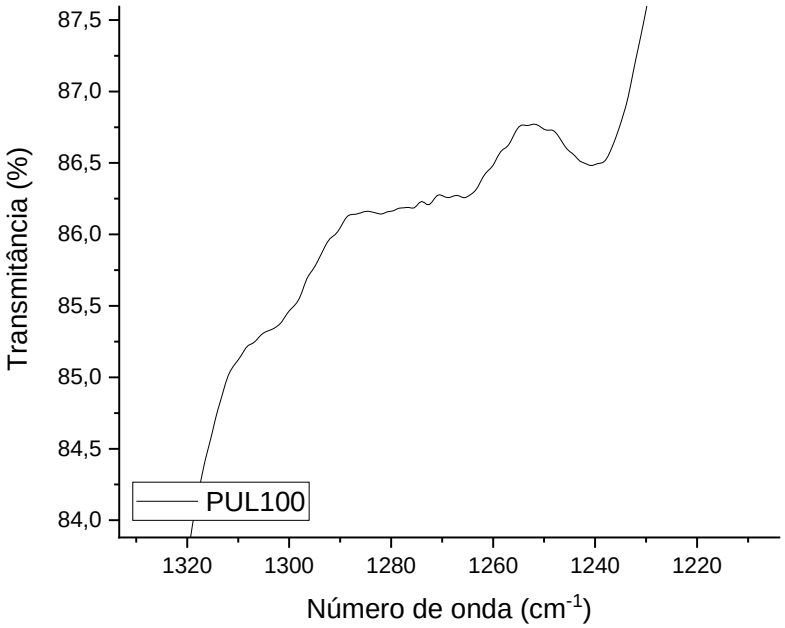

NCC 2
y = 20,399x + 13,069
R² = 0,9992
2500
2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
100
NCC 2

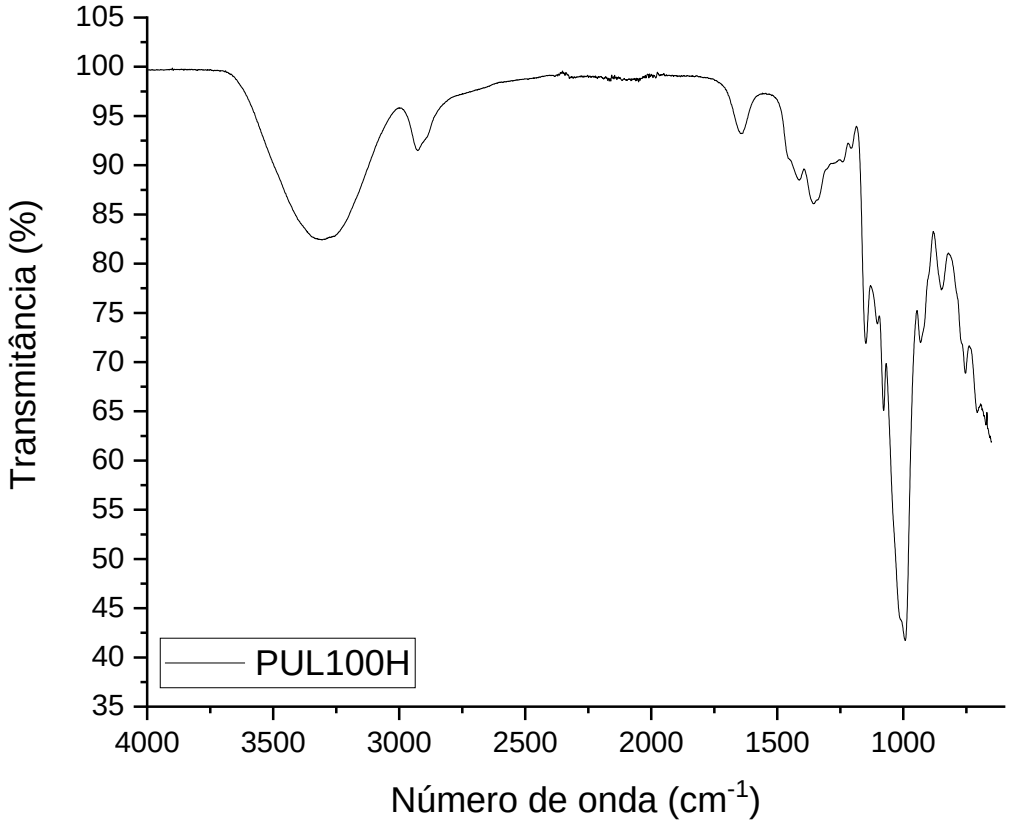

NCC 4
y = 16,804x - 6,157
R² = 0,9996
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
NCC 4

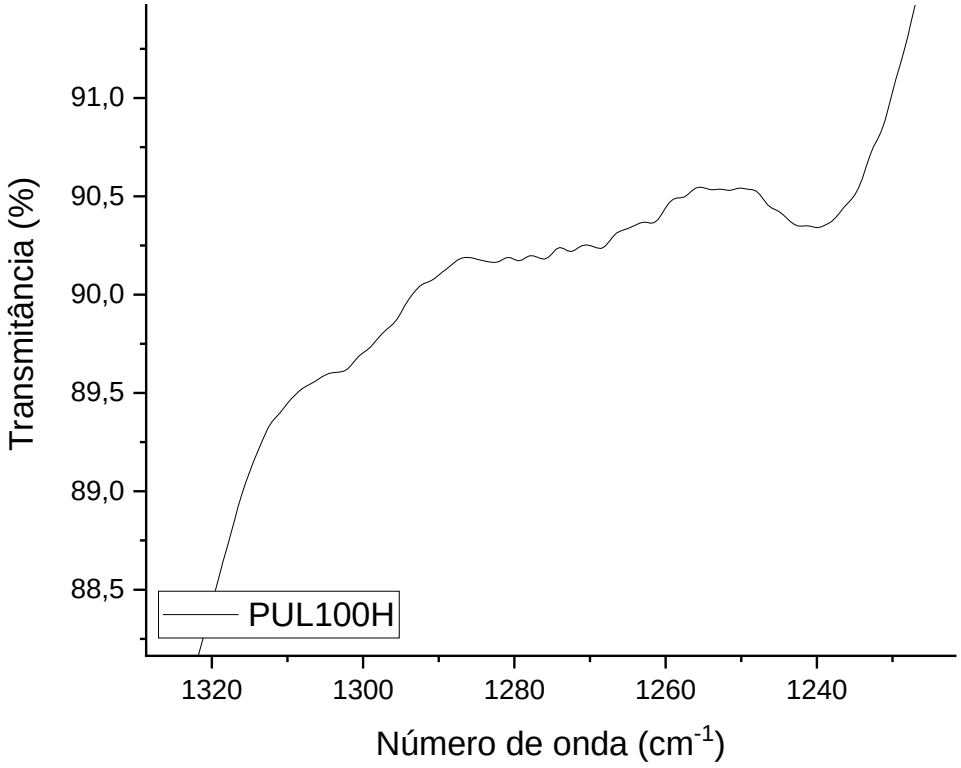
APÊNDICE B – Espectros de infravermelho dos compósitos hidrofobizados e não hidrofobizados

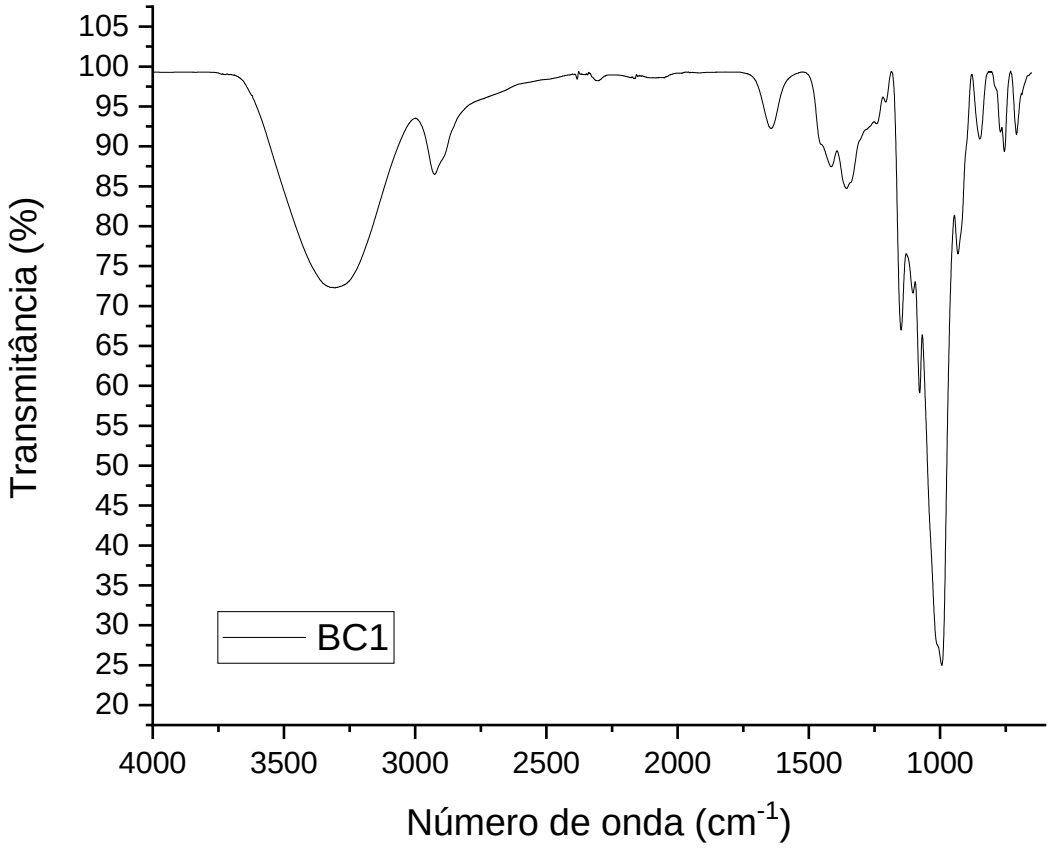
Para cada amostra analisada, são apresentados espectros com números de onda entre 4000 e 650 cm^{-1} e, na sequência, em números de onda próximos a 1200 cm^{-1}, de modo a visualizar a presença de bandas nos números de onda de 1280 cm^{-1} para os compósitos reforçados com BC, e 1273 cm^{-1} para compósitos hidrofobizados.

