

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS
MESTRADO PROFISSIONAL

**CELULOSE BACTERIANA E PECTINA: UMA BLENDA POLIMÉRICA
PARA A CONSERVAÇÃO DE MORANGOS**

JOSANA CARLA DA SILVA SASAKI

ORIENTADOR: Prof. Dr. Álvaro Baptista Neto
COORIENTADOR: Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

ARARAQUARA – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

CELULOSE BACTERIANA E PECTINA: UMA BLENDA POLIMÉRICA
PARA A CONSERVAÇÃO DE MORANGOS

JOSANA CARLA DA SILVA SASAKI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Álvaro Baptista Neto
COORIENTADOR: Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

ARARAQUARA – SP

2021

S586c

Sasaki, Josana Carla da Silva.

Celulose bacteriana e pectina: uma blenda polimérica para a conservação de morangos / Josana Carla da Silva Sasaki. – Araraquara: [S.n.], 2021.

100 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Orientadora: Álvaro de Baptista Neto.

Coorientador: Rondinelli Donizetti Herculano.

1. Bioplástico. 2. Pectina. 3. Celulose bacteriana. 4. *Komagataeibacter hansenii*. 5. Morango. 6. Revestimento. I. Baptista Neto, Álvaro de, orient. II. Herculano, Rondinelli Donizetti, coorient. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CELULOSE BACTERIANA E PECTINA: UMA BLEND POLIMÉRICA PARA A CONSERVAÇÃO DE MORANGOS.

AUTORA: JOSANA CARLA DA SILVA SASAKI

ORIENTADOR: ALVARO DE BAPTISTA NETO

COORIENTADOR: RONDINELLI DONIZETTI HERCULANO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ALVARO DE BAPTISTA NETO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. WILMA APARECIDA SPINOSA (Participação Virtual)
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos / Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS GUASTALDI (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 31 de agosto de 2021

Dedico este trabalho a Deus, que me deu a vida e formou o planeta Terra, pois nele, além de mim, vivem todos os que eu amo, deste planeta tiro o meu sustento, sendo, hoje, o meu dever lutar por sua sustentabilidade.

Dedico, em especial, aos meus eternos e amados avós, Eurípedes & Maria; Maria & Laurentino.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo! Sem a sua graça nem vida eu teria.

Agradeço aos meus familiares, que sempre me incentivaram de alguma forma para que eu concretizasse os meus objetivos. Em especial, agradeço a meu esposo, Alexandre T. Sasaki, por ser paciente, compreensivo e apoiar os meus sonhos, e aos meus filhos, Miguel e Melina, que tanto me perdoaram pelo tempo que lhes foi roubado devido à minha dedicação aos estudos.

Agradeço aos amigos, colegas, conhecidos e técnicos de laboratório, que sempre estavam prontos a me ajudar. Agradeço especialmente à Mariana Pereira, cuja amizade e companhia no mestrado fez com que essa etapa passasse como um sopro.

Agradeço sobretudo ao meu orientador, Prof. Dr. Álvaro de Baptista Netto, e ao coorientador, Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano, pela paciência, carinho e dedicação comigo e com o projeto. Sem eles, nada disso seria possível.

RESUMO

Estima-se que cerca de 1/3 da produção de alimentos é desperdiçado entre a cadeia produtiva até o consumo, o que acarreta em problemas econômicos, sociais e ambientais. Deste modo, tecnologias que venham aumentar o tempo de prateleira dos alimentos é indispensável e urgente, o que poderia reduzir o apelo constante por maior produção. Com base nessas problemáticas, o presente estudo teve como objetivo avaliar a produção de celulose bacteriana em diferentes meios de cultivo para, posteriormente, desenvolver uma blenda polimérica de celulose bacteriana e pectina para a aplicação e análise preliminar em morangos, visando revestir, proteger e aumentar a vida de prateleira da fruta. Para o desenvolvimento do trabalho, foi utilizada a bactéria *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 (antigo *Acetobacter xylinus* Yamada) para a produção da celulose em diferentes meios de cultivo e condições de agitação. As melhores produções de celulose foram alcançadas nos meios Hestrin e Schramm (HS) modificados com diferentes fontes de carbono, tais como: caldo de cana, como substituinte da glicose, (concentração de celulose igual a $38,8 \pm 15,4 \text{ g. L}^{-1}$, em base seca); HS suplementado com etanol, (concentração de celulose de $33,4 \pm 4,4 \text{ g. L}^{-1}$, em base seca) e a 100 rpm de rotação orbital; e suco de laranja, como substituinte da glicose, (concentração de celulose de $27,2 \pm 9,4 \text{ g. L}^{-1}$, em base seca) e, em meio estático. O cultivo de celulose bacteriana decorreu pelo período de 14 dias. Com os resultados obtidos, foi possível determinar a melhor estratégia para a produção de celulose bacteriana para o uso no desenvolvimento do revestimento bioplástico, que foi elaborado com base na blenda polimérica de celulose bacteriana e pectina. Outra blenda foi desenvolvida a partir da introdução do material hidrofóbico óleo de coco, visando possivelmente melhoria no revestimento com características hidrofílicas. Na avaliação sobre as características mecânicas do biomaterial, foi possível determinar que o revestimento bioplástico de celulose bacteriana e pectina apresentou maior permeabilidade ao vapor de água, maior resistência à tração e menor deformação que o revestimento bioplástico com o aditivo de óleo de coco. No entanto, ambas amostras mostraram alta solubilidade em água. Com a investigação, foi plausível determinar que o revestimento à base de celulose bacteriana e pectina e a blenda de celulose bacteriana, pectina e óleo de coco aplicado sobre o morango evitou a senescência precoce e preservou a fruta, evitando perda de massa de 39% no revestimento de celulose bacteriana e pectina e 61% no revestimento bioplástico de celulose bacteriana, pectina e óleo de coco.

Palavras-Chave: Bioplástico; Pectina; Celulose bacteriana; *Komagataeibacter hansenii*; Morango; Revestimento.

ABSTRACT

It is estimated that about 1/3 of food production is wasted between a production chain and consumption, which leads to economic, social and environmental problems, thus, technologies that will increase the shelf life of food are indispensable and urgent, which would reduce the constant call for more production. Based on these issues, this study aimed to evaluate the production of bacterial cellulose in different culture media to further develop a polymer blend of bacterial cellulose and pectin for application and preliminary analysis in strawberries, aiming to coat, protect and increase life of fruit shelf. For the development of the work, the bacterium *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 (formerly *Acetobacter xylinus* Yamada) was used for the production of cellulose in different culture media and agitation conditions. The best cellulose productions were achieved in Hestrin and Schramm (HS) media modified with different carbon sources: such as sugarcane juice as a glucose substitute, (cellulose concentration equal to $38.8 \pm 15.4 \text{ g. L}^{-1}$, on a dry basis); HS supplemented with ethanol, (cellulose concentration of $33.4 \pm 4.4 \text{ g. L}^{-1}$, on a dry basis), at 100 rpm of orbital rotation; and orange juice as a replacement for glucose (concentration of cellulose of $27.2 \pm 9.4 \text{ g. L}^{-1}$, on a dry basis), in a static medium. The bacterial cellulose culture was carried out for a period of 14 days. With the results obtained, it was possible to determine the best strategy for the production of bacterial cellulose for use in the development of the bioplastic coating, which was elaborated based on the polymeric blend of bacterial cellulose and pectin. Another blend was developed, with the introduction of the hydrophobic material coconut oil, possibly aiming to improve the coating with hydrophilic characteristics. In the evaluation of the mechanical characteristics of the biomaterial, it was possible to determine that the bioplastic coating of bacterial cellulose and pectin had greater permeability to water vapor, greater tensile strength and less deformation than the bioplastic coating with the additive of coconut oil. However, both samples showed high solubility in water. With the investigation, it was plausible to determine the coating based on bacterial cellulose and pectin and the blend of bacterial cellulose, pectin and coconut oil applied on the strawberry avoided premature senescence and preserved the fruit, preventing a 39% loss of mass in the coating. bacterial cellulose and pectin and 61% in the bioplastic coating of bacterial cellulose, pectin and coconut oil.

Keywords: Bioplastic; Pectin; Bacterial cellulose; *Komagataeibacter hansenii*; Strawberry; Coating.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Objetivos da ODS (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável).....	12
Figura 2 – Principais polímeros biodegradáveis disponíveis atualmente	14
Figura 3 – Capacidade global de produção de bioplásticos: produção e perspectivas	20
Figura 4 – Representação da Estrutura Molecular da Celulose	23
Figura 5 – Representação hipotética da rede metabólica central de <i>Komagataeibacter hansenii</i> no consumo de glicose (GCL) manitol (MANND) e glicerol (GLYC).	30
Figura 6 – Esquema Representativo da Parede Celular de Frutas e Vegetais.....	33
Figura 7 – Cadeia Estrutural da Pectina.....	35
Figura 8 – Cultivo de morangos por produção e área (ha)	39
Figura 9 – Morangos selecionados para análise e comparação de resultados	42
Figura 10 – Imersão de morango em revestimento	42
Figura 11 – Fluxograma da produção do revestimento bioplástico	48
Figura 12 – Máquina universal de ensaio EMIC – Modelo DL-2000.....	50
Figura 13 — Celulose uniforme obtida em meio estático (a) e celulose em grumos obtida em meio agitado (b)	54
Figura 14 – Celulose bacteriana purificada seca em estufa	55
Figura 15 – Média de valores da concentração de celulose obtida em cada uma das frequências de agitação avaliadas.....	56
Figura 16 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo caldo de cana-de-açúcar como fonte de carbono	59
Figura 17 – Consumo dos compostos encontrados no HS suplementado com etanol	60
Figura 18 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo suco de laranja como fonte de carbono	61
Figura 19 – Consumo dos compostos encontrados no HS padrão contendo (glicose) como fonte de carbono.....	62

Figura 20 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo etanol como fonte de carbono.....	63
Figura 21 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo glicerol como fonte de carbono	64
Figura 22 – Revestimentos bioplásticos à base de cb e pectina	68
Figura 23 – Bioplásticos à base de celulose bacteriana e pectina	68
Figura 24 – Materiais de partida identificados em espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	69
Figura 25 – Identificação dos grupos funcionais nos revestimentos bioplásticos por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.....	71
Figura 26 – Curva de tensão <i>versus</i> deformação do filme de (CB + PEC; CB + PEC + ÓLEO DE COCO)	72
Figura 27 – Variação de massa durante análise de permeabilidade de água	74
Figura 28 – Solubilização inicial sem agitação do revestimento bioplástico em água	76
Figura 29 – Solubilização após 10h. sem agitação do revestimento bioplástico em água	76
Figura 30 – Avaliação das mudanças visuais dos morangos de 0 até 72h.....	79
Figura 31 – Avaliação das mudanças visuais dos morangos de 96 até 168h.....	81
Figura 32 – Avaliação das mudanças visuais dos morangos após 192h.....	82
Figura 33 – Avaliação gráfica das alterações mássicas dos morangos após 192h.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção e tratamento de lixo plástico por país	17
Tabela 2 – Recentes publicações avaliando a aplicação da celulose bacteriana	25
Tabela 3 – Fontes agroindustriais utilizadas como meio de cultivo (CB)	32
Tabela 4 – Percentual de consumo de substratos pelas bactérias em diferentes meios.....	65
Tabela 5 – Preço médio utilizando diferentes fontes industriais	67
Tabela 6 – Resultados dos ensaios mecânicos realizados nos revestimentos bioplásticos.....	73
Tabela 7 – Resultados dos ensaios de permeabilidade de vapor de água	75
Tabela 8 – Perda de massa gradativa dos morangos em 8 dias	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC – American Type Collection

ATM – Alto Grau de Metoxilação

ATR – Açúcar Total Recuperável

BTM – Baixo Grau de Metoxilação

BCS – Bacterial Cellulose Synthesis

CB – Celulose Bacteriana

CV – Celulose Vegetal

EPS – Substâncias Poliméricas Extracelulares

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

HG – Homogalacturonano

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MJ KG – Megajoule Quilograma

ODSs – Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

PEC – Pectina

PCEL – Parede Celulósica Vegetal

pH – Potencial Hidrogeniônico

RGI – Ramnogalacturonano

RHA – Ramnose

RPM – Rotação por Minuto

TCS – Terminais da Célula Bacteriana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 PLÁSTICOS.....	17
3.2 BIOPLÁSTICO	18
3.3 REVESTIMENTOS BIOPLÁSTICOS.....	21
3.4 PECULIARIDADES NA PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICO	22
3.5 CELULOSE BACTERIANA	23
3.5.1 PRODUÇÃO DE CELULOSE POR <i>Komagataeibacter hansenii</i>	27
3.5.2 PRODUÇÃO DA CELULOSE EM LABORATÓRIO.....	31
3.6 PECTINA.....	32
3.7 ÓLEO DE COCO	36
3.8 GLICEROL.....	37
3.9 MORANGO	38
4 MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1 MATERIAIS PARA O PROCESSAMENTO DA BLENDAS	41
4.2 ESPECIFICAÇÕES DOS MORANGOS PARA ANÁLISES	41
4.3 PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	43
4.3.1 MICRORGANISMO PARA SINTETIZAÇÃO DA CB	43
4.3.2 MEIO DE CULTURA.....	43
4.3.3 MEIOS DE CULTIVO ALTERNATIVOS	43
4.3.4 PREPARO DAS PLACAS COM MICRORGANISMO.....	44
4.3.5 PREPARO DO INÓCULO	44
4.4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS DA PRODUÇÃO DA CB	45
4.4.1 DETERMINAÇÃO DO BRUX	45
4.4.2 pH.....	45
4.4.3 DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE CELULOSE BACTERIANA	45
4.4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DA PRODUÇÃO DE (CB)	46
4.4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO.....	46

4.4.6 AVALIAÇÃO DE CUSTO DA PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA	47
4.5 PROCESSO DE CONFECÇÃO DO REVESTIMENTO BIOPLÁSTICO	47
4.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MECÂNICA DO REVESTIMENTO BIOPLÁSTICO	48
4.6.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR).....	48
4.6.2 ENSAIO MECÂNICO (TESTE DE TRAÇÃO <i>versus</i> DEFORMAÇÃO).....	49
4.6.3 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA.....	51
4.6.4 SOLUBILIDADE EM ÁGUA	52
4.7 AVALIAÇÃO VISUAL DAS FRUTAS.....	53
4.7.1 ANÁLISE DA PERDA PERCENTUAL DE MASSA DOS MORANGOS	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA	54
5.2 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE SUBSTRATO	58
5.3 AVALIAÇÃO DO CUSTO DA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA.....	66
5.4 CARACTERIZAÇÃO DO REVESTIMENTO BIOPLÁSTICO	67
5.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR).....	69
5.6 ENSAIO MECÂNICO (TESTE DE TRAÇÃO <i>versus</i> DEFORMAÇÃO).....	71
5.7 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA.....	73
5.8 SOLUBILIDADE EM ÁGUA.....	75
5.9 TESTE SENSORIAL VISUAL DOS MORANGOS	77
5.10 PERDA DE MASSA DOS MORANGOS.....	83
6 CONCLUSÃO	86
7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	87
8 REFERÊNCIAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

A perda e o desperdício de alimentos são um grande ônus à toda sociedade, podendo incidir por descaso, mal acondicionamento, manuseamento, transporte inadequado, alta perecibilidade entre outros fatores.

No Brasil, o problema de perdas e desperdícios de frutas ocorre devido a fatores como manipulação inapropriada e má conservação do alimento – que podem acontecer em etapas distintas do processo. Estima-se que, durante a colheita, são perdidos cerca de 10% das frutas; 30% do desperdício ocorre durante o manuseio e transporte; cerca de 50% são perdidas nos centros de distribuição; e os 10% restantes se dividem entre supermercados e consumidores (FAO, 2017).

Neste contexto, a Assembleia Geral das Nações Unidas criou a coleção de 17 metas globais a serem alcançadas até o ano de 2030, chamada ODS (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável), entre os objetivos estão: consumo e produção responsáveis, agricultura sustentável, inovação, ação contra a mudança global do clima, estes são alguns dos objetivos do movimento, conforme exemplifica a Figura 1.

Figura 1 – Objetivos da ODS (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável)



Fonte: PLAN INTERNATIONAL (2017, s./p.)

Conforme a FAO (2017), a problemática da perda e o desperdício de alimentos chegam, aproximadamente, a um terço do alimento produzido no mundo, ou seja, 1,3 bilhão de tonelada anual - o que torna as ações que resultam na redução de perdas de alimentos imprescindíveis.

Assis e Britto (2014) descrevem que os revestimentos e embalagens para frutas apresentam um grande potencial de conservação destes alimentos, o que reduz o desperdício, uma vez que os revestimentos têm como papel colaborar para a preservação organoléptica do alimento, preservar o valor nutricional, evitar ganho excessivo de água e impedir trocas gasosas que podem acelerar sua degradação.

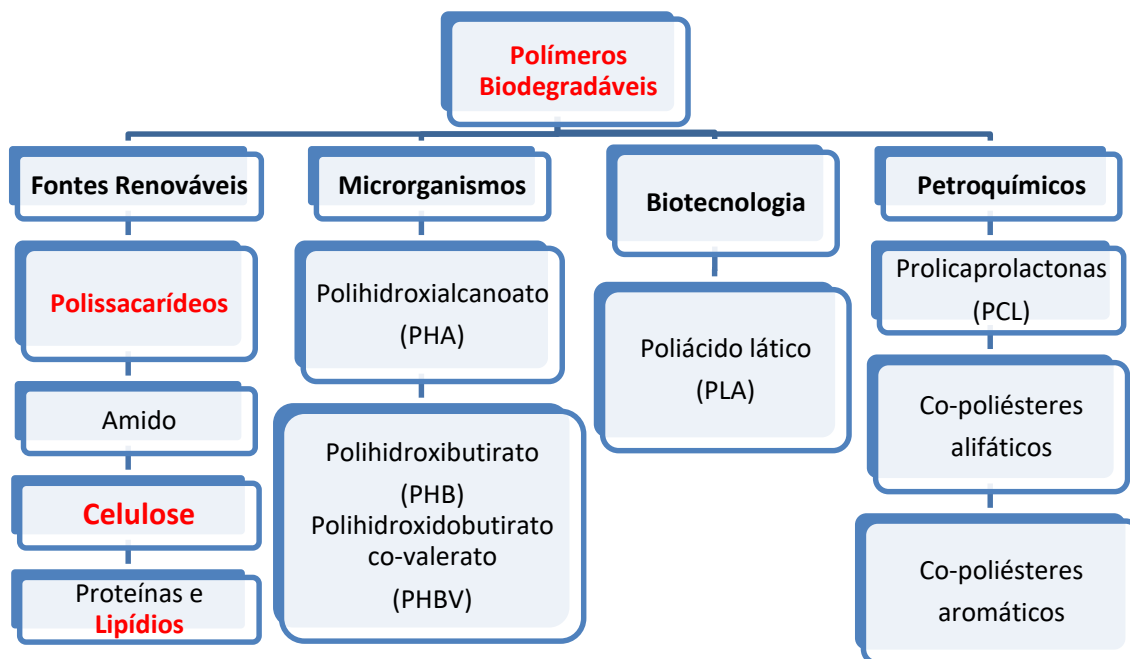
Muitos materiais plásticos petroquímicos foram desenvolvidos e direcionados para a aplicação no setor alimentício, porém, foi inegavelmente ignorado por muito tempo o impacto ambiental negativo que toda essa cadeia semeava, desde a extração do recurso natural não renovável até a aplicação e uso dos seus derivados.

No entanto, nos últimos tempos, novos materiais plásticos promissores e ecologicamente corretos estão se tornando destaque como no caso dos bioplásticos – materiais que derivam de fontes renováveis de biomassa e que têm sido uma alternativa aos plásticos obtidos de derivados do petróleo, que é uma fonte “não renovável e não sustentável” (MCLELLAN *et al.*, 2019).

O bioplástico pode ser utilizado para os mais diversos fins, destacando-se como material para revestimentos alimentícios, como em frutas e vegetais, já que essa aplicação pode agir beneficemente na manutenção dos alimentos, evitando perdas prematuras (ORTIZ *et al.*, 2012).

De acordo com a European Bioplastics (2020), do total de material bioplástico produzido, 53% (1,14 milhão de tonelada) foram destinados ao mercado de embalagens alimentícias, sendo o maior seguimento do setor. A Figura 2 mostra as principais fontes para obtenção de polímeros biodegradáveis.

Figura 2 – Principais polímeros biodegradáveis disponíveis atualmente



Fonte: Adaptado de OLIVEIRA *et al.* (2016, p. 18).

A Figura 2 mostra que a celulose pode ser uma das fontes biodegradáveis, o que a torna um material viável para a produção de bioplástico. Dentre os tipos de celulose em ampla pesquisa no mundo científico, destaca-se a celulose bacteriana sintetizada por bactérias.

Para a produção de celulose bacteriana, utiliza-se meios de cultivos contendo fonte de carbono e outros nutrientes que são necessários para a síntese de celulose através de cultura bacteriana. O meio padrão para a produção de celulose bacteriana foi desenvolvido por HESTRIN e SCHRAMM, em 1954. Este meio sustenta alta produção de celulose bacteriana, porém é considerado ainda de alto custo, o que acaba por influenciar nas despesas do processo de produção. Sendo assim, o desenvolvimento de meios de cultivos de baixo custo para a produção de celulose bacteriana se faz necessário. Uma alternativa para isso é o uso de fontes de nutrientes originários de produtos e subprodutos da agroindústria, que são baratos e suportam uma boa produção de celulose bacteriana (CARNEIRO, 2015).

A celulose bacteriana pode ser misturada com outros polímeros, visando à produção de um material adequado para uma determinada aplicação. Logo, outro material que pode ser utilizado para a formulação do bioplástico é a pectina, polímero de carboidratos.

Segundo Canteri *et al.* (2012), a pectina possui alta capacidade de formação de gel e pode ser utilizada tanto como plastificante como para a formação de filmes biodegradáveis. Desse modo, uma blenda contendo celulose bacteriana e pectina para a formulação de revestimento bioplástico para frutas se mostra uma alternativa interessante por envolver neste estudo o aspecto tecnológico, à preservação de recursos ambientais e à preocupação social.

Portanto, a utilização de plásticos derivados de biomassa para revestimentos ou embalagens para frutos preserva o alimento e se mostra também uma alternativa ambientalmente interessante.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a melhor forma de obtenção de celulose bacteriana em laboratório, para, posteriormente, desenvolver blendas poliméricas à base de celulose bacteriana e pectina, para aplicação preliminar em morangos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a composição do meio de cultivo com diferentes substratos para a produção de celulose bacteriana, a partir da utilização da bactéria *Komagataeibacter hansenii*, e determinar a melhor frequência de agitação orbital para o cultivo;
- Produzir blendas poliméricas à base de celulose bacteriana e pectina e adicionar óleo de coco como composto;
- Caracterizar físico-química e mecanicamente as blendas poliméricas;
- Avaliar a influência das blendas poliméricas no tempo de prateleira de morangos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PLÁSTICOS

Plásticos são denominados polímeros, ou seja, pequenas moléculas interligadas em cadeia, constituindo uma molécula de alta massa molar. Essas interligações monoméricas originam um material rígido e estável, podendo ser aplicado na modelagem de uma gama de produtos (FRIDOVICH, 2020).

Atualmente, os plásticos mais utilizados são derivados do petróleo, sendo em sua maior parte um material não degradável por microrganismos, o que ocasiona grave problema ambiental (TSANG *et al.*, 2019). Sendo assim, esse material, apesar de útil, é considerado nocivo ao meio ambiente devido aos resíduos acumulativos e descartados de forma inadequada após seu uso (FABJOLA *et al.*, 2018).

De acordo com Coelho (2020), o Brasil é o 4º país que mais gera lixo plástico no mundo e recicla apenas 1% dos resíduos, ficando apenas atrás dos Estados Unidos, China e Índia, como exibe a Tabela 1.

Tabela 1 – Produção e tratamento de lixo plástico por país

Pais	Total de lixo plástico gerado	Total incinerado	Total reciclado	Relação produção e reciclagem
Estados Unidos	70.782.577	9.060.170	24.490.772	34,60%
China	54.740.659	11.988.226	12.000.331	21,92%
Índia	19.311.663	14.544	1.105.677	5,73%
Brasil	11.355.220	0	145.043	1,28%
Indonésia	9.885.081	0	362.070	3,66%
Rússia	8.948.132	0	320.088	3,58%
Alemanha	8.286.827	4.876.027	3.143.700	37,94%
Reino Unido	7.994.284	2.620.394	2.513.856	31,45%
Japão	7.146.514	6.642.428	405.834	5,68%
Canadá	6.696.763	207.354	1.423.139	21,25%

Fonte: COELHO (2020, s./p.) apud WWF.

Coelho (2020) relata a necessidade de uma parceria com as indústrias para o desenvolvimento de novas tecnologias que venham trazer soluções para a redução de descarte de plásticos, além de, imprescindivelmente, estimular a conscientização das empresas que utilizam embalagens plásticas quanto à necessidade do acompanhamento do produto e seus resíduos em todo seu ciclo de vida. Além disso, a mesma autora descreve a necessidade de implantação de políticas públicas adequadas que estimulem a reciclagem em larga escala e a educação ambiental do consumidor.

Apesar de o plástico derivado do petróleo ser o mais utilizado, fontes de origem de recursos renováveis podem ser utilizadas para a obtenção de um material melhor ou similar. Essas fontes são chamadas de biomassa e delas pode ser originado o bioplástico.

3.2 BIOPLÁSTICO

O bioplástico é um polímero obtido a partir de fontes renováveis ou do petróleo fonte não renovável, sendo este algumas vezes denominado bioplástico devido a injeção de aditivos pró-degradantes que proporcionam rápida degradação físico-química do material. O material obtido de forma renovável é considerado sustentável e ambientalmente correto, sendo, por isso, uma opção para substituir o plástico derivado do petróleo, fonte não renovável. Em pesquisas prévias, o uso de certos bioplásticos em algumas aplicações já se mostra mais vantajoso em relação ao plástico petroquímico (READE, 2018).

Desse modo, o bioplástico é considerado, de acordo com a European Bioplastics (2020), uma evolução dos plásticos convencionais, pois economiza recursos fósseis, emprega na sua produção biomassa que regenera o ambiente e ajuda a manter o equilíbrio do ciclo de carbono, sem promover o acúmulo de dióxido de carbono na atmosfera.

Porém, alguns materiais podem levar o nome bioplástico e não serem degradados por microrganismos, não sendo considerados, portanto, biodegradáveis, tais como os plásticos de origem petroquímica aditivados para degradação. Para o plástico ser considerado bioplástico biodegradável, há a necessidade de que pelo

menos uma etapa do processo de sua degradação seja biológica, além de outros fatores físico-químicos (SASAKI; MACRI, 2019; ALBUQUERQUE, 2019).

