

UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM MEDICINA  
REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL

CAROLINE YAMADA

PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA PARA USO FARMACÊUTICO E  
BIOMÉDICO UTILIZANDO A BIOECONOMIA CIRCULAR

ARARAQUARA, SP

2024

CAROLINE YAMADA

PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA PARA USO FARMACÊUTICO E  
BIOMÉDICO UTILIZANDO A BIOECONOMIA CIRCULAR

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Orientador: Prof. Dr. Wilton Rogério Lustri

Coorientadora: Prof. Dra. Silmara C. Lazarini Frajácomo

ARARAQUARA, SP

2024

## FICHA CATALOGRÁFICA

Y18p Yamada, Caroline.

Produção de celulose bacteriana para uso farmacêutico e biomédico utilizando a bioeconomia circular/Caroline Yamada. – Araraquara:

Universidade de Araraquara, 2024.

95f.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química medicinal –  
UNIARA

Orientador: Prof. Dr. Wilton Rogério Lustrí

1. Celulose bacteriana. 2. Resíduos agroindustriais. 3. Bioeconomia circular. 4. Modificações químicas. 5. Liberação de fármacos. I. Título.

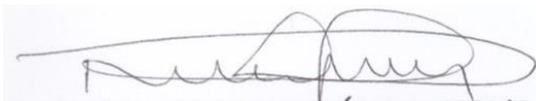
CDU 57.089

CAROLINE YAMADA

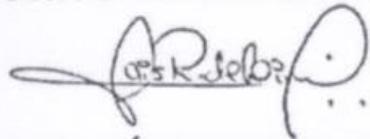
Tese apresentada a Universidade de Araraquara – UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal

Araraquara, 01 de novembro de 2024.

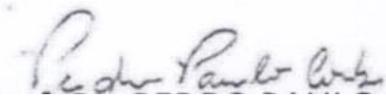
BANCA EXAMINADORA



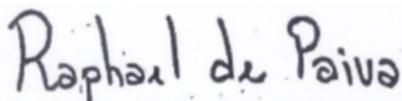
Prof. Dr. WILTON ROGÉRIO LUSTRI (Orientador)  
Universidade de Araraquara – UNIARA



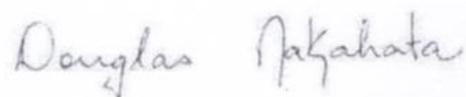
Dra. LAÍS RONCALHO DE LIMA  
Empresa Terra Azul de Tecnologia de Polímeros Naturais – Ltda



Prof. Dr. PEDRO PAULO CORBI  
Instituto de Química de Campinas – UNICAMP



Dr. RAPHAEL ENOQUE FERRAZ DE PAIVA  
Donostia International Physics Center (DIPC) – Espanha



Dr. DOUGLAS HIDEKI NAKAHATA  
Donostia International Physics Center (DIPC) – Espanha

Dedico esse trabalho à minha família, por sua capacidade quase infinita de acreditar e investir em mim. Pelo cuidado e dedicação que sempre tiveram comigo, me incentivando e me dando a esperança para seguir. A presença de vocês significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta etapa tão significativa da minha vida, sinto-me profundamente grata por todas as pessoas que contribuíram para a realização da minha tese de doutorado.

Primeiramente, agradeço à minha família, que sempre foi meu alicerce. À minha mãe, Lúcia, por seu amor incondicional e apoio em cada passo desta jornada; e à minha irmã, Camila, por estar sempre ao meu lado, incentivando-me a buscar meus sonhos.

Agradeço também ao meu namorado, Thiago, por sua paciência e compreensão, que tornaram os momentos difíceis mais leves; e à minha amiga Camilla, por ser uma parceira incansável, sempre pronta para me ouvir e apoiar.

Meu agradecimento especial vai ao meu orientador, Rogério, e à minha coorientadora, Silmara, por sua orientação, dedicação e por acreditarem em mim. Suas orientações foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Sou grata aos membros da banca, que dedicaram seu tempo e expertise para avaliar minha pesquisa, trazendo contribuições valiosas. Agradeço também a todos os docentes e funcionários da Universidade de Araraquara, que tornaram essa experiência ainda mais rica e significativa.

Por fim, agradeço às agências de fomento que possibilitaram a realização deste projeto. Sem seu apoio, esta jornada não teria sido possível.

De forma especial, faço um agradecimento póstumo ao meu avô, Antônio, cuja memória me inspira e me motiva a seguir em frente. Sua sabedoria e amor permanecem comigo em cada conquista.

A todos vocês, meu muito obrigado! Cada um teve um papel essencial nesta caminhada, e sou eternamente grata por ter compartilhado esse momento tão importante com pessoas tão especiais.

*“Entre dois mundos, a vida paira como uma estrela,  
Entre a noite e a aurora, sobre a linha do horizonte  
Quão pouco sabemos o que somos!  
E menos ainda do que podemos ser.”*

*Lord Byron*

## RESUMO

A celulose bacteriana (CB) tem propriedades superiores à celulose vegetal, como alta pureza e biocompatibilidade, mas seu alto custo de produção é um desafio. A bioeconomia circular oferece uma solução, utilizando resíduos para produção de biopolímeros. Estudos com o foco na utilização da CB para liberação de fármacos crescem cada vez mais nas indústrias biomédicas. O principal objetivo do presente trabalho foi produzir membranas de CB a partir de fontes renováveis, como resíduos de hortifrúti e resíduos de usinas sucroalcooleiras, e avaliar seu uso como suporte para a liberação de fármacos. Sendo assim, os resíduos foram coletados e processados para a preparação de meios de cultivo com diferentes concentrações de extratos, e a produção de CB por cepas de *K. hansenii* ATCC 23769 e *K. rhaeticus* AF-1. A eficiência da produção foi avaliada pelo rendimento em massa seca (*RMS*) das membranas e pela capacidade de intumescimento (*%Int*), indicando a capacidade de adsorção de água das membranas. As membranas foram então submetidas a modificações químicas e físicas, como tratamentos com metanol e diferentes secagens, e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA/DTG). Posteriormente, foi avaliada a capacidade das membranas de liberar fármacos antibacterianos, como Ceftriaxona e Levofloxacino, em testes de difusão em disco. Os resultados mostraram que os resíduos de cana-de-açúcar, como o fermento e o creme, e os resíduos de hortifrúti, especialmente pepino, foram eficientes para a produção de CB. *K. rhaeticus* apresentou maior rendimento (até 17,16 g/L), enquanto *K. hansenii* teve melhor capacidade de intumescimento (até 98,86%). A análise por FTIR e TGA confirmou a integridade química e térmica das membranas, enquanto a MEV revelou diferenças na porosidade e entrelaçamento das fibras. Concluiu-se que o uso de resíduos agroindustriais para a produção de CB é uma abordagem eficiente e sustentável. As membranas produzidas apresentam características adequadas para aplicações biomédicas, especialmente na liberação de fármacos, reforçando o potencial da CB como uma alternativa ecológica e economicamente viável.

Palavras-chave: Celulose bacteriana, resíduos agroindustriais, bioeconomia circular, modificações químicas, liberação de fármacos.

## ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) has superior properties to plant cellulose, such as high purity and biocompatibility, but its high production cost is a challenge. Circular bioeconomy offers a solution by converting waste into biopolymers, with BC being particularly studied for controlled drug delivery devices in the biomedical industry. The main objective of this study was to produce BC membranes from renewable sources, such as fruit and vegetable waste and residues from sugarcane mills and evaluate their use as drug delivery supports. The residues were collected and processed to prepare culture media with different extract concentrations, and BC was produced using *K. hansenii* ATCC 23769 and *K. rhaeticus* AF-1 strains. The production efficiency was evaluated by the dry mass yield (DMY) of the membranes and their swelling capacity (%Sw), indicating the water absorption capacity of the membranes. The membranes were then subjected to chemical and physical modifications, such as treatment with methanol and freeze-drying, and characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and thermogravimetric analysis (TGA/DTG). Subsequently, the ability of the membranes to release antibiotics, such as Ceftriaxone and Levofloxacin, was evaluated using disk diffusion tests. The results showed that sugarcane residues, such as molasses and cream, and fruit and vegetable residues, especially cucumber, were efficient for BC production. *K. rhaeticus* showed higher yield (up to 17.16 g/L), while *K. hansenii* had better swelling capacity (up to 98.86%). FTIR and TGA analysis confirmed the chemical and thermal integrity of the membranes, while SEM revealed differences in porosity and fiber structure. It was concluded that the use of agro-industrial waste for BC production is an efficient and sustainable approach. The produced membranes have characteristics suitable for biomedical applications, especially in controlled drug delivery, reinforcing the potential of BC as an ecological and economically viable alternative.

Keywords: Bacterial cellulose, agro-industrial waste, circular bioeconomy, chemical modifications, drug delivery.

## Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura da celulose. As linhas pontilhadas esquematizam as ligações de hidrogênio possíveis.....	17
Figura 2 - Ilustração do modelo econômico linear.....	19
Figura 3 - Ilustração do modelo econômico circular .....	20
Figura 4 - Exemplos de utilização de resíduos agroindustriais para a produção de CB presentes na literatura.....	22
Figura 5 - Escala Quantitativa utilizando reativo de Benedict .....	30
Figura 6 - Análise Quantitativa de Açúcares redutores utilizando reativo de Benedict, onde 1 corresponde ao FE, 2 corresponde ao CR e 3 corresponde ao CP. ....	33
Figura 7 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> .....	34
Figura 8 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> .....	35
Figura 9 - Modelo hipotético da via para a biossíntese de celulose por <i>K. hansenii</i> a partir de fontes de carbono.....	38
Figura 10 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por <i>K. hansenii</i> no meio CR 40%.....	39
Figura 11 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por <i>K. rhaeticus</i> no meio FE 70% .....	40
Figura 12 - Espectros de FTIR das membranas de CB produzidas no <i>K. hansenii</i> no meio CR 40% (A) e <i>K. rhaeticus</i> no meio FE 70% (B) .....	41
Figura 13 - MEV da membrana de CB produzida por <i>K. hansenii</i> no meio CR 40% nos aumentos de 25.000x e 100,000x .....	41
Figura 14 - MEV da membrana de CB produzida por <i>K. rhaeticus</i> no meio FE 70% nos aumentos de 25.000x e 100,000x .....	42
Figura 15 - Os cultivos em triplicata das membranas de CB produzidas ao longo dos 21 dias no meio FE 70% utilizando <i>K. rhaeticus</i> .....	43
Figura 16 - Os cultivos em triplicata das membranas de CB produzidas ao longo dos 21 dias no meio CR 40% utilizando <i>K. hansenii</i> .....	43
Figura 17 – Esquema do processamento dos resíduos de hortifrúti utilizados na produção de CB .....	47

Figura 18 – Aspecto dos extratos obtidos após o processamento dos resíduos de hortifruti antes da autoclavação.....	50
Figura 19 – Análise de concentração de açúcares redutores e valores de pH dos extratos de manga (A), maçã (B), batata (C), pepino (D), tomate (E), laranja (F), mamão (G) e dos resíduos do processamento (H). .....	51
Figura 20 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de batata .....	52
Figura 21 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de cascas .....	53
Figura 22 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de laranja .....	53
Figura 23 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de maçã .....	54
Figura 24 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de mamão .....	54
Figura 25 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de manga .....	55
Figura 26 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de pepino .....	55
Figura 27 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> no meio de cultivo com extrato de tomate .....	56
Figura 28 - Espectros de FTIR das membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> (A) e <i>K. rhaeticus</i> (B) no meio de extrato de pepino .....	59
Figura 29 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por <i>K. hansenii</i> no meio com extrato de pepino.....	59
Figura 30 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por <i>K. rhaeticus</i> no meio com extrato de pepino .....	60
Figura 31 - Espectros de FTIR das membranas de CB após o tratamento utilizando MeOH e secas em estufa ventilada (Espectro A) e liofilizadas (Espectro B).....	65
Figura 32 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 24 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas nos meios de resíduos de cana-de-açúcar. CR40-MeOH-L-LVX (A-1), CR40-MeOH-E-LVX (A-2), CR40- H <sub>2</sub> O -L-LVX (A-3) e CR40-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-4). CR40-H <sub>2</sub> O-L-CRO (B-1), CR40-H <sub>2</sub> O -E-CRO (B-2), CR40-MeOH-L-CRO (B-3) e CR40-MeOH-E-CRO (B-4). FE70-	

MeOH-L-LVX (C-1), FE70-MeOH-E-LVX (C-2), FE70-H <sub>2</sub> O-L-LVX (C-3) e FE70-H <sub>2</sub> O-E-LVX (C-4). FE70-H <sub>2</sub> O-L-CRO (D-1), FE70- H <sub>2</sub> O -E-CRO (D-2), FE70-MeOH-L-CRO (D-3) e FE70-MeOH-E-CRO (D-4). .....	66
Figura 33 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 48 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas nos meios de resíduos de cana-de-açúcar. CR40-MeOH-L-LVX (A-1), CR40-MeOH-E-LVX (A-2), CR40- H <sub>2</sub> O -L-LVX (A-3) e CR40-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-4). CR40-H <sub>2</sub> O-L-CRO (B-1), CR40-H <sub>2</sub> O -E-CRO (B-2), CR40-MeOH-L-CRO (B-3) e CR40-MeOH-E-CRO (B-4). FE70-MeOH-L-LVX (C-1), FE70-MeOH-E-LVX (C-2), FE70-H <sub>2</sub> O-L-LVX (C-3) e FE70-H <sub>2</sub> O-E-LVX (C-4). FE70-H <sub>2</sub> O-L-CRO (D-1), FE70- H <sub>2</sub> O -E-CRO (D-2), FE70-MeOH-L-CRO (D-3) e FE70-MeOH-E-CRO (D-4). .....	67
Figura 34 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 72 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas nos meios de resíduos de cana-de-açúcar. CR40-MeOH-L-LVX (A-1), CR40-MeOH-E-LVX (A-2), CR40- H <sub>2</sub> O -L-LVX (A-3) e CR40-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-4). CR40-H <sub>2</sub> O-L-CRO (B-1), CR40-H <sub>2</sub> O -E-CRO (B-2), CR40-MeOH-L-CRO (B-3) e CR40-MeOH-E-CRO (B-4). FE70-MeOH-L-LVX (C-1), FE70-MeOH-E-LVX (C-2), FE70-H <sub>2</sub> O-L-LVX (C-3) e FE70-H <sub>2</sub> O-E-LVX (C-4). FE70-H <sub>2</sub> O-L-CRO (D-1), FE70- H <sub>2</sub> O -E-CRO (D-2), FE70-MeOH-L-CRO (D-3) e FE70-MeOH-E-CRO (D-4). .....	69
Figura 35 – Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> nos meios de cultivo de resíduos de cana-de-açúcar após tratamento com MeOH e diferentes tipos de secagem. ....	70
Figura 36 - Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> nos meios de cultivo de resíduos de cana-de-açúcar após tratamento com MeOH e diferentes tipos de secagem .....	71
Figura 37 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 24 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino PR-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H <sub>2</sub> O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2) .....	73
Figura 38 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 48 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. ....	74

Figura 39 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 72 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PR-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H <sub>2</sub> O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2) .....	75
Figura 40 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 24 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PR-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H <sub>2</sub> O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2) .....	76
Figura 41 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 48 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PR-H <sub>2</sub> O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H <sub>2</sub> O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H <sub>2</sub> O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2) .....	77
Figura 42 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 72 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PH- H <sub>2</sub> O-L-LVX (A-1), PH-MeOH-LE-LVX (A-2), PR- H <sub>2</sub> O-L-CRO (B-1), PH- H <sub>2</sub> O-E-LVX (B-2), PR-H <sub>2</sub> O-L-LVX (C-1), PR-MeOH-L-LVX (C-2) .....	78
Figura 43 - Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> no extrato de resíduo de pepino .....	79
Figura 44 - Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> no extrato de resíduo de pepino .....	80
Figura 45 – MEV das membranas de CB com e sem o tratamento por MeOH, evidenciando as diferenças da espessura das fibras após o tratamento .....	81
Figura 46 – Análise da viabilidade celular em linhagens de J774 por microscopia invertida (ampliação de 400x): Painel A: CB pura; Painel B: CB-RIF-H <sub>2</sub> O; Painel C: CB-RIF-MeOH.....	81

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> nos resíduos de cana-de-açúcar .....	36
Tabela 2 - Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> nos resíduos agroindustriais.....	37
Tabela 3 – Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> ao longo dos 21 dias .....	44
Tabela 4 – Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> ao longo dos 21 dias .....	44
Tabela 5 – Resíduos de Hortifrúti utilizados na produção de CB .....	49
Tabela 6 – Concentração de açúcares redutores e valores de pH dos extratos obtidos do processamento de resíduos de hortifrúti .....	51
Tabela 7 – Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. hansenii</i> utilizando resíduos de hortifruti.....	57
Tabela 8 – Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> utilizando resíduos de hortifruti.....	58
Tabela 9 - Análise do <i>RMS</i> e <i>%Int</i> das membranas de CB produzidas por <i>K. rhaeticus</i> e <i>K. hansenii</i> utilizando extrato de manga suplementado com 30% de resíduos de cana-de-açúcar .....	61

## Sumário

1. Introdução e Revisão de Literatura .....	16
1.1. Celulose Bacteriana .....	16
1.2. Produção de celulose bacteriana .....	18
1.3. Bioeconomia circular .....	18
1.4. Utilização de resíduos para a produção de CB .....	21
1.5. Celulose bacteriana como suporte de liberação de fármacos e moléculas bioativas .....	23
1.6. Modificações e Funcionalização de CB.....	24
2. Objetivos .....	26
2.1. Objetivos Gerais.....	26
2.2. Objetivos Específicos .....	26
Capítulo 1 – Produção de CB utilizando resíduos de usinas sucroalcooleiras .....	28
1. Materiais e Métodos .....	28
1.1. Reagentes .....	28
1.2. Cepas Bacterianas .....	28
1.3. Reativação das cepas bacterianas.....	28
1.4. Preparo do pré-inóculo bacteriano .....	29
1.5. Coleta e processamento de resíduos de usinas sucroalcooleiras para obtenção de extratos.....	29
1.6. Preparo dos meios de cultivo utilizando extratos de resíduos de usinas sucroalcooleiras .....	30
1.7. Produção de membranas de CB .....	30
1.8. Análise da capacidade de produção de CB.....	31
1.9. Processamento das membranas de CB produzidas .....	31
1.10. Análise do <i>RMS</i> das membranas de CB obtidas.....	31
1.11. Estudo de porcentagem de intumescimento das membranas de CB obtidas .	32
1.12. Caracterização das membranas de CB obtidas .....	32

2. Resultados .....	33
2.1. Produção de CB utilizando resíduos do processamento de cana-de-açúcar, coletados em usinas sucroalcooleiras .....	33
2.2. Análise do rendimento em massa seca ( <i>RMS</i> ) e porcentagem de intumescimento ( <i>%Int</i> ) das membranas de CB obtidas.....	36
2.3. Caracterização das membranas de CB produzidas utilizando resíduos de cana-de-açúcar .....	38
2.3.1. Análise Termogravimétrica (TGA) .....	39
2.3.2. Análise por FTIR .....	40
2.3.3. Análise por MEV.....	41
2.4. Análise da capacidade de produção de membranas de CB nos resíduos agroindustriais .....	42
Capítulo 2 – Produção de CB utilizando resíduos de hortifrúti .....	46
1. Materiais e Métodos .....	46
1.1. Reagentes .....	46
1.2. Cepas Bacterianas .....	46
1.3. Reativação das cepas bacterianas.....	46
1.4. Preparo do pré-inóculo bacteriano .....	46
1.5. Obtenção e processamento dos resíduos de hortifrúti para obtenção dos extratos a serem utilizados como fonte de nutrientes na produção de CB .....	46
1.6. Produção de membranas de CB .....	48
1.7. Processamento das membranas de CB produzidas .....	48
1.8. Análise do <i>RMS</i> das membranas de CB obtidas.....	48
1.9. Estudo de <i>%Int</i> ( <i>% Int</i> ) das membranas de CB obtidas .....	48
1.10. Suplementação dos resíduos de hortifrúti para produção de CB .....	48
1.11. Caracterização das membranas de CB obtidas .....	49
2. Resultados .....	49
2.1. Obtenção e processamento dos resíduos de hortifrúti para produção de CB ....	49

2.2. Produção de membranas de CB utilizando extratos obtidos do processamento de resíduos de hortifrúti.....	52
2.3. Análise do <i>RMS</i> e % Int das membranas de CB obtidas .....	56
2.5. Análise por FTIR .....	58
2.4. Suplementação dos resíduos de hortifrúti para produção de CB .....	60
Capítulo 3 – Liberação de fármacos utilizando as membranas de CB produzidas utilizando resíduos .....	63
1. Materiais e Métodos .....	63
1.1. Reagentes .....	63
1.2. Cepas Bacterianas .....	63
1.3. Tratamentos das membranas de CB com metanol (MeOH).....	63
1.4. Diferentes tipos de secagem das membranas de CB .....	63
1.4. Intumescimento das membranas de CB com fármacos e teste de liberação por disco difusão .....	64
2. Resultados .....	65
2.1. Análise por FTIR das membranas de CB após o tratamento por MeOH.....	65
2.2. Teste de liberação de CRO e LVX utilizando as membranas de CB produzidas nos extratos de resíduos de cana-de-açúcar .....	65
2.3. Teste de liberação de CRO e LVX utilizando as membranas de CB produzidas nos extratos de resíduos de hortifrúti .....	71
3. Conclusões.....	84
4. Perspectivas.....	85
5. Referências Bibliográficas .....	86

## 1. Introdução e Revisão de Literatura

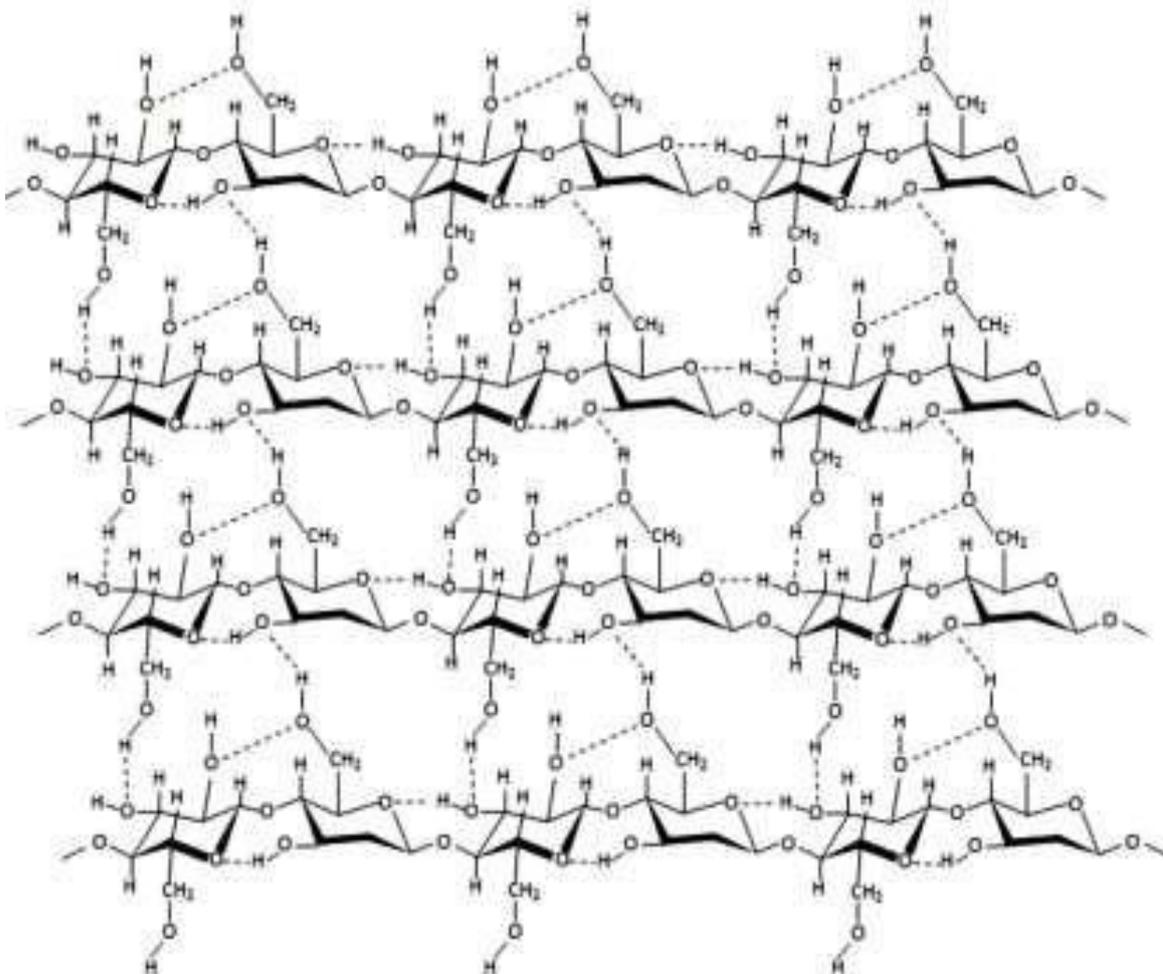
### 1.1. Celulose Bacteriana

A busca por materiais oriundos de fontes renováveis tem progredido devido a diversos problemas como a poluição, perda da biodiversidade e as mudanças climáticas. A utilização desses materiais visa a redução do uso de materiais baseados em combustíveis fósseis que são recursos finitos (MUIRURI et al., 2023).

A celulose é o biopolímero mais abundante e renovável da natureza, sendo principalmente oriunda de vegetais, podendo ser produzida por alguns microrganismos como as bactérias. A celulose de origem bacteriana foi descoberta em 1886 pelo cientista britânico AJ Brown enquanto realizava cultivos de *Acetobacter sp.* sob condições estáticas (DUARTE et al., 2019; MOHAMMADI; JABBARI; BABAEIPOUR, 2023)

A celulose bacteriana (CB) possui uma rede porosa 3D única e sofisticada de nanofibras de celulose altamente cristalinas (geralmente > 80%), com elevado grau de polimerização (até 8000), alta capacidade de retenção de água (até 99%), boa biocompatibilidade, alta hidrofiliabilidade e baixa toxicidade (PANG et al., 2020). Assim como a celulose vegetal (CV) a CB, é um polissacarídeo linear composto por monômeros de  $\beta$ -D-glucopiranosose ligados por ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas (Figura 1).

Figura 1 - Estrutura da celulose. As linhas pontilhadas esquematizam as ligações de hidrogênio possíveis



Fontes: Lustrì *et al.* 2015

Contudo, quando comparado com a CV, a CB apresenta alto grau de pureza sendo isenta de hemicelulose, pectina e lignina, garantindo vantagens na sua utilização uma vez que não requer processos caros de extração e purificação e o uso de produtos químicos ambientalmente perigosos (CAZÓN; VÁZQUEZ, 2021).

