



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS
MESTRADO ACADÊMICO EM RECURSOS NATURAIS

JOSÉ AURÉLIO PINHEIRO

**ASPECTOS TÉCNICOS E AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA DA EXTRAÇÃO DE
NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA PRODUZIDA EM SUCO DE CAJU**

FORTALEZA – CEARÁ

2016

JOSÉ AURÉLIO PINHEIRO

ASPECTOS TÉCNICOS E AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA DA EXTRAÇÃO DE
NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA PRODUZIDA EM SUCO DE CAJU

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Recursos Naturais. Área de concentração: Recursos Naturais

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Cléa Brito de Figueirêdo.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Pinheiro, José Aurélio.

Aspectos técnicos e avaliação de ciclo de vida da extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju [recurso eletrônico] / José Aurélio Pinheiro. - 2016 .

1 CD-ROM: il.; 4 ¼ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 102 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologia, Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais, Fortaleza, 2016 .

Área de concentração: Recursos Naturais.

Orientação: Prof.^a Dra. Maria Cléa Brito de Figueirêdo..

1. Celulose bacteriana. 2. Hidrólise ácida. 3. Nanocelulose. 4. Avaliação do ciclo de vida. I. Título.

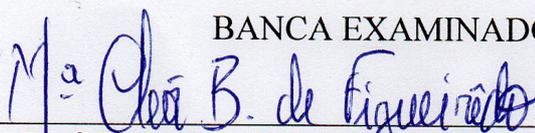
JOSÉ AURÉLIO PINHEIRO

ASPECTOS TÉCNICOS E AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA DA EXTRAÇÃO DE
NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA PRODUZIDA EM SUCO DE
CAJU

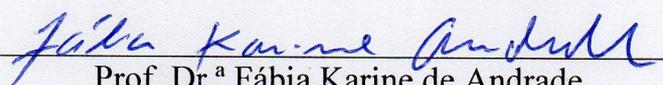
Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado Acadêmico em Recursos
Naturais do Programa de Pós-Graduação
em Recursos Naturais do Centro de
Ciências e Tecnologia da Universidade
Estadual do Ceará, como requisito
parcial à obtenção do título de mestre em
Recursos Naturais.

Aprovado em: 13 de dezembro de 2016

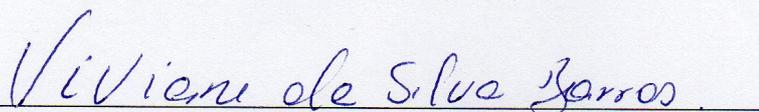
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr.^a Maria Cléa Brito de Figueirêdo (Orientadora)
Universidade Estadual do Ceará – UECE



Prof. Dr.^a Fábila Karine de Andrade
Embrapa Agroindústria Tropical - EMBRAPA



Dr.^a Viviane da Silva Barros
Embrapa Agroindústria Tropical – EMBRAPA

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me ajudado a não desistir nos momentos mais difíceis do desenvolvimento desse trabalho. A ele, minha eterna gratidão.

A minha mãe, Gildemar, que em todos os momentos está sempre rezando e se preocupando comigo. Te amo!

A meu pai, Holanda, que me ensinou a nunca desistir dos meus sonhos e está me apoiando em qualquer situação. Amo você!

A minha irmã, Risoleta e meu sobrinho, Gabriel, por todo o companheirismo e momentos divertidos que me alegraram durante a realização desse trabalho.

A minha amiga, Nágila, que é meu braço direito no laboratório e maior companheira que já tive em meio profissional. Com você aprendo todos os dias uma coisa diferente e quero continuar a aprender muito mais. Muito obrigado por tudo!

A minha amiga, Elane, que me ajuda em tudo e que me dá os melhores conselhos possíveis em qualquer situação. Obrigado por tudo, pelas palavras, pelo carinho, pelo companheirismo. Amo você!

A minha amiga, Amandinha, minha companheira de mestrado, que me ajudou nos momentos mais difíceis, com os melhores conselhos, com as melhores palavras. Enfim, sem você, acho que não teria chegado até aqui. Minha eterna gratidão.

A minha orientadora Maria Cléa, pela atenção, carinho e solicitude durante todas as fases desse trabalho e de outros. Muito obrigado!

A minha co-orientadora Morsyleide, que me acompanha desde a graduação e tem me ajudado com bastante empenho na realização desse e de outros trabalhos. Muito obrigado!

Ao professor Men de Sá, que sempre vem com as palavras mais acolhedoras possíveis e que mais nos ajudam a reerguer nos momentos difíceis. Muito obrigado!

A Lilian, por me aturar desde a graduação com tantos pedidos de ajuda no laboratório! Obrigado pelo apoio e carinho!

A Natália, que passou mais de dois meses me ajudando no desenvolvimento das análises de efluentes do trabalho e no curso de ACV. Obrigado pela ajuda, companhia e apoio!

As minhas amigas Aline Conde, Aline Ramos, Morgana, por sempre acreditarem em mim, pelas palavras acolhedoras e por terem me ajudado a reerguer nos momentos mais difíceis. Amo vocês!

A minha amiga Germana, que sempre acreditou no meu potencial e não me fez desistir em nenhum momento. Muito obrigado!

A minhas amigas, Edla, Gleyciara, Gleycielle, Vanessa e Milena (sambistas!), por me ajudarem nas mais diversas dificuldades que tive durante desse e de outros trabalhos, pela simplicidade e por me divertirem em tantos momentos! Amo vocês!

A toda a equipe de ACV, especialmente Ana Lúcia, que me ajudou a fazer o inventário, me ajudou a entender o Simapro e em diversas outras etapas desse trabalho. Minha eterna gratidão!

A toda a equipe de CB (Celulose Bacteriana), especialmente Maria, Niédja, Matheus, Rayra e Elígenes, que me ajudaram a entender os processos químicos e microbiológicos. Muito obrigado!

Aos companheiros do Laboratório de Tecnologia da Biomassa, especialmente: Rayanne, Edna, Tayane, Menta, Gabi, André, Edem, Priscila, Sheyliane, Nádia, Fábio, Avelino, Celso, Amanda Kelly, Jéssica, Ana Claudia, Jade, Lúcia, Andressa, Izabel, Helder, Vitória e alguém que por descuido me esqueci. Durante esses dois anos de muito trabalho, vocês deixaram meu dia a dia mais leve! Obrigado!

A Universidade Estadual do Ceará, a turma de mestrado, em especial Marília, Luana, Wivian, Silvana, Patrícia, Lidiane, Giulvelini e Hilana pelo apoio durante as disciplinas e dificuldades que encontramos durante o caminho. Obrigado!

Aos membros da banca, Fabia e Vivi, que me ajudaram com as melhores sugestões e contribuições para o desenvolvimento do trabalho. Muito obrigado!

A Dra Celli, por realizar com tanta atenção e rapidez as minhas imagens de MET. Obrigado!

RESUMO

Os nanocristais de celulose (NCCs) são domínios cristalinos obtidos de fontes celulósicas que, quando isolados, têm sido avaliados como material de reforço em matrizes poliméricas pelo seu potencial em melhorar as propriedades mecânicas, ópticas, dielétricas, dentre outras, dessas matrizes. Nesse trabalho, NCCs foram obtidos a partir de celulose bacteriana (CB) produzida em um meio alternativo que foi o suco de caju. Diversas fontes de carbono alternativas têm sido estudadas para a produção de CB obtendo-se resultados satisfatórios quando se compara com métodos tradicionais que utilizam meio sintéticos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos: i) apresentar processos de extração de NCC a partir da CB (NCCB), caracterizando-se esses materiais; e ii) avaliar os impactos ambientais de ciclo de vida dos NCCB. As CB e NCCB foram caracterizadas por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (DRX), Análise Termogravimétrica (ATG), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Potencial Zeta. A ferramenta utilizada para a avaliação ambiental foi a Análise de Ciclo de Vida (ACV), com escopo do berço ao portão, sendo contemplados os seguintes blocos de processos: i) produção de CB, abrangendo os processos unitários de pré-ativação da bactéria, ativação da bactéria e cultivo estático; ii) pré-tratamento, que abrange os processos de purificação e neutralização das películas de CB; e iii) extração de NCCB, que contempla os processos de trituração das películas de CB, hidrólise ácida, centrifugação e diálise. As películas de CB foram obtidas a partir da inoculação de *Gluconoacetobacter hansenii* em suco de caju suplementado. Em seguida, se propôs dois cenários para avaliação ambiental: o cenário I, inseriu-se H₂O₂ 1% na purificação convencional com NaOH 2% e no cenário II, excluiu-se a etapa de purificação. Para obtenção dos NCCB, procedeu-se à hidrólise ácida das CBs produzidas pela metodologia convencional e seus respectivos cenários, utilizando-se ácido sulfúrico (H₂SO₄) na concentração de 60% (m/m) em combinação com ácido clorídrico (HCl) 37% (m/m). As películas de CB apresentaram estabilidade térmica e índice de cristalinidade (IC) satisfatórios, com temperaturas T_{Onset} variando entre 277°C a 318°C e IC com variação entre 69% e 80,7%. As suspensões de NCCB obtidas apresentaram aspecto gelatinoso típico e potencial zeta variando de -62 mV a -35 mV, o que configura estabilidade das suspensões. As NCCB apresentaram boa estabilidade térmica, com temperaturas T_{Onset} de 228°C para a metodologia convencional (MC), 300°C para o cenário I e 278°C para o cenário II. Notou-se também que os NCCB

apresentaram bons ICs, com valores de 84,31% para MC, 83,7% para o cenário I e 81,8 % para o cenário II. Foram observadas, ainda, nanoestruturas com comprimentos (L) entre 1347 nm a 1852 nm e diâmetros (D) situados entre de 59 nm e 80 nm, o que reproduziu boa razão de aspecto (L/D) de 23,2 (MC), 23,3 (Cenário I) e 21,9 (Cenário II). Isso demonstra que os nanocristais de celulose produzidos podem ser indicados como reforço em matrizes poliméricas. A avaliação ambiental mostrou que o bloco que mais contribui com os impactos ambientais dos NCCB foi o processo purificação das películas de CB. A análise de cenários do processo de purificação mostrou que os dois cenários avaliados foram menos impactantes que o processo convencional em todas as categorias de impacto avaliadas. Conclui-se que os NCCB obtidos a partir dos cenários possuem características semelhantes aos da metodologia convencional, principalmente os NCCB obtidos de CB não purificadas. Portanto, avaliando quimicamente e ambientalmente, os cenários I e II apresentaram resultados que os tornam capazes de substituir o processo convencional.

Palavras-chave: Celulose bacteriana. Hidrólise ácida. Nanocelulose. Avaliação do ciclo de vida.

ABSTRACT

Cellulose nanocrystals (CNCs) are crystalline domains obtained from cellulosic sources that, when isolated, have been evaluated as reinforcing material in polymer matrices due to their potential to improve, the mechanical, optical and dielectric properties of these matrices. In this work, they were obtained from bacterial cellulose (BC) in an alternative medium, which is cashew juice. Several alternative carbon sources have been studied to produce BC, showing satisfactory results when compared with traditional methods using synthetic media. In this context, the objectives of the present work were: i) to present a process for extraction of CNCs from bacterial cellulose (BNC), characterize these materials; and ii) to evaluate the NCCB life cycle environmental impacts. The BCs and BNCs were characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD), Thermogravimetric Analysis (TGA), Scanning Electron Microscopy (SEM), Electron Transmission Microscopy and Zeta Potential. The tool used for the environmental evaluation was the Life Cycle Assessment (LCA), using a cradle to gate scope. The following blocks of processes were considered: i) BC production, covering the unit processes of pre-activation of the bacteria, bacterial activation and static cultivation; ii) pretreatment, which includes purification and neutralization processes of the BC films; and iii) extraction of BNC, which contemplates the processes of crushing of BC films, acid hydrolysis, centrifugation and dialysis. BC films were obtained from the inoculation of *Gluconoacetobacter hansenii* in supplemented cashew juice. Then, these films were purified with 2% NaOH, at where two scenarios were proposed for environmental evaluation: in scenario I, 1% H₂O₂ was inserted in the conventional purification with 2% NaOH and in scenario II, the purification step was excluded. To obtain the BNC, from BCs produced by the conventional methodology and their respective scenarios acid hydrolysis were done using 60% (w/w) sulfuric acid (H₂SO₄) in combination with hydrochloric acid (HCl) 37% (w/w). CB films presented satisfactory thermal stability, with T_{Onset} temperatures ranging from 269°C to 306 °C. The crystallinity indexes varying between 69 and 80,7%. The obtained BNC suspensions presented a typical gelatinous appearance and zeta potential ranging from -62 mV to -35 mV, which represents colloidal stability. Moreover, BNC presented high thermal stability with T_{Onset} temperatures of 206°C for conventional methodology (CM), 292°C for scenario I and 281 °C for scenario II. It was also observed that the BNC presented good crystallinity indexes, with values of 84.31% for MC, 83.7% for scenario I and 81.8% for scenario II. Nanostructures with lengths (L) between 1347 nm and

1852 nm and diameters (D) between 59 nm and 80 nm were observed, which produced good aspect ratios (L/D) of 23.2 (CM), 23.3 (Scenario I) and 21.9 (Scenario II). This demonstrates that the produced cellulose nanocrystals can be indicated as reinforcement in polymer matrices, among other applications. The environmental assessment showed that the purification block contributes majority to the environmental impacts of BNC production. Scenario analysis of this step showed that both scenarios evaluated were less impacting than the conventional process in all impact categories analyzed. It is concluded that the BNCs obtained from scenario analysis have similar characteristics to those from the conventional methodology, mainly BNC obtained from unpurified BC. Therefore, evaluating chemically and environmentally, the scenarios I and II presented results that make them useful to replace the conventional process.

Keywords: Bacterial cellulose. Acid Hydrolysis. Nanocellulose. Life Cycle Assessment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura da Celulose	20
Figura 2 –	Nata de coco	22
Figura 3 –	Etapas da ACV	31
Figura 4 –	Processo multifuncional com vários produtos de entrada e recursos consumidos e vários resíduos e emissões gerados, além de gerar os dois coprodutos 1 e 2.....	33
Figura 5 -	Principais etapas que foram desenvolvidas nesse trabalho.....	43
Figura 6 –	Película que se forma no meio de cultura contendo a bactéria <i>Gluconacetobacter hansenii</i> ATCC 53582.....	45
Figura 7 –	Películas de celulose bacteriana obtida a partir de suco de caju em saco para autoclave selado com o auxílio de uma estampadora e prontas para a etapa de autoclavagem.....	46
Figura 8 –	Suspensão de nanocristais de celulose inserida dentro da membrana de diálise	48
Figura 9 -	Fronteiras do sistema.....	53
Figura 10 –	Produção dos principais insumos de entrada como suco de caju, suco de caju suplementado e caldo HS.....	59
Figura 11 –	Curvas termogravimétricas da celulose bacteriana e dos nanocristais obtidos.....	60
Figura 12 –	Derivadas das curvas termogravimétricas da celulose bacteriana e dos nanocristais obtidos.....	61
Figura 13	- Espectro de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR) das celulosas bacterianas CB₁, CB₂ e CB₃ e dos nanocristais de celulose obtidos NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃.....	65
Figura 14 -	Espectro de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR) ampliado da celulose CB₁ para melhor visualização dos principais números de onda	65
Figura 15 –	Difratogramas das celulosas bacterianas CB₁, CB₂ e CB₃ produzidas em suco de caju.....	68
Figura 16 –	Difratogramas dos nanocristais NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃ de celulose bacteriana produzida em suco de caju.....	69

Figura 17 –	Imagens das películas de celulose bacteriana CB₁ (a), CB₂ (c) e CB₃ (e) e suas respectivas micrografias (b), (d) e (f) das películas secas em estufa	70
Figura 18 –	Imagem das suspensões dos nanocristais de celulose bacteriana NCCB₁ (a), NCCB₂ (c) e NCCB₃ (e), respectivamente e suas micrografias por MET representadas em (b), (d) e (f)	72
Figura 19 –	Análise de impactos da extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju, processo convencional	78
Figura 20 –	Comparação da ‘Extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida a partir do suco de caju – processo convencional’ com os cenários I e II	80
Figura 21 –	Análise de erro entre o processo convencional e a análise de cenário I.....	82
Figura 22 –	Análise de erro entre o processo convencional e a análise de cenário II.....	83
Figura 23 –	Análise comparativa entre a produção de CB em meio sintético e em suco de caju.....	84
Figura 24 –	Análise comparativa entre a produção de CB em meio sintético e em suco de caju com foco na etapa de depleção hídrica.....	85
Figura 25 –	Análise de erro entre a produção de CB por meio de cultura sintético e meio de cultura alternativo suco de caju.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Exemplos de comprimento (L) e diâmetro (d) de NCC de diversas fontes a partir da técnica de MET (Microscopia Eletrônica de Transmissão).....	28
Tabela 2 –	Estudos de extração de nanocristais de celulose e suas condições de hidrólise.....	29
Tabela 3 –	Fontes secundárias dos dados do estudo ACV.	53
Tabela 4 –	Métodos utilizados para determinação dos parâmetros químicos de qualidade dos efluentes líquidos	56
Tabela 5 –	Características químicas do suco de caju.	59
Tabela 6 –	Produção e umidade das películas de celulose obtidas de cada purificação.	62
Tabela 7 –	Temperatura T_{Onset} e temperatura final de degradação térmica e perda de massa referentes a análise termogravimétrica das celulosas bacterianas e de seus respectivos nanocristais de celulose bacteriana obtidos.....	63
Tabela 8 –	Potencial zeta das suspensões de nanocristais e rendimento da extração dos nanocristais obtidos.	63
Tabela 9 –	Principais frequências vibracionais (cm-1) observadas para as celulosas bacterianas CB1, CB2 e CB3 e os respectivos nanocristais obtidos NCCB1, NCCB2 e NCCB3.....	66
Tabela 10 –	Inventário referente à produção de 1 g de NCCB produzida em suco de caju.....	76
Tabela 11 –	Comparação do melhor cenário de extração de nanocristais de CB produzida em suco de caju (Cenário II) com o processo de extração de NCC a partir de FPMD.....	87
Tabela 12 –	Comparação do melhor cenário de extração de nanocristais de CB produzida em suco de caju (Cenário II) com os melhores cenários de extração de NCC a partir do coco	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCV	Associação Brasileira de Ciclo de Vida
ACV	Avaliação do Ciclo de Vida
AICV	Avaliação do Impacto do Ciclo de Vida
ATG	Análise Termogravimétrica
AVC	Análise do Ciclo de Vida
BOD	Bioquímico Oxigen Demand
CB	Celulose Bacteriana
CML	Instituto de Ciências Ambientais da Universidade de Leiden, Holanda
DNS	Método do Ácido Dinitrosalicílico
DTG	Derivada Termogravimétrica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DRX	Difração de Raios-X
FPMD	Fibras da Prensagem do Mesocarpo do Dendê
FTIR	Infravermelho por Transformada de Fourier
HS	Meio de cultura padrão desenvolvido por Hestrin e Schramm
ICV	Análise do Inventário do Ciclo de Vida
IPCC	Painel Intergovernamental sobre Mudança Climática
IC	Índice de Cristalinidade
JCPDS-ICDD	Joint Committee on Powder Diffraction Standards-International Center for Diffraction Data
LPT	Laboratório de Produtos Tecnológicos e Processos
LTB	Laboratório de Tecnologia da Biomassa
MC	Metodologia Convencional
MCF	Nanocelulose Microfibrilada
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NCC	Nanocristais de Celulose
NCCB	Nanocristais de celulose bacteriana
NFC	Nanofibrilas de celulose
PAG	Potencial de Aquecimento Global

PBACV

Programa Brasileiro em Avaliação do Ciclo de Vida

TG

Termogravimetria

UFC

Universidade Federal do Ceará

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	GERAL.....	19
2.2	ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	CELULOSE.....	20
3.2	CELULOSE BACTERIANA.....	21
3.3	SÍNTESE DE CB POR <i>GLUCONACETOBACTER</i> E SEUS TIPOS DE CULTIVO.....	22
3.4	FONTES ALTERNATIVAS DE SÍNTESE DE CB E O SUCO DE CAJU	23
3.5	PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	25
3.6	NANOCRISTAIS DE CELULOSE.....	26
3.7	OBTENÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE POR HIDRÓLISE ÁCIDA	28
3.8	ANÁLISE DE CICLO DE VIDA	30
3.8.1	Objetivo e escopo	31
3.8.2	Análise do inventário (ICV)	32
3.8.3	Análise de impactos de ciclo de vida (AICV)	34
3.8.4	Análise de incerteza – Monte Carlo	39
3.8.5	ACV e Nanomateriais	39
4	METODOLOGIA	43
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE CAJU E FORMULAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO	44
4.2	MICROORGANISMO, INÓCULO E CONDIÇÕES DE CULTIVO	44
4.3	PRÉ-TRATAMENTO DAS PELÍCULAS DE CB.....	45
4.3.1	Purificação com NaOH 2% (metodologia convencional)	45
4.3.2	Purificação com NaOH 2% e H₂O₂ 1% (Cenário I)	45
4.3.3	Autoclavagem das películas de CB (Cenário II)	46
4.4	PRODUÇÃO (G.L ⁻¹).....	47
4.5	UMIDADE	47
4.6	EXTRAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA POR	

	HIDRÓLISE ÁCIDA	47
4.7	ETAPAS PÓS HIDRÓLISE: CENTRIFUGAÇÃO, ULTRASSONICAÇÃO E DIÁLISE	48
4.8	RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE.....	49
4.9	CARACTERIZAÇÕES DOS MATERIAIS	50
4.9.1	Microscopia eletrônica	50
4.9.2	Análise termogravimétrica (ATG).....	51
4.9.3	Análise de difração de raio-X (DRX).....	51
4.9.4	Análise de infravermelho por transformada de fourier (ftir)	52
4.9.5	Análise de potencial zeta	52
4.10	AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA	52
4.10.1	Estudo do ACV	52
5	RESULTADOS	59
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE CAJU.....	59
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS CELULOSES BACTERIANAS (CB) E DOS NANOCRISTAIS DE CELULOSE (NCCB) OBTIDOS	59
5.2.1	Análise termogravimétrica, potencial zeta e rendimento de extração dos nanocristais (NCCB)	60
5.2.2	Análise de infravermelho por transformada de fourier (FTIR)	64
5.2.3	Análise de difração de raio-X (DRX).....	67
5.2.4	Análise microscópica	70
5.3	ANÁLISE DE CICLO DE VIDA	74
5.3.1	Análise de inventário do sistema de extração de nanocristais de celulose bacteriana (nccb) produzida em suco de caju.....	74
5.3.2	Avaliação de impactos do sistema de extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju.	75
5.3.3	Análise comparativa entre a produção de celulose bacteriana em meio sintético e em suco de caju.	83
5.3.4	Análise comparativa entre os ncc obtidos de celulose bacteriana e outras fontes.....	86
6	CONCLUSÕES.....	89
	REFERÊNCIAS	90

1 INTRODUÇÃO

Obtida a partir de fontes renováveis, a celulose é o polímero mais abundante da terra e consiste da união entre monômeros de D-glicopiranosose (cadeia cíclica da glicose). Devido a sua grande disponibilidade, a fonte de celulose mais consumida comercialmente é a madeira, atendendo as demandas da indústria de papel. No entanto, a celulose pode ser obtida a partir de outras fontes como: o cânhamo, linho, juta, rami, algodão, dendê, coco, entre outras. Além dessas fontes, a celulose pode ser sintetizada por bactérias do gênero espécie *Gluconacetobacter*, sendo conhecida como celulose bacteriana (CB) (LIMA et al., 2015).

Em termos de estrutura química, a celulose produzida pelas bactérias é idêntica à produzida pelas plantas. Porém, apresenta maiores cristalinidade, capacidade de retenção de água e resistência mecânica. Por não conter lignina, hemicelulose ou outros componentes naturais, estas características tornam a CB uma matéria-prima interessante para aplicações como reforço em compósitos, biomédica (curativos e matriz para liberação controlada de antibióticos e fármacos), indústria alimentícia (SHI et al., 2014; BARUD et al., 2016; JIPA et al., 2012). Sua produção é realizada em meios de cultura constituídos por açúcares e outros nutrientes apropriados para o crescimento do microrganismo. A CB apresenta-se sob a forma de uma película quando obtida em cultivo estático e, em esferas quando sintetizada de forma agitada (CHAWLA et al., 2009).

Nos últimos anos, a fim de diminuir os custos de produção de celulose bacteriana e agregar valor à resíduos agroindustriais, tem havido uma preocupação crescente na busca de meios por cultura alternativos com base em outras fontes de açúcares, como frutas e legumes. Porém, ao usar esses substratos alternativos, agregamos valor aos mesmos, pois é possível se obter CB com uma produção semelhante ou superior quando se compara com processos que utilizam meios sintéticos (CASTRO et al., 2011). Dentre esses meios de cultura alternativos, surge o suco de caju. O caju é dividido em duas partes: a castanha (verdadeiro fruto), que é o produto de maior interesse comercial, e o pedúnculo (pseudofruto). Nas indústrias, o pedúnculo apesar de ter seu uso direcionado na produção de suco integral, há um baixo nível de aproveitamento do mesmo, com o desperdício de 80 a 90% da sua produção. Porém, este subproduto tem alto teor de frutose, glicose e sacarose, minerais, vitaminas e alguns aminoácidos. Outro fator como sua grande disponibilidade, torna o caju um interessante objeto de estudo como substrato para fermentação e processo enzimático em diversas aplicações (FONTES et al., 2013). No intuito de estabelecer novas alternativas de uso para o

pedúnculo do caju, muitos estudos estão sendo conduzidos buscando avaliar seu potencial como fonte de carbono/nutrientes em processos de fermentação (BETIKU et al., 2016). Nesse sentido, o suco de caju vem sendo utilizado e obtendo ótimos resultados como meio de cultura alternativo para a produção de películas de celulose bacteriana (DUARTE et al., 2015; LIMA, 2014; CARNEIRO, 2015).

A celulose bacteriana mostrou se como excelente fonte de celulose para a extração de nanocristais (NCC) (VASCONCELOS et al., 2017). Nanocristais de celulose são domínios cristalinos de celulose isolados por meio de hidrólise ácida ou enzimática. Nos últimos anos tem havido um grande interesse no estudo desses materiais devido ao seu crescente potencial de aplicação como, por exemplo, no campo da eletrônica, no preparo de painéis solares flexíveis, em aplicações ópticas, como reforço em produtos termoplásticos (filmes e embalagens de alimentos), cosméticos e farmacêuticos (agentes de liberação de comprimidos e agentes de encapsulação), medicamentos (produtos cirúrgicos hipoalergênicos), entre outras (LIMA et al., 2015; GHIRI & ADHIKARI, 2012).

Para avaliar todos os aspectos e impactos potenciais associados ao processo de extração dos nanocristais de celulose bacteriana obtida a partir do suco de caju, pretende-se utilizar a Análise do Ciclo de Vida (ACV). A ACV avalia os impactos relacionados às etapas de produção associadas a produtos, processos e serviços mediante a associação dos dados do inventário do ciclo de vida a categorias de impacto específicas, num processo que consiste na Avaliação do Impacto do Ciclo de Vida (AICV). Na AICV, são consideradas várias categorias de impacto como mudança climática, eutrofização marinha, depleção hídrica, toxicidade humana. Elas têm que estar de acordo com o objetivo e escopo definido no estudo. As emissões e recursos são atribuídos às categorias de impacto e convertidos em indicadores utilizando métodos de avaliação de impacto (PIEKARSKI et al., 2012).

Dessa forma, o presente trabalho consiste em obter e caracterizar nanoestruturas de celulose bacteriana obtida a partir do suco de caju, bem como apontar melhorias ambientais no processo de obtenção desses materiais através da ferramenta ACV. Esses avanços serão identificados em sua maioria nas comparações entre as análises dos cenários propostos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- ✓ Obter nanocristais de celulose bacteriana produzida a partir da fermentação do suco de caju e avaliar os impactos ambientais desse processo.