Devido a um aumento na preocupação causada pelo efeito estufa e das mortes de animais aquáticos pela elevada poluição de materiais plásticos, está ocorrendo um aumento na conscientização de pessoas e empresas sobre a necessidade de preservação do meio ambiente. Por isso, há a necessidade de se optar pela utilização e produção de materiais biodegradáveis e sustentáveis (SASAKI; MACRI, 2019).

Para que a produção de bioplástico tenha um custo competitivo, uma estratégia é utilizar substratos de origem agroindustrial. Atualmente, a produção de bioplástico em escala industrial emprega substratos de cultura sustentável, como a cana-de-açúcar e o milho. Além disso, já se analisa o emprego de resíduos da agroindústria para a obtenção deste material, visando diminuir o descarte de resíduos com alta carga orgânica e obter um processo de baixo custo (READE, 2018).

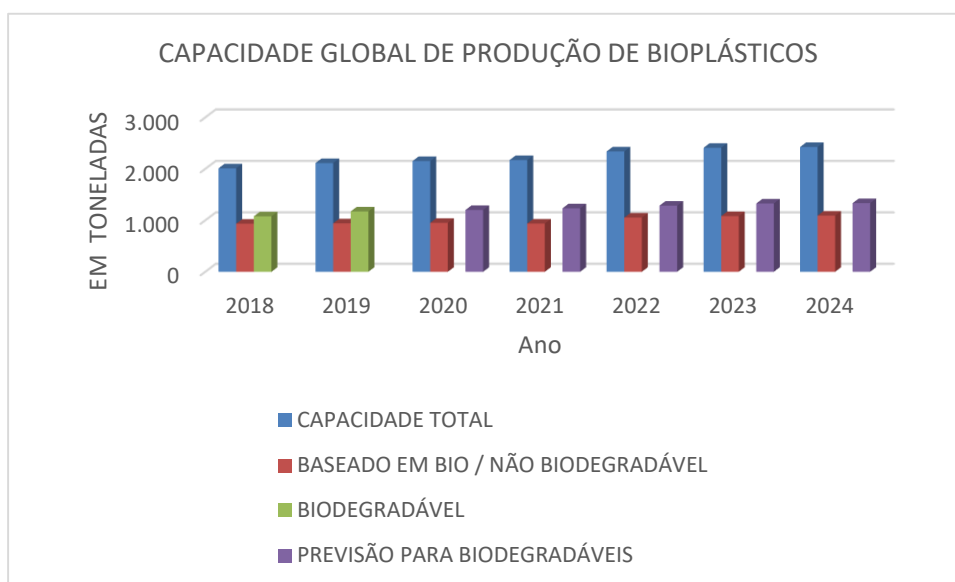
Conforme a European Bioplastics (2020), a produção industrial deste material também pode ser realizada pelo uso de culturas não alimentares, como a celulose, que apresenta um grande potencial na produção de novos biopolímeros.

Devido ao desenvolvimento de tecnologia voltada ao processo de produção de bioplástico, este material está se tornando competitivo economicamente perante o plástico petroquímico, pois a energia empregada para a produção de bioplástico é menor, em torno de 57 MJ Kg^{-1} , em comparação ao plástico produzido a partir de origem fóssil, que chega a 77 MJ Kg^{-1} (TSANG *et al.*, 2019). Em virtude de a produção de bioplásticos ser ainda recente e a produção ocorrer em pequena escala em comparação ao plástico derivado do petróleo, seu custo econômico acaba por ser relativamente maior. Em contrapartida, a aceitação desse material está relacionada aos valores intangíveis que estão agregados a ele, pois sua produção fundamenta-se na sustentabilidade, aspecto que lhe confere relevância superior ao fator econômico (RICCHINI, 2013).

Outro fato a ser destacado, conforme aponta Jones (2020), é o aumento da demanda por produtos biodegradáveis, principalmente na Europa. Segundo o autor, em 2019, a produção mundial de bioplástico foi de 2,11 milhões de toneladas, como mostra a Figura 3. Em 2023, a previsão de mercado é chegar a U\$ 1,7 bilhão para o comércio europeu, o que corresponde a aproximadamente 55% da demanda por biodegradáveis no mundo, fator atribuído aos regulamentos ambientais que são mais rígidos no continente. Outras regiões do mundo que contribuirão para a demanda de

produtos biodegradáveis são a Ásia, Austrália e Nova Zelândia, com cerca de 25%, seguida da América do Norte, com cerca de 19% (READE, 2018).

Figura 3 – Capacidade global de produção de bioplásticos: produção e perspectivas



Fonte: Adaptado de JONES (2020, p.76).

Assim, a produção e comercialização de bioplásticos agrega, além de valor financeiro, valor intangível ao meio ambiente, às pessoas e, consequentemente, às empresas, que acarreta diminuição de custos e marketing positivo. Segundo Willard (2002), a empresa que adota valor intangível de sustentabilidade tem potencial de aumentar seu valor de mercado em 12%, aumento de lucro de até 38% e produtividade em até 8%.

Portanto, corporações que visam à responsabilidade socioambiental em toda cadeia de suprimento dissemina comportamento sustentável e aumenta os ganhos dentro da cadeia produtiva (WILLARD, 2002).

3.3 REVESTIMENTOS BIOPLÁSTICOS

Revestimentos são coberturas de fina camada aplicadas diretamente na superfície do alimento e possuem a função de proteger o alimento. O uso de revestimento vem como uma tecnologia de grande potencial, sendo utilizado de forma emergencial na conservação de frutas tropicais intactas ou minimamente processadas após a colheita. Podendo ser formulado à base de polissacarídeos, proteínas e lipídios, os revestimentos podem ser utilizados para inibir a migração de umidade, oxigênio, aromas e lipídios, atuando como transportadores de aditivos antioxidantes e antimicrobianos (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997; LEITE *et al.*, 2015). Revestimentos não têm como objetivo inicial substituir as embalagens convencionais, sua finalidade é a funcionalidade de preservação contra fatores relacionados à perda ou a ganho excessivo de água, preservação de textura e valor nutricional (ASSIS; BRITTO, 2014). Apesar de a preservação da qualidade ser a finalidade principal, pesquisas indicam que o consumidor dá ênfase aos aspectos visuais do alimento (ASSIS *et al.*, 2008).

De acordo com Assis *et al.*, (2008), há uma tendência em classificar os materiais empregados na formulação do revestimento como hidrofílico ou hidrofóbico. Esses materiais podem apresentar afinidade ou não pela água, proporcionando, assim, características distintas ao material final, como alta ou baixa solubilidade e transmissão de vapor de água, facilitando, pois, o direcionamento do emprego do material a certos tipos de alimentos com características similares. Segundo os autores, os polissacarídeos são materiais hidrofílicos, portanto, afins à água, devido à predominância de grupos polares como hidroxilas e amino, os lipídios e proteínas por sua vez se caracterizam como materiais hidrofóbicos que agem como controladores de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, atuando, portanto, no controle da deterioração natural. Porém, os filmes de proteínas se apresentam frágeis, possuindo baixa flexibilidade.

Nesse contexto, as coberturas hidrofílicas são recomendadas genericamente para a aplicação em frutas com características brilhantes e de alta molhabilidade, por preservar o aspecto hidratado; já os revestimentos com características hidrofóbicas são indicados para frutas com alta taxa de transpiração nas quais a deterioração ocorre pela perda de água (ASSIS; BRITTO, 2014).

3.4 PECULIARIDADES NA PRODUÇÃO DE BIOPLÁSTICO

Conforme Garcia *et al.* (2004), a utilização de diferentes materiais com características distintas pode ser interessante para a produção de bioplástico; contudo, a compatibilidade entre os materiais é de essencial importância para a obtenção de um material com propriedades mecânicas e de barreira (transferência de gases e proteção mecânica) adequada à sua aplicação.

A propriedade de barreira a compostos externos interfere na vida útil de um produto, portanto, propriedades como difusão, permeabilidade e solubilidade devem ser atributos importantes para uma aplicabilidade eficiente ao alimento destinado.

Os filmes formulados para embalagens ou revestimentos alimentícios exigem integridade ao exterior e não devem ser solúveis em meio aquoso. Dessa forma, polissacarídeos unidos com íons divalentes podem proporcionar baixa solubilidade em virtude das fortes ligações tridimensionais (ZACTITI; KIECKBUSCH, 2006).

Para evitar a fragilidade do material formado, pode-se usar um plastificante. O plastificante a ser utilizado deve ser compatível com o polímero e o solvente utilizado no desenvolvimento do filme, possuindo, preferencialmente, estrutura similar ao polímero, facilitando a miscibilidade e não a separação de fases (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

Uma das técnicas utilizada para a obtenção de um filme com espessura uniforme é a “*casting*”, que se baseia em verter a massa sobre a placa de secagem. A espessura é um fator importante, visto que o aumento da espessura do filme aumenta linearmente à permeabilidade ao vapor de água (PARK; CHINNAN, 1995). Deve-se considerar os efeitos da temperatura na espessura do filme, sendo que, de acordo com Kayseriliuğlu *et al.* (2003), o aumento da temperatura tende a diminuir a espessura do filme.

O grau de intumescimento do material a ser utilizado é uma propriedade importante a ser avaliada, pois pode levar à modificação da matriz polimérica, o que pode facilitar a propagação de microrganismos na estrutura do filme devido à penetração de água que hidrata as moléculas, reduzindo as forças intermoleculares (SRIAMORNSAK; KENNEDY, 2008).

Os trabalhos de Martins *et al.* (2009); Woehl *et al.* (2010) e Cordeiro (2015) relatam que a utilização de maiores quantidades de celulose bacteriana, como reforço

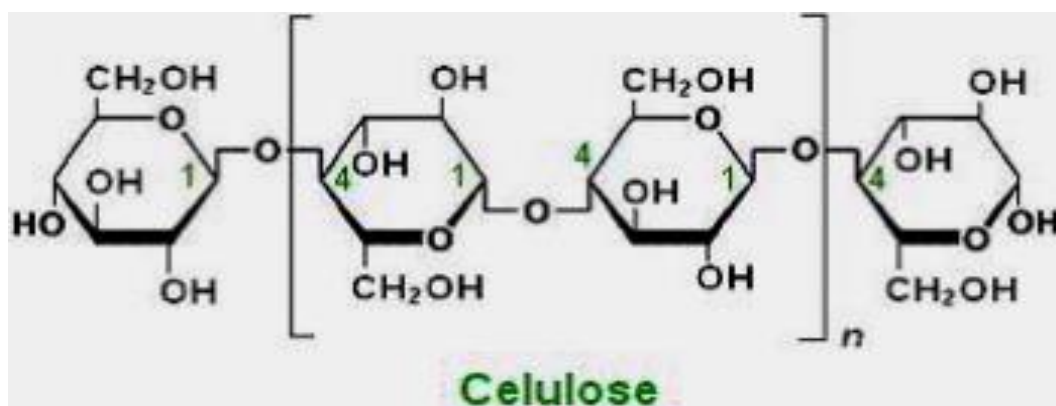
na produção de bioplástico à base de amido, obteve um aumento na tensão de ruptura e no módulo Young, responsável pela caracterização da rigidez do material.

A celulose bacteriana é um ótimo material para o preparo de compósitos, devido a características de suas propriedades. Assim, quando outros materiais são combinados a ela, tanto *in situ* como *ex situ*, há a formação de um material com características físicas, químicas e biológicas que pode ser diferente dos materiais utilizados para a sua formação. Tal possibilidade mostra a importância de avaliação das características físico-químicas da formulação de uma blenda polimérica entre celulose bacteriana e pectina.

3.5 CELULOSE BACTERIANA

A celulose ($C_6H_{10}O_5$)_n se destaca em abundância e disponibilidade frente a outros polímeros. Formada por unidades de glicose ligadas entre si, como se ilustra na Figura 4, ela pode ser encontrada em vegetais, animais, em algumas espécies de algas, na parede celular de fungos e, também, pode ser sintetizada por algumas bactérias (HEINZE *et al.*, 2018).

Figura 4 – Representação da Estrutura Molecular da Celulose



Fonte: MAGALHÃES (2020, s./p.)

Os materiais lenhosos destacam-se por serem os mais utilizados nos processos de obtenção da celulose, mas trazem consigo desvantagens, tais como: o desequilíbrio do meio ambiente, devido ao desmate para utilização da madeira ou

mesmo quando em cultura plantada, já que podem causar problemas associados ao solo, além de que o processo para a extração da celulose desta fonte exige demasiado tratamento químico em virtude da impureza adjunta à celulose. Sendo assim, a utilização de reagentes químicos nesse processo é altamente poluente (RECOUVREUX, 2004).

No entanto, a celulose produzida por via bacteriana vem se destacando e ganhando espaço dentre as celuloses obtidas de outras fontes, devido às suas propriedades e à sua pureza. Hoje, a celulose bacteriana é amplamente pesquisada na utilização para engenharia de tecidos, medicina, cosméticos, mineração, refinaria, indústrias têxteis, equipamentos eletrônicos e alimentos.

A comparação entre o uso de celulose vegetal ou bacteriana gera discussões. A esse respeito, Donini *et al.* (2010) discorrem sobre o assunto e afirmam que, hipoteticamente, com o uso de 1 hectare de eucalipto com incremento médio anual de 50 m³ e densidade de 500 Kg por m³, tem-se o incremento médio de 25 toneladas por hectare anual; logo, com um plantio de 7 anos com teor de cerca de 45% de celulose se obtém o rendimento de 80 toneladas de celulose por hectare. Dessa forma, os autores afirmam ser possível alcançar o mesmo resultado em produção obtendo-se o rendimento de 15 gramas por litro em 50 horas, em um biorreator de 500 m³ com tempo de produção de 22 dias.

Contudo, embora a celulose bacteriana possua propriedades únicas, o processo de produção em grande escala ainda é limitado quando o processo ocorre em meio estático, pois proporciona baixo rendimento na produção de CB, acabando por encarecer o processo. No entanto, quando a CB é cultivada em meio agitado, a produção em grande escala é beneficiada, mas pode ocorrer um ônus no processo e, possivelmente, acontecer mutação gradual celular, tornando-as espécies não sintetizadoras de celulose (ISLAM *et al.*, 2017; SINGHSA *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019; MARESTONI *et al.*, 2020).

Segundo Lee *et al.* (2014), o que difere a celulose bacteriana da celulose vegetal é seu grande potencial. Devido à sua estrutura nanométrica, alta cristalinidade e pureza, a celulose bacteriana possui fibras naturalmente porosas e a sua estrutura pode sustentar diferentes partículas, com isso, ela pode atuar como um material de reforço ou material compósito, podendo o material ser utilizado para diversas aplicações.

Na Tabela 2 são elencadas algumas pesquisas recentemente publicadas que comprovam a vasta aplicabilidade da celulose bacteriana.

Tabela 2 – Recentes publicações avaliando a aplicação da celulose bacteriana

Temática	Autores
Alimentos	(Lin <i>et al.</i> , 2020).
Bioplástico	(Silva <i>et al.</i> , 2020).
Biossensor	(Guohui <i>et al.</i> , 2016).
Condutores	(Ma <i>et al.</i> , 2016).
Curativos	(Cacicedo <i>et al.</i> , 2020); (Gupta <i>et al.</i> , 2020).
Estrutura de Tecidos	(Anju <i>et al.</i> , 2020).
Enxerto para Tímpano	(Silveira <i>et al.</i> , 2016).
Regeneração Óssea	(Olyveira, 2016).
Nanocompósito Adsorvente Fotocatalítico	(Luyu <i>et al.</i> , 2020).
Supercapacitor	(Yu <i>et al.</i> , 2020).

Fonte: Própria autora (2020).

A biossíntese da celulose bacteriana ocorre principalmente em bactérias Gram-negativas e em poucas Gram-positivas. As principais cepas bacterianas que produzem celulose durante o seu crescimento celular são as bactérias pertencentes aos gêneros *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Sarcina* (BODIN *et al.*, 2011; HEINZE *et al.*, 2018).

A síntese ocorre em bactérias com o operon definida “celulose síntese ou bcs (bacterial cellulose synthase)”, no qual o operon bcs codifica e associa proteínas e enzimas individuais originando a polimerização da glicose e a formação de celulose bacteriana (RECOUVREUX, 2004).

A celulose é sintetizada nos complexos terminais da célula bacteriana (TCs) que incidem em torno de quatro subunidades. Duas subunidades, AxCeSA (subunidade A da celulose sintase) e a subunidade AxCeSB (subunidade B da celulose sintase), sendo elas responsáveis por catalisar e regular a polimerização da cadeia glucana. As outras duas subunidades, AxCeSC (subunidade C da celulase

sintase) e AxCeSD (subunidade D da celulase sintase), são responsáveis por extrudir e cristalizar a cadeia glucana (HU *et al.*, 2010).

Conforme Hu *et al.* (2010), essas subunidades são codificadas por genes que compõe o operon celulose síntase, sendo os códigos: (axcesAB, axcesC e axcesD) ou (axcesA axcesB, axcesC e axcesD).

A matriz extracelular, também denominada como EPS (Substâncias Poliméricas Extracelulares), é autoproduzida pela bactéria, sendo de extrema necessidade para sobrevivência celular. Em alguns casos, a matriz extracelular pode ser formada por polissacarídeos, como o caso da celulose bacteriana. Essa matriz celulósica é formada, sobretudo, por “polissacarídeos”, representando cerca de 90% da massa aparente, e formada também por microrganismos, que representam os 10% restantes. Essa estrutura celulósica atua como um suporte de agregado microbiano e na ligação física ar-líquido, facilitando o acesso do microrganismo ao oxigênio (FLEMMING; WINGENDER, 2010; RAMOS, 2017).

O processo de sintetização de cadeias de celulose ocorre, inicialmente, quando as moléculas de D-glicose são polimerizadas, formando ligações (glicosídicas β -1,4) entre as membranas externa e citoplasmática no espaço periplasmático da membrana. Aproximadamente, de 10 a 15 cadeias paralelas formam uma subfibrila de 1,5 nm de largura. Após essa etapa, várias protofibrilas são agregadas formando as nanofibrilas (2 a 4 nanômetros de diâmetro) que se agregam por meio da cristalização das cadeias de glucano adjacentes e, com isso, formam uma grande fita de celulose (com larguras menores do que 130 nm). O material formado é secretado para o meio em que se encontra a bactéria (ANDRADE *et al.*, 2010; CASTRO *et al.*, 2011; SAXENA; BROWN JUNIOR, 2012; BOLDRIN, 2015).

Segundo Boldrin (2015), a formação estrutural da celulose bacteriana ocorre devido à interligação das tiras expelidas com os grupos hidroxilas. Essa estrutura proporciona ao material algumas características importantes, tais como, biodegradabilidade, afinidade do material pela água (hidrofilicidade) e alta capacidade para a modificação química. Para o autor, a estrutura da celulose bacteriana apresenta ótima propriedade mecânica, elevado grau de pureza, cristalinidade, poder de absorção de água, resistência à tração, baixo grau de polimerização e melhor adaptabilidade biológica.

De acordo com Flemming e Wingender (2010) e Ramos (2017), a arquitetura estrutural do biofilme bacteriano pode ser influenciada por fatores que incluem concentração de nutrientes, mobilidade celular, comunicação intracelular, condições hidrodinâmicas.

Os trabalhos realizados por Lee *et al.* (2014) e Duarte *et al.* (2019) mostram que as condições mecânicas deste biomaterial, quando cultivados em laboratório, variam de acordo com algumas condições de processos, tais como: linhagem de microrganismo utilizado no cultivo, condição fisiológica (pH e temperatura), composição do meio de cultura e condição de agitação e aeração do processo.

A matriz extracelular, no entanto, é naturalmente produzida por estas bactérias com intuito de proteger os organismos nela presentes contra males causados pela radiação ultravioleta, dissecação, biocidas, cátions nocivos e antibióticos. A estrutura age também como um sistema digestivo externo, mantendo as enzimas próximas às células a fim de metabolizar os nutrientes presentes na fase aquosa. Além disso, a matriz extracelular de celulose bacteriana opera como um reservatório de genes e um meio para comunicação celular, sendo essencial para a produção das cadeias de celulose e para o controle de toda função fisiológica (RECOUVREUX, 2004; DUARTE *et al.*, 2019).

Conforme Donini *et al.* (2010), a celulose bacteriana pode ser produzida 365 dias por ano, independente das condições climáticas ou ambientais, pois a produção pode ocorrer em biorreatores e as condições de cultivo controladas durante o processo de produção.

3.5.1 PRODUÇÃO DE CELULOSE POR *Komagataeibacter hansenii*

Dentre as bactérias sintetizadoras de celulose mais utilizadas se destaca a bactéria *Acetobacter xylinus*, sendo referenciado como um dos melhores produtores. Atualmente, essa espécie é conhecida como *Komagataeibacter hansenii*, esta bactéria é capaz de oxidar etanol em ácido acético, portanto sendo conhecidas também como bactérias do ácido acético.

Na última década o gênero *Komagataeibacter* foi diferenciado taxonomicamente do gênero *Gluconactobacter*, sendo este móvel e produtor de um pigmento marrom. No entanto o gênero *Komagataeibacter* não produz pigmento

marrom e é imóvel, sendo esse, o motivo da mudança e subdivisão em grupos distintos (YAMADA *et al.*, 2012).

O microrganismo denominado anteriormente *Acetobacter xylinus* foi caracterizado por Brown, em 1886, e descrito por Swings (1992) como sendo encontrado na forma de bastonetes, Gram-negativo ou variáveis, aeróbio estrito e não móvel, medindo $0.5\text{--}0.8 \times 1.0\text{--}3.0 \mu\text{m}$ e produz ácido acético a partir do etanol. Além disso, possui a capacidade de sintetizar celulose a partir de uma fileira de sítios ao longo do eixo longitudinal da célula, formando a película celulósica (BROWN, 1886; YAMADA *et al.*, 2012).

O gênero *Komagataeibacter* pode ser encontrado naturalmente sozinho, em pares, em cadeia ou em pequenos aglomerados podendo ser isolados a partir de alimentos fermentados, como o vinagre (YAMADA *et al.*, 2012).

A síntese de celulose nestas bactérias ocorre entre a membrana externa e a membrana citoplasmática pela celulose-sintase, que está associada aos poros da superfície bacteriana. Durante o crescimento celular, as células se juntam com as nanofibrilas de celulose para formar um biofilme (GARRITY, 2005; DONINI, *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2014; COIMBRA, 2016).

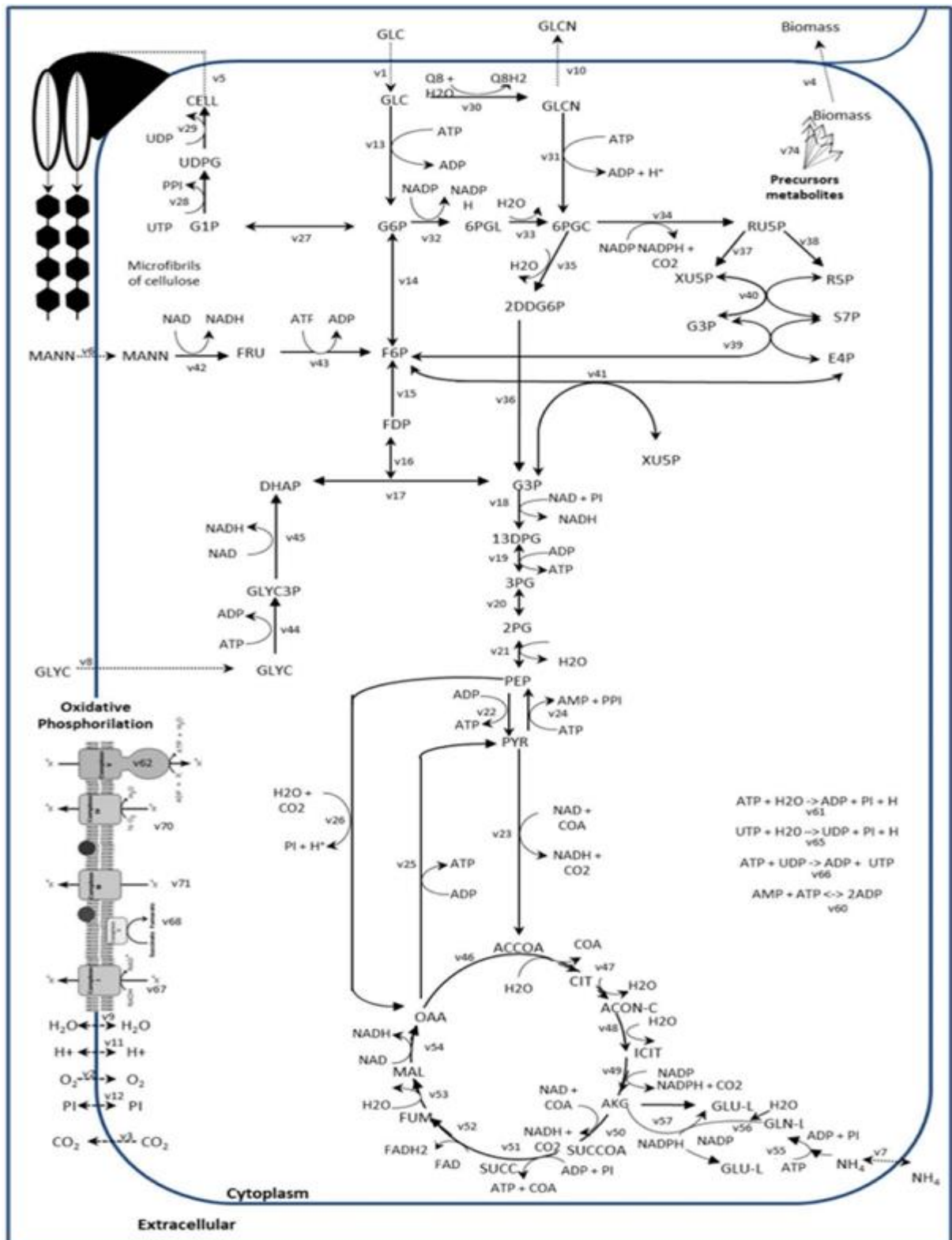
A síntese de celulose ocorre em três etapas: a polimerização dos resíduos de glicose em cadeias β_{1-4} -glucana; secreção extracelular das cadeias lineares e organização; e cristalização das cadeias glucanas, por meio de fortes ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals (ROSS *et al.*, 1991). A síntese pode ocorrer em dois formatos, no formato I em fita dotada de um único eixo, onde as forças de Van der Waals atuam entre as moléculas mantendo-as unidas ou formato tipo II em que a celulose é sintetizada amorficamente e suas moléculas são unificadas por um grande número de ligações de hidrogênio (SPINOSA, 2002; CLEENWERCK, 2008).

