



THIAGO MOREIRA CRUZ

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS ENTRE NANOCELULOSE DE ORIGEM
VEGETAL E BACTERIANA**

**LAVRAS – MG
2022**

THIAGO MOREIRA CRUZ

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS ENTRE NANOCELULOSE DE ORIGEM
VEGETAL E BACTERIANA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Engenharia de Biomateriais, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Lourival Mendes Marin
Orientador

Prof. Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli
Coorientador

Prof. Dr. João Moreira Neto
Coorientador

**LAVRAS – MG
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Cruz, Thiago Moreira.

Caracterização de filmes híbridos entre nanocelulose de origem vegetal e bacteriana / Thiago Moreira Cruz. - 2022.

75 p.

Orientador(a): Lourival Marin Mendes.

Coorientador(a): Gustavo Henrique Denzin Tonoli, João
Moreira Neto.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. biomateriais. 2. nanocelulose. 3. microfibrilada. I. Mendes,
Lourival Marin. II. Tonoli, Gustavo Henrique Denzin. III. Neto,
João Moreira. IV. Título.

THIAGO MOREIRA CRUZ

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS ENTRE NANOCELULOSE DE ORIGEM
VEGETAL E BACTERIANA**

**CHARACTERIZATION OF HYBRID FILMS BETWEEN NANOCELLULOSIS OF
VEGETABLE AND BACTERIAL ORIGIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Engenharia de Biomateriais, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 21 janeiro de 2022

Dr. Lourival Mendes Marin	UFLA
Dr. José Benedito Guimarães Júnior	UFLA
Dr. João Moreira Neto	UFLA
Dra. Marali Vilela Dias	UFLA
Dra. Cilene Cristina Borges	UTFPR

Prof. Dr. Lourival Mendes Marin
Orientador

**LAVRAS – MG
2022**

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por ter me permitido chegar até aqui com saúde;

A minha noiva e a minha filha, por todo companheirismo, alegria e apoio nessa trajetória;

Aos meus queridos pais Clair e Roselita, pelo apoio, carinho e confiança disposto a mim nesse momento;

A meu irmão Bruno, pelo companheirismo e apoio;

Ao meu amigo e compadre Paulo e a sua família (Nagla e Joaquim), os quais estiveram ao meu lado em grande parte dos momentos como Pós-graduandos;

Ao meu amigo Adriano, por todo apoio e ajuda prestada na realização dessa tese;

À Universidade Federal de Lavras e ao programa Engenharia de biomateriais, pela oportunidade de aprendizado;

Ao meu orientador e amigo Lourival, o qual com suas palavras leves e direcionadas fez dessa trajetória algo extremamente tranquilo e prazeroso;

A todos demais amigos e pessoas que de forma direta ou indireta fizeram parte deste trabalho e trajetória.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

RESUMO

Dentre as diversas aplicações, a nanotecnologia tem sido implementada para melhoria da performance de produtos e embalagens, pois pode conferir características exclusivas até então restritas a outros materiais, ou ainda, subsidiar o desenvolvimento de novos produtos, proporcionando qualidade de vida e segurança alimentar à população. Deste modo, essa tese teve por objetivo caracterizar e avaliar a performance de filmes híbridos compostos de celulose vegetal (CV) e celulose bacteriana (CB). Para isso, foram utilizados protocolos de obtenção de micro/nanofibrilas de fontes vegetais (*Eucalyptus*, *Pinus*) e bacteriana. Para produção da celulose bacteriana realizou pré-ensaios para definir as melhores dosagens de glicose e chá verde após isso, pelo método *casting* produziu-se filmes híbridos em diferentes proporções complementares entre celulose vegetal e bacteriana, sendo elas de (%): 0, 25, 50, 75 e 100. A caracterização da suspensão foi realizada pela microscopia eletrônica de transmissão (MET) e a caracterização morfológica dos filmes foi feita aplicando-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV). Em complemento, foram realizados ensaios de ângulo de contato e molhabilidade pelo método de goniômetro, as propriedades de barreira foram obtidas por meio de ensaios de permeabilidade ao vapor de água (TPVA), resistência à graxa, e a caracterização mecânica foi realizada por ensaios de resistência à tração e perfuração. Os resultados evidenciaram que as morfologias das diferentes origens de nanocelulose afetaram as propriedades físicas, mecânicas e de barreira dos filmes produzidos. A resistência à tração, o módulo de Young e a força de punção diminuíram com o aumento do conteúdo de CB nos filmes, enquanto a molhabilidade dos filmes aumentou. Todas as composições dos filmes apresentaram alta resistência à impregnação de graxas. Os ângulos de contato com a água foram maiores para filmes puros produzidos com nanocelulose vegetais. Ao contrário, a molhabilidade foi maior para os filmes produzidos com maior teor de CB. As composições com menores teores de CB tendem a apresentar menores valores de permeabilidade ao vapor de água entre as composições estudadas. As propriedades mecânicas foram consideravelmente superiores para filmes compostos por nanocelulose vegetais. Da mesma forma, os resultados da força de punção diminuíram significativamente com percentuais mais elevados de CB. Como os filmes são gerados a partir de matérias-primas biodegradáveis, com propriedades mecânicas peculiares, seus usos podem ser expandidos para a substituição de outros materiais plásticos, como materiais para embalagens à base de celulose, bolsas, papelão e aplicações de revestimento de superfície.

Palavras-chave: Biomaterial. Membrana. Celulose microfibrilada. Nanofibrila. Material renovável.

ABSTRACT

Among the various applications, nanotechnology has been aimed at improving the performance of products and packaging, as it can confer exclusive characteristics hitherto restricted to other materials in new products, providing the population with quality of life and food safety. Thus, this thesis aimed to characterize and evaluate the performance of hybrid films composed of plant cellulose (PC) and bacterial cellulose (BC). This, protocols were used to supply sources of micro/nanofibers, vegetable (Eucalyptus Pinus) and bacterial. For the production of bacterial cellulose, pre-tests were carried out to define the best dosages and green tea after that, by the cellulose production method, hybrid films are produced in different proportions of vegetable and bacterial cellulose, being them (%): 0, 25, 50, 75 and 100. The characterization of the suspension was performed by transmission electron microscopy (TEM) and the morphological characterization of the films was applied to scanning electron microscopy (SEM). In addition, contact angle and wettability tests were carried out by the goniometer method, barrier properties were obtained by means of water vapor permeability (WVP) tests, grease resistance and mechanical characterization was carried out by tests of tensile and puncture strength. The results showed that the morphologies of the different origins of nanocellulose affected the physical, mechanical and barrier properties of the films produced. Tensile strength, Young's modulus and punching force decreased with increasing BC content in the films, while the wettability of the films increased. All film compositions showed high resistance to grease impregnation. The contact angles with water were higher for pure films produced with plant nanocellulose. On the contrary, wettability was higher for films produced with higher BC content. Compositions with lower BC contents tend to have lower water vapor permeability values among the compositions studied. The mechanical properties were considerably higher for films composed of plant nanocellulose. Likewise, puncture force results significantly decreased with higher percentages of BC. As the films are generated from biodegradable raw materials, with peculiar mechanical properties, their uses can be expanded to replace other plastic materials, such as cellulose-based packaging materials, bags, cardboard and surface coating applications.

Keywords: Biomaterial, Membrane. Microfibrillated Cellulose. Nanofibril. Renewable material.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização dos principais componentes da madeira. Adaptado de Nishimura et al. (2018).....	14
Figura 2. Estrutura química da celulose.....	15
Figura 3. Micrografias entre fibras de celulose bacteriana (A) e celulose vegetal (B). Fonte: Adaptado DONINI et al., 2010.....	20
Figura 4. Estrutura química da glicose.....	22
Figura 5. Estrutura química da frutose.....	23
Figura 6. Estrutura química da sacarose.....	24
Figura 7. Micrografias (MEV) das películas de CB produzidas utilizando a) manitol, b) glicose e c) glicerol. Adaptado de OLIVEIRA, et al., 2016.....	25
Figura 8. Produção de CB para diferentes fontes de carbono. (♦) Glicerol, (■) Glicose, (▲) Sacarose, (●) Manitol e (×) Frutose. Adaptado de SANTOS, et al., 2013.	26
Figura 9. Flowchart for obtainment of cellulose nanofbrils (CNFs) from bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs; the nanofbrils were used to produce pure and hybrid films with diferent proportions using the casting method.....	48
Figura 10. Distribution in diameter classes and micrographs obtained by TEM from the nanofibrils of BC (A–B), Euc (C–D), and Pin (E–F).....	52
Figura 11. Transparency for hybrid films with bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs. Compositions followed by the same letter were not statistically diferent by the Scott-Knott test.....	54
Figura 12. General aspect of the films produced with different compositions of CNFs from BC, Euc, and Pin. (A) 100 % Euc; (B) 100 % Pin; (C) 75 % Euc/25 % BC; (D) 75 % Pin/25 % BC; (E) 50 % Euc/50 % BC; (F) 50 % Pin/50 % BC; (G) 25 % Euc/75 % BC; (H) 25 % Pin/75 % BC; and (I) 100 % BC.....	54
Figura 13. Surface and cross-sectional SEM micrographs of the films produced: (A and B) 100 % BC; (C and D) 100 % Euc; (E and F) 50 % Euc/50 % BC; (G and H) 100 % Pin; (I and J) 50 % Pin/50 % BC. ...	56
Figura 14. Averages observed for contact angle (A) and wettability (B) for the film compositions analyzed. Compositions followed by the same letter were not statistically diferent by the Scott-Knott test.	58
Figura 15. Tensile strength (A), Young’s modulus (B) and stress-strain curves (C–D) for hybrid flms with bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs. Compositions followed by the same letter were not statistically diferent by the Scott-Knott test.	61
Figura 16. Puncture strength of flms with bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs. Compositions followed by the same letter were not statistically diferent by the Scott-Knott test.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparativo entre diferentes fontes de carbono, suplementação e tempo de cultura e seus respectivos rendimentos na produção de celulose bacteriana.....	18
Tabela 2 - Características da Celulose Vegetal e da Celulose Bacteriana.....	20
Tabela 3 - Aplicações da celulose bacteriana.....	21
Table 4 - Proportions between bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs adopted for production of the films.	47
Table 5 - Average thickness, water vapor permeability (WVP) and scores of grease resistance of the films composed by bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs.....	59

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 Celulose	13
2.1.1 Celulose Vegetal (CV).....	13
2.1.2 Celulose Bacteriana.....	15
2.2 Micro/nanofibrilas de Celulose.....	27
2.3 Aplicações da celulose.....	28
2.3.1 Filmes	29
2.4 Embalagens multicamadas	30
REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	32
SEGUNDA PARTE – ARTIGO	42
APENDICE A	75

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A celulose vegetal é um polímero orgânico de grande relevância industrial, principalmente por sua variada aplicação aos mais diversos setores, fato esse que explica a quantidade crescente de pesquisas relacionadas à sua produção e utilização. Com o avanço da nanotecnologia, inúmeros trabalhos têm sido publicados visando encontrar novas alternativas aos materiais oriundos de fontes não-renováveis provenientes do gás natural e petróleo, por exemplo, uma dessas áreas de pesquisa se aplica à produção de embalagens com nanocelulose a qual apresenta características e propriedades satisfatórias e é menos agressiva ao ambiente.

A nanocelulose vegetal vem se destacando por possuir propriedades e desempenho superiores em relação às das fibras convencionais de celulose, além disso, está ligada diretamente a sustentabilidade, já que pode ser obtida através resíduos agrícolas, madeiras e fibras vegetais (KLEMM et al., 2011; MILANEZ et al., 2013; SORRENTINO, 2017). A sua produção consiste em realizar tratamentos mecânicos, químicos e/ou biológicos aos quais permitam separar os filamentos nanocelulósicos que são a base da celulose presente nas paredes das fibras.

As nanopartículas de celulose vêm sendo estudadas principalmente como material de reforço em matrizes poliméricas, devido a sua capacidade em melhorar as propriedades mecânicas, ópticas, dielétricas, barreira, entre outras, dessas matrizes (DUFRESNE, 2012; SILVA; D'ALMEIDA, 2009). Além disso, podem ser obtidas de diversos tipos de fontes além dos vegetais, como algas, fungos e bactérias (SILVA; D'ALMEIDA, 2009).

A celulose bacteriana (CB) ou microbiana consiste em um polissacarídeo extracelular amplamente utilizado em novos campos devido às suas propriedades físicas únicas. O método convencional de produção de CB é feito por cultivo estático usando açúcares como glicose, frutose e sacarose e ainda não é aplicável à produção industrial em larga escala devido ao alto custo proveniente da baixa tecnologia aplicada a sua produção.

A CB apresenta similaridades químicas e estruturais com a celulose de origem vegetal, entretanto, suas fibras são sintetizadas em dimensões nanométricas, denominadas de nanocelulose bacteriana, garantindo à CB propriedades distintas. Além disso, a CB é considerada uma celulose pura, especialmente quando comparada com as celuloses de origem vegetal, sendo desprovida de

lignina, hemicelulose, pectina ou qualquer outro composto presente na polpa da planta e não contém componentes de origem animal (FU et al., 2013).

Buscando conhecer melhor as similaridades e diferenças entre CB e CNF este trabalho teve por objetivo caracterizar filmes através de soluções puras e híbridas entre celulose de origem vegetal e bacteriana.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Celulose

Originária de inúmeras fontes, como madeira, sementes, folhas, gramíneas, animais marinhos, algas, fungos, invertebrados e bactérias (VARSHNEY; NAITHANI, 2011), a celulose pode ser considerada um dos materiais naturais mais abundantes e biodegradáveis do mundo, portanto, tem sido tema de extensas investigações ao longo do tempo (JONKER, 2008; GOPI et al. 2019). Sendo assim, pesquisas em biologia molecular permitiram compreender melhor os mecanismos relacionados à biossíntese da celulose vegetal (FU et al. 2013).

2.1.1 Celulose Vegetal (CV)

A fonte mais importante de celulose é a madeira (STELTE & SANADI, 2009; SIRÓ; PLACKETT, 2010; HEINZE et al. 2018). Além da celulose, outros componentes denominados fundamentais da madeira também são apresentados na figura 1. Na parede celular das árvores, por exemplo, há percentualmente em massa cerca de 40-55 % de celulose, 24-40 % de hemicelulose e 18-25 % de lignina, podendo este último componente chegar a 30 % em algumas madeiras (SUN; CHENG, 2002; SIXTA, 2006, HEINZE et al. 2018).

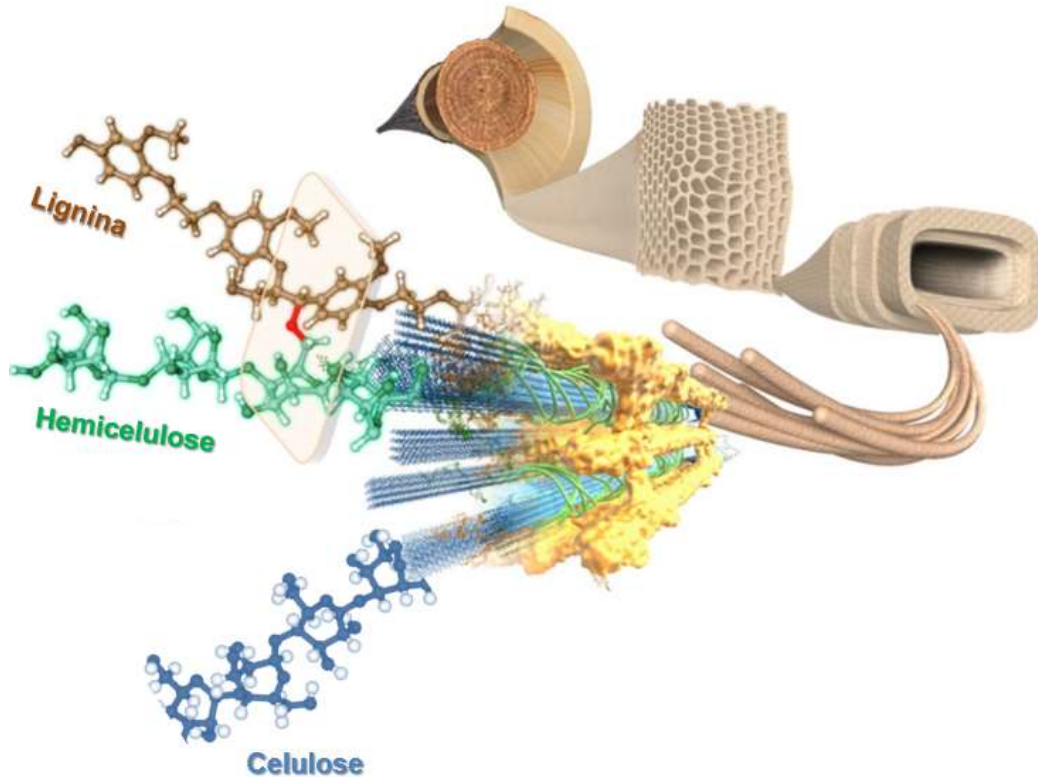


Figura 1. Organização dos principais componentes da madeira. Adaptado de Nishimura et al. (2018).

Esses componentes fundamentais contribuem no crescimento das árvores, por exemplo, a celulose responsável pela rigidez do vegetal (COSTA et al. 2017), e do ponto usual ela possui uma grande aplicação industrial, atuando de forma direta na economia de diversos países, entre eles o Brasil (COSTA et al. 2017). A hemicelulose por sua vez possui funções variadas, atuando como mecanismo de defesa, reserva de carbono, transporte de água/nutriente e sustentação do vegetal (BUCKERIDGE et al. 2000; BUCKERIDGE et al. 2008). Por último temos a lignina é um componente químico e morfológico característico dos tecidos de vegetais superiores, como as gimnospermas e angiospermas, nos quais normalmente ocorre nos tecidos vasculares, especializados no transporte de líquidos e resistência mecânica (FENGEL & WEGENER, 1989).

A celulose é compreendida por muitos como um dos principais constituintes das árvores (GALLEGOS et al. 2016), constituindo de um polímero linear e homogêneo composto de unidades repetidas de β -D-anidroglicopirranose (KUMAR et al. 2009; SÁNCHEZ 2009; BERTERO et al. 2012; IQBAL et al. 2013) ligadas através de ligações β -1,4-glicosídicas (Figura 2).

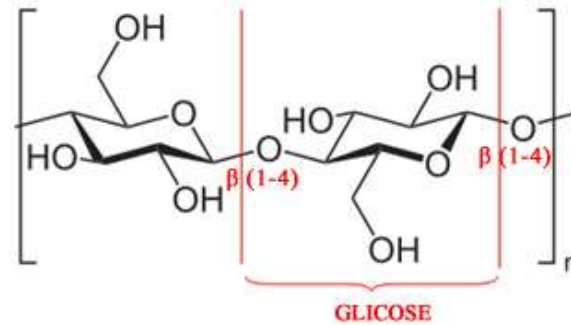


Figura 2. Estrutura química da celulose.

Em média a cadeia de celulose vegetal apresenta um grau de polimerização de cerca de 9.000 a 10.000 unidades (WALISZEWSKA et al, 2019). A celulose possui excelentes propriedades mecânicas, como resistência à tração e módulo de elasticidade os quais em média se aproximam de 16,9 GPa e 2 GPa, respectivamente. Aproximadamente 65% ou mais de celulose é altamente orientada e cristalina e, portanto, não é acessível a água ou outros solventes. A celulose é resistente a degradação devido à sua estreita associação com polímeros, que incluem lignina e hemicelulose (IQBAL, 2015).

2.1.2 Celulose Bacteriana

A CB é um polímero natural promissor que é biossintetizado por certas bactérias (FU et al., 2013). Os principais gêneros produtores, são: *Acetobacter* spp., *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Rhizobium*, *Sarcina* spp. (VANDAMME et al. 1998; DONINI et al., 2010; IQBAL et al. 2015) e a sua forma de obtenção, a torna livre de impurezas, contrário a celulose vegetal que possuem lignina, hemiceluloses e pectinas (KESHK, 2014) que necessitam de tratamentos altamente poluentes para a sua utilização, garantindo assim um potencial econômico para o biopolímero oriundo de bactérias.

