



Produção de Nanocelulose Bacteriana em camadas com óxido de cobalto para uso em processos oxidativos avançados.

Production of Bacterial Nanocellulose layered with cobalt oxide for use in advanced oxidative processes.

Felipe Padilha¹, João Pedro Maximino Gongora Godoi², Anabel Alexandra Rodriguez Andachi³, Guilherme Garcia Bessegato⁴, Samara Silva de Souza⁵.

RESUMO

A nanocelulose bacteriana (NCB) é um polímero natural com propriedades estruturais, físicas e químicas únicas e interessantes. Ela é produzida por meio da fermentação acética de bactérias do gênero *Komagataeibacter* e, embora exiba excelentes características físico-químicas, carece de propriedades magnéticas. Neste estudo, exploramos a utilização da NCB como suporte para a incorporação de óxido de cobalto, com o propósito de atuar como catalisador em processos oxidativos avançados para a remoção de contaminantes emergentes. Os testes de degradação de corante não produziram os resultados esperados. No entanto, observou-se que o óxido de cobalto não inibiu o crescimento bacteriano, permitindo a formação da NCB durante o cultivo. Isso sugere que a NCB pode ser utilizada como plataforma para a incorporação de outros materiais, embora desafios técnicos precisem ser superados para melhorar sua eficácia em processos de degradação. Embora o estudo tenha enfrentado desafios, ele oferece perspectivas interessantes para futuras pesquisas na busca de soluções eficazes para a remoção de contaminantes ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: Degradação, Nanocelulose Bacteriana, óxido de cobalto, processos oxidativos

ABSTRACT

Bacterial nanocellulose (NCB) is a natural polymer with unique and interesting structural, physical and chemical properties. It is produced through the acetic fermentation of bacteria of the genus *Komagataeibacter* and, although it exhibits excellent physicochemical characteristics, it lacks magnetic properties. In this study, we explored the use of NCB as a support for the incorporation of cobalt oxide, with the purpose of acting as a catalyst in advanced oxidative processes to remove emerging contaminants. Dye degradation tests did not produce the expected results. However, it was observed that cobalt oxide did not inhibit bacterial growth, allowing the formation of NCB during cultivation. This suggests that NCB can be used as a platform for the incorporation of other materials, although technical challenges need to be overcome to improve its effectiveness in degradation processes. Although the study faced challenges, it offers interesting perspectives for future research in finding effective solutions for removing environmental contaminants.

KEYWORDS: Degradation, Bacterial Nanocellulose, cobalt oxide, oxidative processes

INTRODUÇÃO

A nanocelulose bacteriana (NCB) é um nanomaterial natural e renovável, produzido a partir do cultivo de bactérias gram-negativas, por exemplo, *Komagataeibacter xylinus*

¹ Bolsista-voluntário. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: felipepadilha@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2649048159353162.

² Aluno do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: jgodoi@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2673457512873969

³ Aluna do mestrado - PPGBIOTEC. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: anabel546@gmail.com. ID Lattes: 3976298954173481

⁴ Docente no Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: bessegato@utfpr.edu.br. ID Lattes: 0445180587973481

⁵ Docente no Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: samarasouza@utfpr.edu.br. ID Lattes: 6497095708045068.



(CHANTHIWONG, 2020). Oriunda da fermentação acética, (descrita inicialmente em 1886 por Brown) resulta em uma película criada na interface líquido/ar, com características semelhantes a uma celulose vegetal (HESTRIN & SCHRAMM, 1954). Tem recebido grande interesse devido às suas características estruturais únicas e propriedades favoráveis, por exemplo, alta resistência mecânica, alta porosidade, capacidade de retenção de água, chegando a ter aproximadamente 98% de sua composição de água, moldabilidade, biodegradabilidade, abundância de Grupos OH na estrutura, permitindo modificações e excelente afinidade biológica (SRIPLAI; PINITSOONTORN, 2021). Para a produção da NCB o meio de cultivo tradicional e que demonstra um alto rendimento é o Hestrin & Scharamm (HS) (HESTRIN & SCHRAMM, 1954).