Ambos os formatos de celulose possuem características mecânicas como: resistência a tração de 200-300 MPa, módulo Young de 15-35 GPa e estabilidade térmica superior a 100°C, podendo suas estruturas serem afetadas devido a forma de cultivo, como em caso de cultivo em modo estático ou agitado (CACICEDO *et al.*, 2016).

De acordo com Donini *et al.* (2010), a via das pentoses e o ciclo de Krebs são as vias anfibólicas utilizadas pela bactéria, sendo assim, a via das pentoses é responsável pela oxidação dos carboidratos e o ciclo de Krebs responsável pela oxidação dos ácidos orgânicos.

De acordo com os mesmos autores, a síntese da glicose é direcionada para o citoplasma da bactéria, onde ocorre a catalisação por enzimas, tal como mostrado pela Figura 5. As enzimas envolvidas nesse processo são: Glicoquinase, responsável pela fosforilação do carbono 6 da glicose; Fosfoglicomutase, responsável pela catalisação da reação e isômeros da glicose-6-fosfato para glicose-1-fosfato; UDPG pirofosforilase, que sintetiza a UDP-glicose; e a enzima Celulose Sintase, que produz celulose a partir da UDP-glicose.

Figura 5 – Representação hipotética da rede metabólica central de *Komagataeibacter hansenii* no consumo de glicose (GCL) manitol (MANND) e glicerol (GLYC).



Fonte: SOUZA *et al.* (2018, p. 877).

3.5.2 PRODUÇÃO DA CELULOSE EM LABORATÓRIO

As bactérias do gênero *Komagataeibacter* utilizam como principal fonte de carbono a glicose, podendo se reproduzir em pH inferior a 5,0 estando a taxa ótima de temperatura de 15 e 34°C e temperatura ótima de inativação entre 65 a 70°C (MADALOZZO, 2008).

De acordo com Swings (1992) e Spinosa (2002), a bactéria não cresce em leite, não hidrolisa lactose, dextrina ou amido e não metaboliza proteína.

O meio para fermentação mais utilizado em laboratório para a produção da celulose bacteriana é o (HS). Este meio foi desenvolvido por Hestrin e Schramm (1954) e possui a seguinte composição: glicose, 20 g.L⁻¹; peptona de carne, 5 g.L⁻¹; extrato de levedura, 5 g.L⁻¹; Na₂HPO₄, 2,7 g.L⁻¹; e ácido cítrico, 1,15 g.L⁻¹.

Outro meio de cultivo definido para o cultivo de celulose bacteriana é o meio ALABAN, desenvolvido por Alaban (1962), e contém a seguinte composição: 2,50 g.L⁻¹ de extrato de levedura; fosfato ácido de potássio, 5,00 g.L⁻¹; sacarose, 100,00 g.L⁻¹; sulfato de amônio, 0,60 g.L⁻¹; e sulfato de magnésio, 0,20 g.L⁻¹.

Os meios de cultivo padrões utilizados são considerados de alto custo. A possibilidade de aproveitamento de diferentes fontes de nutrientes por bactérias deste gênero permite a utilização de variados elementos provenientes da agroindústria, como produtos, subprodutos e resíduos, sendo que tal estratégia possibilita a redução de custos para a produção de celulose bacteriana (ROSS et al., 1991; ALBUQUERQUE, 2019).

Alguns trabalhos já avaliaram determinadas fontes de origem agroindustriais como meios complexos de cultura alternativa para a produção de CB, como mostra a Tabela 3.

Com o uso de estratégias empregando recursos ou até mesmo os resíduos gerados pela própria indústria, é possível viabilizar o processo na produção de celulose bacteriana, evitando o descarte inadequado de resíduos, aproveitando os próprios recursos para obter um processo de baixo custo e, conseqüentemente, podendo alcançar ganhos econômicos e intangíveis, como a sustentabilidade de processos casados com manutenção ambiental.

Tabela 3 – Fontes agroindustriais utilizadas como meio de cultivo (CB)

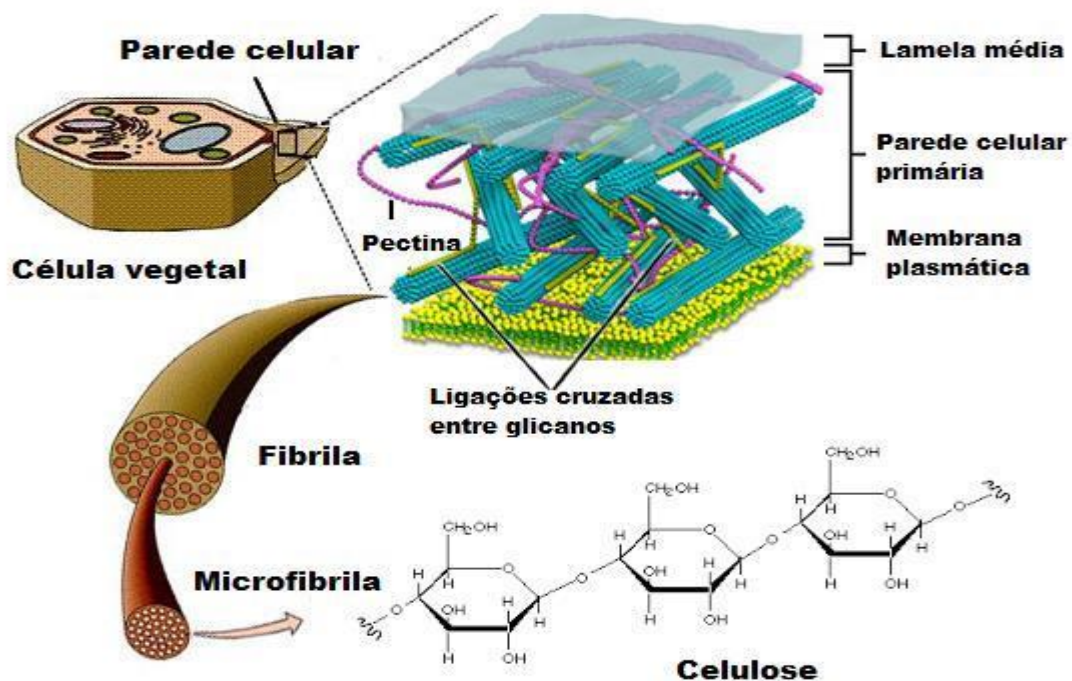
Água de Coco	(Hungund, 2013).
Águas Residuais Pós Fermentação Lipídica	(Huang <i>et al.</i> , 2016)
Amido Hidrolisado	(Hungund, 2013).
Caldo de Cana	(Castro <i>et al.</i> , 2011).
Casca de Aveia	(Skiba <i>et al.</i> , 2020).
Casca de Durian	(Luo <i>et al.</i> , 2017).
Efluente de Destilaria	(Jahan <i>et al.</i> , 2020).
Extrato Aquoso de Suco de Uva	(Jozala <i>et al.</i> , 2015); (Carreira <i>et al.</i> , 2009).
Glicerol Bruto	(Jozala <i>et al.</i> , 2015); (Carreira <i>et al.</i> , 2009).
Levedura de Cerveja	(Lin <i>et al.</i> , 2014).
Licor de Polpa de Sulfito	(Jozala <i>et al.</i> , 2015); (Carreira <i>et al.</i> , 2009).
Melaço	(Çakar <i>et al.</i> , 2014).
Soro de Queijo	(Jozala <i>et al.</i> , 2015); (Carreira <i>et al.</i> , 2009).
Suco de Abacaxi	Kongruang, 2008).
Suco de Coco	(Kongruang, 2008).
Suco de Frutas	(Jozala <i>et al.</i> , 2015); (Carreira <i>et al.</i> , 2009).
Vinhaça	(Semjonovse <i>et al.</i> , 2017).
Xarope de Bordo	(Zeng <i>et al.</i> , 2011).

Fonte: Própria autora (2020).

3.6 PECTINA

Pectina é um polímero de interesse e faz parte do grupo das substâncias pécticas, polímeros de carboidratos que são componentes da parede celular e da lamela média de vegetais, como mostra a Figura 6. Esse polímero atua como um adesivo extracelular ente as paredes primárias celular dos vegetais superiores (UENOJO, 2007).

Figura 6 – Esquema Representativo da Parede Celular de Frutas e Vegetais



Fonte: SILBERMAN (2015 apud MORAES *et al.*, 2017, p.68).

Com intuito de padronizar a nomenclatura e fazer entender, em 1944 o comitê da American Chemical Society classificou as substâncias pécicas como:

- Protopectinas: encontradas no tecido nativo de frutas e vegetais, são as únicas substâncias pécicas insolúveis em água e, em condição de hidrólise específica, resulta em pectina ou ácidos pécicos;
- Ácido pécico: substâncias pécicas compostas por ácidos galacturônicos, nos quais grupos de carboxilas se encontram livres de grupos de metil éster, sendo seus sais neutros ou ácidos; estes sais são chamados de pectatos;
- Ácido pectínico: considerado como substâncias coloidais, formado por cadeia contendo ácido poligacturônico com poucos grupos de metoxilas no formato de éster;
- Pectina ou galmeturonato de polimetil: classificados como materiais poliméricos, solúveis em água, com alto poder de formação de géis, devido ao grau variável de grupos metil éster e grau de neutralização, sendo que 75% dos seus grupos carboxilas das unidades de galacturonatos podem

ser esterificados com metanol (JAYANI, *et al.* 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).

A pectina é outro biopolímero interessante para a obtenção de bioplástico, por ser biodegradável, barato e biocompatível. A pectina é um heteropolissacarídeo presente nas paredes celulares dos tecidos vegetais, podendo também ser encontrada nas sementes, raízes, folhas, flores e frutos (SRIAMORNSAK, 2003).

De acordo com Canteri *et al.* (2012), as pectinas podem ser formadas por mais de 17 monossacarídeos diferentes, sistematizando polissacarídeos diferenciados e que formam ramificações. Esses carboidratos podem ser encontrados na forma de furanosídicas ou piranosídicas, com diferentes anômeros (α ou β) e variados tipos de ligações entre os monômeros α (1 $\rightarrow$ 4), α (1 $\rightarrow$ 5), β (1 $\rightarrow$ 3) e β (1 $\rightarrow$ 4) e β (1 $\rightarrow$ 6).

Segundo os autores, as pectinas são macromoléculas de alta complexidade, com mais de 20 tipos de ligações glicosídicas, e que são formadas por ácidos urônicos, hexoses, pentoses e metilpentoses.

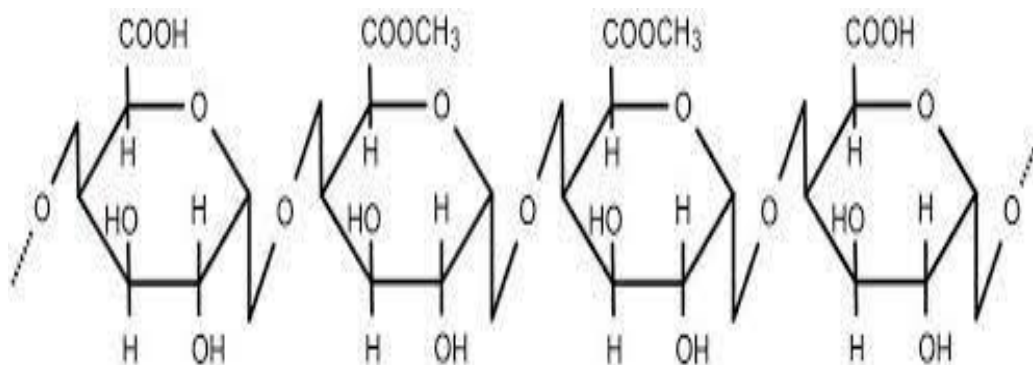
Na natureza, a pectina, juntamente com a celulose, hemicelulose e lignina, compõe a matriz da parede celulósica vegetal (PCEL). Com isso, a pectina colabora para adesão celular, firmeza e resistência mecânica ao tecido vegetal (MOREIRA *et al.*, 2008).

A pectina, em sua forma mais simples, pode ser vista como um copolímero dibloco, possuindo dois segmentos dominantes: o (HG) homogalacturonano e o (RGI) ramnogalacturonano.

O segmento HG um ácido linear (1 $\rightarrow$ 4) ligado (D – GalA) com grau variável de metilesterificação do grupo de carboxila na posição C6, podendo, de acordo com sua origem, apresentar ésteres acetílicos nas posições 0-2 ou 0-3 de GalA.

O segmento RGI é formado por unidades alternadas de ramnose (Rha) e ácido galacturônico [α – (1 $\rightarrow$ 2) – D –GalA– α – (1 $\rightarrow$ 4) –L–Ra] $_n$, sendo (n) na maioria das vezes maior que 100. Os resíduos de ramnose constantemente se ramificam nas posições 0-4 ou 0-3, gerando açúcares neutros como D-galactose, D-arabinose, D-fucose e outros, tal como no exemplo da Figura 7. Essa característica delimita o tamanho das zonas de junção, conseqüentemente, limitando a geleificação (CANTERI *et al.*, 2012; ALBA *et al.*, 2018).

Figura 7 – Cadeia Estrutural da Pectina



Fonte: BARROS ALEXANDRINO *et al.* (2017, p. 193).

Determinados grupos de carboxila pécticas se encontram na forma metilada, livre ou sais de sódio, amônio ou potássio. Esses grupos são classificados em função do grau de esterificação ou metoxilação, que relaciona a quantidade de ácidos galacturônicos esterificados por unidade de ácido galacturônico total. Os graus de metoxilação dividem as pectinas como pectinas de alta metoxilação (ATM), com grau de 50% ou mais, sendo comercializada com grau de metoxilação entre 55 a 75%; pectinas com baixo grau de metoxilação (BTM), possuindo porcentagem inferior a 50% e sendo comercializadas com grau de metoxilação entre 15 e 45%; e pectinas amidadas de 10 a 25%, onde os grupos carboxílicos são encontrados na forma amida, possuindo baixo teor em grupamento metoxílicos. O grau de metilação influencia nas particularidades das condições do processamento de cada pectina, como a temperatura de trabalho, condições de solubilização e geleificação do material (BRANDÃO; ANDRADE, 1999).

A pectina é um material que apresenta grande potencial de aplicabilidade devido aos grupos hidroxila, carboxila e açúcares neutros presentes em suas cadeias laterais. Nesse contexto, estudos mostram que a pectina é utilizada em uma ampla gama de materiais, garantindo sistemas seguros para uso alimentício e farmacêutico, devido às suas características físico-químicas e biológicas (CHEN *et al.*, 2015; XIAO-HONG *et al.*, 2017). Outra característica importante da pectina deve-se à sua alta capacidade de formação de gel em razão à quantidade de grupos polares livres, sendo inclusive comparada com o amido (CANTERI *et al.*, 2012).

A pectina é comumente utilizada como aglutinante ou espessante pela indústria alimentícia. Além dessas aplicações, também é frequentemente utilizada como agente plastificante, filme biodegradável e material para implantes (CANTERI *et al.*, 2012).

Segundo Brandão e Andrade (1999), os géis mais fortes são alcançados de pectinas ATM e o pH 3,0 é considerado o ideal para o preparo da solução de pectina deste tipo, pois nesse pH ocorre a redução da viscosidade e da quantidade de cadeias por meio das ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas; em relação à temperatura, quanto maior for mais favorecidas serão as ligações de hidrogênio e interação hidrofóbicas da molécula.

As pectinas ATM criam estruturas de menor tamanho fractal, resultando em empacotamento com menor eficiência das correntes, em oposição às partes lineares (ALBA *et al.*, 2018).

Em relação a custo, segundo (Reuters, 2021), 1Kg de pectina pode custar no mercado internacional de US\$15 e US\$ 20.

3.7 ÓLEO DE COCO

O óleo de coco é extraído a partir da copra, e contém lipídios de baixo peso molecular, além de apresentar ácidos, como: caprílico, mirístico, linoleico, oleico, palmítico e láurico. Apresenta também em menor concentração outros compostos como monoglicerídeos, diglicerídeos, fosfatídeos, pigmentos, ceras e outros (MARINA *et al.*, 2009; ARAÚJO 2009).

O óleo de coco, é considerado uma importante fonte de ácido láurico que possui atributos tensoativos, bactericida, germicida, espumante, biodegradável e apresenta grande potencial de mercado (CUENCA, 2013).

Os lipídios possuem, na maior parte das vezes, alta hidrofobicidade e, quando utilizado em filmes, impede transporte de umidade, provocando redução de impactos que poderiam danificar o alimento durante o manuseio e transporte (KESTER; FENNEMA, 1986).

Oliveira *et al.* (2012) observaram em seus estudos um aumento da espessura em seus filmes de gelatina de 0,1467 mm e redução na permeabilidade de vapor de água de 17,04 g.mm/dia. KPa.m² com o acréscimo de 12,5% de óleo de coco na formulação.

A adição de compostos lipídicos pode melhorar a barreira de umidade (ZIANI *et al.*, 2008; AMARANTE; BANKS, 2001)

Filmes com baixa permeabilidade à água são indicados para alimentos de alta umidade, pois evitam desidratação da superfície, perda de peso e preserva as características organolépticas do alimento (ALMEIDA *et al.*, 2013; DEBEAUFORT *et al.*, 1998).

De acordo com Brainer e Ximenes (2020), no mercado externo os valores cobrados por um país pelo kg de óleo de coco pode variar de US\$ 1,27 até US\$ 47,37. Essa variação está relacionada às diferentes frações de refino. Já no Brasil, no ano de 2021, o preço do óleo de coco em estado bruto variou em torno de R\$ 9,45 o kg no mês setembro (ABISA, 2021).

Portanto, a natureza hidrofílica de alguns compostos como o glicerol, pectina e celulose é um dos fatores que limitam os filmes comestíveis em relação à barreira de permeabilidade ao vapor de água. Sendo assim, a opção de utilização de compostos hidrofóbicos como o óleo de coco gerou o intuito de possíveis melhorias, tais: como aumentar a barreira de permeabilidade, melhorar a resistência mecânica e espessura do filme, bem como propiciar possivelmente ação germicida, conciliando ainda com a utilização de um composto relativamente barato.

3.8 GLICEROL

Glicerol, 1,2,3-propanotriol, 1,2,3 trihidroxipropano, trihidroxipropano, glicel, gliceril e glicil álcool são algumas formas de nomeação deste composto que possui fórmula molecular $C_3H_8O_3$ e três grupos de hidroxila, sendo um material hidrofílico, ou seja, suas moléculas possuem afinidade pela água. Esse material pode ser obtido por via química ou fermentativa, e ocorre no processamento de óleos e gorduras animais ou vegetais, mas também pode ser obtido pela via petroquímica ou sintetizada em laboratório (MOTA *et al.*, 2009).

Em trabalhos anteriores, há o relato que a pectina e o polímero celulósico não possuem elasticidade adequada para aplicação isolada para a formação de bioplástico. A pectina, na presença de íons divalentes, gera um filme resistente quebradiço e insolúvel. Dessa forma, a utilização de glicerol na obtenção do filme é

de extrema importância, pois sua função plastificante melhora a processabilidade, alongamento e flexibilidade do material (BIERHALZ *et al.*, 2009).

A massa molecular do glicerol é menor em relação ao polímero péctico, mesmo assim, é possível, através da mistura dos dois compostos, obter de um material claramente homogêneo, macio, flexível e de fácil de processamento (SCHLEMMER *et al.*, 2009).

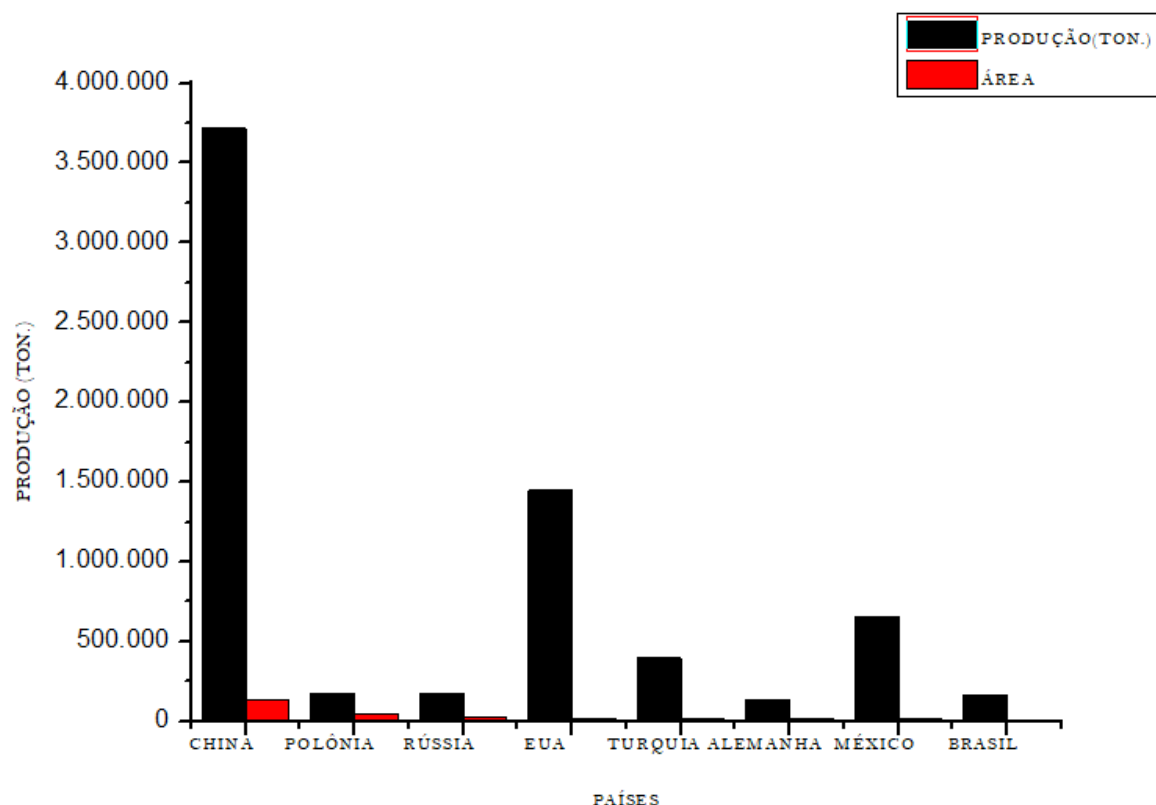
Já o preço deste material no mercado interno brasileiro no mês de setembro de 2021 está em torno de R\$ 3,90/Kg para o glicerol 80% e R\$ 6,30/Kg para o glicerol refinado, já com os impostos inclusos (ABISA, 2021).

Sendo assim, a proposta de confecção de um novo material se fundamenta na mistura de celulose bacteriana, pectina e glicerol. Essa mistura visa à obtenção de um bioplástico com as características ideais para ser utilizado como material na produção de filmes como revestimento de frutas e vegetais.

3.9 MORANGO

O morango do gênero *Fragaria L.* fruta do morangueiro, pertence à família das rosáceas e é uma fruta (psedofruto) não-climatérica de clima temperado. Muito apreciado em todo o mundo, possui aspecto atrativo devido à sua cor vermelho-brilhante e fornece nutrientes como magnésio (Mg), potássio (K), cálcio (Ca), zinco (Zn) e vitaminas como B2, B6, C e outras, além disso, possui uma característica refrescante, pois apresenta cerca de 90-95% de água em sua composição (GEBHARDT *et al.*, 2002).

De acordo com Antunes e Bonow (2020), dentre as pequenas frutas, o morango é a mais produzida, sendo seus maiores produtores a China, seguido da Polônia, Rússia e Estados Unidos. O Brasil fica em décimo terceiro em produção no ranking de maiores produtores, como mostra a Figura 8, produzindo cerca de 165.000 toneladas. Segundo os autores, a produção mundial desta fruta chegou de 7.879.108 toneladas em 2013 para 9.223.815 toneladas no ano de 2017, ou seja, cresceu 17% em 5 anos. Os ganhos em produção ocorreram devido à maior eficiência provinda da parte agrícola e da tecnologia implantada nos sistemas de produção.

Figura 8 – Cultivo de morangos por produção e área (ha)

Fonte: Adaptado de ANTUNES; BONOW (2020), p.89.

A colheita desta pequena fruta é realizada de forma manual, no ponto de 50 a 75% de sua cor vermelha para comercialização in natura, e madura para destinação industrial, quando colhida imatura não ocorre progresso nas propriedades comestíveis (CANTILLANO, 2005).

A grande dificuldade enfrentada, tanto pelos produtores quanto por toda cadeia envolvida, até o consumo é a alta perecibilidade que a fruta possui, causada geralmente pelo desenvolvimento fúngico, desidratação devido à sua alta taxa respiratória, perda de água, perda de firmeza da fruta, além de outros fatores como a alta fragilidade que a fruta possui a impactos e lesões (ÁVILA *et al.* 2012).

No entanto, algumas providências costumam ser utilizadas para minimizar os danos que possam levar à perda precoce do morango após a colheita, especialmente no que se refere à utilização de embalagens apropriadas e refrigeração.

A embalagem é muito importante para o transporte do morango até o consumidor. As mais comumente utilizadas costumam ser as caixetas de madeira, de

papelão ou de poliestireno com capacidade de 200-800 gramas de frutas. Em supermercados é habitual encontrá-los protegidos por embalagens plásticas de base de poliestireno e filme polimérico (CANTILANO; SILVA, 2010).

Segundo Tanada-Palmu e Grosso (2005), o morango deve ser refrigerado logo após a colheita, em temperatura de 4 a 5 °C, o que pode manter suas características por 6 ou 7 dias. Rodrigue e Notteboom (2009) citam que, apesar de a refrigeração ser mais indicada entre 4 a 5 °C, não é algo que costuma ocorrer mesmo em países desenvolvidos.

A refrigeração retarda as alterações que ocorrem na fruta in natura, mas não exclui totalmente as alterações que ocorrem durante o armazenamento, como perda de massa, firmeza, aroma, sabor, teores de sólidos solúveis (SS), dos CV e das características sensoriais entre outros (ÁVILA *et al.*, 2012; AMAL *et al.*, 2010; PELAYO-ZALDÍVAR *et al.*, 2005).

No Brasil, cerca de 30% da produção de morangos é perdida, ou seja, 10 mil toneladas, o que leva à necessidade da implantação de novas tecnologias que se conciliem com as já existentes na manutenção da fruta (SCHMIDT; EFRAIM, 2016).