Em termos de composição, a CB é um biopolímero estrutural, semelhante à celulose de origem vegetal, porém apresenta propriedades físico-químicas diferentes (UL-ISLAM et al., 2012), sendo considerada celulose pura, a CB é sintetizada pelas bactérias como mecanismo de proteção em escala nanométrica (BROWN; LABORIE, 2007; PECORARO et al., 2008) conferindo características peculiares em decorrência das suas dimensões, como alta cristalinidade, capacidade de absorção de água e resistência mecânica no estado úmido (CZAJA et al., 2006).

A celulose bacterianas apresentam diâmetro das suas fibras variando de 20-100 nm, natureza hidrofílica, biocompatibilidade, transparência e não é tóxica o que torna um excelente e promissor material para uma ampla variedade de aplicações nas mais diversas áreas (FU et al., 2013), especialmente aqueles relacionados a aplicações biomédicas, tecnológicas, indústria alimentícia, têxtil e farmacêuticas (KLEMM et al., 2005; DAHMAN, 2009; GAMA et al., 2012; SHAH et al., 2013; LEE et al., 2014; SHI et al., 2014).

Os principais fatores que afetam a produção da celulose e suas propriedades de membrana estão relacionados à concentração de carbono e de nitrogênio, o pH, a temperatura e o suprimento de oxigênio. Além disso, as diferentes estirpes de bactérias podem influenciar a taxa de produção, bem como na microestrutura da celulose obtida (TANG et al., 2010; RUKA et al., 2012; RANI; APPAIAH, 2013)

O método mais utilizado para a produção é através de meios de cultura ricos em carboidratos, como o monossacarídeo D-glicose, o dissacarídeo lactose; o polissacarídeo, amido; o ácido orgânico, ácido glucônico; e o álcool, etileno glicol (JONAS; FARAH 1998; IQBAL 2015). A faixa de temperatura para produção do meio de cultivo varia de 15 a 34 °C e pH de 4,5 a 7,5 (SON et al. 2001).

No que diz respeito ao cultivo, há duas formas amplamente empregadas a síntese de CB, em condições estática e agitada, no meio estático a síntese ocorre na interface ar/líquido do meio de cultura, formando a biomembrana. O meio de cultivo agitado produz celulose com tamanhos e formas variados (DUARTE et al., 2019).

Em meio estático, as fitas celulósicas e as bactérias emaranham-se e formam uma película de biomembrana na interface ar/líquido. O primeiro estágio da cultura é marcado pelo consumo do oxigênio dissolvido no meio, produzindo assim uma porção de celulose na fase líquida, após certo período apenas as bactérias próximas a interface ar/líquido e com acesso ao oxigênio serão capazes de manter a sua atividade e produzir celulose. As bactérias presentes na fase líquida adormecem, podendo ser reativada, servindo como inóculo em futuras culturas (LAVOINE et al., 2012; DUARTE et al., 2019).

Portanto, o processo de formação da celulose, sob condições estáticas, é regulado pela quantidade de oxigênio em contato com a superfície do meio e do tempo de fermentação, tendo em vista que as bactérias não sintetizam CB quando há oferta insuficiente de oxigênio (DUARTE et al., 2019).

O cultivo agitado consiste em outro método de produção da CB, obtendo assim biomembranas com formas irregulares em suspensão fibrosa, como esferas e pellets (YAN et al., 2008). Esse tipo de cultivo é indicado para produção em escala econômica por necessitar de uma alta área superficial disponível (LEE et al., 2014). As principais limitações desse tipo de cultivo é o surgimento de organismos que acabam por dominar a cultura, reduzindo a quantidade de nanocelulose no processo (KIM et al., 2007).

Além de alterações macroscópicas da CB em relação aos diferentes meios de cultivo, a estrutura microscópica também apresenta modificações. Apesar da rede de fibrilas permanecer a mesma, encontra-se diferenças na estrutura dos cristais e das cadeias moleculares. Por exemplo, a resistência mecânica, a cristalinidade e o grau de polimerização do material formado são inferiores quando obtidos em cultura agitada (SHI et al., 2014; DUARTE et al., 2019).

A principal diferença entre a celulose bacteriana e a vegetal, seria o seu caráter de fibras nanométricas em vez do caráter micrométrico da vegetal o que promove maior resistência mecânica e física, abrindo grandes oportunidades de aplicações tecnológicas e biológicas, muito além das obtidas pela celulose vegetal. Além disso, outras características diferem a CB, como maior cristalinidade, alta pureza, elevado grau de polimerização, maior área superficial, maior capacidade de retenção de água, caráter elástico, alta resistência e flexibilidade (CZAJA et al., 2006; DONINI et al., 2010; WANG et al., 2011; CALDEIRA, 2013; LIMA et al. 2015).

Estes parâmetros que diferem a CB da CV são oriundos em função do tipo de formação biosintética, conseqüentemente da rede de micro/ nanofibrilas formadas durante o cultivo e também por não apresentarem os compostos de baixo peso molecular presentes na formação da celulose nos vegetais (CALDEIRA, 2013). Apesar de todas características inerentes da CB, um fato importante a se ressaltar seria o desafio e custo de produção deste tipo de material atualmente, o que corrobora com a necessidade de promover maiores estudos sobre o tema.

2.1.2.1 Estrutura, síntese e usos da celulose bacteriana

A bactéria *Gluconacetobacter xylinum* é utilizada como modelo na produção de CB (EL-SAIED et al., 2008) devido à sua capacidade de produzir celulose na presença de diferentes fontes de carbono e nitrogênio (LEE et al., 2014). Este bacilo aeróbio estrito e Gram negativo pode ser encontrado na natureza em frutas, vegetais e em produtos fermentados junto com outros

microrganismos tais como leveduras, fungos e outras bactérias (NEERA; BATRA, 2015). O tipo de carbono utilizado, tempo de cultura e rendimento são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Comparativo entre diferentes fontes de carbono, suplementação e tempo de cultura e seus respectivos rendimentos na produção de celulose bacteriana.

Bactéria	Carbono	Tempo de cultura (h)	Rendimento (g/L)
<i>A. xylinum</i> BRC 5	Glicose	50	15,30
<i>G. hansenii</i> (KCTC 10505 BP)	Glicose	48	1,72
<i>G. hansenii</i> (KCTC 10505 BP)	Glicose	72	2,50
<i>Acetobacter</i> sp. V6	Glicose	192	4,16
<i>Acetobacter</i> sp. A9	Glicose	192	15,20
<i>A. xylinum</i> BPR2001	Melaço	72	7,82
<i>A. xylinum</i> BPR2001	Frutose	72	14,10
<i>Acetobacter xylinum</i> ssp. <i>sucrofermentans</i> BPR2001	Frutose	44	8,70
<i>Acetobacter xylinum</i> E25	Glicose	168	3,50
<i>G. xylinus</i> strain (K3)	Manitol	168	3,34
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> IFO 13773	Glicose	168	10,10
<i>Acetobacter xylinum</i> NUST4.1	Glicose	120	6,00
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> IFO 13773	Melaço	168	5,76
<i>Gluconacetobacter</i> sp. RKY5	Glicerol	144	5,63

Fonte: Adaptado de Chawla (2009)

De modo geral, as bactérias produtoras de CB são capazes de excretar celulose extracelularmente em forma de uma película na superfície do meio, como uma camada gelatinosa

em cultivos estáticos, e em cultivos agitados podem produzi-la como *pellets* formados no interior do meio de cultivo. Sua biossíntese é um processo que envolve várias reações bioquímicas, as quais são reguladas por um número elevado de enzimas e de complexos de proteínas reguladoras e catalíticas (CAMPÊLO, 2017).

A CB é composta por moléculas de celulose que se completam para formar uma rede de sub-fibrilas interligadas por ligações de hidrogênio. Os grupos hidroxila dispostos em sua superfície, explicam sua degradabilidade, hidrofiliabilidade e sua alta capacidade de modificação química para diversas aplicações (CAMPÊLO, 2017), o seu crescimento no meio de cultivo está associado ao crescimento celular.

A síntese da CB se inicia com a origem de cadeias que se juntam formando as “sub-fibrilas”, as quais se agrupam com outras aproximadamente 36 similares, formando assim a fibrila elementar com diâmetro de 3 - 3,5nm. Em seguida, aproximadamente 46 fibrilas adjacentes juntam-se através de pontes de hidrogênio formando um *ribbon*, nome dado às fibras de CB. Esses *ribbons* formam uma estrutura reticulada densa, que é estabilizada por pontes de hidrogênio (CAMPÊLO, 2017; PECORARO, et al. 2008).

Apesar de apresentar a mesma fórmula química, a CB apresenta fibras nanométricas com propriedades distintas da celulose vegetal (Figura 3) e uma cristalinidade mais elevada, o que lhes conferem alta resistência mecânica e capacidade de inserção de materiais para compósitos (Tabela 2). Outra característica da CB, como já citado é sua pureza, pois em contraste com a celulose obtida das plantas, a celulose sintetizada por bactérias é isenta da presença de lignina e hemicelulose, componentes difíceis de serem retirados e que restringem seu uso.

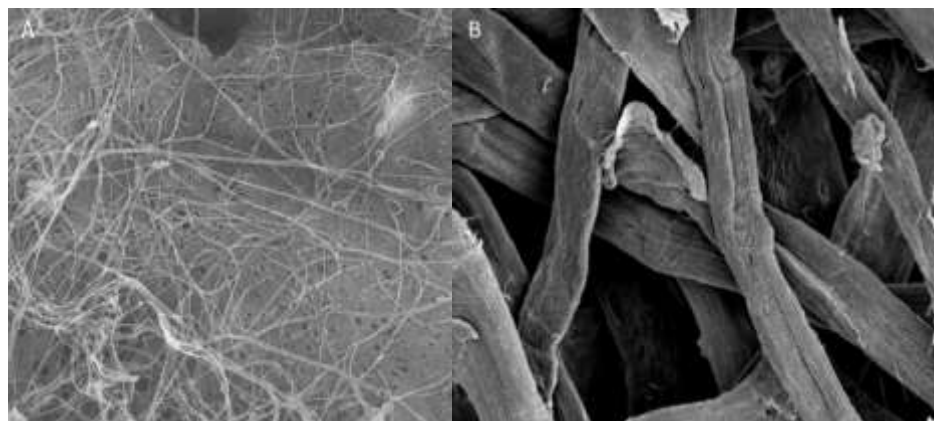


Figura 3. Micrografias entre fibras de celulose bacteriana (A) e celulose vegetal (B). Fonte: Adaptado DONINI et al., 2010.

Tabela 2. Características da Celulose Vegetal e da Celulose Bacteriana.

Propriedade	Celulose Vegetal	Celulose Bacteriana
Largura da Fibra (nm)	14 – 40.000	50 – 80
Cristalinidade (%)	43 – 65	84 – 89
Grau de polimerização	13.000 – 14.000	2.000 – 6.000
Módulo de Young (GPa)	13 – 180	15 – 138
Resistência à tração (MPa)	10 – 250	91 – 260
Quantidade de água (%)	60	98,5

Fonte: DUARTE et al., 2019.

Essas propriedades tornam a CB um biopolímero altamente versátil, possibilitando a sua utilização em diferentes setores da economia (Tabela 3), essas diversas utilizações se esbarram no custo elevado de produção, principalmente devido à falta de compreensão e conhecimento dos mecanismos de crescimento microbiana.

Tabela 3. Aplicações da celulose bacteriana.

Área	Aplicação
Cosméticos, Indústria e Têxtil	Estabilizador de emulsões como cremes tônicos, condicionadores, polidores de unha, roupas para esportes, tendas e equipamentos de camping.
Mineração e Refinaria	Esponjas para coleta de vazamento de óleo, materiais para absorção de toxinas.
Tratamento de Lixo	Reciclagem de minerais e óleos.
Purificação de esgotos	Purificação de esgotos urbanos, ultrafiltração de água.
Comunicações Indústria de alimentos	Diafragmas para microfones e fones estéreos, celulose comestível (“nata de coco”).
Indústria de papel	Substituição artificial de madeira, papéis especiais.
Medicina, Laboratórios, Eletrônica e Energia	Pele artificial temporária para queimaduras e úlceras, componentes de implantes dentários, imobilização de proteínas de células, técnicas cromatográficas, meio para cultura de tecidos, materiais opto-eletrônicos (telas de cristal líquido, suporte para OLED), membranas células combustível (paládio).

Fonte: Donini et al., 2010

2.1.2.2 Meios de cultivo

A síntese de CB ocorre mediante a inoculação do microrganismo em um meio de cultura adequada ao seu crescimento, contendo fontes de carbono e outros nutrientes essenciais. Como fontes de carbono, têm-se: glicose, frutose, sacarose, glicerol, manitol entre outros (TURECK, 2017).

As bactérias produtoras de celulose são capazes de converter a glicose (Figura 2) em celulose. A glicose atua não só como fonte de energia, mas também como a precursora da biossíntese do

biopolímero. Porém, como outras demais fontes de carbono, apresenta limitações no seu uso, devido ao elevado custo relacionado à larga produtividade (OLIVEIRA et al., 2016).

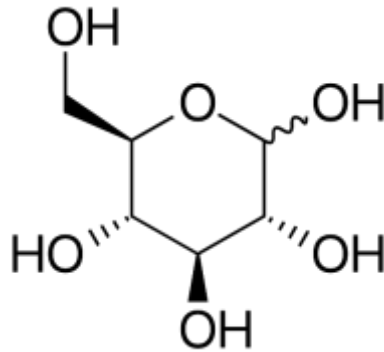


Figura 4. Estrutura química da glicose.

Segundo Tureck, 2017, a síntese de celulose tem início no transporte do meio externo para o citoplasma da bactéria ou de fontes internas. A conversão da glicose transportada do meio externo para o citoplasma bacteriano é catalisada por quatro enzimas, sendo elas: Glicoquinase, que é a enzima responsável pela fosforilação do carbono 6 da glicose, a Fosfoglicomutase que catalisa a reação de isomerização da glicose-6-fosfato para glicose-1-fosfato, a UDPG-pirofosforilase (glicose-1-fosfato-uridililtransferase) que sintetiza a UDP - glicose (UDPG) e a Celulose Sintase (CS) que produz a celulose a partir de UDP-glicose.

A síntese da celulose, a partir de fontes endógenas, se dá a partir da gliconeogênese que, ocorre a partir do oxalacetato, via piruvato, devido a um mecanismo de regulação não comum das enzimas oxalacetato descarboxilase e a piruvato fosfato diquinase, que converte o piruvato a fosfoenolpiruvato. A reação de síntese de CB constitui um processo oneroso para a célula, consumindo cerca de 10% da adenosina trifosfato (ATP) gerada no metabolismo bacteriano. Assim, a energia empregada para a síntese da CB é proveniente do metabolismo aeróbio (TURECK, 2017).

Outro importante carboidrato utilizado na produção seria a frutose (Figura 3) encontrado na maioria das plantas, principalmente nos frutos. É considerada um açúcar, sendo um composto sólido, incolor, cristalino e solúvel em água. Também classificada como um monossacarídeo, é

composta por seis átomos de carbono unidos em ligações covalentes simples, apresentando grupamentos hidroxila, formados por hidrogênio e oxigênio e um grupamento carbonila, formado por ligação dupla entre o carbono e o oxigênio (BARREIROS et al., 2005).

Na década de 70, a separação da frutose e da glicose a partir de soluções compostas por açúcares invertidos foi obtida por meio da cromatografia de troca iônica. A utilização desse método aumentou a produção de frutose pura e diminuiu drasticamente o seu preço (BARREIROS et al., 2005).

Segundo TURECK, 2017, em relação ao uso da frutose para produção de CB, vários experimentos a utilizaram no meio de cultivo, e notaram que sua presença aumenta a concentração da membrana, obtendo um aumento de 47% do que quando utilizados outros meios, como a glicose. Alguns autores ainda comentaram que a composição e concentração de açúcares não interferiam na produção de CB, desde que houvesse frutose no meio.

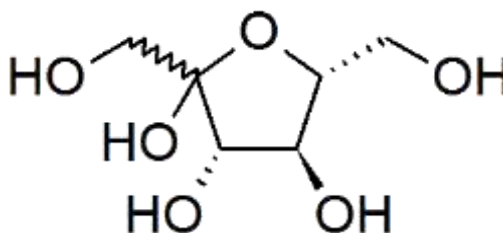


Figura 5. Estrutura química da frutose.

Outra fonte de carbono que também é utilizada nos processos de síntese bacteriana é a sacarose (Figura 4), uma substância conhecida desde o ano 200 a.C., sendo o carboidrato de baixa massa molecular mais abundante. É produzido em larga escala por diversos países, principalmente para usos alimentares, pois é um alimento natural e amplamente utilizado como ingrediente. É um dissacarídeo não redutor constituído de dois monossacarídeos, glicose e frutose, que estão ligados entre si através dos seus carbonos anoméricos. É conhecido genericamente com o nome de açúcar e está distribuído em todo o reino vegetal, sendo o principal carboidrato de reserva de energia. É a substância orgânica cristalina de maior produção mundial tendo duas fontes naturais importantes: beterraba e cana-de-açúcar (FERREIRA, et al. 2009).

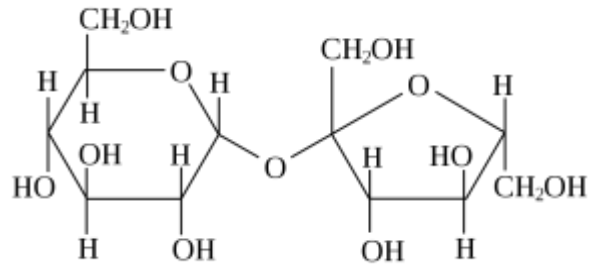


Figura 6. Estrutura química da sacarose.

Assim como a glicose, a sacarose também é um dos principais carboidratos de baixas massas moleculares para a síntese orgânica. Não existe um levantamento confiável do número de processos que foram relatados na literatura a partir da sacarose como matéria-prima, porém há cerca de 100 processos tecnicamente viáveis que estão sendo utilizados em escala comercial.

Quando dissacarídeo, a sacarose é usada como fonte de carbono por bactérias produtoras de celulose, fazendo com que a biossíntese da CB realize a hidrólise dos dissacarídeos em monossacarídeos (DUARTE et al., 2019). Ela apresentou alguns resultados significativos, como relatado em alguns estudos, porém não apresenta diferenças significativas entre a sacarose comercial (açúcar) e a sacarose pura na produção de CB, além de uma menor produção em relação a outros meios de cultivo que apresentam menor custo de geração (TURECK, 2017).

Além da glicose, frutose e sacarose também encontramos na literatura outras fontes de produção de CB, entre elas destacam-se o glicerol e o manitol.

O Brasil gera aproximadamente 40.000 m³ de glicerol residual (CAMPÊLO, 2017), como coproduto de biodiesel produzido. Com elevada geração, dificuldade em ser utilizado e os processos de purificação onerosos, sua comercialização se torna inviável, aumentando assim, seus estoques. Sua disposição no meio ambiente, sem o tratamento adequado, pode causar diversos problemas. Dessa forma, o glicerol torna-se alternativa viável para a produção da CB, reduzindo custos de produção e contribuindo para a diminuição da poluição ambiental.

O glicerol é um tri-álcool com três carbonos, possui forma de um líquido incolor, com gosto adocicado, sem cheiro e muito viscoso, derivado de fontes naturais ou petroquímicas. Apesar de possuir uma menor quantidade de carbono em sua estrutura, é convertido de forma mais eficiente em celulose bacteriana (OLIVEIRA, et al., 2016). A concentração do glicerol, acompanhada durante o tempo, é reduzida, confirmando o indicativo da relação consumo de substrato e formação

de produto relacionando-se com o fato de que a celulose produzida pode ser sintetizada a partir do consumo do glicerol na formação da estrutura polimérica (CAMPÊLO, 2017).

Já o manitol, é um tipo de açúcar que pode ter várias utilizações, inclusive na fabricação de resinas e plastificantes. A quantidade de celulose produzida através do manitol é bastante considerável. Em contraste com a glicose, o pH final do manitol não diminui para um pH ácido. Esta parece ser uma das razões para alta produtividade de celulose a partir de manitol. (OIKAWA, et al., 2014).