Muitos estudos abordam o desenvolvimento de nanomateriais a base de NCB (CHANTHIWONG, 2020; FISCHER, 2018; FORESTI; VÁZQUEZ; BOURY, 2017; SRIPLAI; PINITSOONTORN, 2021). Embora as propriedades do NCB sejam interessantes, a NCB pura possui certas restrições, relacionadas à sua produção, como alto custo de produção, além da falta de certas características, como magnéticas, condutoras, antioxidantes e antimicrobianas. Isso acaba limitando suas aplicações em vários campos (SRIPLAI; PINITSOONTORN, 2021). O desenvolvimento de nanocompósitos de NCB é um tópico atraente, ao misturar múltiplos constituintes ou explorar efeitos sinérgicos, podem ser criados materiais com propriedades eletrônicas, magnéticas, ópticas, catalíticas e bioatividades novas ou melhoradas (FORESTI; VÁZQUEZ; BOURY, 2017).

Diante disso, a NCB é um excelente material de suporte para produção de nanocompósitos. Uma abordagem possível é seu uso para incorporação de nanopartículas de óxidos metálicos que podem atuar como catalisadores de geração de espécies químicas reativas para degradação de contaminantes emergentes. A síntese de um material compósito baseado em NCB/óxido de cobalto poderia servir como um material para ativação de persulfatos em processos oxidativos avançados.

Assim, o presente trabalho visa avaliar metodologias de preparação de NCB como suporte para a incorporação de óxido de cobalto, com a finalidade de aplicá-la em processos oxidativos avançados para tratamento de contaminantes emergentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

MEIO DE CULTURA E CEPA

A produção de NCB foi realizada através do meio de cultura HS, composto por 20,00 g/L de glicose, 5,00 g/L de peptona, 5,00 g/L de extrato de levedura, 2,70 g/L de fosfato dissódico e 1,15 g/L de ácido cítrico. Para efetuar o ajuste de pH em 6,00 foi utilizado hidróxido de sódio (NaOH) ou ácido clorídrico (HCl). Por fim, o meio de cultura foi esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos. A cepa de *Komagataeibacter xylinus* (ATCC® 53524™) foi utilizada, a qual encontra-se preservada em glicerol (20%) a -80°C. A preparação dos inóculos foi realizada na proporção 10% (v/v) com meio HS e com os



pré-inóculos que se encontram incubados em B.O.D. Na produção de NCB, utilizou-se a técnica de modificação *in situ*, estático e em placas de 24 poços.

PRODUÇÃO DE MEMBRANAS DE NCB/ÓXIDO

Para produzir a NCB em camadas, testou-se a técnica de “sanduiche”, na qual a produção da NCB ocorre em intervalos pré-estabelecidos, com a síntese de camadas de NCB. Dessa maneira é possível formar camadas densas e porosas aos longo da estrutura. No primeiro dia do processo aplicou-se 1 mL em cada poço da placa de 24 poços, contendo 100 µL de pré-inóculo e 900 µL de meio (v/v), em seguida foi levado para a B.O.D por 3 dias a 28°C. Após esse primeiro período, foi adicionado mais uma camada em cada poço, onde continha 10 µL de uma suspensão etanólica 5 g/L de óxido de cobalto, 50 µL de pré-inóculo e 440 µL de meio, totalizando assim 500 µL, em seguida foi levado para a B.O.D a 28°C por mais 3 dias. Na última camada, foi adicionado mais 500 µL de pré-inóculo e meio HS e então levado a B.O.D por mais 3 dias.

Após este período, as membranas serão removidas do meio de cultivo e serão purificadas com solução de hidróxido de sódio (0,1M) em estufa a 50°C durante 24 h. Em seguida, serão realizadas lavagens com água destilada até o pH atingir a neutralidade, e esterilização em autoclave a 121°C por 20 min.