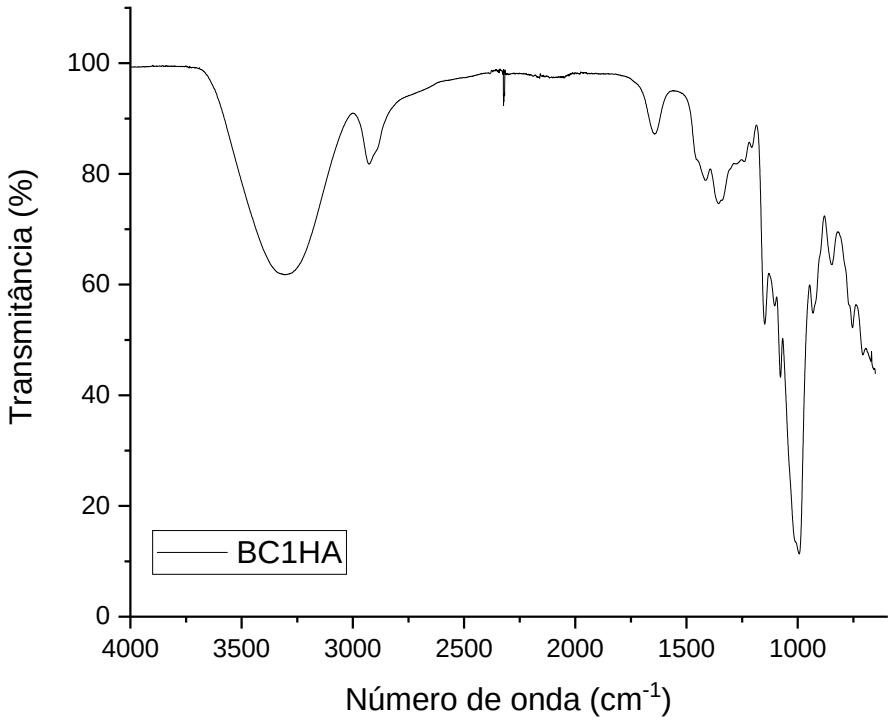


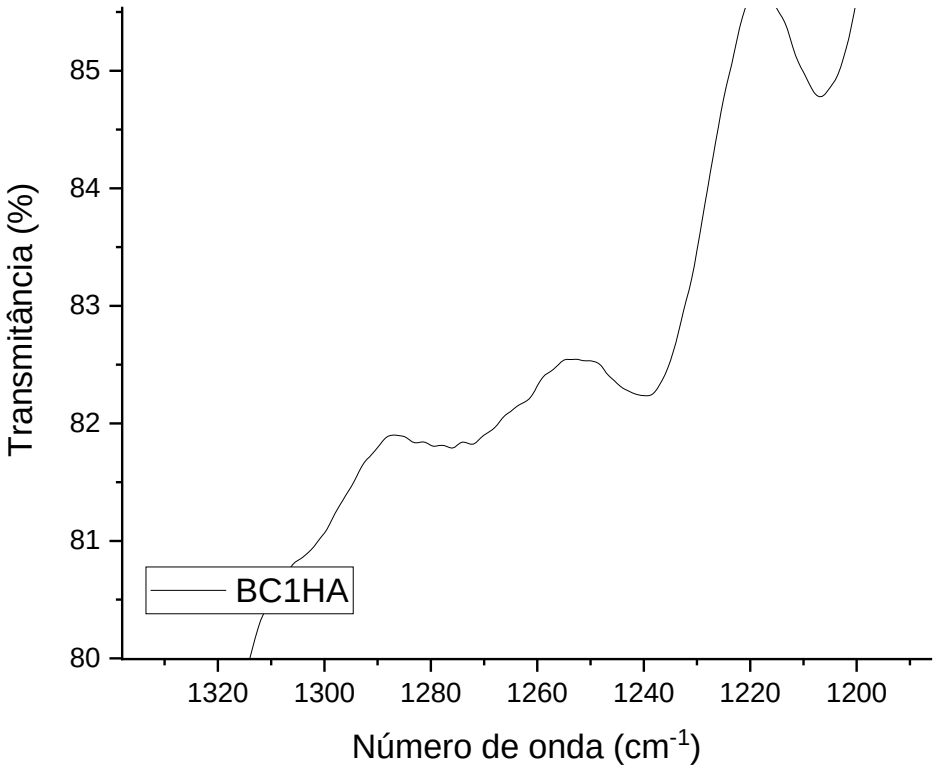


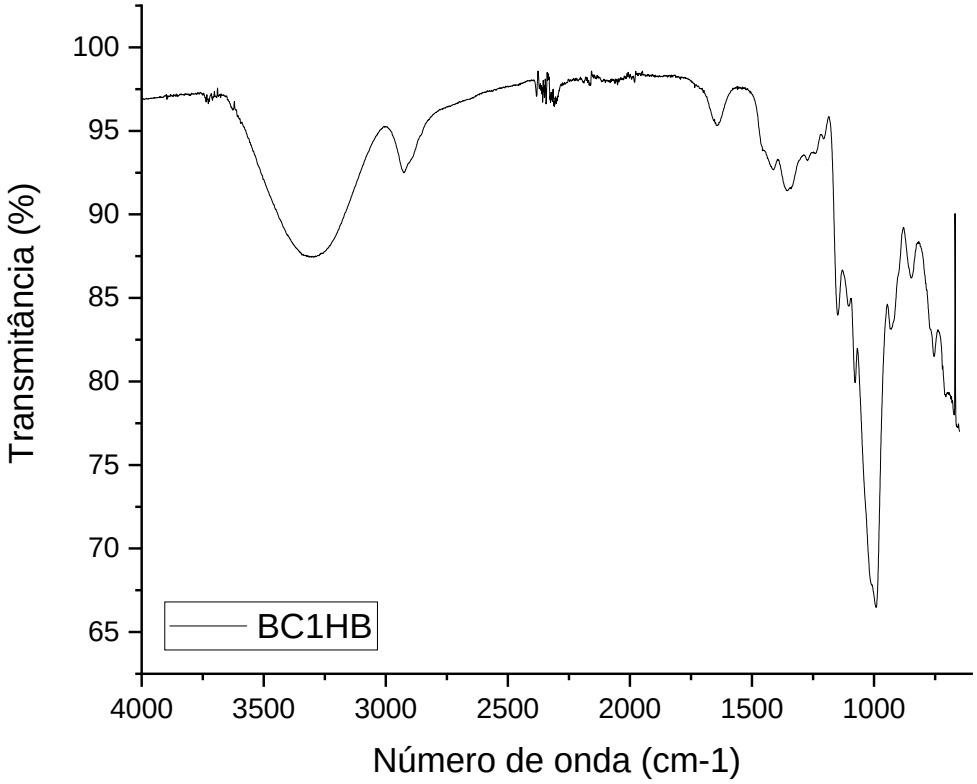

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
PUL100H
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

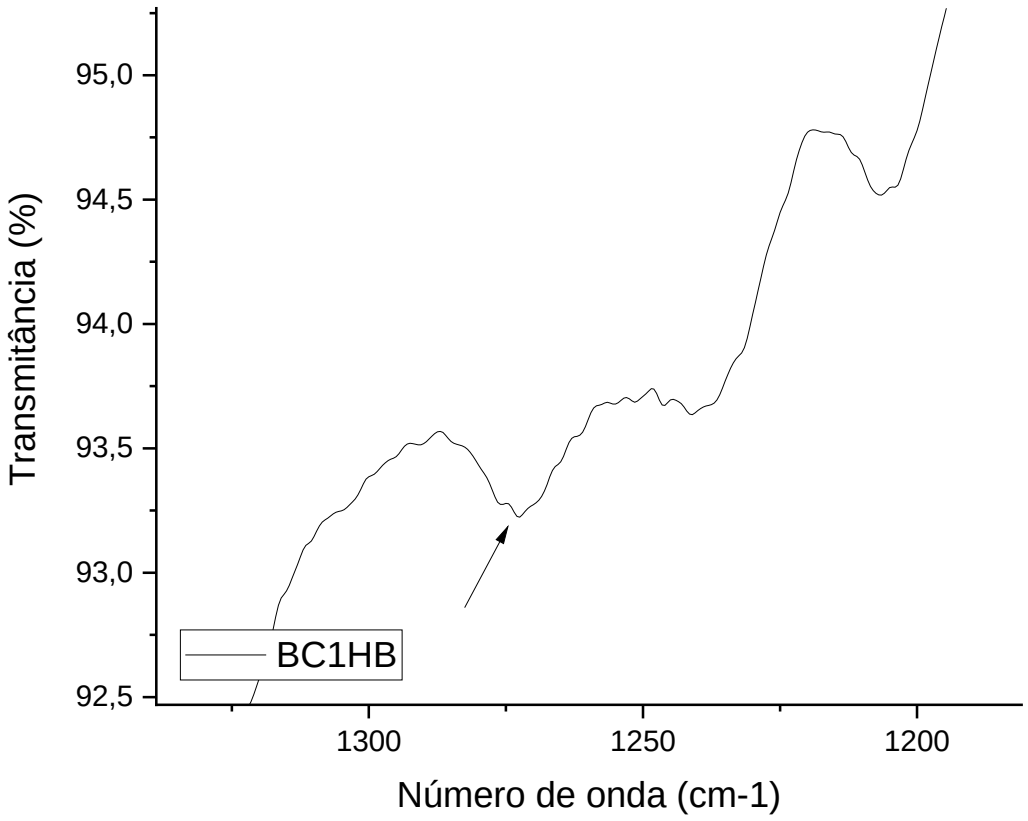

Transmitância (%)
91,0
90,5
90,0
89,5
89,0
88,5
PUL100H
1320
1300
1280
1260
1240
Número de onda (cm-1)

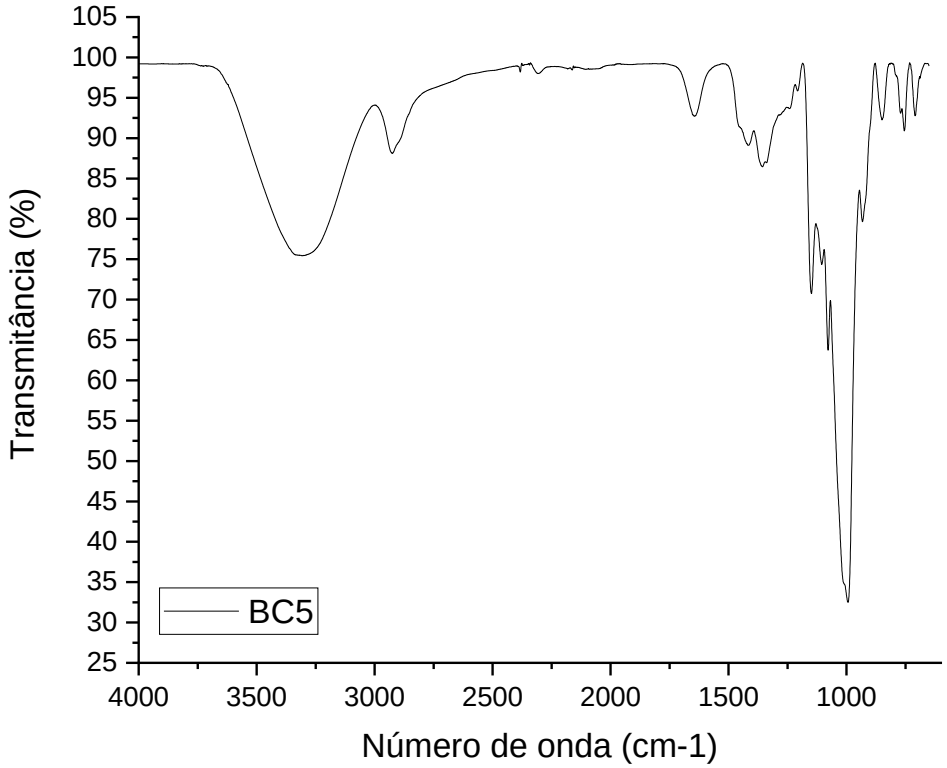

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
BC1
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