Uma alternativa de proteção aos morangos pós-colheita seria o uso de revestimentos, sendo revestimento definido como uma camada fina e comestível aplicada diretamente sobre o produto, empregada com o intuito de proteger o alimento e estender a vida de prateleira. Esse material protetor pode ser formulado com base em polissacarídeos ou proteínas (LEITE *et al.*, 2015; VU *et al.* 2011; KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

Portanto, a implementação de revestimento à fruta vindo em conjunto a outros métodos já utilizados, poderia prospectar aumento de vida de prateleira deste alimento.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS PARA O PROCESSAMENTO DA BLEND

A celulose bacteriana utilizada foi sintetizada pelos microrganismos no Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (DEBB) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP.

A pectina foi doada pela Mariana Pereira, do Controle de Qualidade da Minerva Foods e Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos pela FCF/UNESP, enquanto os demais materiais foram cedidos pelo Grupo de Bioengenharia e Biomateriais da FCF/UNESP.

4.2 ESPECIFICAÇÕES DOS MORANGOS PARA ANÁLISES

Morangos do gênero (*Fragaria*) foram utilizados para análise de efetividade dos revestimentos à base de celulose bacteriana e pectina. Os morangos, produzidos na cidade de Ribeirão Preto/ SP por Coluci Frutas, foram adquiridos no mesmo dia da colheita em um supermercado da cidade de Guariba/SP. As frutas possuíam aparência aproximada de 50 a 75% de sua totalidade com coloração avermelhada e Brix de 6,9. As frutas não apresentavam danos físicos ou incidências fúngicas. Os morangos possuíam tamanho entre 4,8 a 6 cm e massa média de $16,01 \pm 0,18$ gramas para os morangos que foram revestidos com CB + Pectina; $20,77 \pm 0,8$ gramas para os morangos revestidos com CB + Pectina + Óleo de coco e $19,74 \pm 1,6$ gramas para os morangos usados como controle de processo como podem ser vistos na Figura 9.

Figura 9 – Morangos selecionados para análise e comparação de resultados



Fonte: Própria autora (2021).

Os testes foram realizados em triplicata e usou-se morangos com o peso e tamanho o mais aproximado possível diante dos frutos que foram adquiridos. Os testes foram realizados sob temperatura aproximada de 25°C.

As frutas foram lavadas em água corrente e secas em papel toalha. Após isso, foram imersas em solução filmogênica de pectina e celulose bacteriana, assim também foi feito em morangos utilizando solução composta de pectina, celulose bacteriana e óleo de coco, conforme mostra a Figura 10.

Figura 10 – Imersão de morango em revestimento



Fonte: Própria autora (2021).

4.3 PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

A produção de celulose bacteriana utilizando diferentes fontes de carbono foi conduzida no Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (DEBB), enquanto sua caracterização foi realizada no Grupo de Bioengenharia e Biomateriais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (FCF-UNESP).

4.3.1 MICRORGANISMO PARA SINTETIZAÇÃO DA CB

O microrganismo utilizado nos cultivos para obtenção da celulose bacteriana foi o *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769, antigo *Acetobacter xylinus* (Yamada *et al.*, 2012), proveniente da coleção de cultura (ATCC) American Type Culture Collection.

4.3.2 MEIO DE CULTURA

A manutenção da bactéria *Komagataeibacter hansenii* foi realizada em ágar manitol, composto por D-manitol, 25 g.L⁻¹; peptona, 3 g.L⁻¹; extrato de levedura, 5 g.L⁻¹; e ágar bacteriológico, 15 g.L⁻¹, de acordo com a ficha do produto da ATCC (ATCC, 2015).

O meio padrão utilizado para a produção de celulose foi o caldo HS (HESTRIN; SCHRAMM, 1954), composto por: glicose, 20 g.L⁻¹; peptona de carne, 5 g.L⁻¹; extrato de levedura, 5 g.L⁻¹; Na₂HPO₄, 2,7 g.L⁻¹; e ácido cítrico, 1,15 g.L⁻¹.

4.3.3 MEIOS DE CULTIVO ALTERNATIVOS

Para avaliação de meios alternativos, foi substituída a glicose por outras fontes de carbono para a síntese de celulose bacteriana; assim, foram empregados para a avaliação: glicerol, etanol 96%, suco de laranja e caldo de cana-de-açúcar. Para isso, os meios HS foram modificados com as diferentes fontes de carbono, sendo que a quantidade de 20 gramas litro de glicose utilizada no meio padrão foi substituída por 10 mL das outras fontes de carbono; portanto, todos os meios de cultivo totalizaram

50 mL. Outra alternativa avaliada foi o cultivo em meio tradicional (HS) suplementado com etanol 96%. Nesse caso, foram acrescidos 10 mL de etanol em meio HS padrão.

Todos os meios foram ajustados em seu pH e o Brix do caldo de cana-de-açúcar e do suco de laranja foi medido para análise da quantidade de açúcares presente nestes líquidos.

4.3.4 PREPARO DAS PLACAS COM MICRORGANISMO

A metodologia de cultivo do microrganismo para a produção de celulose foi baseada na tese de Coimbra (2016). Na preparação dos inóculos, a cultura de *Komagataeibacter hansenii* foi utilizada em meio HS.

Inicialmente, inoculou-se certa quantidade de bactéria, previamente conservada em placa de Petri com meio HS sólido a 4 °C, em um frasco Erlenmeyer de 1 Litro contendo 200 mL de meio HS líquido. Os frascos foram mantidos a 30 °C a uma rotação de 150 rpm por 48 horas. Após esse tempo, 200 µL desta cultura foram semeados em placas de Petri com 90 mm de diâmetro contendo HS sólido (obtido pela adição de ágar bacteriológico a 15 g.L⁻¹ ao caldo HS), distribuindo-se o volume por toda a superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas por cinco dias a 30 °C para crescimento da massa celular na superfície do meio de cultivo. Os microrganismos dessas placas foram utilizados para os testes de produção de celulose bacteriana.

4.3.5 PREPARO DO INÓCULO

Os meios de cultivo foram preparados e autoclavados a 121 °C por 20 minutos; os microrganismos foram inoculados no meio de cultivo em temperatura ambiente laboratorial de 20 °C e em local com assepsia (Cabine de segurança biológica classe II A 1, marca Filterflux, modelo SBIIA1-1266/4). Cada frasco Erlenmeyer de 250 mL continha 50 mL de meio para cultivo, a não ser os meios com HS padrão suplementados com 10 mL de etanol 96%, totalizando 60 mL.

Sendo assim, nos ensaios cada frasco Erlenmeyer recebeu microrganismos contidos em duas placas de Petri, de 90 mm de diâmetro, que foram retirados com auxílio de alça de platina e inoculados ao meio de cultivo para a produção de celulose.

Logo após, todos os Erlenmeyers passaram por agitação para soltar os grumos. Os frascos foram mantidos em mesa incubadora rotativa a 30 °C por 14 dias sob 3 diferentes condições de agitação (0, 100 ± 1 rpm e 200 ± 1 rpm). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Após 14 dias de produção, o conteúdo dos frascos de cada meio de cultivo e de diferente rotação foi utilizado para análise de concentração de substratos e concentração de celulose bacteriana.

4.4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS DA PRODUÇÃO DA CB

Os procedimentos analíticos da produção da celulose bacteriana foram realizados no Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (DEBB) da FCF/UNESP.

4.4.1 DETERMINAÇÃO DO BRIX

Os Brix do caldo de cana-de-açúcar e suco de laranja foram aferidos antes de serem inseridos nos meios de cultivo. Foi utilizado para a mensuração o refratômetro Vodex (VX2540), assim o caldo de cana-de-açúcar apresentou Brix de 18% e o suco de laranja apresentou o Brix de 11%.

4.4.2 pH

O pH de todos os meios foi ajustado para 6 no início do processo com o uso de NaOH ou H₂SO₄. Para a medida do pH, foi utilizado um pHmetro de bancada (Medidor de pH Tecnal com eletrodo Kasvi).

4.4.3 DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE CELULOSE BACTERIANA

A concentração de celulose bacteriana foi determinada em base seca. Para a determinação da concentração de celulose em base seca, a celulose bacteriana

obtida foi lavada em água destilada e depois deixada em solução 5 mL NaOH 0,5 mol/L por dois dias, para purificação da celulose bacteriana. Após esse período, a amostra foi novamente lavada em água destilada até ser totalmente retirado o hidróxido de sódio.

A membrana de celulose foi levada à secagem em estufa a 50 °C, até o peso constante. Cada amostra foi pesada novamente para a determinação da massa, com isso, foi possível determinar a concentração de celulose em base seca.

4.4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DA PRODUÇÃO DE (CB)

A produção foi avaliada por meio da análise de variância (ANOVA). Os cálculos da média, desvio padrão e intervalo de confiança de 95% foram realizados pelo software Excel 365 MSO.

4.4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO

O consumo dos substratos pelas bactérias foi analisado mediante a coleta de 2 mL do meio de cultivo no início e no final do processo. Esses caldos foram centrifugados e o sobrenadante retirado para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Para essa análise, utilizou-se um sistema de CLAE da Shimadzu contendo bombas (modelo LC-20A), sistema de controle de temperatura e detector de índice de refração. Para a análise, foi utilizada a coluna Shodex KS-801 e, como eluente, água ultrapura a uma vazão de 1 mL por minuto. A temperatura da coluna foi controlada em 30 °C para analisar a concentração inicial e o consumo dos compostos sacarose, glicose, frutose, etanol e glicerol contidos no meio de cultivo.

Com os resultados obtidos, determinou-se o consumo de substrato em termos de conversão, tal como definido pela Equação 1.

Equação 1:

$$CS = \left(\frac{CI - CF}{CI} \right) / 100\%$$

Onde: CS é a conversão do substrato no cultivo (%), CI é a concentração inicial de substrato e CF é a concentração final do substrato.

4.4.6 AVALIAÇÃO DE CUSTO DA PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA

A análise de custo da produção da celulose bacteriana constituiu em fazer estimativa do gasto envolvido para a formulação do meio para a execução do bioprocessos.

4.5 PROCESSO DE CONFECÇÃO DO REVESTIMENTO BIOPLÁSTICO

A composição do revestimento bioplástico foi composta por 25% de celulose bacteriana úmida triturada, 75% de pectina de alto teor de metoxilação (ATM), ácido acético até o pH 3 para 100 mL de água destilada aquecida e 30% de glicerol sobre a quantidade total dos polímeros celulose bacteriana e pectina.

Para a comparação, foi produzida uma segunda formulação na qual foram acrescentados 12,5% de óleo de coco na proporção sob a massa de celulose bacteriana e pectina, com intuito de avaliar o desempenho do filme com a introdução de um material hidrofóbico, a fim de comparação e avaliação do melhor desempenho entre as membranas como revestimento para aplicação inicial em morangos. O custo do revestimento bioplástico usando os materiais sem o acréscimo do óleo de coco ficou em R\$ 0,58 centavos e o revestimento com a adição do óleo de coco o custo dos materiais ficou R\$ 0,59 centavos para a proporção de 100 mL. O fluxograma do processo é mostrado na Figura 11.

Figura 11 – Fluxograma da produção do revestimento bioplástico



Fonte: Própria autora (2021).

4.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MECÂNICA DO REVESTIMENTO BIOPLÁSTICO

Os filmes foram caracterizados por análises de ensaio mecânico (tração *versus* deformação), realizados em setuplicada. Ensaios de espectroscopia no infravermelho, permeabilidade de vapor de água e solubilidade em água foram realizados em triplicata.

4.6.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

A finalidade da técnica foi constatar a existência de solventes e possíveis novas ligações entre os polímeros que possam influenciar nas propriedades mecânicas. Isso é possível, pois a técnica analisa a relação da radiação infravermelha com os movimentos vibracionais intermoleculares da mistura.

Determinados valores de absorbância a serem detectados em função de diferentes frequências indicarão a existência de grupos cromóforos como aminas,

amidas, álcoois e outros. Assim, as análises espectroscópicas foram obtidas submetendo as amostras seca ao teste pelo método ATR (Refletância Total Atenuada) no espectrômetro FTIR – TENSOR 27 / BRUKER (4000 e 400 cm^{-1}), com fonte laser HeNe, detector DLaTGS, resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras localizado no Grupo de Bioengenharia e Biomateriais da FCF/UNESP.

4.6.2 ENSAIO MECÂNICO (TESTE DE TRAÇÃO *versus* DEFORMAÇÃO)

Os ensaios de tração *versus* deformação dos revestimentos bioplásticos foram realizados em setuplicada até sua ruptura e analisados o limite de resistência à tração e o alongamento do material. Este ensaio permitiu verificar as propriedades do material e a avaliação do comportamento do material sob determinada condição de trabalho, o ensaio foi realizado em uma máquina (EMIC) DL-2000, como mostra a Figura 12, com uma célula de carga de 50 kgf, com uma velocidade de (0,83 mm/seg.), e à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Figura 12 – Máquina universal de ensaio EMIC – Modelo DL-2000



Fonte: Própria autora (2021).

Com propósito de análise das propriedades mecânicas, corpos de prova retangulares com dimensões padronizadas (largura 20,0 mm e comprimento de 70,0 mm) e espessura de (0,27 mm para CB + PEC e 0,31 mm CB + PEC + Ó. C) foram avaliados. Para a mensuração da espessura do bioplástico, foi utilizado um micrómetro Gauge digital com faixa de medição de (0-12.7mm / 0-0.5 polegadas e precisão de 0.1mm / 0.004 polegada). Já a largura e comprimento foram medidos com paquímetro digital (precisão de 0,01 mm, marca Homes). Os valores foram convertidos em curvas de tensão-deformação e o módulo de elasticidade foi calculado a partir da parte linear inicial (0-5% de alongamento). Os cálculos foram realizados de acordo com as Equações: (2, 3 e 4).

Equação 2:

$$Tensão = \frac{F}{A}$$

Equação 3:

$$\text{Alongamento} = \frac{(L-L_0)}{L_0}$$

Equação 4:

$$\text{Modulo Young} = \frac{\text{Tensão}}{\text{Alongamento}}$$

Sendo, portanto, F: a força (N), A: área da seção transversal da amostra (mm²), L: comprimento final (mm) e L₀: comprimento inicial da amostra (mm). Os dados foram analisados no software gráfico e de análise de dados Origin.

4.6.3 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

Os ensaios de permeabilidade ao vapor de água foram realizados para avaliar a estabilidade do revestimento em passagem de umidade e gases. O método (seguindo a normativa ASTM UNE 92226 EXP) se fundamentou na análise em triplicata da perda de massa do conjunto dessecante composto pela sílica (ativada a 105 °C por 24 horas, com UR = 0%), em uma vidraria de 56 mm de altura e diâmetro da área da rosca de 18 mm, com capacidade de 10 mL. Para isso, foram adicionados 5 mL de água deionizada, (100% de Umidade Relativa (UR)) e uma tampa com abertura entre a parte superior do frasco e da tampa, para inserir a embalagem, onde foram inseridas as amostras com diâmetro de 18 mm e espessura do filme (CB + Pectina 0,25 mm) e (CB + Pectina + Óleo de Coco 0,21 mm).

A análise incide na fixação da embalagem na parte superior da tampa do frasco, de modo que apenas a parte da tampa coberta pela embalagem ficasse exposta.

Cada conjunto foi pesado e colocado em um dessecador de sílica em gel (0% de Umidade Relativa), sendo avaliada a alteração da massa em intervalos regulares de 24 horas até completarem 240 horas, para análise da perda de massa em relação ao tempo. Para determinar a Permeabilidade de Vapor d'água (PVA), foi utilizada a Equação 5:

Equação 5:

$$PVA = \frac{TTVA \cdot x}{AP0 (UR_1 - UR_2)}$$

Onde:

PVA = permeabilidade de vapor de água (g. mm/dia. KPa. m²);

TTVA = taxa de transmissão de vapor de água;

x = espessura do filme (mm);

A = área da película exposta à permeabilidade (m²);

PO = pressão de vapor d' água pura (3,159 KPa a 25° C);

(UR1-UR2) = gradiente de UR.

4.6.4 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

A solubilidade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Gontard *et al.* (1994), com modificações. A amostra foi cortada em 3 discos de 2 cm de diâmetros e pesadas, antes da imersão em 50 mL de água destilada. A solubilidade dos filmes foi determinada após 10 horas de imersão sem agitação e a 25 °C.

O material foi então filtrado e pesado e, em seguida, desidratado em estufa a 100 °C por 24 h para determinação do peso da matéria seca não dispersa em água. Foram realizadas triplicatas para cada formulação. A solubilidade foi calculada, como mostra a equação 6:

Equação 6:

$$Solubilidade (\%) = \left(\frac{mi - mf}{mi} \right) / 100$$

Onde:

mi : massa da amostra inicial (g);

mf: massa da amostra seca, após dispersão durante 24 horas de imersão em água(g).

4.7 AVALIAÇÃO VISUAL DAS FRUTAS

O teste (shelf life) teve a finalidade de avaliar se houve ou não aumento da vida útil das frutas com o uso de revestimento, comparando-as com frutas controles sem revestimento, sob as mesmas condições ambientais. A avaliação foi feita a partir de acompanhando visual das mudanças de aspectos nas frutas em triplicata a cada 24 horas por 8 dias.

4.7.1 ANÁLISE DA PERDA PERCENTUAL DE MASSA DOS MORANGOS

A análise de perda de massa foi feita pesando as frutas a cada 24 horas até serem consideradas visualmente impróprias ao consumo. Foi feita a média de massa inicial (m_i) dos morangos e subtraída pela média final da massa das frutas (m_f). O resultado foi dividido pela massa inicial (m_i). Para expressar o resultado em porcentagem (%), dividiu-se por 100. O cálculo está exemplificado na Equação 7:

Equação 7:

$$M = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} / 100$$

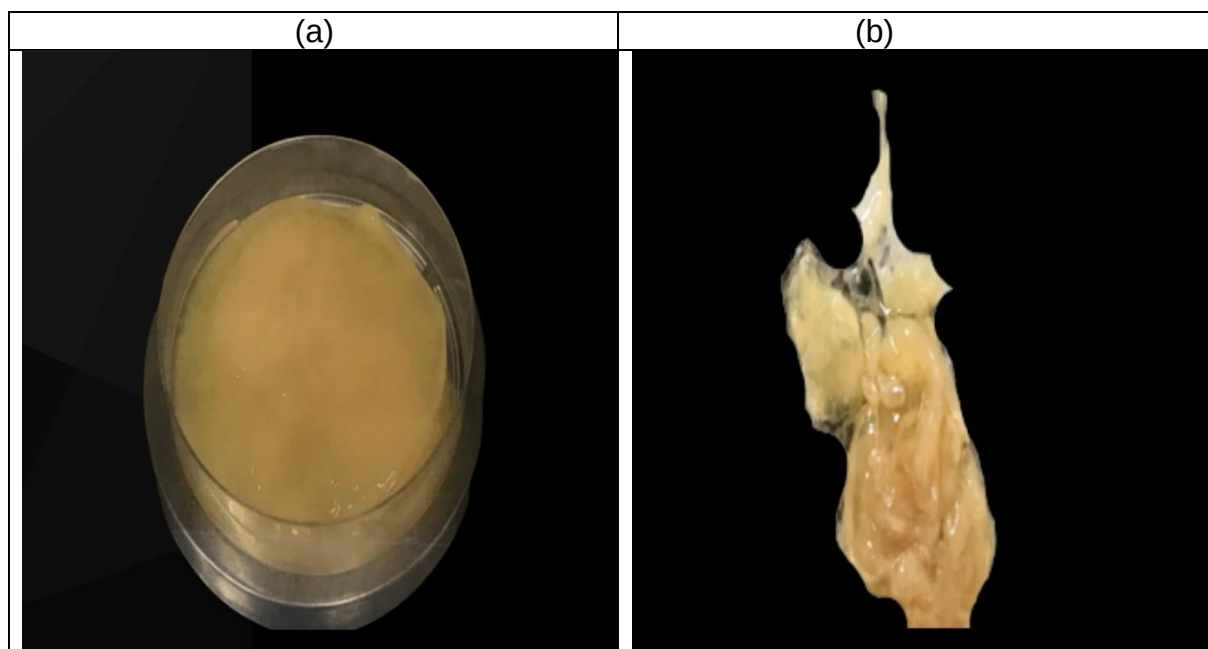
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

Os microrganismos mantidos em cultura em meio estático produziram películas gelatinosas de celulose bacteriana inteiriças, evidenciando uma estrutura nanofibrilar bem definida. A Figura 13 (a) mostra uma foto da celulose bacteriana produzida em cultivo estático na qual é possível observar um alto poder de absorção de líquidos.

Os microrganismos mantidos em cultura agitadas, tanto a 100 rpm quanto em 200 rpm, produziram celulose bacteriana com aparência disforme, conforme se pode observar na Figura 13 (b). Através de uma análise visual desta Figura, foi possível observar um material com menor rigidez em sua estrutura e mais gelatinosa que o material obtido através de cultura estática.

Figura 13 – Celulose uniforme obtida em meio estático (a) e celulose em grumos obtida em meio agitado (b)



Fonte: Própria autora (2020).

Em relação ao aspecto de celulose em base seca, observa-se, pela Figura 14, que o material formado aparentemente possui maior fragilidade em relação à celulose no estado úmido.

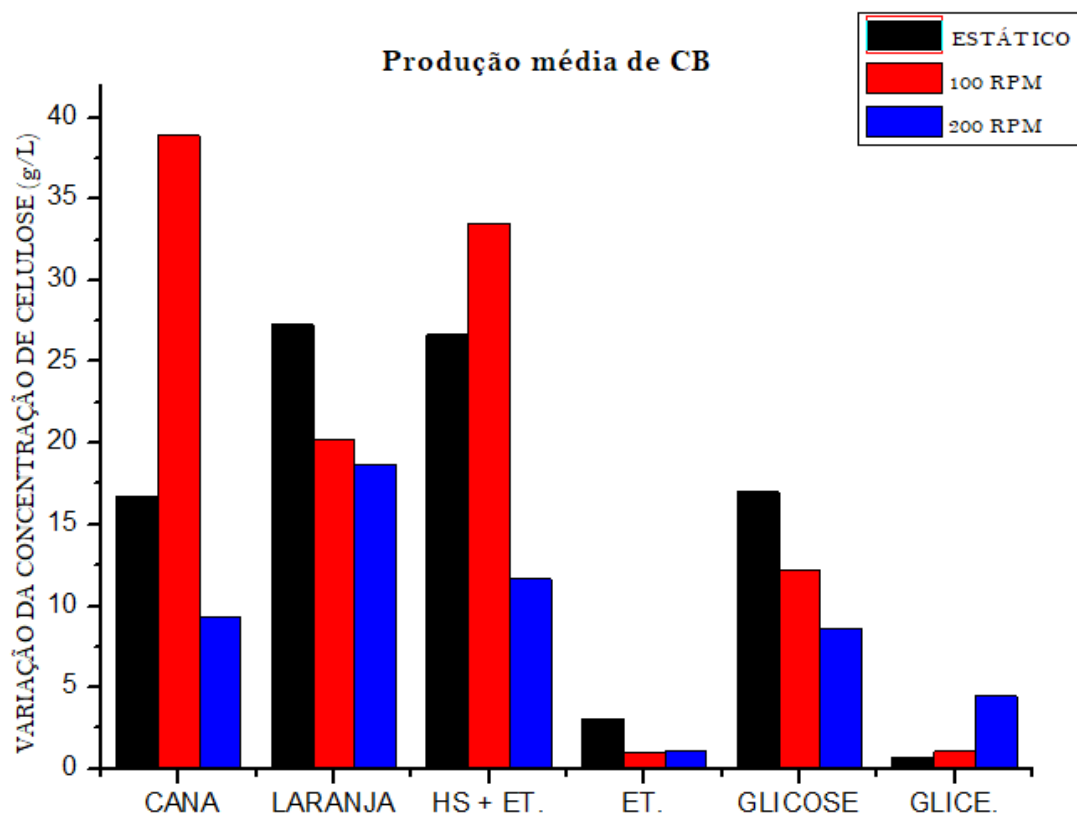
Figura 14 – Celulose bacteriana purificada seca em estufa



Fonte: Própria autora (2020).

Em relação aos valores da concentração de celulose em base seca, através da determinação do intervalo de confiança com nível de significância de 95%, observou-se baixos valores de dispersão. A Figura 15 mostra os resultados de valores da concentração de celulose obtida em cada uma das frequências de todos os testes.

Figura 15 – Média de valores da concentração de celulose obtida em cada uma das frequências de agitação avaliadas



Fonte: Própria autora (2020).

Neste gráfico, pode-se observar que, em meios de cultivo estático, o meio contendo suco de laranja produziu a maior concentração de celulose bacteriana ($27,2 \pm 9,4 \text{ g.L}^{-1}$), seguido pelo HS+ etanol ($26,6 \pm 7,4 \text{ g.L}^{-1}$), HS tradicional contendo (glicose) ($17,0 \pm 2,0 \text{ g.L}^{-1}$), caldo de cana-de-açúcar ($16,6 \pm 2,2 \text{ g.L}^{-1}$), etanol ($3,0 \pm 2,2 \text{ g.L}^{-1}$) e glicerol (baixa produção de celulose bacteriana). Apesar disso, estatisticamente a produção do meio HS + Etanol foi o único superior aos demais meios, exceto ao meio com suco de laranja. Apesar de o meio contendo suco de laranja apresentar a maior média, ele teve um alto desvio, o que estatisticamente mostra que ele é igual aos meios HS + Etanol, HS tradicional e ao meio contendo cana-de-açúcar. Em relação aos menores valores, o meio contendo etanol e glicerol foram inferiores estatisticamente em relação aos demais meios.

Nos cultivos em que se manteve os frascos a uma frequência de agitação orbital de 100 rpm, o melhor resultado obtido foi em caldo de cana-de-açúcar ($38,8 \pm 15,4 \text{ g. L}^{-1}$), seguido por HS+ etanol ($33,4 \pm 4,4 \text{ g. L}^{-1}$), suco de laranja ($20,18 \pm 13,4 \text{ g.L}^{-1}$), HS tradicional contendo (glicose) ($20 \pm 12,4 \text{ g. L}^{-1}$), glicerol e etanol produziram pouca celulose bacteriana. Apesar de o maior resultado ser obtido no cultivo com caldo de cana-de-açúcar, estatisticamente somente os meios de cultivo contendo glicerol e etanol foram inferiores aos demais.