2.2 ESPECÍFICOS

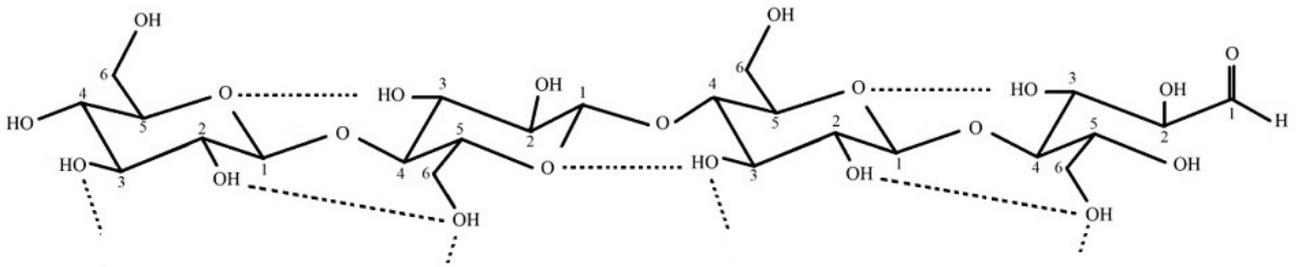
- ✓ Obter nanocristais de celulose bacteriana produzida a partir do suco de caju por hidrólise ácida;
- ✓ Caracterizar os nanocristais obtidos através de Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (DRX), Análise Termogravimétrica (ATG), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET);
- ✓ Avaliar a viabilidade da retirada do processo de purificação convencional (NaOH) nas películas de celulose bacteriana para obtenção de nanocristais;
- ✓ Avaliar o desempenho ambiental da extração dos nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju, identificando os pontos críticos e determinando os impactos ambientais da produção de 1 g de nanocristais por meio da utilização da Avaliação do Ciclo de Vida.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CELULOSE

A celulose é um polímero semi-cristalino, compreendendo regiões amorfas (desordenadas) e cristalinas (ordenadas). Ela apresenta uma cadeia não ramificada, possuindo fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$, onde as ligações 1,4- β -D-glicose consistem em cadeia de glucano β -1 \rightarrow 4. As cadeias de glucano são mantidas juntas por ligações de hidrogênio inter e intramoleculares, como mostrado na Figura 1 (SHMULSKY & JONES, 2011; IOELOVICH, 2008; KLOCK, MUÑIZ, HERNANDEZ, 2005).

Figura 1 – Estrutura da Celulose



Fonte: Adaptado de Esa, Tasirin & Rahman (2014).

A celulose pode ser obtida a partir de uma variedade de fontes, como as fibras vegetais, tal como madeira, coco, dendê, línter de algodão, bagaço de cana, bambu, fibras liberianas (linho, cânhamo, juta, rami etc.), animais marinhos (tunicados), algas, fungos e bactérias. A celulose, a lignina e a hemicelulose são os principais componentes estruturais presentes nos materiais lignocelulósicos em geral. Entretanto, a celulose destaca-se perante as demais estruturas por conferir resistência mecânica às fibras, em decorrência de ligações de hidrogênio existentes entre as cadeias de celulose (NECHYPORCHUK, BELGACEM, BRAS, 2016).

O estudo de materiais biodegradáveis a partir de fontes renováveis cresce cada vez mais. Nesse contexto, a celulose é o biopolímero mais abundante que existe na terra com aproximadamente $1,5 \times 10^{12}$ toneladas de celulose produzidas a cada ano, podendo ser encontrada em várias formas polimórficas, as mais estudadas são: celulose tipo I (celulose nativa) e celulose tipo II (SILVA & D'ALMEIDA, 2009; HUBER et al., 2012; UMMARTYOTIN & MANUSPIYA, 2015).

A celulose I é um polimorfo natural e é o tipo mais cristalino que existe, podendo ser encontrado sob as seguintes isoformas: I_α e I_β . Ao submetemos a celulose I a um tratamento químico ou térmico, ocorre conversão na sua estrutura cristalina, o que resulta em diferentes conformações da celulose. Pode-se obter assim a celulose II e outros tipos de polimorfos (III e IV). A celulose II tem um arranjo de cadeias antiparalelas, e pode ser formada por duas vias distintas: mercerização (tratamento alcalino) ou de regeneração (solubilização e subsequente recristalização da celulose I). As formas nativas transformam-se em celulose III₁ quando celulose I é tratada com NH₃ líquida (-80°C) e posterior remoção desse agente, aquecendo-se, torna-se reversível para a celulose I_β. Novamente em uma reação reversível, com amônia líquida (-80°C), a celulose II transforma-se em celulose IV₂. Outras transformações podem ser verificadas como: celulose III₁ em celulose IV₁ com glicerol a 260°C e celulose III₂ em IV₂ com temperatura igual ou superior a 280°C. (SUHAS et al., 2016; SILVA & D'ALMEIDA, 2009).

3.2 CELULOSE BACTERIANA

A celulose bacteriana (CB) foi primeiramente descrita e relatada no ano de 1886, quando Brown encontrou uma membrana forte e gelatinosa na superfície de um caldo de fermentação de vinagre. Desde então, depois de muitas observações, ele deu o nome da cepa de *Acetobacter xylinus*, mas existem outros gêneros de bactérias capazes de produzir celulose, como por exemplo, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina* (BROWN, 1886; CAMPANO et al., 2016).

As microfibrilas de CB foram primeiramente descritas por Muhlethalerin em 1949 e são cerca de 100 vezes menores do que a celulose de plantas. O fato de suas fibras terem dimensões nanométricas dão à CB propriedades distintas. Entre essas propriedades destacam-se a sua alta resistência mecânica, nanoestrutura única, alta pureza (livre de lignina, pectina e hemicelulose), alta capacidade de retenção de água, alto grau de polimerização, elevada resistência mecânica e elevada cristalinidade. A descoberta de pesquisas anteriores tem mostrado claramente que CB e seus derivados têm um alto potencial, proporcionando um futuro promissor em vários campos de aplicação, como biomédica, eletrônica e indústria de alimentos (ESA, TASIRIN & RAHMAN, 2014; DONINI et al., 2010).

A síntese de CB tem atraído cada vez mais atenção na área biomédica devido à sua estrutura única e por ser biocompatível e atóxica, tornando-se um material promissor em

várias aplicações nesse campo. Sendo um absorvente altamente poroso, a CB sozinha ou na forma de compósito pode ser um candidato ideal para a produção de curativos atuando na redução ou eliminação completa dos exsudados, no transporte de antibióticos ou de outros medicamentos para a ferida, enquanto proporciona também uma barreira física eficaz contra qualquer infecção externa, possuindo assim a característica de curativos modernos (HUANG et al., 2014; ULLAH et al., 2016).

Nas indústrias de alimentos, devido a sua alta pureza, textura e variedade de formatos, a CB tem uma enorme aplicabilidade. Ela pode ser utilizada como espessante e gelificante (SHI et al., 2014). Nesse âmbito, temos a “Nata de coco”, produzida a partir da fermentação da água de coco por *G. hansenni* (Figura 2), que é um produto originário de Filipinas e é considerado uma sobremesa tradicional no Sudeste Asiático. Devido ao processo de fabricação simples, este alimento tornou-se muito popular. (PHISALAPHONG & CHIAOPRAKOBKIJ, 2012).

Figura 2 – Nata de coco



Fonte: Favora Nata de Coco (2016).

3.3 SÍNTESE DE CB POR *gluconacetobacter* E SEUS TIPOS DE CULTIVO

As bactérias do gênero *Gluconacetobacter* são conhecidas por secretar fibrilas de celulose. Elas são organismos aeróbios e têm a capacidade de converter o etanol em ácido acético e, como consequência, podem ir a níveis baixos de pH. *Gluconacetobacter sp.* pode

ser isolado a partir de uma variedade de materiais açucarados, ácidos, alcoólicos, tais como frutos, flores, vinagre, cerveja, tequila e vinho. Além da CB, *G. hansenii* tem a capacidade de produzir heteropolissacarídeos solúveis em água (VALEPYN, BEREZINA & PAQUOT, 2012; AYDM & AKSOY, 2014).

A celulose bacteriana pode ser sintetizada por duas formas: estática e agitada. No meio de cultivo estático, a CB é produzida na interface ar-água como um conjunto de fitas cristalinas reticuladas que formam uma película, que aumenta em espessura com o aumento do tempo de cultivo (SHAH et al., 2013; CHAWLA et al., 2009).

O meio de cultivo agitado é considerado uma abordagem alternativa para a produção de CB, que gera pequenas pelotas ou grânulos em vez de películas. Essas pelotas de CB apresentam algumas desvantagens como exibir um menor grau de polimerização, menores resistência mecânica e cristalinidade do que os produzidos sob cultivo estático (SHAH et al., 2013; DONINI et al., 2010).

Há diferenças consideráveis entre os dois tipos de cultivo. O meio agitado é geralmente utilizado quando se quer aumentar a produção de celulose em massa e diminuir a área de cultivo quando a formação da película não é de interesse. Um dos grandes problemas desse sistema de produção refere-se a mutações espontâneas. Quando bactérias produtoras de celulose são transferidas para culturas agitadas espontaneamente, elas se transformam em linhagens não produtoras de celulose, resultando no aumento de densidade celular e, conseqüentemente, no baixo rendimento de celulose (HUNGUND & GUPTA, 2010; RECOUVREUX, 2008).

3.4 FONTES ALTERNATIVAS DE SÍNTESE DE CB E O SUCO DE CAJU

É viável a produção de CB em meios alternativos com foco na utilização de produtos ou resíduos da agroindústria. Tais produtos pode conter açúcares em sua composição e podem ser considerados fontes de carbono em potencial para processos fermentativos. Isso é importante, pois agregará valor a esse resíduo, diminuindo assim o impacto ambiental que ele causaria. A produção de CB em meios alternativos pode ser semelhante ou superior quando se compara com a produção convencional que utiliza meios sintéticos.

Coco e abacaxi são frutos populares em muitos países tropicais. Uma vez que os sucos são ricos em hidratos de carbono e proteínas, eles podem ser utilizados como substrato para a produção de celulose bacteriana (KONGRUANG, 2008). Outros exemplos de meios de

cultivo alternativos para a produção de celulose bacteriana são: sucos de maçã e goiaba (LIN et al., 2016; KUROSUMI et al., 2009), melão de cana (TYAGI & SURESH, 2016), resíduos de levedura da fermentação de cerveja (LIN et al., 2014), melão de beterraba (KESHK et al., 2006), líquido do sisal (DUARTE et al., 2015), extrato de algaroba (NASCIMENTO et al., 2016).

O suco de caju é uma interessante opção como substrato para a produção de celulose bacteriana. Grande parte do pedúnculo resultante do processamento da castanha é desperdiçada mesmo com as várias formas de aproveitamento que existem na alimentação humana (suco, cajuína, geléia e doces). Os dois materiais (suco de caju e pedúnculo) são fontes de vários nutrientes como vitamina C, cálcio, fósforo, antioxidantes, aminoácidos e principalmente açúcares que apresenta valores de até 150 g/L. Isso agrega valor e reduz a perda desse insumo altamente disponível na região Nordeste do Brasil (HONORATO & RODRIGUES, 2010; FONTES et al., 2009).

A agroindústria do caju tem um papel importante na economia local da região Nordeste do nosso país. A estimativa oficial de produção de castanha de caju do Brasil para 2016 foi de cerca de 215 mil toneladas, o que corresponde a mais de 2,4 milhões de toneladas de caju (CONAB, 2016). No entanto, apenas 18% do pedúnculo total é consumido in natura ou são processados industrialmente para produzir suco nas indústrias. Devido à rápida deterioração dos pedúnculos, somente 15% são aproveitados na produção de sucos e derivados. Entretanto, tais resíduos possuem elevado potencial, pois são ricos em açúcares, vitaminas, sais minerais, fibras e outros compostos com propriedades funcionais. Dessa forma, procura-se aumentar o seu aproveitamento por meio do processamento dos pedúnculos e do bagaço de caju resultante da indústria de sucos. (OLIVEIRA et al., 2013; AGOSTINI-COSTA, LIMA & LIMA, 2003).

A grande preocupação da geração de resíduos industriais está voltada para os prejuízos que eles podem gerar no solo, água, ar e paisagens, pois, quando incorretamente gerenciados, podem tornar-se ameaça ao meio ambiente. O aproveitamento de resíduos da indústria alimentícia tem potencial para melhorar a oferta de alimentos que possam substituir de forma parcial ou integral alguns componentes básicos na composição das rações animais, como no caso dos frutos tropicais, que geram grandes desperdícios (RAMOS et al., 2006).

A possibilidade de redução de custos de um produto final e um aproveitamento melhor de resíduos e de produtos da agroindústria são fatores que são ocasionados pelo uso de

fontes de carbono alternativas em processos fermentativos. Isso diminuirá o impacto ambiental causado por esses materiais.

3.5 PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

Um passo decisivo na produção de películas de celulose bacteriana é a etapa de purificação. Este processo destina-se a remover essencialmente meio de cultura, células bacterianas e outros detritos remanescentes do processo de cultivo estático que ficam ligados a película. NaOH é um dos produtos químicos mais utilizados no processo de purificação, uma vez que é capaz de hidrolisar e remover as impurezas presentes na celulose (BAJPAI, 2005).

O tratamento alcalino de celulose bacteriana é bastante importante, visto que remove materiais não-celulósicos aprisionados como proteínas, ácidos nucleicos e outros detritos. A estrutura do cristal, morfologia e estabilidade térmica da celulose bacteriana podem variar, dependendo da concentração de NaOH e do tempo e temperatura empregados. O arranjo molecular de celulose, formada por rede de ligações de hidrogênio entre grupos hidroxila também pode ser afetada por tais tratamentos alcalinos. A concentração de NaOH usada para a purificação de CB geralmente varia entre 1 a 5%, dependendo do tempo e temperatura. Pesquisadores relataram que a transformação de celulose I em celulose II ocorre em concentrações acima de NaOH a 6% (GEORGE et al., 2008; BORYSIK & GARBARCZYK, 2003; MOIGNE & NAVARD, 2010).

GEA e colaboradores (2011) testaram dois tipos diferentes de purificação em suas CBs. A primeira purificação consistiu apenas em lavar as películas com NaOH na concentração de 2,5% (m/v) e a segunda acrescentou mais uma etapa a primeira, que foi a purificação com hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% (m/v). O tratamento referente a purificação com NaOH 2,5% (m/v) seguido por NaOCl 2,5% (m/v) impediu qualquer alteração na estrutura das fibras de celulose (celulose I para celulose II), a qual foi demonstrada pelas análises de DRX e FTIR. Tang et al. (2010) também utilizaram outros tipos de purificação. Foram testados quatro tipos de lavagens diferentes para purificar as CBs, com quatro tipos de reagentes alcalinos na concentração de 0,1 mol/L: carbonato de potássio, carbonato de sódio, hidróxido de potássio e hidróxido de sódio. As películas de CB purificadas com K_2CO_3 apresentaram melhor porosidade e diâmetro do que as demais.

Alguns trabalhos vêm utilizando o peróxido de hidrogênio durante a purificação das CBs. Kulkarni, Dixit & Singh (2012) purificaram películas de CB com NaOH na concentração de 4%. Em seguida, as películas foram branqueadas com peróxido de hidrogênio 10% para se obter o brilho máximo possível. As respectivas películas foram analisadas, o índice de cristalinidade foi de 93% e não se verificou mudanças na estrutura da celulose. Gupta & Johnson (1991) testaram purificações em películas de CB com H₂O₂. A metodologia que apresentou maior porcentagem de brilho nas CBs (51,1%) foi quando se realizou um corte nas películas, deixando-as suspensas em água na consistência de 0,5% e depois purificando-as com peróxido de hidrogênio na concentração de 2% (m/m). Carneiro (2015) purificou membranas de CB produzidas em suco de caju fazendo uma combinação de NaOH 4% (m/v) com peróxido de hidrogênio 1% (v/v). As análises químicas realizadas constataram que não houve mudança de celulose I para II nesse estudo. Nota-se que o peróxido de hidrogênio foi destinado nesses trabalhos a melhorar o brilho das películas. Agentes de branqueamento como o H₂O₂ são frequentemente utilizados com base no seu comportamento de oxidação ou redução na natureza (BAJPAI, 2005).

No âmbito desse trabalho, as metodologias de purificação foram realizadas a fim de remover os subprodutos de celulose e outros compostos orgânicos (como ácidos nucleicos e proteínas restantes do meio de cultura) mas, ao mesmo tempo, evitando a transformação polimórfica de celulose I em celulose II.

3.6 NANOCRISTAIS DE CELULOSE

Nanocristais de celulose (NCC) são domínios cristalinos de fibras celulósicas isolados por meio de hidrólise ácida ou enzimática, e são assim chamados devido a suas características físicas de rigidez, de espessura e de comprimento. Esses nanocristais apresentam pelo menos uma das dimensões menor que 100 nm. Além disso, a razão de aspecto dos NCC é geralmente menor que 50. As partículas são 100% de celulose e altamente cristalinas (SILVA & D'ALMEIDA, 2009; ISO 80004-1:2010; BRINCHI et al., 2013).

NCC podem ser isolados a partir de uma variedade de fontes celulósicas, incluindo plantas, animais (tunicados), bactérias e algas. (KLEMM et al., 2011). Eles possuem outra característica muito importante que acima de certo valor crítico de concentração do material em suspensão aquosa, estes formam uma ordenação nemática quiral

que pode ser preservada durante lenta secagem, resultando assim em filmes iridescentes (KLEMM et al., 2011; LIMA et al., 2015).

Muitos estudos mostram que a nanocelulose tem um potencial primordial para aplicações em diversos campos como: tintas, vernizes e revestimentos, compósitos, filmes e barreiras, adesivos, termofixos, termoplásticos, reforço em biopolímeros, têxteis naturais e manufaturados, cosméticos e produtos farmacêuticos, dispositivos médicos e ópticos, modificadores de viscosidade, hidrogéis, entre outros. Os centros de pesquisa e de desenvolvimento de NCC mais conhecidos estão localizados na América do Norte (EUA e Canadá), Europa (Alemanha, França, Suécia, Finlândia, Suíça, Noruega e Áustria), Japão, Israel e Argentina (REBOUILLAT & PLA, 2013).

Pode-se observar também que o NCC derivado de celulose bacteriana é geralmente maior em dimensões em comparação com os obtidos a partir materiais lignocelulósicos (Tabela 1). Isto ocorre porque a celulose bacteriana é altamente cristalina, portanto, há frações menores de domínios amorfos, resultando na produção de nanocristais maiores. Além disso, o consumo de energia envolvido na obtenção de nanocelulose através de fontes vegetais é muito alto e por isso, tem-se desenvolvido pesquisas focadas em desenvolver novos processos, procurando reduzir custo e tempo a partir de novas fontes, como, por exemplo, a celulose bacteriana (BRINCHI et al., 2013).

Tabela 1 – Exemplos de comprimento (L) e diâmetro (d) de NCC de diversas fontes a partir da técnica de MET (Microscopia Eletrônica de Transmissão)

Fonte	Comprimento (L), nm	Diâmetro (d), nm	Referência
Celulose Bacteriana	200-1000	16-50	VASCONCELOS et al. 2017
Algodão	100-150	5-10	ARAKI et al. (2001)
Línter de algodão	25-320	6-70	ELAZZOUZI-HAFRAOUI et al. (2008)
Palha de trigo	150-300	4-5	DUFRESNE, CAVAILLE & HELBERT (1997)
Palha de arroz	117	8-14	PING & HSIEH (2012)
Dendê	289	11	SOUZA et al. (2016)
Côco	172	8	NASCIMENTO et al. (2014)
Pseudocaule da bananeira	135	7,2	PEREIRA et al. (2014)

Fonte: elaborada pelo autor

3.7 OBTENÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE POR HIDRÓLISE ÁCIDA

Existem diversas formas de se obter nanocristais de celulose. São propostos diferentes tratamentos para extração desse material: tratamento mecânico, hidrólise ácida, pré-tratamento enzimático, introdução de grupos moleculares através de carboximetilação, entre outros (DUFRESNE, 2013).

A hidrólise ácida permite a obtenção de nanocristais de celulose a partir de qualquer fonte natural de celulose. Quando controlada, a hidrólise prontamente degrada preferencialmente as regiões amorfas das microfibrilas de celulose, deixando os segmentos cristalinos intactos, levando assim à liberação de cristais. O comprimento e a largura dos NCC dependem principalmente da fonte de celulose e das condições de hidrólise. Quando obtido a partir de fonte vegetal, os NCCs possuem na sua fase nano uma forte tendência para formar estruturas maiores através de agregação e aglomeração. Contudo, quando sujeito a dispersão

mecânica ou ultrassom, permite-se a dispersão das cadeias agregadas de celulose, resultando na produção de suspensões coloidais estáveis (HAAFIZ et al., 2014).

Em relação às condições de hidrólise, os ácidos mais utilizados são ácido clorídrico e ácido sulfúrico. Porém, outros ácidos também são utilizados para extração de nanocristais de celulose. Na Tabela 2, encontram-se condições de tempo, tipo de ácido utilizado e tipo de fibra de alguns estudos.

Tabela 2 – Estudos de extração de nanocristais de celulose e suas condições de hidrólise

Fonte	Tipo de Ácido	Condições de Hidrólise	Referência
Dendê	H ₂ SO ₄ 60% (m/m)	60 minutos, 45°C	SOUZA et al., 2015
Celulose Bacteriana	HCl + H ₂ SO ₄ 60% (m/m) H ₂ SO ₄ 50%, 60% e 65% (m/m)	60 minutos, 45°C	VASCONCELOS et al., 2017
Algodão	HBr 2,5 M	180 minutos, 100°C	SADEGHIFAR et al. (2011)
Bambu	HNO ₃ 30% (m/m) + KClO ₄ 10% (m/m)	24 horas, 50°C	LIU et al. (2010)
Algodão	H ₃ PO ₄ 85% (v/v)	90 minutos, 100°C	ESPINOSA et al., 2013

Fonte: elaborada pelo autor

O H₂SO₄ não só proporciona que haja o isolamento dos nanocristais de celulose, mas também produz uma superfície carregada negativamente resultante da esterificação de grupos hidroxila por íons sulfato, formando uma dispersão coloidal estável. (FILSON & DAWSON-ANDOH, 2009; PETERSSON, KVIEN, & OKSMAN, 2007).

No entanto, a presença de grupos sulfato diminui a estabilidade térmica por causa da reação de desidratação. Se aumentarmos a concentração do ácido, o teor de grupos sulfato também se eleva, deixando a temperatura de degradação térmica da celulose mais baixa. Se o

ácido clorídrico é utilizado em vez de ácido sulfúrico para a hidrólise da celulose nativa, a estabilidade térmica dos nanocristais melhora, porém os nanocristais se agregam devido à falta de força de repulsão eletrostática entre partículas de cristal. Quando há a combinação de ambos os ácidos, a hidrólise de NCC pode gerar nanopartículas com maior estabilidade térmica, devido à menor quantidade de grupos sulfato na sua superfície (VASCONCELOS et al. 2017; WANG, DING & CHENG, 2007; REBOUILLAT & PLA, 2013).

3.8 ANÁLISE DE CICLO DE VIDA

Os impactos da produção dos materiais são normalmente quantificados pela aplicação da avaliação do ciclo de vida (ACV). As normas acordadas internacionalmente fornecem o ACV como recomendações genéricas sobre a forma de avaliar os impactos ambientais de produtos e serviços, sendo especialmente relevantes para os ciclos de materiais de base biológica da vida. (PAWELZIK et al., 2013)

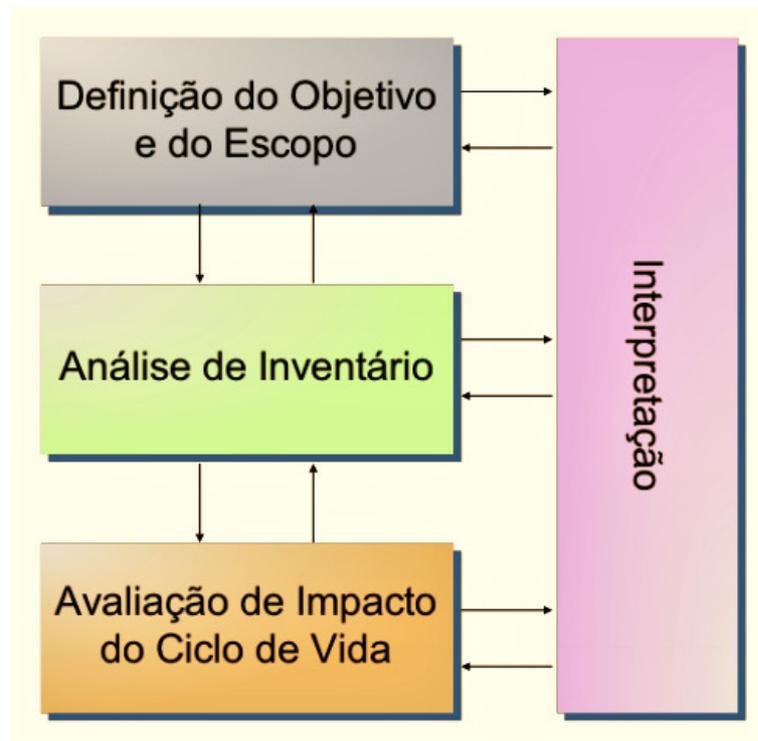
A Avaliação de Ciclo de Vida (ACV) é a compilação e avaliação das entradas e saídas e dos potenciais impactos ambientais de um produto através do seu ciclo de vida e é um método estruturado, compreensivo e padronizado em nível internacional que quantifica informação sobre as emissões, os recursos consumidos, os impactos ambientais, os impactos sobre a saúde humana e o nível de depleção de recursos (ISO 14040:2006).

A ACV é utilizada nas empresas como uma ferramenta de gestão ambiental estratégica capaz de identificar oportunidades para melhorar o desempenho ambiental de produtos em vários pontos do seu ciclo de vida, aumentar o conhecimento de seus processos e produzir informação ambiental para comunicar mais eficazmente o seu posicionamento junto a seus stakeholders (relações públicas), como forma de melhorar a competitividade dos seus produtos e serviços e incrementar a sua imagem corporativa (CHERUBINI, E. & RIBEIRO, P.T., 2015)

No Brasil, a ACV vem sendo desenvolvida e incentivada pela Associação Brasileira de Ciclo de Vida (ABCV), Ibict, Inmetro e Embrapa, responsáveis pela coordenação do Programa Brasileiro em Avaliação do Ciclo de Vida (PBACV), que tem como finalidades construir uma base nacional de Análise do Inventário do Ciclo de Vida (ICV) e contribuir para a disseminação do pensamento do ciclo de vida (CHERUBINI, E. & RIBEIRO, P.T., 2015).

A Figura 3 apresenta quatro fases distintas de acordo com as normas ABNT NBR ISO 14040:2009 e a ABNT NBR ISO14044:2006: definição do objetivo e do escopo, inventário, avaliação de impactos e interpretação.

Figura 3 – Etapas da ACV



Fonte: ABNT, 2009.

Nesse contexto, a avaliação de ciclo de vida (ACV) é essencial não apenas para garantir a qualidade dos processos e produtos a serem desenvolvidos, como também para otimizar os retornos ambientais e econômicos, servindo como um diferencial para a tecnologia desenvolvida (QUEIROZ et al., 2012).

3.8.1 Objetivo e escopo

A definição do objetivo e escopo do estudo pertence à primeira fase da ACV. A finalidade e abrangência do estudo, a unidade funcional (medida da função do sistema em estudo, pode ser: tempo, massa, massa/tempo etc), o fluxo de referência (quantidade de produto necessária para cumprir a unidade funcional), as fronteiras do sistema (conjunto de especificações que mostram quais são os processos elementares que fazem parte do sistema

do produto), os critérios de alocação e os parâmetros de avaliação ou categorias de impactos são etapas determinadas nessa fase (KLÖPPFER, 2006).