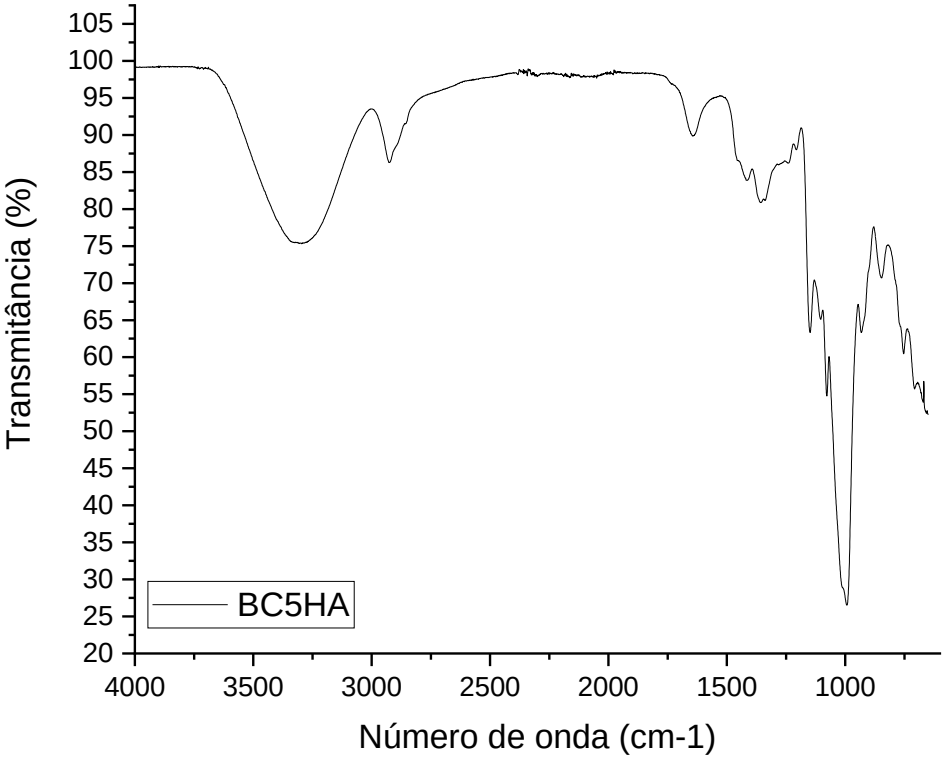

Transmitância (%)
100
80
60
40
20
0
BC1HA
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

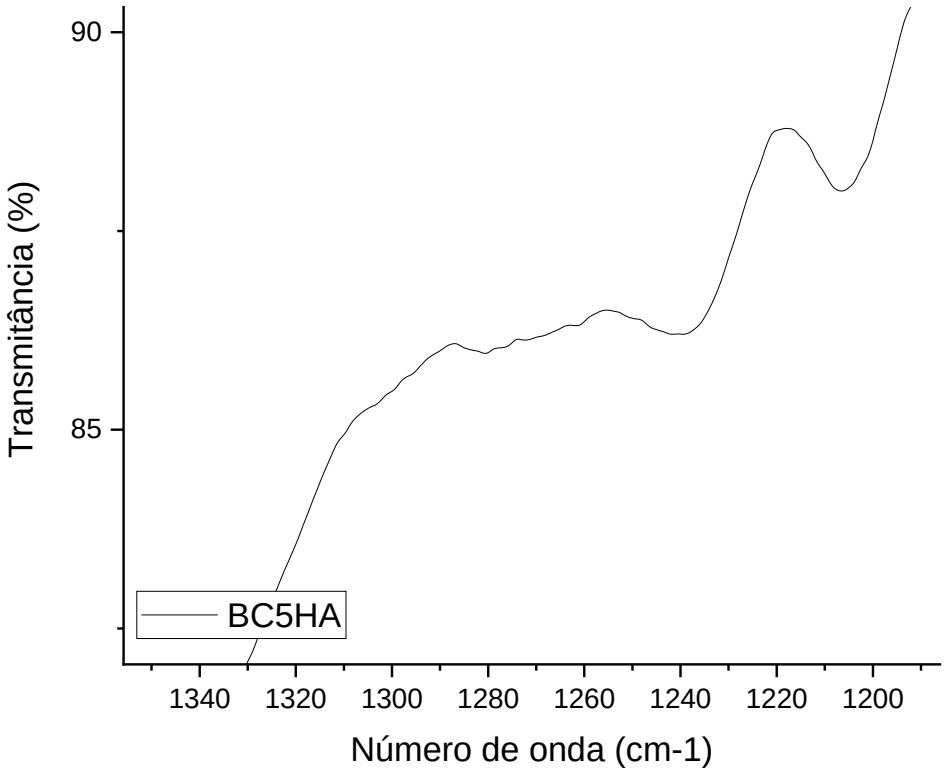

Transmitância (%)
85
84
83
82
81
80
BC1HA
1320
1300
1280
1260
1240
1220
1200
Número de onda (cm-1)

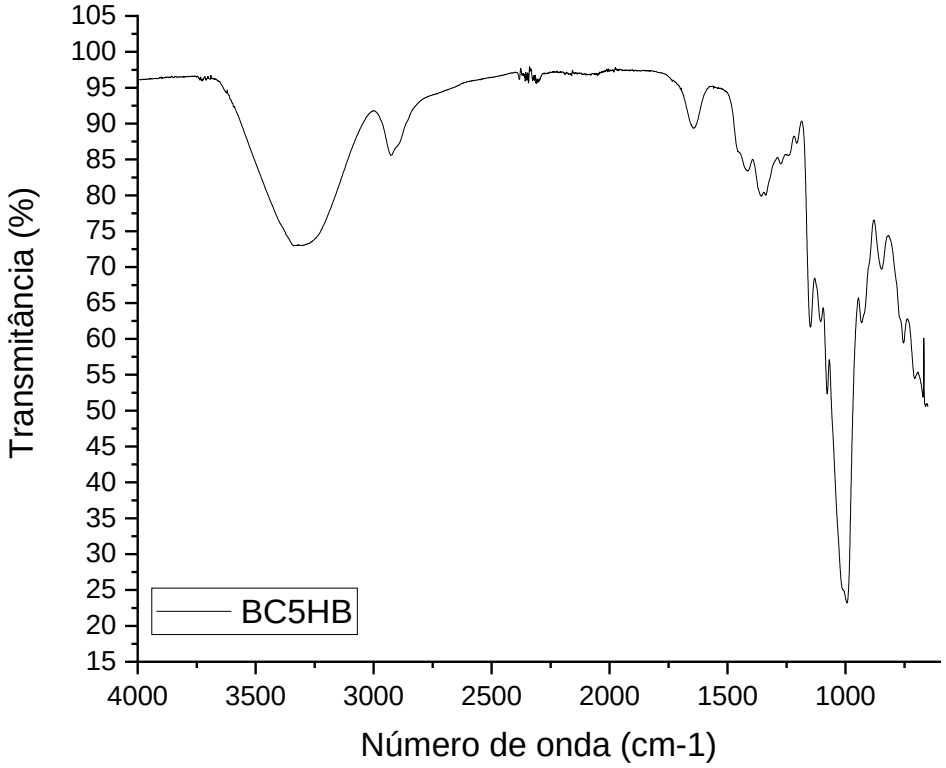

Transmitância (%)
100
95
90
85
80
75
70
65
BC1HB
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

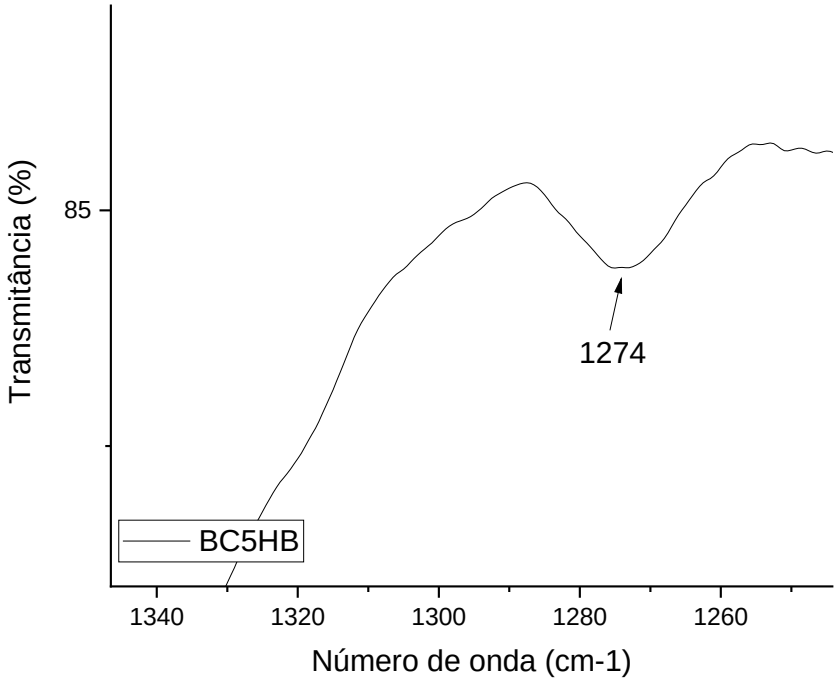

Transmitância (%)
95,0
94,5
94,0
93,5
93,0
92,5
BC1HB
1300
1250
1200
Número de onda (cm-1)

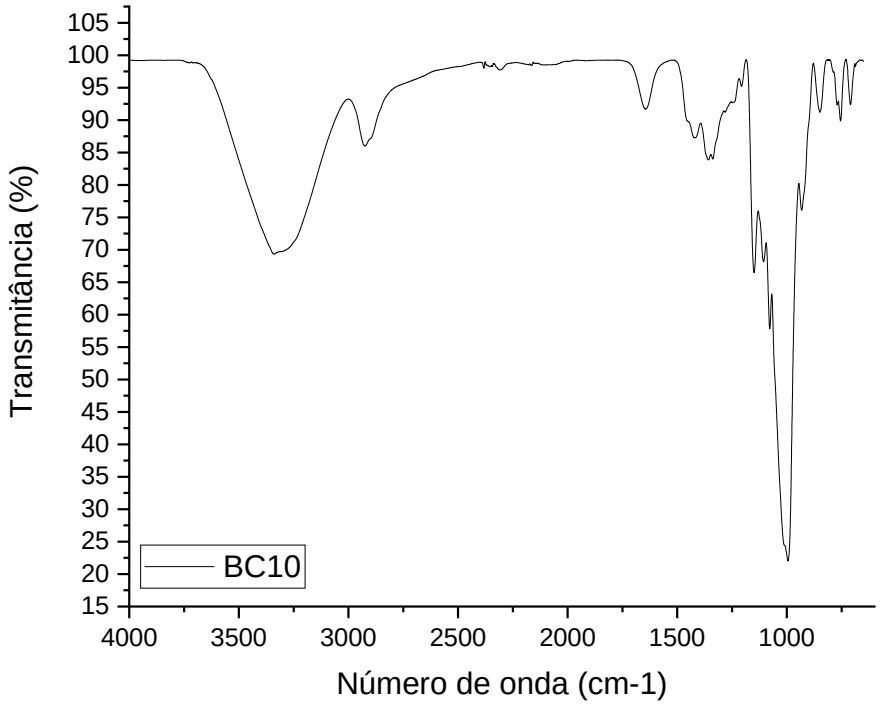

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
BC5
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