As fibras possuem, 20–100 nm de largura e 1–9 m de comprimento, formando uma rede interconectadas sem qualquer orientação preferencial. Este é o resultado de um processo biológico no qual as cadeias de glucana são extrusadas dos poros para o meio de crescimento, onde se agregam em micro fibrilas (FORESTI; VÁZQUEZ; BOURY, 2017).

## 1.2. Produção de celulose bacteriana

A CB pode ser produzida em condições de cultivos estáticos e agitados. Os cultivos estáticos, necessitam de incubação por vários dias até que uma membrana seja formada na interface ar/meio de cultivo ocupando a superfície, se moldando ao formato do frasco de cultivo (IGUCHI; YAMANAKA; BUDHIONO, 2000). A produção de CB em cultivo agitado é mais rápida e, normalmente leva à produção de CB em forma de corpos esféricos, estrelados ou filamentosos com diâmetro variável, contudo o rendimento em massa seca é bem menor do que a aquele obtido em cultivo estático (RECOUVREUX, 2008).

A fonte de carbono é considerada um dos fatores mais importantes para a otimização da produção (FERNANDES et al., 2020). Segundo Foresti *et al.* embora a estrutura química da CB não seja alterada, a fonte de carbono utilizada pode ter um impacto na capacidade de retenção de água das membranas, no grau de polimerização, peso molecular, viscosidade intrínseca, índice de cristalinidade, taxa de transmissão de vapor de água, taxa de transmissão de gás de oxigênio e propriedades mecânicas como a resistência à tração (FORESTI; VÁZQUEZ; BOURY, 2017).

Son e colaboradores (SON *et al.* 2001) relatam que há uma maior produção de CB em cultivo a 30°C, sugerindo que a temperatura afeta não só a produtividade, como também a morfologia e cristalinidade do polímero.

A seleção de cepas bacterianas também influencia a produção de CB, como observado por Lazarini e colaboradores (LAZARINI *et al.*, 2018) que obtiveram, a partir de aplicação de pressões seletivas química (diferentes pH) e físicas (diferentes temperaturas e tempos de exposição a luz UV) em cultivos de *G. hansenii*, uma cepa bacteriana com maior capacidade de produção, quando comparado com a cepa original.

## 1.3. Bioeconomia circular

A gestão de resíduos é uma das maiores preocupações dos dias atuais, o crescimento populacional, a expansão industrial e o bem-estar econômico são alguns dos fatores que contribuem para o aumento do acúmulo de resíduos. (MISHRA et al., 2023).

O modelo econômico predominante desde a industrialização é o linear (Figura 2), onde extrai-se a matéria prima, produz-se um bem, que é consumido e, em seguida, descartado. Como resultado há a extração contínua de recursos naturais e o descarte acelerado e precoce dos bens consumidos (FOSTER; SOUZA ROBERTO, 2016).

Figura 2 - Ilustração do modelo econômico linear

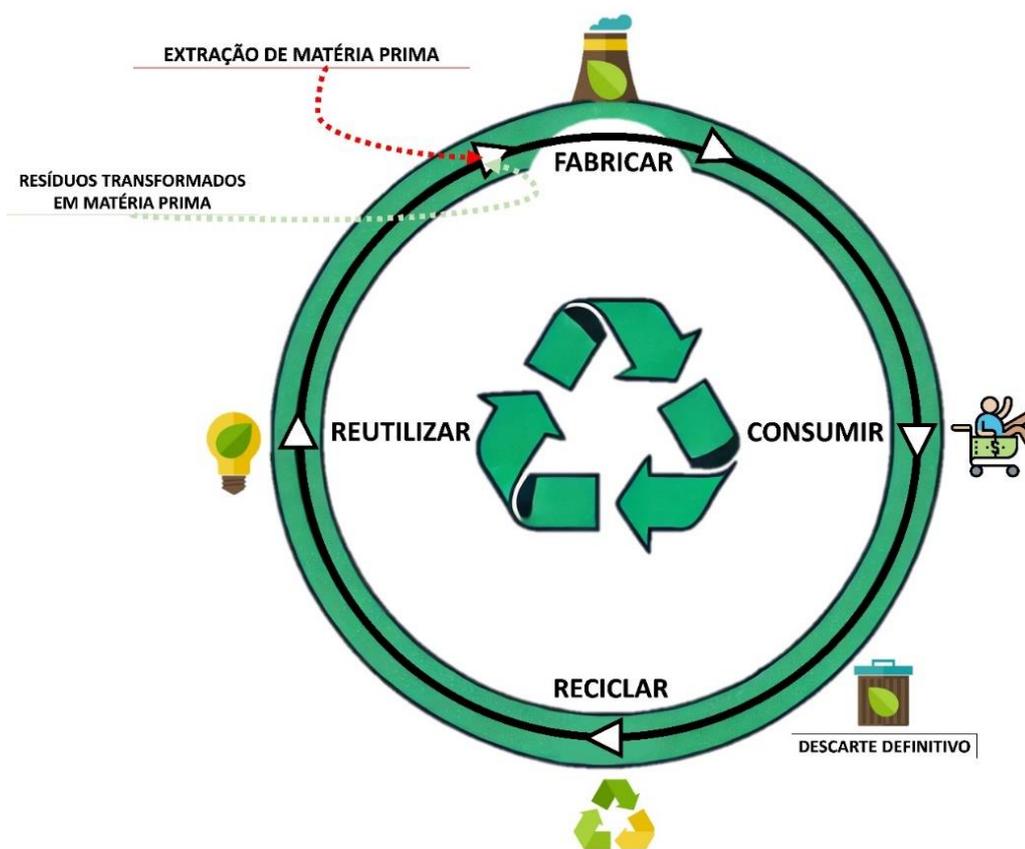


Fonte: Própria do Autor

Como alternativa ao modelo de desenvolvimento econômico dominante, foram introduzidos o conceito e a metodologia de economia circular e bioeconomia (Figura 3). A economia circular é aplicada para transformar a cadeia de valor de linear para circuito fechado e aumentar a eficiência da utilização de recursos, a fim de equilibrar os encargos econômicos, ambientais e sociais causados pela atual utilização linear de recursos (MAINA; KACHRIMANIDOU; KOUTINAS, 2017).

A bioeconomia depende da conversão de reserva de carbono renovável de biomassa agrícola, florestal e resíduos orgânicos em produtos incluindo alimentos, rações, produtos químicos de base biológica, biopolímeros, combustíveis e bioenergia. Os princípios fundamentais da economia circular são complementares à bioeconomia e facilitam a reciclagem e reutilização de materiais direcionados ao estabelecimento de abordagens sustentáveis elaborando a utilização de recursos (MAINA; KACHRIMANIDOU; KOUTINAS, 2017).

Figura 3 - Ilustração do modelo econômico circular



Fonte: Própria do Autor

De acordo com o “Global Waste Management” de 2024, todo ano mais de 2 bilhões de toneladas de resíduos sólidos urbanos são gerados, onde podemos citar o desperdício de alimentos (ZOË LENKIEWICZ et al., 2024).

Segundo o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (United Nations Environment Programme) ou UNEP, o Brasil produz cerca de 79 milhões toneladas por ano de resíduos, atrás da Índia com 153 milhões de toneladas, dos Estados Unidos com 265 milhões de toneladas e da China com 395 milhões de toneladas (BESEN; FREITAS; JACOBI, 2017; FOSTER; SOUZA ROBERTO, 2016; ZOË LENKIEWICZ, 2024).

O “Food Waste Index” de 2024 estima que cerca de 5 bilhões de toneladas de resíduos agroindustriais são gerados por ano, esses resíduos que em sua maioria são ricos em matéria orgânica, são provenientes principalmente da produção agrícola, pecuária e do processamento de alimentos. Esses resíduos incluem sobras de cultivos, resíduos de frutas e vegetais, subprodutos de indústrias como a de açúcar e óleos, e outros materiais orgânicos gerados nas várias fases de processamento e

produção (HAMISH FORBES, ELOISE PEACOCK, NETTIE ABBOT; JONES, 2024; NAIK et al., 2023).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, em 2018, mais de uma tonelada de alimentos destinados para o consumo humano foi perdido ou desperdiçado entre o local de produção e o de consumo (JESUS; PIRES; NOVA, 2018). O desperdício de alimentos chega a 1,3 bilhão de toneladas em todo o mundo e representa 7% das emissões de gases de efeito estufa (SCHMIDT RIVERA et al., 2019).

As estimativas globais mais recentes de perdas e desperdício de alimentos indicam que 13,8% dos alimentos são perdidos após a colheita, não incluindo o varejo, e que 17% da produção total de alimentos pode ser desperdiçada entre o varejo, os serviços de alimentação e as residências, esse desperdício gera por ano um impacto na economia global de cerca de 750 bilhões de dólares (AHMED et al., 2023; BOITEAU; PINGALI, 2023).

Nos próximos dez anos, a produção mundial de desperdício de alimentos está projetada para aumentar em 33% (AHMED et al., 2023; POUR; MAKKAWI, 2021).

Os resíduos agroindustriais, incluindo resíduos orgânicos de perda e desperdício de alimentos constituem um recurso renovável atípico que tem potencial para ser processado em vários materiais valiosos. A utilização e conversão de resíduos em produtos de valor agregado é uma solução inteligente para superar seu acúmulo. (SANTOSO et al., 2021).

#### 1.4. Utilização de resíduos para a produção de CB

A escassez de energia e os problemas de poluição ambiental tornaram-se um problema urgente a ser resolvido. Para atender à crescente demanda por recursos renováveis e materiais ambientalmente compatíveis, o desenvolvimento de biopolímeros com abundância, renovabilidade, baixo custo, proteção ambiental e biodegradabilidade tornou-se de grande importância na ciência dos biopolímeros (PANG et al., 2020).

Nesse contexto, a CB tem recebido muita atenção, devido suas propriedades, colaborando com a possibilidade do aproveitamento dos resíduos agroindustriais como fontes alternativas de nutrientes (Figura 4), com o objetivo de tornar essa produção mais “verde” e reduzir os custos de produção (CAZÓN; VÁZQUEZ, 2021;

FORESTI; VÁZQUEZ; BOURY, 2017; HUSSAIN et al., 2019; KUMBHAR; RAJWADE; PAKNIKAR, 2015; RODRIGUES et al., 2024; UL-ISLAM et al., 2023; ZHOU et al., 2022).

Figura 4 - Exemplos de utilização de resíduos agroindustriais para a produção de CB presentes na literatura



Fonte: Adaptado de Patel et al 2023

Como exemplos, podem ser citados os estudos desenvolvidos por Kurosumi e colaboradores (KUROSUMI et al., 2009), que utilizaram sucos de frutas como meio para a produção de CB, obtendo resultados promissores utilizando suco de uva.

Kumar e colaboradores (KUMAR et al., 2019), que obtiveram uma produção de CB no suco de tomate elevada se comparado com os meios descritos na literatura.

Fan e colaboradores (FAN et al., 2016) utilizaram casca e bagaço de frutas cítricas provenientes de processamentos de uma indústria de fabricação de sucos, demonstrando a possibilidade do uso desse tipo de resíduo para a produção de CB, indicando que não ocorreram alterações nas propriedades físico-químicas das membranas de CB, sendo portanto, mais economicamente viável e ecologicamente correta a utilização de resíduos se comparado com meios sintéticos como o HS.

Outro estudo realizado por Jahan e colaboradores (JAHAN; KUMAR; SAXENA, 2018), utilizou efluente residual de destilarias com composição aproximada de 4% de fontes de carbono, 0,15% de fontes de nitrogênio, grande concentração de íons

metálicos e pH de 4,75, os resultados indicaram a produção de CB tanto no seu estado puro, como também com o acréscimo de 2% de sacarose, onde a produção de CB no meio com 2% de sacarose foi levemente superior, se comparado com o efluente sem nenhuma modificação.

Outros resíduos já foram descritos na literatura para a produção de CB, como casca de uva e madeira industrial (CARREIRA et al., 2011), resíduos de glicerol obtidos a partir do processamento de biodiesel (HO JIN et al., 2019), água residual do processamento de jujuba (LI et al., 2015), resíduos de extrato de tabaco (YE et al., 2019), produtos residuais da produção de óleo de oliva (GOMES et al., 2013), casca de batata (ABDELRAOF; HASANIN; EL-SAIED, 2019), casca de noz pecan (DÓRAME-MIRANDA et al., 2019), suco de caju (SILVA et al., 2021), casca de abacaxi (PATEL et al., 2024), melaço de cana de açúcar (LAZARINI et al., 2016) e suco de batata (CIECHOLEWSKA-JUŚKO et al., 2024) onde em todos os casos mesmo sem aumento na produção, foi observada a diminuição nos custos.

#### 1.5. Celulose bacteriana como suporte de liberação de fármacos e moléculas bioativas

Nos últimos anos, a procura por terapias menos invasivas e mais efetivas visando o aumento do potencial terapêutico de vários agentes é alvo de pesquisas das indústrias biomédicas e farmacêuticas (MOHAMMADI; JABBARI; BABAEIPOUR, 2023).

A elaboração de dispositivos de liberação de fármacos é um campo da tecnologia farmacêutica em expansão. Uma liberação de fármacos bem-sucedida é influenciada por vários fatores, um dos quais é a identificação adequada de materiais para pesquisa e engenharia de novos sistemas de distribuição de medicamentos (ABEER; MOHD AMIN; MARTIN, 2014).

Devido as suas características físico-químicas a CB é um dos materiais alvo de estudos para utilização como suporte dessa liberação de fármacos. A hidrofiliidade é uma dessas características permitindo a adsorção de moléculas hidrofílicas, além de uma elevada capacidade de modificações e funcionalizações devido à grande superfície de contato. É importante ressaltar outras características como a capacidade de manter um ambiente úmido, absorver o excesso de exsudato, fornecer proteção mecânica, evitar infecções microbianas, reduzir a dor local da ferida, permitir facilmente a substituição, além de ser biocompatível, hipoalergênica, possuir alta

resistência à tração, flexibilidade, alta porosidade, capacidade de retenção de água e boa permeabilidade a gases e líquidos (AKKI et al., 2024; PANG et al., 2020).

Um estudo realizado por Almeida e colaboradores (ALMEIDA et al., 2014) utilizou membranas CB com e sem glicerina demonstrando que a membrana de CB com glicerina proporcionou efeito hidratante da pele, o que não foi observado para a membrana sem glicerina. A boa tolerância cutânea encontrada após uma única aplicação reforça o interesse na utilização das membranas de CB como suporte para aplicação tópica de fármacos. A inclusão da glicerina, além de modificar as propriedades mecânicas, promoveu efeito hidratante da pele que resultou em uma característica clinicamente relevante para o tratamento de doenças cutâneas caracterizadas pelo ressecamento, como psoríase e dermatite atópica.

Silva e colaboradores (SILVA et al., 2014) utilizaram membranas de CB com diclofenaco, sugerindo que essa tecnologia pode ser aplicada com sucesso na administração de diclofenaco com a vantagem da fácil aplicação, simplicidade de preparação e estrutura de camada única.

Em um estudo realizado por Shao e colaboradores (SHAO et al., 2016), a membrana de CB foi carregada com cloridrato de tetraciclina, indicando que as membranas foram capazes de controlar a liberação do medicamento, sem apresentar citotoxicidade em linhagens de células HEK293.

Além dos usos descritos, também são relatados na literatura a utilização de membranas de CB com cloreto de benzalcônio (WEI; YANG; HONG, 2011), nanopartículas de prata (BARUD et al., 2011; JUNG et al., 2009), ceftriaxona (LAZARINI et al., 2016) ibuprofeno e lidocaína (TROVATTI et al., 2012).

## 1.6. Modificações e Funcionalização de CB

O uso promissor da CB como suporte para a liberação de fármacos incentivou a busca por métodos de modificações *in situ* e *ex situ* capazes de aumentar o potencial ou oferecer características específicas para essa liberação, sendo possível devido a CB apresentar versatilidade para modificações, ampliando assim a visão sobre seu uso podendo ocorrer modificações com relação porosidade, cristalinidade, estrutura química e função (ABEER; MOHD AMIN; MARTIN, 2014; MUIRURI et al., 2023).

Sua estrutura rica em hidroxilas livres é um dos motivos que permite com que a CB tenha um grande potencial para modificações químicas (OPREA; VOICU, 2020; QIAN et al., 2023).

A modificação *in situ* é caracterizada pela alteração das condições de cultivo ou pela adição de outros reagentes ao meio de cultivo. Zaborowska e colaboradores (ZABOROWSKA et al., 2010) utilizaram microesferas de parafina incorporadas ao meio de cultivo, resultando em scaffolds de CB com poros de 300 µm a 500 µm, indicando uma melhor proliferação celular para utilização em regeneração óssea. Sun e colaboradores (SUN et al., 2020) estudaram o efeito do fluoreto de sódio no meio de cultura para síntese de CB, resultando em alteração na microestrutura e propriedades mecânicas devido a formação de ácido fluorídrico.

A modificação *ex situ* é um método para modificar a superfície da CB por métodos físicos ou químicos após a síntese, geralmente realizada logo após a purificação do biomaterial (FERNANDES et al., 2020).

Adepu & Khandelwal (ADEPU; KHANDELWAL, 2020) utilizaram diferentes métodos de secagem por liofilização e em estufa a 60°C, obtiveram diferenças com relação a morfologia, porosidade e cristalinidade, obtendo cinéticas de liberação de diclofenaco de sódio com comportamentos diferentes.

Segundo Pang e colaboradores (PANG et al., 2020), existem relatos na literatura de uma série de derivados de CB com diferentes estruturas e propriedades obtidas por carboximetilação, acetilação, fosforilação, esterificação e outras copolimerizações de enxerto e reações de reticulação na superfície da CB.

Sendo assim, a obtenção de membranas de CB de maneira sustentável e economicamente viáveis, são de extrema importância, possibilitando a utilização como suporte de liberação de fármacos e moléculas bioativas por meio de modificações *in situ* e *ex situ*.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivos Gerais

Produção de membranas de CB utilizando os princípios da bioeconomia circular para a utilização como suporte de liberação de fármacos antibacterianos.

### 2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Coletar resíduos agroindustriais (hortifrúti, resíduos de usina de cana de açúcar, cervejarias e destilarias);

2.2.2. Processar os resíduos obtidos para extração dos nutrientes;

2.2.3. Produzir CB utilizando concentrações variadas de extratos obtidos do processamento dos resíduos agroindustriais, para utilização como fontes alternativas para formulações de meios de cultivo aplicando a bioeconomia circular, associados ou não a outras fontes de carbono (glicose, frutose e sacarose) e de nitrogênio (extrato de levedura, peptona e triptona), pelas cepas bacterianas *K. hansenii* ATCC 23769 e *K. rhaeticus* AF-1;

2.2.4. Determinar o rendimento em massa seca e a porcentagem de intumescimento (%*Int*) das membranas de CB produzidas obtidas;

2.2.5. Realizar modificações químicas de superfície por tratamento térmico e químico;

2.2.6. Utilizar as membranas de CB modificadas como suportes para liberação de Ceftriaxona e Levofloxacino;

2.2.7. Caracterizar por microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA/DTG) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* ATCC23769 e *K. rhaeticus* AF-1, produzidas utilizando os meios com diferentes composições;

## CAPÍTULO 1

# PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA UTILIZANDO RESÍDUOS DE USINAS SUCROALCOOLEIRAS

## Capítulo 1 – Produção de CB utilizando resíduos de usinas sucroalcooleiras

### 1. Materiais e Métodos

#### 1.1. Reagentes

Os fármacos Ceftriaxona (CRO) e Levofloxacino (LVX) foram adquiridos dos laboratórios Sigma-Aldrich/Merck. Os meios de cultivo Brain Heart Infusion (BHI), Mueller-Hinton (MH), extrato de levedura e ágar bacteriológico foram adquiridos da empresa Kasvi. Frutose, Etanol absoluto, metanol, ácido acético glacial, hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) foram adquiridos da empresa Synth, os Reativos de Benedict qualitativo e quantitativo foram adquiridos da empresa Êxodo Científica.

#### 1.2. Cepas Bacterianas

As cepas bacterianas de *K. hansenii* (ATCC 23769) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), foram obtidas da Coleção de Culturas da Fundação André Tosello, e *K. rhaeticus* AF-1 foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Hernane da Silva Barud, coordenador do Laboratório BioPolMat da Universidade de Araraquara-UNIARA.

#### 1.3. Reativação das cepas bacterianas

As amostras bacterianas de *K. hansenii* e *K. rhaeticus*, mantidas sob refrigeração -80°C em glicerol foram reativadas em meio contendo Frutose 60 g/L, Extrato de Levedura 5,6 g/L e Etanol 50 mL/L (FRU). O volume de 2 mL do cultivo refrigerado foi transferido para 200 mL de meio de cultivo, esse cultivo foi mantido sob agitação de 250 rpm, em estufa tipo B.O.D a 28°C (Marconi), por 24 horas e, posteriormente, mantido em cultivo estático em BOD a 28°C até a produção de uma membrana de CB. A seguir, o cultivo foi vigorosamente agitado para remoção das bactérias da membrana e a suspensão obtida foi utilizada para a preparação do pré-inóculo.

#### 1.4. Preparo do pré-inóculo bacteriano

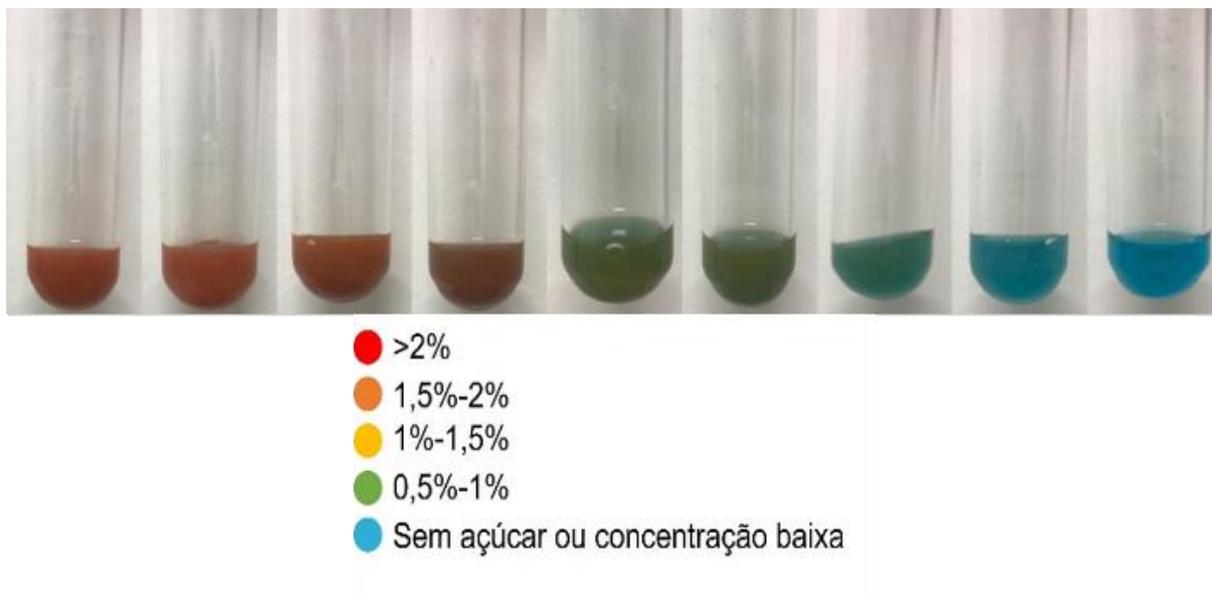
A partir da suspensão bacteriana obtida na etapa anterior, uma alíquota de 50 mL foi transferida para um Erlenmeyer contendo 150 mL de meio FRU estéril. O cultivo bacteriano foi mantido a 28°C em estufa B.O.D., em condição estática, até a formação de uma membrana de CB e um crescimento bacteriano saturado. Este cultivo foi utilizado como pré-inóculo, com repique a cada 7 dias até a utilização para a produção das membranas de CB.

#### 1.5. Coleta e processamento de resíduos de usinas sucroalcooleiras para obtenção de extratos

Os resíduos utilizados foram coletados de usinas sucroalcooleiras da região de Araraquara/SP, sendo obtidos de diferentes etapas do processamento da cana-de-açúcar e identificados como Caldo Primário (CP), Fermento (FE) e Creme (CR), os resíduos se encontravam na forma líquida. Os resíduos obtidos foram inicialmente submetidos autoclavação a 121°C, por 30 minutos para a extração por infusão dos nutrientes solúveis e, em seguida, resfriados e submetidos à filtração, para a remoção de qualquer resíduo sólido/insolúvel restante. Após essa etapa, os extratos obtidos foram submetidos a análise qualitativa e quantitativa de açúcares redutores utilizando o Reativo de Benedict.

O reagente de Benedict é utilizado para detectar a presença de açúcares redutores, como glicose e frutose, que possuem grupos funcionais aldeídos ou cetonas capazes de serem oxidados. Ele é composto por citrato de sódio, que estabiliza os íons cobre, carbonato de sódio, que fornece um meio alcalino, e sulfato de cobre (II), que é a fonte de íons  $\text{Cu}^{2+}$ . Quando a solução contendo um açúcar redutor é aquecida com o reagente, o grupo aldeído do açúcar é oxidado a um ácido carboxílico, enquanto o íon cobre (II) é reduzido a óxido de cobre (I),  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Este óxido insolúvel precipita com uma coloração que varia de verde a vermelho tijolo, como pode ser observado na Figura 5, dependendo da concentração do açúcar redutor presente. A reação ocorre em meio alcalino, essencial para que o equilíbrio químico favoreça a oxidação do açúcar e a redução do cobre.

Figura 5 - Escala Quantitativa utilizando reativo de Benedict



Fonte: Própria do Autor

#### 1.6. Preparo dos meios de cultivo utilizando extratos de resíduos de usinas sucroalcooleiras

Os extratos obtidos na etapa anterior foram diluídos nas concentrações de 70%, 40% e 10%, utilizando água destilada e submetidos a autoclavação a 121°C, por 15 minutos para esterilização. O extrato sem diluir (100%) também foi utilizado como meio de cultivo. Após esse processamento os extratos foram armazenados a 4°C até o momento do uso.