A definição de objetivo deve se limitar ao desenvolvimento de um único conjunto de dados de processo unitário. A definição do objetivo é decisiva para todas as outras etapas da ACV e orienta todos os aspectos detalhados da definição do escopo, que, por sua vez, estabelece a estrutura para o trabalho do ICV (Análise de Inventário) e da AICV (Análise de impactos de ciclo de vida). Uma definição inicial e clara do objetivo é essencial para a correta interpretação posterior dos resultados. (ILCD HANDBOOK, 2011).

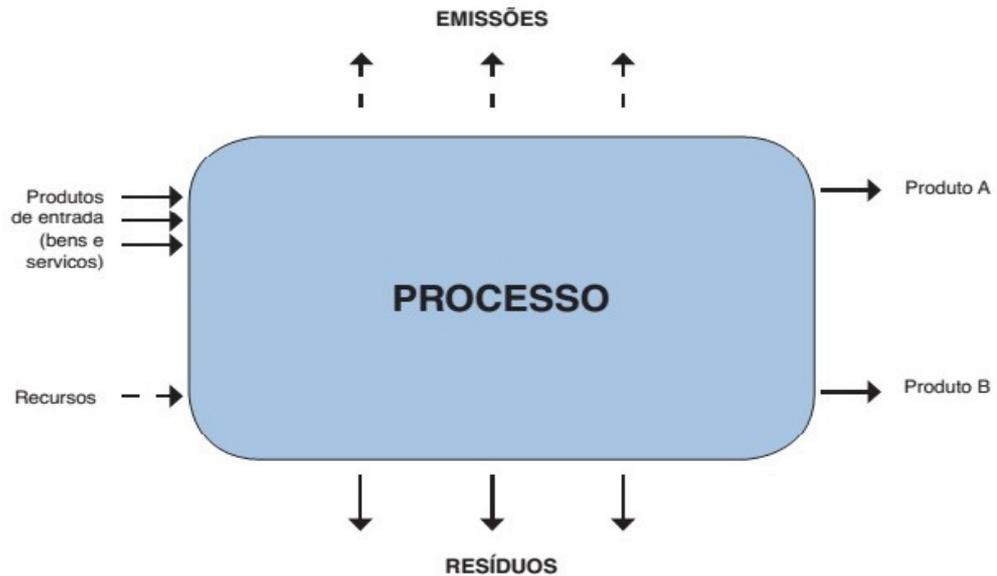
Produtos ou materiais que vão ser avaliados ambientalmente pela ACV geralmente têm múltiplas funções, bem como podem gerar outros coprodutos durante seus processos de produção. Sendo assim, às vezes não fica claro como o produto pode funcionar ou como os impactos ambientais devem ser alocados. Para esses casos, existe a alocação que é usada quando o sistema de produto apresenta mais de uma saída principal (produto e coprodutos) (FINNVEDEN et al., 2009; PRADEL et al., 2016).

Existem três tipos de problemas de alocação: multi-saída (em que um processo produz vários produtos, por exemplo, uma biorrefinaria), multi-entrada (em que um processo recebe vários produtos residuais; por exemplo, um incinerador de resíduos) e de circuito aberto de reciclagem (em que um produto de resíduos é reciclado para outro produto; por exemplo, um jornal usado que é incinerado e a energia são recuperados na forma de calor e eletricidade). Na prática, a alocação busca compartilhar os impactos ambientais do sistema entre os coprodutos utilizando um critério físico ou econômico (FINNVEDEN et al., 2009; PRADEL et al., 2016).

3.8.2 Análise do inventário (ICV)

A coleta de dados e os procedimentos de cálculo são feitas na etapa de Análise do Inventário do Ciclo de Vida (ICV), a fim de quantificar entradas e saídas do sistema em estudo (balanço de massa e energia). As entradas incluem a mensuração do consumo de materiais e energia, e as saídas, os produtos e coprodutos, emissões gasosas, efluentes líquidos e resíduos sólidos. Na Figura 4, observa-se um esquema mostrando as entradas e saídas de um processo (KLÖPPFER, 2006).

Figura 4 – Processo multifuncional com vários produtos de entrada e recursos consumidos e vários resíduos e emissões gerados, além de gerar os dois coprodutos 1 e 2



Fonte: ILCD HANDBOOK, 2011.

Esta fase é a mais trabalhosa e demorada em comparação com outras fases em uma ACV, principalmente por causa de coleta de dados. As fontes de dados para o inventário podem ser de dados primários ou secundários. As fontes são de dados primários quando se necessita de dados específicos de um produto ou processo, ou seja, quando se faz necessária uma coleta real de dados aonde o material ou processo está sendo produzido. As fontes são de dados secundários quando todas as informações sobre entradas ou saídas são buscadas a partir da base de dados já disponíveis ou de trabalhos da literatura (BUENO, 2014).

A coleta de dados pode ser menos demorada se boas bases de dados estão disponíveis. Existem bancos de dados para ACV e normalmente podem ser comprados junto com o software. Os inventários sobre o transporte, a extração de matérias-primas, processamento de materiais, produção de produtos normalmente utilizados, tais como plástico e papelão, e eliminação podem ser encontrados em um banco de dados. As bases de dados podem ser utilizadas para processos que não são específicos ao produto, tais como informações gerais sobre a produção de eletricidade, carvão ou embalagem. (ROY et al., 2009).

3.8.3 Análise de impactos de ciclo de vida (AICV)

Na etapa de análise de impactos ambientais, categorias e indicadores de impactos potenciais do sistema sobre o meio ambiente, a saúde humana e a disponibilidade dos recursos naturais se correlacionam com os dados do inventário. As principais questões ambientais vinculadas ao sistema estudado consideram a seleção das categorias de impacto e deve estar em conformidade com o objetivo e escopo do estudo (MENDES, BUENO & OMETTO, 2013).

A avaliação de impacto do ciclo de vida (AICV) visa compreender e avaliar os impactos ambientais com base na análise de inventário, no âmbito do objetivo e do escopo do estudo. Nesta fase, os resultados do inventário são atribuídos a diferentes categorias de impacto, com base nos tipos de impacto esperados sobre o meio ambiente. A AICV geralmente consiste nos seguintes elementos: seleção das categorias de impacto, classificação e caracterização.

A etapa de seleção das categorias de impacto identifica as preocupações ambientais, as categorias e os indicadores que o estudo utilizará. A seleção dessas categorias deve estar relacionada ao sistema de produto em estudo, levando em consideração o objetivo e escopo do estudo.

A classificação correlaciona dados do inventário com as categorias de impacto ambiental. Deve-se declarar explicitamente qual categoria de impacto será levada em consideração. Nesta fase, são as entradas e saídas do inventário que contribuem para causar impacto sobre o meio ambiente e são classificadas de acordo com o problema.

O terceiro elemento obrigatório da avaliação de impacto consiste na caracterização, onde as contribuições para cada problema ambiental são quantificadas, os resultados dos indicadores (caracterização) envolvem a conversão dos resultados do inventário para unidades comuns e a agregação dos resultados convertidos dentro da mesma categoria de impacto.

Dois tipos de abordagem são estudados na AICV: midpoint e endpoint. A abordagem midpoint avalia os impactos intermediários que ocorrem ao longo da cadeia de causa e efeito ambiental, ou seja, a caracterização usa indicadores localizados ao longo do sistema de processos antes de chegar ao ponto final das categorias de impacto. (MENDES, BUENO & OMETTO, 2013).

A abordagem endpoint é quando a caracterização considera todo o mecanismo ambiental até o seu ponto final, ou seja, refere-se a um dano específico relacionado com a área mais ampla de proteção, que pode ser os impactos na saúde humana, qualidade dos ecossistemas e disponibilidade de recursos naturais (MENDES, BUENO & OMETTO, 2013).

Segundo, a norma ISO 14044, 2006b, os elementos opcionais reforçam a confiabilidade e a organização dos dados em estudo. São eles: a normalização, agrupamento, ponderação e análise adicional da qualidade dos dados.

O agrupamento analisa os resultados da caracterização separados em grupos. A ponderação compara as categorias de impacto e são concedidos pesos a cada uma delas. Na análise da qualidade, os dados utilizados são avaliados, com cuidado ao assumir valores e aproximações que necessitaram ser feitas para avaliar a incerteza dos resultados (ISO 14044, 2006b).

A normalização é realizada quando os resultados da etapa de caracterização são expressos em unidades de medida diferentes, de acordo com a categoria de impacto analisada. Visando transformar essas diferentes unidades de medida em uma unidade de medida única, realiza-se a normalização. (ROY et al., 2009; PIEKARSKI et al., 2012).

3.8.3.1 Categorias de impacto Ambiental

Os modelos para avaliação de diversas categorias de impacto com abordagens midpoint são apresentados pelo método ReCiPe (GOEDKOOPE et al., 2009). Os métodos CML e Eco-indicator99 são atualizados e tomados como base pelo ReCiPe. As principais categorias contempladas por esse método são: aquecimento global, acidificação terrestre, eutrofização de água doce e marinha, toxicidade humana, depleção da camada de ozônio, formação de oxidantes fotoquímicos, depleção de recursos minerais, depleção de combustíveis fósseis e ocupação de terras agrícolas. Diversos modelos de caracterização estão disponíveis na literatura e segundo ILCD HANDBOOK (2011), segue a descrição resumida das categorias que foram avaliadas nesse trabalho:

- **Mudança Climática**

A mudança climática envolve uma série de mecanismos ambientais que afetam tanto a saúde humana como o meio ambiente. Os modelos de mudança climática são, em geral, desenvolvidos para avaliar o impacto futuro sobre o clima diante de diferentes cenários.

A mudança climática causada pelo homem é ocasionada pela emissão de gases de efeito estufa (e por outras atividades que influenciam a sua concentração atmosférica). Gases de efeito estufa são substâncias com a capacidade de absorver a radiação infravermelha a partir da terra. Ao modelar a força radioativa de uma emissão, a mudança na concentração radiativa é determinada, tendo em conta o tempo de permanência da substância. Os fatores de conversão utilizados são definidos pelo potencial de aquecimento global (PAG) do Painel Intergovernamental sobre Mudança Climática (IPCC) e expresso em kg CO₂-eq./kg de emissão. Como categoria midpoint, a mudança climática utiliza o PAG diretamente como fator de caracterização. Os resultados de elevação de temperatura em danos à saúde humana e dos ecossistemas são considerados, como por exemplo, um aumento dos números de caso malária e desnutrição (para a saúde humana) ou o desaparecimento de uma espécie e as mudanças na biomassa (para os ecossistemas) (ILCD HANDBOOK, 2011).

- **Eutrofização**

A eutrofização terrestre é causada pela deposição de compostos de nitrogênio, como por exemplo óxido nítrico e dióxido de nitrogênio (NO_x = NO e NO₂). Em sistemas aquáticos, a adição e enriquecimento de nutrientes como fósforo e nitrogênio tem um impacto primário nas plantas (algas ou macrófitas) com uma série de consequências para o ecossistema, entre elas, a depleção de oxigênio dissolvido, afetando a biodiversidade de ecossistemas aquáticos como lagos e reservatórios. A eutrofização em águas doces, como resultado das atividades humanas é um dos principais fatores que determinam sua qualidade ecológica. O caráter de longo alcance de enriquecimento de nutrientes, seja através do ar ou rios, implica que as águas marinhas estão sujeitas a esta forma de poluição da água, embora devido a várias substâncias e com impactos variados. Para o cálculo dos fatores de caracterização para a eutrofização de água doce, considera-se o fósforo como substância de referência, e seu resultado é expresso na unidade de medida de kg P-eq./kg. Enquanto para o cálculo da eutrofização marinha, o nitrogênio é a substância de referência e sua unidade de medida é expresso em kg N-eq./kg (ILCD HANDBOOK, 2011).

- **Acidificação**

Causada pela deposição atmosférica de substâncias geradas pela maior parte das emissões de óxidos de nitrogênio (NO_x), dióxido de enxofre (SO₂) e amoníaco (NH₃), este último contribui para a acidificação quando ele é nitrificado no solo. Um modelo de dispersão descrito em dióxido de enxofre (SO₂) equivalente (expresso em kg SO₂-eq/kg de emissão) é exemplificado pelos resultados dessa categoria (ILCD HANDBOOK, 2011).

Quando outros compostos que podem ser convertidos em ácidos são emitidos na atmosfera e depositados na água e no solo, a adição do cátion de hidrogênio pode resultar em redução do pH e, conseqüentemente, em aumento da acidez. A acidificação apresenta, como conseqüências, grande declínio nas florestas, como registrado na Europa e nos Estados Unidos, em florestas de coníferas; mortandade de peixes, como registrado nos lagos da Escandinávia e da Europa Central; corrosão de metais e desintegração de revestimento de superfícies metálicas e de materiais minerais de construção (WENZEL et al., 1997).

- **Depleção Hídrica**

A depleção hídrica é a categoria de impacto responsável por avaliar o impacto do consumo de água de lagos, rios e solo. Ela expressa a quantidade total de água utilizada em m³ de recurso usado.

A água é escassa em muitas partes do mundo, porém também é um recurso muito abundante em outras partes do nosso planeta. Um país que vive essa dicotomia é o Brasil, onde um exemplo de escassez é a região Nordeste, principalmente no semiárido brasileiro. Já o exemplo de abundância, encontra-se a região Norte, na Bacia do Rio Amazonas, possuindo a maior concentração de água no país. Em muitas regiões, o bem-estar humano e a saúde dos ecossistemas estão sendo seriamente afetados pelas mudanças no ciclo global da água, causadas em grande parte pelas atividades humanas. A escassez de água é aumentada pelo uso incorreto dos recursos hídricos, ocasionando o aumento do processo de desertificação, interferindo negativamente em processos produtivos, na saúde e na qualidade de vida da população que vive nessas regiões (ILCD HANDBOOK, 2011).

- **Toxicidade**

A toxicidade pode ser dividida em humana e em ecotoxicidade. A ecotoxicidade se define quando as substâncias químicas emitidas pelas atividades antrópicas podem contribuir para a categoria de impacto. Os impactos nos organismos vivos e na função e estrutura do ecossistema ocorrem devido aos efeitos tóxicos dessas substâncias (WENZEL et al., 1997).

A ecotoxicidade possui a característica de afetar o ambiente em escala local e regional. Nesse caso, o impacto pode ser considerado de escala global quando a substância tóxica possui um grau de biodegradabilidade muito baixo e uma forte tendência a se acumular em organismos vivos. Os impactos da ecotoxicidade podem ser avaliados de acordo com os efeitos das emissões na água, de modo crônico e agudo, e no solo, de modo crônico (WENZEL et al., 1997).

As atividades antrópicas que emitem substâncias químicas com alto teor venenoso e que atingem o homem através do ambiente ocasiona a toxicidade humana. Em combinação com o modo de emissão, as substâncias participam de rotas como, a respiração (via ar) ou materiais ingeridos como o alimento. A toxicidade é, frequentemente, causada por substâncias que apresentam um baixo grau de degradabilidade no ambiente e, portanto, que permanecem um período de tempo prolongado após a emissão. Algumas substâncias apresentam, também, a tendência a se acumular nos organismos vivos que servem de alimentos para o homem. Portanto, a toxicidade humana é causada por substâncias que apresentam características tóxicas, não biodegradáveis e concentradas nos organismos vivos (WENZEL et al., 1997).

O método de avaliação mais indicado, atualmente, para o cálculo do potencial de toxicidade de determinada substância é o USEtox. Ele é um método com nível de avaliação midpoint (EC-JRC, 2010) projetado para descrever o destino, exposição e efeitos dos produtos químicos (HUIJBREGTS et al., 2010), fornecendo fatores de caracterização recomendados para a toxicidade humana e ecotoxicidade de água doce na avaliação de impacto do ciclo de vida.

O cálculo para a pontuação de impacto de toxicidade é definido pela multiplicação da massa de uma substância emitida em um dado compartimento pelo fator de caracterização de toxicidade correspondente. O fator de caracterização para toxicidade humana e ecotoxicidade de águas doces é expresso em unidades de tóxicos comparativas (CTU) (HUIJBREGTS et al., 2010; ROSENBAUM et al., 2008).

3.8.4 Interpretação

A interpretação é a fase da ACV na qual os resultados do ICV e da AICV são combinados com o objetivo e o escopo, de modo a se obter conclusões e recomendações. As constatações na interpretação podem servir de subsídios para as tomadas de decisão e devem ser consistentes com o objetivo e o escopo do estudo. As decisões e as ações subsequentes podem incorporar implicações ambientais, desempenho técnico, aspectos econômicos e sociais (ISO 14040:2009; ISO 14044:2006).

A fim de considerar todas as informações em conjunto, com verificações de completeza, sensibilidade e consistência dos dados obtidos, a fase de interpretação do ciclo de vida, ocorre após a análise do inventário e avaliação de impacto (ISO 14040:2009; ISO 14044:2006). A fase de interpretação tem o objetivo de satisfazer aos requisitos de aplicações previstos no estudo de ACV, responder questões colocadas na definição de metas e desenvolver recomendações de maneira compreensível para ajudar o usuário a avaliar as conclusões e limitações de seu estudo de ACV. Isso tudo é executado por meio de um procedimento sistemático para identificar, qualificar, conferir, avaliar e apresentar as conclusões baseadas nas constatações de um estudo. Desse modo, a vinculação entre a ACV e outras técnicas de gestão ambiental torna-se viável (EC-JRC, 2010).

Após a fase de avaliação de impacto da ACV, outros fatores também são estudados. A incerteza e as análises de sensibilidade são efetuadas fazendo-se uso do conhecimento das várias contribuições de potenciais trocas ambientais para os impactos incluídos na fase de avaliação, e, assim, é possível decidir quais trocas são as mais significativas e quais são sem importância no quadro total (WENZEL, HAUSCHILD & ALTING, 1997).

3.8.5 Análise de incerteza – Monte Carlo

A análise de Monte Carlo é utilizada a fim de se avaliar as incertezas geradas durante o levantamento do Inventário do Ciclo de Vida (ICV), buscando verificar quais dados são sensíveis aos resultados finais de uma ACV e como as incertezas geradas podem ser identificadas e reduzidas, a fim de garantir resultados mais precisos (GOEDKOOOP et al., 2016).

O método de Monte Carlo pode ser definido como uma técnica de amostragem artificial empregada para operar numericamente sistemas complexos que tenham componentes aleatórios. As bases para a aplicação da Simulação de Monte Carlo no cálculo da incerteza consistem em selecionar aleatoriamente um número de uma distribuição de possíveis valores, para uma grandeza de entrada, e repetir o procedimento para as outras grandezas de entrada (GOEDKOOOP et al., 2016).

Cada valor aleatório é atribuído para cada variável considerando a função e o desvio padrão informados. Várias funções probabilísticas podem ser associadas a cada variável, como: linear, triangular, normal e lognormal. Quase todos os valores de incerteza de fluxos no banco de dados Ecoinvent são especificados como distribuição log normal. Depois de realizadas várias simulações (em torno de 1000), avalia-se a média dos valores obtidos para cada categoria de impacto, assim como os valores mínimos e máximos alcançados (GOEDKOOOP et al., 2016; BIPM, 2004).

Quando comparamos dois produtos A e B, temos a possibilidade de avaliar a diferença entre os resultados de impacto para A e B. Essa diferença resultando em valores entre 90 a 95% considera-se o resultado estatisticamente significativo (GOEDKOOOP et al., 2016). Neste trabalho, determinou-se os resultados significantes relatados como maiores ou iguais que 95% para $A \geq B$.

3.8.6 ACV e Nanomateriais

Nos últimos anos, a comunidade científica tem-se centrado sobre a aplicação da nanotecnologia voltada para o desenvolvimento sustentável, eficiência energética e controle da poluição. No entanto, o potencial da nanotecnologia para resolver muitos problemas sistêmicos relacionados à sustentabilidade global deve ser pesado contra as incertezas relacionadas com os efeitos ambientais causados por esses materiais. A síntese de nanomateriais depende de métodos de fabricação. Esses métodos, muitas vezes poluentes, trazem desafios para a sustentabilidade, pois são inerentes devido à sua dependência de recursos materiais limitados. (PATI, MCGINNIS & VIKESLAND, 2014).

Na literatura, os riscos dos nanomateriais indicam que a mobilidade e a interação de uma partícula com sistemas ecológicos são influenciadas não só pela sua composição química, mas também por fatores intrínsecos, como tamanho, forma, funcionalidade, bem como por fatores extrínsecos, como meio de transporte e armazenamento. A falta de fatores

de caracterização específicos dos nanomateriais ou dados de inventário de ciclo de vida confiáveis e abrangentes torna difícil a realização de uma ACV para os produtos nano. Estes desafios fazem com que técnicas analíticas tomem a decisão de verificar uma alternativa viável a curto prazo para promover o desenvolvimento sustentável de nanomateriais (GAVANKAR, SUH & KELLER, 2012; SUBRAMANIAN et al., 2015).

Muitas dessas dificuldades são expostas a seguir: não ser possível fazer a transição da dimensão de dados obtidos em escala laboratorial para a escala industrial, falta de melhores informações nos dados disponíveis, impedimento da obtenção de dados da produção industrial principalmente pela não disponibilização pública, entre outros fatores (PATI, MCGINNIS & VIKESLAND, 2014; HETHERINGTON et al., 2014; GAVANKAR, SUH & KELLER, 2012; SOM et al., 2009).

Vários estudos foram realizados envolvendo ACV e nanomateriais. Li et al. (2013) fizeram um estudo de ACV sobre a produção de celulose microfibrilada a partir de polpa de madeira. A unidade funcional foi de 10 g de celulose microfibrilada. As categorias de impacto avaliadas foram: demanda cumulativa de energia, aquecimento global e outras categorias do Ecoindicator 99.

Arvidsson et al. (2015) analisaram os impactos ambientais da produção de celulose microfibrilada a partir de polpa de madeira. A unidade funcional foi de 1 kg de celulose microfibrilada. As categorias de impacto avaliadas foram: demanda cumulativa de energia, depleção hídrica, aquecimento global e acidificação. Todas as categorias propostas pelo método ReCiPe midpoint.

Nascimento et al. (2016b) fizeram um estudo de ACV da obtenção de nanocristais de celulose a partir das fibras de coco. A unidade funcional foi de 1 g de nanocristais de celulose. As categorias de impacto avaliadas foram: mudança climática, acidificação, eutrofização de águas doces, eutrofização marinha, toxicidade humana e depleção hídrica. Todas as categorias propostas pelo método ReCiPe midpoint. Já Freitas (2016) avaliou os impactos ambientais da obtenção de 1g de NCC, em escala laboratorial, a partir das fibras da prensagem do mesocarpo de dendê. As categorias de impactos avaliadas foram as mesmas do estudo de Nascimento e colaboradores (2016b).

Hervy et al. (2015) fizeram um estudo dos impactos ambientais do desenvolvimento de um compósito epóxi reforçado com celulose bacteriana e nanocelulose microfibrilada (MCF) através da ACV berço ao túmulo (*cradle to grave*) passando por sua fabricação, utilização e descarte final. O que nos interessa nesse estudo é que para fazer a

avaliação de impactos do compósito, foi-se necessário fazer o estudo de ACV dos reforços utilizados nesse material que foram a celulose bacteriana e a MCF. A unidade funcional utilizada foi de 1 kg de compósitos epóxi reforçados com MCF e CB. Para a produção das CBs, considerou-se as etapas de fermentação do meio HS (meio de cultura descrito por Hestrin e Schramm (1954)), lavagem das películas com NaOH e água e trituração das mesmas em um liquidificador Breville BL18. As categorias de impacto avaliadas foram: potencial de acidificação, potencial de aquecimento global, potencial de depleção abiótica, potencial de criação fotoquímica de ozônio e potencial de ecotoxicidade de águas doces. Todas as categorias foram propostas pelo método GaBi no âmbito midpoint.

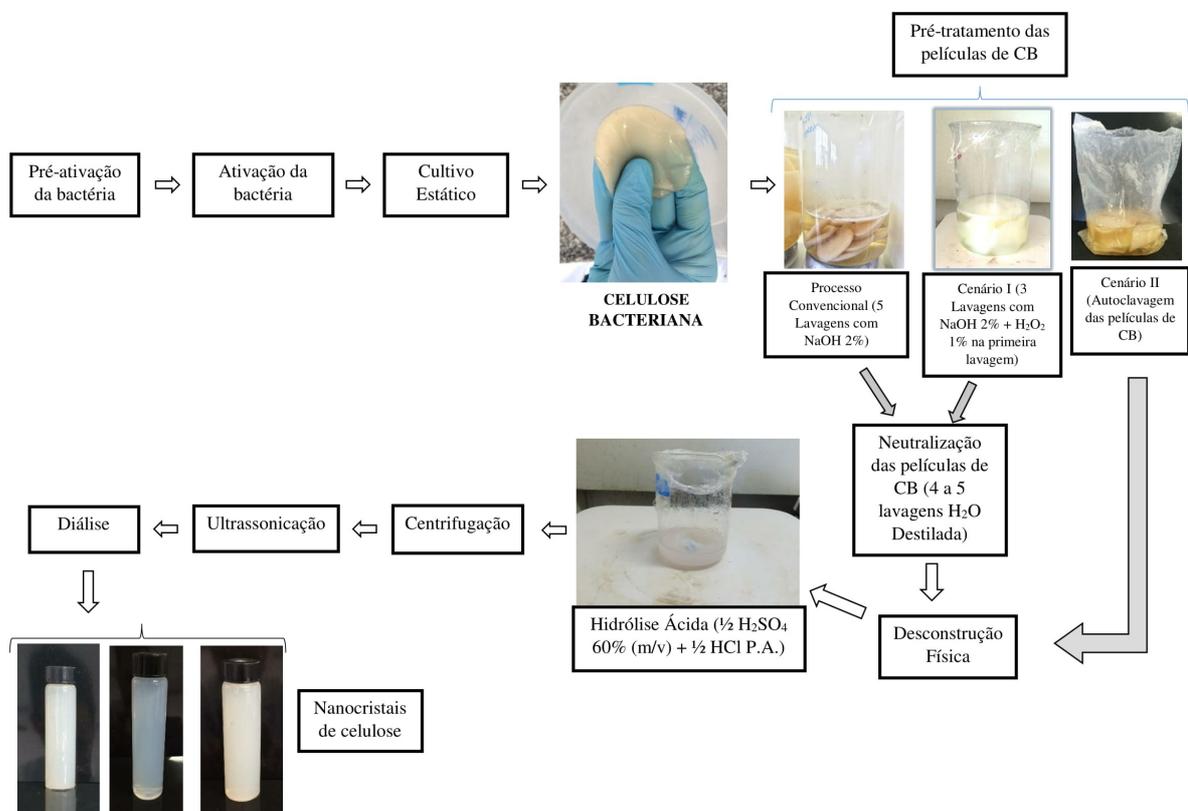
4 METODOLOGIA

O presente trabalho experimental foi desenvolvido, principalmente nas instalações do Laboratório Tecnologia da Biomassa (LTB) e do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, ambos pertencentes à Embrapa Agroindústria Tropical.

O fluxograma do processo de produção de CB e de extração de NCCB está representado na Figura 5. Resumidamente, houve a síntese de CB a partir do meio de cultura alternativo de suco de caju. Para isso, suplementou-se o suco com peptona e extrato de levedura. Foram obtidas várias remessas de 15 películas. Primeiramente, foi aplicada a metodologia convencional para a purificação das películas, onde elas foram imersas por uma hora em solução de NaOH 2%, a 80°C. Esse processo foi repetido em média de 5 vezes até as películas ficarem com cor branca. Testaram-se então diversos outros cenários de pré-tratamento nas películas de CB. Todos esses cenários foram propostos a fim de se obter melhorias ambientais na extração dos nanocristais de celulose.

Depois de obter CBs, prosseguiu-se com a extração dos nanocristais de celulose. Finalmente, avaliaram-se ambientalmente todos os processos obtidos e estudados.