Segundo OLIVEIRA et al., 2016, observando os resultados que por ele foram obtidos, é possível compreender que a fonte de carbono, manitol, fornece maior obtenção de massa de celulose para um mesmo tempo de crescimento, superando assim, a glicose e o glicerol. Este é um carboidrato que pode ser encontrado facilmente em alguns vegetais, tais como, beterraba, cebola, azeitonas, entre outros. Pode ser considerado como um produto de baixo custo quando comparado a glicose, sendo assim, utilizado para mais diversos fins.

A figura 5 evidencias as diferenças morfológicas da estrutura da CB produzidas de meios de cultivos com manitol (a), glicose (b) e glicerol (c).

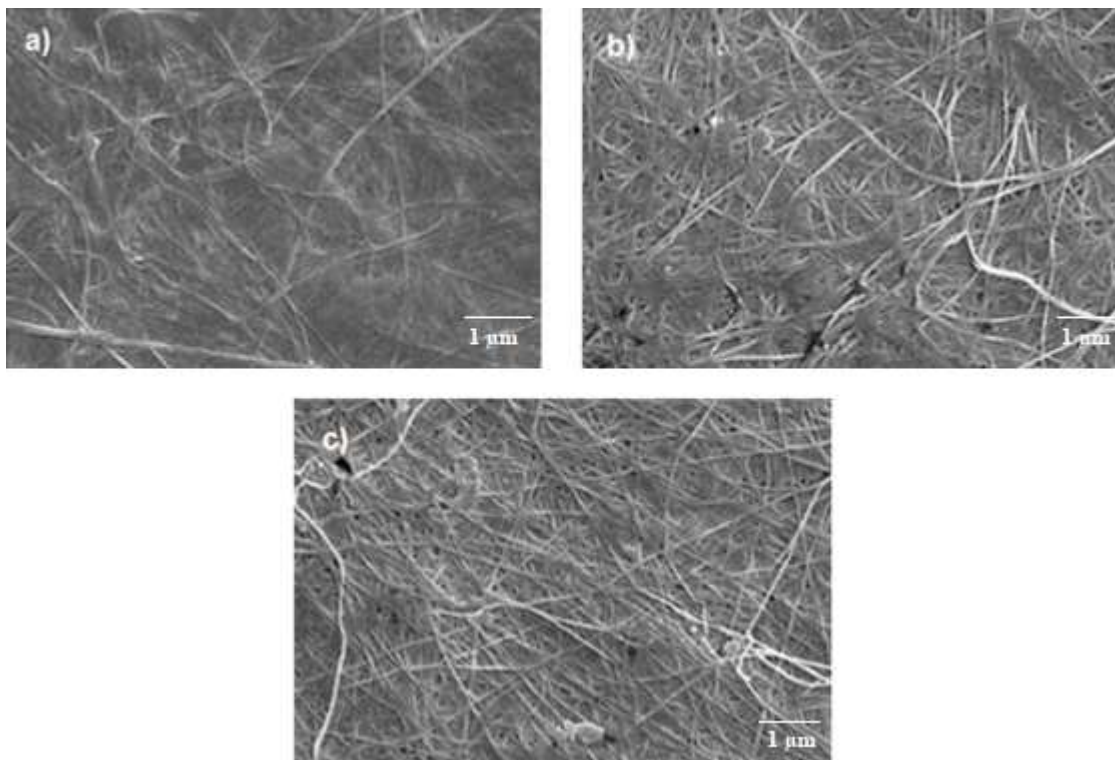


Figura 7. Micrografias (MEV) das películas de CB produzidas utilizando a) manitol, b) glicose e c) glicerol. Adaptado de OLIVEIRA, et al., 2016.

A análise apresentada demonstra que as películas produzidas utilizando manitol, Figura 5a, possuem uma rede de nanofibrilas mais fechadas, demonstrando uma maior obtenção do biopolímero, sendo a sua superfície mais rugosa quando comparada com as películas obtidas por meio dos outros substratos.

De acordo com a densidade das fibras, as películas de CB podem ser utilizadas em diferentes aplicações. Como por exemplo, a membrana produzida com o manitol, por possuir uma superfície mais fechada, pode ser utilizada na separação de gases, enquanto a CB produzida utilizando glicose, pode ser utilizada como scaffolds, na engenharia de tecidos, por possuir maior abertura entre as fibras e permitir uma maior migração de células para seu interior.

Na figura 6 podemos observar o desenvolvimento da CB em diferentes fontes de carbono e a sua relação entre produtividade e tempo de cultivo.

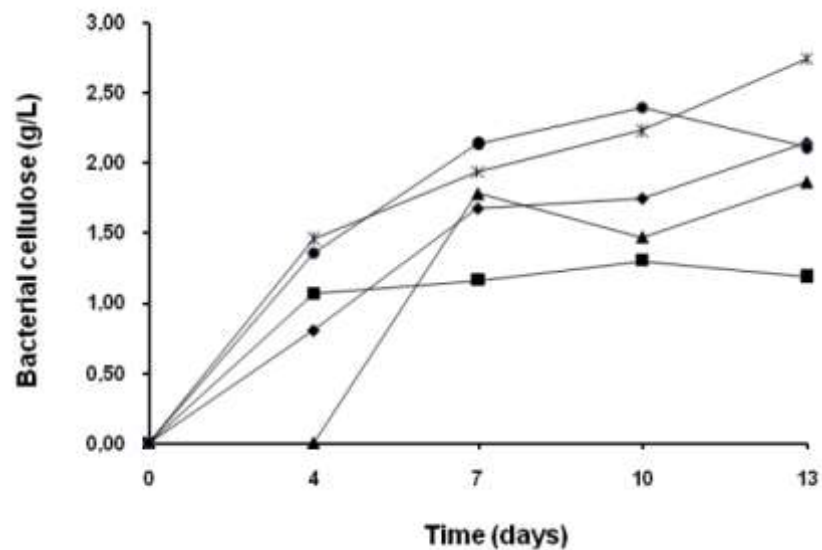


Figura 8. Produção de CB para diferentes fontes de carbono. (◆) Glicerol, (■) Glicose, (▲) Sacarose, (●) Manitol e (×) Frutose. Adaptado de SANTOS, et al., 2013.

2.2 Micro/nanofibrilas de Celulose

A celulose é composta por microfibrilas de tamanho de 20-100 nm e comprimento de fibras de 100-200 nm. Sendo comumente organizada em regiões amorfas e cristalinas (KIM et al., 2007). Devido as suas dimensões e sua alta área superficial, importantes propriedades são adquiridas ao produto como hidrofiliçidade e ampla capacidade de modificação química (KLEM et al., 2005).

Além de micro/nanofibrilas é comum encontrar outras nomenclaturas, como: microfibrilas, agregados de microfibrilas, celulose microfibrilar, nanofibrila, nanofibra, celulose nanofibrilar ou agregados de fibrilas. Tal matéria-prima pode ser obtida de fontes lenhosas e não-lenhosas, de resíduos da agroindústria e de seus produtos como também de bactérias (SIRÓ; PLACKET, 2010; KHALIL et al., 2014; SHI et al., 2014).

As micro/nanofibrilas vegetais são obtidas por tratamentos biológico, químico, mecânico ou através de uma combinação destes processos. A desintegração da parede celular vegetal produz micro/nanofibrilas longas (comprimento de alguns micrômetros), devido a clivagem transversal ao longo do eixo longitudinal da estrutura microfibrilar da celulose, gerando indivíduos com alta razão de aspecto (MOON et al., 2011).

Os primeiros métodos mecânicos descritos para obtenção de micro/nanofibrilas utilizaram polpa branqueada em suspensão aquosa, processada em homogeneizador mecânico com adição de alta pressão, para facilitar a fibrilação do material (SIQUEIRA et al., 2009). O material desfibrilado apresentava microfibrilas livres, com alta razão de aspecto, exibindo aspecto de gel com propriedades pseudoplásticas e tixotrópicas. Com o avanço da tecnologia, novos métodos e equipamentos para processamento mecânico foram desenvolvidos e, atualmente, tem-se difundido o processamento mecânico à pressão atmosférica, utilizando-se discos cerâmicos paralelos que desfibrilam a parede celular das fibras, individualizando as micro/nanofibrilas (KLEMM et al., 2011).

O material resultante é relativamente heterogêneo, composto por nanofibrilas, microfibrilas, fragmentos de fibras e fibras (CHINGA-CARRASCO, 2011; TONOLI et al., 2016; SCATOLINO et al., 2017). A produção de celulose microfibrilada com elementos em nano escala utilizando-se desfibrilador mecânico também foi relatada por Iwamoto et al. (2007), Bufalino et al. (2014), Guimarães Jr. et al. (2015), Fonseca et al. (2016). Sabe-se, que para que haja um satisfatório grau de desfibrilação das fibras celulósicas, um alto consumo de energia é gerado, pois se faz necessário

passar a polpa celulósica diversas vezes pelos homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores ou grinders desfibriladores (SIQUEIRA et al., 2009; BUFALINO et al., 2014; BUFALINO et al., 2015).

Outros métodos mecânicos vêm sendo empregados como o cryocrushing, bem como tratamentos ultrassônicos de alta intensidade com vistas a reduzir o excessivo consumo de energia (MOON et al., 2011). Além disso, diversos pré-tratamentos químicos e enzimáticos vem sendo desenvolvidos ao longo dos anos, conforme reportado na literatura (ISOGAI et al., 2010; KLEMM et al., 2011; MOON et al., 2011; SVAGAN, 2008).

Atraindo um interesse significativo nas últimas décadas devido ao seu potencial e características únicas, as micro/nanofibrilas impulsionam o campo em forte expansão de materiais e nanocompósitos sustentáveis. Suas áreas potenciais de aplicação incluem agentes de reforço em nanocompósitos, papéis, filmes biodegradáveis, barreiras para embalagem, agentes estabilizantes em dispersões para filmes e membranas técnicas, aditivos em alimentos, agentes de textura em cosméticos, tintas, fibrocimento e dispositivos médicos, como curativos e implantes bioativos (UL-ISLAM et al., 2014; FONSECA et al. 2016; ARANTES et al., 2017, MIRMEHDI et al. 2018).

2.3 Aplicações da celulose

No Brasil, o setor de árvores plantadas tem impacto relevante na economia, com representatividade de 6,9% no PIB Industrial; com uma área de plantio de aproximadamente 7,83 milhões de hectares de árvores plantadas de eucalipto, pinus e demais espécies, dos quais cerca de 36% são voltados para indústrias ligadas a produção de celulose e papel (IBÁ, 2018).

Uma dominante parte da produção de celulose no Brasil se destina a indústria de papel e embalagens (LANDIM et al. 2015), entretanto, outros usos a esse material podem ser destacados, como por exemplo, na indústria têxtil, na qual é utilizada para fabricação da viscose utilizada para fazer tecidos, na indústria farmacêutica a celulose é utilizada para revestimento de comprimidos e cápsulas para medicamentos. Na indústria alimentícia, suas aplicações são diversas, desde a produção de tripa de celulose para confecção de embutidos (salsichas, linguças, etc) até sua utilização como emulsificantes, espessantes e estabilizantes que entram na composição de alimentos como sorvete, hambúrguer, queijos, entre outros. Na construção civil a celulose também é utilizada para a confecção de painéis utilizados para divisórias de ambiente, conhecidos como

drywall. Na medicina, pode ser utilizada como matéria prima de um curativo de biocelulose, utilizado para o tratamento de feridas cutâneas que apresentam perda de tecido de pele, incluindo queimaduras de segundo grau (KLEM, 2005; BELGACEM; GANDINI, 2011)

Novos usos e aplicações para esse produto de origem natural vem surgindo ano após ano, seja através de modificações de materiais já existentes ou como síntese de novos materiais incrementados com celulose nas suas mais diversas formas, em escala nanométrica ou in natura.

2.3.1 Filmes

Os filmes biopoliméricos são matérias que apresentam uma espessura fina e podem ser utilizados como barreira a agentes externos, como por exemplo, a umidade, gases e óleos. As propriedades mecânicas e de barreira dos filmes dependem da interação dos componentes do material (BALDWIN; CARRIEDO, 1994). A transformação da solução filmogênicas em filmes é consequência das interações inter e/ou intramoleculares que ocorrem. As características finais mudam de acordo com a concentração das macromoléculas, tipo de suporte utilizado, condições de secagem e condições ambientais (THARANATHAN, 2003).

Os filmes são desenvolvidos a partir de biopolímeros, como polissacarídeos e seus derivados (amido, celulose, quitosana, alginatos, pectinas e gomas), proteínas (caseína, zeína, glúten, colágeno entre outras), que são capazes de formar uma rede tridimensional semirígida que retém o solvente. O grau de coesão dessa rede tridimensional depende da estrutura do polímero, do processo de fabricação, dos fatores físicos (temperatura, técnica de evaporação e aplicação) e da presença e natureza do plastificante (GONTARD et al, 1993; MORAES, 2013).

Existem diversas técnicas para a deposição de filmes como “dip-coating”, “spin-coating” e casting. Destaca-se o método de casting, pois é a mais empregada em escala laboratorial para formulação de filmes biodegradáveis e mostra bons resultados (MALI et al., 2010).

A técnica de casting é baseada no espalhamento da solução precursora da amostra sobre um substrato. Após a evaporação total do solvente utilizado, o filme é formado sobre a superfície do substrato. A evaporação do solvente pode ser acelerada por aquecimento (AMBROSI et al., 2008).

A metodologia de casting consiste na metodologia mais utilizada na literatura sobre biofilmes, entretanto apresenta algumas desvantagens, como:

- Filmes se aderem ao suporte, dificultando a sua retirada;
- Dificuldade de interação de materiais de naturezas distintas;

- Dificuldade de aumento de escala (scale-up para a escala industrial);

Para a formação do filme é necessário que a macromolécula possua a capacidade de formar uma matriz contínua e coesa (KROCHTA et al., 1994; MORAES, 2013).

A espessura influencia diretamente as propriedades mecânicas e a permeabilidade ao vapor de água (CARVALHO, 1997; SOBRAL, 2000; MALI et al., 2004; GALDEANO, 2007). Quanto maior a espessura de um filme menor a permeabilidade ao vapor de água. Isso pode ser explicado teoricamente pela a lei de difusão de Fick e a lei de sorção de Henry, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) de um filme plástico sintético varia com o inverso da sua espessura, enquanto que a permeabilidade ao vapor de água (PVA) deve ser constante (CUQ et al., 1996).

2.4 Embalagens multicamadas

Com o aumento populacional e conseqüentemente o avanço tecnológico a produção de resíduos sólidos aumentou drasticamente nas últimas décadas, impulsionando ainda mais medidas de controle a esse problema. Entre os fatores responsáveis por esse aumento está o consumo de produtos industrializado e suas respectivas embalagens que atuam como proteção ao produto (LANDIM et al., 2015). Aproximadamente 30% dos resíduos sólidos gerados vêm de embalagens, que em quase sua grande maioria são fabricadas a partir de fontes não renováveis e não biodegradáveis, como os plásticos derivados de polímeros (WALDMAN, 2011; KOHMANN et al., 2016).

De acordo com o Decreto da Lei 986 de 21 de outubro de 1969, inciso XIII, embalagem pode ser definida como “qualquer forma pela qual o “alimento” tenha sido acondicionado, guardado, empacotado ou envasado”, tendo como princípio atuar como uma barreira inerte entre o produto e o ambiente, proporcionando segurança e permitindo que estes tenham uma ampla distribuição (LANDIM et al., 2015).

As embalagens podem ser classificadas de diversas maneiras, quanto a sua função, finalidade, movimentação e utilidades. São classificadas em: embalagens primárias, embalagens secundárias e embalagens terciárias. As embalagens primárias são aquelas que estão em contato direto com o produto e com o consumidor final no ponto de venda. As secundárias têm como objetivo conter uma ou mais embalagens primárias, com a função de protegê-las, muitas vezes não sendo indicadas para transporte e sendo responsáveis pela comunicação. Já as terciárias facilitam a logística das

embalagens secundárias e/ou primárias, e são responsáveis pela proteção durante o transporte, a estocagem e a distribuição.

Aquelas com maior quantidade de camadas, ou também chamadas de embalagens multicamadas, destacam-se, elas são elaboradas a partir da combinação de dois ou mais materiais e tem a função de promover melhor propriedade de barreira, além de maior praticidade. Podem ser laminadas, cartonadas, entre outras. As laminadas são formadas por sobreposição de materiais, como filmes plásticos, metalizados e/ou papéis, e as cartonadas recebem esse nome quando um dos filmes é o papel cartão. Dentre os tipos de embalagens multicamadas, as cartonadas são as mais utilizadas para processos com maior temperatura (LANDIM et al., 2015).

Suas principais aplicações estão relacionadas com contenção, proteção e comunicação. Segundo o Instituto de embalagens (2009), toda embalagem deve ser devidamente elaborada pensando na facilidade no processo de envasamento e contenção para que o produto não seja contaminado de nenhuma forma após o envase e a última selagem, até o uso do produto pelo consumidor. Deve oferecer proteção “contrachocos” que podem ocasionar possíveis perdas de produtos e contra-ataques ambientais como alterações microorgânicas, enzimáticas, físicas, químicas ou de predadores.

A concepção de embalagem está relacionada ao aproveitamento de inúmeros materiais de forma a minimizar custos e maximizar funções na sua utilização, no consumo, transporte, armazenagem, distribuição, na venda e que as mesmas precisam ser geridas com responsabilidade ambiental. (FERREIRA, et al.,2019).

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

AMBROSI, A.; MORRIN A.; SMYTH, M.R.; KILLARD, A.J. The application of conducting polymer nanoparticle electrodes to the sensing of ascorbic acid; **Analytica Chimica Acta**, v.609, p.37-43, 2008.

ARANTES, A. C. C.; ALMEIDA, C.; DAUZACKER, L.; BIANCHI, M. L.; WOOD, D.; WILLIAMS, T.; ORTS, W. J.; TONOLI, G. H. D. Renewable hybrid nanocatalyst from magnetite and cellulose for treatment of textile effluents. **Carbohydrate Polymers**, p. 101-107, 2017.

ASTM. (2002). **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**, Standard D882-02. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, p. 10.

ASTM. (2016). **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**, Standard E96 / E96M - 16. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, p. 14.

BALDWIN, E. A.; CARRIEDO, M. O. **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster (USA): Technomic Publishing Co, 1994.

BARREIROS, R. C., BOSSOLAN, G., TRINDADE, C. E. P. Frutose em humanos: Efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 377-389, 2005.

BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. (Ed.). **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Elsevier, 2011.

BERTERO, M; DE LA PUENTE, G; SEDRAN, U. Fuels from bio-oils: Bio-oil production from different residual sources, characterization and thermal conditioning. **Fuel**, p. 263-271, v. 95, 2012.

BROWN, E.E.; LABORIE, M.P. Bioengineering bacterial cellulose/poly(ethylene oxide) nanocomposites. **Biomacromolecules** v. 8, p. 3074–3081, 2007.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M. A. S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology & Biochemistry**. v. 38, p. 141-156, 2000.

BUCKERIDGE, M. S.; CAVALARI, A. A.; SILVA, G. B. DA. 2008. **Parede Celular**. In: Gilberto Barbante Kerbauy. (Org.). Fisiologia Vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 165-181.

BUFALINO, L.; MENDES, L. M.; TONOLI, G. H. D.; RODRIGUES, A.; FONSECA, A. S.; CUNHA, P. I. MARCONCINI, J. M. New products made with lignocellulosic nanofibers from Brazilian amazon forest. IOP Conf. Series: **Materials Science and Engineering**, v. 64, p. 1-5, 2014.

BUFALINO, L.; SENA NETO, A. R.; TONOLI, G. H. D.; FONSECA, A. S.; COSTA, T. G.; MARCONCINI, J. M.; COLODETTE, J. L.; LABORY, C. R. G. MENDES, L.M. How the chemical nature of Brazilian hardwoods affects nanofibrillation of cellulose fibers and film optical quality. **Cellulose**, v. 22, p. 3657-6372, 2015.