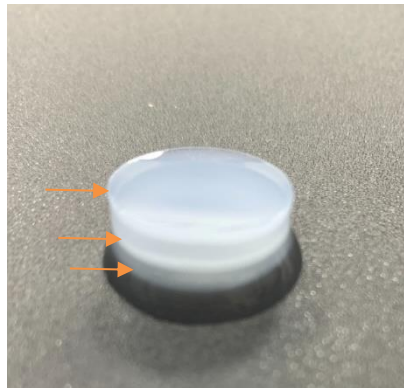
TESTES PRELIMINARES COM NCB/ÓXIDO PARA DEGRADAÇÃO DE CORANTE

Após a síntese, a membrana nanocompósita foi colocada em um béquer de 50 mL contendo 25 mL do corante azul de metileno a uma concentração de 16,6 mg/L e 0,1 mL de uma solução estoque de peroximonosulfato (PMS), um agente precursor de espécies oxidantes, para resultar em uma concentração próxima a 0,7 mM de PMS. Foram coletadas alíquotas em tempos determinados, no intervalo de 30 minutos, para a quantificação em espectrofotometria UV/Vis e constatação da ocorrência ou não de degradação do corante da amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A técnica em camadas se mostrou capaz de sintetizar a NCB em “sanduíche”, sendo possível visualizar a estrutura porosa e densa entre as camadas. Cada novo biofilme formado na interface ar/líquido tem uma estrutura densa em contato com o ar e porosa em contato com o meio líquido. A Figura 1 mostra uma imagem da NCB pura produzida e purificada em camadas após o período total de incubação.

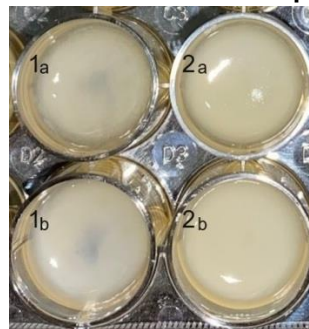
Figura 1 – Membrana de NCB pura de 3 camadas



Fonte: Autoria própria

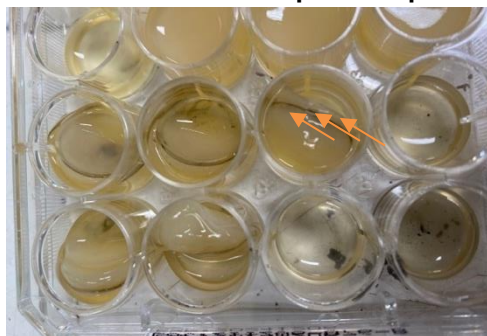
Pelo método *in situ*, no qual o óxido de cobalto foi incorporado na segunda camada, foi possível verificar que o óxido não foi citotóxico para a bactéria, pois não impediu a formação da membrana (Figura 2). Muitos estudos que tratam da incorporação da NCB com óxidos metálicos utilizando a técnica *ex situ* (pós purificação das membranas) (CHANTHIWONG, 2020). Contudo, ao final da produção as membranas com óxido de cobalto não conseguiram manter uma estrutura rígida e firme, o que levou a uma separação entre as camadas (Figura 3).

Figura 2 – Nanocompósito de NCB/óxido de cobalto (coluna 1) e NCB pura (coluna 2) durante a síntese em camadas em duplicata



Fonte: Autoria própria

Figura 3 – Nanocompósitos de NCB/óxido de cobalto após o cultivo de três camadas, onde a camada do meio apresenta oxido tratado apontado pela flecha central



Fonte: Autoria própria



Os testes de degradação com peroximonosulfato (PMS) mostrou que não houve uma degradação efetiva do corante. Uma hipótese é que o processo de purificação após a produção das camadas não permitiu que os óxidos de cobalto se mantivessem penetrados na nanoestrutura da NCB. O fator mais vantajoso na utilização do processo de síntese *in situ* é que a forma e a estrutura originais da NCB permanecem praticamente inalteradas. Além disso, uma grande variedade de materiais pode ser incorporada a NCB, desde que que possam ser dissolvidos na forma aquosa iônica e penetrar na estrutura de rede da NCB.