Figura 5 – Principais etapas que foram desenvolvidas nesse trabalho



Fonte: elaborada pelo autor

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE CAJU E FORMULAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO

O suco de caju foi obtido a partir da prensagem do pedúnculo do caju coletado no campo experimental de Pacajus da Embrapa Agroindústria Tropical. Caracterizou-se o suco quanto ao teor de açúcares redutores, teor de nitrogênio e pH.

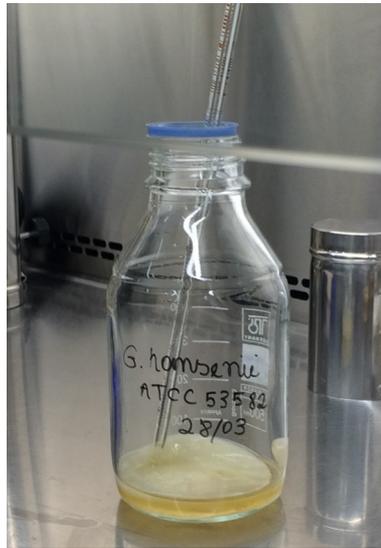
Determinou-se o teor de açúcares redutores (glicose e frutose) pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) descrito por Miller (1959). O pH foi verificado diretamente em pHmetro digital, previamente calibrado. O teor de nitrogênio total na amostra de suco de caju foi determinado em Analisador de Carbono Orgânico Total Elementar (Shimadzu, modelo TOC – V CPN), utilizando o oxigênio como gás de arraste a uma velocidade de 150 mL/min. O teor de ácido cítrico foi estimado por acidez total titulável segundo os procedimentos e determinações gerais do Instituto Adolf Lutz (LUTZ, 2008). Baseado no estudo de Carneiro (2015), o suco de caju foi primeiramente diluído com água destilada e sequencialmente suplementado com extrato de levedura e peptona, a fim de se aproximarem do meio padrão HS com composição descrita por Hestrin & Schramm (1954). A fim de se aproximar da concentração de açúcar do meio HS que é de 20 g/L, é necessária uma diluição do suco de caju 1:6. Depois disso, suplementou-se o meio com 5 g/L de peptona e 5 g/L de extrato de levedura, que são as concentrações utilizadas para preparação do meio padrão HS. A seguir, verificou-se o pH do meio de cultura suplementado e ajustou-se o pH entre 5,0 e 5,5.

4.2 MICRORGANISMO, INÓCULO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Utilizou-se a linhagem de *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 53582 (Figura 6). O microrganismo foi ativado em caldo HS esterilizado e incubado a 30°C por 48 horas em B.O.D. A produção do caldo HS é descrita por Hestrin e Schramm (1954) e foi aplicada no laboratório. O caldo é composto por 20 g/L de glicose, 5 g/L de peptona, 5 g/L de extrato de levedura, 1,15 g/L ácido cítrico e 2,7 g/L de Na₂HPO₄.

Para o preparo do inóculo, adicionou-se 3% (v/v) da cultura em meio HS esterilizado e incubou-se a 30°C por 72 horas. Depois, inoculou-se o suco de caju suplementado (70 ml), utilizando 3% (v/v) de inóculo, e a bactéria foi incubada a 30°C (B.O.D) por 10 dias sob cultivo estático em frascos Schott (250 mL) e 70 mL de meio.

**Figura 6 – Película que se forma no meio de cultura contendo a bactéria
Gluconacetobacter hansenii ATCC 53582**



Fonte: elaborada pelo autor

4.3 PRÉ-TRATAMENTO DAS PELÍCULAS DE CB

Após o processo fermentativo, as películas foram removidas da superfície do meio e purificadas seguindo metodologia descrita por GEA et al. (2011) e GEORGE et al. (2008). Diversas remessas de 15 películas foram obtidas. Com o objetivo de comparar o efeito dos procedimentos de obtenção nas propriedades e desempenho ambiental dos nanocristais, foram utilizados diferentes métodos de pré-tratamento. As películas foram purificadas com NaOH em concentrações variadas com ou sem a adição de peróxido de hidrogênio.

4.3.1 Purificação com NaOH 2% (metodologia convencional)

Para a metodologia convencional, as películas de CB foram imersas por uma hora em solução de NaOH 2%, a 80°C. Esse processo foi repetido, em média, 5 vezes até as películas ficarem com cor branca. Testaram-se então diversos outros cenários de purificação a fim de se obter melhorias ambientais que serão mostradas no decorrer do texto.

4.3.2 Purificação com NaOH 2% e H₂O₂ 1% (Cenário I)

O primeiro cenário consistiu na adição de peróxido de hidrogênio na concentração de 1% (v/v) na primeira lavagem de NaOH do processo de purificação convencional das

películas. Porém, foi-se necessário, em média, mais 3 lavagens de NaOH 2% para as películas ficarem purificadas. O volume de NaOH utilizado foi na proporção de 40 mL de solução para cada película. Por fim, as películas foram neutralizadas, em média, com 5 lavagens de H₂O destilada. O volume de H₂O destilada utilizado foi na proporção de 100 ml de solução para cada película em cada lavagem. Esse cenário de purificação foi baseado no estudo de Lima (2014).

4.3.3 Autoclavagem das películas de CB (Cenário II)

No segundo cenário, não houve purificação com reagente básico. As películas removidas do meio de cultura foram diretamente autoclavadas com 400 ml de H₂O destilada por 30 minutos em saco apropriado para autoclave (Figura 7). Essa etapa ocorreu principalmente para matar bactérias presentes na película, em seguida houve uma lavagem com H₂O destilada para melhor eliminação de detritos que ficam na película de celulose. A proporção de H₂O utilizada nessa etapa foi de 70 ml de solução para cada película. A seguir, todas as películas obtidas foram utilizadas para as próximas etapas: caracterização e hidrólise ácida.

Figura 7 – Películas de celulose bacteriana obtida a partir de suco de caju em saco para autoclave selado com o auxílio de uma estampadora e prontas para a etapa de autoclavagem



Fonte: elaborada pelo autor

4.4 PRODUÇÃO (g.L⁻¹)

A produção de celulose P (g/L) foi determinada utilizando a Equação 1:

$$P \text{ (g/L)} = (m_s / V) * 1000 \quad (1)$$

Onde m_s é a massa seca de celulose produzida, V o volume reacional (70 mL). A massa de celulose (m_s) foi determinada através da secagem e pesagem da película em balança de infravermelho a uma temperatura de 170 °C.

4.5 UMIDADE

Determinou-se a umidade percentual das películas de CB produzidas de todos pré-tratamentos do item 4.3 através da Equação 2:

$$U \text{ rfe}(\%) = \frac{(M_U - M_S)}{M_U} * 100 \quad (2)$$

Onde:

M_U : massa da película de CB úmida obtida por pesagem em balança analítica de precisão;

M_S : massa seca da película de CB obtida em balança de infravermelho (170 °C).

4.6 EXTRAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA POR HIDRÓLISE ÁCIDA

Inicialmente, as películas de CB oriundas dos tratamentos foram cortadas com o auxílio de uma tesoura. Em seguida, elas foram trituradas com 100 mL de H₂O destilada com um mixer (misturador simples) de marca Walita. Depois, as respectivas soluções foram filtradas com a ajuda de um tecido TNT para a obtenção da CB menos úmida.

Para a obtenção dos nanocristais de celulose bacteriana, foram utilizados 1 g de CB úmida e 100 ml de solução ácida. Adicionou-se CB em uma solução composta por 50 ml de H₂SO₄ 60% e 50 ml de HCl 37% (m/m), previamente aquecida a 45°C, sob agitação usando banho de silicone por 1 hora. Essa metodologia foi baseada em estudos realizados por Vasconcelos et al. (2017), que obteve nanocristais de CB produzida em meio sintético HS. Para parar a hidrólise, foi adicionada lentamente 300 ml de água deionizada gelada à suspensão de nanocristais.

4.7 ETAPAS PÓS HIDRÓLISE: CENTRIFUGAÇÃO, ULTRASSONICAÇÃO E DIÁLISE

Após a diluição obtida, centrifugou-se a suspensão nas condições de 20°C e 15 minutos em Ultracentrífuga Refrigerada (marca Hitachi, modelo Himac CP-WX) a 13.000 rpm. O sobrenadante foi removido e o material sedimentado foi ressuspensão em água deionizada gelada e levada para mais duas novas centrifugações. Terminada essa etapa, a suspensão foi ultrassonicada por duas vezes no tempo de 2 minutos com uma frequência de 60 Hz em um Desruptor de células (marca Unique) com potência de 300 W.

Depois, a suspensão foi colocada em membrana de troca iônica de acetato de celulose (marca Spectra/Por 5 e massa molar de 12.000-14.000 Dalton), e levada à diálise (Figura 8). A diálise foi executada de maneira descontínua, com água destilada a temperatura ambiente, realizando três trocas de água (cada uma de 1000 mL) para remoção de ácidos (H^+) e ânions (SO_4^{2-}) livres. Retirou-se a suspensão de nanocristais quando o pH do meio se encontrava entre 6 e 7, armazenada em frasco de vidro e mantida sob refrigeração para posterior uso.

Figura 8 – Suspensão de nanocristais de celulose inserida dentro da membrana de diálise



Fonte: elaborada pelo autor

4.8 RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE

O rendimento da extração de nanocristais de celulose foi calculado nesse trabalho a partir do procedimento de determinação de sólidos totais. Primeiramente, foi determinada a percentagem de sólidos totais em 30 ml de solução de nanocristais de celulose bacteriana obtida a partir do suco de caju.

Foi utilizada a Equação 3 para o cálculo dessa percentagem:

$$\% \text{ Sólidos Totais} = \frac{(B-A)*100}{M} \quad (3)$$

Onde:

A: Peso do cadinho pós-calcinação em um mufla por 1 hora a 550°C (gramas)

B: Peso do cadinho e de amostra seca de nanocristais de celulose pós secagem em estufa a 100° por 24 horas (gramas)

M: Massa em gramas da solução de nanocristais de celulose (amostra líquida)

Sabendo-se a percentagem mássica de 30 ml de solução de nanocristais, pode-se determinar a massa real de nanocristais na solução original, de acordo com a Equação 4:

$$M_N = \% \text{ Sólidos Totais} * M_O \text{ (gramas)} \quad (4)$$

Onde:

M_N = Massa em gramas de nanocristais da solução original

M_O = Massa em gramas de solução de nanocristais original (amostra líquida)

Para se chegar ao valor do rendimento, seguiu-se o cálculo da equação 5:

$$\% R = \frac{M_N * 100}{M_H} \quad (5)$$

Onde:

% R: Rendimento de extração dos nanocristais

M_N = Massa em gramas de nanocristais da solução original

M_H = Massa em gramas de CB utilizada na hidrólise ácida

4.9 CARACTERIZAÇÕES DOS MATERIAIS

As celuloses bacterianas obtidas pela metodologia convencional e seus respectivos cenários do item 4.3 bem como as suas respectivas suspensões de nanocristais de celulose bacteriana extraídas foram caracterizadas pelas seguintes técnicas: potencial Zeta, Análise Termogravimétrica (ATG), Difração de Raio X (DRX), Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

4.9.1 Microscopia eletrônica

4.9.1.1 Microscopia eletrônica de varredura

Inicialmente, as CBs foram cortadas em pedaços pequenos e secas em estufa. Em seguida, cada amostra foi colocada em “stub” e metalizada com ouro utilizando o metalizador Quorum QT150ES. A seguir, foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em um microscópio FEG Quanta 450. As análises foram realizadas na Central Analítica da Universidade Federal do Ceará.

4.9.1.2 Microscopia eletrônica de transmissão

As suspensões de nanocristais de celulose bacteriana obtida em suco de caju foram diluídas em água destilada na proporção 1:1. Em seguida, uma gota foi cuidadosamente depositada sobre a parte fosca de um grid de 300 mesh coberto de Formvar. Após 3 minutos, foram colocados sobre papel filtro para retirada do excesso de amostra e foi colocada uma gota de solução do contrastante ácido fosfotúngstico (0,1% m/v). Depois de 4 minutos, os grids foram visualizados em microscópio eletrônico de varredura Tescan Veja 3, com detector STEM sob voltagem de aceleração de 30 KV no Laboratório de Microscopia Eletrônica. Depois, foram medidos os comprimentos e diâmetros de até 100 nanocristais, calculando-se as médias e desvios padrões com o auxílio do software Gimp.

4.9.2 Análise Termogravimétrica (ATG)

A estabilidade térmica das CBs e dos nanocristais foi avaliada por Termogravimetria (TG) em um equipamento da marca Perkin Elmer modelo STA 6000, sob taxa de aquecimento de 10 °C/min, de 30 a 800° C, sob atmosfera inerte com fluxo de 40 mL/min. A massa de amostra utilizada nas análises de ATG foi de aproximadamente 6 mg.

4.9.3 Análise de Difração de Raio-X (DRX)

Para identificar a cristalinidade dos materiais através dos valores dos índices de cristalinidade, as medidas de Difração de Raios X das CBs e de seus respectivos nanocristais obtidos foram realizadas em um difratômetro modelo Xpert MPD, com tubo de Cobre (Cu), comprimento de onda 1,54 Å, operando em 40kV e 30mA, com ângulo 2θ de 10° a 50°. As análises foram realizadas no Laboratório de Raios-X da Universidade Federal do Ceará. O índice de cristalinidade (IC) foi calculado pela Equação 6 (SEGAL et al., 1959).

$$I_C (\%) = 1 - (I_1 / I_2) \times 100 \quad (6)$$

Onde:

I_1 = intensidade do mínimo de difração, relacionada à parte amorfa ($2\theta = 18,5^\circ$);

I_2 = intensidade do máximo de difração, relacionada à parte cristalina ($2\theta = 22,5^\circ$);

4.9.4 Análise de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros vibracionais na região do Infravermelho foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo de FT-IR/NIR Frontier, analisado em ATR com cristal de seleneto de zinco. O objetivo dessa análise é verificar as bandas que são atribuídas às vibrações dos estiramentos das principais ligações químicas dos materiais. Além disso, quatro leituras foram gravadas, usando o acessório Pike Technologies ATR, modelo Miracle, com uma resolução de 4 cm^{-1} , na faixa de números de onda de 4000 a 550 cm^{-1} . A análise foi realizada no Laboratório de Produtos Tecnológicos e Processos (LPT), lotado na Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.9.5 Análise de potencial Zeta

O potencial Zeta mensura a presença de cargas superficiais na partícula, indicando o grau de repulsão entre as partículas igualmente carregadas e, conseqüentemente, a estabilidade da suspensão. O Analisador de Nanopartículas com Potencial Zeta da marca Malvern Instruments, modelo Zetasizer Nano-ZS foi utilizado. Foram analisadas três medidas de 2 mL de cada suspensão de nanocristais com pH 6,5.

4.10 AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA

4.10.1 Estudo do ACV

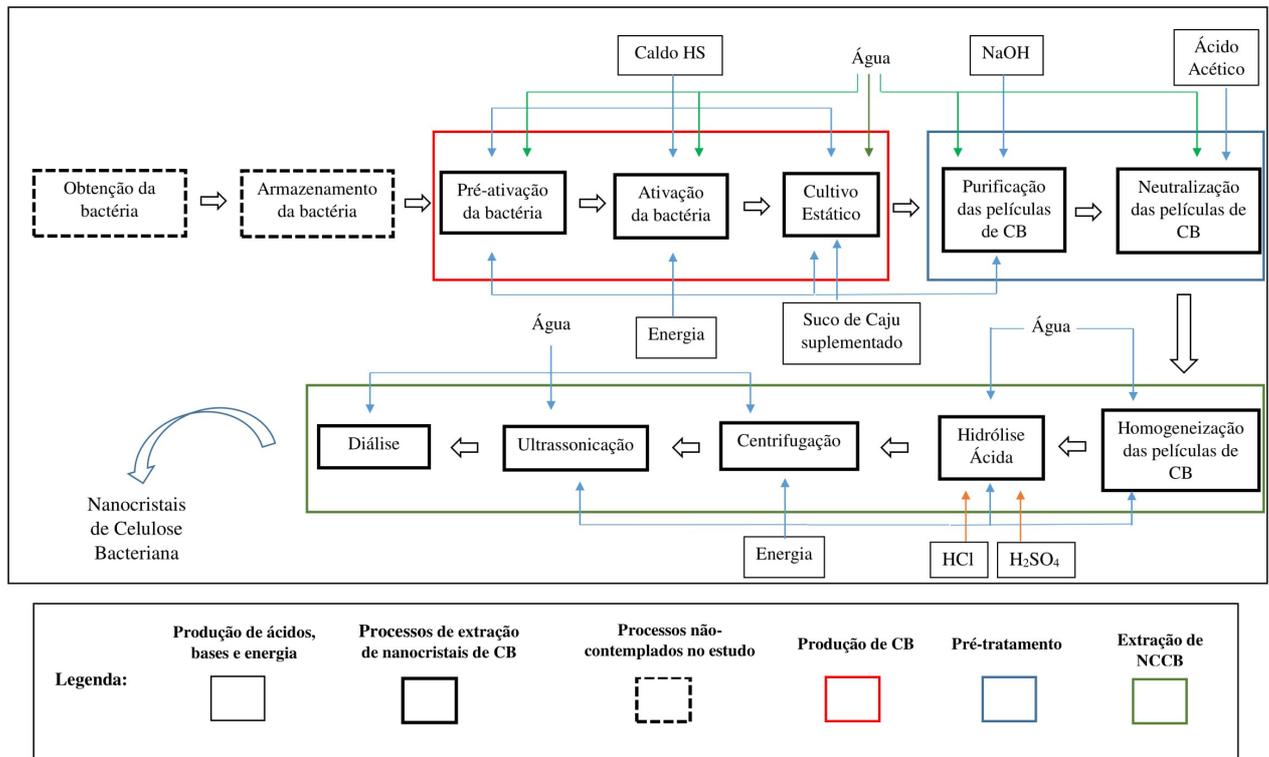
4.10.1.1 Objetivo e escopo do estudo

A análise ambiental está fundamentada na ACV de acordo com as normas ISO 14040 e 14044 (NBR, 2009a, 2009b) e teve como objetivo avaliar pontos críticos nos processos de produção de CB e extração de NCCB a partir do suco de caju, em escala laboratorial, além de comparar os impactos desses materiais com materiais similares.

A função do NCC avaliada nesse estudo foi a de produção. Assim, foi adotada a unidade funcional de 1g de NCC.

O escopo do estudo foi berço ao portão (*cradle-to-gate*). Os seguintes processos foram contemplados: i) produção de CB, que abrange os processos unitários de pré-ativação da bactéria, ativação da bactéria, e cultivo estático; ii) Purificação das películas de CB, que foi realizado de forma convencional e nos cenários I e II, incluindo os processos unitários de purificação, neutralização e trituração das películas de CB; iii) Extração de NCCB, que inclui os processos unitários de hidrólise ácida, centrifugação e ultrassonicação. No sistema de produto avaliado são considerados também os processos de produção de suco de caju, dos insumos químicos e de energia (Figura 9).

Figura 9 – Fronteiras do sistema



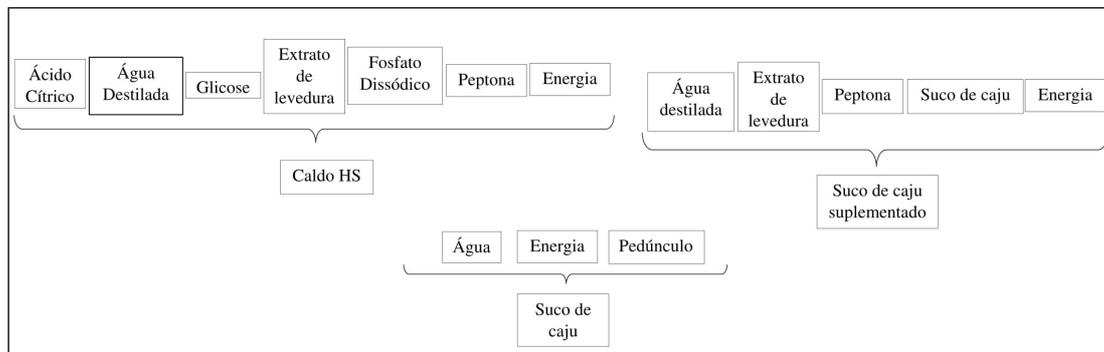
Fonte: elaborada pelo autor

Na produção de insumos, foram consideradas três produções importantes: produção do caldo HS, produção do suco de caju e produção do suco de caju suplementado (Figura 10). A produção do caldo HS é descrita por Hestrin e Schramm (1954) e foi aplicada no laboratório. O caldo é composto por glicose, peptona, extrato de levedura, ácido cítrico e Na_2HPO_4 . Devido à falta de dados relativos à produção de glicose (presente no meio HS), considerou-se apenas o processo de produção do açúcar oriundo da cana-de-açúcar brasileira.

Os dados da extração do suco de caju, utilizado como meio de cultura alternativo na produção da CB, foram baseados em Pinheiro (2015). Foi assumido que antes da produção do suco de caju, o inventário da produção dos pedúnculos de caju no campo é proveniente do estudo de Figueirêdo (2016).

O suco suplementado é o meio, no qual a bactéria foi inoculada para a produção da CB, utiliza água destilada, extrato de levedura, peptona e suco de caju. O suco de caju suplementado foi preparado em laboratório.

Figura 10 – Produção dos principais insumos de entrada como suco de caju, suco de caju suplementado e caldo HS.



Fonte: elaborada pelo autor

Os processos de produção da bactéria e de estocagem foram desconsiderados já que a cepa da *G. hansenii* ATCC 53582 utilizada na produção da bactéria é replicada constantemente para a realização de diversos estudos diferentes, havendo uma alocação mínima de impactos para cada procedimento e a estocagem não ocorreria em um sistema de produção contínua.

4.9.1.2 Inventário de ciclo de vida

Os dados primários dos processos relacionados a produção de CB, pré-tratamento e extração de NCC (Figura 9) foram coletados nos Laboratórios de Tecnologia da Biomassa e de Microbiologia de Alimentos, na Embrapa Agroindústria Tropical e inseridos no software Simapro 8.0.3. Já os inventários referentes à produção de energia e de reagentes foram obtidos da base de dados ecoinvent v.3.0. O ecoinvent é constituído pela contribuição de bancos de dados de diferentes instituições, possuindo mais de 4000 processos de diversas áreas, como energia, transporte, materiais renováveis, químicos, gestão de resíduos, agricultura, engenharia mecânica e eletrônica (GOEDKOOOP et al., 2009). Na tabela 3, estão explanadas os nomes dos inventários utilizados do ecoinvent.

Tabela 3 – Fontes secundárias dos dados do estudo ACV

Processo	Referência
Produção de Energia	Electricity, medium voltage {BR} market for Alloc Def, U
Água da torneira utilizada	Water, unspecified natural origin/m
Água deionizada e destilada utilizadas	Water, deionised, from tap water, at user {GLO} market for Alloc Def, U
Produção de Hidróxido de Sódio	Sodium hydroxide, 50% in H ₂ O, production mix, at plant/RER U
Produção de Peróxido de Hidrogênio	Hydrogen peroxide, 50% in H ₂ O, at plant/RER U
Produção de peptona	Protein concentrate, from whey, at fermentation/CH U
Produção de extrato de levedura	Yeast paste, from whey, at fermentation/CH U
Produção de glicose	Sugar, from sugar cane, from sugar production, at plant/BR Mass
Produção de ácido cítrico	Citric acid {CN} production Alloc Def, U
Produção de fosfato dissódico	Sodium phosphate, at plant/RER U
Produção Ácido Clorídrico	Hydrochloric acid, 36% in H ₂ O, from reacting propylene and chlorine, at plant/RER U
Produção Ácido Sulfúrico	Sulfuric acid (98% H ₂ SO ₄), at plant/RER Mass

Fonte: elaborada pelo autor

A contabilização de materiais e insumos, como água e produtos químicos, além dos coprodutos de cada processo unitário e efluentes foi realizado por balanço de massa. O cálculo do consumo de energia foi realizado pela multiplicação da potência dos equipamentos pelo tempo que foram utilizados, seguida de definições a respeito da capacidade máxima do equipamento com relação à capacidade demandada por cada processo, como mostrado na Equação 7. A medição dos volumes dos efluentes gerados também foi considerada pelas emissões.

$$C_e = T_u \times P_{ot} \times \frac{C_{pu}}{C_{pm\acute{a}x}} \quad (7)$$

Onde:

C_e: consumo energético (kWh)

Tu: tempo utilizado (h)

Pot: potência (kW)

Cpu: capacidade utilizada (L)

Cpmáx: capacidade máxima (L)

Os efluentes provenientes das etapas de cultivo estático e hidrólise/centrifugação foram analisados quanto aos seguintes parâmetros: Demanda Química de Oxigênio (DQO), Ortofosfato (Fosfato inorgânico dissolvido), amônia, nitrogênio e cloreto. A posterior quantificação das cargas ambientais em cada efluente é realizada pela multiplicação do volume (mL) do efluente pela concentração do poluente (g/mL) (Tabela 4).

Tabela 4 – Métodos utilizados para determinação dos parâmetros químicos de qualidade dos efluentes líquidos

PARÂMETRO	MÉTODO	REFERÊNCIAS
DQO	Método Espectrofotométrico	APHA, 2005
Fosfato Inorgânico Dissolvido (Ortofosfato)	Método do Ácido Ascórbico	STRICKLAND & PARSONS, 1960 THAYER, 1970; SALLEY, BRADSHAW & NEILSON, 1986;
Amônia	Método de Destilação	NICHOLS & FOOTE, 1931; TARAS, 1953; STRICKLAND & PARSONS, 1960; PALIN, 1950
Nitrato	Método do salicilato	APHA, 2005
Cloreto	Método de Mohr	APHA, 2005

Fonte: elaborada pelo autor

4.9.1.3 Avaliação de impactos

Os métodos ReCiPe hierárquico de ponto médio (midpoint) versão 1.11 (GOEDKOOPE, 2009) e USEtox (ROSENBAUM, 2008) foram utilizados para a avaliação dos

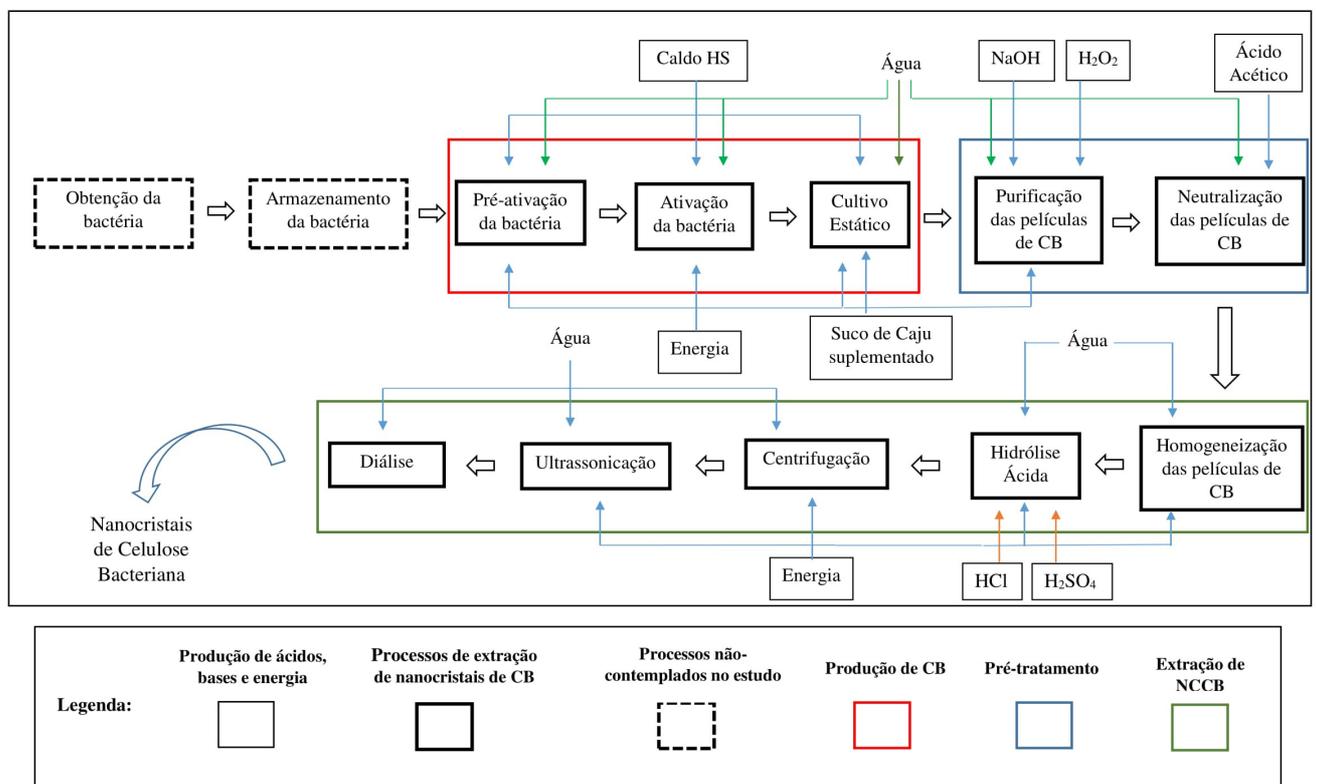
impactos ambientais. Foram avaliadas as seguintes categorias de impacto pelo método Recipe: mudança climática, eutrofização de águas doces, eutrofização marinha, acidificação do solo, depleção hídrica. As categorias de toxicidade humana câncer, toxicidade humana não-câncer e ecotoxicidade de águas doces foram avaliadas pelo Usetox.