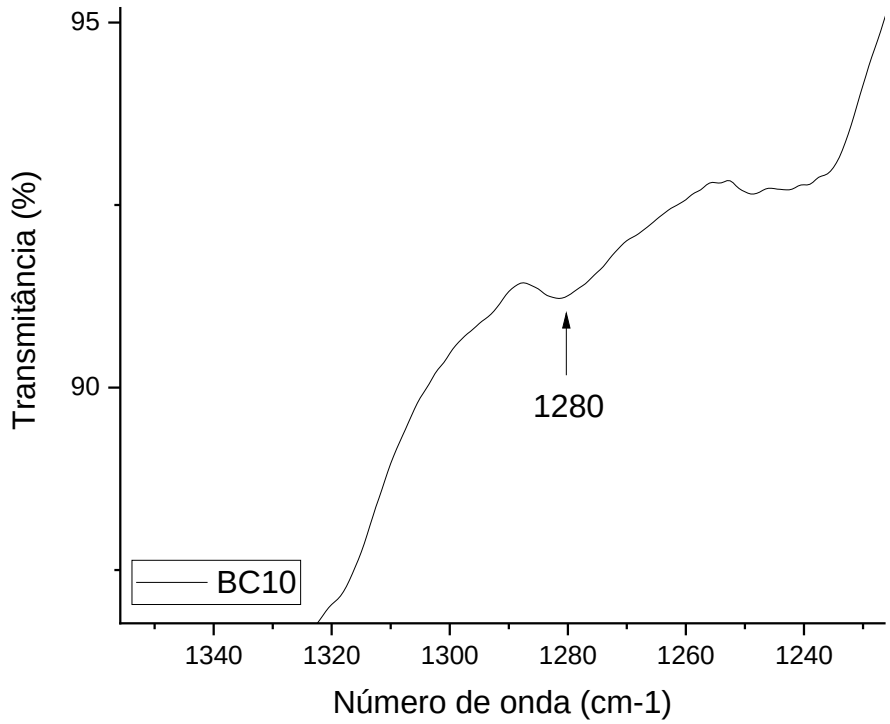

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
BC5HA
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

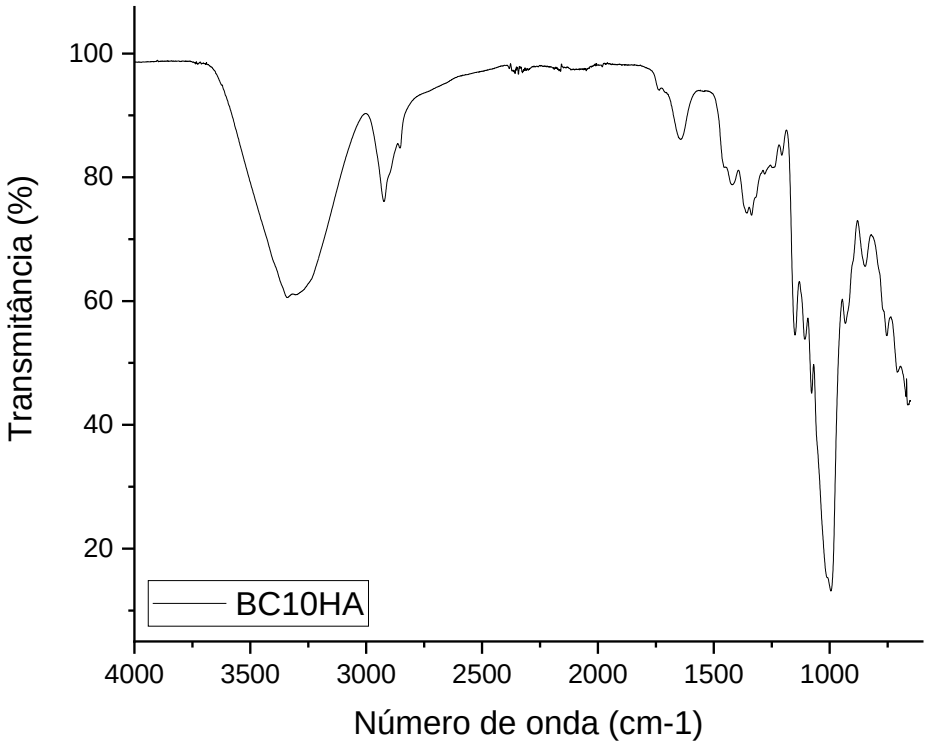

Transmitância (%)
90
85
BC5HA
1340
1320
1300
1280
1260
1240
1220
1200
Número de onda (cm-1)

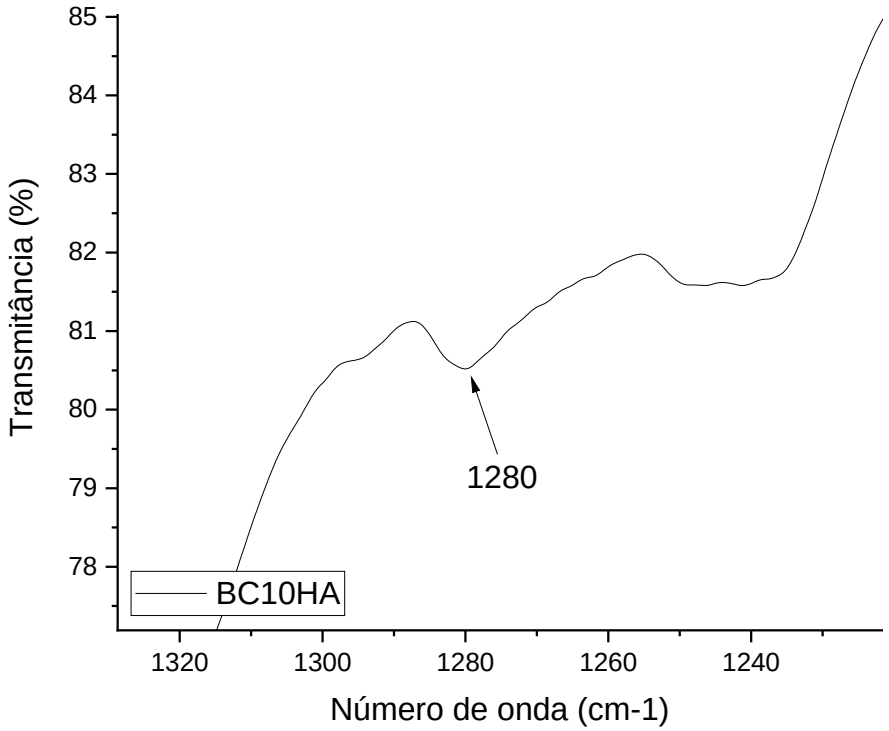

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
BC5HB
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

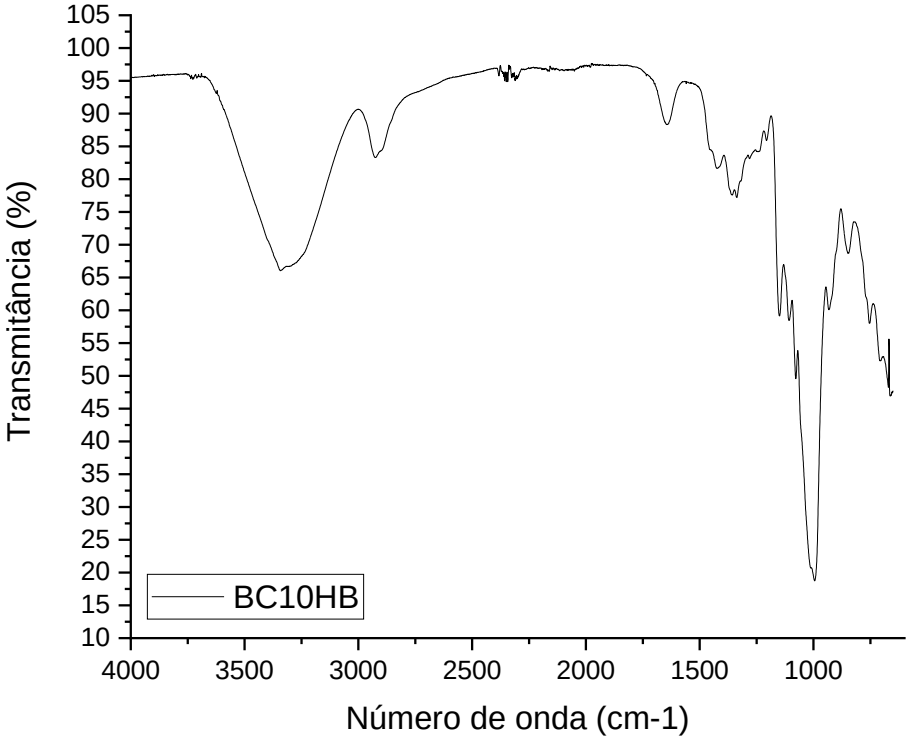

Transmitância (%)
85
1274
BC5HB
1340
1320
1300
1280
1260
Número de onda (cm-1)

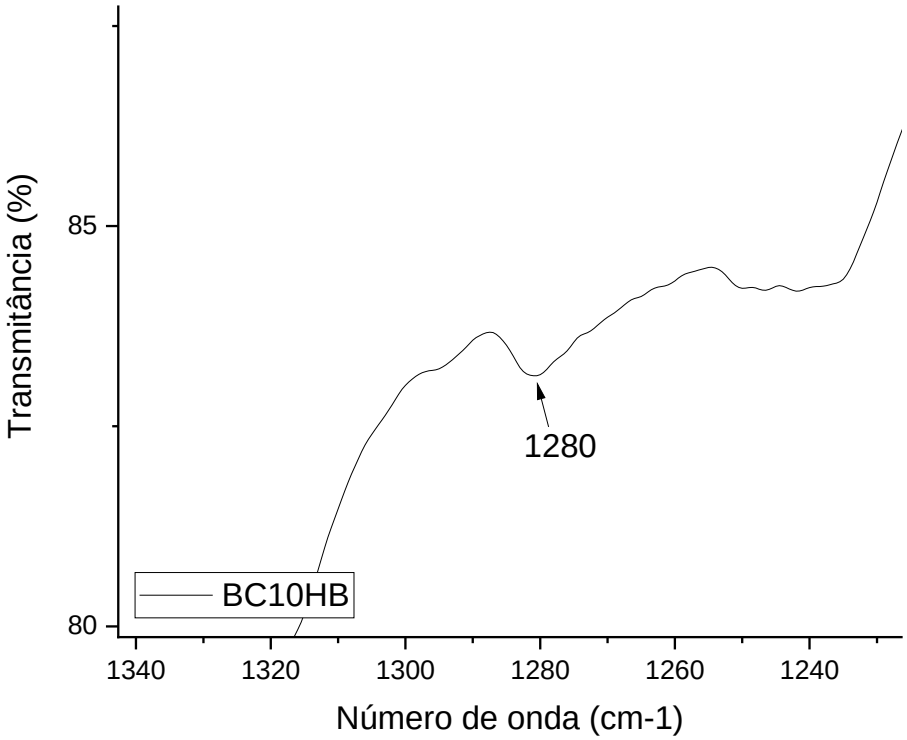

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
BC10
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