CALDEIRA, M. S. **Produção de nanocompósito utilizando diferentes fontes de celulose como reforço**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrônômicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

CAMPÊLO, J. M. **Produção de celulose bacteriana em meio de glicerol**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

CARVALHO, R. M. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina**. 1997. Dissertação (Mestrado Engenharia de Alimentos) – Universidade de Campinas. Campinas, 1997.

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

CHINGA-CARRASCO, G. Cellulose fibres, nanofibrils and microfibrils: The morphological sequence of MFC components from a plant physiology and fibre technology point of view. **Nanoscale Research Letters**, v. 6 p. 1-7, 2011.

COSTA, A. F. S.; ROCHA, M. A.; SARUBBO, L. A. Bacterial cellulose: an ecofriendly biotextile. **International Journal of Textile and Fashion Technology**, v. 7, p. 11-26, 2017.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein – based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science**, v. 61, p. 580- 584, 1996.

CZAJA, W., KRZYSTYNOWICZ, A., BIELECKI, S., BROWN, R. J. Microbial cellulose - the natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, p. 145–151, 2006.

DAHMAN, Y. Nanostructured biomaterials and biocomposites from bacterial cellulose nanofibers. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 9, p. 5105–5022, 2009.

DONINI, I. A. N, SALVI. D. T. B., FUKOMOTO, F. K., LUSTRI, W. R., BARUD, H. S., MARCHETO. R., MESSADDEQ, Y., RIBEIRO, S. J. L. Biossínese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética química**. v. 35, p. 165-178, 2010.

DUARTE, E. B.; ANDRADE, F. K.; LIMA, H. L. S.; NASCIMENTO, E. S. do; CARNEIRO, M. J. M.; BORGES, M. de F.; LUZ, E. P. C. G.; CHAGAS, B. S. das; ROSA, M. F. Celulose Bacteriana: Propriedades, Meios Fermentativos e Aplicações. 2019. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109174>>. Acesso em: 15 out. 2019.

DUFRESNE, A. **Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials**. 2 ed. Walter de Gruyter, 2012.

EL-SAIED, H.; EL-DIWANY, A. I.; BASTA, A. H.; ATWA, N. A.; EL-GHWAS, D. E. Production and characterization of economical bacterial cellulose. **BioResources**, v. 3, p. 1196–1217, 2008.

FENGEL, D., WEGENER, G. **Wood, chemistry, ultrastructure, reactions**. New York :Waster & Grugter, 1984. 613p.

FERREIRA, D.; SILVA, P.; MADEIRA, T. F. **Embalagens verdes: conceitos, materiais e aplicações**. Revista americana de empreendedorismo e inovação. v. 1, p. 28-39, 2019.

FERREIRA, V. F., ROCHA, D. R., SILVA, F. C. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, v. 32, p. 623-638, 2009.

FONSECA, C. S. SILVA, T. F. SILVA, M. F. OLIVEIRA, I. R. C. MENDES, R. F. HEIN, P. R. G. MENDES, L. M. TONOLI, G. H. D. Eucalyptus cellulose micro/nanofibers in extruded fiber-cement composites. **Cerne** v. 22 p. 1-9, 2016.

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

GALDEANO, M. C. **Filmes e laminados biodegradáveis de amido de aveia com diferentes plastificantes, produzidos por casting e extrusão**. 2007. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina. 2007.

GALLEGOS, A. M. A., CARRERA, S. H., PARRA, R., KESHAVARZ, T., IQBAL, H. M. N. Bacterial Cellulose: A sustainable source to developed value-added Products – A review. **BioResource**, v. 11 p. 5641-5655, 2016.

GAMA, M.; GATENHOLM, P.; KLEMM, D. **Bacterial nanocellulose: a sophisticated multifunctional material**. Florida: CRC Press, 2012. 304 p.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v.57, p.190–195, 1993.

GOPI, S.; BALAKRISHNAN, P.; CHANDRADHARA, D.; POOVATHANKANDY D.; THOMAS S. General scenarios of cellulose and its use in the biomedical field. **Materials Today Chemistry**, v. 13, p. 59-78, 2019.

GUIMARÃES JR., M.; BOTARO, V.R.; NOVACK, K.M.; FLAUZINO NETO, W.P.; MENDES, L.M.; TONOLI, G.H.D. Preparation of cellulose nanofibrils from bamboo pulp by mechanical defibrillation for their applications in biodegradable composites. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, p. 1-18, 2015.

GUIMARÃES JR., M.; BOTARO, V.R.; NOVACK, K.M.; TEIXEIRA, F.G.; TONOLI, G.H.D. Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 72–83, 2015.

HEINZE, T., EL SEOUD, O. A., KOSCHELLA, A. Production and characteristics of cellulose from different sources. **Cellulose Derivatives**. p. 1-38, 2018.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES (IBÁ). **Relatório anual da Ibá 2017**. São Paulo: Ibá, p. 80, 2018.

INSTITUTO DE EMBALAGENS, **Embalagens Flexíveis**. São Paulo: Instituto de Embalagens, 2009.

IQBAL, H. M. N., KYAZZE, G., KESHAVARZ, T. Advances in the valorization of lignocellulosic materials by biotechnology: An overview, **BioResources** v. 8, p. 3157- 3176, 2013.

IQBAL, H. M. N. **Development of bio-composites with novel characteristics through enzymatic grafting**, Tese de Doutorado, University of Westminster, London, United Kingdom. 2015.

IQBAL, H. M. N., KYAZZE, G., LOCKE, I. C., TRON, T., AND KESHAVARZ, T. Development of bio-composites with novel characteristics: Evaluation of phenol-induced

antibacterial, biocompatible and biodegradable behaviours. **Carbohydrate Polymers**. v. 131, p. 197-207, 2015.

ISOGAI, T. SAITO, T. ISOGAI, A. TEMPO electro-mediated oxidation of some polysaccharides including regenerated cellulose fiber. **Biomacromolecules**. v. 11 p. 1593–1599, 2010.

IWAMOTO, S.; NAKAGAITO, A.N.; YANO, H. Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. **Applied Physics A**, v. 89, p. 461–466, 2007.

JONKER, Michiel TO. Absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to cellulose. **Chemosphere**, v. 70, n. 5, p. 778-782, 2008.

JONAS, R.; FARAH, L.F. Production and Application of Microbial Cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, 101-106. 1998.

KESHK, M. A. S. Bacterial Cellulose Production and Its Industrial Applications. **Bioprocess Biotechnology** v.4, p. 1-10, 2014.

KHALIL, H. P. S. A.; DAVOUDPOUR, Y.; ISLAM, MD.N.; MUSTAPHA, A.; SUDESH, K.; DUNGANI, R.; JAWAID, M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 649-665, 2014.

KIM, Y. J; KIM, J. N; WEE, Y. J.; PARK, D. H.; RYU, H. W. Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter* sp. PKY5 in a rotary biofilm contactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 137, p. 529-537, 2007.

KLEMM, D.; HEUBLEIN B.; FINK, H. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte chemie international edition**, v. 44, p. 3358-3393, 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.

KOHMANN, D.; LÜTTJOHANN, T. A.; SEIDENBECHER, P. COULON, H. C. Pape Short-term depression of gap junctional coupling in reticular thalamic neurons of absence epileptic rats. **The Journal of Physiology**, v. 594, p. 5695-5710, 2016.

KROCHTA, J. M., BALDWIN, E. A., NISPERO-CARRIEDO, M. O. **Edible Coating and Films to Improve Food Quality**. Technomic Publishing Company, 10 ed, p. 379, 1994.

KUMAR, P., BARRETT, D. M., DELWICHE, M. J., STROEVE, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial and Engineering Chemistry Research** v. 48, p. 3713-3729, 2009.

LANDIM, A. P. M., BERNARDO, C. O., MARTINS, I. B. A., FRANCISCO, M. R., SANTOS, M. B., MELO, N. R. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. **Polímeros**. v. 1, p.1-11, 2015.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose - its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 735-764, 2012.

LEE, K. Y.; BULDUM, G.; MANTALARIS, A.; BISMARCK, A. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, p. 10-32, 2014.

LIMA, L. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS M. V.; BARUDA, H. S.; HENRIQUE M. A.; PASQUINIC, D.; PECORAROA, E.; RIBEIRO, S. J. L. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Química Nova**, v. 38, p. 1140-1147, 2015.

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

MALI, S.; KARAM, L. B.; RAMOS, L.P.; GROSSMANN, M.V.E. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Carbohydrates polymers**, v. 52, p. 7720-7725, 2004.

MILANEZ, D. H.; MORATO DO AMARAL, R.; LOPES DE FARIA, L. I.; GREGOLIN, J. A. R. Assessing nanocellulose developments using science and technology indicators. **Materials Research**, v. 16, p. 635-641, 2013.

MIRMEHDI, S.; HEIN, P. R. G. H.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; DIAS, M. V.; TONOLI, G. H. D. Cellulose nanofibrils/ nanoclay hybrid composite as a paper coating: Effects of spray time, nanoclay content and corona discharge on barrier and mechanical properties of the coated papers. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 87-94, 2018.

MOON, R.J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSENF, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**. v. 40, p. 3941–3994, 2011.

MORAES, P. R. F. D. S. **Estudo comparativo da membrana e do hidogel de celulose bacteriana com colágeno em dorso de ratos**. 2013. Dissertação (Mestrado em Interunidades em Bioengenharia) - Universidade de São Paulo. São Carlos. 2013.

NEERA, RAMANA, K. V., BATRA, H. V. Occurrence of Cellulose-Producing *Gluconacetobacter* spp. in Fruit Samples and Kombucha Tea, and Production of the Biopolymer. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 176, p. 1162-1173, 2015.

NISHMURA, H., KAMIYA, A., NAGATA, T., KATAHIRA, M., WATANABE, T. Direct evidence for α ether linkage between lignin and carbohydrates in wood cell walls. *Scientific Reports*. v. 8, p 1-11, 2018.

OIKAWA, T., OHTORI, T., AMEYAMA, M. Production of Cellulose from D-Mannitol by *Acetobacter xylinum* KU-1. v. 59, p. 331-332. 2014.

OLIVEIRA, Marielle de. Produção de celulose bacteriana em cultura estática utilizando diferentes fontes de carbono. 2016 – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Técnico de Joinville, 2016.

PECORARO E.; MANZANI, D.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO SIDNEY, J.L. Bacterial Cellulose from *Gluconacetobacter xylinus*: Preparation, Properties and Applications. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. Cap.17. p. 369-383, 2008.

RANI, M. U.; APPAIAH, K. A. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 using coffee cherry husk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 755-762, 2013.

RUKA, D. R.; SIMON, G. P.; DEAN, K. M. Altering the growth conditions of *Gluconacetobacter xylinus* to maximize the yield of bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**. v. 89, p. 613-622, 2012.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, p.185-194, 2009.

SANTOS, S. M.; CARBAJO, J. M.; VILLAR, J. C. The effect of carbon and nitrogen sources on bacterial cellulose production and properties from *gluconacetobacter sucrofermentans* CECT 7291 focused on its use in degraded paper restoration. **BioResources**, v. 8, p. 3630–3645, 2013.

SCATOLINO, M.V., BUFALINO, L., MENDES, L.M., GUIMARÃES JÚNIOR, M., TONOLI, G.H.D. Impact of nanofibrillation degree of eucalyptus and Amazonian hardwood

sawdust on physical properties of cellulose nanofibril films. **Wood Science and Technology**, v. 51, p. 1095–1115. 2017.

SCATOLINO, M.V. SILVA, D. W. BUFALINO, L. TONOLI, G. H. D. MENDES, L. M. Influence of cellulose viscosity and residual lignin on water absorption of nanofibril films. **Procedia Engineering**, v. 200, p. 155-161. 2017.

SHAH, N.; UL-ISLAM, M.; KHATTAK, W. A.; PARK, J. K. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1585-1598, 2013.

SHI, Z.; ZHANG, Y.; PHILLIPS, G. O.; YANG, G. Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 539-545, 2014.

SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. **Cellulose**, v. 17, p. 459–494, 2010.

SILVA, D. J.; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. **O Papel**, v. 70, n. 7, p. 34-52, 2009.

SIQUEIRA G, BRAS J, DUFRESNE A. Cellulose Whiskers versus Microfibrils: Influence of the Nature of the Nanoparticle and its Surface Functionalization on the Thermal and Mechanical Properties of Nanocomposites. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 425-432, 2009.

SIXTA, H. **Handbook of Pulp**. Weinheim: Wiley Online Book, 2006.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1-14, 2000.

SON, H. J.; HEO, M.S.; KIM, Y.G.; LEE, S.J. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter*. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 33, n. 1, p. 1-5, 2001.

SORRENTINO, W. **Alternativas de uma fibra vegetal**. 2017. Disponível em: <[http://waltersorrentino.com.br/2017/03/27/alternativas-de-uma-fibra-vegetal-por-revis ta-fapesp/](http://waltersorrentino.com.br/2017/03/27/alternativas-de-uma-fibra-vegetal-por-revis-ta-fapesp/)>. Acesso em: 10 junho 2019.

STELTE, W., SANADI, A.R. Preparation and characterization of cellulose nanofibers from two commercial hardwood and softwood pulps. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, p. 11211–11219, 2009.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, p. 111, 2002.

SVAGAN, A. Bio-inspired cellulose nanocomposites and foams based on starch matrix. 2008. Tese (Doutorado em KTH Chemical Science and Engineering) – Departamento de Tecnologia em Fibras e Polímeros, Stockholm, Swiss, 2008.

TANG, W.; JIA, S.; JIA, Y.; YANG, H. The influence of fermentation conditions and posttreatment methods on porosity of bacterial cellulose membrane. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 125-131, 2010.

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

TONOLI, G. H. D., HOLTMAN, K.M., GLENN, G., FONSECA, A.S., WOOD, D., WILLIAMS, T., SA, V.A., TORRES, L., KLAMCZYNSKI, A., ORTS, W.J. Properties of cellulose micro/nanofibers obtained from eucalyptus pulp fiber treated with anaerobic digestate and high shear mixing. **Cellulose**, v. 23, p. 1239–1256, 2016.

TURECK, B. C. Efeito do meio de cultivo e do tratamento de purificação nas propriedades térmicas e químicas da celulose bacteriana. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade da Região de Joinville, 2017.

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

UL-ISLAM, M.; KHATTAK, W.A.; ULLAH, M. W.; KHAN, S. PARK, J. K. Synthesis of regenerated bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposite films for biomedical applications. **Cellulose**, v. 21 p. 433–447, 2014.

VANDAMME, E. J., DE BAETS, S., VANBAELEN, A., JORIS, K., AND DE WULF, P. Improved production of bacterial cellulose and its application potential. **Polymer Degradation and Stability** v. 59 p. 93-99. 1998.

VARSHNEY, V.K., NAITHANI, S. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**. Cap. 2 - Chemical functionalization of cellulose derived from nonconventional sources. *Cellulose Fibers: Bio- and Nano-Polymer Composites*, p. 43–60. 2011.

WALDMAN, M. **De onde vem o lixo produzido no mundo**. *Jornal Estadão*, 28 de setembro de 2011. Disponível em: Acesso em: 06 out. 2019.

WALISZEWSKA, B.; MLECZEK, M.; ZBOROWSKA, M.; GOLIŃSKI, P.; RUTKOWSKI P.; SZENTNER. K. Changes in the chemical composition and the structure of cellulose and lignin in elm wood exposed to various forms of arsenic. **Cellulose**, v. 26, n. 10, p. 6303-6315, 2019.

WANG, J.; ZHU, Y.; DU, J. Bacterial cellulose: a natural nanomaterial for biomedical applications. **Journal of mechanics in medicine and biology**. v. 11, p. 285-306, 2011.

YAN, Z.; CHEN, S.; WANG, H.; WANG, B.; WANG, C.; JIANG, J. Cellulose synthesized by *Acetobacter xylinum* in the presence of multi-walled carbon nanotubes. **Carbohydrate Research, Amsterdam**, v. 343, p. 73-78, 2008.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

HYBRID FILMS FROM PLANT AND BACTERIAL NANOCELLULOSE: MECHANICAL AND BARRIER PROPERTIES

DOI: 10.1515/npprj-2021-0036

ABSTRACT

The accumulation of petroleum polymers compromises biodiversity and causes environmental problems. Nanocellulose enhances biodegradability and can improve the physical-mechanical performance of materials. The objective was to produce and characterize hybrid films composed of bacterial cellulose (BC) and plant nanocellulose from *Eucalyptus* (Euc) or *Pinus* (Pin). Films were produced by the casting method using filmogenic suspensions with different cellulose nanofibrils (CNFs) proportions from both the sources (0, 25, 50, 75 and 100%). CNFs suspensions were characterized by transmission electron microscopy. The morphology of the films was analyzed using scanning electron microscopy. In addition, the transparency, contact angle, wettability, oil and water vapor barrier and mechanical properties were also evaluated. The contact angles were smaller for films with BC and the wettability was greater when comparing BC with plant CNFs ($0.10^\circ \text{ s}^{-1}$ for 75% Euc/25% BC and $0.20^\circ \text{ s}^{-1}$ for 25% Euc/75% BC). The water vapor permeability (WVP) of the 100% BC films and the 25% Euc/75% BC composition were the highest among the studied compositions. Tensile strength, Young's modulus and puncture strength decreased considerably with the addition of BC in the films. More studies regarding pre-treatments to purify BC are needed to improve the mechanical properties of the films.

Keywords: Biomaterial. Membrane. Microfibrillated cellulose. Nanofibrils. Renewable materials.

INTRODUCTION

The consumption and accumulation of non-renewable polymers have damaged ecosystems over generations, compromising the quality of life of the world population (Cox et al. 2019; Lavers et al. 2019). To mitigate these environmental problems, the use of biopolymers can be a sustainable alternative (Lago et al. 2020; Trache et al. 2020).

Cellulose is highly versatile and has a great industrial relevance due to its application in various sectors. The number of studies related to its production and use is increasing, and these studies combined with nanotechnology have substantially advanced the current research (Freire et al. 2013; Qiu and Netravali 2014; Andriani et al. 2020; Cazón et al. 2020a). These studies aim to obtain new alternatives to non-renewable materials by characterizing the properties of nanocellulose, also known as microfibrillated cellulose (MFCs), nanofibers or cellulose nanofibrils (CNFs). The production of CNFs consists in performing mechanical, chemical and/or biological treatments to separate the nanocellulose filaments that constitute the plant cell wall (Amorim et al. 2020).

Research points out that CNFs show great potential for the development of new products and materials due to their mechanical, optical, dielectric and barrier properties due to the three-dimensional network architecture of CNFs that present high specific surface area that facilitates interactivity with polymer matrices in the reinforcement of composites, ion adsorption and reduction of gas diffusion through films/membranes (Fonseca et al. 2016; Lopes et al. 2018; Yook et al. 2020; Fonseca et al. 2021).

Among the main applications studied for CNFs, more recent studies address issues related to their use in the production of nanostructured or coated packaging (Ferrer et al. 2017; Matos et al. 2019, Lindström and Österberg, 2020), production and use of CNFs from agricultural and wood waste (Scatolino et al. 2018; Kaur et al. 2020; Kamel et al. 2020), biomedical applications (Nehra and Chauhan 2020), and in electrical devices (Xu et al. 2018).

The traditional genera *Eucalyptus* (Euc) and *Pinus* (Pin) are the most common for production of commercial pulps in the Brazilian cellulose industries, due to the strong know-how of management and exploration, and good adaptability to the country's climatic conditions. The literature is rich in studies on the production and application of CNFs for production of films and coatings for packaging papers involving both the genera mentioned (Scatolino et al. 2017a; Scatolino et al. 2019; Durães et al. 2020; Durães et al. 2021). In addition, CNFs can be obtained

from other sources besides plants, such as bacteria and algae (Jozala et al. 2016). Bacterial cellulose (BC) or microbial cellulose (MC) consists of an extracellular polysaccharide widely used in several applications due to its degree of purity (Andriani et al. 2020), its excellent mechanical properties, and biodegradability compared with plant cellulose or synthetic polymers (Uraki et al. 2002).