4.9.1.4 Análise de cenários

Foram avaliados cenários alternativos de pré-tratamento. A viabilidade técnica dos cenários considerados foi aferida em experimentos realizados em laboratório, onde foram testadas as propriedades dos nanocristais produzidos e atestado que as modificações sugeridas não comprometiam a qualidade dos NCC. Os cenários analisados foram:

- Cenário I: adição de peróxido de hidrogênio na concentração de 1% (v/v) na etapa de purificação. O peróxido de hidrogênio é inserido na primeira lavagem das películas, juntamente com o NaOH 2%, necessitando ainda de mais 2 lavagens com o mesmo reagente básico. Na sequência, seguiu-se para a hidrólise para a extração dos nanocristais (Figura 11);

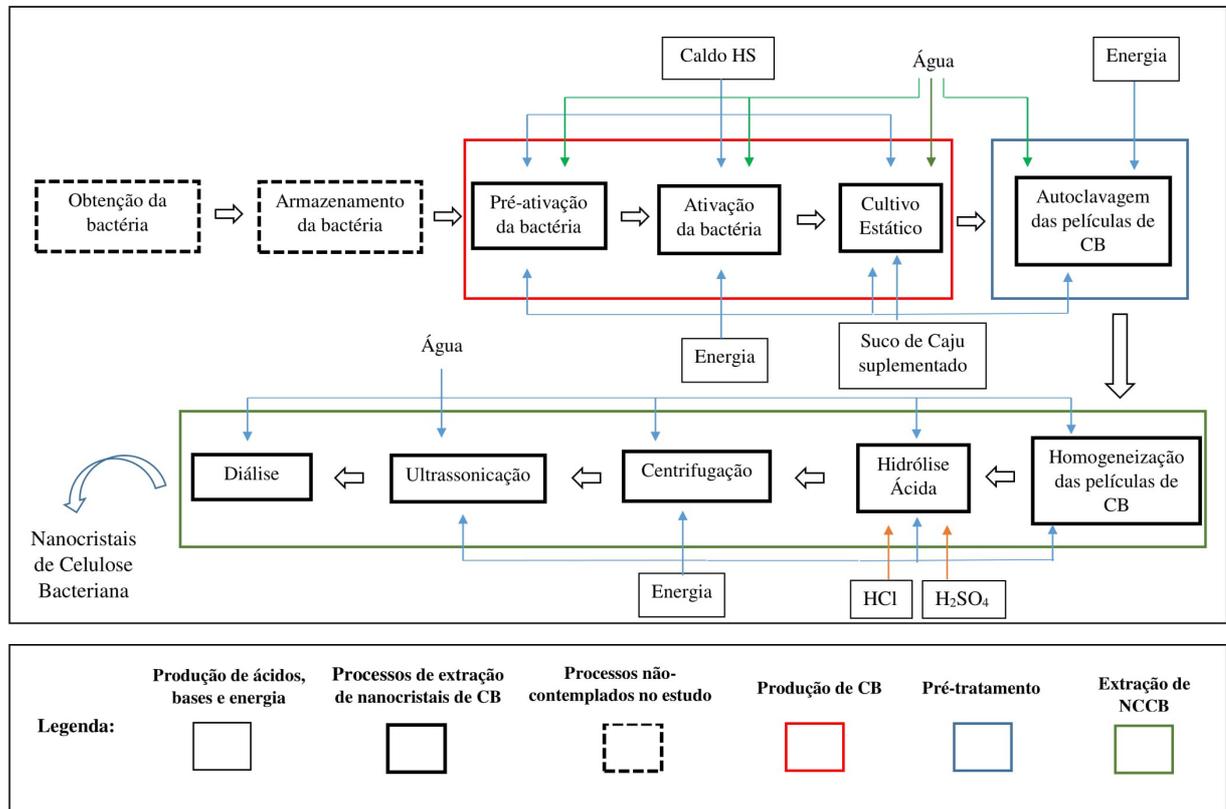
Figura 11 – Fronteiras do sistema para o Cenário I



Fonte: elaborada pelo autor

- Cenário II: apenas autoclavagem das películas, sem nenhuma etapa de purificação. Na sequência, seguiu-se para a hidrólise para a extração dos nanocristais (Figura 12).

Figura 12 – Fronteiras do sistema para o Cenário II



Fonte: elaborada pelo autor

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE CAJU

A Tabela 5 apresenta as características químicas do suco de caju utilizado no presente trabalho.

Ao ser analisado pelo método DNS, o suco de caju apresentou composição de 118 g.L⁻¹ de açúcares redutores (glicose e frutose). Como o suco de caju apresentou uma elevada concentração de açúcares em comparação ao meio padrão HS (20 g.L⁻¹ de glicose), foi necessária a diluição do suco para preparação do meio de cultura. Os valores de caracterização do suco de caju desse trabalho estão bem próximos dos valores obtidos por Carneiro (2015) (pH na faixa de 3,9, acidez expressa em ácido cítrico 2,5 g.L⁻¹, nitrogênio total de 0,4 g.L⁻¹, açúcares redutores 103,5 g.L⁻¹).

Tabela 5 – Características químicas do suco de caju

Parâmetros	Suco de caju
Açúcares Redutores (g.L⁻¹)	118 ± 1,41
Nitrogênio Total (g.L⁻¹)	0,4 ± 0,0
Ácido cítrico (g.L⁻¹)	2,3 ± 0,0
pH	4,2 ± 0,04

Fonte: elaborada pelo autor

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS CELULOSES BACTERIANAS (CB) E DOS NANOCRISTAIS DE CELULOSE (NCCB) OBTIDOS

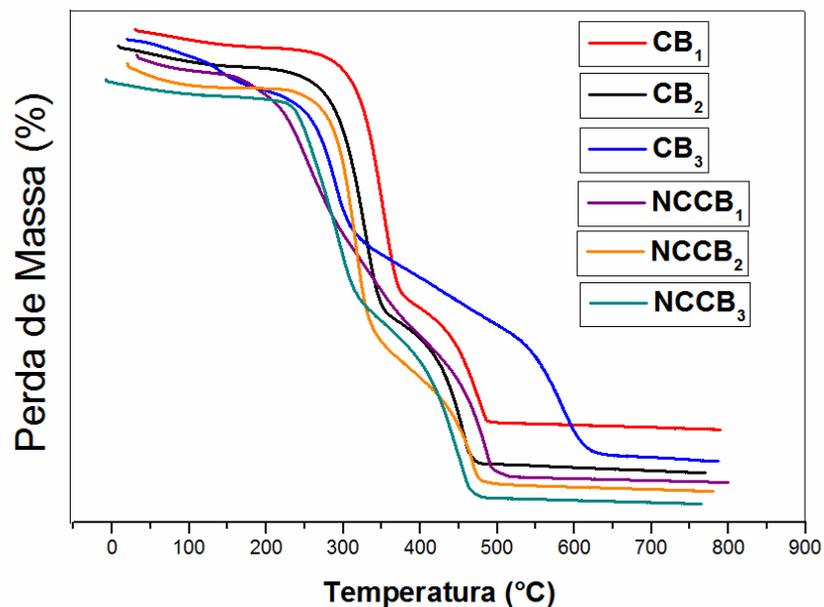
As películas de celuloses bacterianas obtidas tiveram produção média (g/l) de 3,1 e umidade próxima de 98,69%. Elas foram denominadas de CB₁, CB₂ e CB₃. A CB₁ foi a película de celulose bacteriana que passou pelo método de purificação com NaOH 2% m/v (metodologia convencional). Enquanto, a CB₂ foi a película de celulose bacteriana a qual passou pelo método de purificação com NaOH 2% (m/v) e H₂O₂ 1% (v/v). E por último, a CB₃ foi a película de celulose bacteriana que não passou por nenhum tipo de purificação, apenas autoclavagem para esterilização das películas. Os nanocristais obtidos foram

denominados de $NCCB_1$, $NCCB_2$ e $NCCB_3$. A $NCCB_1$ é denominada para os nanocristais obtidos a partir da CB_1 , $NCCB_2$ para os nanocristais obtidos a partir da CB_2 e $NCCB_3$ para os nanocristais obtidos a partir da CB_3 .

5.2.1 Análise Termogravimétrica, Potencial zeta e rendimento de extração dos nanocristais (NCCB)

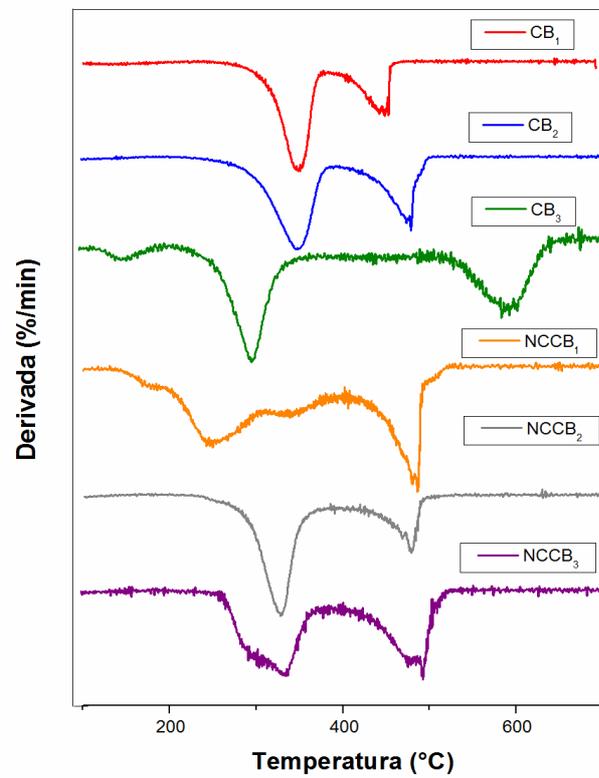
A Figura 11 apresenta as curvas termogravimétricas (TG) e a Figura 12 as respectivas derivadas (DTG) das celulosas bacterianas e de seus nanocristais, obtidas por hidrólise com ácidos sulfúrico e clorídrico. Uma certa similaridade entre os eventos é verificada entre as curvas termogravimétricas das celulosas CB_1 e CB_2 e dos nanocristais de celulose $NCCB_1$, $NCCB_2$ e $NCCB_3$. Apenas a curva da CB_3 apresentou disparidade em relação às demais.

Figura 11 – Curvas termogravimétricas da celulose bacteriana e dos nanocristais obtidos



Fonte: elaborada pelo autor

Figura 12 – Derivadas das curvas termogravimétricas da celulose bacteriana e dos nanocristais obtidos



Fonte: elaborada pelo autor

A Tabela 6 apresenta os valores de temperaturas inicial (T_{Onset}) e final de degradação e das perdas de massa dos dois últimos eventos verificados na análise termogravimétrica das celulosas bacterianas e dos nanocristais de celulose bacteriana obtidos.

Um primeiro evento que ocorre em torno da temperatura de 100°C, atribuído à evaporação de água residual, é algumas vezes relatado na literatura. Entretanto, nos materiais desse trabalho, eles não foram evidenciados, exceto para a CB₃. (SOUZA et al., 2016; VASCONCELOS et al., 2017).

Tabela 6 – Temperatura T_{Onset} e temperatura final de degradação térmica e perda de massa referentes a análise termogravimétrica das celuloses bacterianas e de seus respectivos nanocristais de celulose bacteriana obtidos

Amostra	1° Evento		2° Evento		Massa Residual (%)
	T_{Onset} (°C)	T_{final} (°C)	T_{Onset} (°C)	T_{final} (°C)	
CB ₁	318	384	439	490	7
CB ₂	311	398	449	500	8
CB ₃	277	340	560	640	16
NCCB ₁	228	313	453	500	9,5
NCCB ₂	300	422	455	495	7,8
NCCB ₃	278	400	450	517	5,4

Fonte: elaborada pelo autor

Quando analisamos as curvas de CB₁, CB₂ e CB₃, podemos observar a existência de dois eventos térmicos. O primeiro evento, com temperatura inicial de degradação térmica (T_{Onset}) entre 277°C a 318°C, evidencia o processo de degradação da celulose, incluindo ainda a despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas (SOUZA et al., 2016).

Para o segundo evento da CB₁ e CB₂, com temperatura inicial variando entre 439 e 449°C, ocorre a oxidação e quebra dos resíduos carbonizados e formação de produtos gasosos de baixo peso molecular. No entanto para o CB₃, esse segundo evento, iniciou-se em 560°C devido à celulose não ter passado por nenhum tipo de purificação e apresentar assim, impurezas como restos de meio de cultura e restos celulares.

No caso das curvas de NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃, o primeiro evento corresponde à presença de grupos sulfatos, que faz com que o processo de degradação de celulose seja dividido em duas etapas. A primeira etapa corresponde à reação de degradação da celulose nas unidades de cadeia que contém grupos sulfatos e a segunda etapa corresponde à quebra da fração cristalina na qual não foi atacada pelo ácido sulfúrico. Os grupos sulfatos promovem as reações de desidratação da celulose, liberando água e catalisando, portanto, as suas reações de degradação (LIMA et al., 2015).

Porém, a combinação de ácidos sulfúrico e clorídrico durante a hidrólise pode gerar nanocristais com uma maior estabilidade térmica que se fosse apenas uma hidrólise com

ácido sulfúrico. Esse comportamento em relação a estabilidade térmica é reportado na literatura, com *Tonset* de 263°C referente ao evento de degradação de celulose em nanocristais obtidos pelo mesmo tipo de hidrólise com CB produzida em meio sintético (HS). (WANG, DING & CHENG, 2007; VASCONCELOS et al., 2017).

O segundo e último evento de NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃, com temperatura inicial entre 450°C e 455°C, é ocasionado devido a carbonizados da celulose semelhantemente ao segundo evento referente à CB₁, CB₂ e CB₃. Os resultados apresentados sobre as curvas termogravimétricas das celulosas bacterianas CB₁ e CB₂ e dos nanocristais NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃ estão em conformidade com a literatura. (DHAR et al., 2016; ROMAN & WINTER, 2004).

Em geral, não houve aumento de estabilidade térmica significativo entre as CBs e suas respectivas NCCBs. Entretanto, a NCCB₃, que foi obtida a partir da CB₃ que não passou por nenhum tipo de tratamento, obteve um pequeno aumento na estabilidade térmica. O potencial zeta das suspensões de nanocristais e o rendimento da extração dos nanocristais obtidos estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8 – Potencial zeta das suspensões de nanocristais e rendimento da extração dos nanocristais obtidos

Amostra	Potencial zeta (mV)	Rendimento (%)
NCCB ₁	-62,5 ± 6,36	89,32
NCCB ₂	-40,4 ± 0,6	87,47
NCCB ₃	-35,2 ± 2,5	90,51

Fonte: elaborada pelo autor

A análise de potencial zeta avalia o caráter eletrostático da suspensão de nanocelulose, bem como sua estabilidade promovida pelo aumento da força iônica ocasionada pelos grupos hidroxilas da celulose e grupos sulfatos introduzidos durante a hidrólise conjunta de ácidos sulfúrico e clorídrico. (WICAKSONO et al., 2013). De acordo com Silva et al. (2012), potenciais zeta com módulo abaixo de 30 mV indicam a instabilidade da solução, enquanto potenciais zeta superior a 30 mV indicam estabilidade. Portanto, nota-se na Tabela 8, de um modo geral, que as suspensões de nanocristais de celulose bacteriana apresentaram altos valores de cargas superficiais negativas e, conseqüentemente, boa estabilidade. Estes resultados indicam que o processo de hidrólise ao ser aplicado sobre as películas de CB foi

suficiente não apenas para reduzir o tamanho das partículas, mas também gerou suspensões com boa estabilidade (ELANTHIKKAL et al. 2010).

O potencial zeta apresenta cargas negativas devido aos grupos sulfato (SO_4^{2-}) que são inseridos durante o processo de hidrólise com ácido sulfúrico, através da esterificação dos grupos hidroxila superficiais da molécula de celulose (CORRÊA et al., 2010). A hidrólise com ácido clorídrico não promoveu a reação de esterificação, entretanto a suspensão de nanocristais apresentou boa estabilidade em razão da contribuição dos grupamentos sulfato. A literatura reporta potencial zeta com variação de -44/-43 mV para suspensões de nanocristais obtidas através de hidrólise com HCl e H_2SO_4 . Portanto, os valores de potencial zeta obtidos estão próximos da faixa esperada (DUFRESNE, 2012; VASCONCELOS et al., 2017).

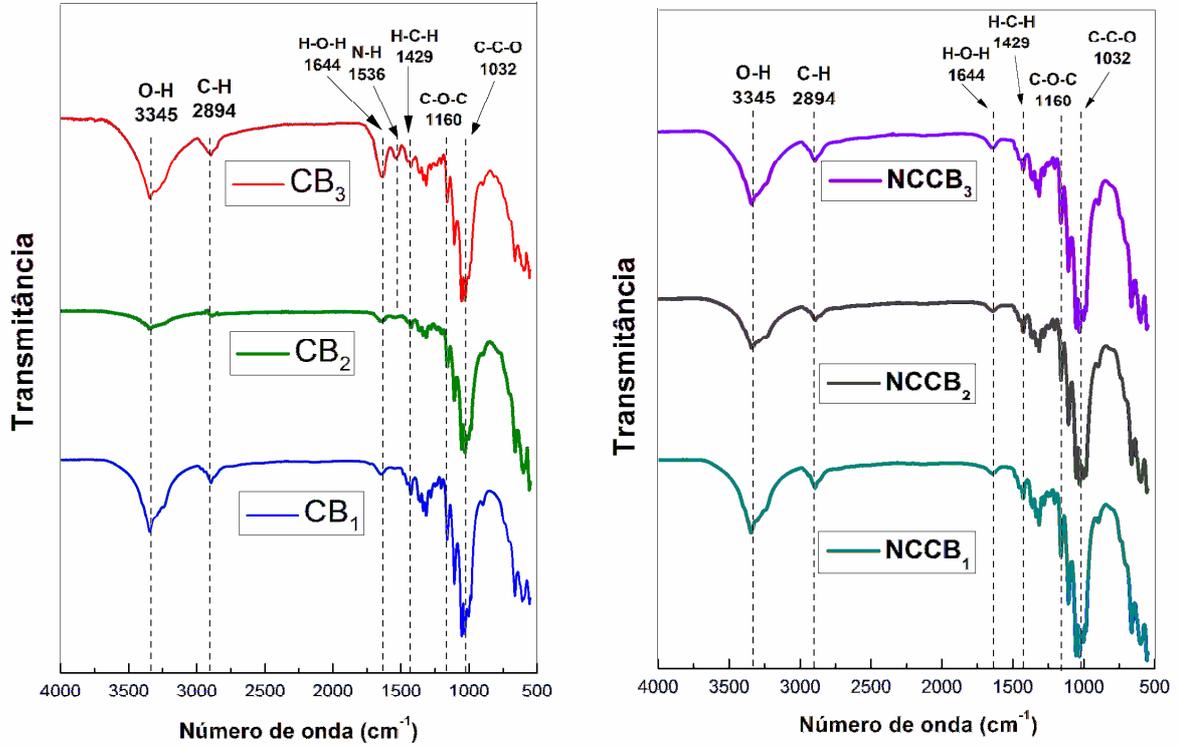
Para NCCB₃, potencial zeta com o menor módulo verificado (35,2) que os demais, indica que a presença de impurezas na suspensão diminuiu a quantidade de cargas superficiais negativas, conseqüentemente uma menor estabilidade ao compararmos com NCCB₁ e NCCB₂.

Através da Tabela 8, temos também os valores das porcentagens de rendimento de extração dos nanocristais de celulose. Os valores dos rendimentos de extração de nanocristais (87,47%, 89,32% e 90,51%) são superiores aos valores de rendimento de obtenção de nanocristais de outras fontes como côco (59,8%) e dendê (70%) (NASCIMENTO et al. 2016a; SOUZA et al., 2016).

5.2.2 Análise de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

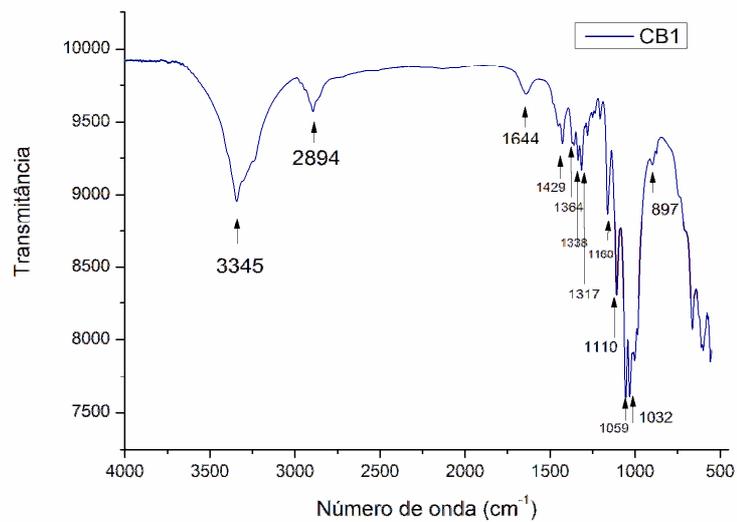
A Figura 13 apresenta os espectros de FTIR das celulosas bacterianas CB₁, CB₂ e CB₃ e dos nanocristais obtidos NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃. Além disso, na figura 14, podemos observar o espectro de infravermelho ampliado com os números de onda correspondentes a cada banda de vibração da celulose bacteriana CB₁. Todas as bandas de vibração se assemelham com as demais bandas plotadas de CB₂, NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃.

Figura 13 - Espectro de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR) das celulosas bacterianas CB₁, CB₂ e CB₃ e dos nanocristais de celulose obtidos NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃



Fonte: elaborada pelo autor

Figura 14 - Espectro de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR) ampliado da celulose CB₁ para melhor visualização dos principais números de onda



Fonte: elaborada pelo autor

A Tabela 9 mostra os grupos funcionais característicos da CB com as principais bandas e suas respectivas atribuições assim como as bandas encontradas nas CBs originárias do suco de caju e suas NCCBs obtidas. Foi observado que as celulosas bacterianas e seus respectivos nanocristais extraídos apresentaram bandas de vibração típicas da estrutura de celulose, muitas delas se relacionam com as ligações C-O-C, OH e CH. A CB pura apresentada na Tabela 9 refere-se a celulose bacteriana obtida por meio sintético.

Tabela 9 – Principais frequências vibracionais (cm^{-1}) observadas para as celulosas bacterianas CB_1 , CB_2 e CB_3 e os respectivos nanocristais obtidos NCCB_1 , NCCB_2 e NCCB_3

Número de onda (cm^{-1})		Tipo de vibração
CB Pura*	Películas CB/NCCB	
3445	3345	O – H (estiramento)
2860-2930	2894	C – H (estiramento)
1635-1645	1644	H – O – H (estiramento da água) N – H (deformação angular)
-	1580-1495	
1425-1435	1429	H – C – H (deformação angular assimétrica)
1358-1375	1364	C – H (deformação angular simétrica)
1316	1317	CH_2 (formação angular)
1146-1160	1160	C – O – C (estiramento assimétrico da ligação glicosídica)
1111	1110	C – O (estiramento de álcool secundário)
1000-1200	1059	C – C – O (estiramento de álcool primário)
1036	1032	C – C – O (estiramento de álcool primário)
870-900	897	C – H (deformação angular)

Fonte: PANDEY, 1999; PAVIA, 2008; POUCHERT, 1971; PANDEY & PITMAN, 2004; GEA et al., 2011

As celuloses bacterianas e os nanocristais apresentam segundo a literatura bandas em torno de 3345 e 2894 cm^{-1} , que podem ser atribuídas às vibrações de estiramento O-H de álcool e C-H de hidrocarbonetos saturados, respectivamente. Na região de 1635-1645 cm^{-1} , são observadas frequências de absorção referentes a vibração de O-H (moléculas de H_2O absorvidas) (PANDEY, 1999; PAVIA, 2008; POUCHERT, 1971).

As bandas de absorção em 1425-1435 cm^{-1} se apresentam devido às deformações de H-C-H. Já as de 1146-1160 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento assimétrico da ligação glicosídica C-O-C. Essa banda verificada em todas as amostras complementa-se com o segundo evento verificado na análise de ATG, que corresponde a decomposição das unidades glicosídicas. As frequências observadas em 1032 cm^{-1} e 1059 cm^{-1} são referentes às deformações de estiramentos de álcool primário C-O de C-OH de carboidratos (PANDEY & PITMAN, 2004; GEA et al., 2011).

Foram observadas apenas no espectro de infravermelho da CB_3 frequências em 1536 cm^{-1} , que são referentes a ligação N-H. Essa banda é usada para caracterizar aminas e amidas secundárias, sendo assim proveniente da peptona, extrato de levedura e restos de células bacterianas. Isso já era esperado para CB_3 , pois essa película de celulose não passou por processo de purificação. A presença dessa banda indica a impureza presente nessa película, constatando com o resultado da análise de ATG da CB_3 onde é verificado uma extensão do *Tonset* (556°C) do 2º evento. Porém, não foi achada nenhuma banda referente à ligação do grupo sulfato, derivado do processo de esterificação proveniente da hidrólise com ácido sulfúrico e ácido clorídrico (PANDEY & PITMAN, 2004; GEA et al., 2011).

A análise de FTIR permitiu verificar e confirmar a eficiência da etapa de purificação das películas com NaOH 2% (m/v) (CB_1) e NaOH 2 % e H_2O_2 1% (v/v) (CB_2).