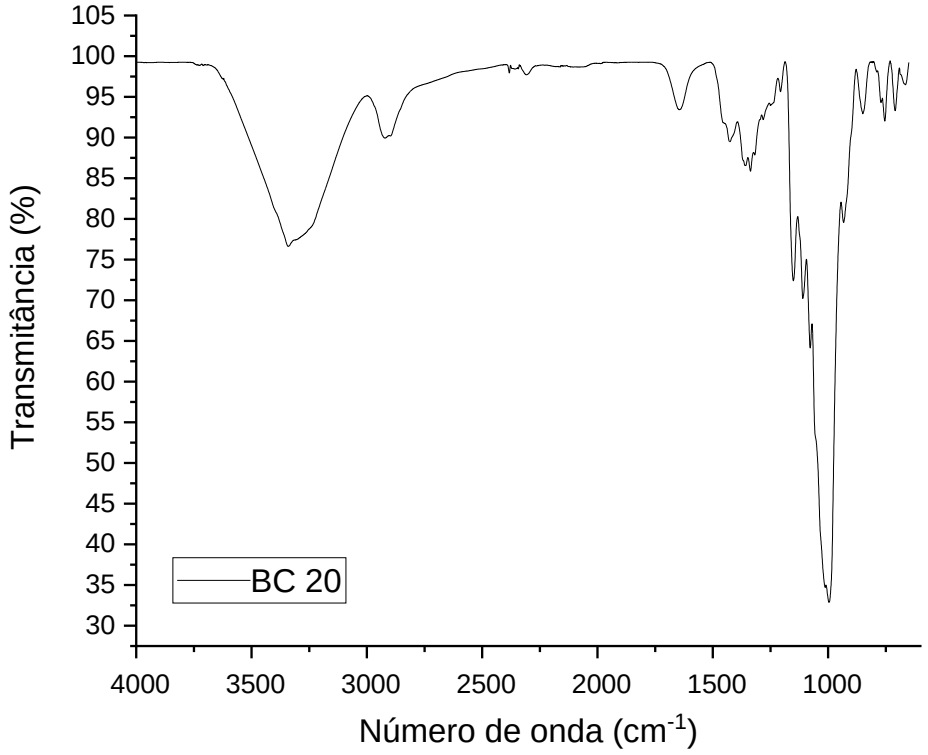

Transmitância (%)
95
90
1280
BC10
1340
1320
1300
1280
1260
1240
Número de onda (cm-1)

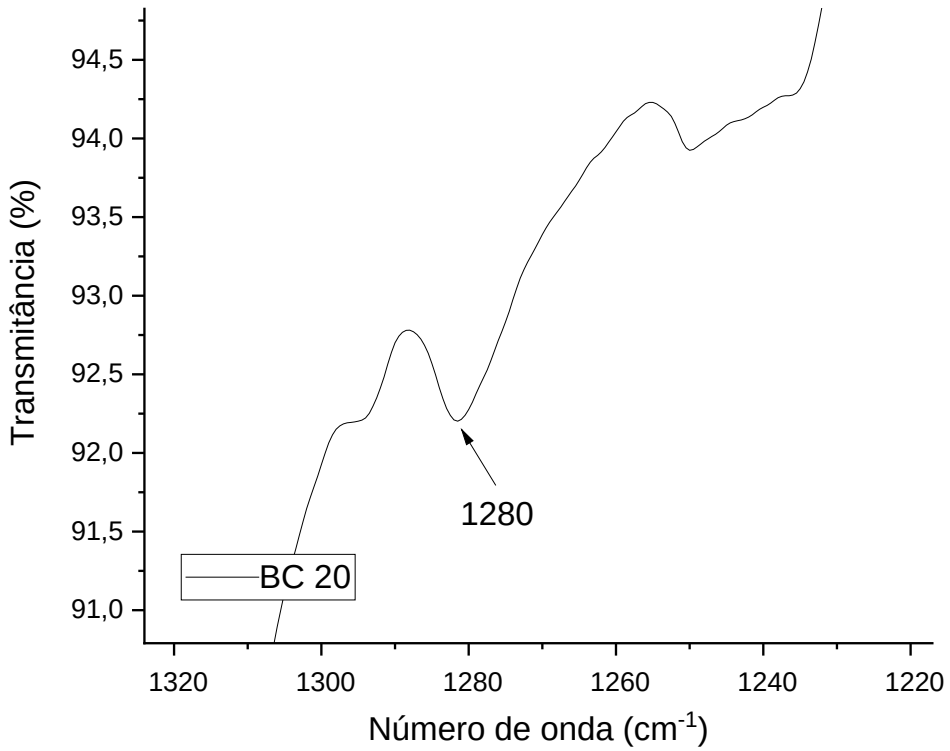

100
80
60
40
20
Transmitância (%)
BC10HA
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

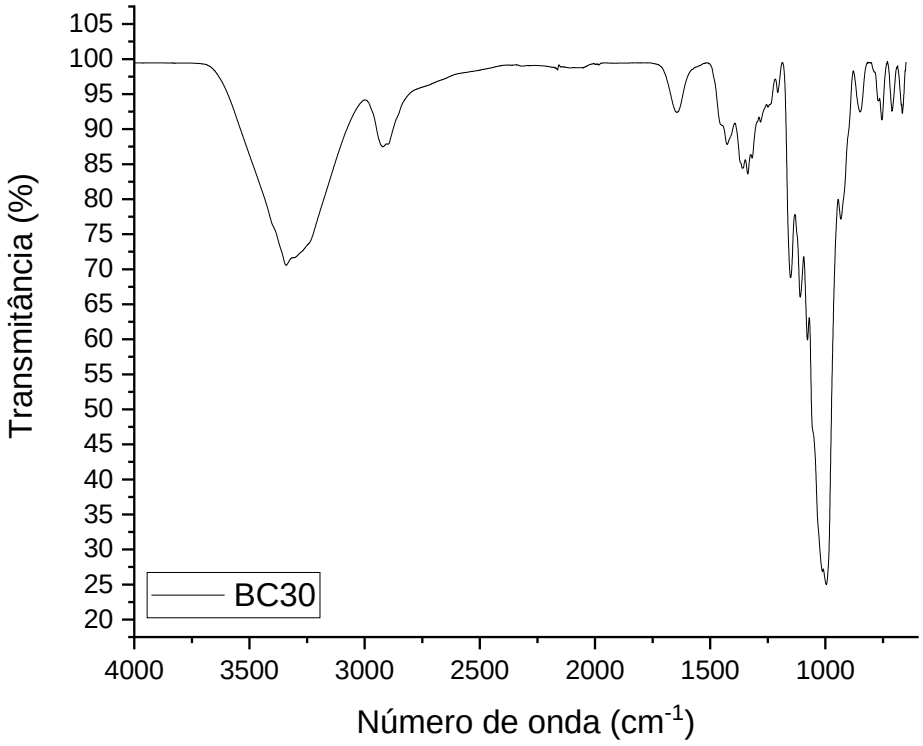

85
84
83
82
81
80
79
78
Transmitância (%)
1280
BC10HA
1320
1300
1280
1260
1240
Número de onda (cm-1)

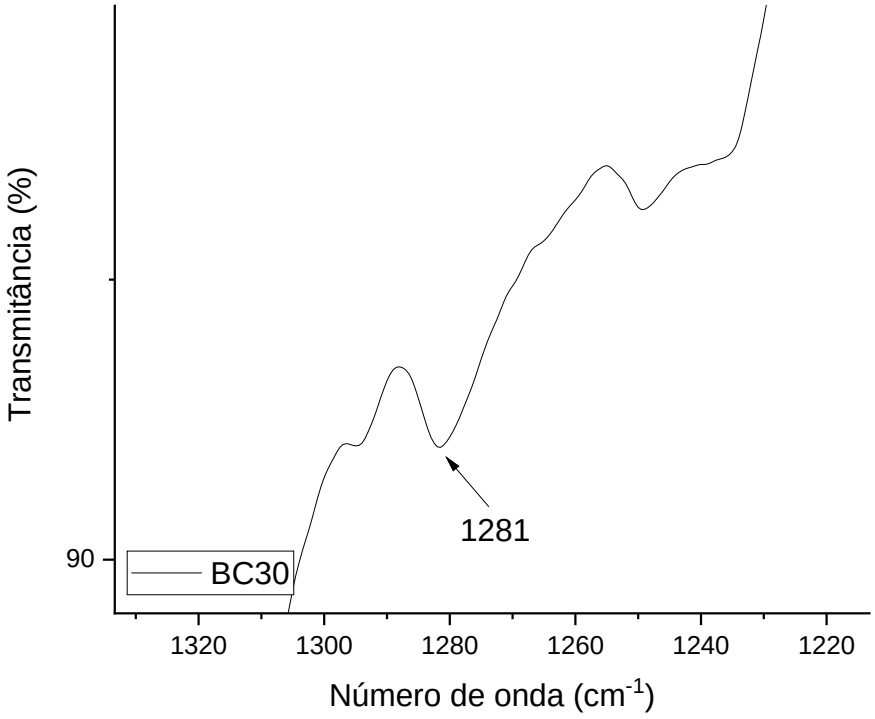

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
BC10HB
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

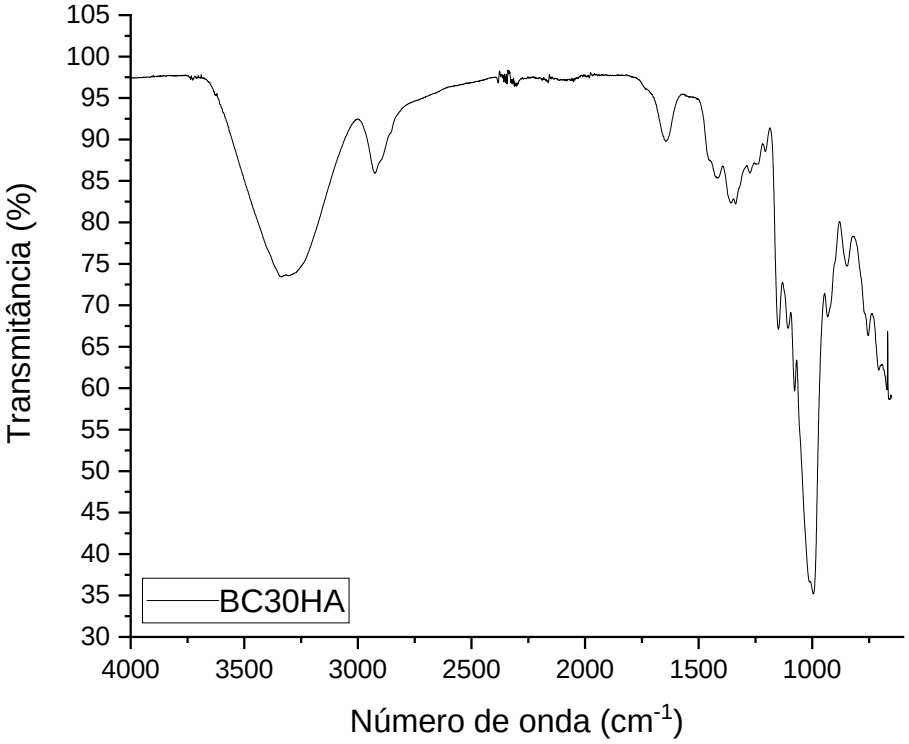

Transmitância (%)
85
80
1280
BC10HB
1340
1320
1300
1280
1260
1240
Número de onda (cm-1)

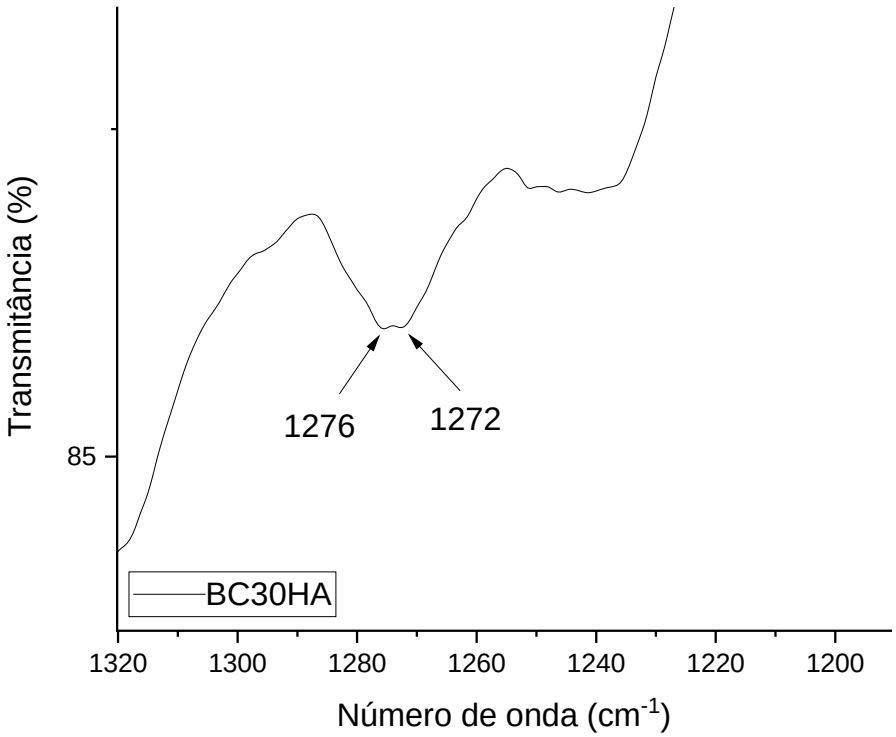

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
BC 20
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