The BC structure consists of a three-dimensional system of ultrafine networks of nanofibrils, with diameters ranging from 40 to 60 nm and lengths from 1 to 10 μm , resulting in a high crystallinity degree and great mechanical strength (Yin et al. 2014). BC has distinct structure and properties, that confer it advantageous points such as: high purity compared to the structures synthesized by plants, since the plant cellulose are normally in strict association with other components such as lignin and hemicellulose; production and purification of BC is relatively simple, dispensing high energy consumption and/or intensive chemical processes (Kongruang, 2008).

In addition, BC shows high capacity of water retention due to the mentioned purity and 3D structure of the network (Rebelo et al. 2018) and formation of ultrafine structure, resulting from high degree of polymerization (DP can reach up to 20,000). The mechanical properties as Young's modulus (up to 114 GPa for a simple BC nanofibril) are similar to many high-strength synthetic fibers (Qiu and Netravali, 2014). BC also presents high thermal stability, so that it could act as a suitable thermal stabilizer when added to polymer resins (Qiu and Netravali, 2014). The BC membrane morphology can be developed in various shapes, due to static cultivation conditions, varying the mold and the cultivation time (Vieira et al. 2013; Qiu and Netravali, 2014). Additionally, this material has biocompatibility and workability for biomedical applications, including dressings and drug delivery systems (Yin et al. 2014).

The BC cultivation can be performed through static or agitation methods (Freire et al. 2013; Wu and Li 2015) using a symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY), its chemical properties are similar to those of cellulose from plant sources, and its fibers are originally produced in nanometric dimensions (Cacicedo et al. 2016). The mechanical and barrier properties of BC films have already been studied when in combination with other compounds such as: graphene oxide (Guan et al. 2019) chitosan and polyvinyl alcohol (Cazón et al. 2019), glycerol (Cazón et al. 2020a), and metal carbides (Ma et al. 2021), showing important results in development of new high value-added materials.

Despite the increase in scientific production on topics related to BC in the last decade (Mautner et al. 2018; Lin et al. 2020), there are still numerous unanswered questions in the literature on this topic, especially regarding its use in other products in nanoscale. The current literature presents a strong deficit in relation to research that addresses the mixture of nanocelluloses from different sources, such as bacterial and vegetal ones.

Further studies on bacterial and plant CNFs hybrid films could result in final products with suitable mechanical and barrier properties, in addition to the intrinsic biodegradability characteristics. The combination of CNFs from vegetal sources and BC can result in obtainment of films, nanopapers or composites with high physical-chemical and barrier performance (Mautner et al. 2018). In general, BC CNFs tend to show a larger diameter and degree of polymerization (DP) which favors the formation of aggregates and voids in the material (Vilela et al. 2017), making it heterogeneous and resulting in unpredictability in their physical and mechanical properties (Bassem et al. 2011, Lee et al. 2012, Lee et al. 2014). Thus, due to the smaller diameters and DP (Blanco et al. 2018, Tang et al. 2021), the combination of vegetal CNFs with BC can favor the filling of spaces in the three-dimensional network, improving the characteristics of films and composites due to greater homogeneity and increased density (Yuwawech et al. 2015, Chen et al. 2018). However, few studies explore this theme. The objective of this study was to produce films composed by different proportions of BC and plant CNFs, and characterize them by their mechanical and barrier properties.

MATERIALS AND METHODS

Production of BC and plant CNFs

Commercial bleached pulps of Euc and Pin with the following chemical composition: soluble lignin 0.2%, cellulose 84%, and hemicellulose 16% for Euc; and soluble lignin 0.2%, cellulose 83%, and hemicellulose 17% for Pin pulp. Both the bleached pulps from plant sources were fibrillated in the Laboratory of Forest Nanotechnology of the Biomaterials Complex of the Federal University of Lavras. The pulps were hydrated in deionized water in a ratio of 2.5% (w v⁻¹) for 3 days with stirring for 15 min per day at 500 rpm. The Euc and Pin pulps were diluted to concentrations of 2% and 1.5% (w v⁻¹), respectively, determined by previous studies (Scatolino et al. 2017a; Scatolino et al. 2019; Dias et al. 2019), and regarding the specific characteristics of each pulp, such as fiber length for defibrillation. Both pulps were subjected to mechanical shear using a Supermasscolloider Masuko Sangyo (MKGA6-80, Kawaguchi - Japan) equipped with two stone

discs (one fixed and one in rotation) spaced at 100 μm , and adjusted to 1,500 rpm (Tonoli et al. 2016; Scatolino et al. 2017b); five passages were performed to obtain a well-fibrillated nanocellulose based on the work of Dias et al. (2019), Tonoli et al. (2019) and Lago et al. (2020).

The BC was produced in culture medium composed by commercial tea (*Camellia sinensis*) and deionized water in concentration of 3.3% (w v^{-1}) 150 g L^{-1} of sucrose, 10% of inoculum, and 5% of bacterial membrane. The conduction of BC was performed in a static medium, in local with available light and oxygen, at room temperature ($21 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) for 21 days, after which all biomembranes were collected and homogenized in a Turrax102 mixer for 15 min at 14,000 rpm. Due to the possible changes on membrane characteristics, this study did not use processes or products for aiming the membrane purification. When removed from the culture medium, BC carries residual components (nucleic acids, sugars and proteins) and residues from bacterial cells (Gea et al. 2011).

Production of films with BC and plant CNFs

The films were produced by the casting method from CNFs suspensions of BC, Pin, and Euc CNFs, besides hybrid suspensions of BC and plant CNFs. The suspensions were prepared in concentration of 1% (w v^{-1}). For each film, 60 mL of suspension with different proportions (0, 25, 50, 75, and 100%, based on dry mass of CNF) of the mentioned raw materials (Table 1). The suspensions were homogenized by strong mechanical stirring in mixer Turrax102 for 10 min at 15,000 rpm, being posteriorly deposited in acrylic petri dishes with 15 cm of diameter. The filmogenic suspensions were dried at room temperature ($21 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) until the complete detachment from the petri dish, forming films (Figure 1). The side of the film used in further analysis was the face exposed to the upper side.

Table 4. Proportions between bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs adopted for production of the films.

Composition	Proportions
1	100% BC
2	100% Euc
3	75% Euc/25% BC
4	50% Euc/50% BC
5	25% Euc/75% BC
6	100% Pin
7	75% Pin/25% BC
8	50% Pin/50% BC
9	25% Pin/75% BC

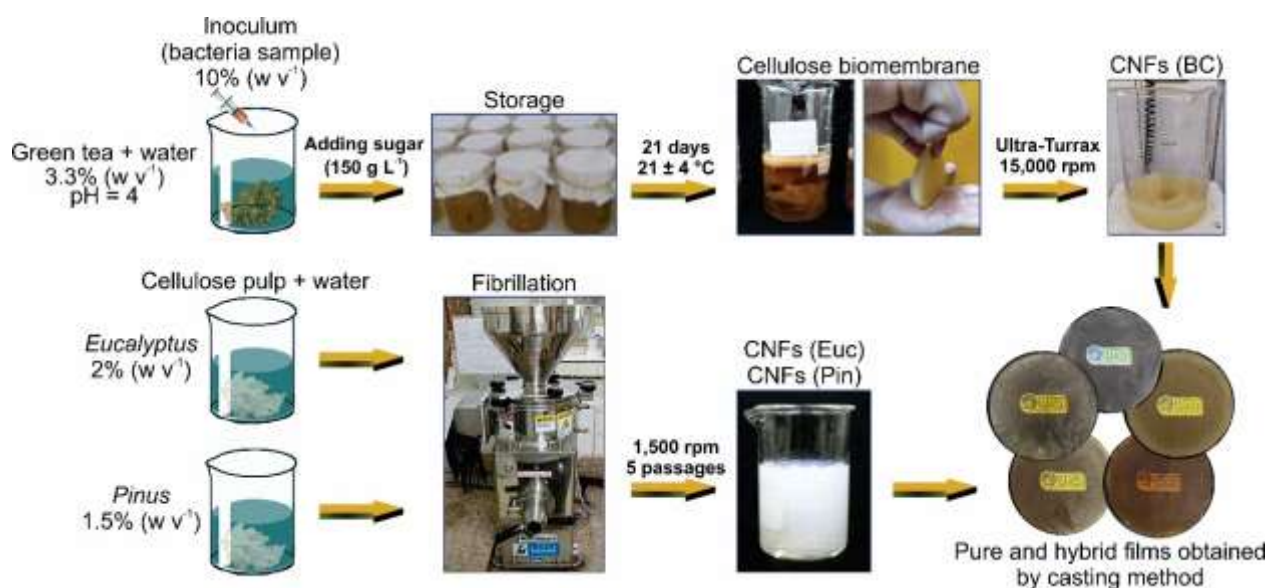


Figure 9. Flowchart for obtention of cellulose nanofibrils (CNFs) from bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs; the nanofibrils were used to produce pure and hybrid films with different proportions using the casting method.

Morphology of BC and plant CNFs

The morphology of the plant CNFs and BC were analyzed by transmission electron microscopy (MET), using a EM-109 (Zeiss®) microscope with voltage of 100 kV. Following the methodologies presented by Silva et al. (2020) and Fonseca et al. (2021), suspensions from both materials with a concentration of 0.001% (w/w) were prepared, and dispersed by sonication (40 kHz /20 min). Posteriorly, with a micropipette, 4 μ L of the suspensions were added in microgrids (400 mesh) containing FORMVAR, which were dried at room temperature. After drying, 4 μ L of uranyl acetate solution in 2% (w/w) were added. Diameter measurements of CNFs were performed for at least 200 individual structures in 10 images for each treatment, using the software ImageJ 1.47V® (Schneider et al. 2012). The desired CNF diameters were obtained by the software, proportionally to the scale (known distance) of the transmission electron microscope micrographs.

Transparency of the films

The transparency of the films was determined by measuring their transmittance percentage in a spectrophotometer UV/VIS SP 2000 (Bel®) adjusted in 550 nm, according to the procedures described in Desmaysons et al. (2017). The thicknesses of the films were measured with a Mitutoyo

flat tip micrometer (± 0.001 mm). The transparency was calculated following the methodology of Sothornvita et al. (2010), according to the Equation (1).

$$Tr = \frac{(\log T)}{th} \quad (1)$$

where Tr = transparency (%), T = transmittance in 550 nm (%), and th = film thickness (mm).

Morphology of films composed by BC and plant CNFs

Scanning electron microscopy (SEM) was performed for morphological characterization of the films using a LEO EVO 40 XVP microscope. Micrographs from the surface (face exposed to the upper side during the casting process) and cross-section were obtained for all film compositions. The samples (5×5 mm) were fixed on stubs with carbon tape and subjected to covering with gold before the analysis. The films were submerged in liquid nitrogen for cutting, reducing the effect of the cutting blade on the images.

Contact angle and wettability of the films

The contact angle was determined by the sessile drop method at room temperature (21 ± 4 °C) with a goniometer Drop Shape Analyzer (DSA25B, brand KRÜSS). The analysis was performed by measuring 10 samples for each composition with dimensions of 10×100 mm, fixed on slides with double-sided tapes. Distilled water drops with volume of $3.2 \mu\text{L}$ were deposited on the surface of the samples. For each sample, three measurements were performed, and the average contact angle was determined. Angles $< 90^\circ$ are characteristic of hydrophilic surfaces, whereas angles $\geq 90^\circ$ are characteristic of hydrophobic surfaces (Bačovská et al. 2016).

The wettability was determined according to the procedures described in TAPPI T 458 standard (TAPPI 2004) adapted, by measuring the contact angle variation between 5 and 60 s. Three measurements were performed for each sample on the face exposed to the upper side during the casting process. The wettability was calculated using Equation (2).

$$R = \frac{A - a}{55} \quad (2)$$

where R = wettability ($^\circ \text{s}^{-1}$), A = contact angle at 5 s, and a = contact angle at 60 s.

Barrier properties of the films

The water vapor permeability (WVP) was determined by gravimetric method according to the ASTM E96 M-16 standard (ASTM 2016) adapted by Guimarães Jr et al. (2015). Samples with 11 mm of diameter were fixed in a little glass bottle cap containing dried silica gel, so that the internal humidity in the capsule, was close to 0%. The capsules were placed in a hermetic desiccator at a temperature of 25 ± 1 °C, containing sodium chloride solution (NaCl) and humidity of $75 \pm 3\%$, according to ASTM E104-02 (ASTM 2012). The experiment was conducted in an air-conditioned chamber at a temperature of 20 ± 0.5 °C and humidity of $55 \pm 3\%$. The capsules were weighed every 24 h for 7 days using an analytical balance (± 0.001 g) and four replicates were evaluated for each film composition. The WVP was calculated using Equations 3 and 4.

$$WVTR = \frac{w}{t \times A} \quad (3)$$

$$WVP = \frac{WVTR \times th}{p \times (RH_o - RH_i)} \times 100 \quad (4)$$

where $WVTR$ = water vapor transmission rate ($\text{g m}^2 \text{day}^{-1}$); w = mass (g) of the capsule; t = time (h); and A = the exposed film area (mm^2). The $W t^{-1}$ ratio is calculated by linear regression of the experimental points of the capsule mass gain (g) as function of time (h). WVP = water vapor permeability ($\text{g}\cdot\text{mm}/\text{KPa}^{-1} \text{day m}^2$); th = film thickness (mm); p = water vapor pressure (2.7 kPa), and $RH_o - RH_i$ is the difference between the relative humidity outside and inside the capsule.

The grease resistance test was proceeded according to TAPPI T559 standard (TAPPI 2012), commonly also known as the KIT test. The procedures were based in the drip of reagents with various surface tension and viscosity on the sample surface. The solutions were classified from 1, less aggressive and composed only of oil, to 12, more aggressive and composed of toluene and n-heptane. Five samples of each composition were produced with dimensions of 51×152 mm. A drop of oily solution was applied on the sample surface, being removed after 15 s of contact with the film. The film is classified with the highest scored solution (from 1 to 12) that permeate through the sample, being this score compared with the other compositions.

Mechanical characterization of the films

The films were subjected to tensile strength test using a texturometer (Stable Microsystems, model TATX2i, England) equipped with a load cell of 1 kN. Ten samples with dimensions of 10

× 100 mm were evaluated for each composition. The tensile test was conducted at 2 mm s⁻¹, according to adapted procedures described in the ASTM D882-02 (ASTM 2002) standard.

Similarly, a total of 10 samples of each treatment with dimensions 30 x 30 mm were evaluated by puncture strength test. The films were fixed in the texturometer support with a central hole (2.1 cm in diameter). Posteriorly, a spherical tip with 5 mm of diameter goes down, being pressed against the film surface at a speed of 0.8 mm s⁻¹. The puncture strength was calculated by dividing the force value (N) at the break point by the thickness of the film (mm).

Data analysis

The data were analyzed using the statistical package R, version 3.5.1 (R Development Core Team 2019). Morphological analyzes of nanofibrils were performed using descriptive statistics. The results of the transparency, barrier and mechanical properties were subjected to the Shapiro-Wilk test of normality ($p < 0.05$), and subsequently to the Fisher test ($p < 0.05$). In case of significant difference between the averages, the Scott-Knott test was applied ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Morphology of BC and plant CNFs

The TEM micrographs show the structure of the raw materials BC, Euc, and Pin (Figure 2). In general, the diameters of the nanofibrils ranged between 20 and 124 nm. The majority of diameters ranged from 66 to 80 nm for BC (Figure 2A), from 20 to 40 nm for Euc CNFs (Figure 2C), and from 60 and 80 nm for Pin CNFs (Figure 2E). All the raw materials showed the CNFs network together non-fibrillated structures with partial cell wall deconstruction. Figure 2B, exclusively, showed small individuals of bacteria, resulting from the culture medium whose they were grown.

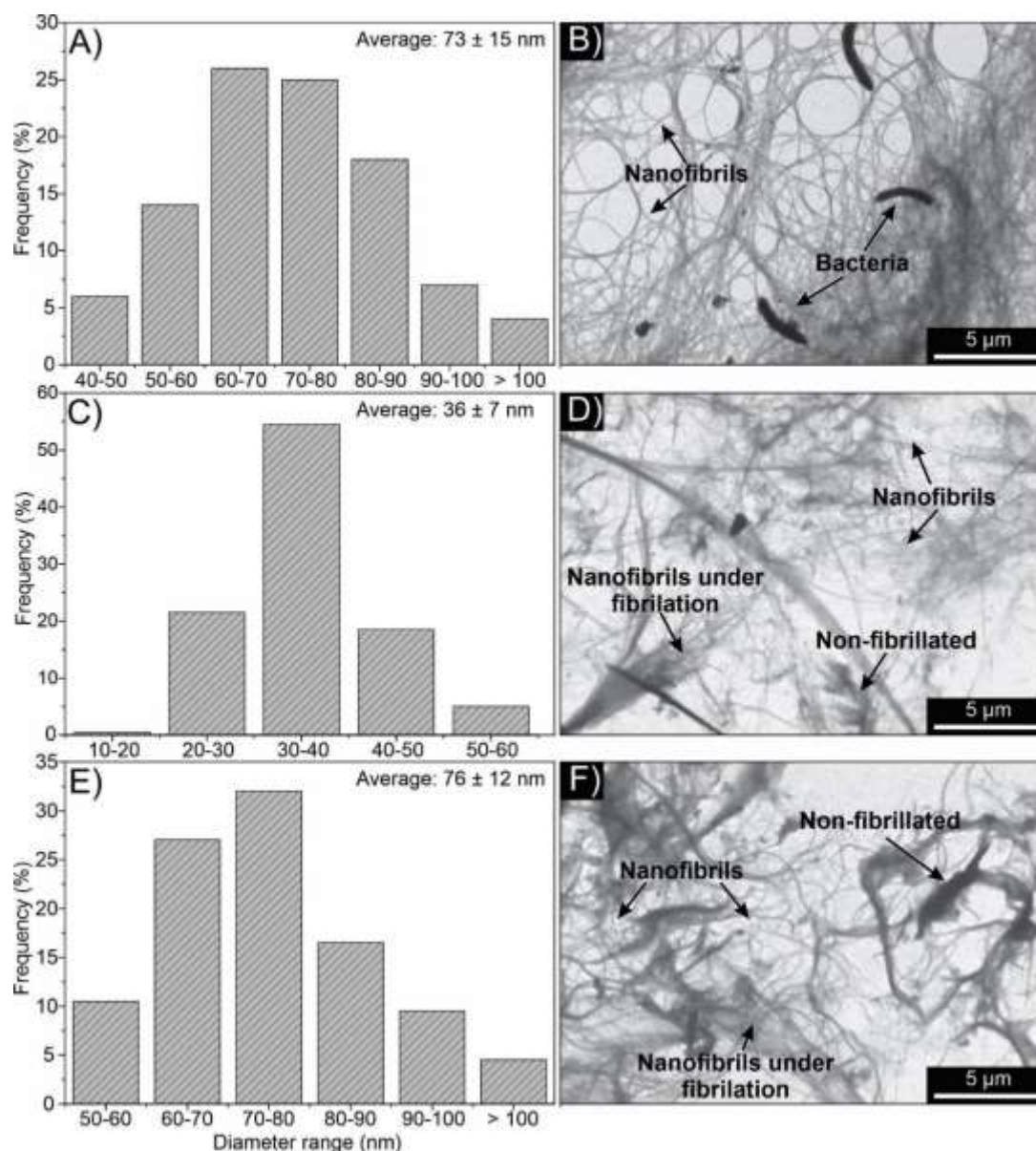


Figure 10. Distribution in diameter classes and micrographs obtained by TEM from the nanofibrils of BC (A–B), Euc (C–D), and Pin (E–F).

Compared with Euc and Pin, the BC nanofibrils dimensions were more homogeneous. This is explained by the synthesis of BC, which occurs continuously and generates longer and less fractured nanofibril bundles (Wang et al. 2017). According to Cazón et al. (2020a), the structure of BC is similar to plant CNFs, structured in a three-dimensional network (Figure 2B) with high surface area and porosity. As previously mentioned, one of the advantages of applying BC is the natural formation in nanoscale (Molina-Ramírez et al. 2018), and in absence of hemicelluloses and lignin, fact that saves energy that would be spent during the CNFs production process.