#### 1.7. Produção de membranas de CB

Para a produção de CB utilizando os meios de cultivos descritos na etapa anterior. Uma suspensão bacteriana densa foi preparada em solução salina estéril, essa suspensão foi utilizada para a diluição e obtenção da escala nefelométrica 1,0 de McFarland ( $3,0 \times 10^8$  UFC/mL) nos cultivos. Os cultivos foram realizados em triplicata em tubos de ensaio utilizando um volume final de 10 mL de meio de cultivo, sendo mantidos em cultivo estático por 7 dias em incubadora B.O.D. à 28°C.

### 1.8. Análise da capacidade de produção de CB

As membranas de CB produzidas na etapa anterior que apresentaram o melhor rendimento em massa seca (*RMS*), foram submetidas a análise de produção por tempo. Os cultivos foram realizados como descrito na etapa anterior e a cada 7 dias os cultivos foram vigorosamente agitados e as membranas CB produzidas foram retiradas de forma asséptica em cabine biológica com fluxo laminar. Em seguida os cultivos foram colocados novamente em estufa B.O.D. sem nenhum acréscimo de meio de cultivo ou de pré-inóculo mesmas condições de cultivo anteriormente descritas. Esse processo foi repetido até que não houvesse mais a formação de membranas de CB nos cultivos.

### 1.9. Processamento das membranas de CB produzidas

Decorridos os 7 dias de produção as membranas foram retiradas dos meios de cultivo e lavadas em água corrente por 30 minutos para a remoção dos resíduos dos meios, a seguir, as membranas foram imersas em 100 mL água destilada e mantidas em banho-maria (modelo500-4D Ethik Technology) a 65°C, com troca de água a cada 24h, até clareamento total. Após esse procedimento, as membranas foram submetidas ao tratamento com 100 mL de NaOH 0,5 M por 30 minutos em banho-maria a 80°C, para a remoção de cepas bacterianas restantes.

Após o tratamento com o NaOH 0,5M, as membranas foram mantidas em 100 mL de água destilada em banho-maria a 65°C, com troca de água a cada 12h, até a atingir pH 7,0.

Após a neutralização do pH, as membranas foram mantidas em placas de Petri em estufa ventilada – 400/1ND – Ethik Technology a 60°C até desidratação completa.

### 1.10. Análise do *RMS* das membranas de CB obtidas

As membranas de CB desidratadas como descrito no item 1.9. foram pesadas em balança analítica Shimadzu AUY 220 e a massa obtida foi utilizada para determinação do rendimento em massa seca aplicando a equação (1):

$$(1) Rms = \frac{Ms}{V}$$

Onde *RMS* corresponde ao rendimento em massa seca das membranas de CB, *Ms* é corresponde à massa seca da membrana de CB (g) e *V* corresponde ao volume de meio consumido.

#### 1.11. Estudo de porcentagem de intumescimento das membranas de CB obtidas

O comportamento de porcentagem de intumescimento (*%Int*) foi avaliado por imersão das membranas em aproximadamente 250 mL de água destilada, à temperatura ambiente (25°C) por 4h até atingir o equilíbrio de *intumescimento*. Após atingir o equilíbrio, as membranas de CB foram cuidadosamente retiradas e o excesso de água livre da superfície foi removido com papel de filtro, para posterior determinação da massa intumescida em balança analítica Shimadzu AUY 220. A *%Int* foi realizada utilizando a seguinte expressão (2):

$$(2) \% Int = \frac{Mint - Ms}{Ms} \times 100$$

Onde *% Int* corresponde a porcentagem de *%Int* das membranas de CB, *Ms* corresponde a massa seca das membranas de CB e *Mint* corresponde a massa intumescida de CB.

#### 1.12. Caracterização das membranas de CB obtidas

As membranas de CB obtidas após a produção nos diferentes meios de resíduos foram caracterizadas por análise termogravimétrica (TGA) e por termogravimetria derivada (DTG). As curvas foram obtidas no equipamento TA Instruments SDT q600. As condições empregadas foram: atmosfera de oxigênio com fluxo contínuo de 100 mL/min e taxa de aquecimento de 10°C por minuto. A temperatura utilizada no experimento ficou entre 30-600°C, tendo como referência um cadinho de alumina.

As membranas de CB foram analisadas também por FT-IR com a finalidade de avaliar os principais grupos funcionais, característicos de CB, utilizando o

espectrômetro Cary 630 FT-IR Agilent, em modo de transmitância na região de 4000 a 600cm<sup>-1</sup>.

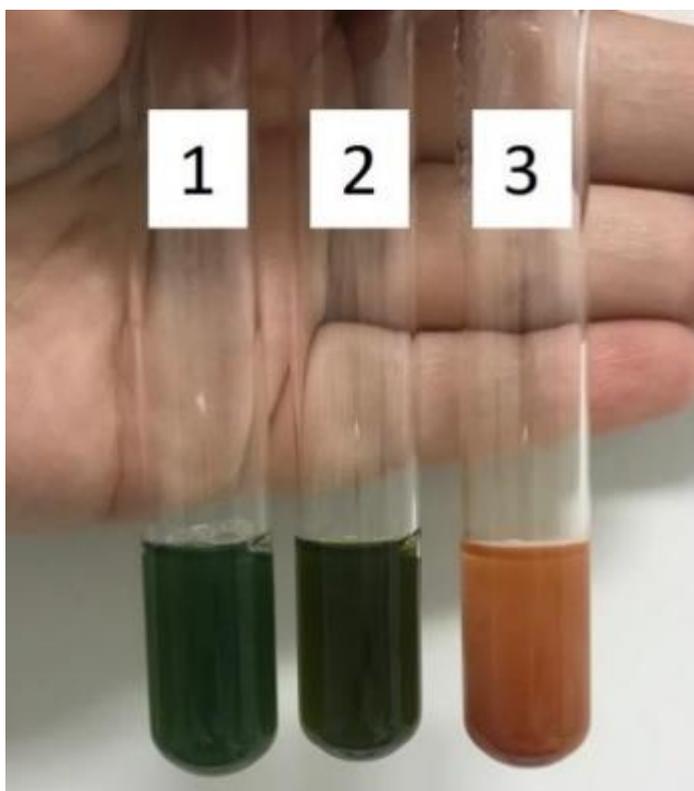
Para a análise das características morfológicas, como por exemplo as diferenças entre os entrelaçamentos, espessuras das fibras e na porosidade, as membranas de CB foram caracterizadas por MEV, com aumento de 25.000x e 100.000x, utilizando o microscópio JEOL JSM- 6360 LV, após recobrimento com carbono.

## 2. Resultados

### 2.1. Produção de CB utilizando resíduos do processamento de cana-de-açúcar, coletados em usinas sucroalcooleiras

A análise dos meios de cultivos demonstrou que os 3 meios de resíduos apresentaram açúcares redutores em concentrações diferentes, FE e CR apresentaram concentrações de 0,5% a 1% e CP com concentração de 1,5% a 2% de açúcar redutor, como pode ser observado na Figura 6.

Figura 6 - Análise Quantitativa de Açúcares redutores utilizando reativo de Benedict, onde 1 corresponde ao FE, 2 corresponde ao CR e 3 corresponde ao CP.



Fonte: Própria do Autor

Os resultados obtidos utilizando os meios de resíduo para a produção de CB demonstraram que tanto *K. hansenii* ATCC 23769 quanto *K. rhaeticus* AF-1 foram capazes de produzir membranas de CB nos extratos utilizados, com exceção de *K. hansenii* nos meios de CP a 100% e 70%. Na concentração de 10% CR, CP e FE apresentaram produção de CB, porém as membranas de CB obtidas eram extremamente finas e com pouca resistência mecânica, inviabilizando o processamento das membranas para posterior aplicação.

Na Figura 7 podemos ver o aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* nos diferentes meios de cultivo. As membranas apresentaram diferenças de transparência e espessura de acordo com o meio utilizado.

Figura 7 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. hansenii*



Fonte: Própria do autor

Na Figura 8 podemos ver o aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* nos diferentes meios de cultivo. Diferente das membranas de CB produzidas por *K. hansenii*, foi observado pouca diferença com relação a transparência entre as membranas, diferindo mais com relação a espessura.

Figura 8 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus*



Fonte: Própria do autor

O aspecto macroscópico das membranas de CB obtidas indica diferentes características de produção entre as duas espécies de *Komagataeibacter*, uma vez que as membranas de CB obtidas utilizando cepas de *K. hansenii* são aparentemente mais grossas e transparentes, enquanto as membranas obtidas utilizando cepas de *K. rhaeticus* são mais finas e com aparência menos aquosa e mais densa.

## 2.2. Análise do rendimento em massa seca (*RMS*) e porcentagem de intumescimento (*%Int*) das membranas de CB obtidas

Os resultados obtidos na análise do *RMS* demonstram que a membrana produzida no meio CR 40% por *K. hansenii* foi superior, quando comparado com as demais membranas de CB produzidas por *K. hansenii*, como pode ser observado na Tabela 1. Com relação a *%Int* as membranas produzidas no meio FE 100% e CR 40% apresentaram os melhores resultados, sem diferenças estatisticamente significantes entre elas.

Tabela 1 - Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* nos resíduos de cana-de-açúcar

MEIO	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
CR 100%	2,78 ( $\pm$ 0,18) *	91,82 ( $\pm$ 1,79) *
FE 100%	2,80 ( $\pm$ 0,27) *	98,86 ( $\pm$ 0,52) *
CR 70%	2,73 ( $\pm$ 0,12) *	85,67 ( $\pm$ 4,93) *
FE 70%	2,98 ( $\pm$ 0,57) *	87,02 ( $\pm$ 3,15) *
CR 40%	5,78 ( $\pm$ 0,23) *	97,18 ( $\pm$ 0,20) *
FE 40%	2,93 ( $\pm$ 0,17) *	90,06 ( $\pm$ 5,25) *
CP 40%	2,80 ( $\pm$ 0,22) *	93,82 ( $\pm$ 0,06) *

\*Desvio Padrão

A análise de *RMS* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* (Tabela 2) demonstram que o rendimento utilizando o meio FE 70% foi superior quando comparadas com as demais. Com relação a *%Int* as membranas que apresentaram melhores resultados foram CR 100% e CP 40%.

Tabela 2 - Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* nos resíduos agroindustriais

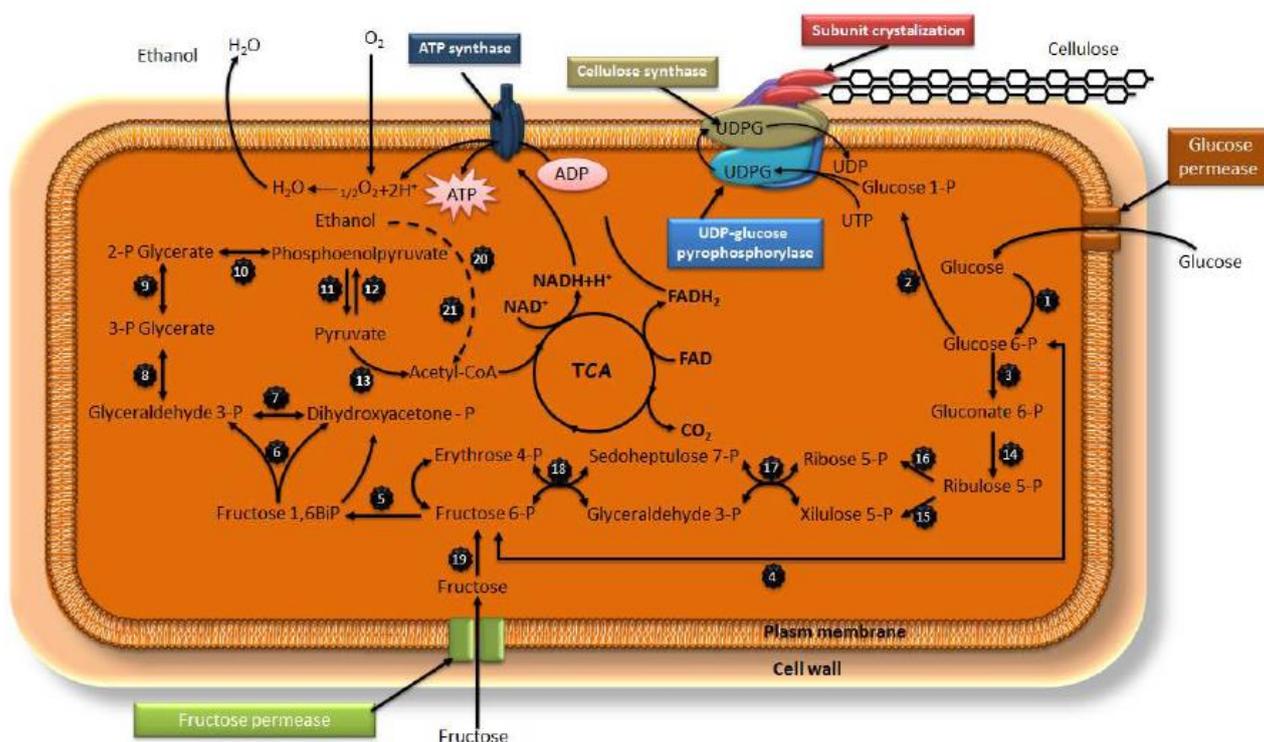
<i>K. rhaeticus</i>	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
CR 100%	4,95 ( $\pm$ 0,15) *	84,55 ( $\pm$ 3,61) *
FE 100%	7,63 ( $\pm$ 0,18) *	80,18 ( $\pm$ 4,99) *
CP 100%	8,45 ( $\pm$ 0,05) *	76,40 ( $\pm$ 2,06) *
CR 70%	7,71 ( $\pm$ 0,07) *	82,63 ( $\pm$ 3,78) *
FE 70%	11,98 ( $\pm$ 0,12) *	77,74 ( $\pm$ 0,84) *
CP 70%	4,46 ( $\pm$ 1,03) *	76,86 ( $\pm$ 5,52) *
CR 40%	6,48 ( $\pm$ 0,66) *	77,18 ( $\pm$ 0,90) *
FE 40%	7,30 ( $\pm$ 0,21) *	69,96 ( $\pm$ 2,39) *
CP 40%	7,56 ( $\pm$ 0,36) *	84,26 ( $\pm$ 0,31) *

\* Desvio Padrão

Os resultados obtidos utilizando as duas espécies de *Komagataeibacter spp.* demonstraram que o *RMS* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* são todos superiores, ficando entre 4,467 g/L e 9,983 g/L em comparação com o *RMS* das membranas produzidas por *K. hansenii* ficando entre 2,733 g/L e 3,783 g/L.

O maior potencial de produção de *K. rhaeticus* em relação a *K. hansenii*, pode ser devido a diferenças na ativação das vias metabólicas envolvidas na produção de CB de cada uma das espécies bacterianas, uma vez que as condições de cultivo para ambas as espécies foram as mesmas. Lustrri e colaboradores (LUSTRI *et al.*, 2015), descreveram as vias metabólicas utilizadas por *K. hansenii* ATCC 23769 como pode ser observado na Figura 9. Contudo ainda não há estudos comparativos entre as vias metabólicas de *K. hansenii* e *K. rhaeticus* na produção de CB.

Figura 9 - Modelo hipotético da via para a biossíntese de celulose por *K. hansenii* a partir de fontes de carbono



Fonte: Lustri *et al.*, 2015

Com relação a %Int, o estudo possibilita uma análise da capacidade que a membrana de CB tem de adsorver água após a desidratação completa, sendo um dado importante para a liberação de fármacos, uma vez que possibilita a análise do quanto a membrana de CB foi capaz de adsorver de fármaco. Os resultados obtidos demonstram que as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* apresentam %Int superior quando comparado com as membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus*. Enquanto as membranas produzidas por *K. rhaeticus* ficaram entre 69,693% e 84,554% as membranas produzidas por *K. hansenii* ficaram entre 85,673% e 98,860%.

### 2.3. Caracterização das membranas de CB produzidas utilizando resíduos de cana-de-açúcar

As membranas selecionadas para as análises TGA/DTA, FTIR e MEV, foram as que apresentaram maior RMS de cada uma das espécies, sendo assim para *K. hansenii* a membrana selecionada foi a produzida no meio CR 40% e para *K. rhaeticus*

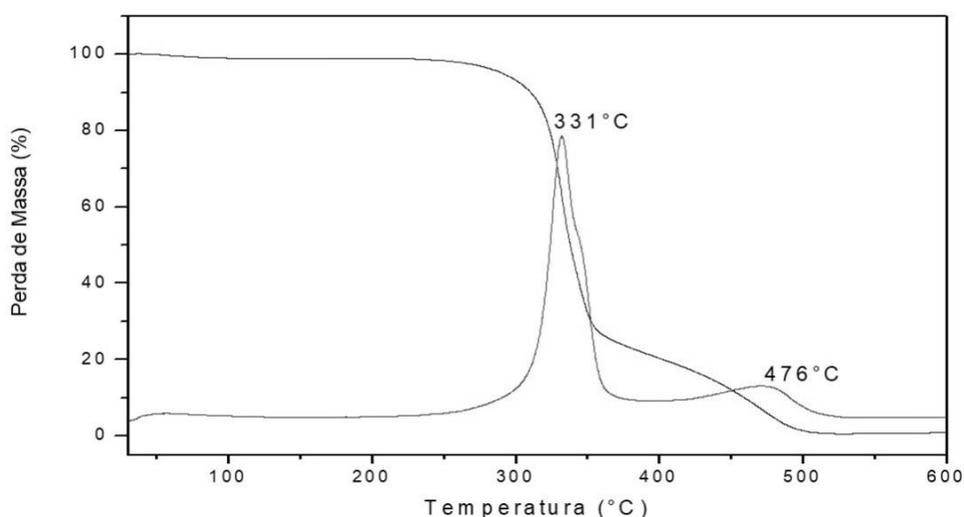
a membrana de CB produzida no meio FE 70%, as mesmas membranas foram utilizadas posteriormente nos testes de liberação de antibacterianos.

### 2.3.1. Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises de TGA mostraram dois eventos de perda de massa, tanto para as membranas produzidas por *K. hansenii* quando por *K. rhaeticus*, como pode ser observado nas Figuras 10 e 11 respectivamente. Desses eventos o primeiro está associado com a perda de moléculas de água na superfície do material, o segundo e terceiro estão associados com a degradação térmica da celulose, estando de acordo com o processo de despolimerização e decomposição das ligações glicosídicas (DE SALVI et al., 2012).

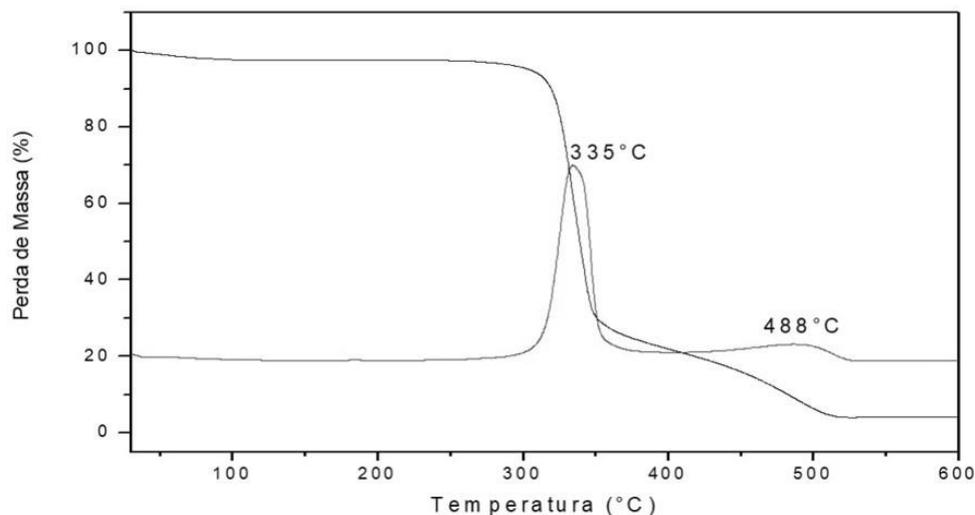
Com relação as duas membranas produzidas, foi possível avaliar que não restaram resíduos inorgânicos pois entre as temperaturas de 500°C e 550°C 100% da massa da membrana de CB foi perdida. Este resultado indica que o uso de resíduos como meios de cultivo, além de não alterar o comportamento térmico do polímero, não influenciou na pureza das membranas.

Figura 10 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por *K. hansenii* no meio CR 40%



Fonte: Própria do autor

Figura 11 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por *K. rhaeticus* no meio FE 70%

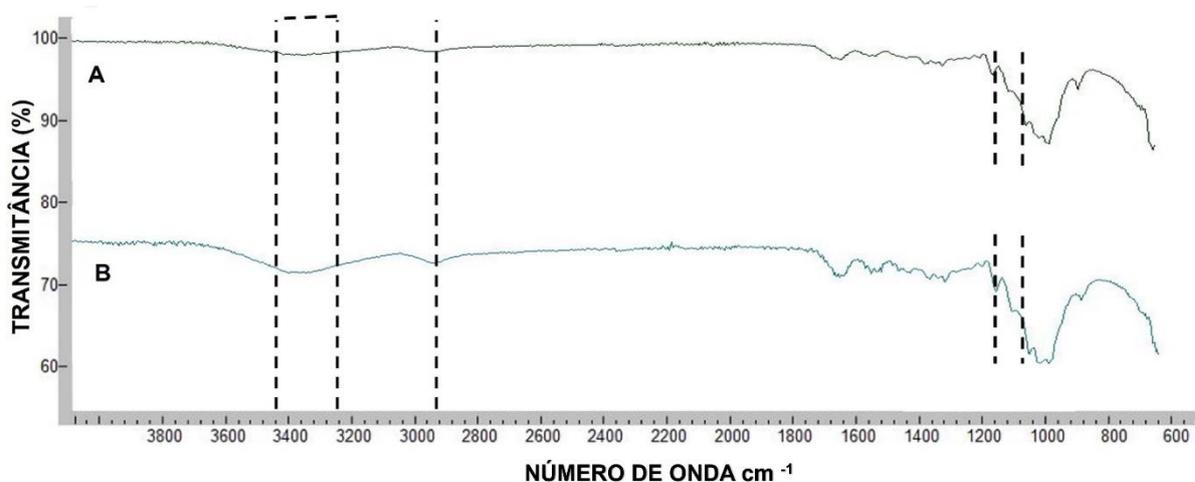


Fonte: Própria do autor

### 2.3.2. Análise por FTIR

De acordo com a literatura, as bandas no intervalo de  $3350-3500\text{ cm}^{-1}$  de celulose pura são atribuídas ao estiramento O-H, enquanto as bandas  $2800-2900\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramentos C-H. A banda em  $1160\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento C-O-C, enquanto as bandas no intervalo  $1035-1060\text{ cm}^{-1}$  são devidas ao estiramento C-O (LAZARINI et al., 2016). Sendo assim os espectros de FTIR das membranas de CB exibidos na Figuras 12, confirmam a produção de membranas de CB puras, e reforçam os resultados obtidos pela TGA indicando que a utilização dos resíduos não altera as propriedades químicas das membranas de CB.

Figura 12 - Espectros de FTIR das membranas de CB produzidas no *K. hansenii* no meio CR 40% (A) e *K. rhaeticus* no meio FE 70% (B)

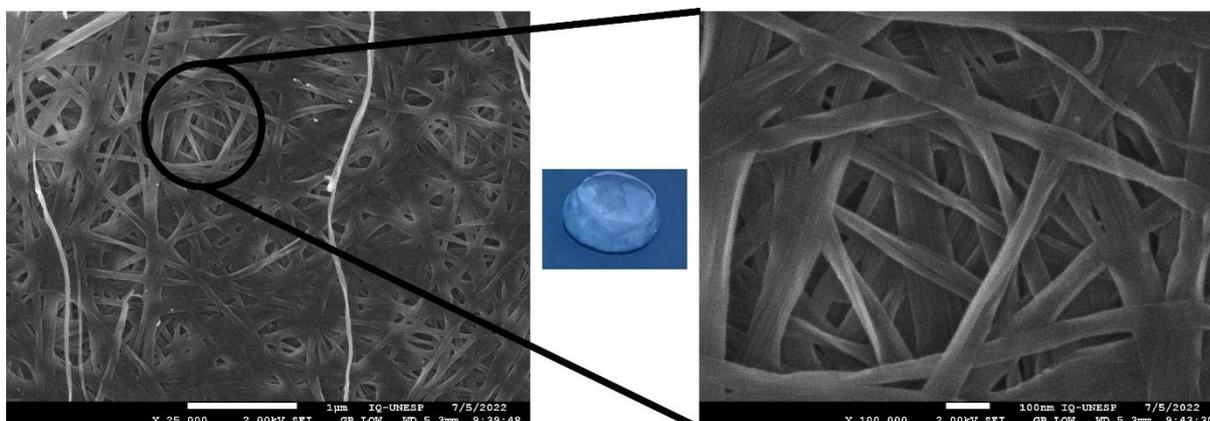


Fonte: Própria do autor

### 2.3.3. Análise por MEV

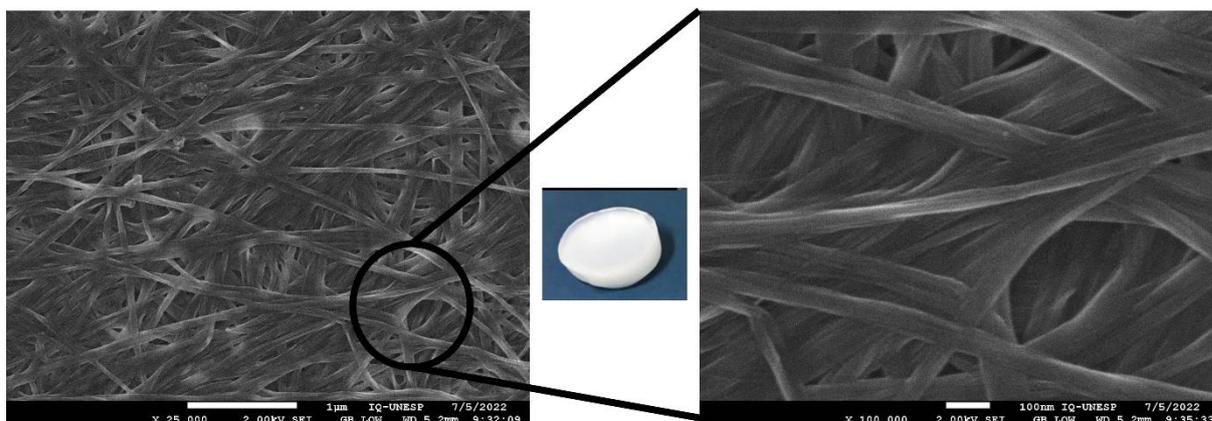
A MEV permite a análise das características morfológicas relacionadas ao entrelaçamento e espessura das fibras, além de uma análise superficial da porosidade. Nas Figura 13 e 14 é possível observar as características morfológicas das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* e *K. rhaeticus* respectivamente. Os resultados obtidos demonstraram diferenças no entrelaçamento de fibras e no tamanho dos poros. Os resultados obtidos reforçam as diferenças entre os aspectos macroscópicos das membranas produzidas pelas diferentes espécies.