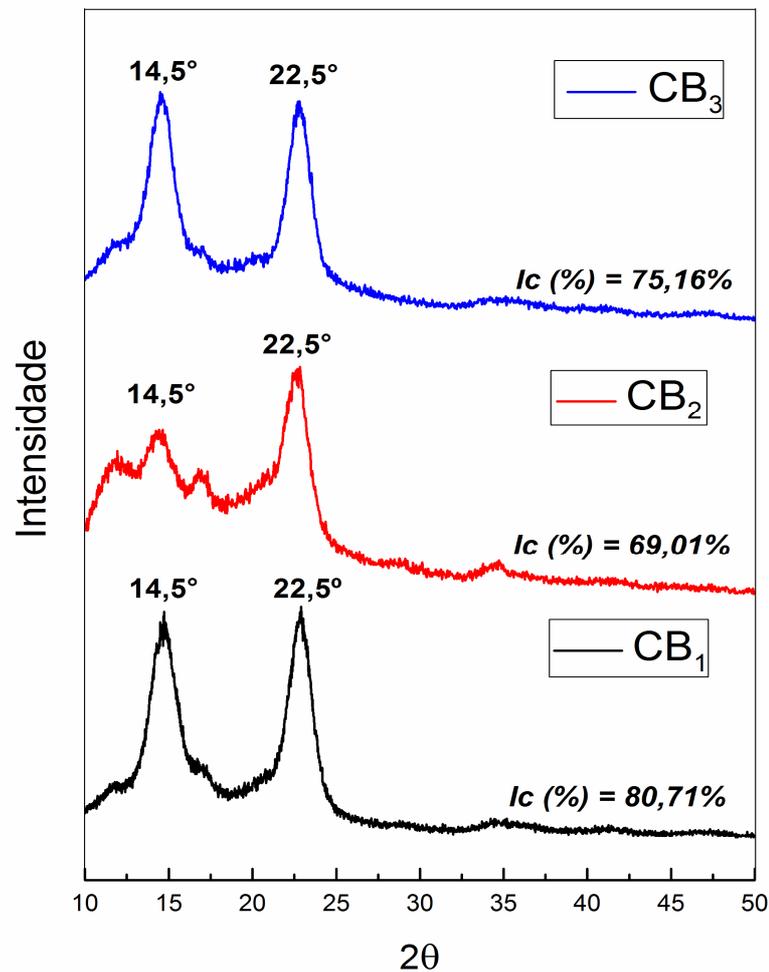
5.2.3 Análise de Difração de Raio-X (DRX)

A Figura 15 apresenta os difratogramas de raios X das celuloses bacterianas CB_1 , CB_2 e CB_3 obtidas a partir do suco de caju. Verifica-se a existência de dois picos de difração em $2\theta = 14,5^\circ$ e $22,5^\circ$ que são normalmente atribuídos aos planos cristalográficos 101 e 002, respectivamente. A presença desses dois picos de difração é característica da celulose tipo I, que é prevalente da celulose produzida por bactérias (HUANG et al., 2014).

Os índices de cristalinidade (IC) para as películas CB_1 , CB_2 e CB_3 foram 80,71%, 69,01% e 75,16%, respectivamente. A celulose bacteriana geralmente apresenta índices de

crystalinidade entre 60 e 95% (FANG & CATCHMARK, 2015; CHENG, CATCHMARK & DEMIRCI, 2009; LEE et al., 2011). Os valores de IC obtidos para as celuloses bacterianas foram bons e dentro da faixa esperada. O valor de índice de cristalinidade verificado por Vasconcelos e colaboradores (2017) para a celulose bacteriana foi de 79%, então os valores obtidos estão de acordo com a literatura.

Figura 15 – Difratomogramas das celuloses bacterianas CB₁, CB₂ e CB₃ produzidas em suco de caju



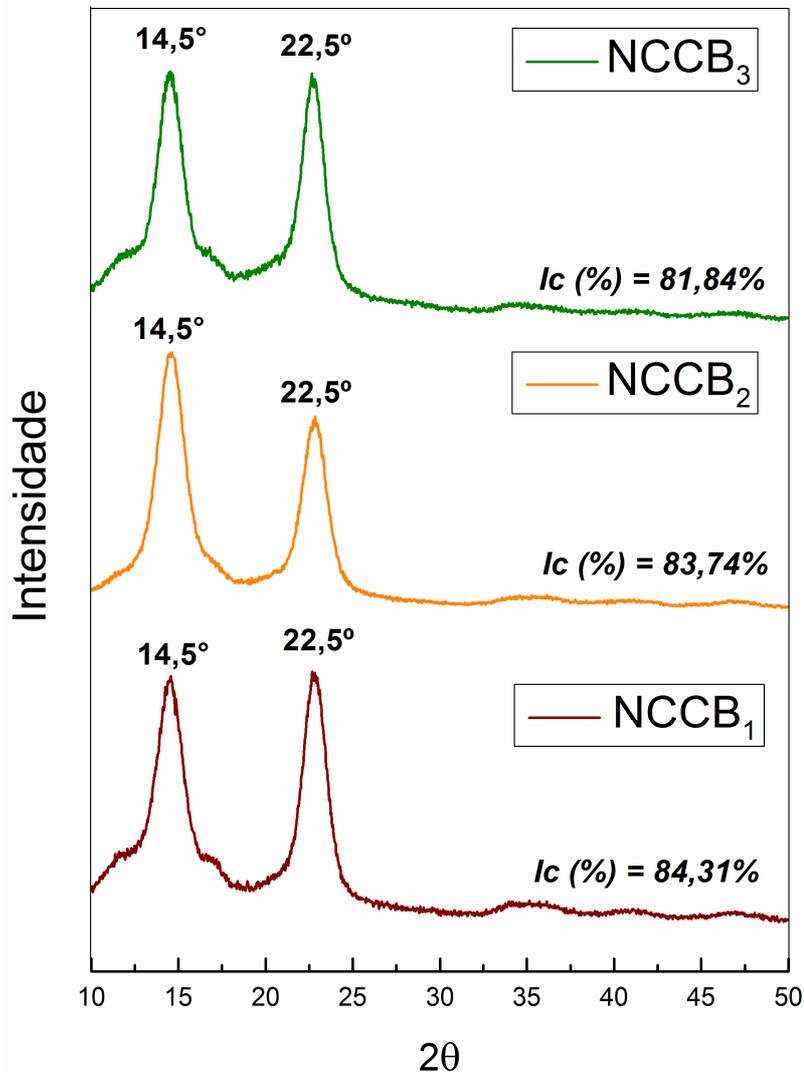
Fonte: elaborada pelo autor

A Figura 16 apresenta os difratogramas de raios-X dos nanocristais de celulose NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃ obtidos a partir de CB₁, CB₂ e CB₃, respectivamente. Os índices de cristalinidade para os nanocristais NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃ foram 84,31%, 83,74% e 81,84%, respectivamente. Esses resultados mostram que os nanocristais apresentam índice de cristalinidade superior ao da celulose bacteriana. O aumento da cristalinidade verificado após

a hidrólise ácida ocorre devido a remoção das regiões amorfas a partir das celuloses purificadas (ZAIN, YUSOP & AHMAD, 2014).

O aumento da estabilidade térmica verificada entre CB's e as NCCBs na análise de ATG é constatado também pelo aumento no valor de índice de cristalinidade em todas os nanocristais obtidos. Além disso, os valores de IC estão na faixa esperada, pois a literatura reporta que o IC de nanocristais de CB obtidos a partir de hidrólise ácida combinada com HCl e H₂SO₄ variaram entre 83 e 92% (ZAIN, YUSOP & AHMAD, 2014; VASCONCELOS et al., 2017).

Figura 16 – Difratomogramas dos nanocristais NCCB₁, NCCB₂ e NCCB₃ de celulose bacteriana produzida em suco de caju



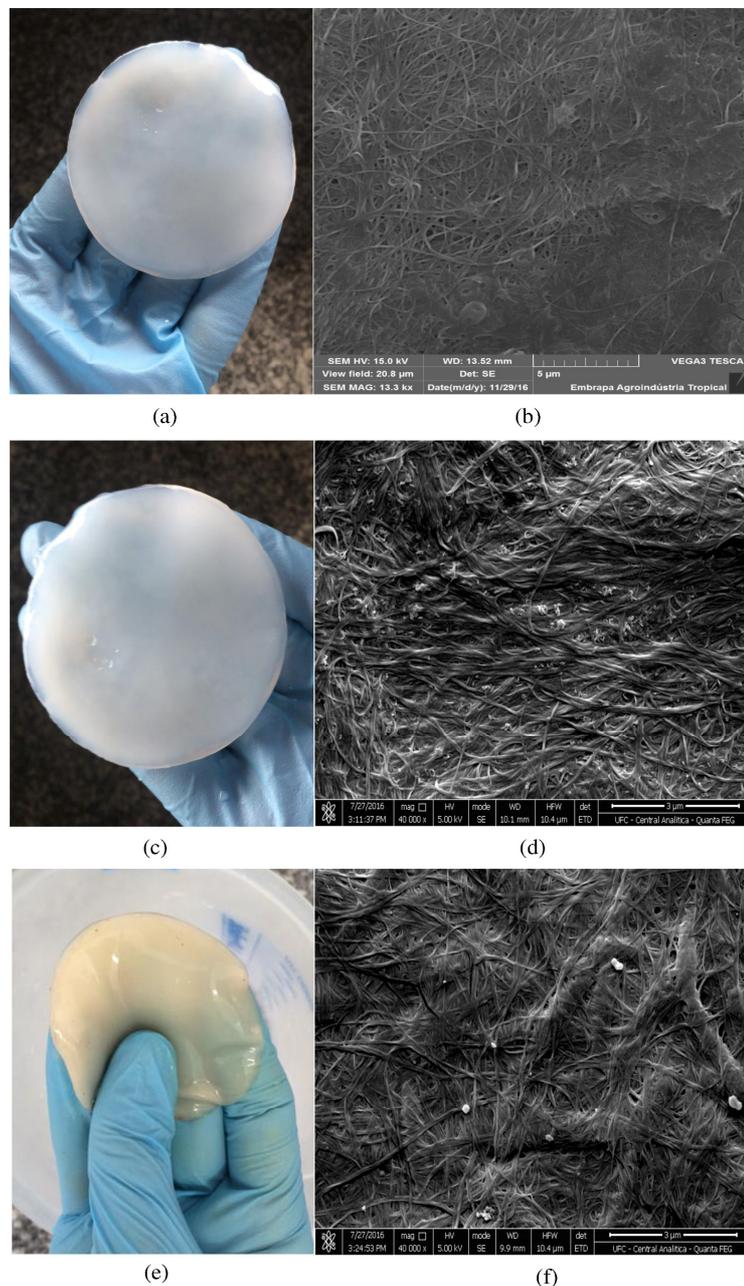
Fonte: elaborada pelo autor

5.2.4 Análise microscópica

5.2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 17 apresenta as películas de celulose bacteriana CB₁, CB₂ e CB₃, bem como suas respectivas micrografias, obtidas de material seco em estufa e que foram visualizadas através de um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

Figura 17 – Imagens das películas de celulose bacteriana CB₁ (a), CB₂ (c) e CB₃ (e) e suas respectivas micrografias (b), (d) e (f) das películas secas em estufa



Fonte: elaborada pelo autor

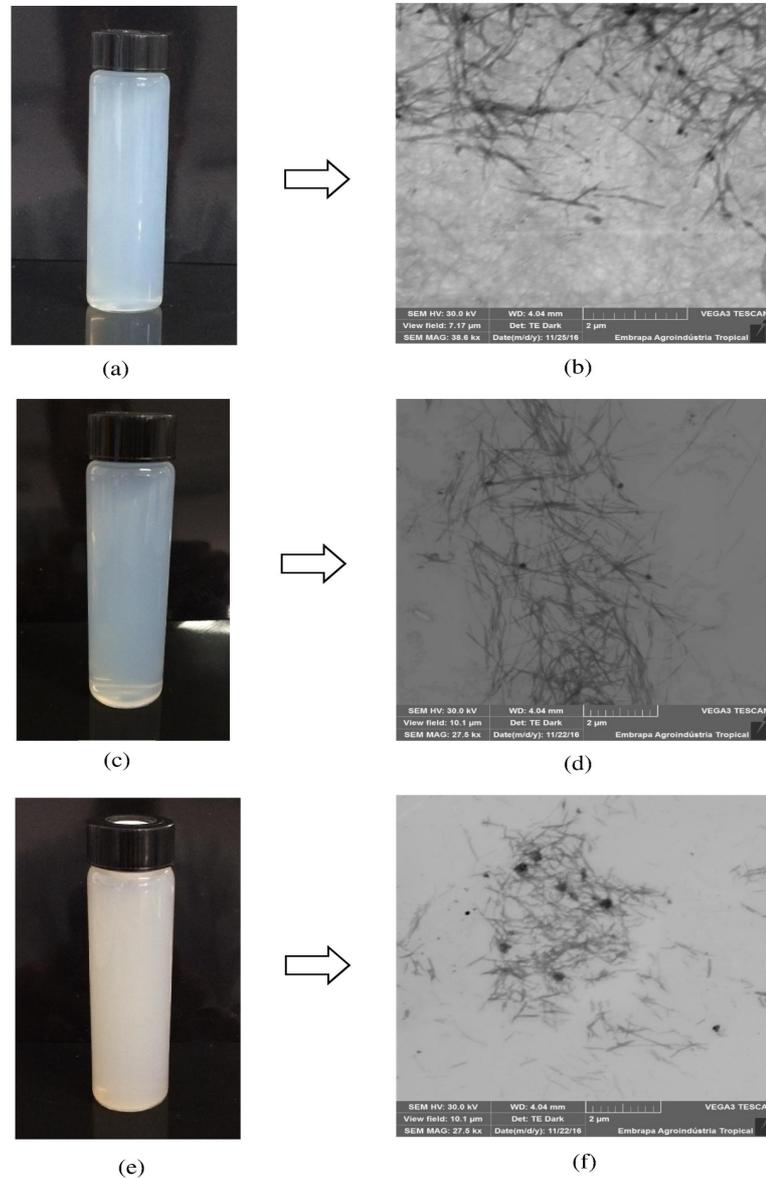
Observa-se a partir das micrografias, uma estrutura reticulada, que consiste de fibrilas de celulose ultrafinas. Estas estruturas se interconectam formando uma estrutura compacta, tridimensional, porosa e nanométrica, dimensão que é característica de fibras de celulose bacteriana (MOHITE & PATIL, 2014).

Além disso, a imagem da película de CB₃ apresentou detritos ou componentes não-identificados em sua estrutura. Isso ocorreu possivelmente porque a película de CB₃ não passou pela etapa de purificação, deixando assim algumas impurezas.

5.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os nanocristais de celulose bacteriana obtidos a partir de CB₁, CB₂ e CB₃ foram visualizados pelo MET. A Figura 18 apresenta as suspensões de nanocristais NCCB₁ (20a), NCCB₂ (20c) e NCCB₃ (20e) bem como suas respectivas micrografias.

Figura 18 - Imagem das suspensões dos nanocristais de celulose bacteriana NCCB₁ (a), NCCB₂ (c) e NCCB₃ (e), respectivamente e suas micrografias por MET representadas em (b), (d) e (f)



Fonte: elaborada pelo autor

Nota-se o mesmo aspecto visual leitoso nas três suspensões de nanocristais de celulose, porém na NCCB₃ (e), ela se apresenta um pouco mais turva. Isso ocorre possivelmente, porque a suspensão de nanocristais de celulose (18e) foi obtida a partir de uma celulose bacteriana que não passou pelo processo de purificação, conforme a extensão da temperatura inicial de degradação térmica do 2º evento (556°C) verificado na análise de ATG

referente à CB₃, permanecendo até o fim do processo alguns restos de meio de cultura que não foram eliminados na etapa de hidrólise.

Como mostra as Figuras 18 (b), (d) e (f), obtiveram-se, por meio da hidrólise ácida, estruturas em formatos de agulhas na região analisada, que é o esperado da extração de nanocristais de celulose. A presença de alguns pontos pretos nas imagens pode ser explicada pelo excesso de contrastante (ácido fosfotúngstico) utilizado no preparo das amostras para análise.

Para os nanocristais NCCB₁, o comprimento médio (L) foi de 1347 ± 240 nm e largura média (D) de 59 ± 11 nm, correspondendo a uma razão de aspecto (L/D) de $23,2 \pm 3,8$. Os nanocristais NCCB₂, apresentaram comprimento médio (L) de 1852 ± 451 nm e largura média (D) de 80 ± 14 nm, correspondendo a uma razão de aspecto (L/D) de $23,3 \pm 5,1$. Os nanocristais NCCB₃, apresentaram comprimento médio (L) de $1393,8 \pm 573$ nm e largura média (D) de $67 \pm 27,6$ nm, correspondendo a uma razão de aspecto (L/D) de $21,9 \pm 3,28$. Observa-se que todas as nanoestruturas de celulose mostraram pelo menos uma das suas dimensões na escala nanométrica, caracterizando assim uma estrutura de nanocelulose. Nota-se também que o tipo de purificação realizada no cenário convencional e em seus respectivos cenários não alterou a razão de aspecto dos NCCB's.

Os valores obtidos de L/D nesse trabalho são tão bons quanto os obtidos por Vasconcelos e colaboradores (2017) (L/D = 20,1 e 21,1). Isso mostra que os nanocristais de celulose bacteriana obtidos podem ser indicados na preparação de nanocompósitos, dentre outras aplicações.

A aplicação de nanoestruturas como reforço em matrizes poliméricas é avaliada quando temos uma boa razão de aspecto dos nanocristais (L/D). Geralmente, valores de razão de aspecto maiores que 13 ocasionam em melhoras nas propriedades de reforço dos materiais porque favorece a formação de fase anisotrópica (DUFRESNE, 2012).

Além disso, quanto maior for a sua razão de aspecto, mais as nanoestruturas de celulose terão a capacidade de melhorar a tensão mecânica na área interfacial entre a matriz polimérica e o agente de reforço. Isso resultará em melhorias das propriedades mecânicas do material (KLEMM et al., 2011).

5.3 ANÁLISE DE CICLO DE VIDA

5.3.1 Análise de inventário do sistema de extração de nanocristais de celulose bacteriana (NCCB) produzida em suco de caju.

A extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju pode ser dividida desde a produção das películas de celulose em três blocos principais: produção de CB, pré-tratamento e extração de NCCB (Figura 9). O inventário de cada processo por bloco é apresentado na Tabela 10.

A análise de inventário mostra que a etapa que tem maior consumo de energia no processo convencional e cenário I é a purificação das películas de CB, pois são realizadas em torno de 5 lavagens cada uma por 1 hora sob aquecimento em chapa. O maior consumo de água é verificado na etapa de diálise para todos os cenários, pertencente ao bloco de extração de NCCB, visto que é necessária, em média, 3 trocas de água de 2000 ml cada para que a suspensão fique com pH próximo a 7.

Analisando o inventário para o processo convencional e cenário I, percebemos que a etapa que tem o segundo maior consumo de água é a neutralização das películas, etapa pertencente ao bloco de purificação. Isso se deve ao fato de ser necessária uma grande quantidade de água para neutralizar as películas que saem da purificação básica. A etapa que tem o segundo maior consumo de energia é o cultivo estático, que pertence ao bloco de produção de CB. O elevado consumo de energia pode ser justificado pela utilização do fluxo no momento da retirada das películas de celulose bacteriana, do uso da BOD e principalmente, pelo processo de filtração do suco de caju que será utilizado para a suplementação.

Durante a etapa do cultivo estático, é gerado um efluente proveniente do meio fermentado que é composto por suco de caju, inóculo e nutrientes. Pode-se observar na Tabela 10 que o valor mais expressivo vem da análise de DQO. Isso se deve ao fato do efluente ser resultante de um processo que envolve uma grande quantidade de componentes oxidáveis, como carbono ou hidrogênio de hidrocarbonetos, nitrogênio (da peptona e extrato de levedura) e fósforo.

Para o cenário II, a etapa de maior consumo energético é o cultivo estático, devido à energia gasta na extração do suco de caju a partir dos pedúnculos. Ainda para o cenário II, a segunda etapa com maior consumo hídrico e energético é a centrifugação, pertencente ao

bloco extração de NCCB. Ela apresenta consumos consideráveis de água e de energia. Isso pode ser explicado pelo fato de serem executadas, em média, 3 centrifugações por suspensão de nanocristais, cada uma por 15 minutos.

Durante a etapa de centrifugação, é gerado um efluente que é composto pela água deionizada utilizada para centrifugar e lavar os nanocristais. Analisando a Tabela 10, pode-se observar que foi realizada uma análise de determinação de cloreto. Isso ocorreu porque o efluente gerado pós-centrifugação tem uma concentração elevada de cloreto proveniente da hidrólise combinada com ácido clorídrico e sulfúrico. As demais análises de efluentes não tiveram concentrações verificadas, visto que a maioria dos componentes como oxigênio, fósforo, carbono e nitrogênio foram eliminados nas etapas de purificação e hidrólise.

5.3.2 Avaliação de impactos do sistema de extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju.

A Figura 19 mostra a avaliação de impactos da extração de nanocristais de celulose bacteriana a partir do suco de caju em seu processo convencional, ou seja, purificação das películas de CB com NaOH 2%, além da hidrólise realizada com H₂SO₄ e HCl. Pode-se perceber pelo gráfico que os processos unitários mais impactantes para todas as categorias de impacto avaliadas foram a purificação das películas de CB e o cultivo estático.

Tabela 10 – Inventário referente à produção de 1 g de NCCB produzida em suco de caju

Produção de CB					Pré-Tratamento			Extração de NCCB		
Entradas	Unid.	Processo Convencional	Cenário I	Cenário II	Processo Convencional	Cenário I	Cenário II	Processo Convencional	Cenário I	Cenário II
Água	ml	142,14	95,30	164,65	4660,35	2974,80	163,50	17013,55	18890,66	9035,71
Caldo HS	ml	40,80	27,36	47,27						
Energia	kWh	1,247	0,84	1,44	1,78	1,15	1,15	0,12	0,71	0,54
Pré-Inóculo	ml	2,31	1,55	2,68						
Suco de Caju Suplementado	ml	427,97	287,80	495,74						
Inóculo	ml									
Peso total de CB	g				1,20	1,20	1,33	1,20	1,20	1,33
NaOH	g				131,92	75,80				
Peso total de CB autoclavada							1,33			
Peso total de CB purificada básica	g				2,40	2,40				
Ácido Acético	g				710,85	340,42				
HCl	g							27,70	28,63	31,57
H ₂ SO ₄	g							90,53	97,18	107,30
Solução Nanocristais	mL							955,61	981,14	1010,93
Saídas										
Pré-Inóculo	ml	2,31	1,55	2,68						
Inóculo	ml	69,48	46,59	80,48						
Suco de Caju Fermentado	ml	404,19	270,99	468,19						

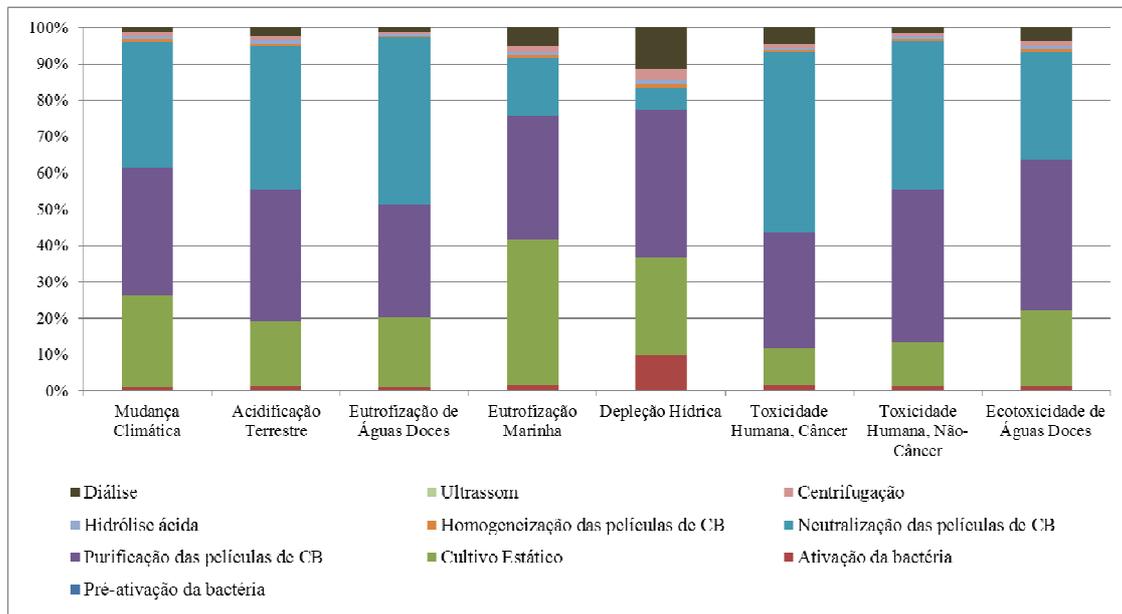
Fonte: Próprio autor.

Continuação

Produção de CB					Pré-Tratamento			Extração de NCCB		
Saídas	Unid.	Processo Convencional	Cenário I	Cenário II	Processo Convencional	Cenário I	Cenário II	Processo Convencional	Cenário I	Cenário II
Peso total de CB	g	1,20	1,20	1,33						
Peso total de CB purificada básica	g				1,20	1,20	1,33			
Peso total de CB purificada neutra	g				1,20	1,20				
Água	mL				3347,70	2842,38	30,80	15918,65	17767,12	8214,60
Peso total de CB trituradas	g						1,33	1,20	1,20	1,33
Solução de Nanocristais	mL							955,61	981,14	1010,93
Massa de Nanocristais	g							1,00	1,00	1,00
Saídas										
<i>Efluente</i>										
DQO	g	11,48	7,70	13,30				-	-	-
Fosfato	g	0,08	0,05	0,0932				-	-	-
Nitrato	g	0,02	0,01	0,0002				-	-	-
Amônia	g	0,01	0,05	0,008				-	-	-
Cloreto	g							22,3381	27,6039	18,513576

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 19 - Análise de impactos da extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju, processo convencional



Fonte: elaborada pelo autor

Os processos de purificação, neutralização e cultivo estático possuem as maiores porcentagens de impacto ambiental na maioria das categorias. A purificação apresenta porcentagens de representatividade de 35,3% em mudança climática, 36,5% em acidificação terrestre, 40,8% em depleção hídrica, 30,9% em eutrofização de águas doces, 34,1% em eutrofização marinha, 32,2% em toxicidade humana câncer, 41,6% em toxicidade humana não-câncer e 41,3% em ecotoxicidade de águas doces. O alto impacto verificado nesse processo se deve principalmente ao consumo de eletricidade e a utilização de hidróxido de sódio (NaOH) para a extração de restos meio de cultura que ficam agregados às películas de CB.

A etapa de neutralização também apresenta porcentagens significativas de impactos com 34,5% para mudança climática, 39,3% para acidificação terrestre, 46% para eutrofização de águas doces, 15,9% para eutrofização marinha, 5,9% para depleção hídrica, 49,7% para toxicidade humana câncer, 41,3% para toxicidade humana não-câncer e 29,7% para ecotoxicidade de águas doces. Os altos impactos com porcentagens verificadas acima de 30% podem ser explicados pelo uso do ácido acético para neutralizar os resíduos básicos da etapa de purificação.

Outra etapa que possui alto impacto ambiental, na maioria das categorias avaliadas, foi o cultivo estático que apresentou uma porcentagem de representatividade de 25% em mudança climática, 17,6% em acidificação terrestre, 26,6% em depleção hídrica,

19,2% em eutrofização de águas doces, 40,2% em eutrofização marinha, 9,8% em toxicidade humana câncer, 12,2% em toxicidade humana não-câncer e 20,9% em ecotoxicidade de águas doces. Esse alto impacto verificado justamente nesse processo se deve principalmente ao consumo de eletricidade e de água destilada. O consumo alto de eletricidade pode ser explicado pelo uso excessivo da bomba durante a filtração do suco de caju e a utilização do fluxo microbiológico durante a inoculação dos meios de cultura. Já o consumo de água destilada é explicado pela quantidade de água usada para diluir o suco de caju. Para as categorias de impacto de mudança climática e eutrofização marinha, a produção do cajueiro foi o processo que mais contribuiu com emissões, devido à mudança no uso da terra e uso de adubo orgânico.

Na categoria depleção hídrica, outras duas etapas também obtiveram impactos significativos. Na etapa de diálise (11,4%), a utilização de água destilada foi o processo que mais influenciou. Já na etapa de ativação da bactéria (9,9%), o consumo de energia elétrica foi o processo que mais contribuiu para esse resultado.