E, por fim, em relação aos cultivos nos quais se manteve a frequência de agitação orbital em 200 rpm, a melhor produção de celulose bacteriana foi em meio contendo como substrato suco de laranja ($18,6 \pm 6 \text{ g.L}^{-1}$), seguida por HS + Etanol ($11,6 \pm 4,8 \text{ g. L}^{-1}$), caldo de cana-de-açúcar ($9,2 \pm 0,4 \text{ g.L}^{-1}$), HS tradicional ($8,4 \pm 5,2 \text{ g. L}^{-1}$), glicerol e etanol não produziram significativamente. Considerando a análise estatística, os cultivos com os meios contendo glicerol e etanol apresentaram resultados inferiores aos demais cultivos com os outros meios. Além disso, o cultivo com meio contendo suco de laranja em sua composição apresentou uma produção maior que o meio contendo caldo de cana-de-açúcar.

Sendo assim, considerando apenas as médias das concentrações de celulose obtidas nos experimentos, o cultivo com meio de cultura contendo caldo de cana-de-açúcar em agitação orbital a 100 rpm foi a melhor condição observada.

Em meios sob efeito de velocidade, foi possível notar claramente a influência deste efeito na produção de celulose pelas bactérias, principalmente no meio com caldo de cana-de-açúcar como fonte de carbono. Devido à diferença do resultado apresentado, é possível verificar a diferença nas concentrações de celulose obtidas. Em relação à média de todos os experimentos para cada condição de agitação, observa-se que o maior valor foi obtido quando o cultivo foi realizado a uma agitação de 100 rpm. Também é possível observar que, para a maioria dos casos, as maiores produções de celulose bacteriana ocorreram quando o cultivo foi mantido a uma agitação orbital de zero ou 100 rpm.

Desse modo, tanto a fonte de carbono e a oferta de oxigênio influenciaram na produção de celulose bacteriana. Nesse contexto, o meio estático pode ter produzido em menor quantidade que a 100 rpm, possivelmente, devido à falta de oxigenação no meio, impedindo maior reprodução celular e, conseqüentemente, maior produção de celulose bacteriana; enquanto o meio a 200 rpm pode ter produzido bem menos, possivelmente devido a formação de cepas não produtoras de celulose, como já foi

descrito por Kim *et al.* (2007): que o excesso de oxigenação pode converter cepas produtoras de celulose em cepas negativas, não produtoras de celulose, devido à ocorrência de mutação.

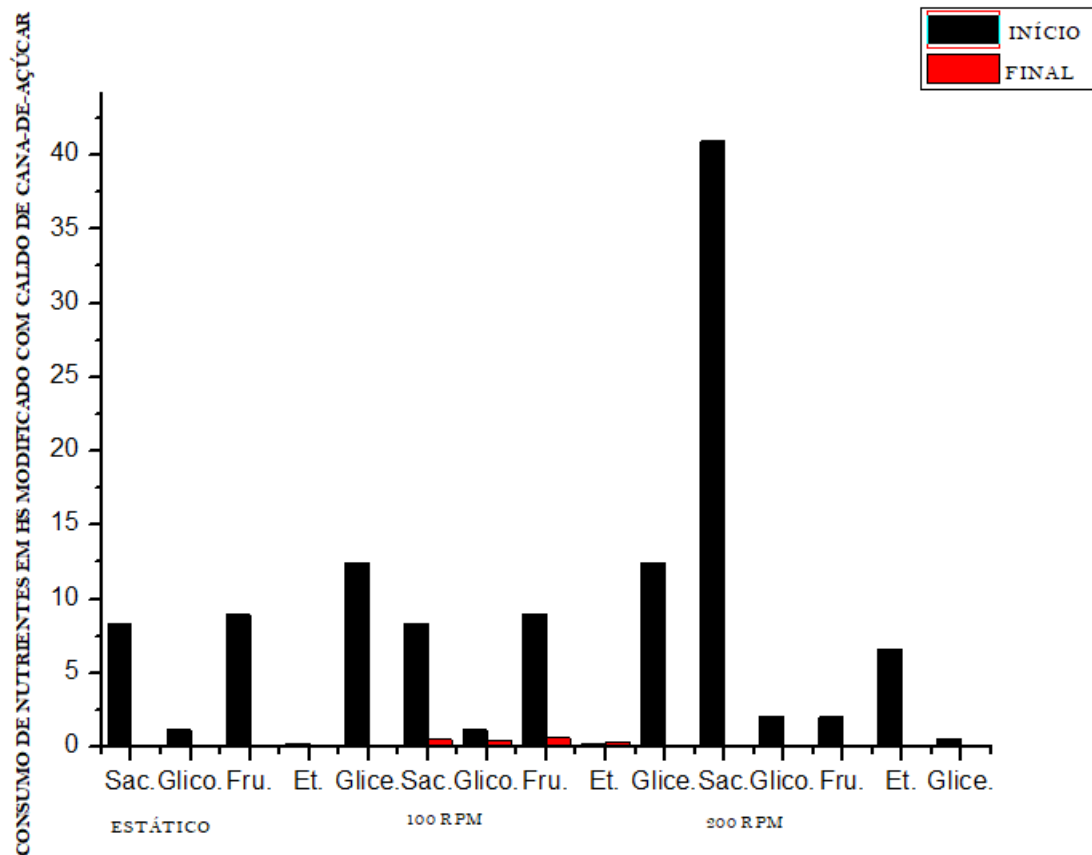
Diante desses aspectos, os meios de cultivo contendo HS modificado com caldo cana-de-açúcar e meio HS suplementado com etanol, estatisticamente, obtiveram a mesma produção, sendo, portanto, considerados os melhores meios para cultivo de celulose bacteriana, seguido pelo meio contendo suco de laranja, todos em agitação orbital de 100 rpm.

Quando comparado os resultados obtidos neste trabalho aos da literatura, a quantidade de celulose bacteriana obtida no meio a 100 rpm se mostrou melhor neste estudo, diferenciando-se da análise de Coimbra (2016), na qual se observou o melhor desempenho em produção de celulose em cultivo estático. O resultado obtido pelo mesmo autor para cultivo estático foi similar ao obtido neste trabalho.

5.2 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE SUBSTRATO

Os resultados das análises de concentração de substratos nos experimentos realizados estão inseridos nas Figuras 16 a 21, nas quais se pode observar a diminuição da concentração da fonte de carbono devido ao consumo pelas bactérias nas diferentes condições avaliadas.

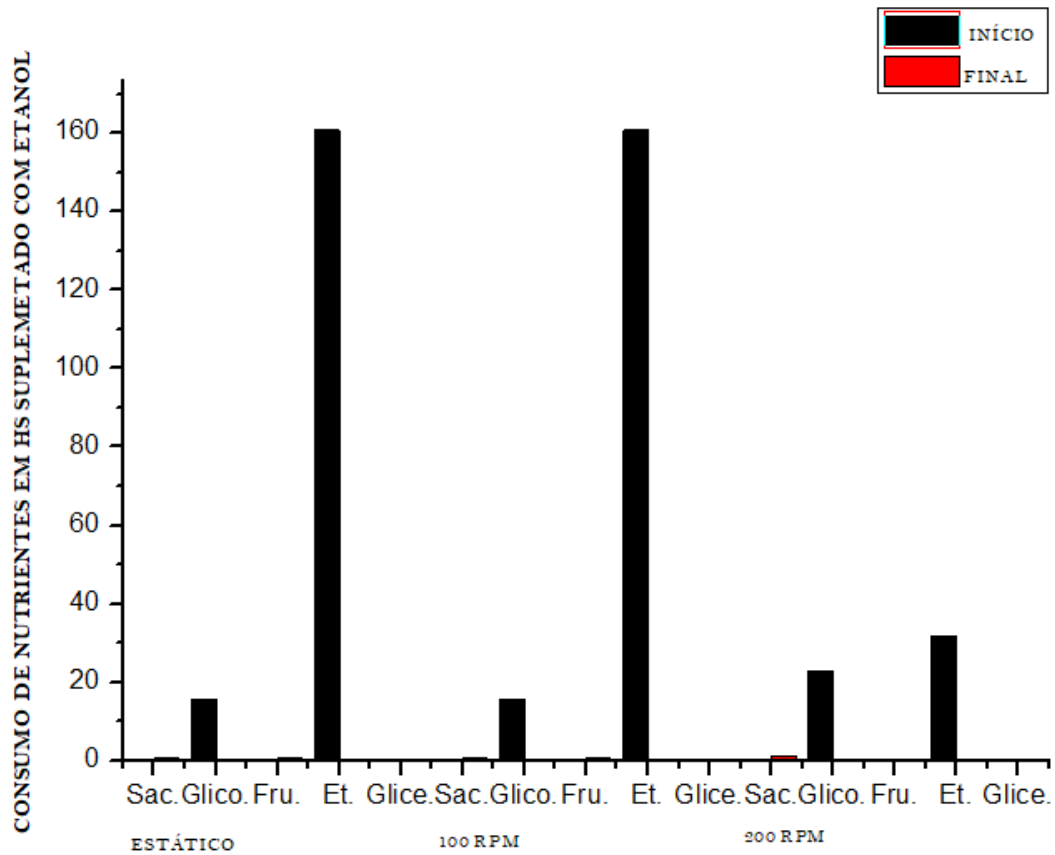
Figura 16 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo caldo de cana-de-açúcar como fonte de carbono



Fonte: Própria autora (2020).

No meio de cultivo contendo caldo de cana-de-açúcar, houve consumo quase total da sacarose e em todas as modalidades 0, 100 e 200 rpm, o que evidencia a forte atuação da enzima invertase. Isso mostra a capacidade do microrganismo em assimilar a sacarose e os seus monossacarídeos, tais como descrito em literatura por Kornmann *et al.* (2003); e Coimbra (2016).

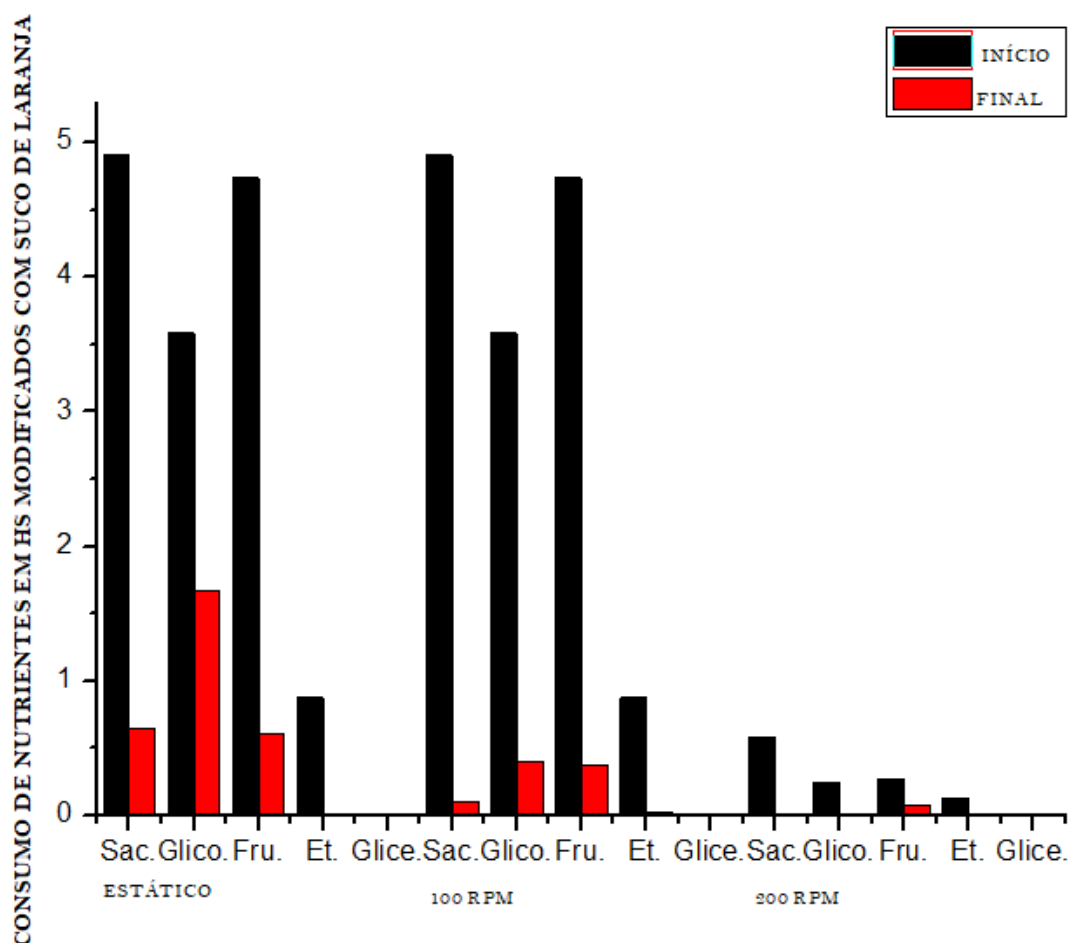
Figura 17 – Consumo dos compostos encontrados no HS suplementado com etanol



Fonte: Própria autora (2020).

O meio HS padrão suplementado com etanol foi bem aceito como fonte de carbono, sendo possível observar que as bactérias, além de consumirem toda a glicose do meio, consumiram também todo o etanol que se apresentava em maior quantidade em relação à glicose. Sendo assim, é possível observar o consumo do etanol e da glicose como fonte de carbono. Hutchens *et al.* (2007) descreve que o manitol, por ser um álcool de açúcar, fornece elétrons para o metabolismo das bactérias, resultando em maior produção de celulose. Sendo o etanol também derivado do açúcar, observamos, portanto, a possibilidade de ter ocorrido o mesmo.

Figura 18 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo suco de laranja como fonte de carbono

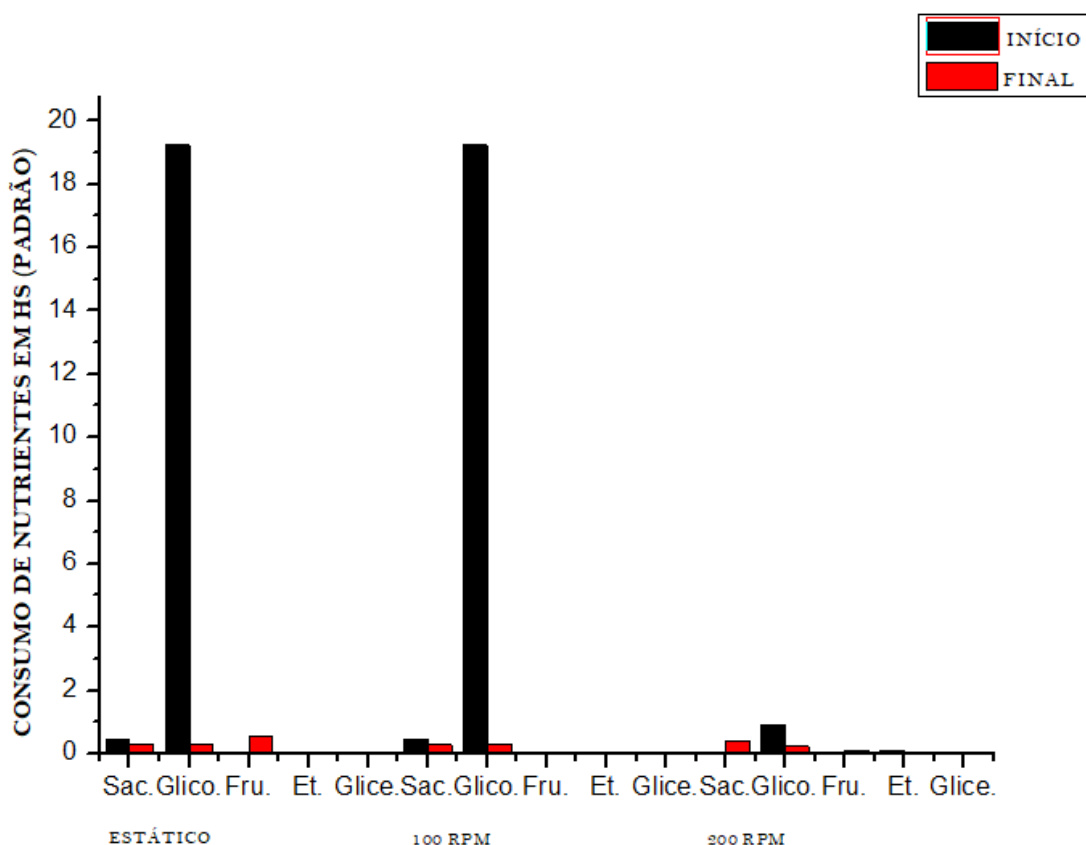


Fonte: Própria autora (2020).

Na Figura 18, é possível observar uma diminuição na concentração de substratos (sacarose, glicose, frutose e etanol), o que indica que houve consumo dos substratos encontrados nos meios de cultivo contendo suco de laranja. Foi observado esse comportamento em todas as condições de agitação, sendo possível notar uma diminuição da quantidade de sacarose em relação à frutose e glicose. Essa alteração na quantidade final de sacarose pode ser decorrente do aquecimento ao esterilizar o meio – ou seja a sacarose sofreu hidrólise, aumentando a proporção de frutose e glicose do meio, o que evidencia que a glicose e a frutose unidas como fontes de carbonos vêm acrescer o potencial energético obtido pelas bactérias, aumentando a produção de celulose.

Yang (1998) obteve resultados favoráveis utilizando frutose em comparação à glicose e descreve que, devido ao fato de não ocorrer a metabolização de frutose em ácido, a fermentação de frutose foi direcionada ao crescimento populacional celular e à produção de celulose.

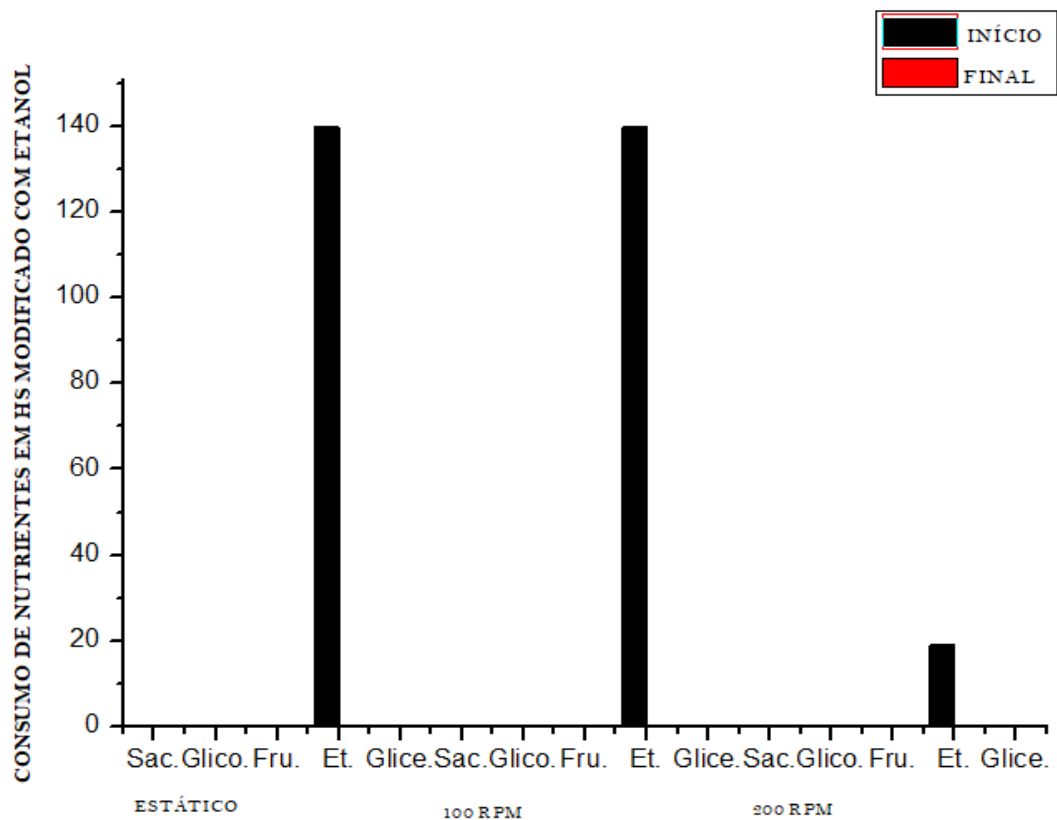
Figura 19 – Consumo dos compostos encontrados no HS padrão contendo (glicose) como fonte de carbono



Fonte: Própria autora (2020).

A Figura 19 mostra o consumo de substrato do meio padrão contendo o monossacarídeo glicose. Observa-se que, em todas as condições avaliadas, houve o consumo de todo o substrato. Tal resultado já era esperado, uma vez que, de acordo com a literatura Santos *et al.* (2013), foi afirmado que a glicose foi consumida rapidamente em relação as outras fontes de carbono, o que influenciou na baixa produção de celulose pelo microrganismo.

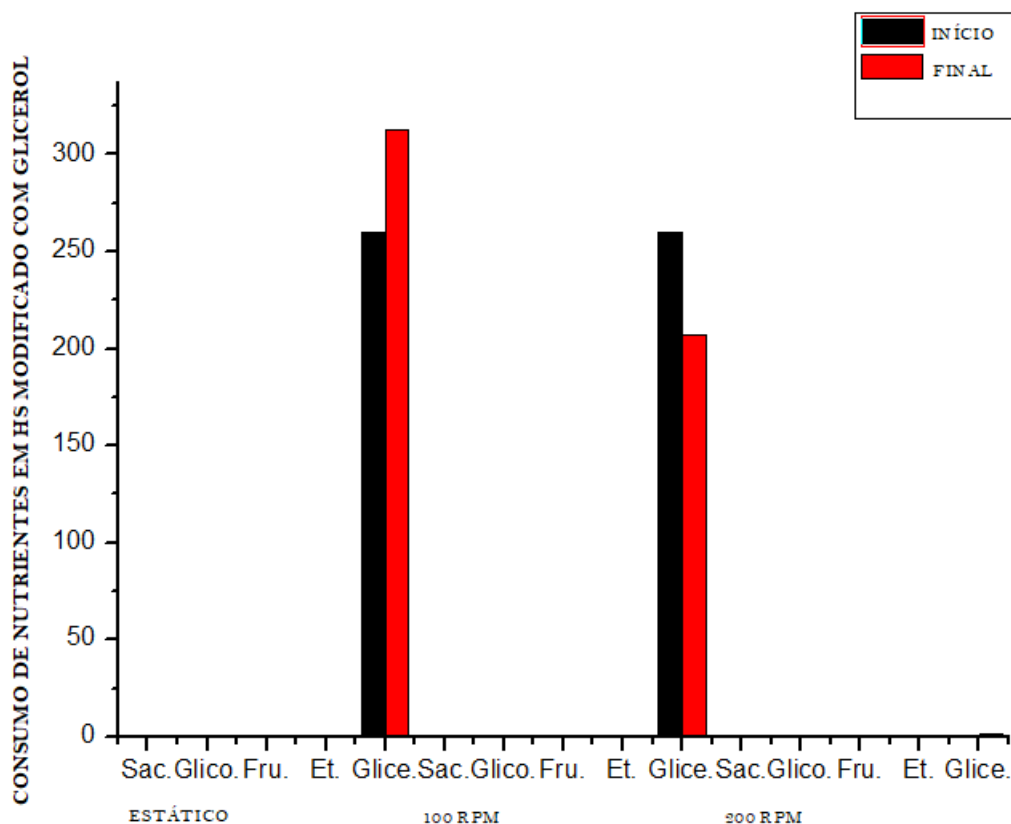
Figura 20 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo etanol como fonte de carbono



Fonte: Própria autora (2020).

Na Figura 20, observa-se o bom consumo do etanol sozinho como fonte de carbono e, mesmo consumindo o etanol em todas as condições, houve baixa produção de celulose, isso mostra que essa fonte de carbono para a produção de celulose não é boa já que a fonte acaba sendo convertida em ácido acético pelas bactérias, como já afirmava a literatura descrita por Brown (1886).

Figura 21 – Consumo dos compostos encontrados no HS complexo contendo glicerol como fonte de carbono



Fonte: Própria autora (2020).

A Figura 21 revelou que o consumo de glicerol foi baixo em qualquer uma das condições avaliadas. Tal resultado mostra que a concentração de 10mL de glicerol foi exorbitante para a quantidade de 50mL de meio de cultivo, sendo a quantidade acima de 1,2% tóxica para as células, o que retardou o processo fermentativo e não favoreceu a produção de celulose bacteriana.

Contudo, calculou-se o consumo de cada um dos substratos nas condições avaliadas, e seus resultados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Percentual de consumo de substratos pelas bactérias em diferentes meios

Rotação	Caldo de cana-de-açúcar			HS + etanol			Suco de laranja		
	0	100 RPM	200 RPM	0	100 RPM	200 RPM	0	100 RPM	200 RPM
SACAROSE	98%	94%	97%	–	–	–	87%	98%	100%
GLICOSE	94%	63%	71%	99%	98%	98%	53%	89%	100%
FRUTOSE	99%	93%	87%	–	–	–	87%	92%	74%
ETANOL	91%	–	99%	100%	100%	100%	100%	98%	100%
GLICEROL	99%	99%	93%	–	–	–	0%	0%	0%

Rotação	Etanol			Glicose (HS padrão)			Glicerol		
	0	100 RPM	200 RPM	0	100 RPM	200 RPM	0	100 RPM	200 RPM
SACAROSE	95%	87%	82%	42%	41%	–	68%	91%	100%
GLICOSE	14%	–	73%	98%	98%	76%	87%	100%	100%
FRUTOSE	0	0	67%	–	–	–	–	–	–
ETANOL	100%	100%	100%	–	–	100%	–	–	100%
GLICEROL	33%	–	0%	–	–	–	–	20%	–

Os resultados anulados apresentaram baixo nível de concentração, impedindo o cálculo correto da porcentagem.

Fonte: Própria autora (2020).

Na tabela 4, pode-se observar que a frequência de agitação afetou o comportamento da bactéria em relação à preferência do nutriente a ser metabolizado, sendo possível observar uma maior conversão da maioria do substrato à medida que a frequência de agitação dos frascos aumentava. Isso indica que, na presença de uma maior disponibilidade de oxigênio, há preferência pelo crescimento microbiano do que para a produção de celulose.

Ressalta-se também que a maior média de concentração de celulose em base seca foi obtida quando a frequência de agitação orbital foi mantida em 100 rpm, mostrando que há um valor ótimo na frequência de agitação. No cultivo em que os frascos foram mantidos (a 200 rpm), houve pouca produção de celulose, apesar de ter ocorrido consumo dos nutrientes (sendo as maiores conversões de substrato nessa condição).

5.3 AVALIAÇÃO DO CUSTO DA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

Neste estudo, pesquisou-se a substituição da glicose por outras fontes de carbono, mas mantendo os outros nutrientes já utilizados no meio HS descrito por Hestrin e Schramm (1954). Com isso, conclui-se que foi possível substituir alguns dos componentes do meio de cultivo, através da utilização de fonte de carbono de origem agroindustrial. Sendo assim, houve a necessidade de avaliar o custo do meio de cultivo para a produção da celulose bacteriana para comparação de quantidade de produção e custo.