Figura 13 - MEV da membrana de CB produzida por *K. hansenii* no meio CR 40% nos aumentos de 25.000x e 100.000x



Fonte: Própria do autor

Figura 14 - MEV da membrana de CB produzida por *K. rhaeticus* no meio FE 70% nos aumentos de 25.000x e 100,000x



Fonte: Própria do autor

#### 2.4. Análise da capacidade de produção de membranas de CB nos resíduos agroindustriais

Os meios FE 70% e CR 40% foram testados quanto a capacidade de produzir CB ao longo do tempo sem a adição de nutrientes.

Para isso os cultivos foram realizados em triplicata (Figuras 15 e 16) e deixados nas mesmas condições de cultivo, com retirada das membranas de CB a cada 7 dias até que não houvesse mais produção de CB no meio utilizado.

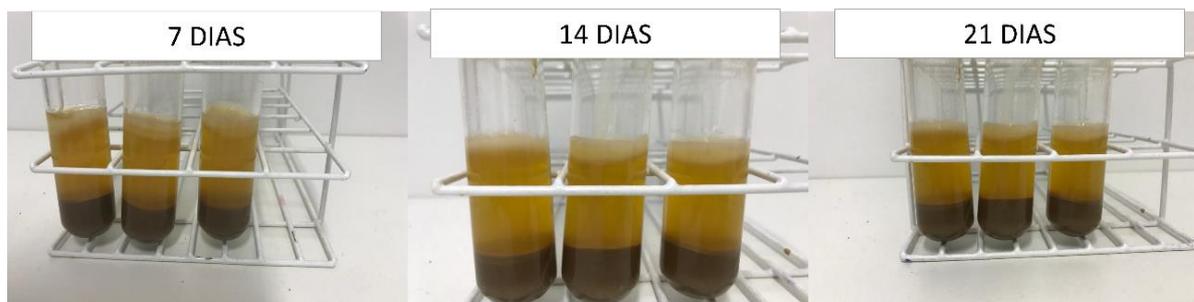
A produção de CB tanto no meio CR 40% utilizando cepas de *K. hansenii*, quando no meio FE 70% utilizando cepas de *K. rhaeticus* se estendeu por 21 dias, vale ressaltar que com 28 dias os cultivos ainda apresentaram membranas de CB, contudo, as membranas eram muito finas dificultando o processamento e por isso foram descartadas e o teste encerrado.

Figura 15 - Os cultivos em triplicata das membranas de CB produzidas ao longo dos 21 dias no meio FE 70% utilizando *K. rhaeticus*



Fonte: Própria do Autor

Figura 16 - Os cultivos em triplicata das membranas de CB produzidas ao longo dos 21 dias no meio CR 40% utilizando *K. hansenii*



Fonte: Própria do Autor

Os resultados de *RMS* e *%Int*, apresentados nas Tabelas 3 e 4 demonstram que ao longo dos dias o *RMS* das membranas foi diminuindo tanto para *K. hansenii*, quanto para *K. rhaeticus*, resultado já esperado devido ao consumo de nutrientes do meio de cultivo pela bactéria.

O *RMS* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* durante os 21 dias ficou entre 13,3167 g/L e 9,7 g/L e a *%Int* foi reprodutível durante os 21 dias, se mantendo entre 78% e 79%. Com relação as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* o *RMS* ficou entre 5,5833 g/L e 3,3 g/L e a *%Int* assim como no cultivo por *K. rhaeticus* se manteve reprodutível ficando em torno de 95% e 98%.

Tabela 3 – Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* ao longo dos 21 dias

Tempo	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
7 DIAS	13,31 ( $\pm 1,58$ )	78,74 ( $\pm 0,75$ )
14 DIAS	11,21 ( $\pm 1,01$ )	79,36 ( $\pm 0,66$ )
21 DIAS	9,10 ( $\pm 0,21$ )	79,63 ( $\pm 0,35$ )

\*Desvio Padrão

Tabela 4 – Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* ao longo dos 21 dias

Tempo	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
7 DIAS	5,58 ( $\pm 0,34$ ) *	97,9199 ( $\pm 1,09$ ) *
14 DIAS	4,31 ( $\pm 0,60$ ) *	96,0952 ( $\pm 1,95$ ) *
21 DIAS	3,30 ( $\pm 0,26$ ) *	95,7908 ( $\pm 1,94$ ) *

\*Desvio Padrão

Os resultados obtidos são importantes, pois reforçam o potencial de utilização dos resíduos na produção de CB, uma vez que os resíduos foram coletados sem custo, e apresentaram produção de CB sem adição de nutrientes por 21 dias.

## CAPÍTULO 2

### PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA UTILIZANDO RESÍDUOS DE HORTIFRÚTI

## Capítulo 2 – Produção de CB utilizando resíduos de hortifrúti

### 1. Materiais e Métodos

#### 1.1. Reagentes

Os reagentes utilizados foram descritos no item 1.1. do Capítulo 1.

#### 1.2. Cepas Bacterianas

As cepas bacterianas utilizadas foram descritas no item 1.2. do Capítulo 1.

#### 1.3. Reativação das cepas bacterianas

As cepas bacterianas para a produção de CB, foram reativadas como descrito no item 1.3. do Capítulo 1.

#### 1.4. Preparo do pré-inóculo bacteriano

O pré-inóculo utilizado para a produção de CB foi o mesmo obtido no item 1.4. do Capítulo 1.

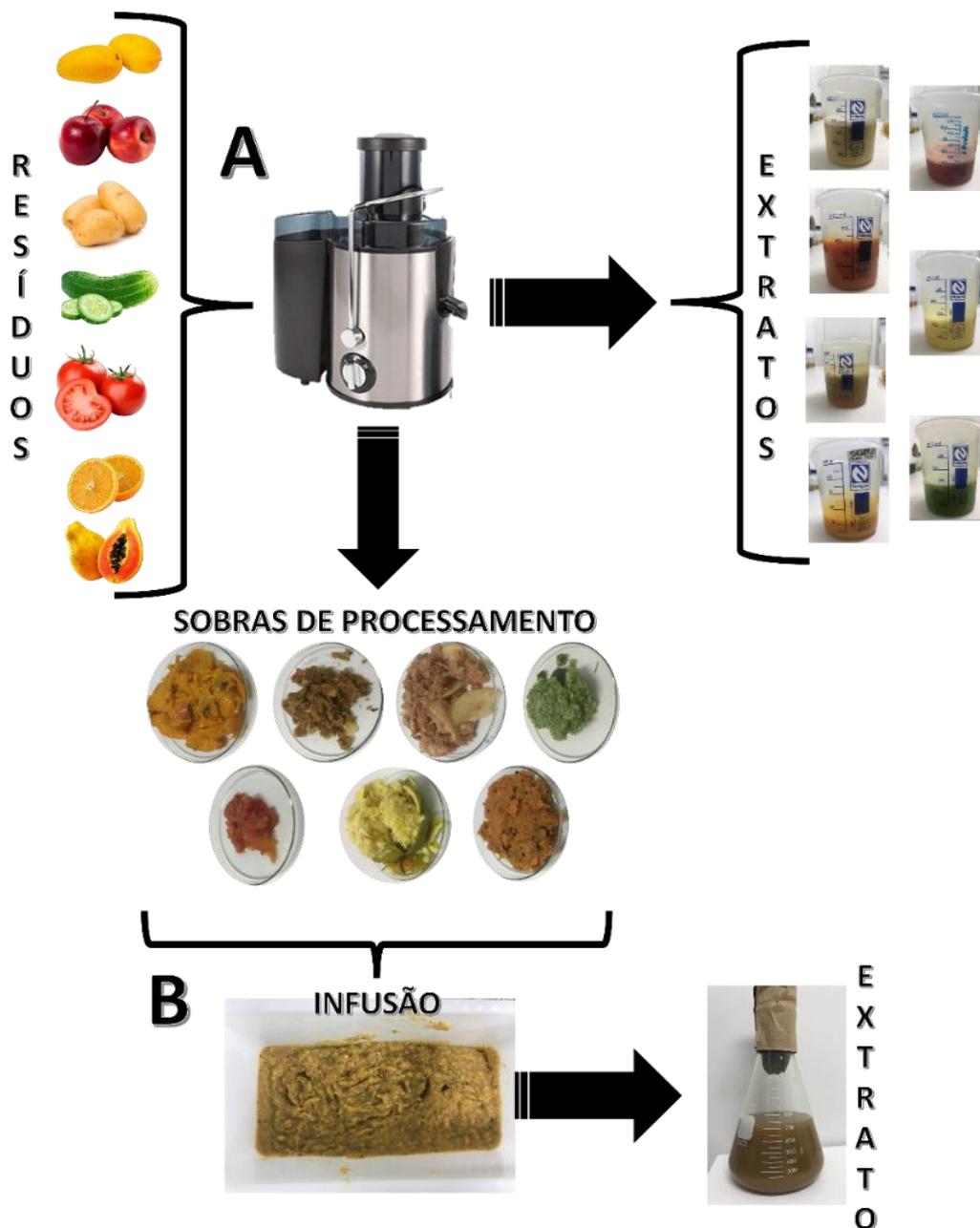
#### 1.5. Obtenção e processamento dos resíduos de hortifrúti para obtenção dos extratos a serem utilizados como fonte de nutrientes na produção de CB

Os resíduos foram coletados em um comércio local da cidade de Araraquara, a coleta foi realizada a partir de compartimentos de descarte do estabelecimento, onde todos os dias são descartados frutas, verduras e legumes em condições consideradas impróprias para o consumo *in natura*.

Os extratos utilizados como meios de cultivo para a produção de CB foram obtidos por meio de dois processamentos, o primeiro processamento Figura 17-A consistiu na trituração dos resíduos em uma centrifuga de alimentos do tipo “*Juicer*”, para obtenção do extrato concentrado. O segundo processamento Figura 17-B consistiu na utilização da parte sólida dos resíduos resultantes do primeiro processamento. Nessa etapa, o resíduo sólido foi colocado em 1 litro de água e mantido a 75°C durante 40 minutos. Após esse período, a suspensão obtida foi submetida a separação dos sólidos por peneirada granulométrica (poro 0,3 mm) para a obtenção do extrato.

Os extratos foram acondicionados em frascos de vidro e autoclavados a 121°C por 20 minutos para a esterilização, para então serem utilizados como meios de cultivos para a produção de CB.

Figura 17 – Esquema do processamento dos resíduos de hortifrúti utilizados na produção de CB



Fonte: Própria do autor.

## 1.6. Produção de membranas de CB

A produção de CB utilizando os resíduos de hortifrúti foi realizada como descrito no item 1.7. do Capítulo 1.

## 1.7. Processamento das membranas de CB produzidas

O processamento das membranas de CB foi realizado como descrito no item 1.9. do Capítulo 1.

## 1.8. Análise do *RMS* das membranas de CB obtidas

A análise do *RMS* das membranas de CB obtidas foi realizada como descrito no item 1.10. do Capítulo 1.

## 1.9. Estudo de *%Int* (% Int) das membranas de CB obtidas

O estudo de *%Int* das membranas de CB obtidas foi realizado como descrito no item 1.11. do Capítulo 1.

## 1.10. Suplementação dos resíduos de hortifrúti para produção de CB

O extrato de hortifrúti que apresentou o menor *RMS* foi suplementado com os extratos de resíduos de cana-de-açúcar a 10% utilizados no Capítulo 1.

Os extratos de FE, CR e CP a 10% foram centrifugados a 3500 rpm por 15 minutos para que resíduos insolúveis não fossem utilizados. Os 3 extratos foram transferidos para um mesmo recipiente estéril onde foi obtido um mix (FE, CR e CP) com volume total de 40 mL. Em seguida, foi realizada a análise quantitativa de açúcares redutores, ficando entre 1% e 1,5%. Para a suplementação 30 mL do extrato obtido foi transferido para um frasco contendo 70 mL do extrato de hortifrúti.

A produção de CB utilizando o extrato suplementado com o mix dos resíduos de cana-de-açúcar, foi realizada como descrito no item 1.7. do Capítulo 1.

### 1.11. Caracterização das membranas de CB obtidas

As membranas de CB produzidas utilizando resíduos de hortifrúti foram caracterizadas por FTIR e TGA/DTG

## 2. Resultados

### 2.1. Obtenção e processamento dos resíduos de hortifrúti para produção de CB

Os resíduos de hortifrúti obtidos foram manga, maçã, batata, pepino, tomate, laranja e mamão. Para o processamento a massa do resíduo foi mensurada, assim como o volume de extrato obtido e massa que sobrou após o processamento (Tabela 5).

Os extratos obtidos dos resíduos de manga e mamão foram acrescidos de 100 mL e 300 mL de água respectivamente, devido à baixa fluidez do extrato obtido. Sendo assim, o volume final dos dois resíduos foi 160mL para manga e 560mL para o mamão. O extrato obtido com a utilização dos resíduos do processamento apresentou um volume final de 600 mL.

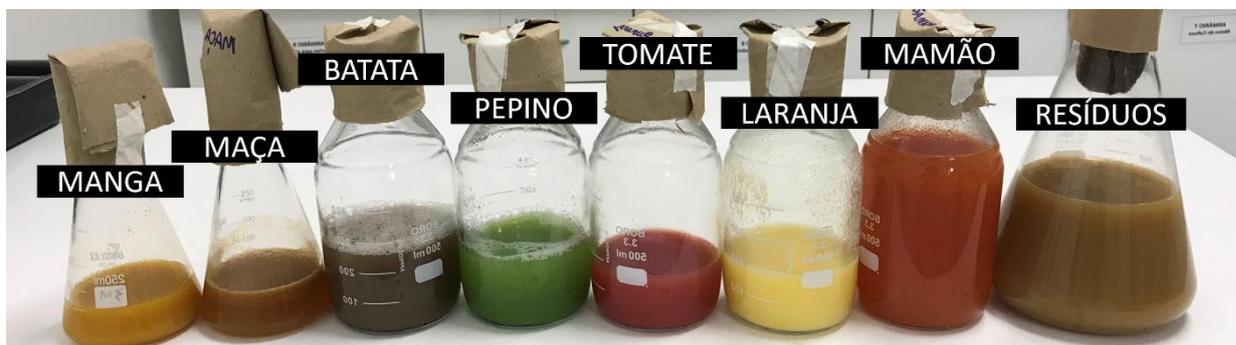
Tabela 5 – Resíduos de Hortifrúti utilizados na produção de CB

Resíduo	Massa do Resíduo antes do processamento (g)	Volume de Extrato obtido (mL)	Massa da sobra do processamento (g)
Manga	320	60	198
Maçã	374	130	88
Batata	599	340	205
Pepino	374	250	52
Tomate	266	175	82
Laranja	441	225	156
Mamão	704	260	176

Fonte: Próprio do autor

Na Figura 18 é possível ver os extratos obtidos após o processamento dos resíduos de hortifruti antes da autoclavação.

Figura 18 – Aspecto dos extratos obtidos após o processamento dos resíduos de hortifruti antes da autoclavagem



Fonte: Própria do autor

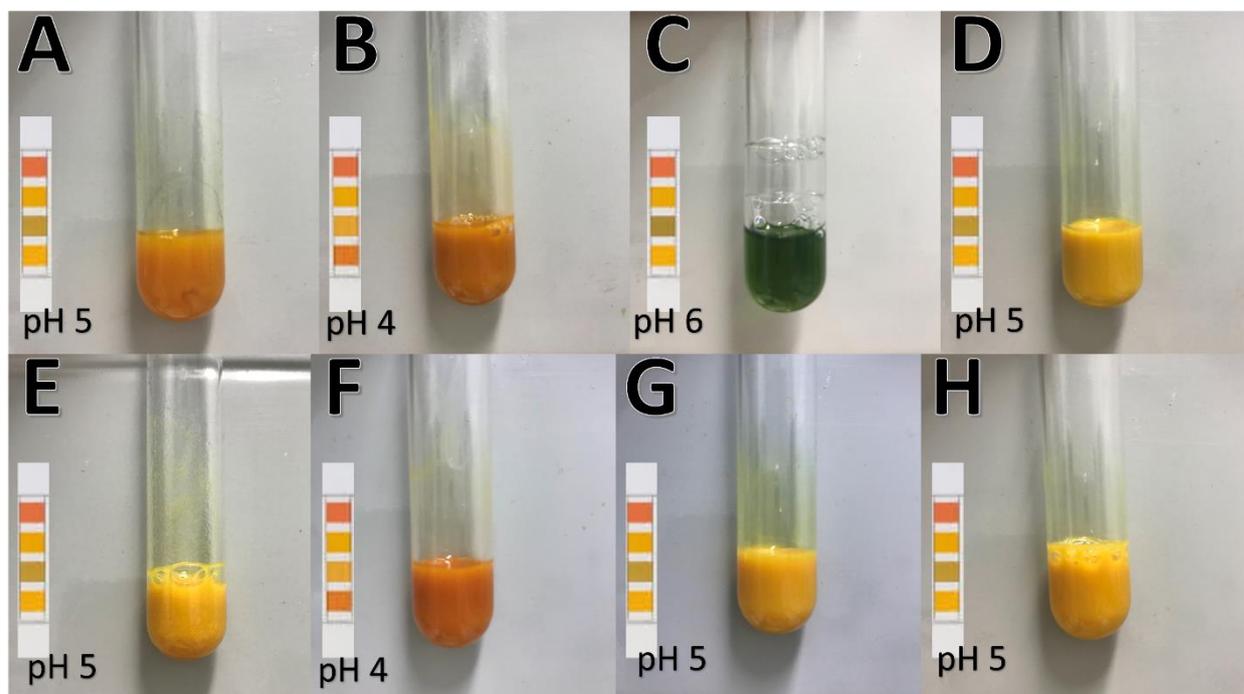
Os extratos obtidos foram analisados quanto a presença de açúcares redutores utilizando Reativo de Benedict quantitativo, a escala de cor indicando as concentrações de açúcares foi descrita anteriormente na Figura 5 do Capítulo 1. Os valores de pH também foram mensurados utilizando fita reagente. Na Tabela 6 e Figura 19 é possível observar as diferentes concentrações de açúcares e os valores de pH obtidos.

Os resultados indicaram que o extrato obtido do processamento da manga (Figura 19-A) apresentou concentração de 1,5% a 2,0% de açúcares redutores e pH de 5,0. O extrato de maçã (Figura 19-B) apresentou a mesma concentração de açúcares que a manga, porém com pH 4,0. O extrato de batata (Figura 19-C) foi o que apresentou a menor concentração de açúcares redutores, ficando entre 0,5% e 1,0% a pH de 6,0. O extrato de pepino (Figura 19-D) e de tomate (Figura 19-E) apresentaram a presença de 1,0% a 1,5% de açúcares redutores e pH 5,0. O extrato obtido da laranja (Figura 19-F) apresentou 1,5% a 2,0% de açúcares redutores e pH 4,0. E os extratos obtidos de mamão (Figura 19-G) e dos resíduos do processamento (Figura 19-H) apresentaram 1,0% a 1,5% de açúcares redutores e pH 5,0.

Tabela 6 – Concentração de açúcares redutores e valores de pH dos extratos obtidos do processamento de resíduos de hortifrúti

Resíduo	% de Açúcar Redutor	pH
Manga	1,5 a 2,0	5,0
Maçã	1,5 a 2,0	4,0
Batata	0,5 a 1,0	6,0
Pepino	1,0 a 1,5	5,0
Tomate	1,0 a 1,5	5,0
Laranja	1,5 a 2,0	4,0
Mamão	1,0 a 1,5	5,0
Resíduos de Processamento	1,0 a 1,5	5,0

Figura 19 – Análise de concentração de açúcares redutores e valores de pH dos extratos de manga (A), maçã (B), batata (C), pepino (D), tomate (E), laranja (F), mamão (G) e dos resíduos do processamento (H).

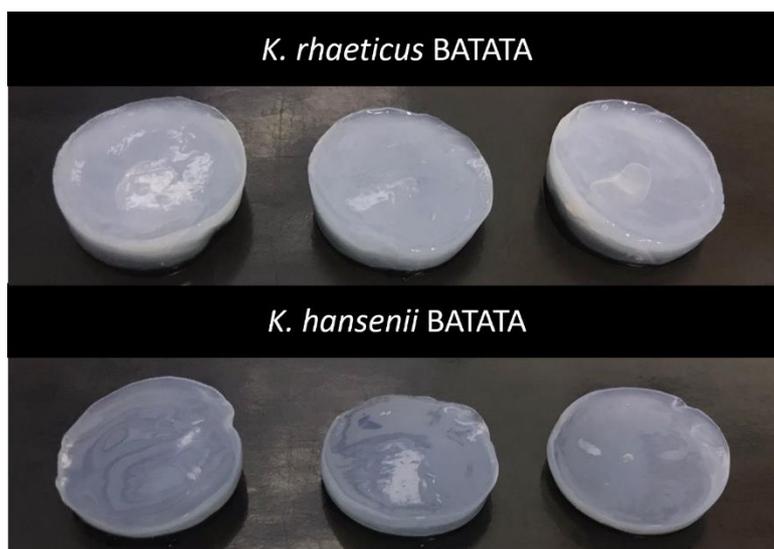


Fonte: Própria do autor

## 2.2. Produção de membranas de CB utilizando extratos obtidos do processamento de resíduos de hortifrúti

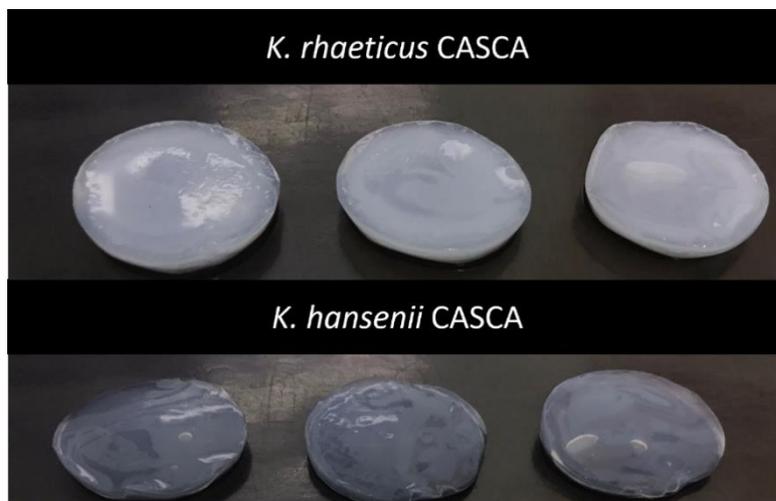
Os resultados obtidos demonstraram que todos os extratos utilizados foram capazes de produzir CB, utilizando cepas de *K. hansenii* e *K. rhaeticus*. Nas Figuras 20 a 27 é possível observar o aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* e *K. rhaeticus*, onde houve diferenças em relação a transparência e espessura de acordo com o meio de cultivo utilizado, é possível analisar que a membrana de CB produzida no extrato de manga, foram mais transparentes e finas quando comparado com as demais.