Dias et al. (2019) evaluated the energy consumption in the fibrillation process of the Euc commercial pulp finding an energy value of approximately $6.58 \times 10^3 \pm 0.24 \times 10^3 \text{ kWh t}^{-1}$, while for the commercial Pin pulp it was requested around of $13.02 \times 10^3 \pm 0.95 \times 10^3 \text{ kWh t}^{-1}$. Plant CNFs require mechanical effort to shear the nanofibrils, which reduces their dimensions, consequently spending energy (Ravindran et al. 2019; Zeng et al. 2020). Reduction of energy consumption is an essential factor when the intention is to propose processes applied on large scale.

Transparency and morphology of the films

The greatest transparencies were observed for films only composed by Euc (54%) and Pin (52%) (Figure 3). The transparency shown a gradual reduction with higher proportions of BC in the composition. The compositions that resulted in lower transparencies were 100% BC, 50% Euc/50% BC and 25% Euc/75% BC. The decrease in transparency with higher content of BC, occurred as a function of the method of preparation with the presence of sugar and tea, which could result in the darkening of the film. As abovementioned, this study did not use processes or products for membrane purification. The findings of Han et al. (2019) confirmed that the bleaching of BC with NaOH and H₂O₂ increased the whiteness index in 19 and 69%, respectively. Suryanto et al. (2018) used H₂O₂ in the bleaching process of BC, obtaining transparency values close to 90%. In general, the transparency values found in this work are in accordance with literature. Cazón et al. (2020b) obtained transparency values for films composed by BC purified with NaOH ranging from 21 to 26%.

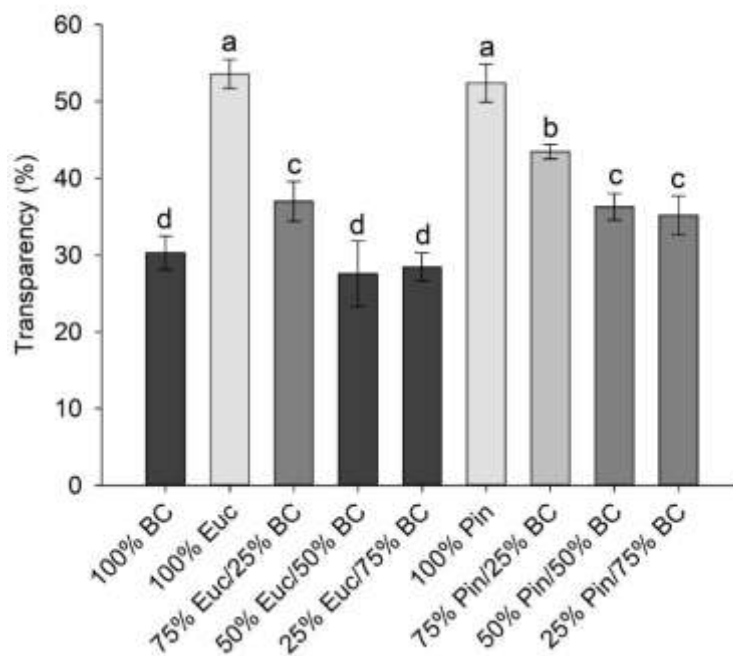


Figure 11. Transparency for hybrid films with bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs. Compositions followed by the same letter were not statistically different by the Scott-Knott test.

Films produced with commercial Euc pulp showed a better aspect of transparency compared to films from Pin pulp (Figure 4A and 4B). This was assumed to be due to the differences between the raw material (Euc and Pin pulp) composition used for production of the commercial pulps.

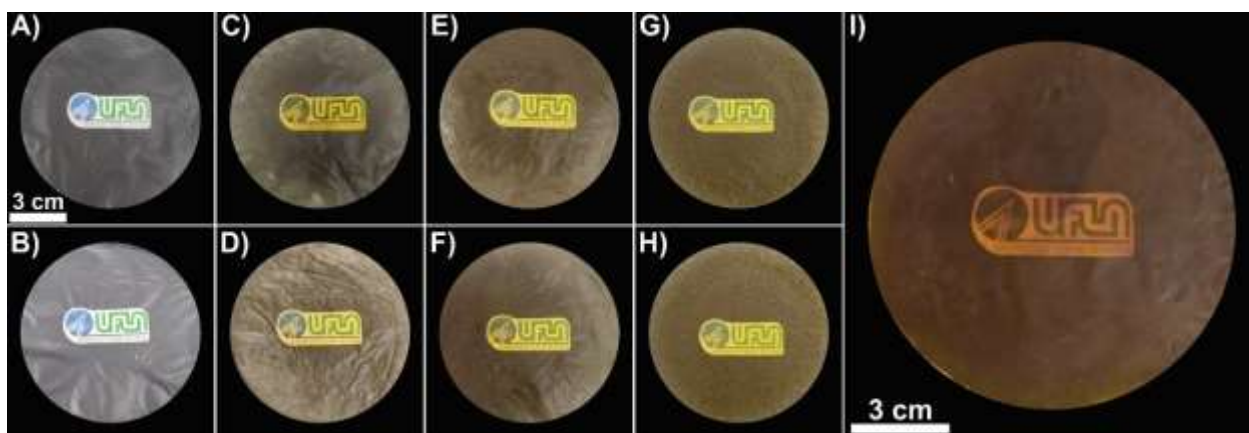


Figure 12. General aspect of the films produced with different compositions of CNFs from BC, Euc, and Pin. (A) 100 % Euc; (B) 100 % Pin; (C) 75 % Euc/25 % BC; (D) 75 % Pin/25 % BC; (E) 50 % Euc/50 % BC; (F) 50 % Pin/50 % BC; (G) 25 % Euc/75 % BC; (H) 25 % Pin/75 % BC; and (I) 100 % BC.

Pin fibers are more difficult to be fibrillated because they are longer in length than Euc fibers, presenting a lower number of fibers, per volume or mass, and fibers with lower surface area. In addition, long fibers are more difficult to disperse (Chung 2005; Tonoli et al. 2010) and may clog in the gap between the grinder stones, making it more difficult for fibrillation. Another point to be considered is the “casting” method for the films production. This method promotes the solids sedimentation (CNFs) in the petri dish bottom, followed by solvent evaporation. The overlapping of CNFs from tracheid may have resulted in more opaque aspect for the Pin film, when compared to the films from Euc pulp.

The micrographs obtained by SEM show more grainy and irregular aspect to the surface of films with BC in the composition (Figure 5), even if BC nanofibrils have shown greater homogeneity in the structures dimension (see Figure 2A and 2B). It was observed traces of bacilli and yeasts on the film surface (indicated by the arrows in Figure 5A), which may have contributed to this irregular aspect, and consequently, increased their surface area.

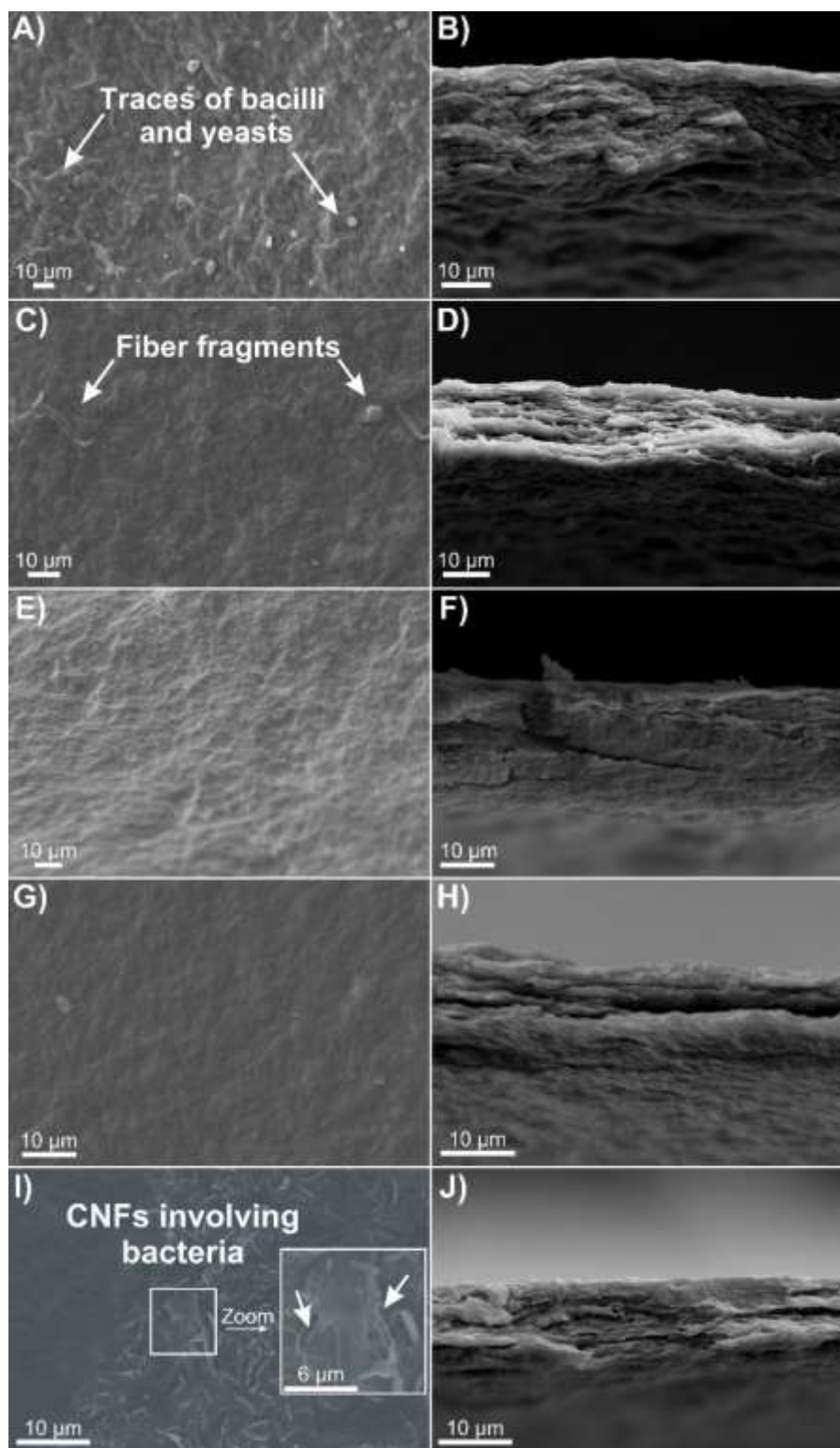


Figure 13. Surface and cross-sectional SEM micrographs of the films produced: (A and B) 100 % BC; (C and D) 100 % Euc; (E and F) 50 % Euc/50 % BC; (G and H) 100 % Pin; (I and J) 50 % Pin/50 % BC.

Better surface aspects were observed for Euc and Pin films (Figures 5C and 5G), result of a better arrangement of the CNFs produced from these raw materials, at the time of films production in the petri dishes. Otherwise, the film composed by 50% Pin/50% BC showed grainy surface due to the CNF aggregates surrounding the bacteria (Figure 5I). The aspect of the cross-sectional region of the compositions presented in Figures 5D and 5F showed good cohesion and practically no defects or pores. In some cases, the different compositions of plant CNFs and BC were able to complement each other by occupying the empty spaces along the film structure.

Contact angle and wettability of the films

The films with pure composition of CNFs from Euc and Pin showed higher contact angles and lower wettability among all compositions according to the Scott-Knott test ($p < 0.05$) (Figure 6). Films composed only by BC obtained contact angle close to 48° and were statistically equal to hybrids 75% Euc/25% BC and 25% Pin/75% BC.

The addition of BC to plant CNFs tended to reduce the contact angles of the films produced (Figure 6A). This behavior can be explained by the presence of other residual organic compounds in the BC films, such as: nucleic acids, proteins and soluble sugars remaining from the bacteria culture medium (Kafle et al. 2015; Gao et al. 2019; Rahman et al. 2021), as previously mentioned. These molecules have a larger specific surface and higher hygroscopicity, which provides a reduction in the contact angle and increases the wettability (Seerangurayar et al. 2017; Kwak et al. 2021). Another aspect to be considered on the contact angle reduction is the grainy aspect of the films surface produced with higher contents of BC (Figures 5A and 5I). Zeng et al. (2014) studied the effect of bacterial strain and drying processes on the properties of films produced with BC, verified that films with grainier surface obtained more hydrophobic surface. Smaller granularity on the surface of BC films results in reduction of the porosity and contact surface, consequently, the surface becomes more hydrophobic (Faria-Tischer et al. 2015).

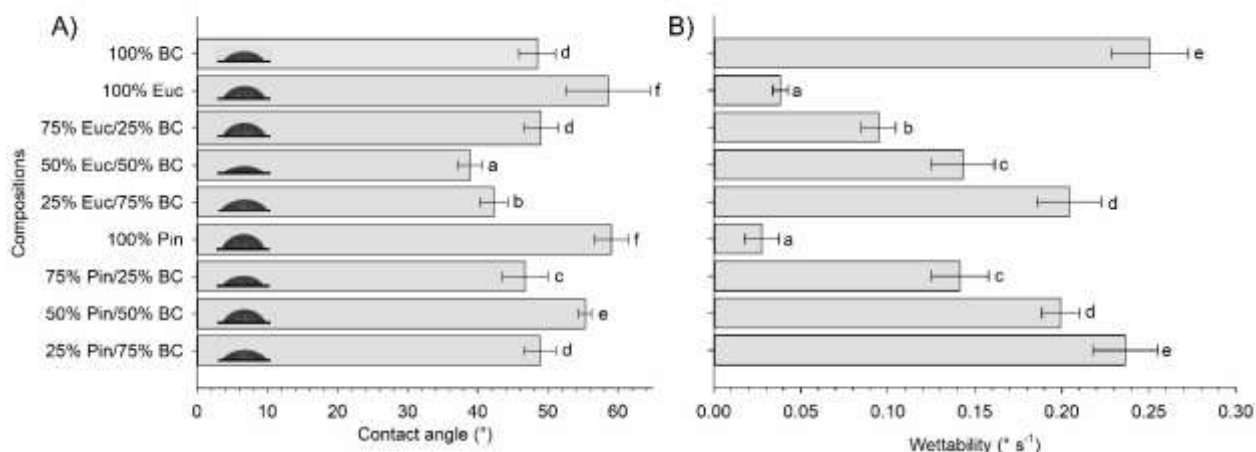


Figure 14. Averages observed for contact angle (A) and wettability (B) for the film compositions analyzed. Compositions followed by the same letter were not statistically different by the Scott-Knott test.

The hybrid 50% Pin/50% BC obtained a statistically superior contact angle (55°) in relation to the corresponding 50% Euc/50% BC (40°), which obtained the lowest contact angle value among all compositions. Regarding the wettability, films produced with pure pulps from Pin and Euc were characterized by the lowest values, whereas films composed only by BC obtained the highest value for this property ($p < 0.05$) (Figure 6B). Hybrids of Pin pulp + BC showed higher wettability compared to the corresponding hybrids of Euc pulp. This was assumed to be due to the grainy surface aspect of the hybrid of Euc and BC, seen previously in Figure 5, which may have impaired the rapid spread of the water drop. Greater insertions of BC resulted in higher values of wettability for both commercial plant pulps. Increase in surface hydrophilicity can be attributed to the presence of reactive hydroxy groups as a result of the microstructure and intermolecular interactions in BC-based compounds, which can form hydrogen bonds with water molecules (Luo et al. 2014; Gullo et al. 2017; Osorio et al. 2018; Xie et al. 2018). BC, as well as plant cellulose, is a linear polysaccharide composed of β -D-glucopyranose monomers linked by β -1,4-glycosidic linkages, forming molecules of glucose (Cazón and Vázquez 2021). The wettability evaluates the spread of the water droplet on material surface, according to a time interval, which means an interesting parameter to infer about the hydrophobicity characteristics of the product.

Barrier properties and thickness of the films

There were no statistical differences between the average thickness measured for all the film formulations (Table 2). Low variation in thicknesses indicates homogeneous distribution of

CNFs during the films production. This factor gives more reliability to results of the other properties further evaluated (mechanical and barrier properties). Regarding the barrier properties (WVP), the compositions formed only by Euc and Pin were statistically equal. Among the hybrids from Pin and BC, there were no statistical differences among the WVP of the samples, which means that the mixture between BC and plant CNFs from Pin did not change the WVP of the films.

Table 5. Average thickness, water vapor permeability (WVP) and scores of grease resistance of the films composed by bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs.

Proportions	Thickness (mm)	WVP (g.mm/KPa ⁻¹ .day.m ²)	Grease resistance
100% BC	0.038 (± 0.005*)	7.57 b (± 0.17)	12
100% Euc	0.035 (± 0.004)	6.46 a (± 0.25)	12
75% Euc/25% BC	0.035 (± 0.002)	6.14 a (± 0.71)	12
50% Euc/50% BC	0.037 (± 0.006)	6.36 a (± 0.16)	12
25% Euc/75% BC	0.039 (± 0.005)	7.85 b (± 0.26)	12
100% Pin	0.032 (± 0.003)	5.92 a (± 0.51)	12
75% Pin/25% BC	0.034 (± 0.004)	5.45 a (± 0.75)	12
50% Pin/50% BC	0.036 (± 0.004)	6.40 a (± 0.72)	12
25% Pin/75% BC	0.039 (± 0.006)	6.63 a (± 0.19)	12

*Standard deviation

The films produced with 100% Euc and the hybrids formed from these plant CNFs presented statistical differences ($p < 0.05$), being the formulation with higher content of BC (25% Euc/75% BC) the one that presented the highest value of WVP (7.85 g.mm/KPa⁻¹.day.m²). Guimarães Jr et al. (2015), studying films produced with starch and reinforcement of bamboo nanofibrils, found values ranging from 1.07 a 1.31 g.mm/KPa⁻¹.day.m², that were much lower compared to this study. Comparing the compositions 100% BC and 25% Euc/75% BC, there was no statistical differences between both, representing the two compositions with the highest WVP values. This result is a strong point to confirm the data obtained by the wettability test (see Figure 4B). Both BC and plant CNFs are known to have great hydrophilicity. Despite the high hydrophilicity of both raw materials, the low WVP values can be explained by the nanometric dimensions of the particles that compose the films (Martins et al. 2020).

The reduction of WVP among the hybrid films may be related to the filling of empty spaces between the Euc and Pin CNFs by BC micro/nanofibrils, since it presented the smallest diameters

among the studied materials (Figure 2A). Thus, the more consolidated structures tend to reduce the flow of gases and water vapor through their layers (Tomé et al. 2010; Fillat et al. 2018). On the other hand, Cazón et al. (2021) explained that greater contents of BC can result in porous structures and greater interaction with water vapor, as observed for films produced with 100% BC and 25% Euc/75% BC.

WVP is one of the main parameters studied for food packaging applications. It evaluates the transfer water vapor mass from the internal or external environment through the polymer package structure, which can promote undesirable changes in the product quality (Wang et al. 2018).

Regarding the grease resistance test, all films evaluated obtained scores of 12 according to the oil kit of the TAPPI T559 standard (TAPPI 2012). This shows the potential of film application in uses that require a high grease barrier, such as packaging. This behavior was affected by the nanometric dimensions of the films, as well as by their porosity (Tyagi et al. 2019).

Mechanical characterization of the films

Films composed of CNFs from Pin and Euc showed higher values of tensile strength and Young's modulus (Figure 7). For tensile strength the values for pure plant raw materials were statistically equal ($p < 0,05$), being the highest among the evaluated compositions. The 100% BC showed the lowest tensile strength and lowest Young's modulus among all compositions (Figure 7A). Some points on the production method may be the explanation for the low mechanical performance of the BC film (Figures 7C and 7D). The bacterial membrane was not subjected to purification process, thus residues of other organic molecules (e.g. soluble sugars and proteins) remained in BC films. This fact may led to a significant reduction of the hydrogen bonds between the CNFs, causing decrease of the mechanical strength of the film (Gea et al. 2011). Furthermore, the casting method used to produce BC films may be related to the low resistance observed.