Para a estimativa de custo do meio de cultivo, foram feitas cotações dos subprodutos agroindustriais que mais renderam em celulose bacteriana, sendo as fontes principais cana-de-açúcar e suco de laranja. Com isso, a cotação do ATR, no mês de julho de 2020, fechou em R\$ 0,6588/ Kg (ATR a capacidade da cana em ser convertida em açúcar e álcool); o etanol foi cotado para o mês de setembro de 2020 a R\$1,8151 litro; e o suco de laranja concentrado fechou, no mês de novembro de 2020, em R\$ 646,30 a tonelada (NOTÍCIAS AGRÍCOLAS, 2020).

Sendo assim, foi calculado que para o meio HS modificado com caldo de cana-de-açúcar, o custo para preparar 1 litro foi avaliado em R\$13,15, como se mostra na Tabela 5. Com isso, estima-se que o custo na elaboração do meio, avaliando somente o custo do substrato para a quantidade de 1 litro e usando como fonte de carbono alternativa o caldo de cana-de-açúcar com a produção de 38,8 gramas de celulose, ficou no valor de R\$ 0,34 por grama. Não foi encontrada na literatura nenhuma cotação detalhada sobre os custos de meio de cultivo para celulose bacteriana, entretanto, foi desenvolvido um estudo pela Embrapa no qual se afirma que o custo da produção de celulose bacteriana pode ser barateado em até 70% ao se substituir o meio sintético por melaço de soja (PEREIRA, 2019).

Tabela 5 – Preço médio utilizando diferentes fontes industriais

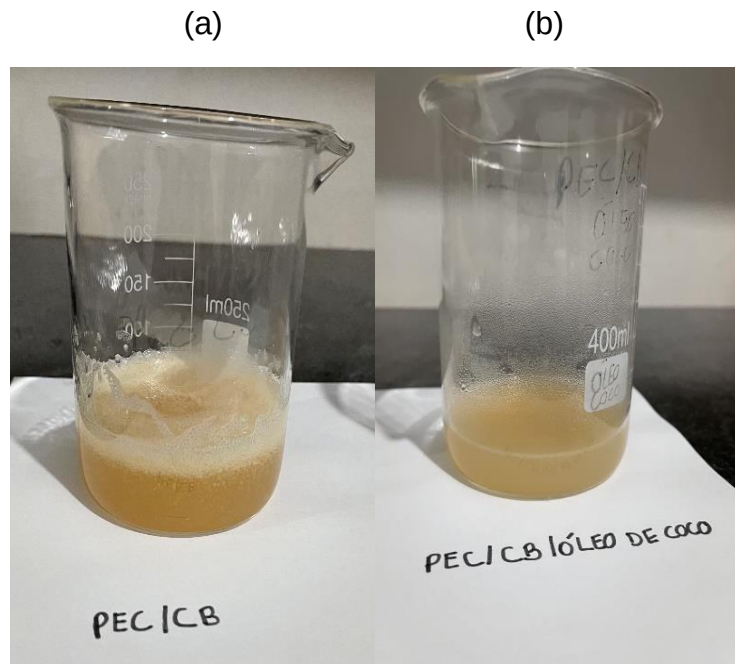
Meios de cultivo	Custo do meio de cultivo por litro	Concentração máxima obtida de celulose bacteriana em grama	Custo da produção de celulose bacteriana por grama
HS Tradicional	R\$ 14,74	20,00	R\$ 0,73
HS modificado com caldo de cana-de-açúcar	R\$ 13,15	38,8	R\$ 0,34
HS suplementado com etanol	R\$ 14,76	33,4	R\$ 0,44
HS modificado com suco de laranja	R\$ 13,32	20,18	R\$ 0,66

Fonte: Própria autora (2020).

5.4 CARACTERIZAÇÃO DO REVESTIMENTO BIOPLÁSTICO

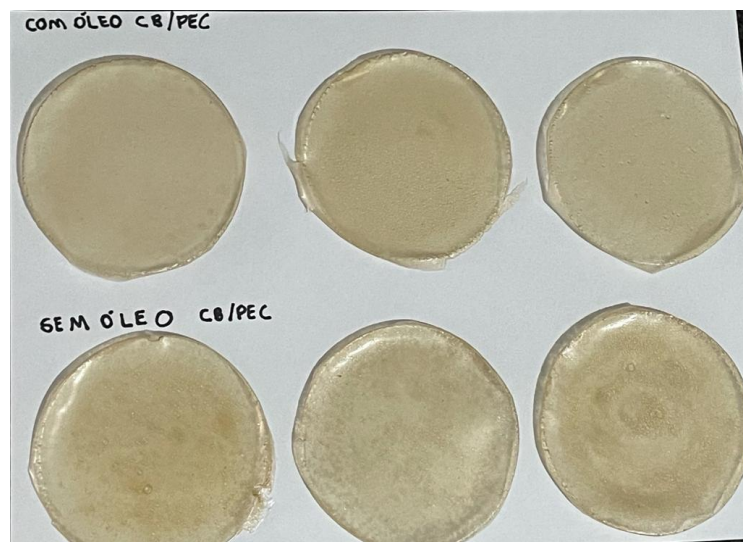
Com o uso de proporções misturadas de 25% de celulose bacteriana, 75% de pectina e 30% de glicerol com base na massa total de polímeros para 100 mL de água e ajuste de pH para 3 com o uso de ácido acético, foram obtidas soluções sob a temperatura de 70° C, como mostra a Figura 22(a), e com a adição de 12,5% de óleo de coco, conforme ilustra a Figura 22(b). Após a obtenção das soluções filmogênicas, porções foram colocadas em suportes para a evaporação do solvente em posteriores análises de espectroscopia no infravermelho, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e tração *versus* deformação. Algumas amostras dos filmes bioplásticos obtidos são demonstradas na Figura 23.

Figura 22 (a, b) – Revestimentos bioplásticos à base de cb e pectina



Fonte: Própria autora (2021).

Figura 23 – Bioplásticos à base de celulose bacteriana e pectina

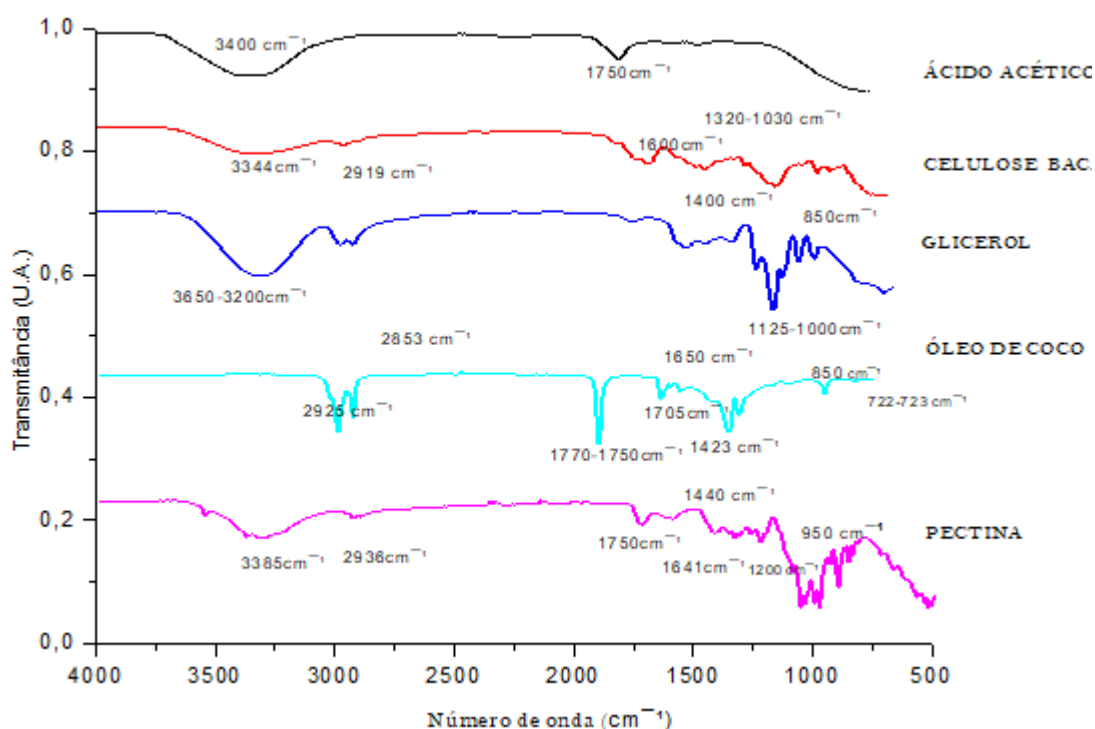


Fonte: Própria autora (2021).

5.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho foi realizada para identificação dos principais grupamentos químicos pertencentes aos filmes compostos por celulose bacteriana, pectina, ácido acético e glicerol; e ao filme de mesma composição com o adicional de óleo de coco. Assim, a Figura 24 apresenta os espectros encontrados nos materiais de partida, servindo de base para comparação com os filmes poliméricos elaborados.

Figura 24 – Materiais de partida identificados em espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier



Fonte: Própria autora (2021).

As principais bandas de absorção pertinentes à celulose bacteriana se encontram situadas nas regiões de: 3500 cm^{-1} - estiramento OH; 2900 cm^{-1} - estiramento CH de alcanos e estiramento assimétrico CH; 2700 cm^{-1} - estiramento simétrico CH_2 ; 1600 cm^{-1} deformação OH; 1400 cm^{-1} - deformação CH_2 ; 1370 cm^{-1}

deformação CH_3 ; 1340 cm^{-1} – deformação OH e $1320\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$ deformação CO (BARUD, 2006).

Os espectros da pectina são evidenciados nas bandas de absorção localizados na região: 3385 cm^{-1} , referentes ao estiramento de grupos hidroxila (O-H), estando associadas à presença de água, bem como às interações de hidrogênio inter e intramoleculares das unidades de ácido galacturônico; 2936 cm^{-1} (PC), bandas correspondentes ao estiramento C-H de grupos CH_2 ; 1747 e 1641 cm^{-1} (PC) são atribuídas aos estiramentos de grupos carboxílicos metil esterificados (C=O) e aos grupos carboxilatos (COO^-), respectivamente; 1440 cm^{-1} (CJSD) e 1423 cm^{-1} (PC), correspondentes aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo carboxila (KAMNEV *et al.*, 1998; GNANASAMBANDAM; PROCTOR, 2000). Segundo Kamnev *et al.* (1998), as regiões 1136 , 1053 e 995 cm^{-1} (PC) referem-se à região denominada “impressão digital” de polissacarídeos (abaixo de 2000 cm^{-1}). Segundo Gnanasambandam e Proctor (2000), a região da impressão digital estaria entre 1300 a 800 cm^{-1} ; já para Manrique e Lajolo (2002), a região seria entre 1200 a 950 cm^{-1} .

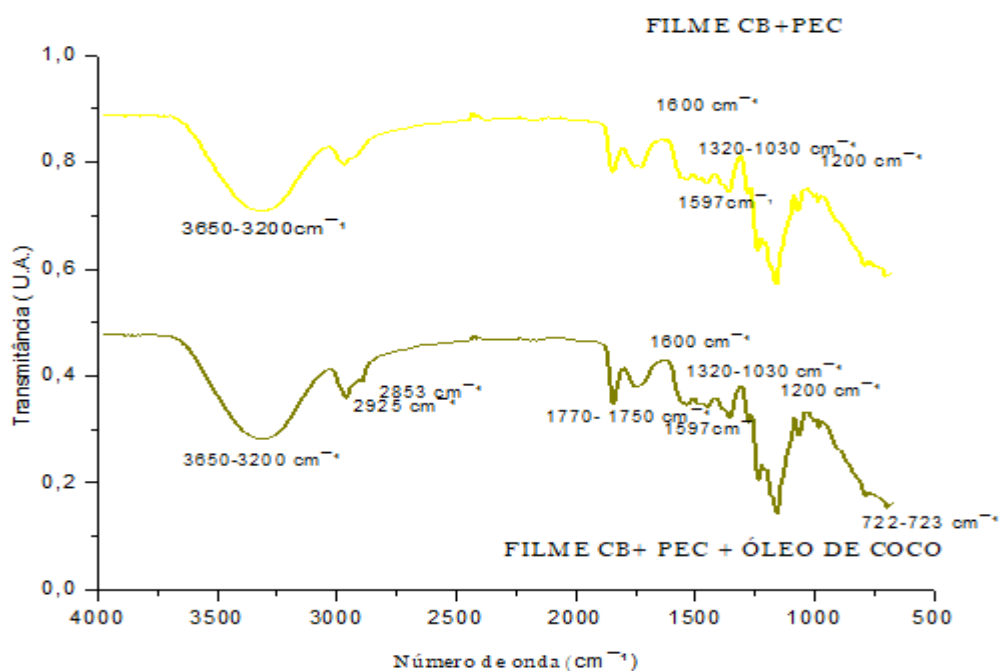
Os espectros do glicerol puro são demonstrados nas bandas de absorção localizadas na região de 800 cm^{-1} até 1500 cm^{-1} , onde cinco picos correspondem às vibrações das ligações C-C e C-O. Os picos em 850 cm^{-1} , 925 cm^{-1} e 995 cm^{-1} são atribuídos à vibração do esqueleto C-C; a banda em 1045 cm^{-1} está associada ao alongamento da ligação C-O em C_1 e C_3 ; e aquele em 1117 cm^{-1} está relacionado ao alongamento de C-O em C_2 (GUERRERO *et al.*, 2010).

Já os dados espectrais encontrados para a amostra de óleo de coco revelam bandas localizadas na região: faixa $4000\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$. Nas bandas $2853\text{-}2925\text{ cm}^{-1}$ foram encontrados estiramentos referente a alcanos CH_2 ; em 1744 , 1750 , 1720 cm^{-1} foi observado o estiramento carbonila C=O. A região 1650 e 500 cm^{-1} é considerada a impressão digital e os picos em evidência nesta região foram identificados como os picos 850 e 1423 cm^{-1} . Entre a região $722\text{-}723\text{ cm}^{-1}$ foi identificado um pico referente à deformação assimétrica de CH típico de cadeias de hidrocarbonetos, assim como nos estudos de Cidreira *et al.*, (2019) nos quais se utilizou óleo de congo.

Segundo Guan *et al.* (1998), quando ocorre a combinação de duas ou mais substâncias, essas combinações podem ser refletidas por alterações distintas nas bandas espectrográficas.

Foram analisados os espectros obtidos, conforme mostra a Figura 25 e se constatou que a combinação das substâncias não alterou os rearranjos espaciais dos átomos (conformação química), de tal modo que os revestimentos bioplásticos obtidos detiveram a integridade química.

Figura 25 – Identificação dos grupos funcionais nos revestimentos bioplásticos por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

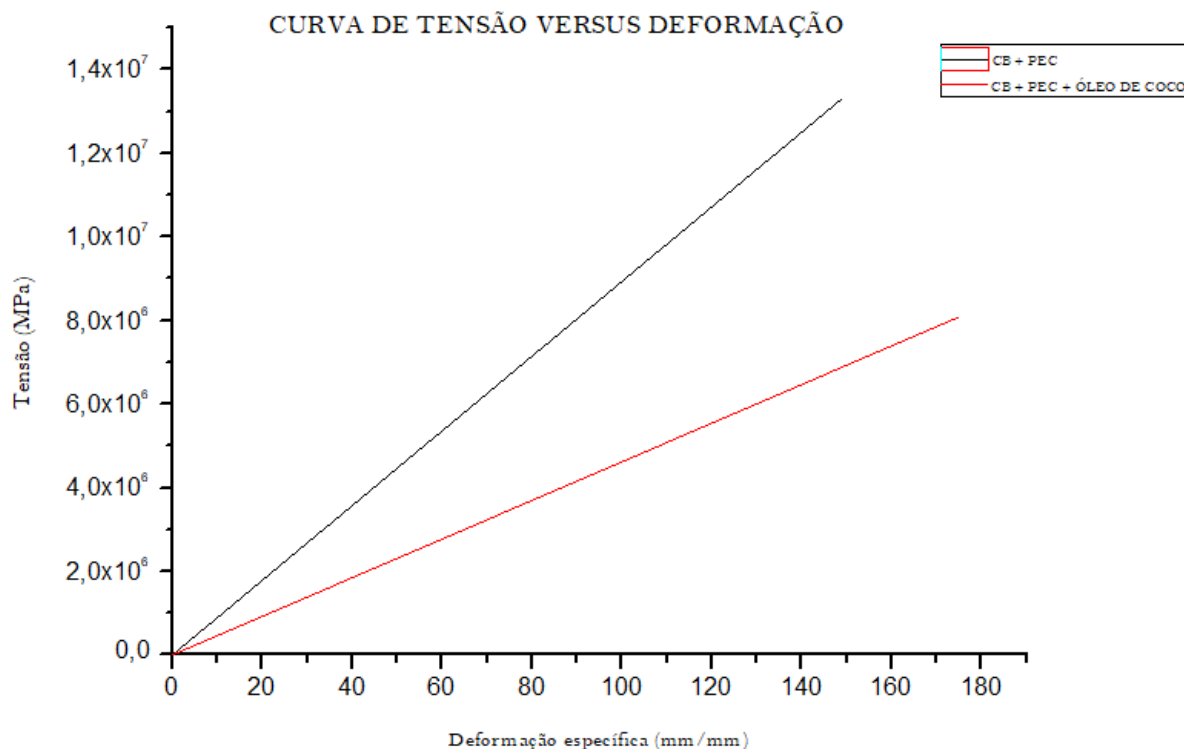


Fonte: Própria autora (2021).

5.6 ENSAIO MECÂNICO (TESTE DE TRAÇÃO *versus* DEFORMAÇÃO)

Considerando o ensaio mecânico realizado, foi avaliado o comportamento mecânico das blendas polimérica contendo CB + Pectina; CB + Pectina + Óleo de coco. A Figura 26 evidencia a representação de tensão e deformação específica dos filmes.

Figura 26 – Curva de tensão *versus* deformação do filme de (CB + PEC; CB + PEC + ÓLEO DE COCO)



Fonte: Própria autora (2021).

Podemos observar na Figura 26 a diferença que houve entre os filmes de celulose bacteriana e pectina e o filme com a adição de óleo de coco. Os filmes de CB + Pectina apresentaram maior resistência à tração, sendo assim, sua intensidade de força foi maior que o filme composto por óleo de coco. Já na elongação, o filme que teve a adição de óleo de coco apresentou maior deformação, diferenciando em 16% em relação ao filme sem óleo, portanto, houve maior mudança em seu comprimento. No módulo Young, o filme CB + Pectina apresentou maior rigidez, como pode ser observado na Tabela 6.

Segundo Guhados *et al.* (2005), alguns estudos colocaram um limite superior à resistência mecânica em torno de 130 -170 GPa, contudo, o valor real é definido em função do grau da cristalinidade da amostra de celulose bacteriana. De acordo com os autores, o valor encontrado em seus estudos utilizando nanofibras individuais foi de 78 ± 17 GPa e constatado por refração de raio-x 60% de cristalinidade da membrana.

Cordeiro (2015) identificou em seu estudo que a adição de celulose bacteriana não influenciou a elongação de seus filmes.

Chen *et al.* (2016) adicionaram nanoemulsão de óleo de canela em filmes de quitosana e os valores de tensão e módulo Young foram inferiores aos filmes que não receberam a nanoemulsão de óleo de canela. Pelissari *et al.* (2009) e Galindo (2017), utilizando óleo de orégano, também obtiveram em seus filmes de quitosana maior elongação e menor resistência à tensão e módulo Young em contrapartida aos filmes que não receberam óleo, assim como este estudo.

Tabela 6 – Resultados dos ensaios mecânicos realizados nos revestimentos bioplásticos.

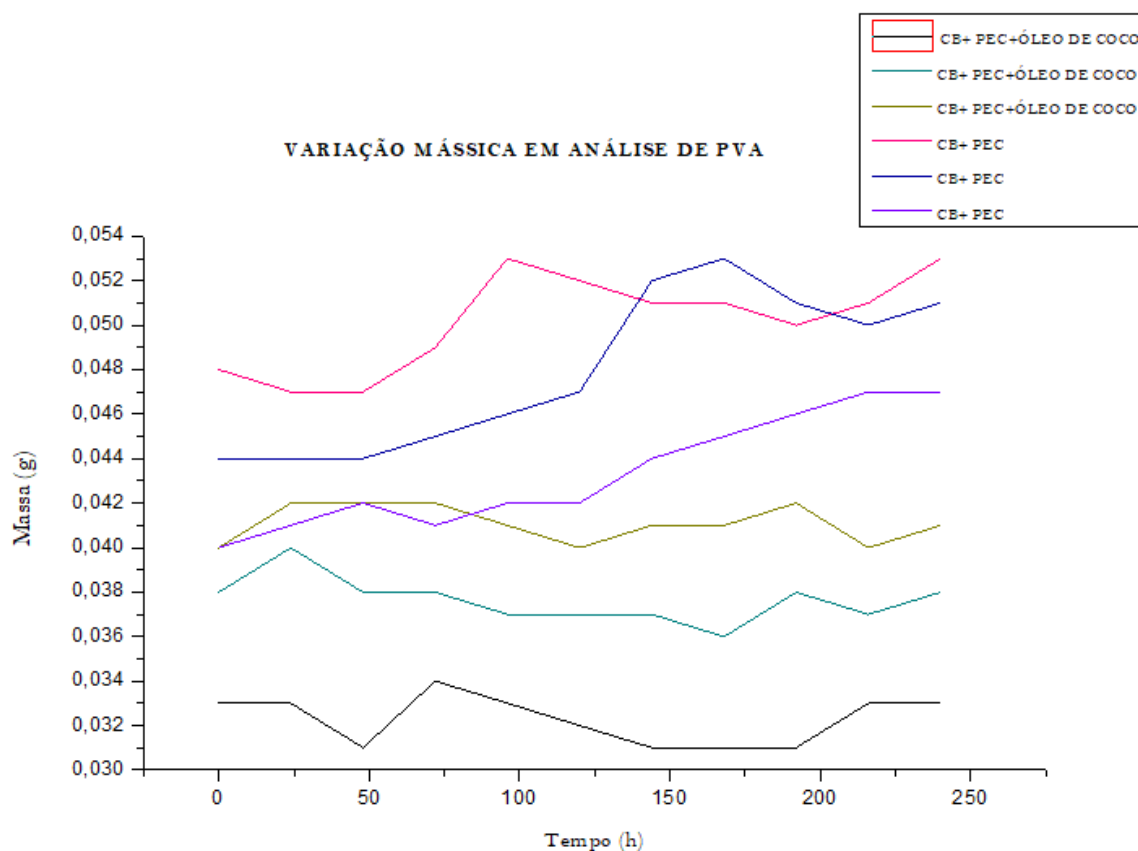
	Módulo de Young (GPa)	Tensão de ruptura (MPa)	Alongamento máximo (mm)
CB + PEC	93,73	1,39 E + 07 ± (2,23 E + 06)	1,50 ± 0,29
CB + PEC+ ÓLEO DE COCO	51,60	9,06 E + 06 ± (2,11 E + 06)	1,75 ± 0,36

Fonte: Própria autora (2021).

5.7 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A Figura 27 mostra a variação de massa ocorrida em 10 dias de avaliação, sendo a média de cada teste da triplicata utilizada para os cálculos de taxa de transmissão de vapor de água (TTVA) – taxa definida como a quantidade de água que permeia através de uma unidade de área, por unidade de tempo, no estado estacionário, sob condições de ensaio (SARANTOPOULOS *et al.*, 2002).

Figura 27 – Variação de massa durante análise de permeabilidade de água



Fonte: Própria autora (2021).

As massas das membranas de celulose bacteriana e pectina apresentaram constância em intumescimento, alterando constantemente para mais em relação à massa inicial. Já a massa das membranas de celulose bacteriana, pectina e óleo de coco variavam pouco e logo retornavam ao peso de massa inicial.

Espitia *et al.* (2014) obtiveram em filmes de pectina com purê de açaí o PVA de (2,56 g.mm.h⁻¹. kPa⁻¹.m²), bem próximo ao obtido com o uso de pectina e celulose bacteriana neste estudo, como se pode observar na Tabela 7.

Analisando a Tabela 8, pode ser observado que a adição de 12,5% de óleo de coco nas membranas de celulose bacteriana e pectina reduziu a permeabilidade em relação ao filme sem a incorporação de óleo de coco, confirmando a afirmativa de Oliveira *et al.* (2012), que mostrou em seu estudo que obteve no filme de gelatina redução progressiva de permeabilidade com o aumento de concentração de óleo de coco.

Ahmad *et al.* (2012) e Bertan *et al.* (2005) demonstraram em seus estudos que a adição de compostos lipofílicos reduziu a permeabilidade ao vapor de água, com o aumento da concentração. Peng *et al.* (2014) concluiu em seus estudos que a utilização de nano emulsão de óleo essencial de limão em filmes de quitosana podem ter contribuído para o alcance de menores taxas de vapor de água, já que a quitosana e o glicerol são materiais hidrofílicos, assim como os componentes base deste estudo, tais como, celulose, pectina e glicerol.

Tabela 7 – Resultados dos ensaios de permeabilidade de vapor de água

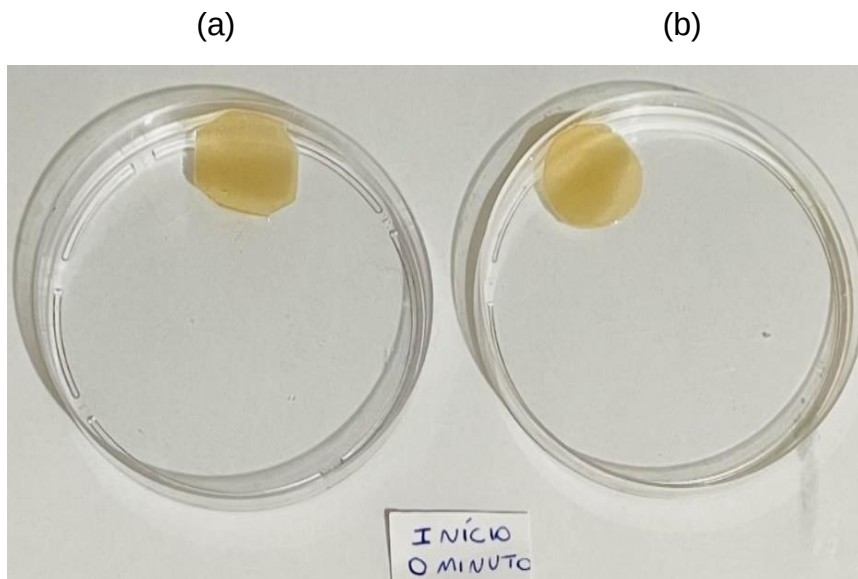
	TTVA (g*dia)	TVA (g*mm/dia*KPa*m ²)
CB + PEC	0,063 ± 0,0115	2,77
CB + PEC + ÓLEO DE COCO	0,033 ± 0,0057	0,12

Fonte: Própria autora (2021).