Figura 20 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de batata



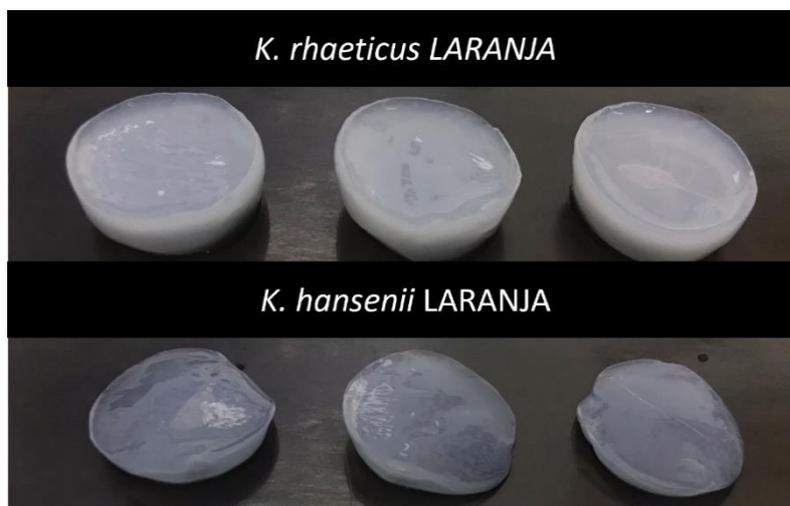
Fonte: Própria do autor

Figura 21 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de cascas



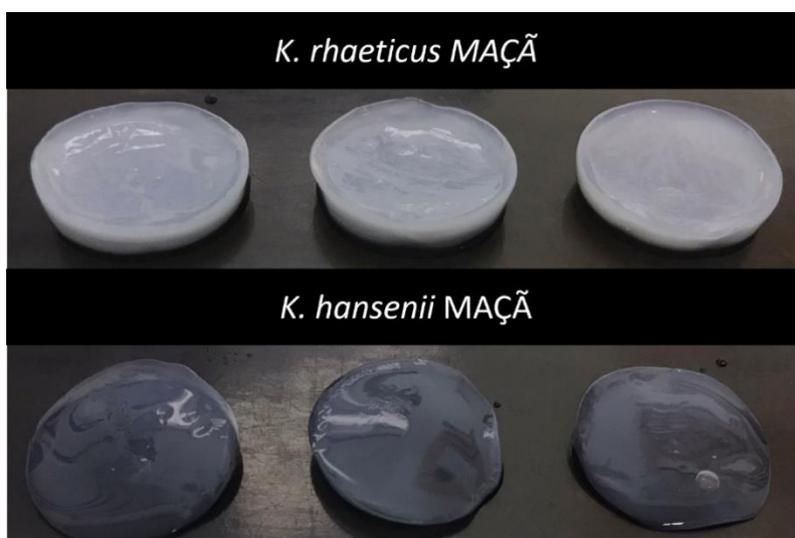
Fonte: Própria do autor

Figura 22 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de laranja



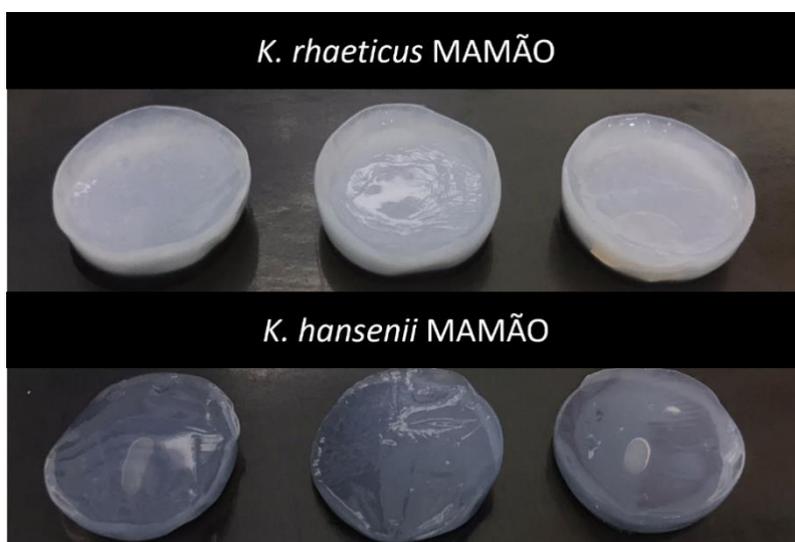
Fonte: Própria do autor

Figura 23 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de maçã



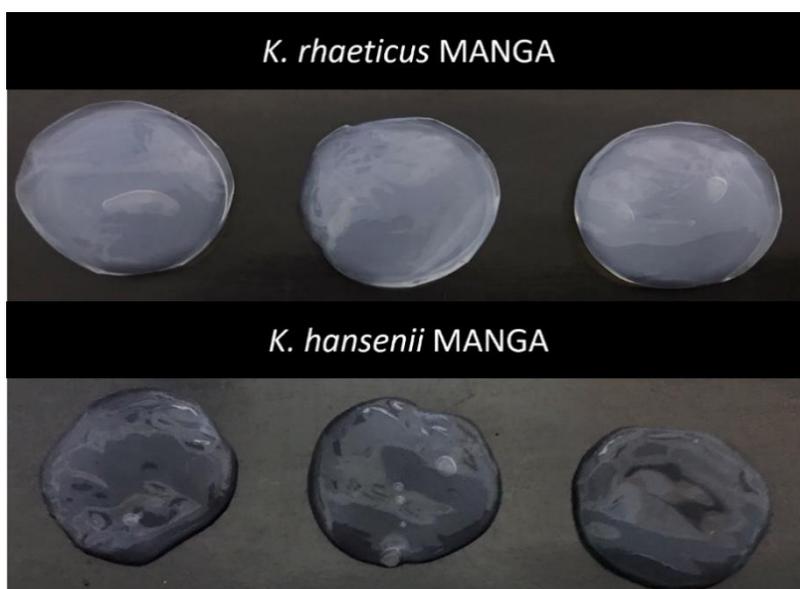
Fonte: Própria do autor

Figura 24 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de mamão



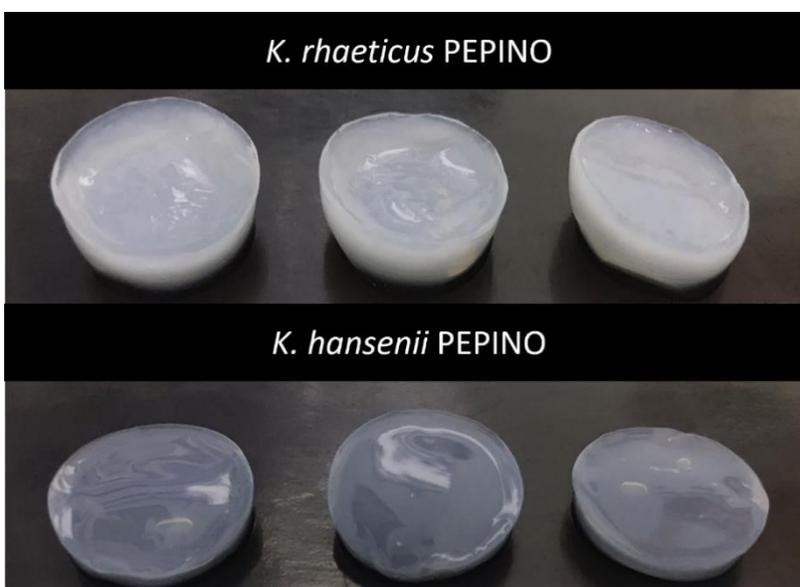
Fonte: Própria do autor

Figura 25 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de manga



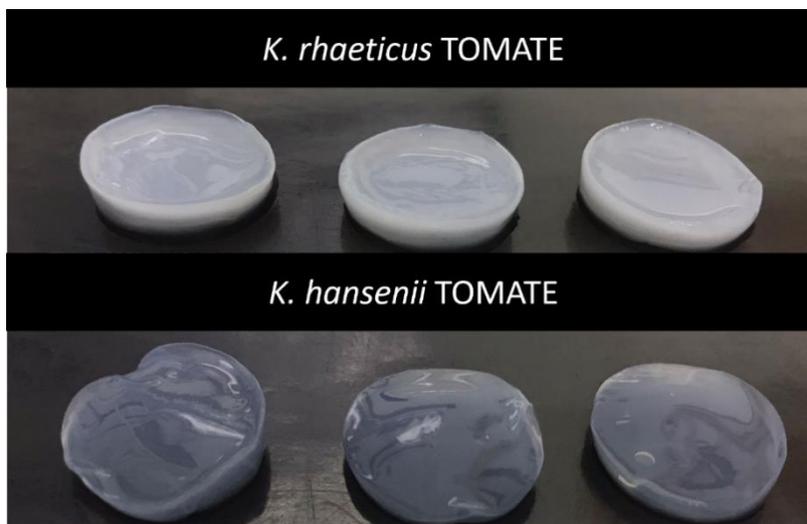
Fonte: Própria do autor

Figura 26 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de pepino



Fonte: Própria do autor

Figura 27 - Aspecto macroscópico das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* no meio de cultivo com extrato de tomate



Fonte: Própria do autor

### 2.3. Análise do *RMS* e % *Int* das membranas de CB obtidas

O *RMS* das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* utilizando os extratos de resíduos de hortifruti como meio de cultivo é descrito na Tabela 7. Os resultados obtidos demonstram as membranas de CB produzidas no meio de resíduos de pepino apresentaram o maior rendimento em massa seca 7,988 g/L. As membranas de CB com menor *RMS* foram as produzidas no meio utilizando resíduos de manga 1,524 g/L, sendo assim o extrato de manga foi utilizado para a suplementação utilizando resíduos de cana-de-açúcar, como descrito no item 1.10 do Capítulo 2.

Com relação a %*Int* a membrana de CB utilizando o extrato de maçã apresentou a maior porcentagem, porém sem diferenças significativas quando comparado com a membrana de CB produzida utilizando o extrato de pepino.

Tabela 7 – Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* utilizando resíduos de hortifrutí

Resíduo	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
BATATA	6,76 (± 0,05) *	85,11 (± 0,12) *
MAÇÃ	1,91 (± 0,13) *	88,42 (± 0,78) *
LARANJA	4,97 (± 0,10) *	84,34 (± 0,34) *
MAMÃO	5,16 (± 0,74) *	82,28 (± 2,53) *
MANGA	1,52 (± 0,10) *	82,65 (± 1,24) *
TOMATE	3,51 (± 0,21) *	80,12 (± 1,21) *
CASCA	3,04 (± 0,23) *	77,45 (± 1,74) *
PEPINO	7,98 (± 0,05) *	86,57 (± 0,11) *

\*Desvio Padrão

Os *RMS* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* estão descritos na Tabela 8. Os resultados obtidos demonstram que o maior *RMS* foi obtido utilizando extratos de pepino 17,168 g/L, enquanto o menor foi o obtido utilizando o extrato de manga. Esse resultado é o mesmo obtido na produção utilizando cepas de *K. hansenii*, contudo, a produção de CB utilizando as cepas de *K. rhaeticus* foi significativamente maior que a produção obtida utilizando cepas de *K. hansenii*.

A *%Int* das membranas de CB produzidas utilizando cepas de *K. rhaeticus* demonstrou que as membranas produzidas utilizando os extratos de pepino e dos resíduos do processamento apresentaram a maior porcentagem de *%Int* sem diferenças significativas. No geral, todas as membranas de CB obtidas, com exceção da produzida no extrato de mamão e tomate não apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 8 – Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* utilizando resíduos de hortifruti

Resíduo	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
BATATA	8,09 ( $\pm$ 0,17) *	72,51 ( $\pm$ 0,6) *
MAÇÃ	6,98 ( $\pm$ 0,07) *	73,94 ( $\pm$ 0,28) *
LARANJA	9,71 ( $\pm$ 0,05) *	73,70 ( $\pm$ 0,14) *
MAMÃO	13,77 ( $\pm$ 0,27) *	34,86 ( $\pm$ 1,27) *
MANGA	4,22 ( $\pm$ 0,24) *	73,42 ( $\pm$ 1,51) *
TOMATE	14,69 ( $\pm$ 0,55) *	68,79 ( $\pm$ 1,17) *
RESÍDUO	7,58 ( $\pm$ 0,11) *	77,16 ( $\pm$ 0,34) *
PEPINO	17,16 ( $\pm$ 0,23) *	75,70 ( $\pm$ 2,16) *

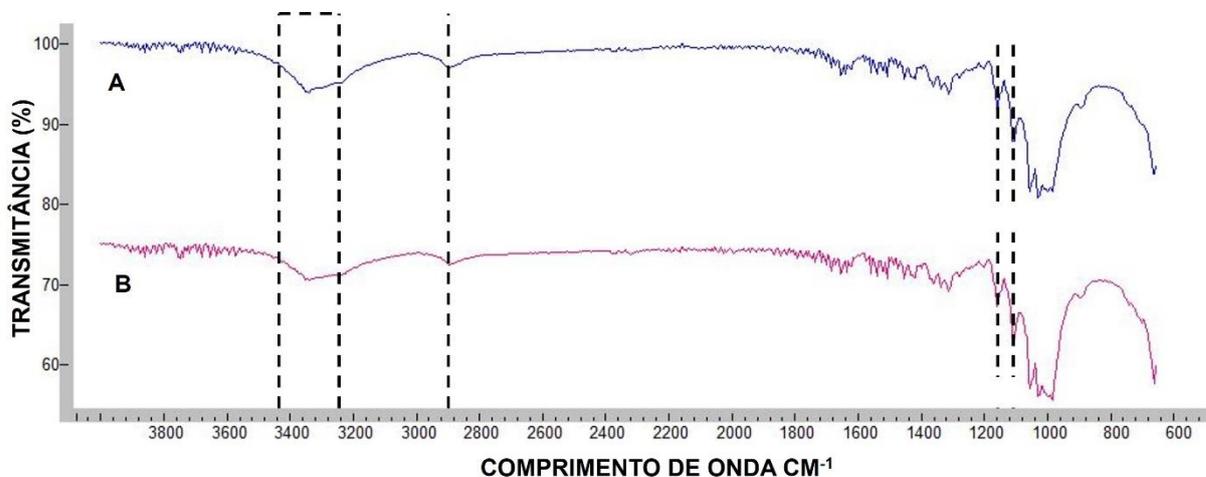
\* Desvio Padrão

#### 2.4. Análise por FTIR

Os resultados obtidos foram os mesmos da produção utilizando resíduos de cana-de-açúcar, como discutido no item 2.3.2. do Capítulo 1. Com as bandas no intervalo de 3350-3500  $\text{cm}^{-1}$  de celulose pura são atribuídas ao estiramento O-H, enquanto as bandas 2800-2900  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramentos C-H. A banda em 1160  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento C-O-C, enquanto as bandas no intervalo 1035-1060  $\text{cm}^{-1}$  são devidas ao estiramento C-O.

A Figura 28 (A) e (B), apresentam os espectros de FTIR das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* e *K. rhaeticus*, respectivamente, nos diferentes extratos de resíduos de hortifruti.

Figura 28 - Espectros de FTIR das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* (A) e *K. rhaeticus* (B) no meio de extrato de pepino

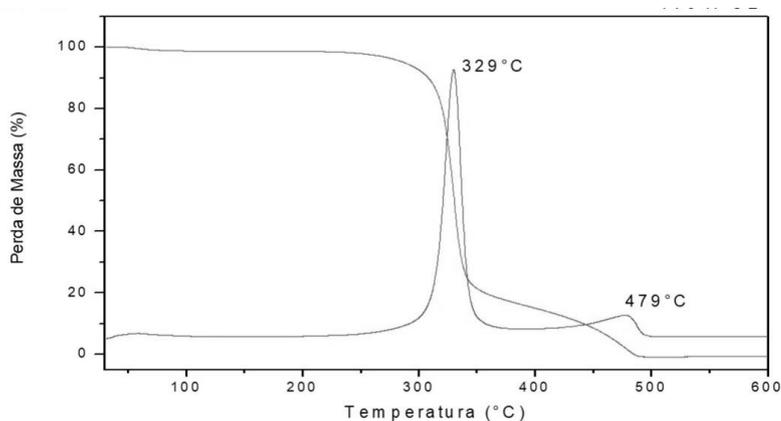


Fonte: Própria do autor

## 2.5. Análise termogravimétrica

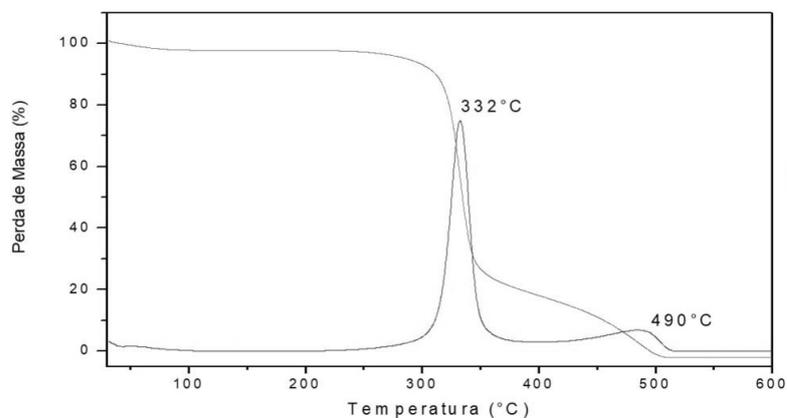
As análises de TGA/DTG das membranas de CB produzidas utilizando o meio de extrato de pepino, reforçaram os resultados obtidos no capítulo anterior de que a utilização de resíduos não interfere nas características físico-químicas da CB. É possível analisar os dois eventos de perda de massa, tanto para as membranas produzidas por *K. hansenii* quando por *K. rhaeticus*, como pode ser observado nas Figuras 29 e 30 respectivamente.

Figura 29 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por *K. hansenii* no meio com extrato de pepino



Fonte: Própria do autor

Figura 30 - Análise do comportamento térmico por TGA da membrana de CB produzida por *K. rhaeticus* no meio com extrato de pepino



Fonte: Própria do autor

## 2.6. Suplementação dos resíduos de hortifrúti para produção de CB

Como descrito anteriormente o extrato de manga apresentou o menor *RMS* tanto para a produção com *K. hansenii* quanto utilizando cepas de *K. rhaeticus*. Sendo assim, os extratos foram suplementados com os resíduos de cana-de-açúcar à 10%. Os extratos de CR, FE e CP nessa concentração apresentaram produção CB insatisfatória, como discutido no Capítulo 1.

Foi utilizado 30% de resíduo de cana-de-açúcar no extrato de manga. Os resultados obtidos demonstram que a suplementação aumentou o *RMS* das membranas de CB utilizando *K. hansenii* e *K. rhaeticus*, como pode ser observado na Tabela 9.

Tabela 9 - Análise do *RMS* e *%Int* das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* e *K. hansenii* utilizando extrato de manga suplementado com 30% de resíduos de cana-de-açúcar

EXTRATO DE MANGA COM SUPLEMENTAÇÃO	<i>RMS</i> (g/L)	<i>%Int</i>
<i>K. hansenii</i>	7,28 ( $\pm$ 0,22) *	76,23 ( $\pm$ 3,30) *
<i>K. rhaeticus</i>	13,56 ( $\pm$ 0,36) *	72,92 ( $\pm$ 0,82) *

\* Desvio Padrão

O *RMS* das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* utilizando extrato de manga antes da suplementação foi de 1,524  $\pm$ 0,109 g/L, com a suplementação o *RMS* foi de 7,286  $\pm$ 0,223 g/L, um aumento de aproximadamente 377% na produção.

Os resultados obtidos na produção utilizando cepas de *K. rhaeticus* com o extrato suplementado, também foi superior quando comparado ao extrato puro. Enquanto o extrato puro apresentou *RMS* de 4,224  $\pm$ 0,241 g/L, o suplementado foi de 13,569  $\pm$ 0,368 g/L, um aumento de cerca de 221% na produção.

Com relação a *%Int* as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* no extrato suplementado apresentaram um resultado inferior quando comparado com o extrato puro, 82,656% e 76,263% respectivamente. Entretanto, as membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* apresentaram *%Int* sem diferenças significativas entre o extrato puro e suplementado.

## CAPÍTULO 3

LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS UTILIZANDO AS MEMBRANAS DE CB  
PRODUZIDAS UTILIZANDO RESÍDUOS

## Capítulo 3 – Liberação de fármacos utilizando as membranas de CB produzidas utilizando resíduos

### 1. Materiais e Métodos

#### 1.1. Reagentes

Os reagentes utilizados foram descritos no item 1.1. do Capítulo 1.

#### 1.2. Cepas Bacterianas

As cepas bacterianas utilizadas foram descritas no item 1.2. do Capítulo 1.

#### 1.3. Tratamentos das membranas de CB com metanol (MeOH)

As membranas de CB que apresentaram o melhor *RMS* na produção utilizando os diferentes tipos de resíduos foram selecionadas para os testes de liberação de fármacos.

As membranas foram processadas como descrito no item 1.9, e receberam diferentes tratamentos físicos e químicos.

O tratamento com MeOH foi realizado de acordo com Yamada et al (YAMADA et al., 2024) as membranas de CB produzidas e processadas foram cortadas em discos de 10 mm de diâmetro, colocadas separadamente em placas de 24 poços e mantidas submersas em 100  $\mu$ L de MeOH mantidas em refrigeração a 4 °C por 24 horas, as membranas foram submetidas a tratamento térmico a 65 °C em estufa ventilada. Após o tratamento térmico, o metanol residual foi completamente removido. A CB-MeOH obtida e a CB tratada com água destilada (CB-H<sub>2</sub>O) foram utilizadas para a impregnação dos fármacos.

#### 1.4. Diferentes tipos de secagem das membranas de CB

As membranas de CB foram submetidas a diferentes tipos de secagem utilizando estufa ventilada e liofilizador, tanto as membranas que receberam tratamento com metanol (CB-MeOH), quanto as utilizadas como controle (CB-H<sub>2</sub>O).

Para a secagem em estufa ventilada as membranas foram retiradas dos frascos contendo MeOH e água, e em seguida colocadas em placas de Petri. As placas foram colocadas em estufa ventilada a 75°C até a desidratação completa.

Para a secagem por liofilização, as membranas de CB foram mantidas em freezer a -80°C por 24 horas e posteriormente colocadas no liofilizador por cerca de 24 horas.

Posteriormente, tanto as membranas obtidas após o tratamento por MeOH e secas em estufa (CB-MeOH-E) e as liofilizadas (CB-MeOH-L), quanto as controle secas em estufa (CB- H<sub>2</sub>O -E) e liofilizadas (CB- H<sub>2</sub>O -L), foram armazenadas até o uso nos testes de liberação por disco difusão.

#### 1.5. Intumescimento das membranas de CB com fármacos e teste de liberação por disco difusão

Os discos de CB-MeOH-E, CB-MeOH-L, CB- H<sub>2</sub>O -E e CB- H<sub>2</sub>O -L, com 10mm de diâmetro foram colocados em placas de 24 poços e submetidas à esterilização sob luz UV por 60 minutos em cabine de segurança biológica com fluxo laminar. Após os 60 minutos, 100 µL de uma solução estoque (20 mg/mL) em água e em metanol dos fármacos CRO e LVX foram colocados sobre os discos de CB. Os discos foram mantidos sob refrigeração (4°C) durante 24h para total intumescimento e garantia da estabilidade dos fármacos.

Após as 24h, os discos de CB intumescidos com os fármacos, foram colocados em temperatura ambiente de 25°C para a completa desidratação. Após a desidratação, os discos de CB foram colocados sobre ágar MH inoculado com *S. aureus* ATCC 25925, espécie bacteriana sensível a todos os antibacterianos testados, (ajustado para escala 0,5 de MacFarland  $1,5 \times 10^8$  UFC). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica MARCONI-MA 032/3 a 37°C por 24h.

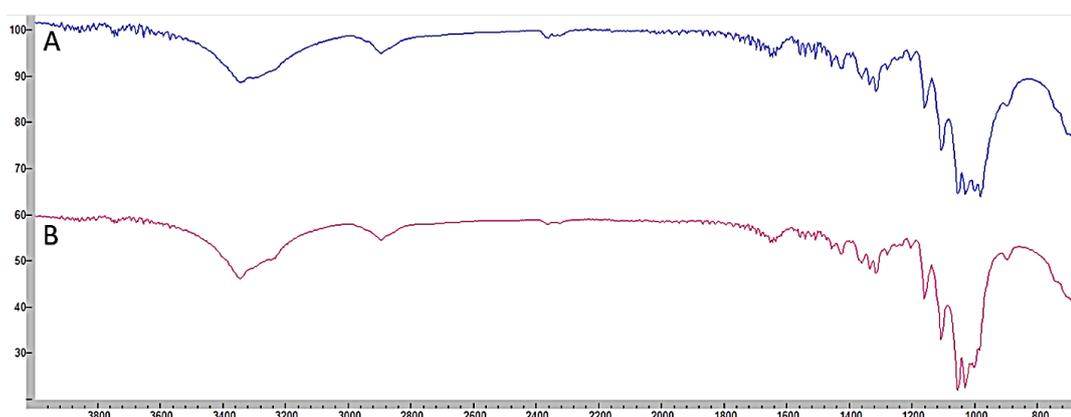
Decorridas as 24h, os halos de inibição foram mensurados utilizando paquímetro Mitutoyo com precisão de 0,05mm e os discos de CB foram transferidos para uma nova placa de ágar MH inoculada com *S. aureus*, nas mesmas condições descritas. Esse processo foi repetido até que um ou mais discos não apresentassem mais a formação de halos de inibição. Os experimentos foram realizados em triplicata seguindo a metodologia adaptada do *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (CLSI, 2019).

## 2. Resultados

### 2.1. Análise por FTIR das membranas de CB após o tratamento por MeOH

As membranas de CB que foram tratadas com MeOH foram submetidas a análise por FTIR, na Figura 31 é possível analisar que após a desidratação completa, tanto na estufa ventilada (Figura 31-A), quanto pela liofilização (Figura 31-B) as membranas de CB não apresentaram alterações na sua estrutura química, pois as bandas de celulose pura no intervalo de 3350-3500  $\text{cm}^{-1}$ , 2800-2900  $\text{cm}^{-1}$ , 1160  $\text{cm}^{-1}$  e 1035-1060  $\text{cm}^{-1}$  permaneceram sem alterações.

Figura 31 - Espectros de FTIR das membranas de CB após o tratamento utilizando MeOH e secas em estufa ventilada (Espectro A) e liofilizadas (Espectro B).



Fonte: Própria do autor

### 2.2. Teste de liberação de CRO e LVX utilizando as membranas de CB produzidas nos extratos de resíduos de cana-de-açúcar

As membranas utilizadas no teste de difusão em disco foram as que apresentaram o melhor desempenho na análise de *RMS*, sendo assim a membrana produzida no FE 70% para *K. rhaeticus* e CR 40% para *K. hansenii*. As membranas foram submetidas ao tratamento com MeOH e diferentes tipos de secagem como descrito no item 1.3 deste Capítulo.

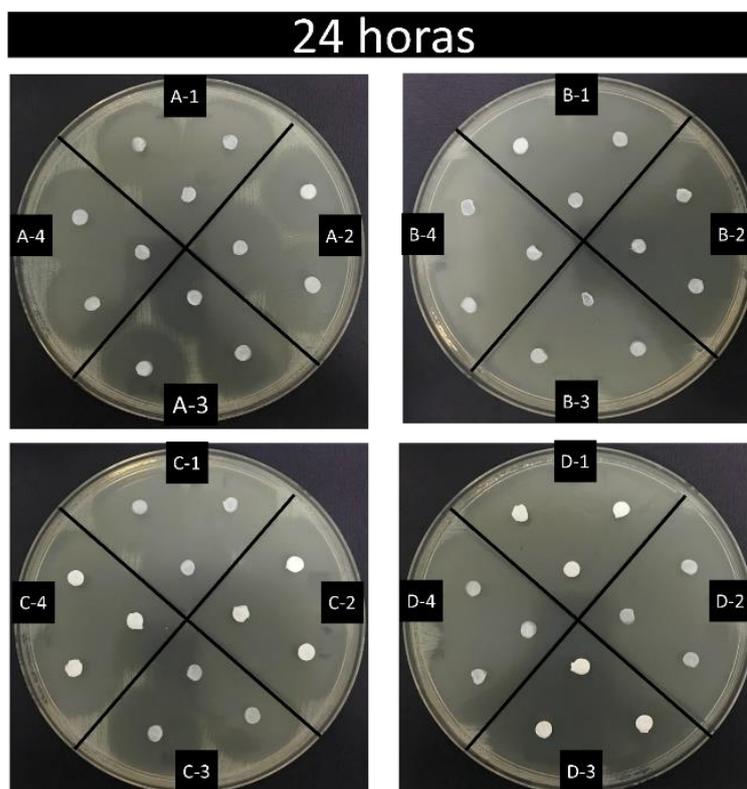
Sendo assim, as membranas utilizadas para o teste de liberação foram as produzidas por *K. hansenii* submetidas ao tratamento com MeOH e secas em estufa ventilada (CR40-MeOH-E), as submetidas ao tratamento e liofilizadas (CR40-MeOH-

L) e sem o tratamento com MeOH secas e liofilizadas CR40- H<sub>2</sub>O-E e CR40- H<sub>2</sub>O -L, respectivamente.

As membranas produzidas por *K. rhaeticus* utilizadas no teste de liberação foram FE70-MeOH-E, FE70-MeOH-L, FE70- H<sub>2</sub>O-E e FE70- H<sub>2</sub>O -L.

Os resultados obtidos demonstram que tanto as membranas produzidas por *K. hansenii*, quanto as produzidas por *K. rhaeticus* apresentaram a capacidade de liberação dos fármacos antibacterianos CRO e LVX. Na Figura 32, é possível observar que nas primeiras 24 horas todas as membranas de CB apresentaram o *burst* de liberação dos fármacos.