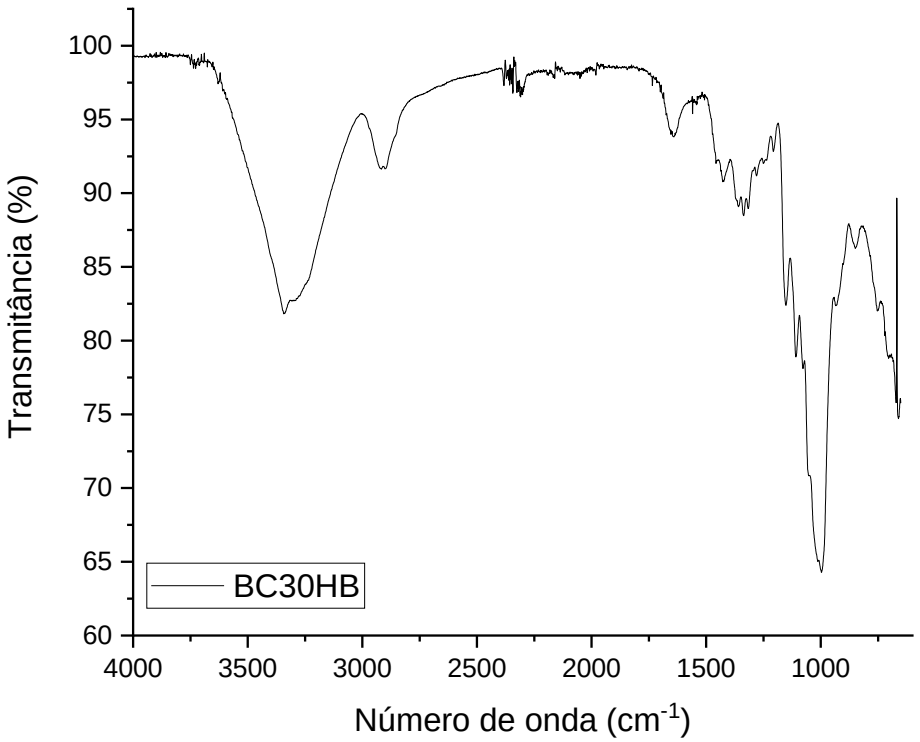

Transmitância (%)
94,5
94,0
93,5
93,0
92,5
92,0
91,5
91,0
1280
BC 20
1320
1300
1280
1260
1240
1220
Número de onda (cm-1)

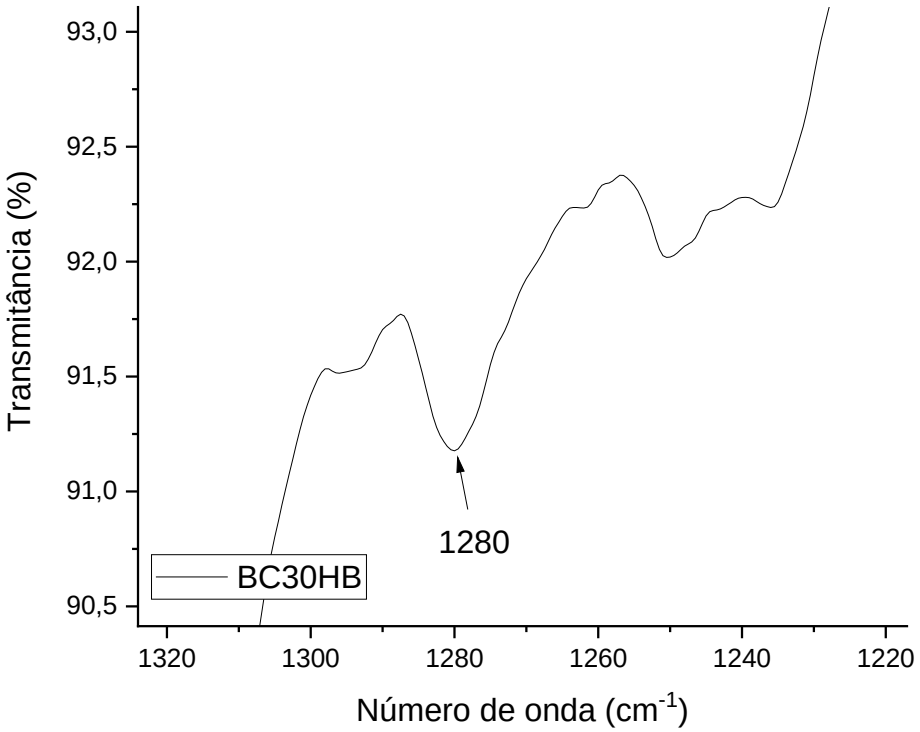

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
BC30
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

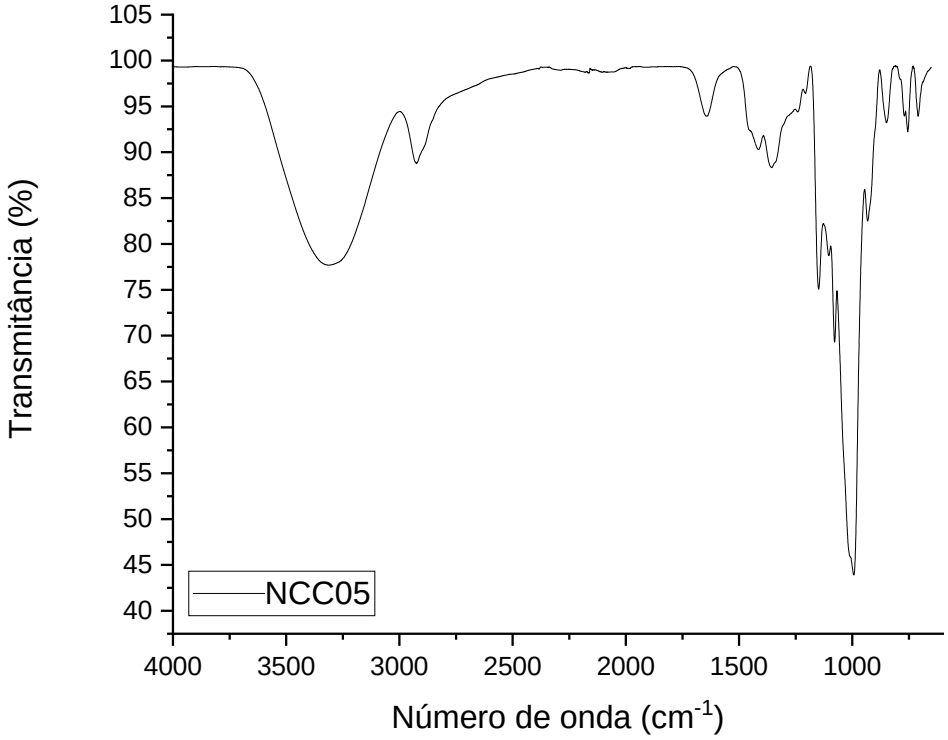

Transmitância (%)
90
BC30
1281
1320
1300
1280
1260
1240
1220
Número de onda (cm-1)

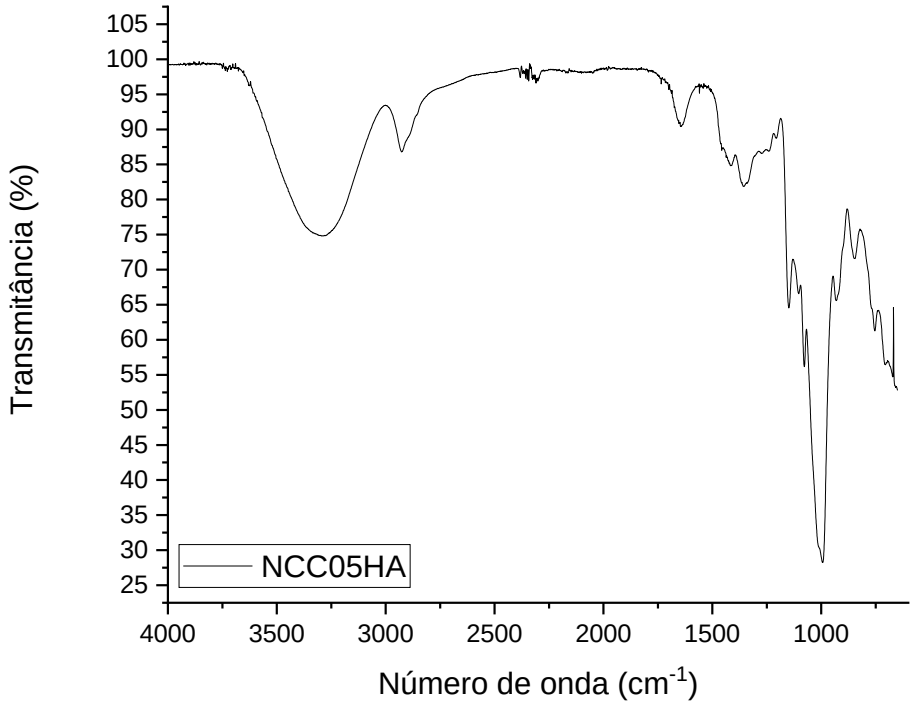

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
BC30HA
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

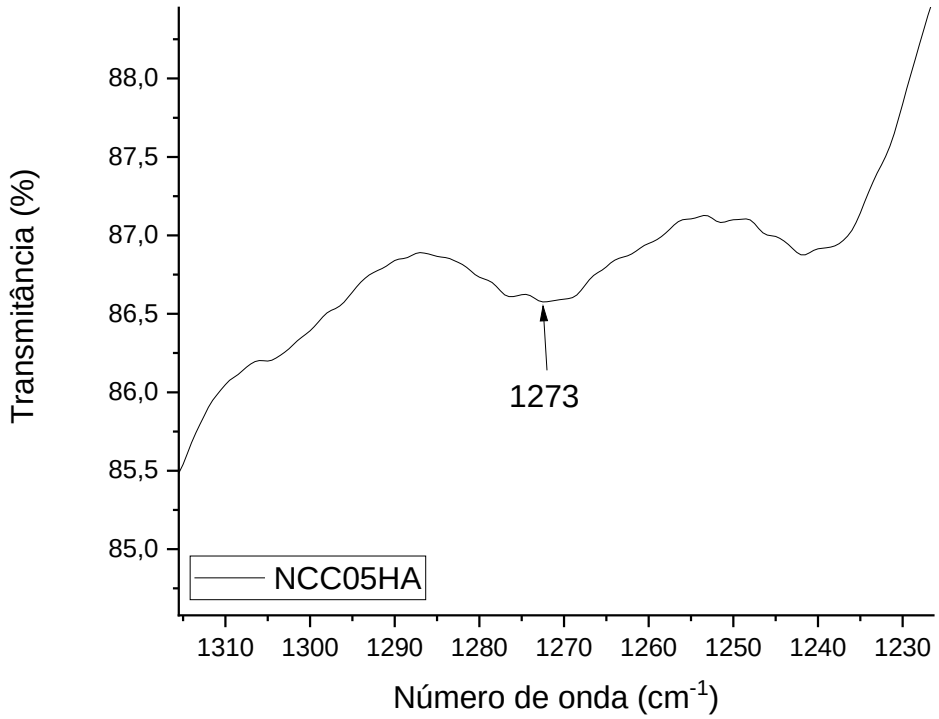

Transmitância (%)
85
1276
1272
BC30HA
1320
1300
1280
1260
1240
1220
1200
Número de onda (cm-1)