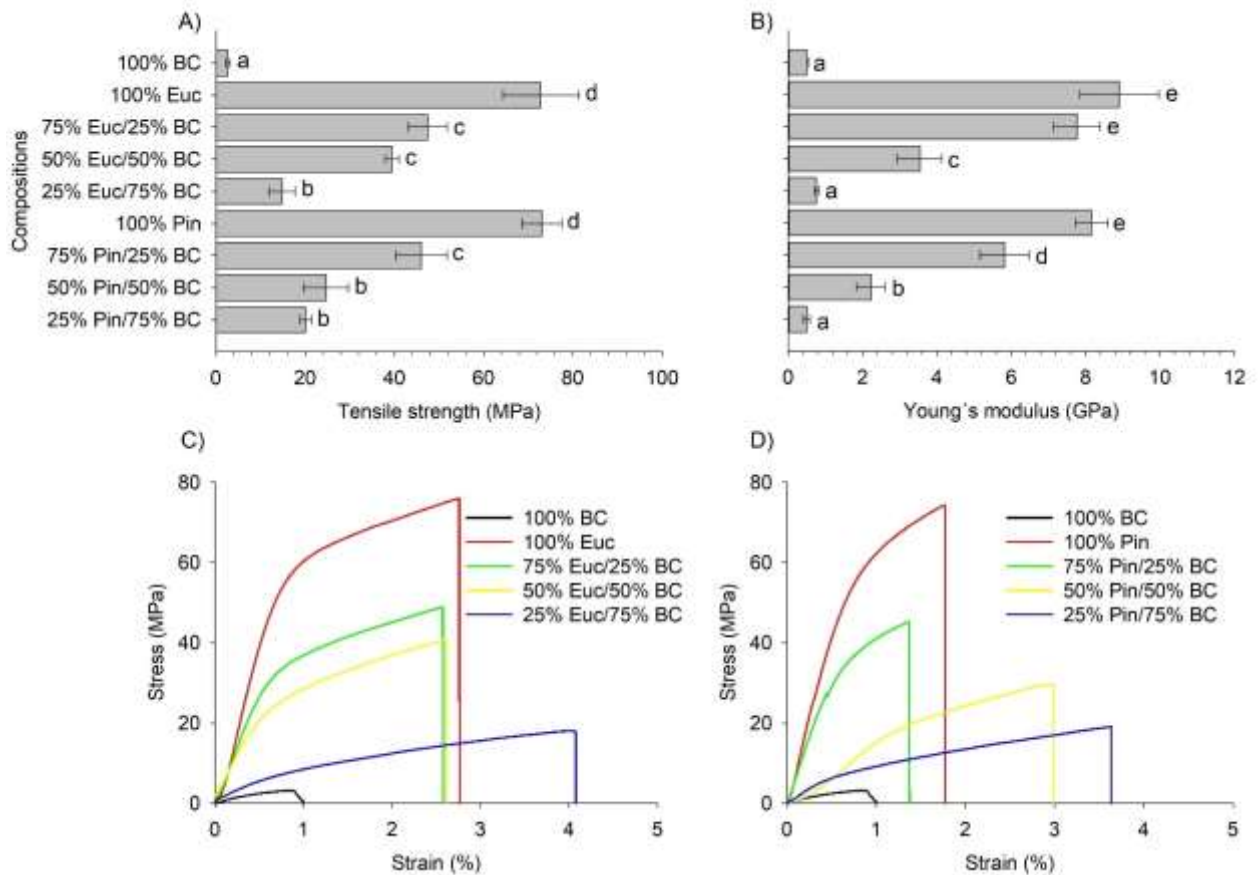


Figure 15. Tensile strength (A), Young's modulus (B) and stress-strain curves (C–D) for hybrid films with bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs. Compositions followed by the same letter were not statistically different by the Scott-Knott test.

Retegi et al. (2010) found for BC films obtained from different molding pressure values of tensile strength ranging from 10 to 100 MPa and Young's modulus ranging from 9.8 to 10.6 GPa. These authors pointed out that the method of production of the films influenced directly their mechanical properties, especially when low or no pressure was used for its molding, the mechanical strength was considerably reduced. These results also help to understand the behavior observed in the present work, given that the casting method of obtaining films does not use pressure.

Furthermore, aiming the films obtainment, the diametric and morphological differences observed are interesting regarding combinations between the types of CNFs analyzed. Vegetal CNFs have diameters and lengths influenced by the thickness of the microfibril bundles of the cell wall and by the original wood cell length (fibers or tracheids) and are affected by chemical and physical treatments during the pulping process (Schaber et al. 2018; Levanič et al. 2020; Trigui et

al. 2020). On the other hand, the BC network has its morphology and properties defined by the metabolic synthesis capacity of the microorganisms, which is regulated by the conditions of the culture medium and environmental variables (Basu et al. 2018; Singhsa et al. 2018; Dhar et al. 2021).

Due to this fact and because it is not subjected to mechanical fibrillation or chemical treatments, the diameters of BC CNFs and their degree of polymerization (DP) tend to be larger (6000-7300) (Bassem and Ragauskas, 2011; Lee et al. 2014), whereas for cellulose from bleached Kraft pulp of *Eucalyptus* sp. and *Pinus* sp., the DP shows values around 1500-3000 and 3000-4500, respectively (Blanco et al. 2018, Silva et al. 2019; Tang et al. 2021). DP values may be even lower after mechanical shear fibrillation (Dilamian and Noroozi, 2019; Megashah et al. 2020; Zeng et al. 2020).

Based on these aspects, it can be considered that the three-dimensional network formed by BC, tends to present greater agglomeration, formation of empty spaces and heterogeneous distribution of material when applied to films or composites reinforcement, for example. Thus, because of the smaller diameter of the vegetal CNFs, as observed for the Euc, the empty spaces between the BC can be better filled, favoring the obtainment of more homogeneous films, more resistant, and with higher density due to the less porous structure (Minelli et al. 2010; Lavoine et al. 2014), being these characteristics interesting for packaging and paper coating (Mashkour et al. 2018).

Nevertheless, the results found were similar to those presented for resistance range presented in the literature for BC films. The difference between the results of the present study and the values found by Retegi et al. (2010) may be related to the BC production methods, bacterial strain, environmental factors and carbon sources used. Zeng et al. (2014), Han et al. (2019) and Rahman et al. (2021) explained that aspects involved in BC production can result in different impurities amounts in the material, directly influencing its optical, physical and mechanical properties.

Regarding the hybrid compositions, there was a downward trend of the values as the BC content was increased replacing the plant raw materials. The reduction in the tensile strength values was associated with the adhesion between BC and plant cellulose because there may be less adhesion with the matrix with increasing BC content. The adhesion occurring between the CNF

and other polymers generally contributes to the formation of a strong bonds network, leading to the improvement of the strength and toughness of nanocomposites.

The behavior observed in the present study for tensile strength was also observed in Sá et al. (2020), finding higher tensile strength in films produced with cellulose nanocrystals as a substitute for BC. The mechanical strength increased as BC content was replaced by lignin and cellulose nanocrystals. The trend found for Young's modulus was similar to that observed for tensile strength. The 100% BC, 25% Pin/75% BC, and 25% Euc/75% BC compositions were statistically similar, with values close to 0.5 GPa, confirming that higher percentages of BC impaired the mechanical properties.

The results for puncture strength of the films evaluated followed the same trend of decrease observed for the mechanical properties mentioned above (Figure 8).

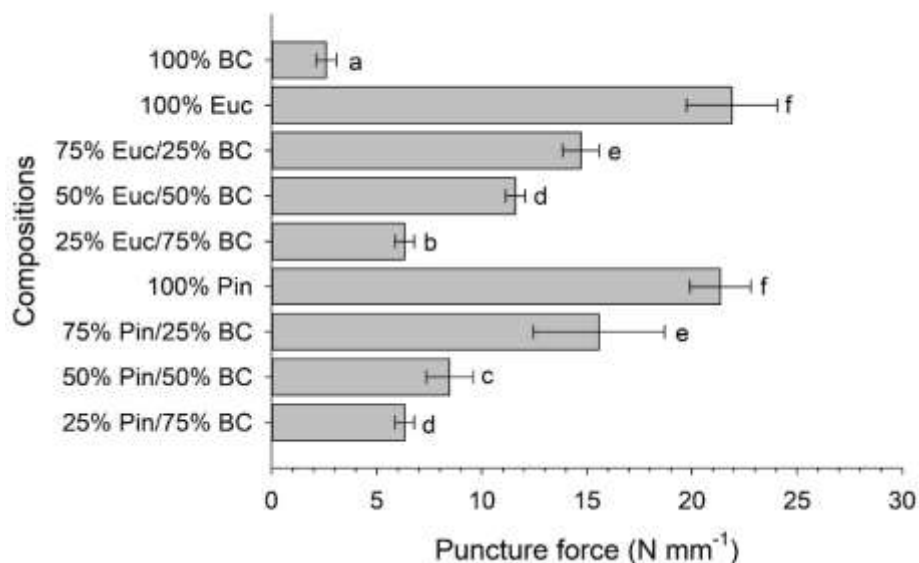


Figura 16. Puncture strength of flms with bacterial cellulose (BC) and plant (Euc and Pin) CNFs. Compositions followed by the same letter were not statistically diferent by the Scott-Knott test.

The composition of 100% BC showed lower puncture strength. In contrast, the 100% Euc and 100% Pin compositions showed the highest puncture strength values. Thus, intermediate values were observed in the hybrid films with the addition of BC to the films. Euc and Pin improved the effect of BC in the CNF films. Several studies have reported similar effects. Yousefi et al. (2013)

verified that BC structure provided better distribution and cohesion between the nanofibrils for nanopaper production, significantly increasing its mechanical strength. Cazón et al. (2020b) also observed similar results, attributing the high mechanical performance to the microstructural arrangement of BC in the films produced.

Assessing the mechanical properties of films or any material produced is important in order to give it a better destination. Based on the results, the films produced have potential for sustainable applications. The compositions 100% Euc and 100% Pin, for example, and some proportions with few BC insertion (25%) could be applied for uses in which good mechanical properties are required, such as packaging and surface paper coatings (Hussain et al. 2019).

Furthermore, the product from plant CNFs and BC is biodegradable, which is ideal for several other purposes, contributing to the worldwide appeal for sustainability and the substitution of petroleum-derived material. This study contributes with knowledge about the application of BC and plant CNFs for new cellulose-based packaging products that require mechanical strength and barrier to liquids and greases/oil.

CONCLUSIONS

In this study, bacterial and plant cellulose were used for production of nanostructured films, which were evaluated by their mechanical and barrier properties. The morphologies of the different kind of CNFs affected the physical, mechanical, and barrier properties of the films produced. The tensile strength, Young's modulus, and puncture force decreased with the increase of BC content in the films, while the films wettability increased. All the compositions of films presented suitable resistance to grease impregnation. The contact angles with water were higher for pure films produced with plant CNFs. Oppositely, the wettability was higher for films produced with greater content of BC ($0.25^\circ \text{ s}^{-1}$ for 100% BC and $0.20^\circ \text{ s}^{-1}$ for 25% Euc/75% BC). The compositions with lower levels of BC tend to show lower values of water vapor permeability (WVP) among the compositions studied. The mechanical properties were considerably superior for films composed by plant CNFs. Tensile strength reached 76 MPa for both compositions 100% Euc and 100% Pin, whereas Young's modulus was 8.8 and 8.4 GPa for 100% Euc and 100% Pin, respectively. Similarly, results of puncture force decreased significantly with higher percentages of BC. Studies involving BC treatments with specific enzymes or high homogenization processes, besides impurities removal using NaOH or/and H_2O_2 could be successful, especially regarding

improvements on mechanical strength. Because the films are generated from biodegradable raw materials, with suitable mechanical properties, their uses could be expanded to replacement of other plastic materials, such as materials for cellulose-based packaging, bags, cardboards and surface coating applications.

REFERENCES

Amorim, J.D.P., Souza, K.C., Duarte, C.R., Duarte, I.S., Ribeiro, F.A.S., Silva, G.S., Farias, P.M.A., Stingl, A., Costa, A.F.S., Vinhas, G.M. and Sarubbo, L.A. (2020) Plant and bacterial nanocellulose: production, properties and applications in medicine, food, cosmetics, electronics and engineering. A review. *Environ. Chem. Lett.* 18: 851-869. DOI: 10.1007/s10311-020-00989-9

Andriani, D., Apriyana, A.Y., Karina, M. (2020) The optimization of bacterial cellulose production and its applications: a review. *Cellulose*, 27: 6747-6766. DOI: 10.1007/s10570-020-03273-9

ASTM standard (2002) D882-02. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting.

ASTM standard (2012) E104-02. Standard practice for maintaining constant relative humidity by means of aqueous solutions.

ASTM standard (2016) E96/E96M. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials.

Báčovská, R., Wisian, N.P, Alberti, M., Příhoda, J., Zárybnická, L., Voráč, Z. (2016) Phenylmethyl phosphazene derivatives for preparation and modification of hydrophobic properties of polymeric nonwoven textiles. *Reactive and Functional Polymers*, 100: 53-63. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2015.12.013

Basu, A., Vadanam, S.V., Lim, S. (2018) A novel platform for evaluating the environmental impacts on bacterial cellulose production. *Scientific Reports*, 8: 5780. DOI: 10.1038/s41598-018-23701-y

Bassem, B., Ragauskas, A.J. (2011) Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 5: 215-225. DOI: 10.1002/bbb.269

Blanco, A., Monte, M.C., Campano, C., Balea, A., Merayo, N., Negro, C. (2018) Nanocellulose for Industrial Use: Cellulose Nanofibers (CNF), Cellulose Nanocrystals (CNC), and Bacterial Cellulose (BC). In: Hussain, C.M. (eds.): *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*, Elsevier, Amsterdam, pp. 74-126. DOI: 10.1016/B978-0-12-813351-4.00005-5

Cacicedo, M.L., Castro, M.C., Servetas, I., Bosnea, L., Boura, K., Tsafrakidou, P., Dima, A., Terpou, A., Koutinas, A., Castro, G.R. (2016) Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. *Bioresource Technol.* 213: 172-180. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.02.071

Cazón, P., Vázquez, M., Velazquez, G. (2019) Composite films with UV-barrier properties based on bacterial cellulose combined with chitosan and poly (vinyl alcohol): study of puncture and water interaction properties. *Biomacromolecules*, 20: 2084-2095. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b00317

Cazón, P., Velazquez, G., Vázquez, M. (2020a) Characterization of mechanical and barrier properties of bacterial cellulose, glycerol and polyvinyl alcohol (PVOH) composite films with eco-

friendly UV-protective properties. *Food Hydrocolloids*, 99: 105323. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105323

Cazón, P., Velazquez, G., Vázquez, M. (2020b) Bacterial cellulose films: Evaluation of the water interaction. *Food Packaging and Shelf Life*, 25:100526. DOI: 10.1016/j.foodpsl.2020.100526

Cazón, P., Vázquez, M. (2021) Improving bacterial cellulose films by ex-situ and in-situ modifications: A review. *Food Hydrocolloids*, 113: 06514. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106514

Chen, W., Yu, H., Lee, S.Y., Wei, T., Li, J., Fan, Z. (2018) Nanocellulose: a promising nanomaterial for advanced electrochemical energy storage. *Chem. Soc. Rev.*, 47: 2837. DOI: 10.1039/c7cs00790f

Chung, D.D.L. (2005) Dispersion of short fibers in cement. *J. Mater. Civil Eng.* 17: 379-383. DOI: 10.1061/(ASCE)0899-1561(2005)17:4(379)

Cox, K.D., Covernton, G.A., Davies, H.L., Dower, J.F., Juanes, F., Dudas, S.E. (2019) Human consumption of microplastics. *Environ. Sci. Technol.* 53: 7068-7074. DOI: 10.1021/acs.est.9b01517

Desmaisons, J., Boutonnet, E., Rueff, M., Dufresne, A., Bras, J. (2017) A new quality index for benchmarking of different cellulose nanofibrils. *Carbohydrate Polymers*, 15:318-329. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.032

Dhar, P., Sugimura, K., Yoshioka, M., Yoshinaga, A., Kamitakahara, H. (2021) Synthesis-property-performance relationships of multifunctional bacterial cellulose composites fermented in situ alkali lignin medium. *Carbohydrate Polymers*, 252: 117114. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117114

Dias, M.C., Mendonça, M.C., Damásio, R.A.P., Zidanes, U.L., Mori, F.A., Ferreira, S.R., Tonoli, G.H.D. (2019) Influence of hemicelluloses content of Eucalyptus and Pinus fibers on the grinding process for obtaining cellulose micro/nanofibrils. *Holzforschung*, 73: 1035-1046. DOI: 10.1515/hf-2018-0230

Dilamian, M., Noroozi, B. (2019) A combined homogenization-high intensity ultrasonication process for individualization of cellulose micro-nano fibers from rice straw. *Cellulose*, 26:5831-5849. DOI: 10.1007/s10570-019-02469-y

Durães, A.F.S., Moulin, J.C., Dias, M.C., Mendonça, M.C., Damásio, R.A.P., Thygesen, L.G., Tonoli, G.H.D. (2020) Influence of chemical pretreatments on plant fiber cell wall and their implications on the appearance of fiber dislocations. *Holzforschung* (online) DOI: 10.1515/hf-2019-0237

Durães, A.F.S., Moulin, J.C., Santos, A.A., Silva, M.J.F., Damásio, R.A.P., Tonoli, G.H.D. (2021) Optimization of Cellulose Nanofibril Production under Enzymatic Pretreatment and Evaluation of Dislocations in Plant Fibers. *Fibers Polymers* (online) DOI: 10.1007/s12221-021-0810-7

Faria-Tischer, P.C.S., Tischer, C.A., Heux, L., Denmat, S.L., Picart, C., Sierakowski, M.R.,

- Putaux, J.L. (2015) Preparation of cellulose II and III films by allomorphic conversion of bacterial cellulose I pellicles. *Materials Science and Engineering C*, 51:167:173. DOI: 10.1016/j.msec.2015.02.025
- Ferrer, A., Pal, L., Hubbe, M. (2017) Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. *Ind. Crop. Prod.* 95: 574-582. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.11.012
- Fillat, A., Martínez, J., Valls, C., Cusola, O., Roncero, M.B., Vidal, T., Valenzuela, S.V., Diaz, P., Pastor, F.I.J. (2018) Bacterial cellulose for increasing barrier properties of paper products. *Cellulose*, 25: 6093-6105. DOI: 10.1007/s10570-018-1967-0
- Fonseca, C.S., Silva, T.F., Silva, M.F., Oliveira, I.R.C., Mendes, R.F., Hein, P.R.G., Mendes, L.M., Tonoli, G.H.D. (2016) Eucalyptus cellulose micro/nanofibrils in extruded fibercement composites. *Cerne*, 22, 59-68. DOI: 10.1590/01047760201622012084
- Fonseca, C.S., Scatolino, M.V., Silva, L.E., Martins, M.A., Guimarães Jr, M., Tonoli, G.H.D. (2021) Valorization of Jute Biomass: Performance of Fiber-Cement Composites Extruded with Hybrid Reinforcement (Fibers and Nanofibrils) Waste Biomass. *Valor.* 12: 5743-5761. DOI: 10.1007/s12649-021-01394-1
- Freire, C.S.R., Fernandes, S.C.M., Silvestre, A.J.D., Pascoal Neto, C. (2013) Novel cellulose-based composites based on nanofibrillated plant and bacterial cellulose: recent advances at the University of Aveiro-a review. *Holzforschung*, 67: 603-612. DOI: 10.1515/hf-2012-0127
- Gao, M., Li, J., Bao, Z., Hu, M., Nian, R., Feng, D., An, D., Li, X., Xian, M., Zhang, H. (2019) A natural in situ fabrication method of functional bacterial cellulose using a microorganism. *Nature Communications*, 10:437. DOI: i.org/10.1038/s41467-018-07
- Gea, S., Reynolds, C. T., Roohpour, N., Wirjosentono, B., Soykeabkaew, N., Bilotti, E., Peijs, T. (2011) Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behavior of bacterial cellulose after a twostep purification process. *Bioresource Technology*, 102:9105-9110. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.04.077
- Guan, F., Chen, S., Sheng, N., Chen, Y., Yao, J., Pei, Q., Wang, H. (2019) Mechanically robust reduced graphene oxide/bacterial cellulose film obtained via biosynthesis for flexible supercapacitor. *Chemical Engineering Journal*. (online) DOI: 10.1016/j.cej.2018.11.202
- Guimarães Jr, M., Botaro, V.R., Novack, K.M., Teixeira, F.G., Tonoli, G.H.D. (2015) Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Ind. Crops Prod.* 70: 72-83. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.03.014
- Gullo, M., Sola, A., Zanichelli, G., Montorsi, M., Messori, M., Giudici, P. (2017) Increased production of bacterial cellulose as starting point for scaled-up applications. *Applied Microb. Biotechnol.* 101: 8115-8127. DOI: 10.1007/s00253-017-8539-3
- Han, J., Shim, E., Kim, H.R. (2019) Effects of cultivation, washing, and bleaching conditions on bacterial cellulose fabric production. *Textile Research Journal*, 89:1094-1104. DOI:

10.1177/0040517518763989

Hussain, Z., Sajjad, W., Khan, T., Wahid, F. Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *Cellulose*, 26: 2895-2911. DOI: 10.1007/s10570-019-02307-1

Jozala, A.F., Lencastre-Novaes, L.C., Lopes, A.M., Santos-Ebinuma, V.C., Mazzola, P.G., Pessoa-Jr, A., Grotto, D., Gerenutti, M., Chaud, M.V. (2016) Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. *Applied Microb. Biotechnol.* 100: 2063-2072. DOI: 10.1007/s00253-015-7243-4

Kafle, K., Shin, H., Lee, C.M., Park, S., Kim, S.H. (2015) Progressive structural changes of Avicel, bleached softwood, and bacterial cellulose during enzymatic hydrolysis. *Scientific Reports*, 5:15102. DOI: 10.1038/srep15102

Kamel, R., El-Wakil, N.A., Dufresne, A., Elkasabgy, N.A. (2020) Nanocellulose: From an agricultural waste to a valuable pharmaceutical ingredient. *Int. J. Bio. Macro.* 163: 1579-1590. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.242

Kaur, M., Mehta, A., Bhardwaj, K.K., Gupta, R. (2020) Bionanomaterials from Agricultural Wastes. In: Ahmed, S., Ali, W. *Green Nanomaterials*. Springer, Singapore, pp. 243-260.