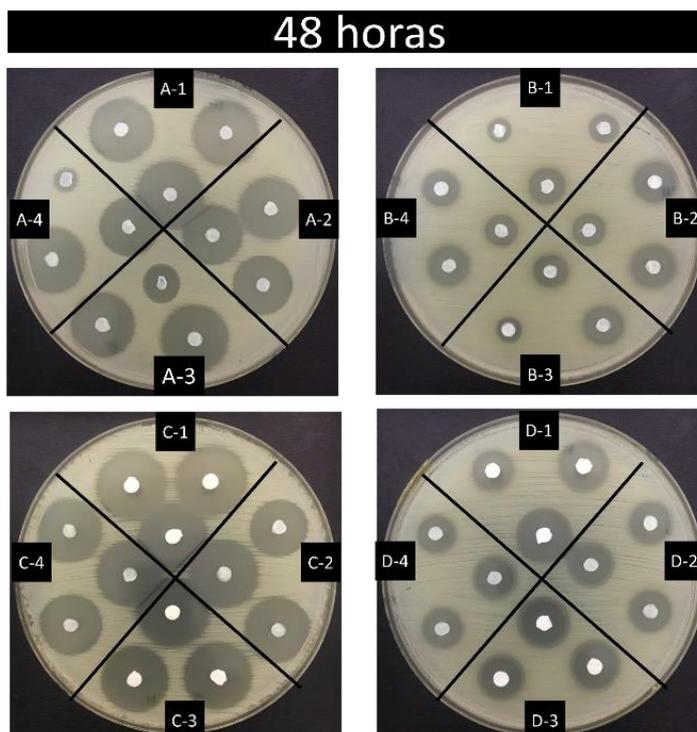
Figura 32 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 24 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas nos meios de resíduos de cana-de-açúcar. CR40-MeOH-L-LVX (A-1), CR40-MeOH-E-LVX (A-2), CR40- H<sub>2</sub>O -L-LVX (A-3) e CR40-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-4). CR40-H<sub>2</sub>O-L-CRO (B-1), CR40-H<sub>2</sub>O -E-CRO (B-2), CR40-MeOH-L-CRO (B-3) e CR40-MeOH-E-CRO (B-4). FE70-MeOH-L-LVX (C-1), FE70-MeOH-E-LVX (C-2), FE70-H<sub>2</sub>O-L-LVX (C-3) e FE70-H<sub>2</sub>O-E-LVX (C-4). FE70-H<sub>2</sub>O-L-CRO (D-1), FE70- H<sub>2</sub>O -E-CRO (D-2), FE70-MeOH-L-CRO (D-3) e FE70-MeOH-E-CRO (D-4).



Fonte: Própria do autor

A Figura 33 mostra os halos de inibição de crescimento de *S. aureus* após 48 horas do início da liberação. Os resultados indicam que com esse tempo, a triplicata das membranas CR40- H<sub>2</sub>O -L-LVX (Figura 33 A-3), CR40- H<sub>2</sub>O -E-LVX (Figura 33 A-4), CR40- H<sub>2</sub>O -L-CRO (Figura 33 B-1), CR40-MeOH-L-CRO (Figura 33 B-3) e FE70- H<sub>2</sub>O -L-CRO (Figura 33 D-1), não apresentaram mais reprodutibilidade no tamanho dos halos de inibição.

Figura 33 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 48 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas nos meios de resíduos de cana-de-açúcar. CR40-MeOH-L-LVX (A-1), CR40-MeOH-E-LVX (A-2), CR40- H<sub>2</sub>O -L-LVX (A-3) e CR40-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-4). CR40-H<sub>2</sub>O-L-CRO (B-1), CR40- H<sub>2</sub>O -E-CRO (B-2), CR40-MeOH-L-CRO (B-3) e CR40-MeOH-E-CRO (B-4). FE70-MeOH-L-LVX (C-1), FE70-MeOH-E-LVX (C-2), FE70-H<sub>2</sub>O-L-LVX (C-3) e FE70-H<sub>2</sub>O-E-LVX (C-4). FE70-H<sub>2</sub>O-L-CRO (D-1), FE70- H<sub>2</sub>O -E-CRO (D-2), FE70-MeOH-L-CRO (D-3) e FE70-MeOH-E-CRO (D-4).



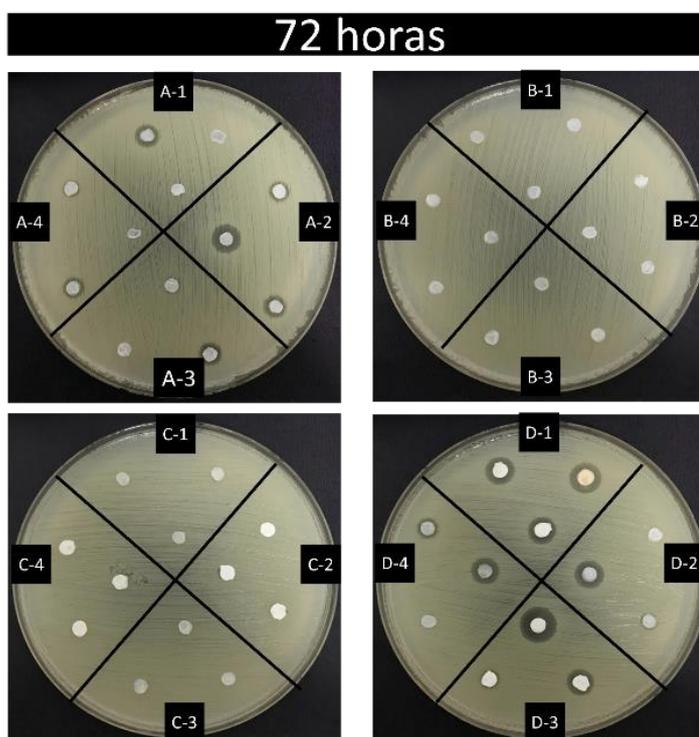
Fonte: Própria do autor

Na Figura 34, é possível analisar os resultados da liberação de CRO e LVX decorridas 72 horas. As membranas CR40- H<sub>2</sub>O -L-CRO (Figura 34 B-1), CR40- H<sub>2</sub>O -E-CRO (Figura 34 B-2), CR40-MeOH-L-CRO (Figura 34 B-3), CR40-MeOH-E-CRO

(Figura 34 B-4), FE70-MeOH-L-LVX (Figura 34 C-1), FE70-MeOH-E-LVX (Figura 34 C-2), FE70- H<sub>2</sub>O -L-LVX (Figura 34 C-3) e FE70- H<sub>2</sub>O -E-LVX (Figura 34 C-4) não apresentaram mais halos de inibição.

Com relação as demais membranas é possível observar a perda de reprodutibilidade, pois, uma ou duas membranas da triplicata não apresentavam mais halos de inibição. Em alguns casos, como com as membranas FE70-H<sub>2</sub>O-L-CRO (Figura 34 D-1) e FE70-MeOH-L-CRO (Figura 34 D-3) mesmo aparentando a presença de halos de inibição, houve o crescimento de uma fina camada de bactérias, esse resultado indica que as membranas de CB ainda apresentavam a capacidade de liberação de CRO, contudo, a presença do crescimento bacteriano mesmo que de forma atenuada pode indicar que a concentração de CRO não era mais suficiente para a formação de um halo sem nenhum crescimento. Sendo assim, os testes de liberação por disco difusão utilizando as membranas de CB produzidas nos resíduos de cana de açúcar, foram encerrados com 72h.

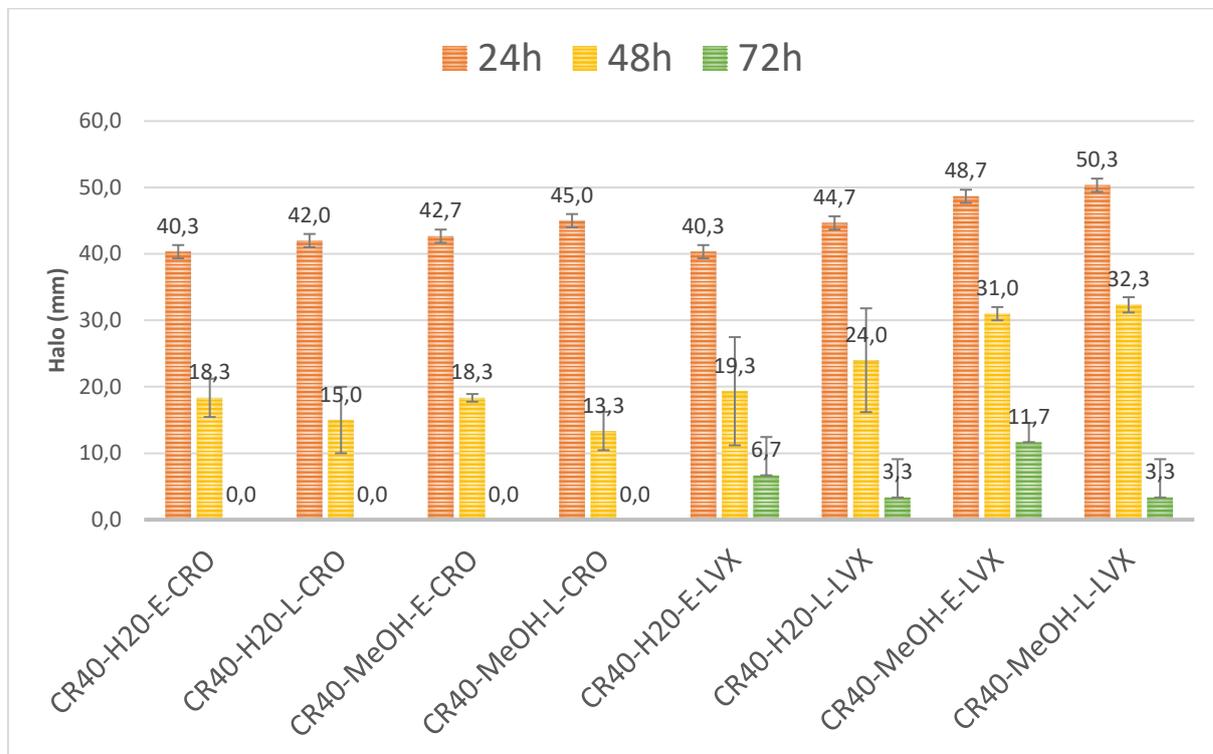
Figura 34 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 72 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas nos meios de resíduos de cana-de-açúcar. CR40-MeOH-L-LVX (A-1), CR40-MeOH-E-LVX (A-2), CR40-H<sub>2</sub>O-L-LVX (A-3) e CR40-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-4). CR40-H<sub>2</sub>O-L-CRO (B-1), CR40-H<sub>2</sub>O-E-CRO (B-2), CR40-MeOH-L-CRO (B-3) e CR40-MeOH-E-CRO (B-4). FE70-MeOH-L-LVX (C-1), FE70-MeOH-E-LVX (C-2), FE70-H<sub>2</sub>O-L-LVX (C-3) e FE70-H<sub>2</sub>O-E-LVX (C-4). FE70-H<sub>2</sub>O-L-CRO (D-1), FE70-H<sub>2</sub>O-E-CRO (D-2), FE70-MeOH-L-CRO (D-3) e FE70-MeOH-E-CRO (D-4).



Fonte: Própria do autor

Na Figura 35, o gráfico traz a relação das medidas dos halos de inibição com relação ao tempo de liberação utilizando as membranas de CB produzidas por *K. hansenii*. Os resultados obtidos demonstram que a liberação de LVX utilizando as membranas secas em estufa, tanto tratadas com MeOH (CR40-MeOH-E-LVX), quanto sem tratamento (CR40-H<sub>2</sub>O-E-LVX) foram superiores as demais, pois mantiveram a liberação por 72 horas, apresentando halos de inibição maiores com pouca diferença significativa entre as duas. Com relação as membranas CR40-H<sub>2</sub>O-L-CRO e CR40-MeOH-L-CRO, é possível observar o menor desempenho no teste por disco difusão, apresentando o menor halo em 48 horas.

Figura 35 – Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por *K. hansenii* nos meios de cultivo de resíduos de cana-de-açúcar após tratamento com MeOH e diferentes tipos de secagem.

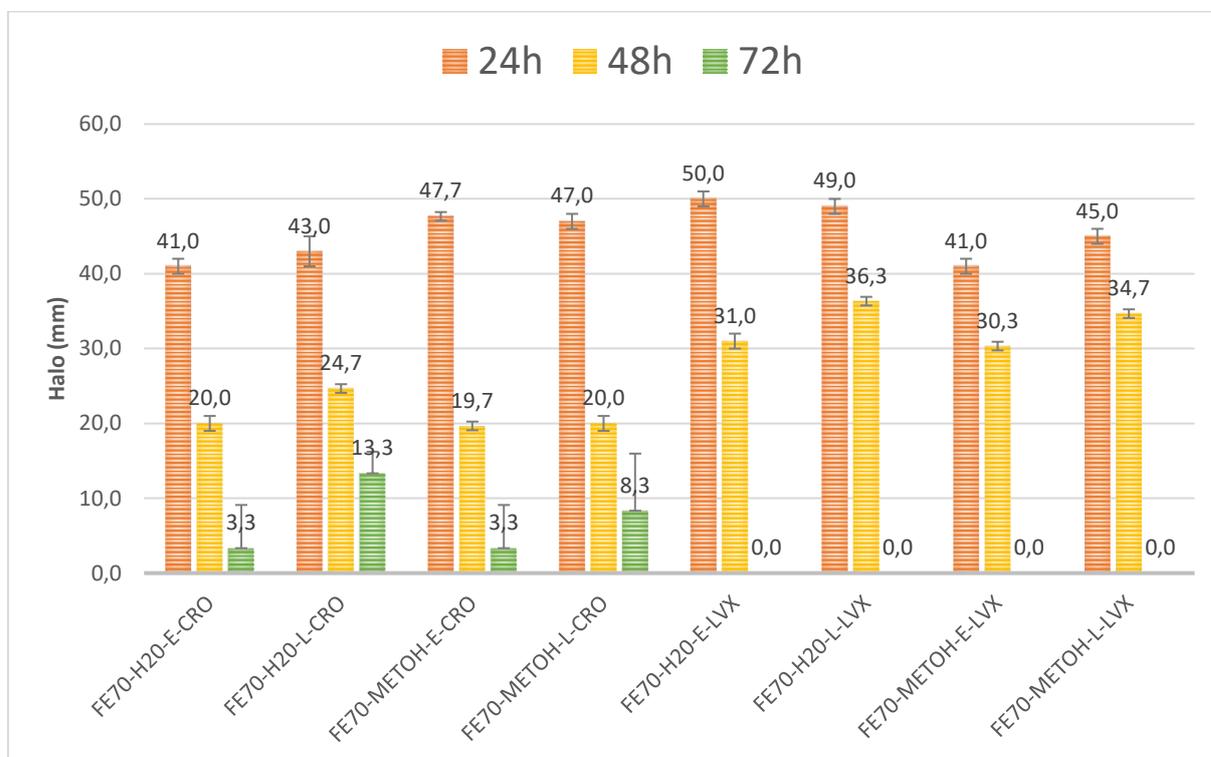


Fonte: Própria do autor

Os resultados obtidos com a liberação utilizando as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* nos meios de resíduos de cana-de-açúcar indicam que a liberação de LVX foi superior quando comparada com a liberação de CRO, é possível observar também que a diferença de secagem das membranas também influenciou nos resultados, pois, as membranas secas em estufa apresentaram halos maiores com 72 horas. Vale ressaltar que as membranas utilizadas foram intumescidas com a mesma quantidade de fármacos e apresentaram a mesma %Int, sendo assim a concentração de fármaco adsorvida pelas membranas foi a mesma.

A Figura 36, com o gráfico da liberação das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus*, é possível observar que diferente dos resultados obtidos com *K. hansenii* a liberação de CRO foi superior à de LVX.

Figura 36 - Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* nos meios de cultivo de resíduos de cana-de-açúcar após tratamento com MeOH e diferentes tipos de secagem



Fonte: Própria do autor

Com relação ao tamanho dos halos, as membranas de CB FE70- H<sub>2</sub>O-L-CRO e FE70-MeOH-L-CRO apresentaram resultados superiores quando comparado com as demais, esse resultado indica que houve diferença no perfil de liberação de acordo com o tipo de secagem utilizada, contudo, ao contrário dos resultados obtidos pela liberação utilizando as membranas de *K. hansenii* as membranas produzidas por *K. rhaeticus* com melhores resultados foram liofilizadas.

Algumas análises como a MEV tanto das membranas com o tratamento e sem, produzidas pelas diferentes espécies de bactérias e impregnadas pelos fármacos CRO e LVX são necessárias para uma melhor discussão dos resultados obtidos.

### 2.3. Teste de liberação de CRO e LVX utilizando as membranas de CB produzidas nos extratos de resíduos de hortifrúti

O teste de liberação de fármacos foi realizado como descrito no item 1.4. do Capítulo 3. Assim como na liberação utilizando as membranas de CB produzidas nos

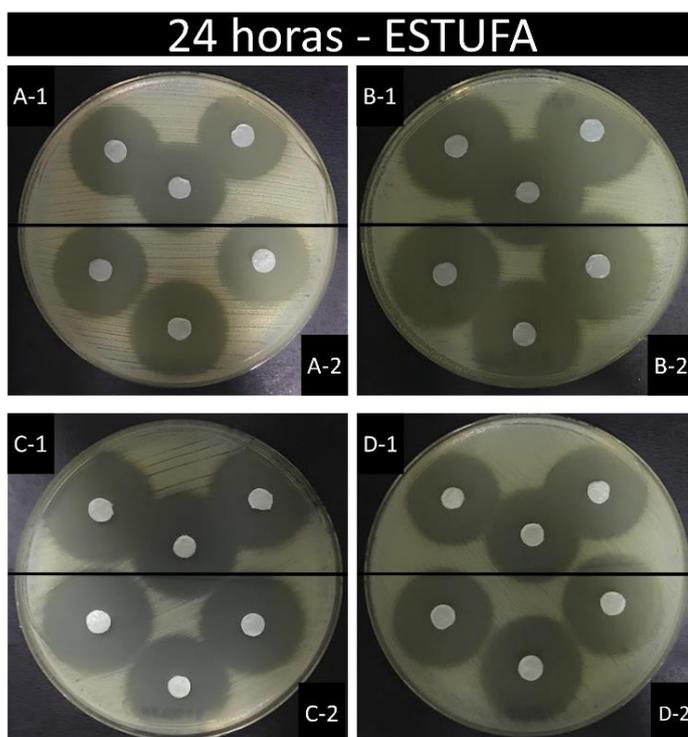
resíduos de cana-de-açúcar, as produzidas nos resíduos de hortifrúti também foram selecionadas de acordo com o desempenho na análise de *RMS*, sendo assim, as membranas produzidas no extrato de resíduos de pepino utilizando *K. hansenii* e *K. rhaeticus* foram selecionadas. As membranas foram submetidas ao tratamento com MeOH e diferentes tipos de secagem como descrito no item 1.3.

As membranas utilizadas para o teste de liberação foram as produzidas por *K. hansenii* submetidas ao tratamento com MeOH e secas em estufa ventilada (PH-MeOH-E), as submetidas ao tratamento e liofilizadas (PH-MeOH-L) e sem o tratamento com MeOH secas e liofilizadas PH-H<sub>2</sub>O-E e PH- H<sub>2</sub>O -L, respectivamente.

As membranas produzidas por *K. rhaeticus* utilizadas no teste de liberação foram PR-MeOH-E, PR-MeOH-L, PR- H<sub>2</sub>O -E e PR- H<sub>2</sub>O -L.

Na Figura 37 é possível analisar as primeiras 24 horas do teste de liberação utilizando as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* e *K. rhaeticus* no extrato de resíduo de pepino, submetidas ou não ao tratamento por MeOH e secas em estufa ventilada. Os resultados demonstram que nas primeiras 24 horas, ocorreu o burst de liberação dos fármacos CRO e LVX.

Figura 37 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 24 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino PR-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H<sub>2</sub>O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2)

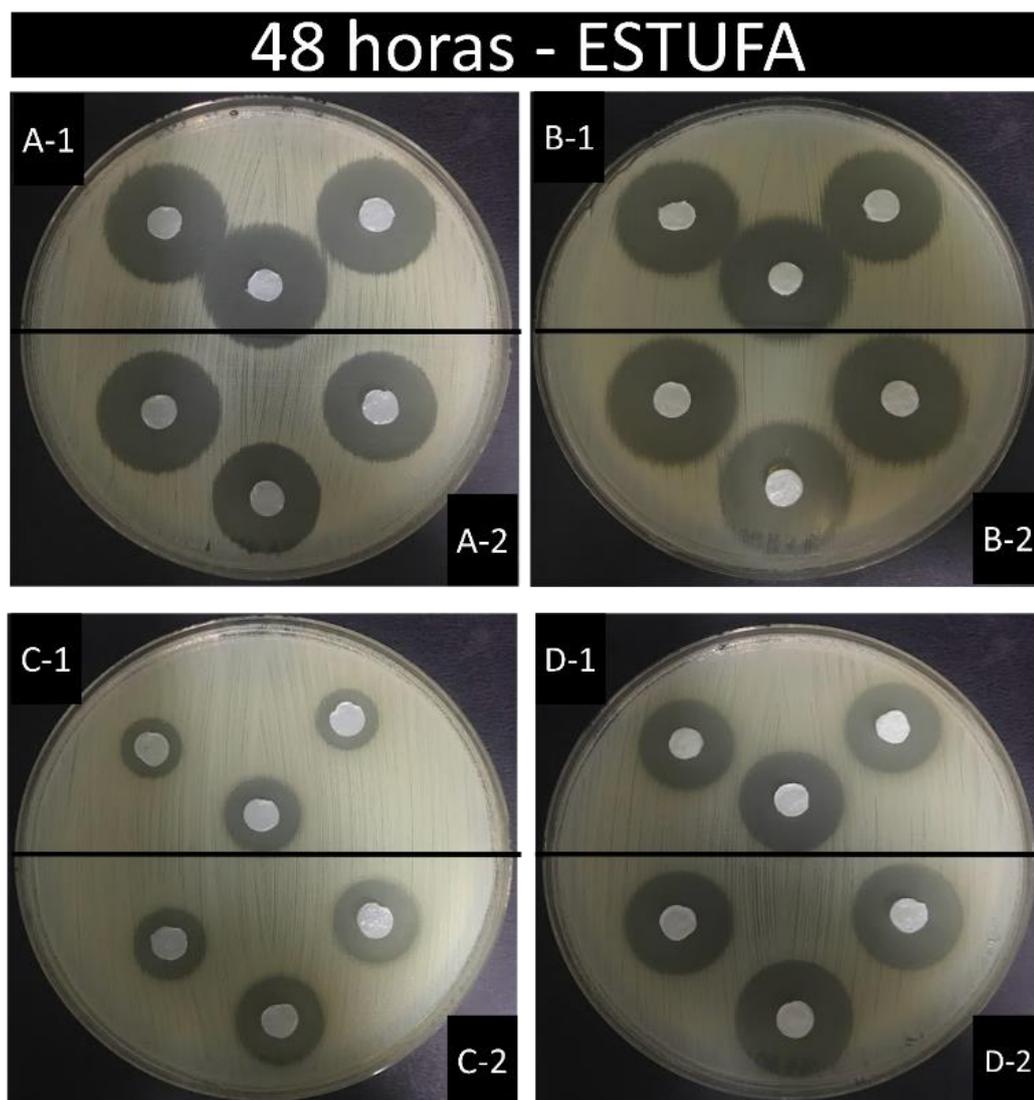


Fonte: Própria do autor

Na Figura 38 é possível ver as imagens da liberação com 48 horas, todas as membranas apresentaram halos de inibição. As membranas PR-H<sub>2</sub>O-E-CRO (Figura 38 C-1), PR-MeOH-E-CRO (Figura 38 C-2), apresentaram halos menores, com relação às outras membranas de CB.

Figura 38 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 48 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino.

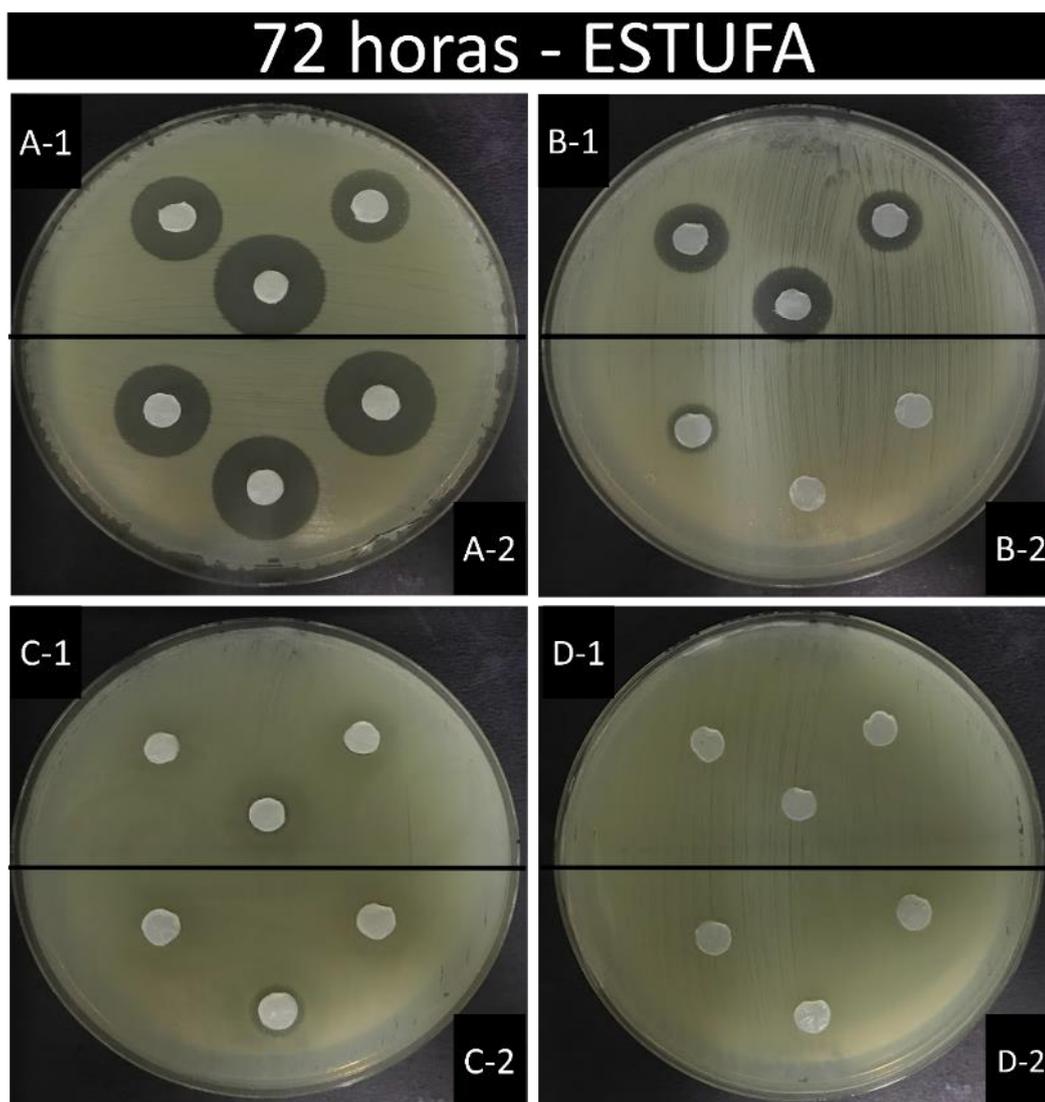
PR-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H<sub>2</sub>O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2)



Fonte: Própria do autor

Na Figura 39 com os resultados da liberação com 72 horas, é possível ver que as membranas PR- H<sub>2</sub>O -E-LVX, A-2 PR-MeOH-E-LVX e B-1 PH- H<sub>2</sub>O -E-LVX, ainda apresentaram halos de inibição, enquanto as demais de CRO e B-2 PH-MeOH-E-LVX não apresentaram mais liberação dos fármacos.