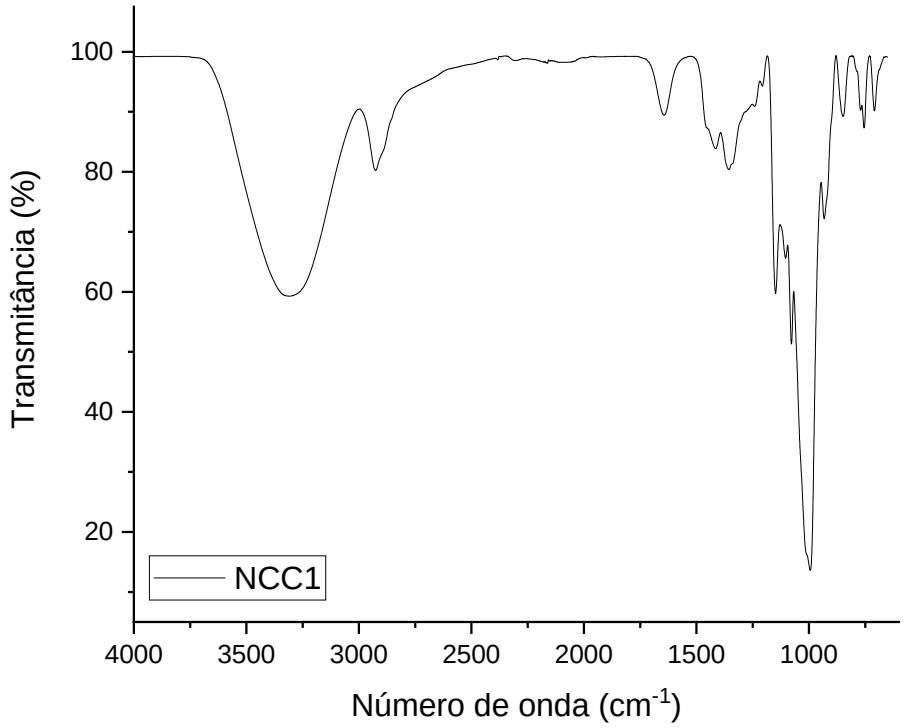

Transmitância (%)
100
95
90
85
80
75
70
65
60
BC30HB
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

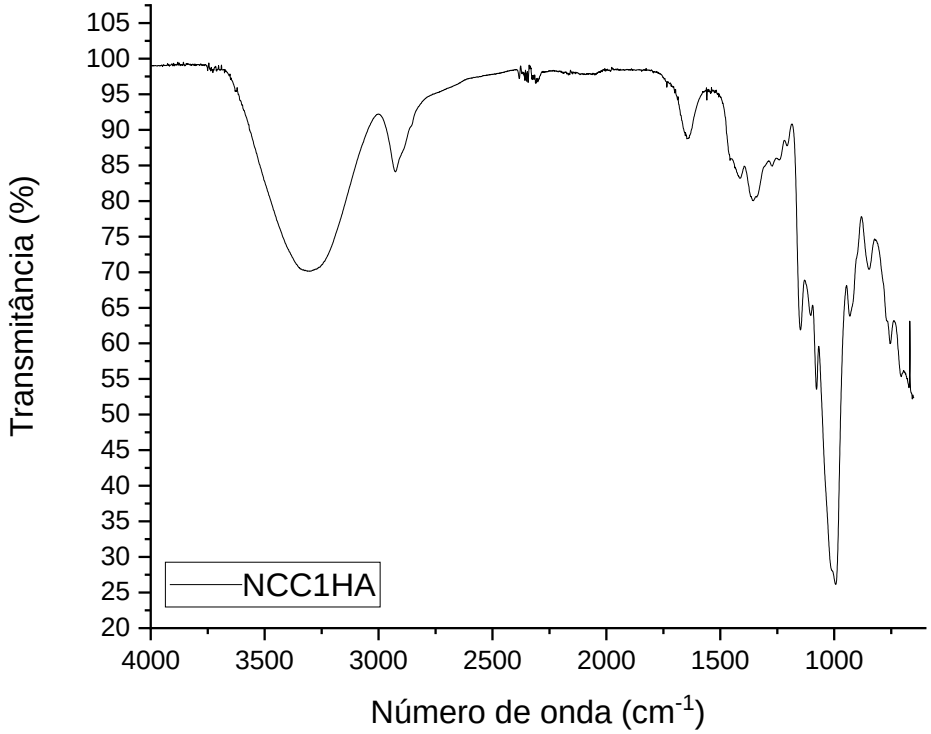

Transmitância (%)
93,0
92,5
92,0
91,5
91,0
90,5
1280
BC30HB
1320
1300
1280
1260
1240
1220
Número de onda (cm-1)

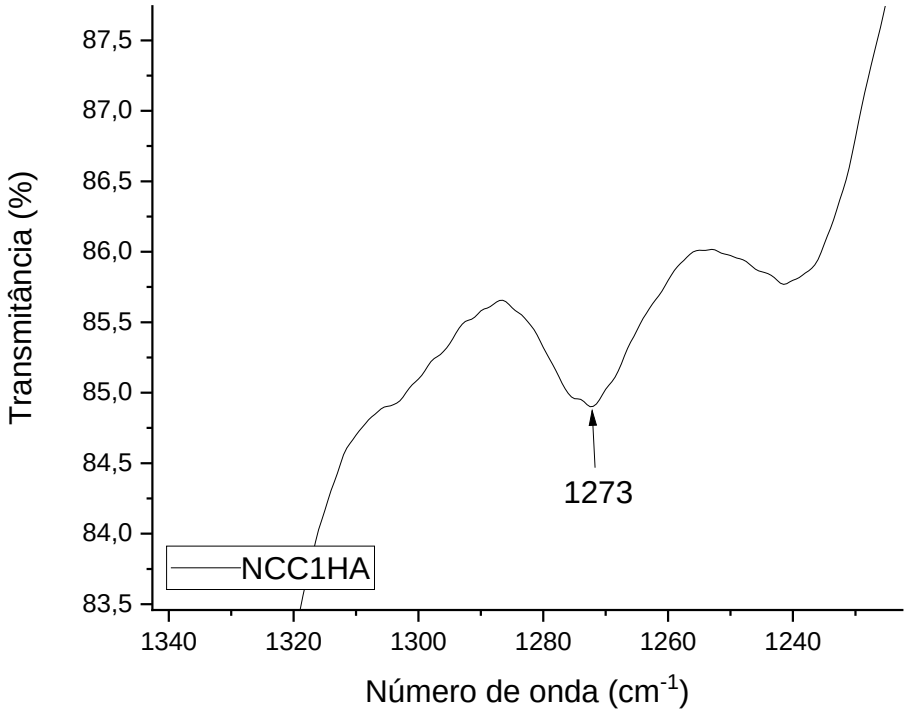

Transmitância (%)
Número de onda (cm-1)
NCC05
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000

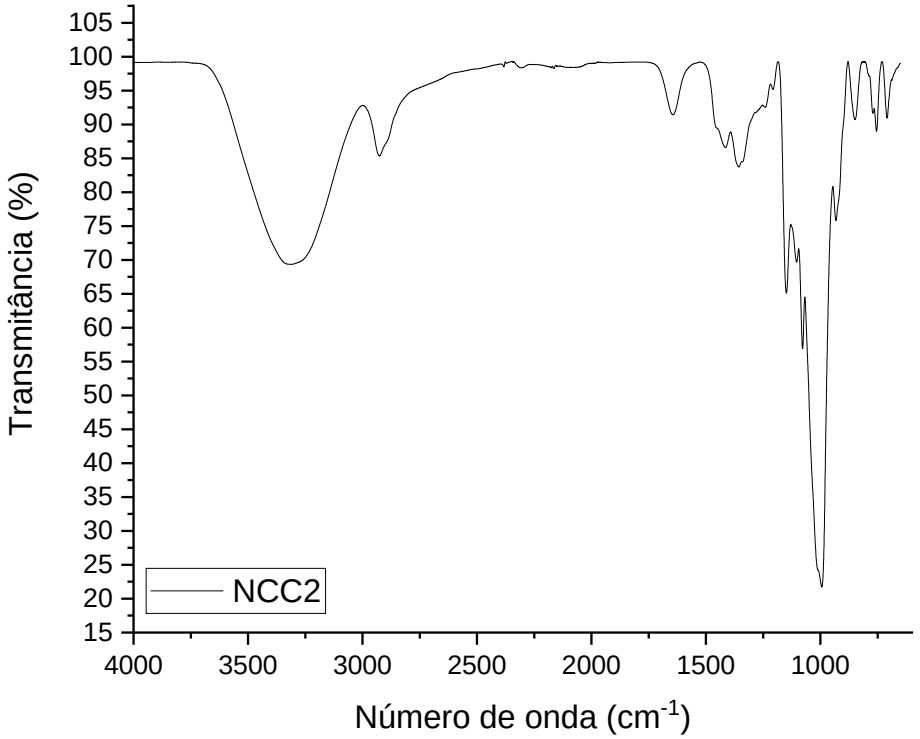

Transmitância (%)
Número de onda (cm-1)
NCC05HA
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000

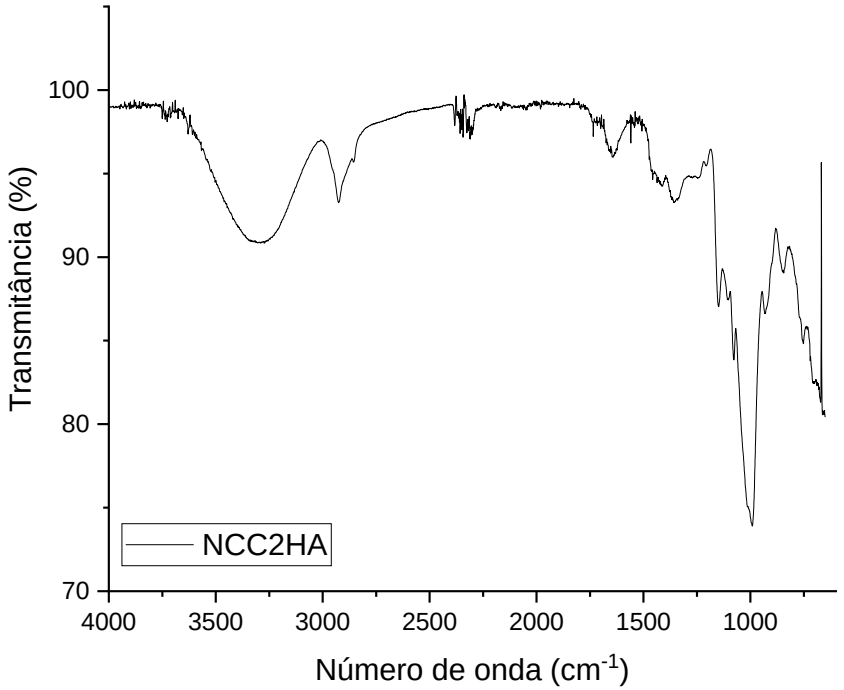

Transmitância (%)
88,0
87,5
87,0
86,5
86,0
85,5
85,0
1273
NCC05HA
1310
1300
1290
1280
1270
1260
1250
1240
1230
Número de onda (cm-1)