5.8 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

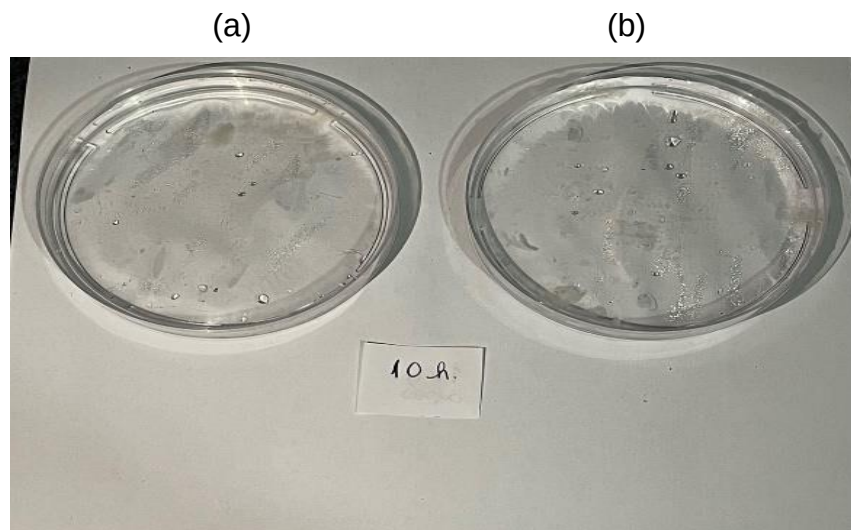
Os testes de solubilidade foram realizados utilizando discos de membrana bioplástica (soluto) introduzida no solvente (água); amostras de filmes de celulose bacteriana e pectina; celulose bacteriana, pectina e óleo de coco. Foram analisadas, como mostra a Figura 28 (a) CB e Pectina e Figura 28 (b) CB, Pectina e Óleo de coco em situação estática em ponto inicial, ambas amostras se manifestaram altamente solúveis. A Figura 29 (a) CB e Pectina e Figura 29 (b) CB, Pectina e Óleo de Coco mostra a dissolução quase completa do material no solvente, que apresentou pequenas partículas ainda por dissolver, isso após 10 horas.

Figura 28 – Solubilização inicial sem agitação do revestimento bioplástico em água



Fonte: Própria autora (2021).

Figura 29 – Solubilização após 10 horas sem agitação do revestimento bioplástico em água



Fonte: Própria autora (2021).

Essas amostras foram imersas em água para determinação da perda de massa do material, entretanto, devido ser um material hidrófilo interagiu bem com o líquido o

que levou a uma rápida degradação do material. Pelo fato de as membranas serem formadas em sua maior parte por compostos hidrofílicos, não foi possível fazer a verificação de massa, já que não era possível a captura da membrana no meio aquoso, como pode ser visto na Figura 29. Gontard *et al.* (1994) relatam em seus estudos que, mesmo com a adição de cera de abelha, um material (hidrofóbico), em seus filmes compostos de glúten de trigo, o filme se desintegrava facilmente quando submerso em água, assim como os filmes deste trabalho.

Dias *et al.* (2008), em seus filmes elaborados à base de farinha de arroz acrescidos com fibras de celulose, atribuem a solubilidade do seu filme à característica hidrofílica do amido de arroz, sendo esta também uma característica da pectina, celulose, ácido acético e glicerol.

Segundo Pola (2017), os filmes de pectina são comestíveis e proporcionam boa barreira a gases, sendo considerados aliados na manutenção e preservação do alimento, colaborando com a redução da desidratação; entretanto, a capacidade de atuação frente à umidade é relativamente baixa. Porém, afirma que os polímeros são moléculas de elevada massa molar e, para a assimilação destes compostos pelos microrganismos, é necessária a ocorrência de hidrólise, uma forma de alteração do material na qual suas moléculas são quebradas em contato com a água. Por ocorrências químicas, portanto, a falta de resistência à umidade não é de um todo ruim, pois ela pode atuar benéficamente, hidrolisando o material em pequenas partículas e facilitando a assimilação por microrganismos, acelerando sua biodegradação.

5.9 TESTE SENSORIAL VISUAL DOS MORANGOS

Os morangos foram avaliados a cada 24 horas, durante o período de 8 dias. Visualmente, analisando os morangos revestidos, tanto os de celulose bacteriana e pectina (CB + PEC) quanto os revestidos de celulose bacteriana, pectina e óleo de coco (CB + PEC + ÓLEO C.), verificou-se que eles apresentaram leve deformação na camada superficial devido à secagem do revestimento. Contudo, a firmeza de ambos não foi afetada, já que nos dois casos a vermelhidão inicial foi mantida, sem alterações para mais ou para menos.

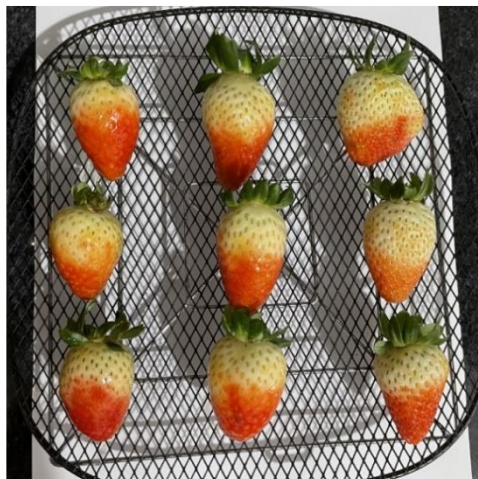
Os morangos sem revestimentos (CONTROLE) apresentaram mais 95% de sua totalidade cobertas pela tonalidade vermelha após 24 horas, diferenciando-se, neste quesito, em relação dos demais morangos revestidos. Após 48 horas, os morangos revestidos (CB + PEC) já se mostraram mais maduros em relação ao início e aparentaram um tamanho menor e com aparência enrugada. As frutas revestidas com (CB + PEC+ ÓLEO C.) mantiveram-se com o mesmo aspecto das 24 horas anteriores.

Os morangos (CONTROLE) possuíam cor vermelho intenso em toda a fruta e exibiam pequenas marcas de decomposição. Com 72 horas, os morangos (CB + PEC) apresentaram perda de firmeza, principalmente na parte inferior da fruta, e a vermelhidão ainda estava contida, modificando lentamente a fruta; no entanto, a fruta tinha ausência de brilho. As frutas com (CB + PEC+ ÓLEO C.) mantiveram-se resistentes à vermelhidão, não exibindo modificações bruscas, porém apresentaram pequenas evidências de murchamento na parte inferior e leve ausência de brilho. As frutas (CONTROLE) apresentaram, em 72 horas, em sua totalidade, a cor vermelha escura, perda de firmeza e sinais evidentes de degradação.

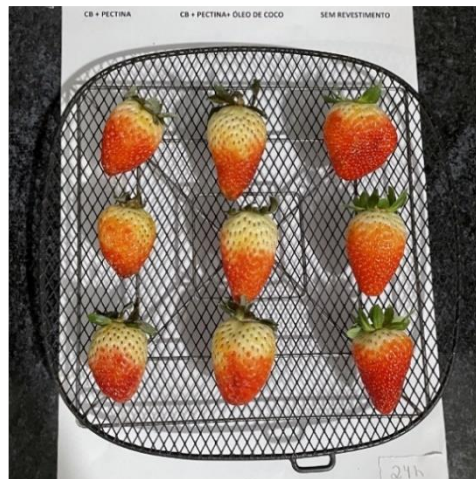
Estudos de Maftoonazad e Ramaswamy (2005) mostraram que a detenção da firmeza pode ser devida à lenta degradação de protopectinas insolúveis em ácido péctico mais solúvel e pectina. Todo o processo de mudança visual de 0 até 72 horas pode ser visto na Figura 30.

Figura 30 – Avaliação das mudanças visuais dos morangos de 0 até 72h

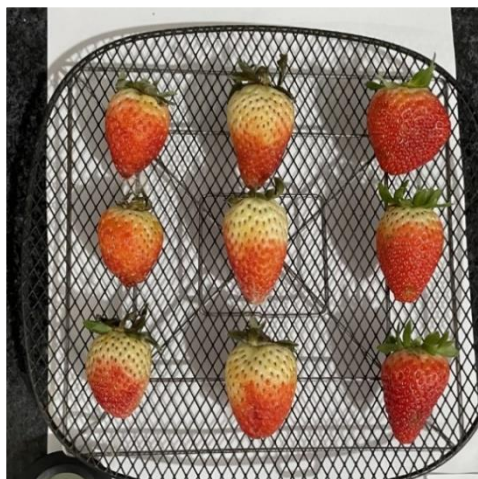
0h. CB+ PEC CB+PEC+ÓLEO SEM REVEST.



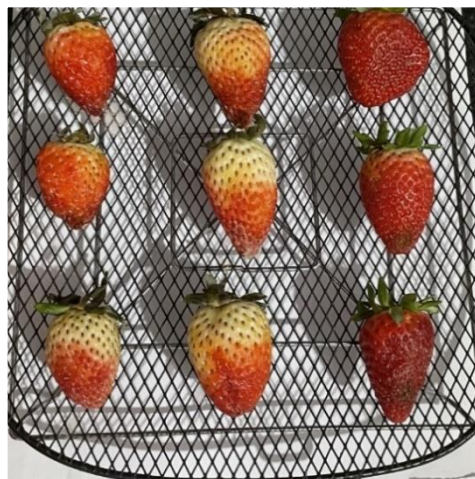
24h. CB + PEC CB + PEC+ ÓLEO SEM REVEST.



48h. CB+ PEC CB + PEC + ÓLEO SEM REVEST.



72h. CB+ PEC CB+ PEC+ÓLEO SEM REVEST.



Fonte: Própria autora (2021).

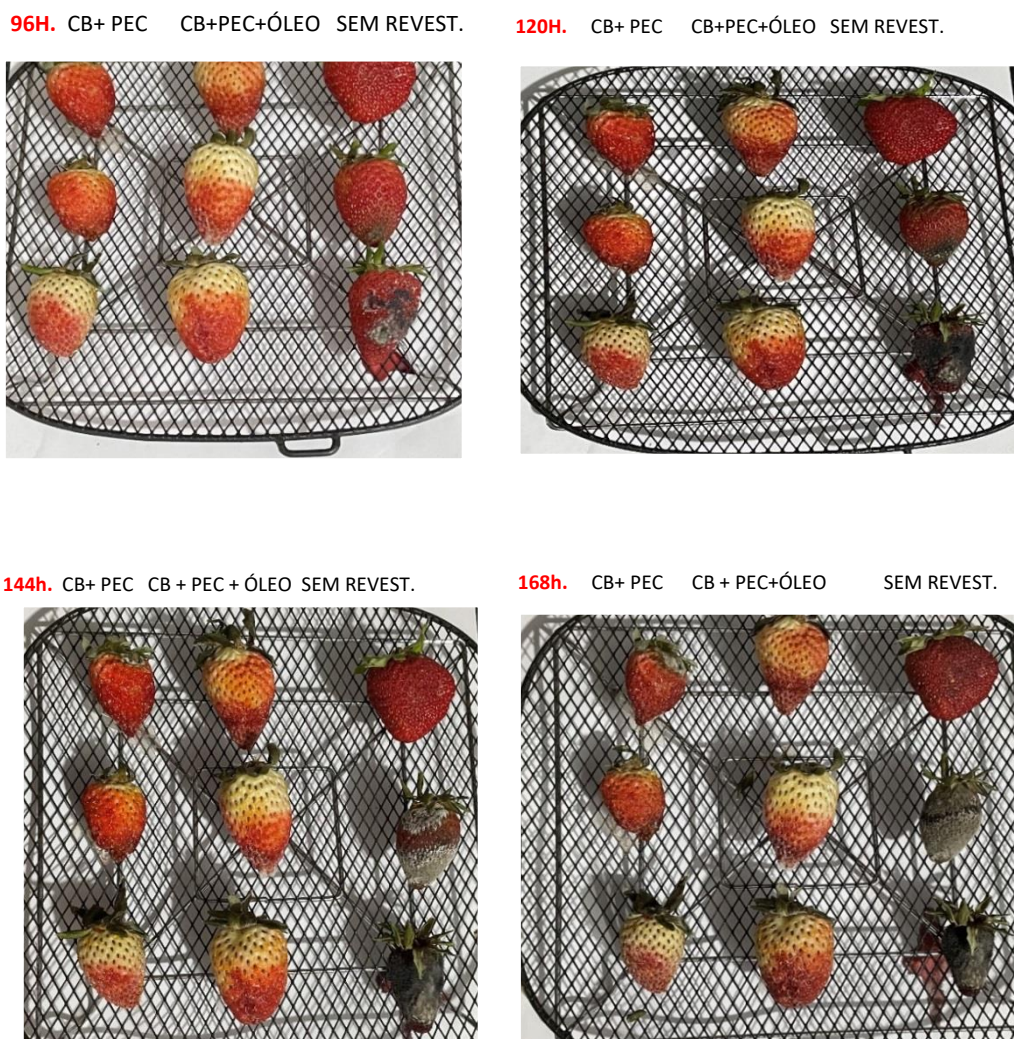
Com 96 horas, as frutas revestidas com (CB + PEC) apresentavam pequena diminuição no tamanho e as cores se mantiveram em relação às 24 horas anteriores. Das frutas revestidas com (CB + PEC + ÓLEO DE COCO), apenas uma evidenciou um leve rubor; as demais características se mantiveram. Os morangos (CONTROLE), em 96 horas, mostravam perda de líquido visível e incidência fúngica de cor acinzentada para preta em duas de suas frutas.

Em 120 horas, os morangos revestidos por (CB + PEC) exibiram em duas frutas maior grau de maturação e sua superfície mostrava maior rugosidade. As frutas revestidas por (CB + PEC + ÓLEO DE COCO) apresentaram maior rugosidade na parte inferior das frutas. Dois dos morangos (CONTROLE) já se encontravam em estado final de deterioração fúngica, não sendo apropriados para consumo humano.

Com 144 horas, as frutas revestidas por (CB + PEC) apresentaram fungos na parte de trás da fruta, que se encontrava encostada na grade. Os revestidos por (CB + PEC + ÓLEO DE COCO) mantinham a mesma aparência das horas anteriores. Apenas uma fruta (CONTROLE) se manteve vermelha em tom intenso e sem fungos.

Com 168 horas, as frutas revestidas por (CB + PEC) diminuía seu tamanho constantemente; contudo, com crescimento fúngico lento. As revestidas por (CB + PEC + ÓLEO DE COCO) e frutas (CONTROLE) mantiveram-se sem mais alterações visuais. As imagens referentes ao período de teste das frutas, entre 96 e 168h, podem ser vistas na Figura 31.

Figura 31 – Avaliação das mudanças visuais dos morangos de 96 até 168h

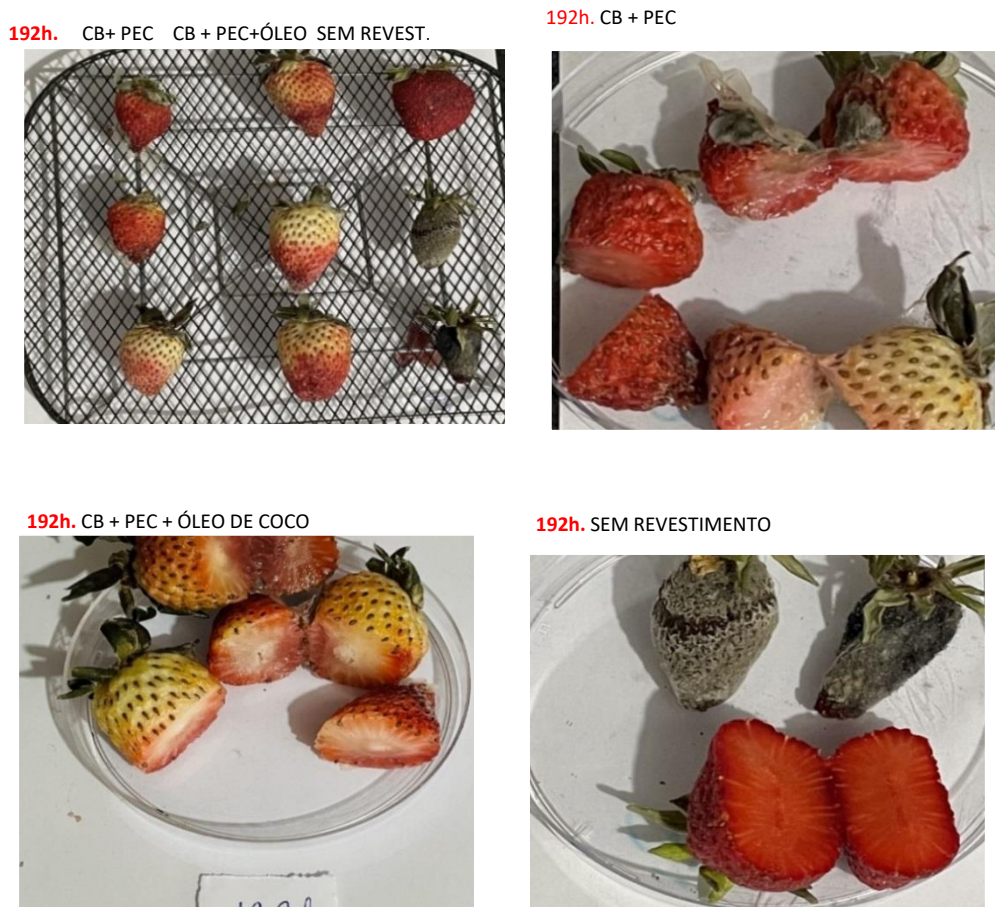


Fonte: Própria autora (2021).

Com 192 horas, todos os morangos mantiveram a mesma aparência visual das 24 horas anteriores, conforme ilustra a Figura 32. Todos os morangos revestidos evidenciaram pouca vermelhidão internamente, evidenciando que os revestimentos diminuíram a taxa respiratória das frutas, e o processo enzimático, portanto, retardou o amadurecimento das frutas, evitando que estragassem precocemente.

Acerca disso, Fan *et al.* (2009) relatam que o aumento da vermelhidão na fruta pode ser causado pela redução na taxa respiratória ou a processos enzimáticos que ocorreram com o passar do tempo – o que acarreta no escurecimento da fruta.

Figura 32 – Avaliação das mudanças visuais dos morangos após 192h



Fonte: Própria autora (2021).

Com este estudo, foi possível observar a proteção evidente que os revestimentos proporcionaram às frutas, levando à conclusão que revestimentos hidrofílicos à base de celulose bacteriana e pectina atuaram fortemente na proteção do morango. Silva (2015) confirmou que o uso de revestimento de nanocompósitos de pectina reforçados com nanocristais de celulose foi benéfico, atuando como barreira protetiva em morangos.

Assis e Britto (2008) afirmam que a pectina empregada como revestimento atua na manutenção da firmeza, ação antifúngica e proporciona barreira a gases. Almeida (2010) obteve resultados favoráveis utilizando blenda de fécula de batata e celulose

bacteriana como filme sobre refrigeração (7°C), contribuindo para a manutenção dos morangos cv. Festival.

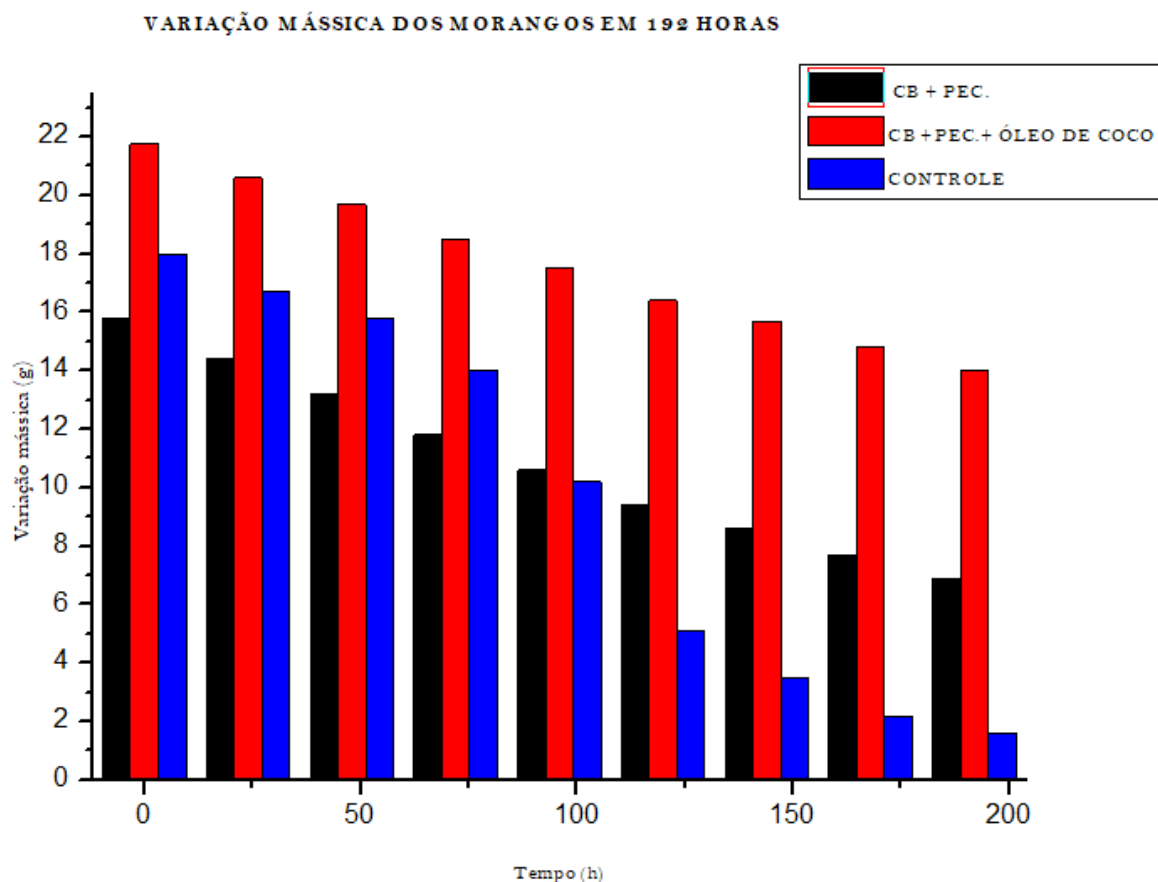
Foi possível observar que o acréscimo de óleo de coco no revestimento formulado neste estudo evitou a senescência precoce do morango, mantendo a firmeza e protegendo as frutas de ataques fúngicos. Tanada-Palmu (2005) obteve efeito favorável na retenção de firmeza utilizando revestimento em bicamada de glúten e lipídios de trigo (cera de abelha, ácido esteárico e palmítico) em relação às frutas controle. Amal *et al.* (2010) também obtiveram menor firmeza nas frutas controle e maior firmeza nas frutas revestidas com soja ou glúten mais tratamentos com timol. Resultados semelhantes também foram encontrados por Haertel (2013) ao utilizar como revestimento gelatina, xantana, sorbitol e óleo de canola, assim como este estudo ao fazer uso do óleo de coco.

5.10 PERDA DE MASSA DOS MORANGOS

Os morangos foram perdendo massa gradativamente durante o período de 8 dias ou 192 horas, como pode verificar na Figura 33, que evidencia a perda de massa em cada amostra da triplicata.

O gráfico das frutas revestidas de (CB+ PEC) apresentou o cálculo mostrando a seguinte equação: $y = -1,3182x + 17,226$ (R- Square: 0,9953); neste caso, o modelo linear explicou 99,53% dos dados. A equação obtida do revestimento com (CB +PEC+ ÓLEO DE COCO) foi $y = -1,0268x + 22,7$ (R Square: 0,9972) explica 99,72% dos dados no modelo linear. E as amostras sem revestimentos apresentou a equação $y = -1,64x + 22,137$ (R Square:0,9722), sendo, neste caso, 97,22%. Considerando que quanto maior o coeficiente angular da reta ajustada maior a perda de massa, observa-se que a menor perda de massa é quando se utilizou o revestimento contendo CB + PEC + ÓLEO DE COCO.

Figura 33 – Avaliação gráfica das alterações mássicas dos morangos após 192h



Fonte: Própria autora (2021).

As frutas apresentaram uma percentagem de perda de massa diferenciada em cada caso. Os morangos revestidos com celulose bacteriana e pectina apresentaram perda de massa de 61%, enquanto os morangos revestidos de celulose bacteriana, pectina e óleo de coco apresentaram uma perda de massa diferenciada dos demais na medida de 39%. Os morangos controle apresentaram perda de massa de 67%. A perda de massa dos morangos está apresentada na Tabela 8.

A esse respeito, Treviño-Garza *et al.* (2015) relatam que a perda de peso acontece devido ao fator de transferência de umidade, oxidação e processos respiratórios. Vargas *et al.* (2006) pontuam que os revestimentos aplicados nos morangos sob armazenamento refrigerado promoveram proteção às frutas avaliadas em seu estudo, melhorando a resistência à transmissão do vapor de água, sendo esses aspectos mais intensos com revestimentos com ácido oleico em sua

composição. Velickova *et al.* (2013) dissertam que a incorporação de cera de abelha em seus revestimentos para morango à base de quitosana reteve cor e reduziu significativamente a taxa respiratória e perda de peso da fruta, assim como neste estudo.

Tabela 8 – Perda de massa gradativa dos morangos em 8 dias

REVESTIMENTOS	MÉDIA PESO INICIAL	MÉDIA PESO FINAL	PERDA DE PESO
CB + PEC	16,0	6,2	61%
CB + PEC + ÓLEO COCO	20,7	12,6	39%
SEM REVESTIMENTO	19,7	6,6	67%

Fonte: Própria autora (2021).

6 CONCLUSÃO

Nos testes efetuados, chegou-se à conclusão de que a realização do cultivo de celulose bacteriana em condição estática ou até em baixa rotação promoveu a melhor produção de celulose bacteriana, utilizando a bactéria *Komagataeibacter hansenii*.

Além disso, em termos de produção de celulose bacteriana, é possível constatar que a substituição da glicose do meio HS por caldo de cana-de-açúcar ou suco de laranja se mostrou bem promissora e que o acréscimo de etanol ao meio padrão foi favorável.