Kongruan, S. (2008) Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* strains from agricultural waste products. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 148: 245-256.

Kwak, H.W., Park, J., Yun, H., Jeon, K., Kang, D.W. (2021) Effect of crosslinkable sugar molecules on the physico-chemical and antioxidant properties of fish gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids*, 111:106259. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106259

Lago, R.C., Oliveira, A.L.M., Dias, M.C., Carvalho, E.E.N., Tonoli, G.H.D., Vilas Boas, E.V.B. (2020) Obtaining cellulosic nanofibrils from oatstraw for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. *Ind. Crop. Prod.* 148: 112264.

Lavers, J.L., Dicks, L., Dicks, M.R., Finger, A. (2019) Significant plastic accumulation on the Cocos (Keeling) Islands, Australia. *Sci. Rep.*, 9: 7102. DOI: 10.1038/s41598-019-43375-4

Lavoine, N., Desloges, I., Khelifi, B., Bras, J. (2014) Impact of different coating processes of microfibrillated cellulose on the mechanical and barrier properties of paper. *Journal of Materials Science*, 49: 2879-2893. DOI: 10.1007/s10853-013-7995-0

Lee, K.Y., Tammelin, T., Schulfte, K., Kiiskinen, H., Samela, J., Bismarck, A. High Performance Cellulose Nanocomposites: Comparing the Reinforcing Ability of Bacterial Cellulose and Nanofibrillated Cellulose. *Applied Materials & Interfaces*, 4: 4078-4086. DOI: 10.1021/am300852a

Lee, K.Y., Yvonne, A., Berglund, L.A., Oksman, K., Bismarck, A. (2014) On the use of nanocellulose as reinforcement in polymer matrix composites. *Composites Science and Technology*, 105: 15-27. DOI: 10.1016/j.compscitech.2014.08.032

- Levanič, J., Šenk, V.P., Nadrah, P., Poljanšek, I., Oven, P., Haapala, A. (2020) Analyzing TEMPO-oxidized cellulose fiber morphology: New insights into optimization of the oxidation process and nanocellulose dispersion quality. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8: 17752-17762. DOI: 10.1021/acssuschemeng.0c05989
- Lin, D., Liu, Z., Shen, R., Chen, S., Yang, X. (2020) Bacterial cellulose in food industry: Current research and future prospects. *International journal of biological macromolecules*, 158: 1007-1019.
- Lindström, T., Österberg, F. (2020) Evolution of biobased and nanotechnology packaging - a review. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 35: 491-515. DOI: 10.1515/npprj-2020-0042
- Lopes, T.A., Bufalino, L., Claro, P.I.C.C., Martins, M.A., Tonoli, G.H.D., Mendes, L.M. (2018) The effect of surface modifications with corona discharge in Pinus and Eucalyptus nanofibril films. *Cellulose*, 25: 5017-5033.
- Luo, H., Xiong, G., Li, Q., Ma, C., Zhu, Y., Guo, R., Wan, Y. (2014) Preparation and properties of a novel porous poly (lactic acid) composite reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers. *Fibers and Polymers*, 15: 2591-2596.
- Ma, C., Cao, W.-T., Zhang, W., Ma, M.-G., Sun, W.-M., Zhang, J., Chen, F. (2020) Wearable, Ultrathin and Transparent Bacterial Celluloses/MXene Film with Janus Structure and Excellent Mechanical Property for Electromagnetic Interference Shielding. *Chem. Eng. J.* 126438. DOI: 10.1016/j.cej.2020.126438
- Martins, M.P., Dagostin, J.L.A., Franco, T.S., Muñoz, G.I.B., Masson, M.L. (2020) Application of cellulose nanofibrils isolated from an agroindustrial residue of peach palm in cassava starch films. *Food Biophysics*, 15: 323-334.
- Mashkour, M., Sharifinia, M., Yousefi, H., Afra, E. (2018) MWCNT-coated cellulose nanopapers: Droplet-coating, process factors, and electrical conductivity performance. *Carbohydrate Polymers*, 202: 504-512. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.09.006
- Matos, L.C., Rompa, V.D., Damásio, R.A.P., Marconcini, J.M., Tonoli, G.H.D. (2019) Incorporation of nanomaterials and emulsion of waxes in the development of multilayer papers. *Scientia Forestalis*, 47: 177-191.
- Mautner, A., Mayer, F., Hervy, M., Lee K.Y., Bismarck, A. (2018) Better together: synergy in nanocellulose blends. *Phil. Trans. R. Soc. A*.3762017004320170043. DOI: 10.1098/rsta.2017.0043
- Megashah, L.N., Ariffin, H., Zakaria, M.R., Hassan, M.A., Andou, Y., Padzil, F.N.M. (2020) Modification of cellulose degree of polymerization by superheated steam treatment for versatile properties of cellulose nanofibril film. *Cellulose*, 27: 7417-7429. DOI: 10.1007/s10570-020-03296-2
- Minelli, M., Baschetti, M.G., Doghieri, F., Ankerfors, M., Lindström, T., Siró, I., Plackett, D. (2010) Investigation of mass transport properties of microfibrillated cellulose (MFC) films. *Journal of Membrane Science*, 358: 67-75. DOI: 10.1016/j.memsci.2010.04.030

Molina-Ramírez, C., Castro, C., Zuluaga, R., Gañán, P. (2018) Physical characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter medellinensis* using food supply chain waste and agricultural by-products as alternative low-cost feedstocks. *J. Pol. Environ.* 26: 830-837.

Nehra, P., Chauhan, R.P. (2020) Eco-friendly nanocellulose and its biomedical applications: current status and future prospect. *J. Biomat. Sci.*, 32: 112-149.

Osorio, F., Valdés, G., Skurtys, O., Andrade, R., Villalobos-Carvajal, R., Silva-Weiss, A., Silva-Vera, W., Giménez, B., Zamorano, M., Lopez, J. (2018) Surface free energy utilization to evaluate wettability of hydrocolloid suspension on different vegetable epicarps. *Coatings*, 8: 16.

Qiu, K., Netravali, A. N. (2014) A review of fabrication and applications of bacterial cellulose based nanocomposites. *Polymer Reviews*, 54, 598-626.

R Development Core Team (2019) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rahman, S.S.A., Vaishnavi, T., Vidyasri, G.S., Sathya, K., Priyanka, P., Venkatachalam, P., Karupiah, S. (2021) Production of bacterial cellulose using *Gluconacetobacter kombuchae* immobilized on *Luffa aegyptiaca* support. *Scientific Reports*, 11:2912. DOI: 10.1038/s41598-021-82596-4

Ravindran, L., Sreekala, M.S., Thomas, S. (2019) Novel processing parameters for the extraction of cellulose nanofibres (CNF) from environmentally benign pineapple leaf fibres (PALF): Structure-property relationships. *Int. J. Bio. Macro.* 131: 858-870.

Rebelo, A., Archer, A. J., Chen, X., Liu, C., Yang, G., Liu, Y. (2018) Dehydration of bacterial cellulose and the water content effects on its viscoelastic and electrochemical properties. *Science and Technology of advanced Materials*, 19: 203-211.

Retegi, A., Gabilondo, N., Penã, C., Zuluaga, R., Castro, C., Gañán, P., Caba, K., Mondragon, I. (2010) Bacterial cellulose films with controlled microstructure-mechanical property relationships. *Cellulose*, 17: 661-669.

Sá, N.M.S.M., Mattos, A.L.A., Silva, L.M.A., Brito, E.S., Rosa, M.F., Azeredo, H.M.C. (2020) From cashew byproducts to biodegradable active materials: Bacterial cellulose-lignin-cellulose nanocrystal nanocomposite films. *Int. J. Bio. Macro.*, 161: 1337-1345.

Seerangurayar, T., Manickavasagan, A., Al-Ismaili, A.M., Al-Mulla, Y.A. (2018) Effect of carrier agents on physicochemical properties of foam-mat freeze-dried date powder. *Drying Technology*, 36:1292-1303. DOI: 10.1080/07373937.2017.1400557

Scatolino, M.V., Bufalino, L., Mendes, L.M., Guimarães Jr, M., Tonoli, G.H.D. (2017a) Impact of nanofibrillation degree of eucalyptus and Amazonian hardwood sawdust on physical properties of cellulose nanofibril films. *Wood Sci. Technol.* 51: 1095-1115.

Scatolino, M.V., Silva, D.W., Bufalino, L., Tonoli, G.H. D., Mendes, L.M. (2017b) Influence of cellulose viscosity and residual lignin on water absorption of nanofibril films. *Procedia Engineering*, 200: 155-161.

Scatolino, M.V., Dias, M.C., Silva, D.W., Bufalino, L., Martins, M.A., Piccoli, R.H., Tonoli, G.H.D., Londero, A.A., Oenning Neto, V., Mendes, L.M. (2019) Tannin-stabilized silver nanoparticles and citric acid added associated to cellulose nanofibrils: effect on film antimicrobial properties. *SN Applied Sciences*, 1 DOI: 10.1007/s42452-019-1289-3

Scatolino, M.V., Fonseca, C.S., Gomes, M.S., Rompa, V.D., Martins, M.A., Tonoli, G.H.D., Mendes, L.M. (2018) How the surface wettability and modulus of elasticity of the Amazonian paricá nanofibrils films are affected by the chemical changes of the natural fibers. *Eur. J. Wood Prod.* 76:1581-1594. DOI: 10.1007/s00107-018-1343-7

Schaber, C.F., Kreitschitz, A., Gorb, S.N. (2018) Friction-active surfaces based on free-standing anchored cellulose nanofibrils. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10: 37566-37574. DOI: 10.1021/acsami.8b05972

Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9: 671-675. DOI:10.1038/nmeth.2089

Silva, E.L., Vieira, H.C., Santos, J.X., Nisgoski, S., Saul, C.K., Muñiz, G.I.B. (2019) Nanofibrillated cellulose, the small promising fiber: characteristics and potentialities. *Floresta*, 49: 411-420. DOI: 0.5380/rf.v49 i3.58864

Silva, L.C.E., Cassago, A., Battirola, L.C., Gonçalves, M.C., Portugal, R.V. (2020) Specimen preparation optimization for size and morphology characterization of nanocellulose by TEM. *Cellulose*, 27:5435-5444. DOI: 10.1007/s10570-020-03116-7

Singhsa, P., Narain, R., Manuspiya, H. (2018) Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. *Cellulose*, 25: 1571-1581. DOI: 10.1007/s10570-018-1699-1

Sothornvit, R., Hong, S.I., An, D.J., Rhim, J.W. (2010) Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. *LWT - Food Science and Technology*, 43:279-284. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.08.010

Suryanto, H., Sutrisno, T.A., Muhajir, M., Zakia, N., Yanuhar, U. (2018) Effect of peroxide treatment on the structure and transparency of bacterial cellulose film. *EDP Sciences*, 204: 05015. DOI: 10.1051/mateconf/201820405015

Tang, X., Liu, G., Zhang, H., Gao, X., Li, M., Zhang, S. (2021) Facile preparation of all-cellulose composites from softwood, hardwood, and agricultural straw cellulose by a simple route of partial dissolution. *Carbohydrates Polymers*, 256: 117591. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117591

TAPPI standard (2004) T 458. CM-04, surface wettability of paper (angle of contact method).

TAPPI standard (2012) T 559. CM-12, grease resistance test for paper and paperboard.

Tomé, L.C., Brandão, L., Mendes, A.M., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Gandini, A., Freire, C.S.R., Marrucho, I.M. (2010) Preparation and characterization of bacterial cellulose membranes with tailored surface and barrier properties. *Cellulose*, 17:1203-1211. DOI: 10.1007/s10570-010-9457-z

Tonoli, G.H.D., Holtman, K.M., Glenn, G., Fonseca, A.S., Wood, D., Williams, T., Sa, V.A., Torres, L., Klameczynski, A., Orts, W.J. (2016) Properties of cellulose micro/nanofibers obtained from eucalyptus pulp fiber treated with anaerobic digested and high shear mixing. *Cellulose*, 23: 1239-1256.

Tonoli, G.H.D., Sa, V.A., Guimaraes Junior, M., Fonseca, A.S., Glenn, G., Moulin, J., Phantapulakkal, S., Sain, M., Wood, D., Williams, T., Torres, L., Orts, W.J. (2019) Cellulose sheets made from micro/nanofibrillated fibers of bamboo, jute and eucalyptus cellulose pulps. *Cellulose Chem. Technol.* 53: 291-305.

Tonoli, G.H.D., Savastano, H., Fuente, E., Negro, C., Blanco, A., Rocco Lahr, F.A. (2010) Eucalyptus pulp fibres as alternative reinforcement to engineered cement-based composites. *Ind. Crops. Prod.* 31: 225-232.

Trache, D., Thakur, V.K., Boukherroub, R. (2020) Cellulose nanocrystals/graphene hybrids - a promising new class of materials for advanced applications. *Nanomaterials*, 10: 1523.

Trigui, K., Loubens, C., Magnin, A., Putaux, J.L., Boufi, S. Cellulose nanofibrils prepared by twin-screw extrusion: Effect of the fiber pretreatment on the fibrillation efficiency. *Carbohydrate Polymers*, 240: 116342. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116342

Tyagi, P., Lucia, L.A., Hubbe, M.A., Pal, L. (2019) Nanocellulose-based multilayer barrier coatings for gas, oil, and grease resistance. *Carbohydrate Polymers*, 206: 281-288.

Uraki, Y., Morito, M., Kishimoto, T., Sano, Y. (2002) Bacterial cellulose production using monosaccharides derived from hemicelluloses in water-soluble fraction of waste liquor from atmospheric acetic acid pulping. *Holzforschung*, 56: 341-347.

Vieira, D.M., Senna, B.T.G., Ishii, M., Penna, T.V. (2013) Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* and *Saccharomyces Cerevisiae* in Green Tea Leaves and Fruits Juice Medium *Asian J. Pharm. Health Sci.* 3: 690-698.

Wang, X., Guo, C., Hao, W., Ullah, N., Chen, L., Li, Z., Feng, X. (2018) Development and characterization of agar-based edible films reinforced with nano-bacterial cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118: 722-730.

Wang, S., Jiang, F., Xu, X., Kuang, Y., Fu, K., Hitz, E., Hu, L. (2017) Super-strong, super-stiff macrofibers with aligned, long bacterial cellulose nanofibers. *Adv. Mat.* 29: 1702498. DOI: 10.1002/adma.201702498

Wu, S., Li, M. (2015) Production of bacterial cellulose membranes in a modified airlift bioreactor

by *Gluconacetobacter xylinus*. *J. Biosci. Bioengineer.* 120: 444-449.

Xie, H., Yang, C., Fu, K., Yao, Y., Jiang, F., Hitz, E., Liu, B., Wang, S., Hu, L. (2018) Flexible, scalable, and highly conductive garnet-polymer solid electrolyte templated by bacterial cellulose. *Adv. Energy Mat.*, 8: 1703474.

Xu, S., Liu, D., Zhang, Q., Fu, Q. (2018) Electric field-induced alignment of nanofibrillated cellulose in thermoplastic polyurethane matrix. *Comp. Sci. Technol.*, 156, 117-126. DOI: 10.1016/j.compscitech.2017.12.017

Yin, H., Wei, X., Bao, R., Dong, Q., Liu, Z., Yang, W., Xie, B., Yang, M. (2015) Enhancing Thermomechanical Properties and Heat Distortion Resistance of Poly(l-lactide) with High Crystallinity under High Cooling Rate. *Sustainable Chemistry & Engineering*, 3: 654-661.

Yook, S., Park, H., Park, H., Lee, S.Y., Kwon, J., Youn, H.J. Barrier coatings with various types of cellulose nanofibrils and their barrier properties. *Cellulose*, 27: 4509-4523. DOI: 10.1007/s10570-020-03061-5

Yousefi, H., Faezipour, M., Hedjazi, S., Mousavi, M.M., Azusa, Y., Heidari, A.H. (2013) Comparative study of paper and nanopaper properties prepared from bacterial cellulose nanofibers and fibers/ground cellulose nanofibers of canola straw. *Industrial Crops and Products*, 43:732-737. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.08.030

Yuwawech, K., Wootthikanokkhan, J., Tanpichai, S. (2015) Effects of Two Different Cellulose Nanofiber Types on Properties of Poly(vinyl alcohol) Composite Films. *Journal of Nanomaterials*, 2015: 908689. DOI: 10.1155/2015/908689

Vilela, C., Pinto, R.J.B., Figueiredo, A.R.P., Pascoal Neto, C., Silvestre, A.J.D., Freire, C.S.R. (2017) Development and applications of cellulose nanofibres based polymer nanocomposites. In: Bafekrpour, E. (eds.): *Advanced Composite Materials: Properties and Applications*, De Gruyter, Berlin, pp. 1-65. DOI: 10.1515/9783110574432-001

Zeng, M., Laromaine, A., Roig, A. (2014) Bacterial cellulose films: influence of bacterial strain and drying route on film properties. *Cellulose*, 21:4455-4469. DOI: 10.1007/s10570-014-0408-y

Zeng, J., Liu, L., Li, J., Dong, J., Cheng, Z. (2020) Properties of cellulose nanofibril produced from wet ball milling after enzymatic treatment vs. mechanical grinding of bleached softwood Kraft fibers. *BioResources*, 15: 3809-3820.

APENDICE A – Concentração ótima de sacarose para a produção de CB

Tabela 4. Valores bases para a definição da melhor concentração de sacarose em virtude da produção de CB.

Sacarose (g/L)	Massa úmida (g)	Massa seca (g)	Umidade (%)
100	23,87 ($\pm 0,107$)	0,72 ($\pm 0,026$)	96,9 ($\pm 0,11$)
150	26,09 ($\pm 0,145$)	0,88 ($\pm 0,011$)	96,6 ($\pm 0,03$)
200	24,85 ($\pm 0,082$)	0,69 ($\pm 0,030$)	97,2 ($\pm 0,13$)
250	24,75 ($\pm 0,087$)	0,66 ($\pm 0,022$)	97,3 ($\pm 0,08$)
300	24,83 ($\pm 0,115$)	0,65 ($\pm 0,014$)	97,3 ($\pm 0,06$)

* Entre parêntese desvio padrão