Para trabalhos futuros se propõe uma modificação da NCB pela oxidação mediada pelo radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO). Segundo estudos ele funcionaliza com grupos carboxílico e a troca iônica com H⁺ do ácido deve facilitar a ancoragem com cátions (FORESTI; VÁZQUEZ; BOURY, 2017).

CONCLUSÕES

A técnica de síntese em camadas de NCB se mostrou uma excelente estratégia para ancoragem de outros materiais e no desenvolvimento de nanocompósitos. Foi possível realizar todas as etapas de propagação, repique, preparo do meio de cultura, produção de membranas, funcionalização e testes iniciais. Embora o nanocompósito baseado em NCB/óxido de cobalto não se mostrou capaz para ativação de persulfatos para remoção do contaminante, espera-se que novas estratégias possam ser adotadas para alcançar o objetivo proposto.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a UTFPR Campus Dois Vizinhos pela oportunidade de realização da pesquisa. Aos meus orientadores Prof^a. Dr^a. Samara Silva de Souza e ao Prof^o. Dr^o. Guilherme Garcia Bessegato e ao Grupo de pesquisa NanoBioCell, onde trocamos experiências e conhecimento, e aos demais amigos e colegas que fizeram parte desse ciclo. E por fim, agradeço aos meus pais e irmãos, pelo incentivo, compreensão e carinho.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

ANDRADE NETO, N. F. et al. Characterization and photocatalytic application of Ce⁴⁺, Co²⁺, Mn²⁺ and Ni²⁺ doped Fe₃O₄ magnetic nanoparticles obtained by the co-precipitation method. *Materials Chemistry and Physics*, v. 242, p. 122489, 2020. DOI: [10.1016/j.matchemphys.2019.122489](https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122489).



ARIAS, S. L. et al. Fabrication of a Functionalized Magnetic Bacterial Nanocellulose with Iron Oxide Nanoparticles. *Journal of Visualized Experiments*, n. 111, 2016.

DOI: [10.3791/52951](https://doi.org/10.3791/52951).

BROWN, Adrian J. An Acetic Ferment which Forms Cellulose. *Scientific American*, v. 21, n. 545supp, p. 8701-8702, 12. 1886. DOI: [10.1038/scientificamerican06121886-8701esupp](https://doi.org/10.1038/scientificamerican06121886-8701esupp).

CHANTHIWONG, M. et al. Controlling the processing of co-precipitated magnetic bacterial cellulose/iron oxide nanocomposites. *Materials & Design*, v. 196, p. 109148, 2020.

DOI: [10.1016/j.matdes.2020.109148](https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109148).

DE SOUZA, S. S. et al. Nanocellulose biosynthesis by *Komagataeibacter hansenii* in a defined minimal culture medium. *Cellulose*, v. 26, n. 3, p. 1641-1655, 2018. DOI:

[10.1007/s10570-018-2178-4](https://doi.org/10.1007/s10570-018-2178-4).

FISCHER, M. R. et al. Biossíntese e caracterização de nanocelulose bacteriana para engenharia de tecidos. *Matéria (Rio de Janeiro)*, v. 22, suppl 1, 2018.

DOI: [10.1590/s1517-707620170005.0270](https://doi.org/10.1590/s1517-707620170005.0270).

FORESTI, M. L.; VÁZQUEZ, A.; BOURY, B. Applications of bacterial cellulose as precursor of carbon and composites with metal oxide, metal sulfide and metal nanoparticles: A review of recent advances. *Carbohydrate Polymers*, v. 157, p. 447-467, 2017. DOI: [10.1016/j.carbpol.2016.09.008](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.008).

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2.

Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose*. *Biochemical Journal*, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954. DOI: [10.1042/bj0580345](https://doi.org/10.1042/bj0580345).

SINGH, H. et al. Characterization of nanocellulose isolated from bamboo fibers. *Materials Today: Proceedings*, mar. 2023. DOI: [10.1016/j.matpr.2023.02.300](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.02.300).

SRIPLAI, N.; PINITSOONTORN, S. Bacterial cellulose-based magnetic nanocomposites: A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 254, p. 117228, 2021.

DOI: [10.1016/j.carbpol.2020.117228](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117228).