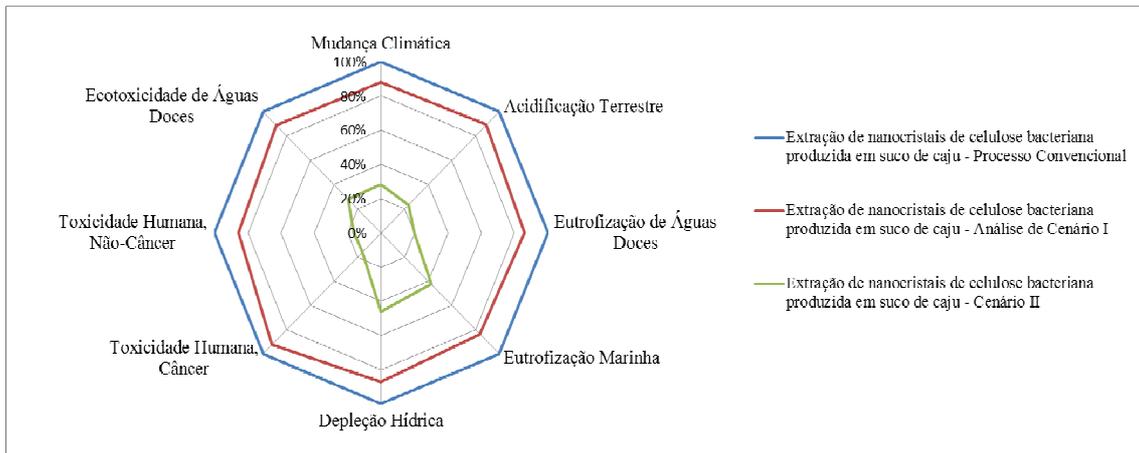
Percebeu-se que a produção de energia é um dos principais fatores responsáveis pelas emissões. A energia elétrica no nosso país resulta do mix de diferentes fontes, como queima de carvão mineral, hidroelétricas e gás natural. A matriz energética brasileira oriunda das usinas hidrelétricas representa 65,2%. Essa geração de energia, apesar de mostrar-se como uma fonte renovável, causa inúmeros impactos ambientais como a inundação de grandes áreas florestais e conseqüentemente, a deposição de matéria orgânica, ocasionando a liberação de gases de efeito estufa (CO_2 e CH_4). Representando apenas 3,2 % da matriz brasileira, a geração de energia a partir do carvão emite vários compostos de enxofre e nitrogênio, além de metais pesados e compostos tóxicos, tendo, assim, significativos impactos ambientais (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA, 2015).

5.3.3 Análise de cenários para a etapa de purificação de películas de CB

A etapa de purificação de películas de CBs apresentou-se com altos impactos devido ao alto consumo de energia e às excessivas lavagens das películas com NaOH 2%. Por isso, foram propostas duas análises de cenários. O cenário I foi a inserção do peróxido de hidrogênio de concentração 1% na primeira lavagem com NaOH 2% afim de diminuir a quantidade de lavagens básicas nas CBs. O cenário II foi a exclusão da purificação com NaOH, considerando apenas uma autoclavagem e lavagem das películas com água destilada.

Na figura 20, temos um gráfico radar mostrando a comparação entre o processo convencional e as duas análises de cenário.

Figura 20 – Comparação da ‘Extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida a partir do suco de caju – processo convencional’ com os cenários I e II



Fonte: elaborada pelo autor

Percebe-se que na análise de cenário I de purificação ocorre um ótimo decréscimo, em média, de 12,4% em todas as categorias de impactos em relação ao processo convencional. A inserção do peróxido de hidrogênio fez com que as excessivas lavagens de NaOH fossem diminuídas, favorecendo a uma diminuição do consumo de energia e na quantidade de NaOH utilizada e assim diminuindo consideravelmente as porcentagens referentes às categorias de impacto.

Na comparação referente a análise de cenário II, ocorre um decréscimo bastante representativo, em média, de 72,5% em todas as categorias de impactos em relação ao processo convencional. Esse resultado já era esperado, visto que com a exclusão da etapa de purificação com NaOH, houve uma queda nas porcentagens referentes aos impactos causados pelo consumo de NaOH e de energia na maioria das categorias de impacto.

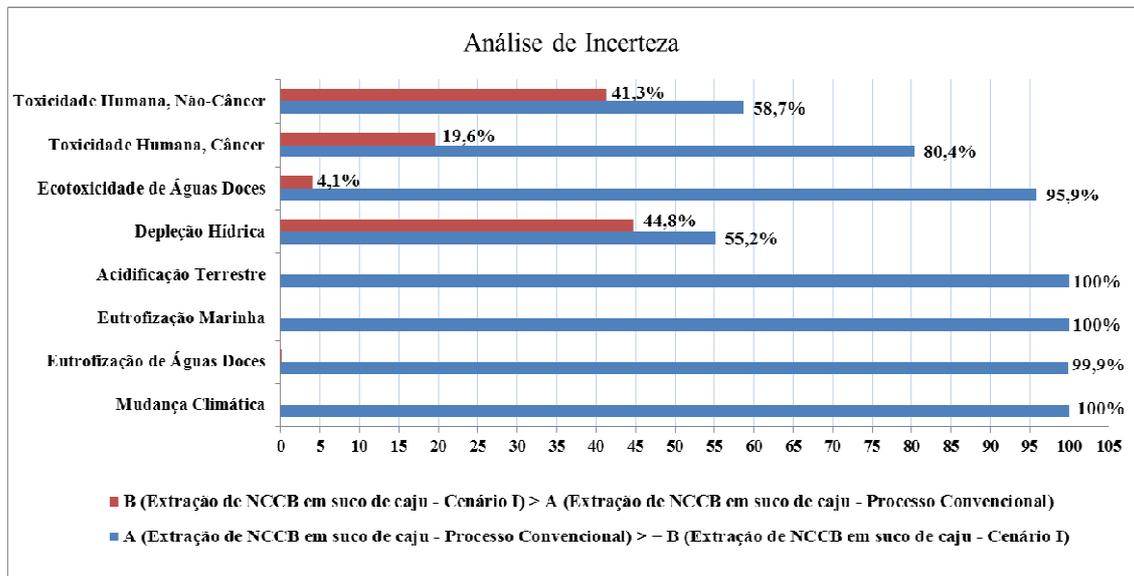
Por ter retirado a etapa de lavagens básicas, o que conseqüentemente, excluiu a contribuição da etapa de purificação de CB, observou-se que na etapa de neutralização, ocorreu aumentos de percentuais de impactos em todas as categorias avaliadas para essa etapa. Isso se deve principalmente ao consumo de ácido acético no processo de neutralização do resíduo básico proveniente da purificação das películas de CB. Porém, o ácido utilizado para neutralização é um ácido recuperado a partir de processos de extração organosolv.

Os cenários I e II tiveram reduções significativas em todas as categorias de impacto, com destaque para o cenário II que obteve a maior redução. Mesmo obtendo uma suspensão de nanocristais mais que escura que as demais, as nanoestruturas do cenário II tiveram razão de aspecto (21,9) e índice de cristalinidade (81,8 %) próximos e comparáveis aos nanocristais obtidos do processo convencional (23,2; 84,31%) e do cenário I (23,3; 83,74%). Portanto, os cenários I e II obtiveram resultados que os tornam aplicáveis como reforço em matrizes poliméricas, entre outras aplicações.

- **Análise de Incerteza**

Na análise comparativa de erro realizada entre o processo convencional de extração de NCCB produzida em suco de caju (A) e a análise de cenário I (B), $A \geq B$ (Figura 21), indica o percentual de vezes em que o processo convencional (A) resultou em impacto superior ou igual ao do cenário I (B), considerando os desvios padrões nos dados de entrada em 1000 simulações. Considerou-se significativa, a porcentagem com valor maior ou iguais a 95%. Observou-se que a análise de cenário I (B) obteve resultados significativamente melhores em cinco das categorias de impacto: acidificação terrestre, eutrofização marinha, eutrofização de águas doces, mudança climática e ecotoxicidade de águas doces. Para as demais categorias (depleção hídrica, toxicidade humana câncer, toxicidade humana não-câncer), embora os valores médios de impacto tenham sido superiores na produção convencional A, não se pode afirmar que ocorre diferença significativa entre os processos.

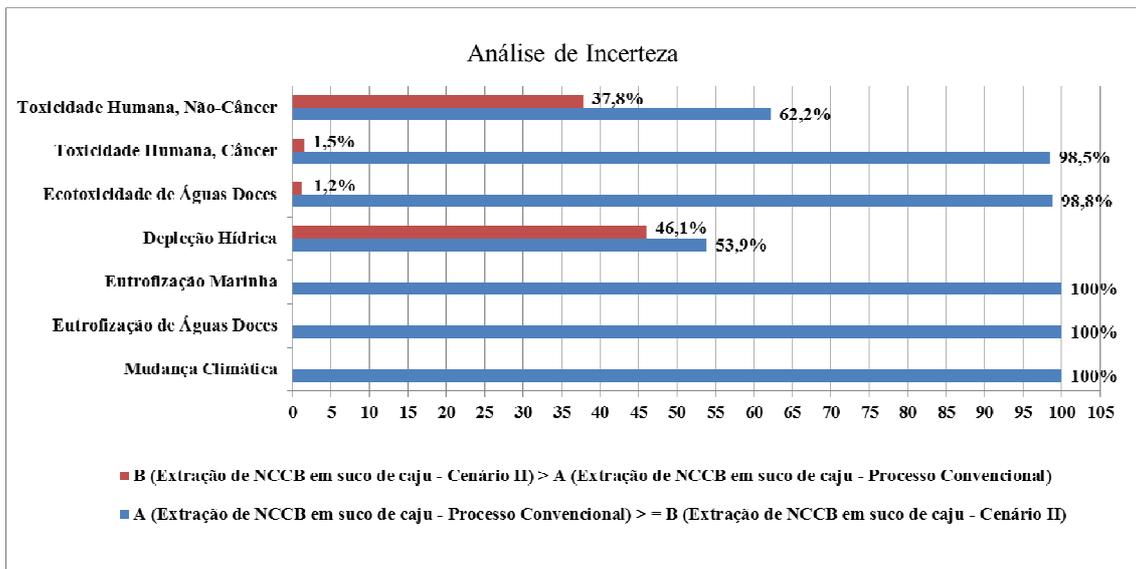
Figura 21 – Análise de erro entre o processo convencional e a análise de cenário I



Fonte: elaborada pelo autor

Na análise comparativa de erro realizada entre o processo convencional de extração de NCCB produzida em suco de caju (A) e a análise de cenário II (B), analisado na Figura 22, $A \geq B$ indica o percentual de vezes em que o processo convencional (A) resultou em impacto superior ou igual ao do cenário II (B), considerando os desvios padrões nos dados de entrada em 1000 simulações. Considerou-se significativa, a porcentagem com valor maior ou iguais a 95%. Observou-se que a análise de cenário II (B) obteve resultados significativamente melhores em cinco das categorias de impacto: acidificação terrestre, eutrofização marinha, eutrofização de águas doces, mudança climática e ecotoxicidade de águas doces. Para as demais categorias (depleção hídrica, toxicidade humana câncer e toxicidade humana não-câncer), embora os valores médios de impacto tenham sido superiores na produção convencional A, não se pode afirmar que ocorre diferença significativa entre os processos.

Figura 22 – Análise de erro entre o processo convencional e a análise de cenário II



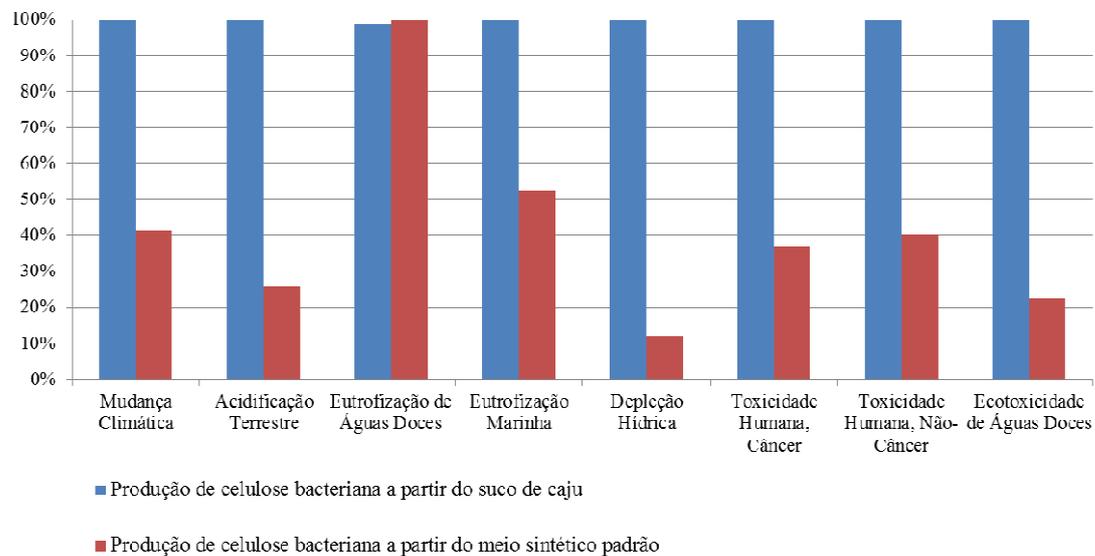
Fonte: elaborada pelo autor

5.3.4 Análise comparativa entre a produção de celulose bacteriana em meio sintético e em suco de caju.

As películas de celulose bacteriana podem ser produzidas a partir do meio sintético (HS) e do meio alternativo de suco de caju. Para a produção de películas de CB em meio sintético, Castro et al. (2016) identificou que o melhor cenário de purificação das películas era utilizando solução de NaOH 4% (m/v) mais H₂O₂ 1% na primeira lavagem da purificação. Já para a produção de películas de CB em suco de caju, Pinheiro et al. (2016) verificou que o melhor cenário de purificação das películas seria utilizando solução de NaOH 2% (m/v) mais H₂O₂ 1% na primeira lavagem da purificação.

Na Figura 23, temos a comparação dos dois melhores cenários de produção das películas produzidas em meio sintético e suco de caju baseados nos seus melhores métodos de purificação. Notou-se que a produção de películas de CB em suco de caju é mais impactante que a síntese de CB em meio sintético na maioria das categorias de impacto avaliadas.

Figura 23 – Análise comparativa entre a produção de CB em meio sintético e em suco de caju

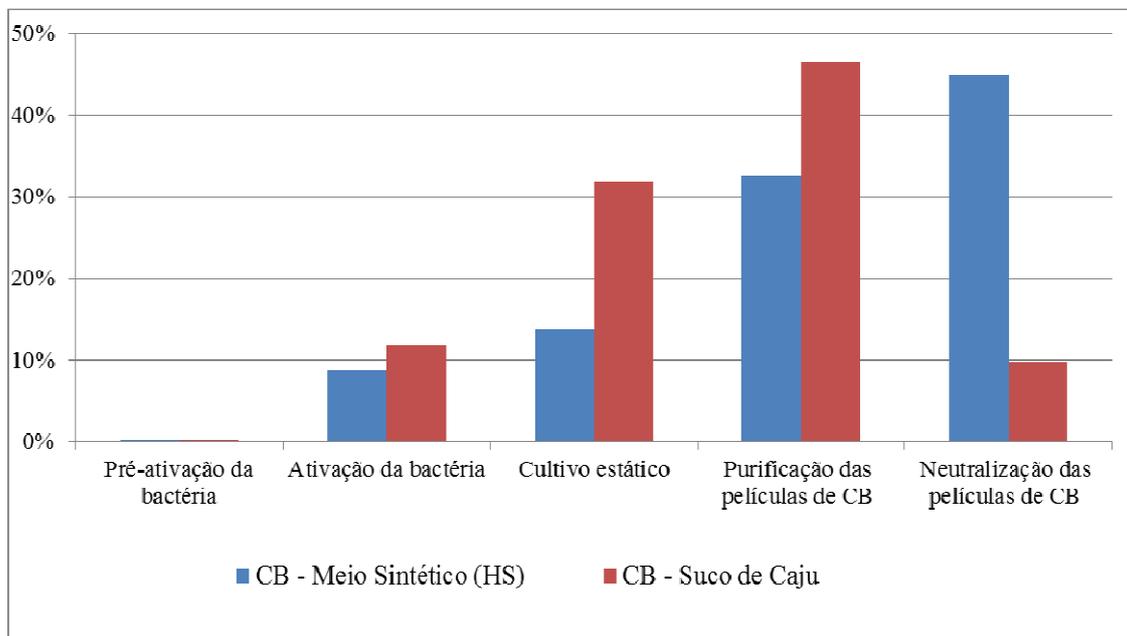


Fonte: elaborada pelo autor

Na categoria de impacto eutrofização de águas doces, a produção de CB por meio sintético foi mais impactante que a produção em suco de caju. Ao analisarmos o sistema separado de cada produção em relação a essa categoria, temos que a etapa de cultivo estático impacta mais na produção de CB no meio HS. Isso acontece porque a concentração de fosfato encontrada no efluente liberado da etapa de cultivo estático do meio HS tem maior concentração que no meio de cultura suco de caju.

Na categoria de impacto depleção hídrica, verifica-se a partir da Figura 24 que a síntese de CB por meio HS é menos impactante que a por meio de suco de caju na maioria das etapas. A quantidade de água utilizada e de purificações realizadas nas películas de CB provenientes da produção por suco de caju é maior que as realizadas no meio HS. Isso ocorre porque as películas de CB produzidas através do suco de caju necessitam de mais lavagens de purificação para remover células bacterianas e outros detritos remanescentes do processo de cultivo estático. Porém, a etapa de neutralização das películas de CB foi mais impactante em “CB – Meio Sintético (HS)”. Isso ocorreu porque foi utilizada uma maior quantidade de água para neutralizar as películas do respectivo cenário. Os impactos referentes a etapa “pré-ativação da bactéria” foram tão pequenos que não apareceram no gráfico.

Figura 24 – Análise comparativa entre a produção de CB em meio sintético e em suco de caju com foco na etapa de depleção hídrica



Fonte: elaborada pelo autor

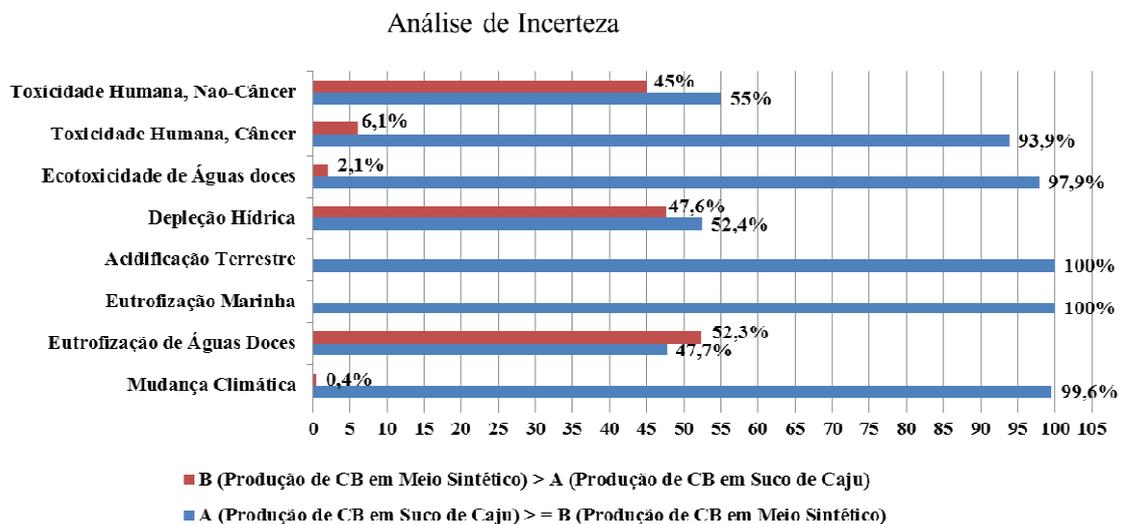
Na maioria das categorias de impacto avaliadas, a etapa de cultivo estático da produção de CB em suco de caju é mais impactante que na produção de CB por meio HS. Isso acontece porque a produção do suco de caju é levada em consideração nessa etapa. Os fatores, como, o consumo de água e energia gastos na extração do suco de caju através dos pedúnculos influenciam para que esse impacto seja maior.

Na análise comparativa de erro realizada entre produção de CB em suco de caju (A) e a produção de CB em meio sintético (B), analisado na Figura 25, $A \geq B$ indica o percentual de vezes em que a produção de CB por suco de caju resultou em impacto superior ou igual a produção de CB por meio sintético, considerando os desvios padrões nos dados de entrada em 1000 simulações. Considerou-se significativa, a porcentagem com valor maior ou iguais a 95%. Observou-se que a produção de CB em meio HS (B) obteve resultados significativamente melhores em quatro das categorias de impacto: mudança climática, eutrofização marinha, acidificação terrestre, ecotoxicidade de águas doces. Para as categorias toxicidade humana câncer e toxicidade humana não-câncer, embora os valores médios de impacto tenham sido superiores em A, não se pode afirmar que ocorra diferença significativa entre os processos. Para a categoria eutrofização de águas doces, embora os valores médios de impacto tenham sido superiores em B, não se pode afirmar também que ocorra diferença significativa entre os processos. Portanto, a produção de CB em suco de caju é mais

impactante que a de meio sintético quatro das oito categorias, considerando a significância de 95%.

A purificação do processo “CB-Meio Sintético (HS)” poderia ter utilizado o cenário de purificação estabelecido pela produção de CB em suco de caju, pois a única mudança foi a concentração de NaOH. Porém, a exclusão da etapa de purificação básica para a produção de CBs, quando estes forem destinadas à aplicações biomédicas, pois o grau de pureza das NCC pode não atender às exigências do setor.

Figura 25 - Análise de erro entre a produção de CB por meio de cultura sintético e meio de cultura alternativo suco de caju



Fonte: elaborada pelo autor

5.3.5 Análise comparativa entre os NCC obtidos de celulose bacteriana e outras fontes.

Comparou-se os resultados provenientes do melhor cenário de extração de nanocristais de celulose bacteriana a partir do suco de caju, cenário II, com resultados de outros processos de extração de NCC, obtidos a partir das seguintes fibras vegetais: casca do coco verde (NASCIMENTO et al. 2016b) e fibras provenientes da prensagem do mesocarpo do dendê (FPMD) (FREITAS et al., 2016). Os dois processos de obtenção de NCC proveniente de fibras vegetais foram avaliados ambientalmente através do método ReCiPe hierárquico midpoint, tornando possível esta comparação.

Na Tabela 11, pode-se verificar um maior impacto ambiental do cenário II de extração de nanocristais de CB em relação ao de extração de NCC de fibras de dendê por

categoria ambiental, observa-se que para a maioria das categorias de impacto ambiental, a extração de NCC de fibra de dendê teve melhor desempenho, ou seja, menor impacto que o cenário II. Isso deve ao fato da etapa de cultivo estático ter elevados impactos ambientais na maioria das categorias de impacto avaliadas. Essa etapa contempla o processo de extração do suco de caju e a produção dos pedúnculos no campo, contribuindo com alto consumo de energia elétrica e de água. Além disso, o cultivo estático apresenta valores expressivos na maioria dos resultados da análise de efluentes, contribuindo assim para as categorias de eutrofização marinha e eutrofização de águas doces terem maiores impactos no cenário II. Porém, na categoria de mudança climática e acidificação terrestre, a extração de NCC a partir de FPMD apresentou maiores impactos que o cenário II. Isso se deve ao pré-tratamento utilizado por Freitas et al (2016) para as FPMD que requer o processo químico de branqueamento para remoção de lignina e hemicelulose. Esta etapa tem elevados impactos ambientais nessas duas categorias de impacto mencionadas.

Tabela 11 – Comparação do melhor cenário de extração de nanocristais de CB produzida em suco de caju (Cenário II) com o processo de extração de NCC a partir de FPMD

Categoria	Unidade	Cenário II	FREITAS et al., 2016
Mudança Climática	kg CO ₂ eq	4,79.10 ⁻¹	5,47.10 ⁻¹
Eutrofização de Águas Doces	kg P eq	1,5.10 ⁻⁴	1,1.10 ⁻⁴
Eutrofização Marinha	kg N eq	31,8.10 ⁻⁵	8,9.10 ⁻⁵
Acidificação Terrestre	kg SO ₂ eq	1,3.10 ⁻³	1,6.10 ⁻³
Depleção Hídrica	m ³	5,6.10 ⁻²	1,44.10 ⁻²

Fonte: elaborada pelo autor

Para a extração de NCC a partir das fibras da casca do coco verde, foram considerados para comparação os dois melhores cenários do estudo de Nascimento et al. (2016b), que foi a obtenção de NCC por hidrólise ácida com H₂SO₄ 43,2% (m/m) (Cenário I) e por ultrassom de alta intensidade (Cenário IV). Na Tabela 12, o cenário II do presente

estudo mostrou-se mais impactante na maioria das categorias de impacto. A etapa de cultivo estático contribui novamente para o Cenário I de Nascimento et al. (2016b) ser menos impactante que o cenário II do presente estudo em todas as categorias de impacto, exceto depleção hídrica. Para o cenário IV, a ausência da etapa de hidrólise no cenário de extração de NCC da casca de coco verde justifica esse fato, pois o processo de extração dos nanocristais foi essencialmente físico baseado em ultrassonicação. Esse processo poderia ser empregado para obtenção de NCCB, uma vez que a etapa de obtenção de nanocristais foi física, trazendo menores consumos de energia e água, assim como o menor consumo de insumos.

Tabela 12 – Comparação do melhor cenário de extração de nanocristais de CB produzida em suco de caju (Cenário II) com os melhores cenários de extração de NCC a partir do coco

Categoria	Unidade	Cenário II	NASCIMENTO et al., 2016b – Cenário I	NASCIMENTO et al., 2016b – Cenário IV
Mudança Climática	kg CO ₂ eq	0,479	0,222	0,249
Eutrofização de Águas Doces	kg P eq	15.10 ⁻⁵	6,98.10 ⁻⁵	5,86.10 ⁻⁵
Eutrofização Marinha	kg N eq	31,8.10 ⁻⁵	4,22.10 ⁻⁵	3,23.10 ⁻⁵
Acidificação Terrestre	kg SO ₂ eq	12,96.10 ⁻⁴	8,81.10 ⁻⁴	4,93.10 ⁻⁴
Depleção Hídrica	m ³	0,056	3,5	5,52

Fonte: elaborada pelo autor

6 CONCLUSÕES

Foi possível obter e caracterizar as suspensões de nanocristais a partir das celuloses bacterianas (NCCB) produzidas em suco de caju, considerando diferentes cenários com e sem a etapa de purificação. As suspensões de NCC de todos os cenários e do método convencional tiveram bons índices de cristalinidade que variaram entre 81 a 84%, apresentaram-se estáveis (potencial zeta entre -62/-35 mV) e mostraram-se estáveis termicamente (T_{Onset} entre 228°C e 318°C). Todos os nanocristais apresentaram razões de aspectos (L/D) satisfatórias e com valores bem próximos entre si. Portanto, é viável a retirada da etapa de purificação convencional (NaOH 2%) do processo de extração de nanocristais de celulose bacteriana.

Os nanocristais de CB obtidos através da metodologia convencional e seus respectivos cenários apresentam potencial para serem empregados como agentes de reforço em matrizes poliméricas. Contudo, os NCCB₁ e NCCB₂, obtidos de películas de CB purificadas, podem ser mais indicados no reforço de materiais destinados a área biomédica, farmacológica e alimentícia. Enquanto, os NCCB₃ obtidos a partir de uma CB não purificada podem ser direcionados a outras aplicações menos nobres como reforço em materiais automobilísticos, vestuários, estruturas de engenharia civil, entre outras.

Utilizou-se a avaliação de ciclo de vida (ACV) para identificar processos unitários críticos em termos ambientais e análise de cenários com o intuito de produzir NCCB com o menor impacto possível. As etapas que se apresentaram mais impactantes foram cultivo estático e a purificação e a neutralização das películas. Esses processos são influenciados principalmente pelo consumo de eletricidade, de água destilada, de hidróxido de sódio e de ácido acético.