Figura 39 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 72 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PR-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H<sub>2</sub>O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2)



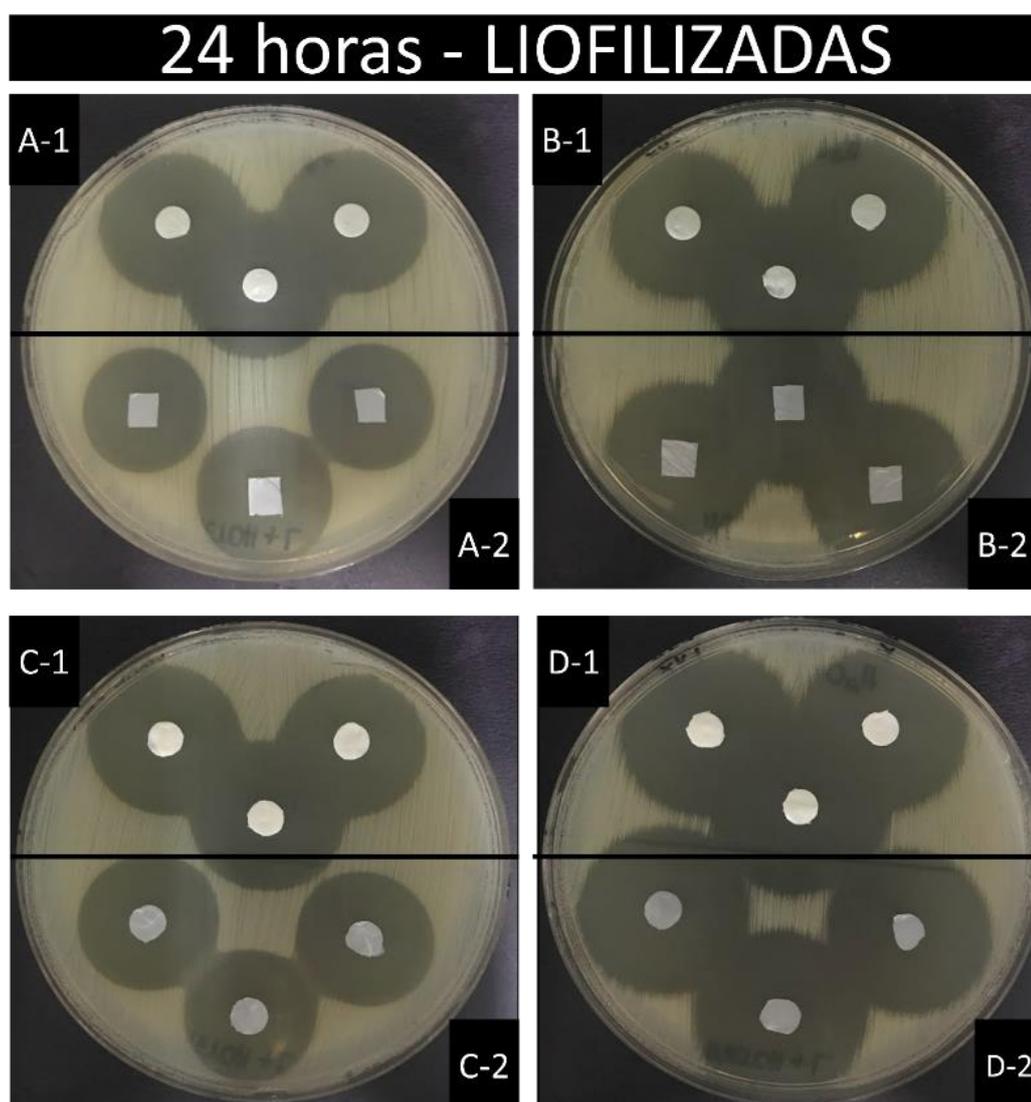
Fonte: Própria do autor

Decorridas 96 horas a liberação foi finalizada, pois, nenhuma membrana de CB apresentou halos de inibição do crescimento bacteriano.

Na Figura 40 é possível analisar as primeiras 24 horas do teste de liberação utilizando as membranas de CB produzidas por *K. hansenii* e *K. rhaeticus* no extrato de resíduo de pepino, submetidas ou não ao tratamento por MeOH e liofilizadas. Os

resultados demonstram que nas primeiras 24 horas, ocorreu o burst de liberação dos fármacos CRO e LVX.

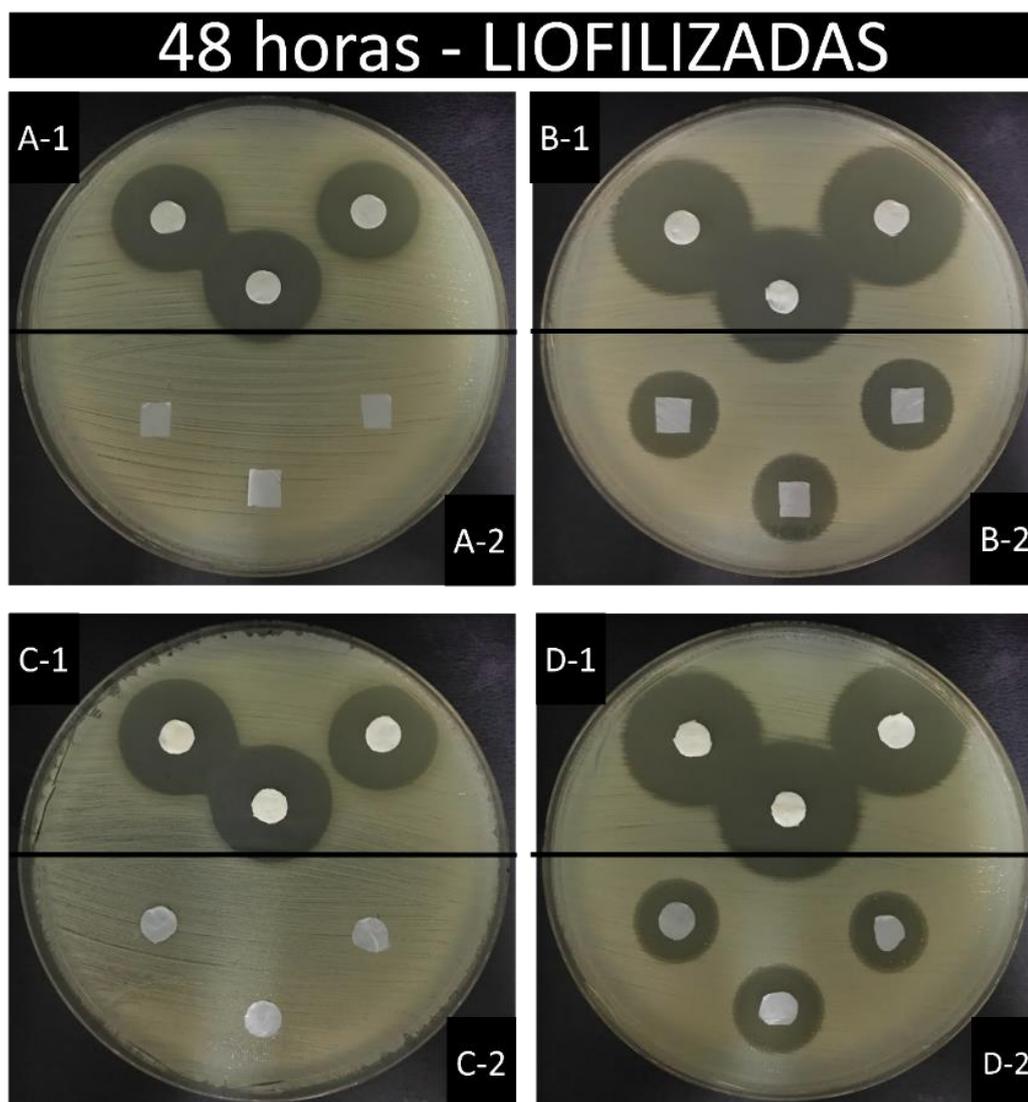
Figura 40 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 24 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PR-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H<sub>2</sub>O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2)



Fonte: Própria do autor

Na Figura 41, com 48 horas de liberação as membranas PH-MeOH-L-CRO e PR-MeOH-L-CRO, não apresentaram halos de inibição, sendo assim essas duas membranas foram capazes apenas do burst inicial dos fármacos testados.

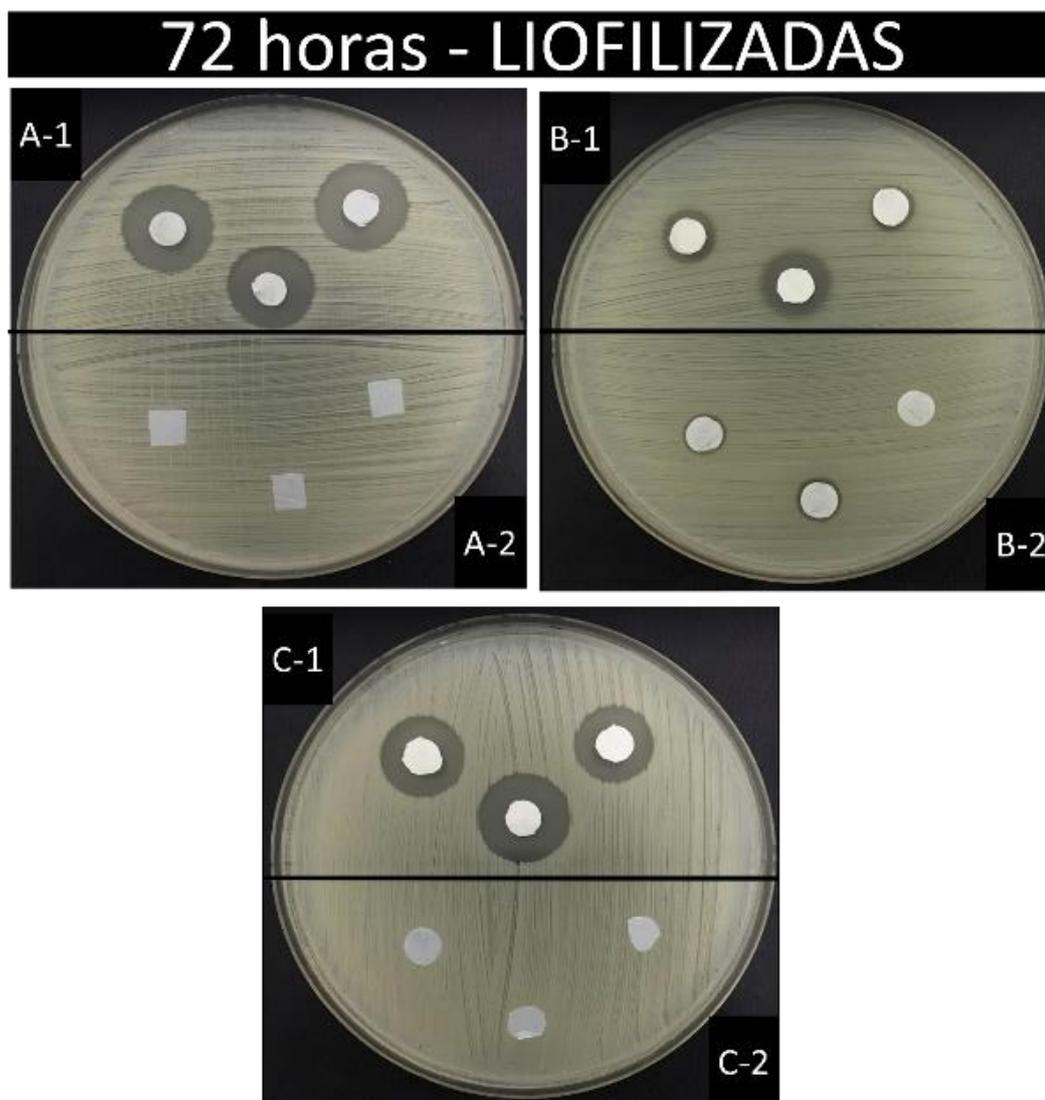
Figura 41 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 48 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PR-H<sub>2</sub>O-E-LVX (A-1), PR-MeOH-E-LVX (A-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-LVX (B-1), PH-MeOH-E-LVX (B-2), PR-H<sub>2</sub>O-E-CRO (C-1), PR-MeOH-E-CRO (C-2), PH-H<sub>2</sub>O-E-CRO (D-1), PH-MeOH-E-CRO (D-2)



Fonte: Própria do autor

Na Figura 42, são mostrados os resultados de 72 horas de liberação. As membranas PH-H<sub>2</sub>O-L-LVX e PR-H<sub>2</sub>O-L-LVX ainda apresentavam halos de inibição, com relação a PR-H<sub>2</sub>O-L-CRO é possível que mesmo com a presença de pequenos halos de inibição, houve perda na reprodutibilidade, sendo assim, os testes com essas membranas pararam com 72 horas. As demais membranas que não apresentaram mais halos de inibição tiveram a liberação finalizada.

Figura 42 - Resultados dos ensaios de liberação sustentada após 72 horas de liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas no extrato de resíduos de pepino. PH- H<sub>2</sub>O-L-LVX (A-1), PH-MeOH-LE-LVX (A-2), PR- H<sub>2</sub>O-L-CRO (B-1), PH- H<sub>2</sub>O-E-LVX (B-2), PR-H<sub>2</sub>O-L-LVX (C-1), PR-MeOH-L-LVX (C-2)

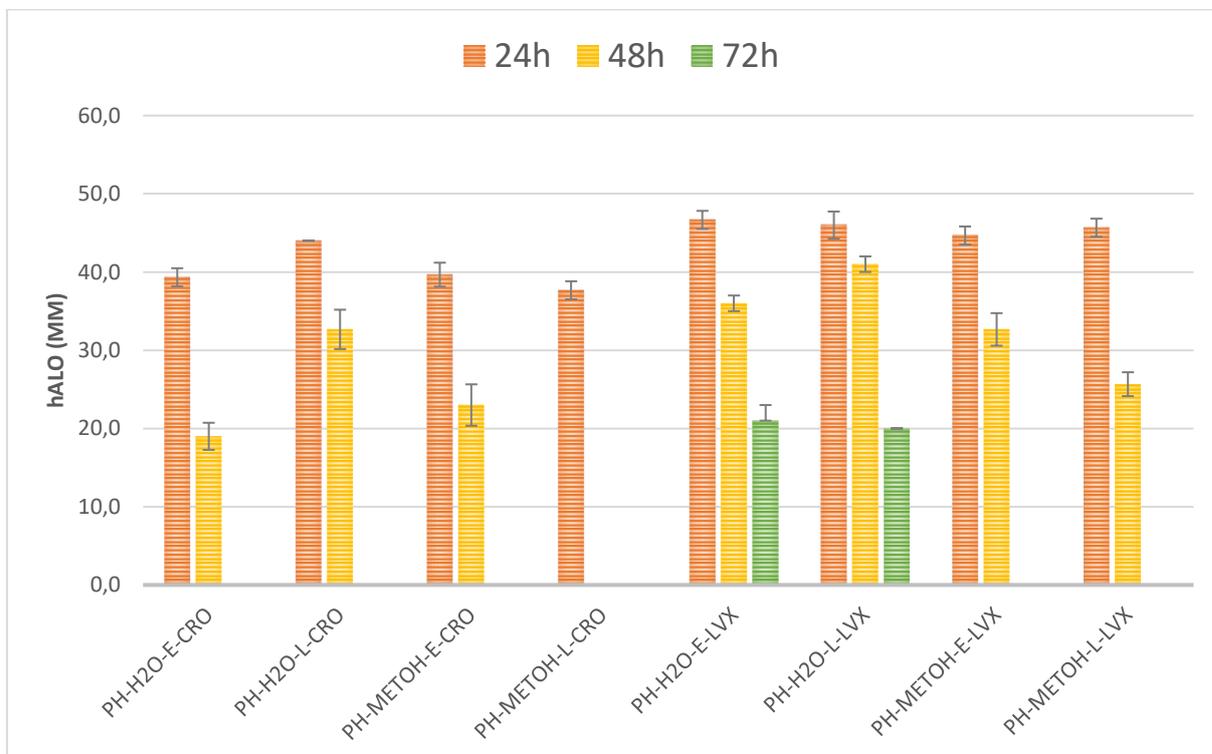


Fonte: Própria do autor

Decorridas 96 horas de liberação as membranas não apresentaram mais halos de inibição.

A Figura 43, mostra o perfil de liberação das membranas de CB produzidas por *K. hansenii* nos resíduos de pepino. A liberação de LVX utilizando as membranas sem o tratamento com MeOH apresentaram melhores resultados com 72 horas de liberação, enquanto todas as outras membranas, apresentaram liberação por 48 horas apenas.

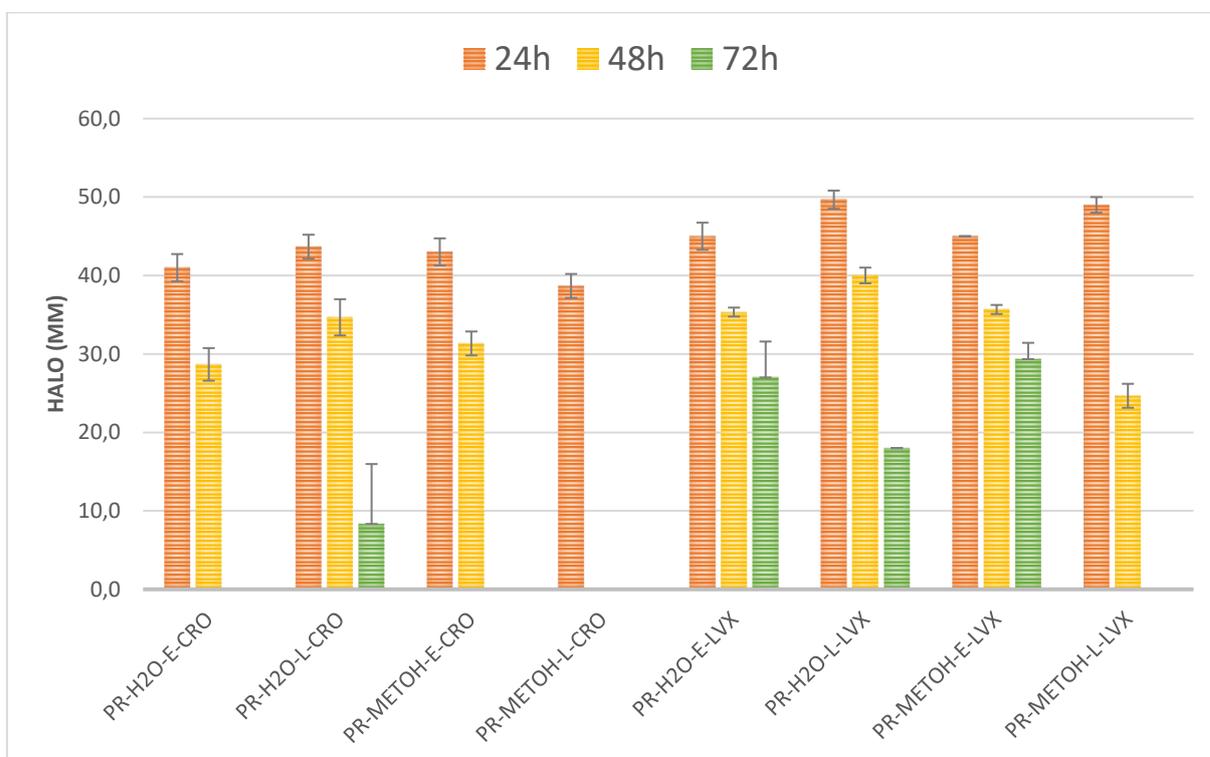
Figura 43 - Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por *K. hansenii* no extrato de resíduo de pepino



Fonte: Própria do autor

A Figura 44, com o gráfico da liberação das membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus*, é possível observar que a liberação tanto de CRO quanto de LVX apresentaram melhores resultados do que os obtidos utilizando as membranas de *K. hansenii* apresentando halos com 72 horas de liberação. Com exceção de PR-MeOH-L-CRO, que foi possível de realizar apenas o burst de liberação.

Figura 44 - Liberação de CRO e LVX utilizando membranas de CB produzidas por *K. rhaeticus* no extrato de resíduo de pepino



Fonte: Própria do autor

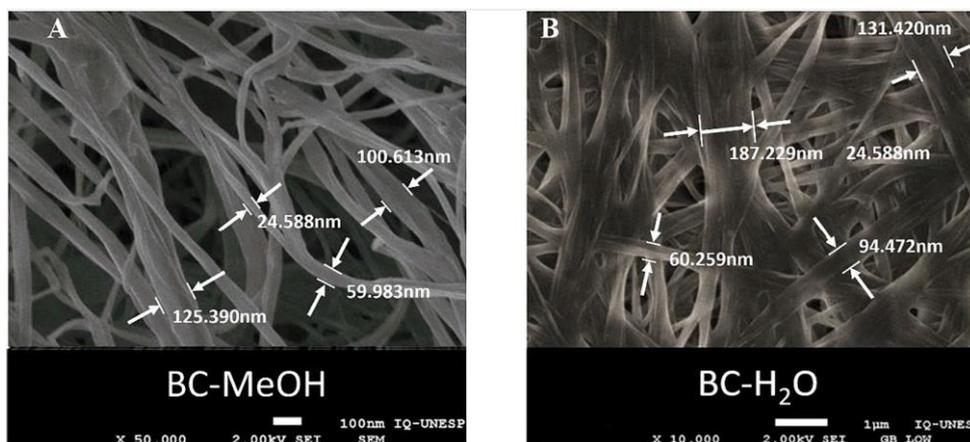
Lazarini e colaboradores (LAZARINI *et al.*, 2016) utilizaram membranas de CB produzida no melaço, um resíduo do processamento de cana-de-açúcar, como suporte para a liberação de CRO, obtendo uma liberação de 8h. Sendo assim, os resultados obtidos são promissores, uma vez que os resultados obtidos no presente trabalho apresentaram liberação de CRO de no mínimo 24 horas.

Os resultados obtidos demonstraram que tanto as membranas produzidas utilizando os resíduos de usinas sucroalcooleiras, quanto os resíduos de hortifrúti, o perfil de liberação foi semelhante, e em ambos os casos os resultados obtidos demonstraram que a escolha do fármaco e o tratamento realizado influenciam na capacidade de liberação da membrana.

Resultados obtidos por Yamada e colaboradores (YAMADA *et al.*, 2024) demonstraram que o tratamento da CB com metanol apresentou mudanças físicas em sua estrutura, como pode ser observado na Figura 45. O tratamento proporcionou maior capacidade de intumescimento da solução com o fármaco e proporcionou uma maior interação do antibiótico com a membrana de CB (CB-RIF-MeOH). Outra análise realizada pelos autores foi a de citotoxicidade, os resultados de viabilidade celular

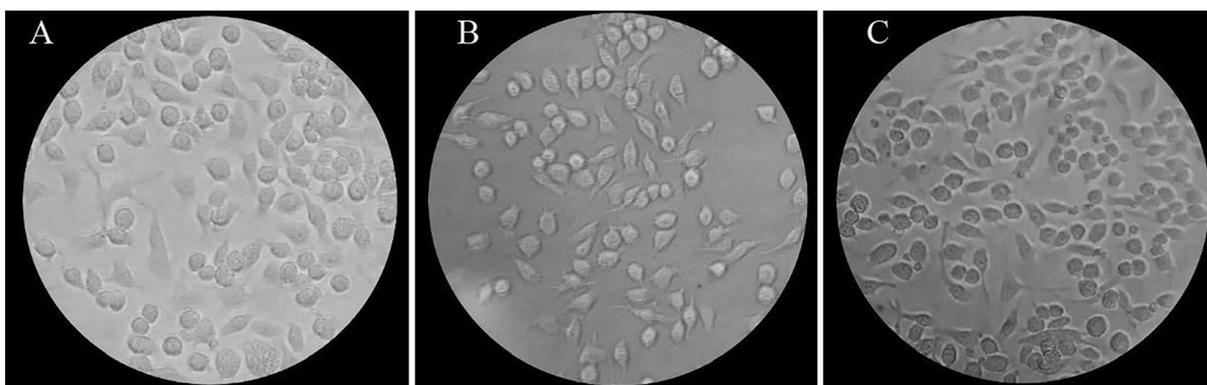
demonstraram que não houve interferência do tratamento com MeOH no desenvolvimento e adesão das células J774, Figura 46, demonstrando a ausência de citotoxicidade após o tratamento e intumescida com o fármaco testado.

Figura 45 – MEV das membranas de CB com e sem o tratamento por MeOH, evidenciando as diferenças da espessura das fibras após o tratamento



Fonte: Yamada et al, 2024

Figura 46 – Análise da viabilidade celular em linhagens de J774 por microscopia invertida (ampliação de 400x): Painel A: CB pura; Painel B: CB-RIF-H<sub>2</sub>O; Painel C: CB-RIF-MeOH.



Fonte: Yamada et al, 2024

Um estudo realizado por Jantararat e colaboradores (JANTARAT et al., 2021), reforçam os resultados de que o tipo de secagem influencia na liberação de fármacos. Os autores testaram fármacos com diferentes solubilidades e diferentes métodos de secagem, utilizando Ibuprofeno e cloridrato de propranolol para representar medicamentos com baixa e alta solubilidade em água, respectivamente. Os resultados

obtidos demonstraram que as membranas de CB liofilizadas apresentaram uma liberação sustentada, independentemente do tipo e da quantidade de fármaco incorporado.