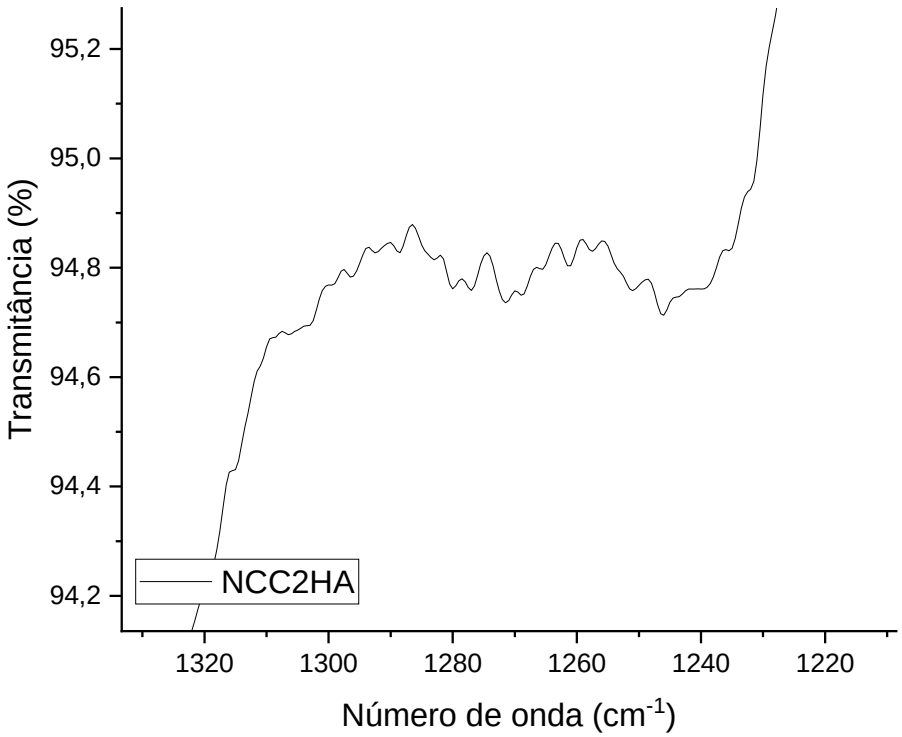

Transmitância (%)
100
80
60
40
20
NCC1
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)

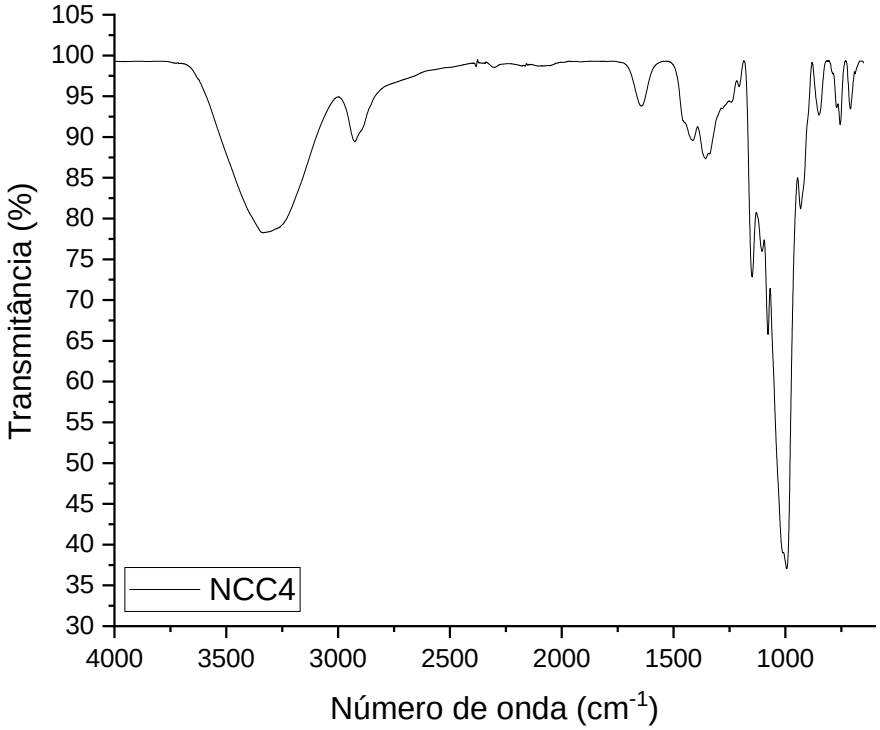

Transmitância (%)
Número de onda (cm-1)
NCC1HA
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000

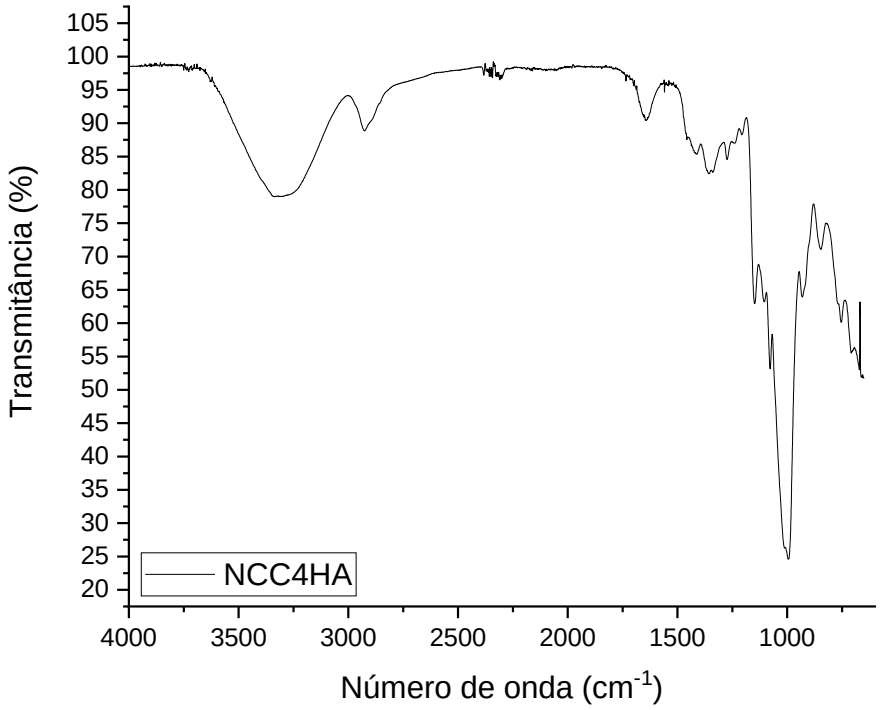

Transmitância (%)
Número de onda (cm-1)
NCC1HA
1273
87,5
87,0
86,5
86,0
85,5
85,0
84,5
84,0
83,5
1340
1320
1300
1280
1260
1240

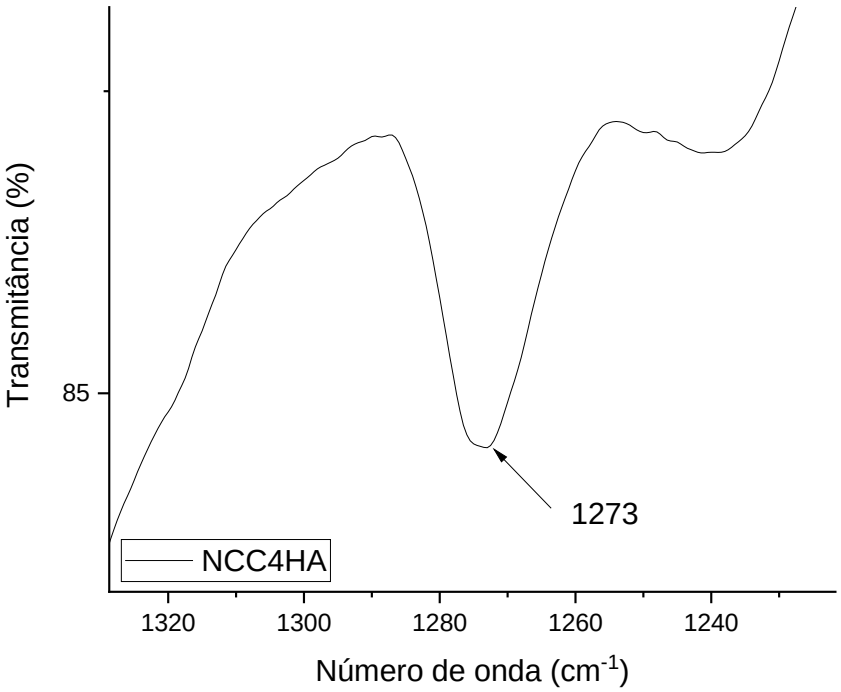

Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
NCC2
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)


Transmitância (%)
100
90
80
70
NCC2HA
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)


95,2
95,0
94,8
94,6
94,4
94,2
Transmitância (%)
NCC2HA
1320
1300
1280
1260
1240
1220
Número de onda (cm-1)


105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
Transmitância (%)
NCC4
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)


Transmitância (%)
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
NCC4HA
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Número de onda (cm-1)


Transmitância (%)
85
1273
NCC4HA
1320
1300
1280
1260
1240
Número de onda (cm-1)

APÊNDICE C – Quadro contendo informações qualitativas de análises de ângulo de contato

O Quadro a seguir apresenta, de forma qualitativa, as análises de ângulo de contato realizadas com os compósitos submetidos à reação com TCMS. Os resultados são comparados com os provenientes das análises dos compósitos não hidrofobizados.

AMOSTRA	FACE	ANÁLISE DE ÂNGULO DE CONTATO?
PUL100H	R	SIM. MESMO ÂNGULO DE CONTATO.
	L	NÃO.
NCC05H	R	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
	L	NÃO.
NCC1H	R	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
	L	SIM. MESMO RESULTADO
NCC2H	R	SIM. MESMO RESULTADO
	L	NÃO.
NCC4H	R	**SIM. ÂNGULO DE CONTATO SUPERIOR.**
	L	**SIM. ÂNGULO DE CONTATO SUPERIOR.**
BC1HA	R	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
	L	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
BC1HB	R	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
	L	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
BC5HA	R	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
	L	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
BC5HB	R	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
	L	NÃO. PERDA ESTRUTURAL APÓS EXTRAÇÃO EM SOXHLET.
BC10HA	R	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
	L	SIM. MESMO RESULTADO.
BC10HB	R	SIM. MESMO RESULTADO.
	L	NÃO.
BC20HA	R	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
	L	NÃO.
BC20HB	R	**SIM. ÂNGULO DE CONTATO SUPERIOR.**
	L	SIM. MESMO RESULTADO.
BC30HA	R	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
	L	SIM. MESMO RESULTADO
BC30HB	R	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
	L	SIM. ÂNGULO DE CONTATO INFERIOR.
BC20HB estufa	R	**SIM. ÂNGULO DE CONTATO SUPERIOR.**
	L	**SIM. ÂNGULO DE CONTATO SUPERIOR.**