A análise de cenários alternativos de purificação mostrou que o melhor desempenho ambiental foi obtido no cenário II, que removeu o processo de purificação química, sem acarretar perdas na qualidade do NCCB produzido. O cenário proposto mostrou-se menos impactante em todas as categorias de impacto avaliadas. Isso demonstra que a exclusão da etapa de purificação trouxe melhorias ambientais para o processo e pode ser considerada como processo convencional tanto na produção de NCCB de suco de caju como de meio HS.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, Eldho *et al.* A brief review on extraction of nanocellulose and its application. **Carbohydrate Polymers**, v. 4, n. 1, p. 81-87, 2013.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 763-765, 2003.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA) E WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association: Washington, DC, USA, 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 14040**: Gestão ambiental - Avaliação do ciclo de vida - Princípios e estrutura. Rio de Janeiro: ABNT, 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 14044**: Gestão ambiental – Avaliação do ciclo de vida – Requisitos e orientações. 2009.
- ARAKI, J.; WADA, M.; & KUGA; S. Steric stabilization of a cellulose microcrystal suspension by poly(ethylene glycol) grafting. **Langmuir**, v. 17, p. 21-27, 2001.
- ARAKI, J.; WADA, M.; KUGA, S.; OKANO, T. Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. **Colloids and Surfactants A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 142, p. 75–82, 1998.
- ARVIDSSON, Rickard; NGUYEN, Duong; SVANSTRÖM, Magdalena. Life cycle assessment of cellulose nanofibrils production by mechanical treatment and two different pretreatment processes. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 11, p. 6881-6890, 2015
- BAJPAI, P. **Environmentally Benign Approaches for Pulp Bleaching**. Amsterdam: Elsevier, 2005, v.1.
- BARUD, H. G. O. et al. A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 406-420, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.059>>. Acesso em: 15 ago. 2016.
- BETIKU, Eriola; EMEKO, Harrison A.; SOLOMON, Bamidele O. Fermentation parameter optimization of microbial oxalic acid production from cashew apple juice. **Heliyon**, v. 2, n. 2, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00082>>. Acesso em: 15 ago. 2016.
- BIPM. Guide to the expression of uncertainty in measurement - Supplement 1: Numerical methods for the propagation of distributions - Temporary ISO Guide 9998. **BIPM/JCGM-WG1-SC1-N10**. 2004
- BORYSIK, Sławomir; GARBARCZYK, Józef. Applying the WAXS method to estimate the supermolecular structure of cellulose fibres after mercerisation. **Fibres and Textiles in Eastern Europe**, v. 11, n. 5, p. 104-106, 2003.

BRINCHI, L. *et al.* Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 154-169, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.033>>.0144-8617>. Acesso em: 15 ago. 2016.

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

BUENO, Cristiane. **Avaliação do ciclo de vida na construção civil: análise de sensibilidade**. 2014. 298f. Tese (Doutorado em Arquitetura e Urbanismo) – Programa de Pós-graduação e Arquitetura e Urbanismo, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2014.

CAMPANO, Cristina *et al.* Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. **Cellulose**, v. 23, n. 1, p. 1-35, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10570-015-0802-0>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

CARNEIRO, M. J. M. **Produção e caracterização de celulose bacteriana obtida a partir do suco de caju**, 2015, 68f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Bacharelado) – Universidade Federal do Ceará, 2015.

CASTRO, Ana L. A.; BARROS, Matheus O.; FIGUEIRÊDO, Maria C. B. Avaliação do ciclo de vida da produção de celulose bacteriana. In: CONGRESSO BRASILEIRO EM GESTÃO DO CICLO DE VIDA, 5., 2016, Fortaleza. **Anais Completo...**Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016. p. 87-93.

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

CHAWLA, P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. Microbial cellulose: Fermentative production and applications (Review). **Food Technology and Biotechnology**, v. 47, p. 107-124, 2009.

CHENG, Kuan-Chen; CATCHMARK, Jeff M; DEMIRCI, Ali. Enhanced production of bacterial cellulose by using a biofilm reactor and its material property analysis. **Journal of biological engineering**, v. 3, p. 12, 2009. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2724407&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

CHERUBINI, E.; RIBEIRO, P.T. **Diálogos Setoriais Brasil e União Europeia: desafios e soluções para o fortalecimento da ACV no Brasil**. Brasília: Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia, 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_08_23_10_41_59_castanha_de_caju_julho_2016.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2017.

CORRÊA, A. C.; TEIXEIRA, E. M.; PESSAN, L. A.; MATTOSO, L. H. C. Cellulose nanofibers from curaua fibers. **Cellulose**, v. 17, p. 1183-1192, 2010.

DHAR, Prodyut *et al.* Acid functionalized cellulose nanocrystals and its effect on mechanical, thermal, crystallization and surfaces properties of poly (lactic acid) bionanocomposites films: A comprehensive study. **Polymer**, v. 101, p. 75-92, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386116306851>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

DUARTE, Éden B.; CHAGAS, Bruna S.; ANDRADE, Fábida K., BRÍGIDA, Ana I. S.; BORGES, Maria F.; MUNIZ, Celli R.; FILHO, Men de Sá M. Souza; MORAIS, João Paulo S.; FEITOSA, Judith P. A.; ROSA, Morsyleide Freitas. Production of hydroxyapatite–bacterial cellulose nanocomposites from agroindustrial wastes. **Cellulose**, v. 22, n.5, p. 3177-3187, 2015.

DUFRESNE, Alain. Nanocellulose: A new ageless bionanomaterial. **Materials Today**, v. 16, n. 6, p. 220-227, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2013.06.004>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

DUFRESNE, Alain. **Nanocellulose**: From nature to high performance tailored materials, Walter de Gruyter, 2012.

DUFRESNE, A.; CAVAILLE, J. Y.; HELBERT, W. Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part II. Effect of processing and modelling. **Polymer Composites**, v. 18, p.198-210, 1997.

EC-JRC - JOINT RESEARCH CENTRE OF THE EUROPEAN COMMISSION. General guide for Life Cycle Assessment - Detailed guidance. ILCD Handbook -International **Reference Life Cycle Data System**, European Union, 2010.

ENGSTRÖM, A.C.; EK, M.; HENRIKSSON, G. Improved accessibility and reactivity of dissolving pulp for the viscose process: Pretreatment with monocomponent endoglucanase. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 2027-2031, 2006.

ELANTHIKKAL, Silviya *et al.* Cellulose microfibrils produced from banana plant wastes: Isolation and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 852-859, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.12.043>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

ELAZZOUI-HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J.; HEUX, L.; DUBRUEIL, F.; ROCHAS, C. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acidhydrolysis of native cellulose. **Biomacromolecules**, v. 9, p. 57-65, 2008.

ESA, Faezah; TASIRIN, Siti Masrinda; RAHMAN, Norliza Abd. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 113-119, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210784314000187>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

ESPINOSA, Sandra Camarero *et al.* Isolation of Thermally Stable Cellulose Nanocrystals by Phosphoric Acid Hydrolysis. **Biomacromolecules**, v. 14, n.4, p. 1223-1230, 2013.

- FANG, Lin; CATCHMARK, Jeffrey M. Characterization of cellulose and other exopolysaccharides produced from *Gluconacetobacter* strains. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 663-669, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.028>>. Acesso em: 15 ago. 2016.
- FAVORA NATA DE COCO. Disponível em: <<http://rasasayang.co.id/product-category/favora-nata-de-coco/>>. Acessado em: 12 jul. 2016.
- FIGUEIRÊDO, M. C. B. et al. Environmental assessment of tropical perennial crops: the case of the Brazilian cashew. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 131-140, jan. 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652615007490>>. Acesso em: 15 ago. 2016.
- FILSON, P.B.; DAWSON-ANDOH, B.E. Sono-Chemical Preparation of Cellulose Nanocrystals from Lignocellulose Derived Materials. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2259-2264, 2009.
- FINNVEDEN, Göran *et al.* Recent developments in Life Cycle Assessment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 1, p. 1-21, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.06.018>>.0301-4797. Acesso em: 15 ago. 2016.
- FONTES, Cláudia P M L *et al.* Substitution of yeast extract by ammonium sulfate for mannitol production in cashew apple juice. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 69-75, 2013.
- FONTES, C. P. M. L.; HONORATO, T. L.; RABELO, M. C.; RODRIGUES, S. Kinetic study of mannitol production using cashew apple juice as substrate. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 32, p. 493-499, 2009.
- FREITAS DE OLIVEIRA, Darlane Wellen *et al.* Kinetic study of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* LAMI005 grown in clarified cashew apple juice. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 34-43, 2013.
- FREITAS, Thairianny de Sousa Xavier. **Avaliação do ciclo de vida da produção de nanocristais de celulose a partir das fibras da prensagem do mesocarpo do dendê**, 2016, 75f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, 2016.
- FREITAS, Thairianny de S.X.F.; SOUZA, Nágila F.; PINHEIRO, José A.; ANDRADE, Edilene P.; SANTOS, Tayane L.; ROSA, Morsyleide F.; FIGUEIRÊDO, Maria C. B. Avaliação do ciclo de vida da produção de nanocristais de celulose a partir das fibras da prensagem do mesocarpo do dendê. In: CONGRESSO BRASILEIRO EM GESTÃO DO CICLO DE VIDA, 5., 2016, Fortaleza. **Anais Completo...**Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016. p. 321-328.
- GAVANKAR, Sheetal; SUH, Sangwon; KELLER, Arturo F. Life cycle assessment at nanoscale: Review and recommendations. **International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 17, n. 3, p. 295-303, 2012.

GEA, S.; REYNOLDS, C. T.; ROOHPUR, N.; et al. Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a twostep purification process. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 9105-9110, 2011.

GEORGE, J.; SAJEEVKUMAR, V. A.; KUMAR, R.; RAMANA, K. V.; SABAPATHY, S.N.; BAWA, A. S. Enhancement of thermal stability associated with the chemical treatment of bacterial (*Gluconacetobacter xylinus*) cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 108, p. 1845-1851, 2008.

GOEDKOOP, M.; HEIJUNGS, R.; HUIJBREGTS, M.; SCHRYVER, A. D.; STRUIJS, J.; ZELM, R. V. ReCiPe 2008, A Life Cycle Impact Assessment Method Which Comprises Harmonised Category Indicators at the Midpoint and the Endpoint Level. 2009, first ed. **Report I**. Characterisation. Disponível em: <http://www.pre-sustainability.com/download/misc/ReCiPe_main_report_final_27-02-2009_web.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.

GOEDKOOP, M.; OELE, M.; VIEIRA, M.; LEIJTING, J.; PONSIOEN, T.; MEIJER, E. **SimaPro Tutorial**, 2016. Disponível em: <<https://www.pre-sustainability.com/download/SimaPro8Tutorial.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

GRIFFIN, A.E. & N.S. CHAMBERLIN. Relation of ammonia nitrogen to breakpoint chlorination Amer. **J. Pub. Health**, v. 31, p.803, 1941.

GUPTA, M.K.; Johnson, D.C. **Bacterial cellulose having enhanced brightness properties**, 1991. Disponível em: <<http://www.wipo.int/patentscope/search/en/WO1991016445>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

HAAFIZ, M. K Mohamad *et al.* Isolation and characterization of cellulose nanowhiskers from oil palm biomass microcrystalline cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 119-125, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.055>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochemical Journal**, v. 58, p. 345-352, 1954.

HETHERINGTON, A. C.; BORRION, A.L.; GRIFFITHS, O.G.; MCMANUS, F.C. Use of LCA as a development tool within early research: challenges and issues across different sectors. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 19, p. 130-143, 2014.

HONORATO, T.L.; RODRIGUES, S. Dextranucrase stability in cashew apple juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, p. 105-110, 2010.

HUANG, Yang *et al.* Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 1-30, 2014.

HUBER, Tim *et al.* A critical review of all-cellulose composites. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 3, p. 1171-1186, 2012..

HUIJBREGTS, M. et al. **USEtox™ User manual**. fev. 2010.

HUNGUND, B. S.; GUPTA, S. G. Improved Production of Bacterial Cellulose From *Gluconacetobacter Persimmonis* GH-2. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v.2, n. 5, p. 127-133, 2010.

HUTCHENS, S. A. *et al.* Statistical analysis of optimal culture conditions for *Gluconacetobacter hansenii* cellulose production. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 175-180, 2007.

IOELOVICH, Michael. **Cellulose as a nanostructured polymer**: a short review, v. 3, n. 1999, p. 1403-1418, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14040**: environmental management - Life cycle assessment - Principles and framework. Genebra: ISO, 2009a.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14044**: environmental management - Life cycle assessment - Requirements and guidelines. Genebra: ISO, 2009b.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 80004-1**: Nanotechnologies – vocabulary – Part 1: Core terms. Switzerland: ISO, 2010

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4. Ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

ISO 14044: 2006. Environmental management - Life cycle assessment - Requirements and guidelines. International Organization for Standardization. Switzerland, 2008.

JIPA, I. M.; GUZUN, A. S.; STROESCU, M. Controlled release of sorbic acid from bacterial cellulose based mono and multilayer antimicrobial films, **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 400-406, 2012.

KESHK, S. M. A. S., SAMESHIMA, K. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. **African Journal of Biotechnology**, v.4, p. 478-482, 2005.

KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, p. 5438-5466, 2011.

KLOCK, Umberto *et al.* **Química da Madeira**. 3.ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005.

KLÖPFER, W. The Hitch Hike's Guide to LCA - An orientation in LCA methodology and application. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 11, n. 2, p. 142-142, 2006.

KONGRUANG, Sasithorn. Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* strains from agricultural waste products. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 148, n. 1-3, p. 245-256, 2008.

KOUTINAS, Athanasios A.; SYPSAS, Vasilios; KANDYLIS, Panagiotis; MICHELIS, Andreas; BEKATOROU, Argyro; et al. Nano-Tubular Cellulose for Bioprocess Technology Development. **PLoS ONE**, v.7, n. 4, p. 1-9. Disponível em: <doi:10.1371/journal.pone.0034350>. Acesso em: 15 ago. 2016.

KULKARNI, P. K.; DIXIT, S. A.; SINGH, U. B. Evaluation of bacterial cellulose produced from *Acetobacter xylinum* as pharmaceutical excipient. **American Journal of Drug Discovery and Development**, v.2, n.2, p. 72-86, 2012.

KUROSUMI, Akihiro *et al.* Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 333-335, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.009>.0144-8617>. Acesso em: 15 ago. 2016.

LAVOINE, Nathalie *et al.* Microfibrillated cellulose - Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 2, p. 735-764, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.026>.0144-8617>. Acesso em: 15 ago. 2016.

LEE, Koon-Yang; QUERO, BLAKER, Jonny J.; HILL, Callum A. S.; EICHHORN, Stephen J.; BISMARCK, Alexander. Surface only modification of bacterial cellulose nanofibers with organic acids. **Cellulose**, v.18, n. 3, p. 595-605, 2011.

LI, Qingqing *et al.* Nanocellulose life cycle assessment. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 1, n. 8, p. 919-928, 2013.

LIMA, Lais R.; SANTOS, Daniele B.; SANTOS, Molíria V.; BARUD, Hernane S.; HENRIQUE, Mariana A.; PASQUINI, Daniel; PECORARO, Edison; RIBEIRO, Sidney J. L. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1-8, 2015.

LIMA, H. L. S. **Avaliação do potencial do líquido de sisal e do suco de caju para a produção de celulose bacteriana**, 2014, 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, 2014.

LIN, Dehui *et al.* Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. **Bioresource Technology**, v. 151, p. 113–119, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.052>. Acesso em: 5 ago. 2016.

LIN, Shin-Ping *et al.* Isolation and identification of cellulose-producing strain *Komagataeibacter intermedius* from fermented fruit juice. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 827-833, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.032>. Acesso em: 17 ago. 2016.

- LIU, Dagang et al. Starch composites reinforced by bamboo cellulosic crystals. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 7, p. 2529-2536, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.058>>. Acesso em: 15 jul. 2016.
- LU, Qilin *et al.* Preparation and characterization of cellulose nanocrystals via ultrasonication-assisted FeCl₃-catalyzed hydrolysis. **Cellulose**, v.21, n.5, p. 3497-3506, 2014.
- MENDES, Natalia C.; BUENO, Cristiane; OMETTO, Aldo R. Avaliação de impacto do ciclo de vida: revisão dos principais métodos **Production**, v.26, n.1, p. 1-16, 2015.
- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.
- MOHITE, Bhavna V.; PATIL, Satish V. Physical, structural, mechanical and thermal characterization of bacterial cellulose by *G. hansenii* NCIM 2529. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, n. 1, p. 132-141, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.012>>. Acesso em: 15 ago. 2016.
- MOIGNE, Nicolas Le; NAVARD, Patrick. Dissolution mechanisms of wood cellulose fibres in NaOH-water. **Cellulose**, v. 17, n. 1, p. 31-45, 2010.
- NASCIMENTO, Eligenes Sampaio Do; LIMA, Helder Levi Silva; BARROSO, Maria Karolina de Araújo; BRÍGIDA, Ana Iraidy Santa Brígida; ANDRADE, Fábila Karine; BORGES, Maria de Fátima; MORAIS, João Paulo Saraiva; MUNIZ, Celli Rodrigues; ROSA, Morsyleide Freitas. Mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.)) Extract is an alternative nutrient source for bacterial cellulose production. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 10, n.1, p. 63-70, 2016.
- NASCIMENTO, Diego Magalhães Do *et al.* A comprehensive approach for obtaining cellulose nanocrystal from coconut fiber. Part I: Proposition of technological pathways. **Industrial Crops & Products**, v. 93, p. 6--75, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.078>>. Acesso em: 15 ago. 2016.
- NASCIMENTO, Diego Magalhães Do *et al.* A comprehensive approach for obtaining cellulose nanocrystal from coconut fiber. Part II: Environmental assessment of technological pathways. **Industrial Crops and Products**, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.063>>. Acesso em: 1 ago. 2016.
- NASCIMENTO, Diego Magalhães Do et al. A novel green approach for the preparation of cellulose nanowhiskers from white coir. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 456-463, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.053>>. Acesso em: 14 ago. 2016.
- NECHYPORCHUK, Oleksandr; BELGACEM, Mohamed Naceur; BRAS, Julien. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. **Industrial Crops and Products**, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016>>. Acesso em: 15 set. 2016.
- NICHOLS, M. Starr; FOOTE E. Marian. Distillation of free ammonia from buffered solutions. **Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition**, v.3, n.3, p. 311-313, 1931.

PÄÄKKÖ, M.; ANKERFORS, M.; KOSONEN, H.; NYKÄNEN, A.; AHOLA, S.; ÖSTERBERG, M.; RUOKOLAINEN, J.; LAINE, J.; LARSSON, P.T.; IKKALA, O.; LINDSTRÖM, T. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 1934-1941, 2007.

PALIN, A.T.. A study of the chloro derivatives of ammonia and related compounds, with special reference to their formation in the chlorination of natural and polluted waters. **Water Water Eng.** v.54, p.151-159, 1950.

PANDEY, K. K. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. **Journal Applied Polymers Science**, v. 71, p. 1969-1975, 1999.

PANDEY, K. K.; PITMAN, A. J. Examination of the lignin content in a softwood and a hardwood decayed by a brown-rot fungus with the acetyl bromide method and Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2340-2346, maio, 2004.

PAVIA, D.; LAMPMAN, G.; KRIZ, G.; VYVYAN, J. **Introduction to spectroscopy**, [S.l.]: Cengage Learning, 2008.

PAWELZIK, P.; CARUS, M.; HOTCHKISS, J.; NARAYAN, R.; SELKE, S.; WELLISCH, M.; WEISS, M.; WICKE, B.; PATEL, M.K. Critical aspects in the life cycle assessment (LCA) of bio-based materials – Reviewing methodologies and deriving recommendations. **Resources, Conservation and Recycling**, v.18, p. 211-228, 2013.

PATI, Paramjeet; MCGINNIS, Sean; VIKESLAND, Peter J. Life Cycle Assessment of “Green” Nanoparticle Synthesis Methods. **Environmental Engineering Science**, v. 31, n. 7, p. 410–420, 2014. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ees.2013.0444>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

PETERSSON, L.; KVIEN, I.; OKSMAN, K. Structure and Thermal Properties of Poly (Lactic Acid)/Cellulose Whiskers Nanocomposite Materials. **Composites Science and Technology**, v. 67, p. 2535-2544, 2007.

PHISALAPHONG, M.; CHIAOPRACOBKIJ, N. **Bacterial Nanocellulose: A Sophisticated Multifunctional Material**. [S.l.]: CRC Press, cap. 7, p. 143-156, 2012.

PING, L.; HSIEH, Y. L. Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 564–573, 2012.

PINHEIRO, A. D. T. **Viabilidade técnica e econômica da produção de etanol a partir do suco de caju por *Saccharomyces cerevisiae* floculante**, 2015, 115f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, 2015.

PINHEIRO, José A.; SOUZA, Nágila F.; CASTRO, Ana L. A.; BARROSO, Maria K. A.; FIGUÊIREDO, Maria C. B.; ROSA, Morsyleide F. Avaliação ambiental da produção de celulose bacteriana a partir do suco de caju. In: CONGRESSO BRASILEIRO EM GESTÃO DO CICLO DE VIDA, 5., 2016, Fortaleza. **Anais Completo...**Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016. p. 445-451.

POUCHERT, C. J. The Aldrich library of infrared spectra. **Aldrich Chemical**, p. 591-596, 1971.

PRADEL, Marilys *et al.* From waste to added value product: towards a paradigm shift in Life Cycle Assessment applied to wastewater sludge – A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 131, p. 60–75, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652616305406>>.

QUEIROZ, A.G.; FRANÇA, L.; PONTE, M.X. The life cycle assessment of biodiesel from palm oil (“dendê”). **Amazon Biomass and Bioenergy**, v.36, p.50-59, 2012.

RAMOS, L. S. N; LOPES, J. B.; FIGUEIREDO, A. V.; FREITAS, A. C.; FARIAS, L. A.; SANTOS, L.S.; SILVA, H. O. Polpa de caju em rações para frangos de corte na fase final: desempenho e característica da carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 804-810, 2006.

REBOUILLAT, Serge; PLA, Fernand. State of the Art Manufacturing and Engineering of Nanocellulose: A Review of Available Data and Industrial Applications. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 4, n. 2, p. 165-188, 2013. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=29869>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

RECOUVREUX, Derce de Oliveira Souza. **Desenvolvimento de novos biomateriais baseados em celulose bacteriana para aplicações biomédicas e de engenharia de tecidos**, 2008, 156f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

ROMAN, M.; WINTER, W. T. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behaviour of bacterial cellulose. **Biomacromolecules**, n. 5, p. 1671–1677, 2004.

ROSENBAUM, R. K.; BACHMANN, T.M.; GOLD, L.S.; HUIJBREGTS, A.J.; JOLLIET, O.; JURASKE, R.; KOEHLER, A.; LARSEN, H.F.; MACLEOD, M.; MARGNI, M.; MCKONE, T.E.; PAYET, J.; SCHUHMACHER, M.; MEENT, D. v.; HAUSCHILD, M. Z. USEtox—the UNEP-SETAC toxicity model: recommended characterisation factors for human toxicity and freshwater ecotoxicity in life cycle impact assessment. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 13, p.532-546, 2008.

ROY, Poritosh *et al.* A review of life cycle assessment on some food products. **Journal of Food Engineering** v. 90, n. 1, p. 1-10, 2009.

SADEGUIFAR, Hasa; FILPPONEN, Ilari; CLARKE, Sarah P.; BROUGHAM, Dermot F.; ARGYROPOULOS, Dimitris S. Production of cellulose nanocrystals using hydrobromic acid and click reactions on their surface **Journal of Materials Science**, v. 26, n.22, p. 7344-7355, 2011.

SALLEY, B.A., J.G. BRADSHAW & B.J. NEILSON. Results of comparative studies of preservation techniques for nutrient analysis on water samples. [S.l.]: **Virginia Institute of Marine Science**, 1986

SHAH, Nasrullah *et al.* Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1585-1598, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.018>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

SHI, Zhijun *et al.* Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 539-545, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.012>>. Acesso em: 1 ago. 2016.

SHMULSKY, R.; JONES, P. D. 2011. **Forest Products and Wood Science**. John Wiley & Sons. <<http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-081382074X.html>>. Acesso em: 5 ago. 2016.

SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN, A.E.; CONRAD, C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, 786-794, 1959.

SILVA, Deusanilde de Jesus; D'ALMEIDA, Maria Luiza Otero. Nanocristsais de celulose. **O Papel Brazil** v. 70, n. 7, p. 34-52, 2009.

SILVA, Hélder Daniel; CERQUEIRA, Miguel Ângelo; VICENTE, Antônio A. Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 3, p. 854-867, 2012.

SOM, C.; BERGES, M.; CHAUDHRY, Q.; DUSINSKA, M.; FERNANDES, T.F.; OLSEN, S.I.; NOWACK, B. The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts. **Toxicology**, v. 269, p. 160-169, 2009.

FREITAS, Nágila *et al.* Fibrous residues of palm oil as a source of green chemical building blocks. **Industrial Crops & Products**, v. 94, p. 480-489, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.012>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

STRICKLAND, J. D.; PARSONS, T. R. A manual of seawater analysis. **Fisheries Research Board of Canada Pacific Oceanographic Group.**, v. 125, p.1-85. 1960.

SUBRAMANIAN, Vrishali *et al.* Review of decision analytic tools for sustainable nanotechnology. **Environment Systems and Decisions**, v. 35, n. 1, p. 29-41, 2015.

SUHAS *et al.* Cellulose: A review as natural, modified and activated carbon adsorbent. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 1066-1076, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852416307659>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

TANG, Weihua *et al.* The influence of fermentation conditions and post-treatment methods on porosity of bacterial cellulose membrane. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 125-131, 2010.

TARAS, Michael J. Effect of free residual chlorination of nitrogen compounds in water. **Journal American Water Works Association**, v. 45, n.1, p. 45-47, 1953.

THAYER, Gordon W. Comparison of two storage methods for the analysis of nitrogen and phosphorus fractions in estuarine water. **Chesapeake Science**, v.11, n. 3, p. 155-158, 1970.

TOBERGTE, David R.; CURTIS, Shirley. No Title No Title. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689-1699, 2013.

ULLAH, Hanif *et al.* Advances in Biomedical and Pharmaceutical Applications of Functional Bacterial Cellulose-Based Nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p. 330-352, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716305513>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

UMMARTYOTIN, Sarute; MANUSPIYA, Hathaikarn. A critical review on cellulose: From fundamental to an approach on sensor technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 402-412, 2015.

VALEPYN, Emmanuel; BEREZINA, Nathalie; PAQUOT, Michel. Optimization of production and preliminary characterization of new exopolysaccharides from *Gluconacetobacter hansenii* LMG1524. **Advances in Microbiology**, v. 2, n. Dec. p. 488-496, 2012.

VASCONCELOS, Niédja Fittipaldi *et al.* Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features. **Carbohydrate Polymers**, v. 155, p. 425-431, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716310396>>. Acesso em: 15 ago. 2016.

WANG, Neng; DING, Enyong; CHENG, Rongshi. Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. **Polymer**, v. 48, n. 12, p. 3486-3493, 2007.

WENZEL, H.; HAUSCHILD, M.; ALTING, L. **Environmental Assessment of Products**. Bonton/Dordrecht/London: Kluwer Academic Publisehrs. 1997, v.1.

WICAKSONO, Rumpoko *et al.* Cellulose Nanofibers from Cassava Bagasse: Characterization and Application on Tapioca-Film. **Chemistry and Materials Research**, v. 313, n. 13, p. 2225-956, 2013.

ZAIN, Nor Fazelin Mat; YUSOP, Salma Mohamad; AHMAD, Ishak. Preparation and Characterization of Cellulose and Nanocellulose From Pomelo (*Citrus grandis*) Albedo. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 5, n. 1, p. 10-13, 2014. Disponível em: <<http://www.omicsonline.org/open-access/preparation-and-characterization-of-cellulose-and-nanocellulose-2155-9600-5-334.php?aid=36171>>. Acesso em: 15 ago. 2016.