Ye e colaboradores (YE et al., 2024) analisaram a capacidade de interação do fármaco com a estrutura química da CB. Os pesquisadores utilizaram cefoperazona (CEF) e cefoperazona sódica (CEF/Na). Os resultados demonstraram que ambos os medicamentos foram adsorvidos com sucesso nas membranas, que exibiram morfologia idêntica e bandas de FTIR similares. A CB-CEF apresentou menor cristalinidade no XRD, provavelmente devido à combinação de grupos carboxila e hidroxila. Os resultados indicam que as membranas de CB podem se ligar naturalmente aos grupos carboxila provenientes de fármacos, reforçando a importância de mais estudos sobre o assunto.

A CRO é uma cefalosporina de terceira geração de amplo espectro, não disponibilizada em formas farmacêuticas para utilização tópica e somente em formas farmacêuticas para administração intravenosa ou intramuscular, utilizado para o tratamento de diversos tipos de infecções como as de pele (RICHARDS *et al.*, 1984). Uma das vantagens da administração tópica é a diminuição de efeitos adversos sistêmicos como os mais comuns referentes ao uso de CRO sendo diarreia, flebites e dores referentes as injeções intramusculares, facilitando a adesão por parte dos pacientes (NARASIMHA MURTHY AND SHIVAKUMAR, 2010; BENSON AND WATKINSON, 2011).

A LVX é, também, um fármaco sem formulação tópica, porém sendo administrado via oral, é um antibacteriano fluoroquinolona de terceira geração e por possuir amplo espectro pode ser utilizado para o tratamento de infecções de pele (DAVIS AND BRYSON, 1994). O uso de formas farmacêuticas tópicas no tratamento de infecções de pele são, no geral, mais vantajosos uma vez que torna possível a utilização do fármaco diretamente no local infectado (NARASIMHA MURTHY AND SHIVAKUMAR, 2010; BENSON AND WATKINSON, 2011).

A membrana de CB é amplamente descrita na literatura para utilização na cicatrização de feridas e como suporte de liberação de fármacos e outras moléculas bioativas, contudo a obtenção de uma membrana de CB com baixo custo de produção a partir do aproveitamento de resíduos com alta capacidade de retenção e liberação, tornam os resultados obtidos promissores.

Sendo assim, a possibilidade de produção de dispositivos de liberação que unem a atividade da CB na cicatrização de feridas juntamente com a atividade de fármacos, reforçam a importância dos resultados obtidos no presente trabalho.

### 3. Conclusões

Este estudo investigou a produção de CB utilizando resíduos agroindustriais, como parte de uma estratégia da bioeconomia circular. A pesquisa destacou que resíduos provenientes de usinas sucroalcooleiras e de hortifrúti, com diferentes concentrações de açúcares redutores, podem ser utilizados com sucesso como fontes alternativas de carbono para a produção de CB, substituindo parcialmente os meios sintéticos tradicionais.

Os resultados demonstram que a produção de CB utilizando resíduos agroindustriais não apenas é possível, mas também eficiente e sustentável. As propriedades físico-químicas das membranas de CB produzidas a partir de resíduos mantêm sua alta qualidade, indicando que esses materiais podem ser amplamente aplicados em diversas indústrias, especialmente na área biomédica, onde a liberação controlada de fármacos é crucial. Além disso, o uso de resíduos reduz significativamente os custos de produção, promovendo uma abordagem ambientalmente correta e economicamente viável.

Dessa forma, o trabalho reafirma o potencial da celulose bacteriana como uma alternativa versátil e sustentável, capaz de agregar valor a resíduos agroindustriais e contribuir para a redução do impacto ambiental.

#### 4. Perspectivas

- Análise da capacidade de produção de CB utilizando outros tipos de resíduos agroindustriais, de indústrias diversas;
- Funcionalização das membranas de CB obtidas utilizando outras metodologias, com o objetivo de aumentar o potencial de liberação de fármacos e moléculas bioativas;
- Análise da interação das moléculas de CRO e LVX com a estrutura química da CB;
- Análise da cinética de liberação por Célula de Franz;
- Análise por MEV das membranas de CB produzidas nos resíduos de hortifrúti e obtidas após os diferentes tratamentos e intumescidas com os diferentes fármacos.

## 5. Referências Bibliográficas

ABDELRAOF, Mohamed; HASANIN, Mohamed S.; EL-SAIED, Houssni. Ecofriendly green conversion of potato peel wastes to high productivity bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 211, p. 75–83, 2019. DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2019.01.095.

ABEER, Muhammad Mustafa; MOHD AMIN, Mohd Cairul Iqbal; MARTIN, Claire. A review of bacterial cellulose-based drug delivery systems: their biochemistry, current approaches and future prospects. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 66, n. 8, p. 1047–1061, 2014. DOI: 10.1111/jphp.12234. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jphp.12234>.

ADEPU, Shivakalyani; KHANDELWAL, Mudrika. Ex-situ modification of bacterial cellulose for immediate and sustained drug release with insights into release mechanism. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 249, p. 116816, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116816>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861720309899>.

AHMED, Shams Forruque et al. Waste biorefinery to produce renewable energy: Bioconversion process and circular bioeconomy. **Energy Reports**, [S. l.], v. 10, n. March, p. 3073–3091, 2023. DOI: 10.1016/j.egy.2023.09.137. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.egy.2023.09.137>.

AKKI, Ali Jawad; JAIN, Pratheek; KULKARNI, Ravindra; BADKILLAYA, Raghavendra Rao; KULKARNI, Raghavendra V.; ZAMEER, Farhan; ANJANAPURA, V. Raghu; AMINABHAVI, Tejraj M. Microbial biotechnology alchemy: Transforming bacterial cellulose into sensing disease- A review. **Sensors International**, [S. l.], v. 5, n. January, p. 100277, 2024. DOI: 10.1016/j.sintl.2023.100277. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2023.100277>.

ALMEIDA, I. F.; PEREIRA, T.; SILVA, N. H. C. S.; GOMES, F. P.; SILVESTRE, A. J. D.; FREIRE, C. S. R.; SOUSA LOBO, J. M.; COSTA, P. C. Bacterial cellulose membranes as drug delivery systems: An in vivo skin compatibility study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S. l.], v. 86, n. 3, p. 332–336, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.08.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641113002877>.

BARUD, Hernane S.; REGIANI, Thaís; MARQUES, Rodrigo F. C.; LUSTRI, Wilton R.; MESSADDEQ, Younes; RIBEIRO, Sidney J. L. Antimicrobial Bacterial Cellulose-Silver Nanoparticles Composite Membranes. **Journal of Nanomaterials**, [S. l.], v. 2011, p. 721631, 2011. DOI: 10.1155/2011/721631. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2011/721631>.

BENSON, Heather A. E.; WATKINSON, Adam C. **Topical and Transdermal Drug Delivery**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2011. DOI: 10.1002/9781118140505.

BESEN, Gina Rizpah; FREITAS, Luciana; JACOBI, Pedro Roberto. **Política nacional de resíduos sólidos: implementação e monitoramento de resíduos urbanos**.

[s.l: s.n.].

BOITEAU, Jocelyn M.; PINGALI, Prabhu. Can we agree on a food loss and waste definition? An assessment of definitional elements for a globally applicable framework. **Global Food Security**, [S. l.], v. 37, n. January, p. 100677, 2023. DOI: 10.1016/j.gfs.2023.100677. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2023.100677>.

CARREIRA, Pedro; MENDES, Joana A. S.; TROVATTI, Eliane; SERAFIM, Luísa S.; FREIRE, Carmen S. R.; SILVESTRE, Armando J. D.; NETO, Carlos Pascoal. Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 102, n. 15, p. 7354–7360, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.081>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411005992>.

CAZÓN, Patricia; VÁZQUEZ, Manuel. Bacterial cellulose as a biodegradable food packaging material: A review. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 113, p. 106530, 2021. DOI: [10.1016/j.foodhyd.2020.106530](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106530). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X20329040>.

CIECHOLEWSKA-JUŚKO, Daria; ŻYWICKA, Anna; BRODA, Michał; KOVALCIK, Adriana; FIJAŁKOWSKI, Karol. YourTuber matters: Screening for potato variety for the synthesis of bacterial cellulose in its tuber juice. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 278, n. August, 2024. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2024.134892](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134892).

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, [S. l.], v. 29, 2019.

DAVIS, Rick; BRYSON, Harriet M. Levofloxacin. **Drugs**, [S. l.], v. 47, n. 4, p. 677–700, 1994. DOI: [10.2165/00003495-199447040-00008](https://doi.org/10.2165/00003495-199447040-00008).

DE SALVI, Denise T. B.; BARUD, Hernane S.; CAIUT, José Maurício A.; MESSADDEQ, Younés; RIBEIRO, Sidney J. L. Self-supported bacterial cellulose/boehmite organic-inorganic hybrid films. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, [S. l.], v. 63, n. 2, p. 211–218, 2012. DOI: [10.1007/s10971-012-2678-x](https://doi.org/10.1007/s10971-012-2678-x).

DÓRAME-MIRANDA, R. F.; GÁMEZ-MEZA, N.; MEDINA-JUÁREZ, L. Á.; EZQUERRA-BRAUER, J. M.; OVANDO-MARTÍNEZ, M.; LIZARDI-MENDOZA, J. Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter entanii* using pecan nutshell as carbon source and its chemical functionalization. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 207, p. 91–99, 2019. DOI: [10.1016/j.carbpol.2018.11.067](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.067). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861718314012>.

ÉDEN BATISTA DUARTE; FÁBIA KARINE ANDRADE; HELDER LEVI SILVA LIMA; ELIGENES SAMPAIO DO NASCIMENTO; MARIA JOSÉ MAGALHÃES CARNEIRO; MARIA DE FATIMA BORGES; ERIKA PATRÍCIA CHAGAS GOMES LUZ; BRUNA SANTANA DAS CHAGAS; MORSYLEIDE DE FREITAS ROSA. **Celulose Bacteriana Propriedades, Meios Fermentativos e Aplicações**. [s.l: s.n.]. Disponível em: [www.embrapa.br/agroindustria-tropical](http://www.embrapa.br/agroindustria-tropical).

FAN, Xin; GAO, Yue; HE, Wanying; HU, Hao; TIAN, Ming; WANG, Kexing; PAN, Siyi. Production of nano bacterial cellulose from beverage industrial waste of citrus peel and pomace using *Komagataeibacter xylinus*. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 151, p. 1068–1072, 2016. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.06.062. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716307378>.

FERNANDES, Isabela de Andrade Arruda; PEDRO, Alessandra Cristina; RIBEIRO, Valéria Rampazzo; BORTOLINI, Débora Gonçalves; OZAKI, Mellany Sarah Cabral; MACIEL, Giselle Maria; HAMINIUK, Charles Windson Isidoro. Bacterial cellulose: From production optimization to new applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 164, p. 2598–2611, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.255. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020340198>.

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**, [S. l.], v. 157, p. 447–467, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716310621>.

FOSTER, Allan; SOUZA ROBERTO, Samanta. ECONOMIA CIRCULARE RESÍDUOS SÓLIDOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE A EFICIÊNCIA AMBIENTAL E ECONÔMICA. [S. l.], 2016.

GOMES, Fábio P.; SILVA, Nuno H. C. S.; TROVATTI, Eliane; SERAFIM, Luísa S.; DUARTE, Maria F.; SILVESTRE, Armando J. D.; NETO, Carlos Pascoal; FREIRE, Carmen S. R. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. **Biomass and Bioenergy**, [S. l.], v. 55, p. 205–211, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.02.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953413000536>.

HAMISH FORBES, ELOISE PEACOCK, NETTIE ABBOT, Michael; JONES. Food Waste Index Report 2024. Think Eat Save: Tracking Progress to Halve Global Food Waste. In: **Think Eat Save**. [s.l.: s.n.]. p. 193. Disponível em: <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/45230>.

HO JIN, Yang; LEE, Taek; KIM, Jung Rae; CHOI, Yoon-E.; PARK, Chulhwan. Improved production of bacterial cellulose from waste glycerol through investigation of inhibitory effects of crude glycerol-derived compounds by *Gluconacetobacter xylinus*. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [S. l.], v. 75, p. 158–163, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.03.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226086X19301042>.

HUSSAIN, Zohaib; SAJJAD, Wasim; KHAN, Taous; WAHID, Fazli. Production of bacterial cellulose from industrial wastes : a review. **Cellulose**, [S. l.], v. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02307-1>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02307-1>.

IGUCHI, M.; YAMANAKA, S.; BUDHIONO, A. Bacterial cellulose—a masterpiece of

nature's arts. **Journal of Materials Science**, [S. l.], v. 35, n. 2, p. 261–270, 2000. DOI: 10.1023/A:1004775229149. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1004775229149>.

JAHAN, Firdaus; KUMAR, Vinod; SAXENA, R. K. Distillery effluent as a potential medium for bacterial cellulose production: A biopolymer of great commercial importance. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 250, p. 922–926, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.094>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417316590>.

JANTARAT, Chutima; MUENRAYA, Poowadon; SRIVARO, Suthon; NAWAKITRANGSAN, Ananya; PROMSORNPASON, Korntep. Comparison of drug release behavior of bacterial cellulose loaded with ibuprofen and propranolol hydrochloride. **RSC Advances**, [S. l.], v. 11, n. 59, p. 37354–37365, 2021. DOI: 10.1039/d1ra07761a.

JESUS, Carlos; PIRES, Iva; NOVA, Cics. “FECHAR O CICLO”. A CONTRIBUIÇÃO DA ECONOMIA CIRCULAR PARA O COMBATE AO DESPERDÍCIO ALIMENTAR. **Revista Ecologias Humanas**, [S. l.], v. 4, p. 7–20, 2018. Disponível em: <http://ww.fao.org/3/a-l7695e.pdf>.

JUNG, Rira; KIM, Yeseul; KIM, Hun-Sik; JIN, Hyoung-Joon. Antimicrobial Properties of Hydrated Cellulose Membranes With Silver Nanoparticles. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 311–324, 2009. DOI: 10.1163/156856209X412182. Disponível em: <https://doi.org/10.1163/156856209X412182>.

KUMAR, Vinod; SHARMA, Devendra Kumar; BANSAL, Vasudha; MEHTA, Deepak; SANGWAN, Rajender S.; YADAV, Sudesh Kumar. Efficient and economic process for the production of bacterial cellulose from isolated strain of *Acetobacter pasteurianus* of RSV-4 bacterium. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 275, p. 430–433, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.042>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418317036>.

KUMBHAR, Jyoti Vasant; RAJWADE, Jyutika Milind; PAKNIKAR, Kishore Madhukar. Fruit peels support higher yield and superior quality bacterial cellulose production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 99, n. 16, p. 6677–6691, 2015. DOI: 10.1007/s00253-015-6644-8.

KUROSUMI, Akihiro; SASAKI, Chizuru; YAMASHITA, Yuya; NAKAMURA, Yoshitoshi. Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 76, n. 2, p. 333–335, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861708005225>.

LAZARINI, S. C.; YAMADA, C.; BARUD, H. S.; TROVATTI, E.; CORBI, P. P.; LUSTRI, W. R. Influence of chemical and physical conditions in selection of *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769 strains with high capacity to produce bacterial cellulose for application as sustained antimicrobial drug-release supports. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 125, n. 3, p. 777–791, 2018. DOI: 10.1111/jam.13916.

Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.13916>.

LAZARINI, Silmara C.; DE AQUINO, Renata; AMARAL, André C.; CORBI, Fabiana C. A.; CORBI, Pedro P.; BARUD, Hernane S.; LUSTRI, Wilton R. Characterization of bilayer bacterial cellulose membranes with different fiber densities: a promising system for controlled release of the antibiotic ceftriaxone. **Cellulose**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 737–748, 2016. DOI: 10.1007/s10570-015-0843-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0843-4>.

LI, Zheng; WANG, Lifan; HUA, Jiachuan; JIA, Shiru; ZHANG, Jianfei; LIU, Hao. Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube-processing industry using *Acetobacter xylinum*. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 120, p. 115–119, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.061>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714011746>.

LUSTRI, Wilton R.; BARUD, Héliida Gomes de Oliveira; BARUD, Hernane da Silva; PERES, Maristela F. S.; GUTIERREZ, Junkal; TERCJAK, Agnieszka; DE OLIVEIRA, Osmir Batista; RIBEIRO, Sidney José Lima. Microbial Cellulose — Biosynthesis Mechanisms and Medical Applications. *In*: **Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends**. [s.l.] : InTech, 2015. a. v. lp. 133–157. DOI: 10.5772/61797.

LUSTRI, Wilton R.; BARUD, Héliida Gomes de Oliveira; SILVABARUD, Hernane Da; PERES, Maristela F. S.; GUTIERREZ, Junkal; TERCJAK, Agnieszka; JUNIOR, Osmir Batista de Oliveira; RIBEIRO, Sidney José Lima. Microbial Cellulose — Biosynthesis Mechanisms and Medical Applications. *In*: POLETTO, Matheus; JUNIOR, Heitor Luiz Ornaghi (org.). **Cellulose**. Rijeka: IntechOpen, 2015. b. p. Ch. 6. DOI: 10.5772/61797. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/61797>.

MAINA, Sofia; KACHRIMANIDOU, Vasiliki; KOUTINAS, Apostolis. A roadmap towards a circular and sustainable bioeconomy through waste valorization. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, [S. l.], v. 8, p. 18–23, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2017.07.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452223617300640>.

MISHRA, Bishwambhar; MOHANTA, Yugal Kishore; REDDY, C. Nagendranatha; REDDY, S. Deepak Mohan; MANDAL, Sanjeeb Kumar; YADAVALLI, Rajasri; SARMA, Hemen. Valorization of agro-industrial biowaste to biomaterials: An innovative circular bioeconomy approach. **Circular Economy**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 100050, 2023. DOI: 10.1016/j.cec.2023.100050. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cec.2023.100050>.

MOHAMMADI, Sajad; JABBARI, Farzaneh; BABAEIPOUR, Valiollah. Bacterial cellulose-based composites as vehicles for dermal and transdermal drug delivery: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 242, n. P3, p. 124955, 2023. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124955. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124955>.

MUIRURI, Joseph Kinyanjui; YEO, Jayven Chee Chuan; ZHU, Qiang; YE, Enyi; LOH, Xian Jun; LI, Zibiao. Bacterial cellulose: Recent advances in biosynthesis, functionalization strategies and emerging applications. **European Polymer Journal**,

[S. I.], v. 199, n. July, p. 112446, 2023. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2023.112446. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2023.112446>.

NAIK, Bindu; KUMAR, Vijay; RIZWANUDDIN, Sheikh; CHAUHAN, Mansi; GUPTA, Arun Kumar; RUSTAGI, Sarvesh; KUMAR, Vivek; GUPTA, Sanjay. Agro-industrial waste: a cost-effective and eco-friendly substrate to produce amylase. **Food Production, Processing and Nutrition**, [S. I.], v. 5, n. 1, 2023. DOI: 10.1186/s43014-023-00143-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00143-2>.

NARASIMHA MURTHY, S.; SHIVAKUMAR, H. N. CHAPTER 1 - Topical and Transdermal Drug Delivery. In: KULKARNI, Vitthal S. (org.). **Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems**. Personal Care & Cosmetic Technology Boston: William Andrew Publishing, 2010. p. 1–36. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-2025-2.10001-0>.

OPREA, Madalina; VOICU, Stefan Ioan. Recent advances in composites based on cellulose derivatives for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, [S. I.], v. 247, p. 116683, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116683>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861720308572>.

PANG, Mujuan et al. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. **European Polymer Journal**, [S. I.], v. 122, p. 109365, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.109365>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305719314582>.

PATEL, Ajay; PATEL, Payal; PARMAR, Manisha; GOSAI, Haren. Employing RSM and ANN-based applications for modelling enhanced bacterial cellulose production from pineapple peel waste using *Komagataeibacter saccharivorans* APPK1. **Chemical Engineering Journal**, [S. I.], v. 480, n. November 2023, p. 148057, 2024. DOI: 10.1016/j.cej.2023.148057. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.148057>.

POUR, Fatemeh Hassan; MAKKAWI, Yassir Taha. A review of post-consumption food waste management and its potentials for biofuel production. **Energy Reports**, [S. I.], v. 7, p. 7759–7784, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.egy.2021.10.119>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352484721011380>.

QIAN, Hanqi; LIU, Jingjing; WANG, Xucai; PEI, Wenhui; FU, Caili; MA, Mingguo; HUANG, Caoxing. The state-of-the-art application of functional bacterial cellulose-based materials in biomedical fields. **Carbohydrate Polymers**, [S. I.], v. 300, n. July 2022, p. 120252, 2023. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.120252. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120252>.

RICHARDS, D. M.; HEEL, R. C.; BROGDEN, R. N.; SPEIGHT, T. M.; AVERY, G. S. Ceftriaxone. **Drugs**, [S. I.], v. 27, n. 6, p. 469–527, 1984. DOI: 10.2165/00003495-198427060-00001.

RODRIGUES, Danielle Matias; DA SILVA, Marcos Fellipe; ALMEIDA, Francisco Lucas Chaves; DE MÉLO, Allan Henrique Félix; FORTE, Marcus Bruno Soares; MARTÍN, Carlos; BARUD, Hernane da Silva; BAUDEL, Henrique Macedo; GOLDBECK, Rosana. **A green approach to biomass residue valorization: Bacterial**

**nanocellulose production from agro-industrial waste. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 2024. DOI: 10.1016/j.bcab.2024.103036. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878818124000197>.

SANTOSO, Shella Permatasari et al. Atmospheric cold plasma-assisted pineapple peel waste hydrolysate detoxification for the production of bacterial cellulose. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 175, p. 526–534, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.169>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813021002117>.

SCHMIDT RIVERA, Ximena C.; LEADLEY, Craig; POTTER, Lynneric; AZAPAGIC, Adisa. Aiding the Design of Innovative and Sustainable Food Packaging: Integrating Techno-Environmental and Circular Economy Criteria. **Energy Procedia**, [S. l.], v. 161, p. 190–197, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.02.081>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876610219311609>.

SHAO, Wei; LIU, Hui; WANG, Shuxia; WU, Jimin; HUANG, Min; MIN, Huihua; LIU, Xiufeng. Controlled release and antibacterial activity of tetracycline hydrochloride-loaded bacterial cellulose composite membranes. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 145, p. 114–120, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.065>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716301308>.

SILVA, Nuno H. C. S.; RODRIGUES, Artur Filipe; ALMEIDA, Isabel F.; COSTA, Paulo C.; ROSADO, Catarina; NETO, Carlos Pascoal; SILVESTRE, Armando J. D.; FREIRE, Carmen S. R. Bacterial cellulose membranes as transdermal delivery systems for diclofenac: In vitro dissolution and permeation studies. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 106, p. 264–269, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714001350>.

SILVA, Sarah Maria Frota; RIBEIRO, Hálisson Lucas; MATTOS, Adriano Lincoln Albuquerque; BORGES, Maria de Fátima; ROSA, Morsyleide de Freitas; DE AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro. Films from cashew byproducts: cashew gum and bacterial cellulose from cashew apple juice. **Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 58, n. 5, p. 1979–1986, 2021. DOI: 10.1007/s13197-020-04709-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04709-7>.

SUN, Bianjing et al. In situ structural modification of bacterial cellulose by sodium fluoride. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 231, p. 115765, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115765>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014486171931433X>.

TROVATTI, Eliane; FREIRE, Carmen S. R.; PINTO, Pedro C.; ALMEIDA, Isabel F.; COSTA, Paulo; SILVESTRE, Armando J. D.; NETO, Carlos Pascoal; ROSADO, Catarina. Bacterial cellulose membranes applied in topical and transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: In vitro diffusion studies. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 435, n. 1, p. 83–87, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.01.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517312000063>.

UL-ISLAM, Mazhar et al. Development of low-cost bacterial cellulose-pomegranate peel extract-based antibacterial composite for potential biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 231, n. October 2022, p. 123269, 2023. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123269. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123269>.

WEI, Bin; YANG, Guang; HONG, Feng. Preparation and evaluation of a kind of bacterial cellulose dry films with antibacterial properties. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 84, n. 1, p. 533–538, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710009938>.

YAMADA, Caroline; LAZARINI, Silmara C.; DO AMARAL, Nayara C.; BARUD, Hernane S.; MARIANO-NETO, Rafael; GONÇALVES, Adriano Marques; DE OLIVEIRA, Guedmiller Souza; LUSTRI, Bruna Cardinali; LUSTRI, Wilton R. Bacterial cellulose-based scaffold: synthesis and surface modification for sustained rifampicin release for topic skin infections treatment. **Cellulose**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 4441–4460, 2024. DOI: 10.1007/s10570-024-05901-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10570-024-05901-0>.

YE, Jianbin; LI, Jianqing; WANG, Xiangjiang; WANG, Qiuhui; WANG, Shouan; WANG, Honglin; ZHU, Hu; XU, Jia. Preparation of bacterial cellulose-based antibacterial membranes with prolonged release of drugs: Emphasis on the chemical structure of drugs. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 323, p. 121379, 2024. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.121379. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861723008445>.

YE, Jianbin; ZHENG, Shanshan; ZHANG, Zhan; YANG, Feng; MA, Ke; FENG, Yinjie; ZHENG, Jianqiang; MAO, Duobin; YANG, Xuepeng. Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* ATCC 23767 using tobacco waste extract as culture medium. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 274, p. 518–524, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.028>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418316729>.

ZABOROWSKA, Magdalena; BODIN, Aase; BÄCKDAHL, Henrik; POPP, Jenni; GOLDSTEIN, Aaron; GATENHOLM, Paul. Microporous bacterial cellulose as a potential scaffold for bone regeneration. **Acta Biomaterialia**, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 2540–2547, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.01.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706110000085>.

ZHOU, Huanyu; WANG, Jing; YIN, Heng; WANG, Chuandong; ZHANG, Linying; ZHANG, Xiaojun; QIAO, Nan; YU, Dayu. Bacterial cellulose production from wastewater and the influence of its porosity on the fluorescence intensity of prepared carbon dots. **Biochemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 187, n. July, p. 108633, 2022. DOI: 10.1016/j.bej.2022.108633. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108633>.

ZOË LENKIEWICZ; FERNANDO BERNARDES, ACHIM HALPAAP, LUCA LOUZADA, ADITI RAMOLA, CARLOS SILVA FILHO, HUGO HENRIQUE SIMONE SOUZA, JOHN SMITH, DANIEL TERNALD, David Wilson. **Global Waste Management Outlook**

**2024 - Beyond an age of waste: Turning rubbish into a resource.** John Smith ed.  
[s.l.] : United Nations Environment Programme, 2024. DOI:  
10.59117/20.500.11822/44939. Disponível em:  
<https://wedocs.unep.org/20.500.11822/44939>.