Um importante fato a comentar em relação à utilização ao caldo de cana-de-açúcar e do suco de laranja é o baixo custo desses substratos. Com isso, foi possível elaborar meios de cultivos de baixo custo e, desse modo, viabilizar a produção de celulose bacteriana.

O presente estudo deu ainda continuidade à análise após os resultados de sintetização da celulose bacteriana com a formulação e elaboração de um biomaterial, utilizando as membranas celulósicas obtidas no bioprocesso. Com isso, foi alcançado um revestimento bioplástico de alto valor agregado e baixo custo, que apresentou grande potencial de aplicabilidade em morangos que proporcionou a manutenção das características pós-cultivo da fruta, mantendo a firmeza, controle de rubor precoce e proliferação fúngica, evitando alterações degradantes sem a presença de refrigeração.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Como perspectiva futura, sugere-se avaliar o uso do suco de laranja e do caldo de cana separadamente ou até o uso de outros compostos de baixo custo que possam ser utilizados, dentre outros, como fonte de nitrogênio na prospecção de celulose bacteriana.
- Analisar a quantidade necessária de blenda polimérica para revestir uma determinada quantidade de morangos, avaliar por microscopia eletrônica de varredura o revestimento aplicado na fruta e avaliar a espessura do revestimento após a aplicação.
- Caracterizar o morango com parâmetros laboratoriais de sólidos solúveis finais, colorimetria e firmeza, análise de vitamina C, microbiológica além de realizar estatísticas de aceitação da fruta levando-se em consideração o aspecto visual e avaliação de possíveis mudanças no sabor na fruta devido ao uso de revestimento.

8 REFERÊNCIAS

ABISA. **Cotações 2021**. Disponível em: <https://abisa.com.br/cotacoes/cotacoes-2021>. Acesso em: 13/09/2021.

AHMAD, M. *et al.* Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Technology**, v. 28, p. 189-199, 2012.

ALABAN, C. A. Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. **Philippine Agriculturist**, Laguna, v. 45, p. 490-516, 1962.

ALBA, K. *et al.* Pectin Conformation in Solution. **The journal of physical chemistry**, v.122, n. 29, p. 7286-7294, 26 Jul. 2018.

ALBUQUERQUE, R. M. B. **Desenvolvimento de uma blenda biodegradável à base de celulose bacteriana (CB) e polihidro-butirato (PHB) para a aplicação como embalagem ativa para alimentos**. 2019. 129 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) – Universidade Católica de Pernambuco, 2019.

ALMEIDA, D. M. **Biofilme de blenda de fécula de batata e celulose bacteriana conservação de fruta minimamente processada**. 2010. 283 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

ALMEIDA, D. M. *et al.* Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros**, v. 23, n. 4, p. 538-546, 2013.

AMAL, S. H. A. *et al.* Improving strawberry fruit storability by edible coating as a carrier of thimol or calcium chloride. **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**, v. 2, n. 3, p. 88-97, 2010.

AMARANTE, C.; BANKS, N. H. Postharvest physiology and quality of coated fruits and vegetables. **J. Horticultural Reviews**, v. 26, p. 161-238, 2001.

ANDRADE, F. K. *et al.* Bacterial Cellulose: Properties, Production and Applications. In: LEJEUNE, A.; DEPREZ, T. (Eds.). **Cellulose: structure and properties, derivatives and industrial uses**. New York: Nova Science Publishers, 2010. p. 427-458.

ANJU, P. V. *et al.* In situ synthesized hydro-lipophilic nano and micro fibrous bacterial cellulose: polystyrene composites for tissue scaffolds. **Journal of Materials Science**, v. 55, 5247–5256, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10853-020-04344-9>.

ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S.; REISSER JUNIOR, C. Morango: crescimento constante em área e produção. **Anuário Campo & Negócios HF**, v. 37, p. 88-92, 2020.

ARAÚJO, G. S.; CARVALHO, R. H. R.; SOUSA, E. M. B. D. Produção de Biodiesel a partir de óleo de coco (*Cocos nucifera* L.). **International Workshop | Advances in Cleaner Production**, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

ASSIS, O.B. G, BRITTO, D. Review: edible protective coatings for fruits: fundamentals and applications. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

ÁVILA, J. M. M. *et al.* Influência do sistema de produção e do armazenamento refrigerado nas características físico-químicas e no desenvolvimento de compostos voláteis em morangos. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 42, n.12, dez. / 2012.

BARUD, H. D. S. **Preparo e caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana**. 2006. 114 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2006.

BARROS-ALEXANDRINO, T. T.; MARTELLI-TOSI, M.; ASSIS, O. B. G. Efeito da adição de pectina nas propriedades mecânicas e de permeação ao vapor de água de filmes a base de purê de mamão. **IX Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio**, Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos/SP, 2017.

BERTAN, L. C. *et al.* Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 73-82, 2005.

BIERHALZ, A. C. K. Caracterização de Biofilmes de Pectina Reticulados com Íons Cálcio: Efeito da Concentração de Plastificante. *In: Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros*. Foz do Iguaçu-PR, out. / 2009.

BODIN, A. *et al.* Bacterial Cellulose as Biomaterial. *In: PAUL, D. (ed.). Comprehensive Biomaterials*. Oxford: Elsevier, 2011. p. 405-410.

BOLDRIN, L. F. **Biossíntese, Aplicabilidade e Recentes avanços no estudo de celulose bacteriana**. 2015. (Trabalho de Conclusão de Curso de Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena Departamento de Biotecnologia, Lorena, 2015.

BRAINER, M. S. de E C. P.; XIMENES, L. F. Produção de coco - soerguimento das áreas tradicionais do Nordeste. **Caderno Setorial- ETENE**, v. 5, n. 127, p. 1-15, 2020.

BRANDÃO, E. M.; ANDRADE C.T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto Grau de metoxilação. **Polímeros**, v. 9, n. 3, p. 38-44, 1999.

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

CACICEDO, M. L. *et al.* Progress in Bacterial Cellulose Matrices for Biotechnological Applications. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 172–180, ago. 2016.

CACICEDO, M. L. *et al.* Chitosan-bacterial cellulose patch of ciprofloxacin for wound dressing: Preparation and characterization studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 147, p. 1136-1145, 15 mar. / 2020.

ÇAKAR, F. *et al.* Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 7-13, 2014.

CANTERI, M. H. G. *et al.* Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p.149-157, 2012.

CANTILLANO, R. F. F; SILVA, M. M. **Manuseio pós-colheita de morangos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2010. 36 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 318).

CANTILLANO, R. F. F. 2005. **Colheita e pós-colheita**. In; PEREIRA DP; BANDEIRA DL; QUINCOZES ERF (ed). Sistema de produção do morango. Pelotas. Embrapa Clima Temperado. (Sistema de Produção,5). Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistema_sdeproducao6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=4201&p_r_p_-996514994_topicId=1316. Acesso em: 02/08/2021.

CARNEIRO, M. J. M. **Produção e caracterização de celulose bacteriana obtida a partir do suco de caju**. 2015. 49 f. Monografia (Graduação em Química) – Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2015.

CARREIRA, P. *et al.* Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. **Bioresource Technology**, v. 102, n.15, p. 7354-7360, 2011.

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

CEPEA. **Etanol**. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Departamento de economia, Administração e Sociologia, ESALQ- Escola de Agricultura Luiz Queiroz USP – Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/etanol.aspx>. Acesso em: 07 set. 2020.

CIDREIRA VIERIA, J. S. *et al.* Processamento de óleo com baixo valor agregado para a obtenção de biodiesel por rota metílica. *In: 59º Congresso Brasileiro de Química*, João Pessoa /PB, 2019.

CHEN, H. *et al.* Preparation, characterization, and properties of chitosan films with cinnamaldehyde nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 662-671, 2016.

CHEN, J. *et al.* Pectin Modifications: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 55, n. 12, p. 1684-1698, 2015. doi:10.1080/10408398.2012.718722.

CLEENWERCK I, De VOS P. Polyphasic taxonomy of acetic bacteria: An overview of the currently applied methodology. **International journal of food microbiology**, v. 125, n. 1, p. 2-14, 2008.

COELHO, T. **Brasil é o 4º maior produtor de lixo plástico do mundo e recicla apenas 1%**. Disponível em: <https://g1.globo.com/natureza/noticia/2019/03/04/brasil-e-o-4o-maior-produtor-de-lixo-plastico-do-mundo-e-recicla-apenas-1.shtml>. Acesso em: 21 out. /2020.

COIMBRA, C. G. O. **Produção de celulose bacteriana por *Gluconacetobacter xylinus* e elaboração de filmes comestíveis**. 2016. 137 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Recife, 2016.

CORDEIRO, N. F. **Obtenção e Caracterização de Películas biodegradáveis de amido de mandioca incorporados com celulose bacteriana**. 2015. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Alimentos, Campo Mourão, 2015.

CUENCA, M. A. G. A cultura do coqueiro. **Embrapa Tabuleiros Costeiros Sistemas de Produção**, 1, 2ª ed., Ago/ 2016.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings. - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.

DIAS, A.B. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/ SC, 2008.

DONINI, I. A. N. *et al.* Biosynthesis and recent advances in production of bacterial cellulose. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 165-178, 2010.

DUARTE, E. B. *et al.* **Celulose bacteriana propriedades, meios fermentativos e aplicações**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2019. 35 p.

ESPITIA, P. J. P. *et al.* Physical and antimicrobial properties of açai edible films formulated with thyme essential oil and apple skin polyphenols. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 903-910, 2014.

EUROPEAN BIOPLASTICS. **Environmental benefits of bioplastics**. Berlin, 2020. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/environment/>. Acesso em: 22 out. 2020.

FABJOLA, B. *et al.* **A sustainable bioplastic obtained from rice straw**. **Journal of Cleaner Production**, v. 200, p.357-368, 2018.

FAN, Y. *et al.* Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria × ananassa*) preservation quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 53, p. 84-90, 2009.

FAO. **FAO: 30% de toda a comida produzida no mundo vai parar no lixo**.

Disponível em:

<https://nacoesunidas.org/fao-30-de-toda-a-comida-produzida-no-mundo-vai-parar-no-lixo/> Acesso em: 16 ago. 2020.

FAO. **Desperdício de alimento**. Disponível em:

https://www.abras.com.br/pdf/Apresent_FAO.pdf. Acesso em: 15 jun. 2020.

FAO. **FAO: redução de perdas e desperdícios alimentares é essencial para alcançar metas globais**. Disponível em:

<https://news.un.org/pt/story/2019/10/1690841>. Acesso em: 16 ago. 2020.

FLEMMING, H.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623-633, 2010.

FRIDOVICH, K. **Bioplastic**. Encyclopaedia Britannica: Inc., 2020.

GALINDO, Marcella Vitoria. **Filmes biodegradáveis de gelatina e quitosana com adição de óleos essenciais na conservação de presunto embalado a vácuo**.

2017. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Londrina, 2017.

GARCIA, M. A. *et al.* Characterization of composite hydrocolloid films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 3, p. 339-345, 2004.

GARRITY, G. M. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2.ed. United States of America: Springer, 2005, v. 2.

GEBHARDT, SE.; THOMAS, R. G. **Nutritive Value of Foods**. Department of Agriculture (USDA). Home and garden Bulletin. Number 72, 2002.

GNANASAMBANDAM, R.; PROCTOR, A. Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 327-332, 2000.

GONTARD, N. *et al.* Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **Food Science technology**, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x>.

GUAN, Y. L. *et al.* Study of phase behavior on chitosan/viscose rayon blend film. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 67, p.1965-1972, 1998.

GUERRERO, P. *et al.* Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **J. Food Eng.**, 100, 145–151, 2010.

GUHADOS, G.; WAN, W.; HUTTER, J. L. Measurement of the elastic modulus of single bacterial cellulose fibers using atomic force microscopy. **Langmuir**, v. 21, n. 14, p. 6642-6646, 2005.

GUOHUI, L. *et al.* Biossensor à base de eletrodo bacteriano de nanopartículas de celulose - Au modificado com lacase para detecção de hidroquinona. **Colloids and Surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects**, Qufu, v. 509, p.408- 414, nov. / 2016.

GUPTA, A. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles using curcumin-cyclodextrins Loaded into bacterial cellulose-based Hydrogels for Wound Dressing Applications. **Biomacromolecules**, v. 21, n. 5, p. 1802-1811, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01724>.

HAERTEL, A. O. S. **Compostos bioativos e características físico-química de morangos cv. Camarosa minimamente processados submetidos a revestimentos à base de gelatina, xantana e óleo de canola**. 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

HEINZE, T. *et al.* **Cellulose Derivatives: Synthesis, Structure, and Properties**. Springer Nature, 2018. 564 p. ISBN: 978-3-319-89236-8.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochem J**, v. 58, n. 2, p. 345-352, out. /1984.

HU, S-Q. *et al.* Structure of bacterial cellulose synthase subunit D octamer with four inner passageways. **PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 42, p.17957-61, out. / 2010.

HUANG, C. *et al.* Using wastewater after lipid fermentation as substrate for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p.198-202, 2016.

HUNGUNG, B. *et al.* Production of Bacterial Cellulose from *Gluconacetobacter persimmonis* GH-2 using Dual and Cheaper Carbon Sources. **J Microb Biochem Technol**, v. 5, p. 31-33, 2013.

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

ISLAM, M. U. *et al.* Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 1166-1173, 2017.

JAHAN, F.; KUMAR, V.; SAXENA, R.K. Distillery effluent as a potential medium for the production of bacterial cellulose: a biopolymer of great commercial importance. **Bioresource technology**, v. 250, p. 922-926, fev. / 2018.

JAYANI, R.S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2931-2944, 2005.

JONES, F. **A promessa dos bioplásticos**. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/a-promessa-dos-bioplasticos>. Acesso em: 21 out. 2020.

JOZALA, A. F. *et al.* Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* by employing alternative culture media. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 13, p. 1181, 2015.

KAMNEV, A. A. *et al.* Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. **Food hydrocolloids**, v. 12, n. 13, p. 263-271, 1998.

KAYSERRILIOGLU, B. S.; BAKIR, U.; YILMAZ, L.; AKKAS, N. Drying temperature and relative humidity effects on wheat gluten film properties. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p.964-968, 2003.

KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food technology**, v. 40, p. 47-59, 1986.

KIM, Y. J. *et al.* Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter* sp. PKY5 in a rotary biofilm contactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v.137, n. 1, p. 529, 2007.

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

KORNMANN, H. *et al.* Influence of nutritional factors on the nature, yield, and composition of exopolysaccharides produced by *gluconacetobacter xylinus* I-2281. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 10, 2003.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 61-74, 1997.

LEE, K. Y. *et al.* More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 14, n. 1, p. 10-32, 2014.

LEITE, B. S. F. *et al.* Revestimento comestível à base de goma de xantana, compostos lipofílicos e /ou cloreto de cálcio na conservação de morangos. **Rev. Bras. Frutic**, Jaboticabal, v. 37, n. 4, 2015.

LIN, D. *et al.* Bacterial cellulose in food industry: Current research and future prospects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p.1007-1019, 01 set. / 2020.

LIN, D. *et al.* Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. **Bioresource Technology**, v. 151, p.113-119, 2014.

LUO, M. T. *et al.* Efficient Using Durian Shell Hydrolysate as Low-Cost Substrate for Bacterial Cellulose Production by *Gluconacetobacter xylinus*. **Indian Journal of Microbiology**, v. 57, n. 4, p.393-399, 2017.

LUYU, Y. *et al.* Three-dimensional bacterial cellulose /polydopamine/TiO₂ nanocomposite membrane with enhanced adsorption and photocatalytic degradation for dyes under ultraviolet-visible irradiation. **Journal of Colloid and Interface Science**: Elsevier, v. 562, p. 21-28, 2020.

MA, L. *et al.* Freestanding conductive film based on polypyrrole/bacterial cellulose/graphene paper for flexible supercapacitor: large areal mass exhibits excellent areal capacitance. **Electrochimica Acta**, v. 222, p. 429-437, 2016.

MADALOZZO, E. S. *et al.* **Obtenção de cepas de *Acetobacter xylinum* a partir da folha de capim-limão in natura**. Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: agroindústria, energia e meio ambiente - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Ponta Grossa, Paraná, v. 2, n. 12, 2008.

MAFTOONAZAD, N.; RAMASWAMY, H. S. Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. **Food Sci. Technol-Leb**, v. 38, p. 617- 624, 2005.

MAGALHÃES, L. **Celulose**. Disponível em:
<https://www.todamateria.com.br/celulose/>. Acesso em: 04 dez. 2020.

MARESTONI, L. D. *et al.* Commercial and potential applications of bacterial cellulose in Brazil: ten years review. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 30, n. 4, 2020.

MARINA, A. M. *et al.* Chemical Properties of Virgin Coconut Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, p. 301-307, 2009.

MANRIQUE, G.D.; LAJOLO, F.M. FT-IR Spectroscopy as a Tool for Measuring Degree of Methyl Esterification in Pectins Isolated from Ripening Papaya Fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 25, p. 99-107, 2002.

MARTINS, I. M. G. *et al.* New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose. **Composites Science and Technology**, v. 69, p. 2163-2168, 2009.

MCLELLAN, J. *et al.* Keratin-Based Biofilms, Hydrogels, and Biofibers. *In*: SHARMA S.; KUMAR A. (eds) **Keratin as a Protein Biopolymer**. Springer Series on Polymer and Composite Materials. Springer: Cham, 2019.

MORAES, A. R. F. *et al.* **Ciência e tecnologia de alimentos: sustentabilidade, desafio e inovação**. Rio Paranaíba: Campus Rio Paranaíba, 2017. 404 p.

MOREIRA, P. C. *et al.* Pectina: um carboidrato complexo e suas aplicações. **Revista EVS – Revista de Ciências Ambientais e Saúde**. Goiânia, v. 35, n. 3, p. 343-355, 2008.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C., Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.

NOTÍCIAS AGRÍCOLAS. **Cotações da laranja**. Acesso disponível em <https://www.noticiasagricolas.com.br/cotacoes/laranja>. Acesso em: 07 set. 2020.

OLIVEIRA, N. R. B. **Caracterização de um compósito polimérico biodegradável utilizando poli (ε - caprolactona) e borra de café**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas/ SP, 2016.

OLIVEIRA, T. A. *et al.* Biofilmes de gelatina: Efeito da adição de surfactantes e ácidos graxos de óleo de coco na permeabilidade ao vapor de água. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 76-80, out-dez, 2012.

OLIVEIRA, G. M. **Nanocompósitos naturais de celulose bacteriana para medicina regenerativa**. 2016. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara/ SP, 2016.

ORTIZ, J. A. R. *et al.* Propriedades mecânicas de bioplásticos extrudados termoprensados de amido de milho e de mandioca. **VI Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio**, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2012.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**, v. 25, n. 4, p.497-507, 1995.

PELAYO-ZALDÍVAR, C.P.; EBELER, S.E.; KARDER, A. A. Cultivar and harvest date effects on flavor and other quality attributes of california strawberries. **Journal of Food Quality**, v. 28, n. 1, p.78-97, 2005.

PELISSARI, F. M. *et al.* Antimicrobial, mechanical and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, p. 7499-7504, 2009.

PENG, Y.; LI, Y. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, 36, p. 287-293, 2014.

PEREIRA, A. L. S. **Estudo é capaz de baratear produção de celulose bacteriana.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/44532141/estudo-e-capaz-de-baratear-producao-da-celulose-bacteriana>. Acesso em: 08 out. 2020.

PERRY, R. H.; GREEN, D. W.; MALONEY, J. O. **Perry's chemical engineers' handbook**. New York: McGraw-Hill, 1997.

PLAN INTERNATIONAL. **Conheça os dezessete objetivos de desenvolvimento sustentável.** Disponível em: <https://plan.org.br/conheca-os-17-objetivos-de-desenvolvimento-sustentavel/>. Acesso em: 12 set. 2020.

POLA, C. C. **Nanocompósitos biodegradáveis à base de amido de milho e poli(vinilálcool) como novos materiais para embalagens ativas antimicrobianas.** 2017. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/ MG, 2017.

RAMOS, B. A. **Efeito antioxidante e antibiofilme de extratos ricos em compostos fenólicos de folhas de *Anacardium humile* A. St.-HIL (*Anacardiaceae*).** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Recife, 2017.

READE, L. Bioplastic boom: whether bioplastics are made by a GMO, by conventional chemical processing of bio-derived raw materials--or even from milk or wheat bran--our appetite for them continues to grow. **Chemistry and Industry**, v. 82, n. 5, p.30-34, 2018.

RECOUVREUX, D. O. S. **Produção de Celulose Bacteriana: Identificação do Operon bcs e Produção de Biofilme Celulósico por *Chromobacterium violaceum*.** 2004. 124 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/ SC, 2004.

REUTERS. **Cargill opens new Brazil pectin factory, first outside Europe.** Disponível em: <<https://www.reuters.com/business/cargill-opens-new-brazil-pectin-factory-first-outside-europe-2021-09-03/>>. Acesso em: 13/08/2021.

RICCHINI, R. **O que é o plástico biodegradável.** 2013. Disponível em: <https://www.setorreciclagem.com.br/materiais-biodegradaveis/o-que-e-plastico-biodegradavel/>. Acesso em: 04 dez. 2020.

RODRIGUE, J-P.; NOTTEBOOM, T. The cold chain and its logistic. *In*: RODRIGUE, J-P.; COMTOIS, C.; SLACK, B. **The geography of transport systems**. 2nd. ed. New York: Routledge, 2009, p. 297.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Microbiological Review**, v. 55, n. 1, p.35-58, 1991.

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, n. 3, p. 3630–3645, 2013.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. *et al.* **Embalagens Plásticas Flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

SASAKI, J.; MACRI, R. C. V. Melhoria mecânica em bioplástico biodegradável a partir de compostos naturais. **Ciência & Tecnologia**: Fatec-JB, Jaboticabal, v. 11, p. 256-260, 2019.

SAXENA, I. M.; BROWN JUNIOR., R. M. Biosynthesis of bacterial cellulose. *In*: GAMA, M.; GATENHOLM, P.; KLEMM, D. (Ed.). **Bacterial nanocellulose: a sophisticated multifunctional material**. Florida: CRC, 2012, p. 1-18.

SCHLEMMER, D.; SALES, M. J. A.; RESCK, I. S. Preparation, characterization and degradation of PS/TPS blends Using glycerol and buriti oil as plastiscizers. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 6-20, 2009.

SCHMIDT, F. L. *et al.* **Pré-processamento de frutas, hortaliças, café, cacau e cana-de-açúcar**. Elsevier Brasil, 2016, p. 1-3.

SEMJONOV, P. *et al.* Cellulose synthesis by *Komagataeibacter rhaeticus* strain P 1463 isolated from Kombucha. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 101, p.1003-1012, 2017.

SINGHSA, P.; NARAIN, R.; & MANUSPIYA, H. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. **Cellulose**, v. 25, n. 3, p. 1571-1581, 2018.

SILVA, M. L. T.; BRINQUES, G. B.; GURAK, P.D. Desenvolvimento e caracterização de bioplásticos de amido de milho contendo farinha de subproduto de broto. **Braz. Journal of Food Technology**, Campinas, v. 23, e2018326, 2020. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.32618>.

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

SILVA, S. V. **Nanocompósitos de pectina reforçados com nanocristais de celulose para a utilização como revestimento para morangos**. 2015.169 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/ MG, 2015.

SILVEIRA, F. C. A. *et al.* Tratamento do tímpano perfurado com enxerto de celulose bacteriana: ensaio clínico controlado e randomizado. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, São Paulo, v. 82, n. 2, p. 203-208, 2016.

SKIBA, E. A. *et al.* A technology for pilot production of bacterial cellulose. **Chemical Engineering Journal**, v. 383, 01 mar. / 2020. Doi: 10.1016/j.cej.2019.123128.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J. H (Ed.). **Innovations in Food Packaging**. Elsevier, 2005.

SOUZA, S. S.; CASTRO, J. V.; PORTO, L. M. Modeling the core metabolism of *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 to evaluate nanocellulose biosynthesis. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, Santa Catarina, v.35, n.3, p. 869-886, 2018.

SPINOSA, W. A. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre**. 2002. 243 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas/ SP, 2002.

SRIAMORNSAK, P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A Review. **Silpakorn University International Journal**, v. 3, p.206-228, 2003.

SRIAMORNSAK, P.; Kennedy, R. A. Swelling and diffusion studies of calcium polysaccharide gels intended for film coating. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 358, p. 205-213, 2008.

SWINGS, J. **The genera Acetobacter and Gluconobacter**. The Prokaryotes. New York: Springer Verlag, 1992, p. 2268-2286.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 199–208, 2005.

TREVIÑO-GARZA, M. Z *et al.* Edible Active Coatings Based on Pectin, Pullulan, and Chitosan Increase Quality and Shelf Life of Strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Food Science**, v. 80, n. 8, p. 1823-1830, 2015.

TSANG, Y. F. *et al.* Production of bioplastic through food waste valorization. **Environment International**, v. 127, p.625-644, Jun./ 2019.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinolytic Enzymes: Industrial Applications And Future Perspectives. **Química Nova**. São Paulo, v. 30, n.2, p. 388-394, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200028>. Acesso: 07 jul. 2020.

VARGAS, M. *et al.* Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. **Postharvest Biol Technol**, v. 41, p. 164-171, 2006.

VELICKOVA, E. *et al.* Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. **Food science & technology**, v. 52, n. 2, p.80-92, 2013.

VU, K. D. *et al.* Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. **Food Research International**, Toronto, v. 44, n.1, p. 198-203, 2011.

WANG, J.; TAVAKOL, J.; & TANG, Y. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, p. 63-76, 2019.

WOEHL, M. A. *et al.* Bionanocomposites of thermoplastic starch reinforced with bacterial cellulose nanofibres: Effect of enzymatic treatment on mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 866–873, 2010.

WILLARD, B. **The sustainability advantage: seven business case benefits of a triple bottom line**. Canadá: New Society Publishers, 2002.

XIAO-HONG, H. *et al* Alkylated pectin hydrogels as potential protein drug carriers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 39, 15 out./ 2017.

YAMADA, Y. *et al.* Subdivision of the genus *Gluconacetobacter* Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998: the proposal of *Komagatabacter* gen. nov., for strains accommodated to the *Gluconacetobacter xylinus* group in the α -Proteobacteria. **Annals of Microbiology**, Milan, v. 62, p. 849-859, 2012.

YANG, Y. K. *et al.* Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* BRC5 under Agitated Condition. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 85, n. 3, p. 312-317, 1998.

YU, S. *et al.* Hierarchical porous carbons from polysaccharides carboxymethyl cellulose, bacterial cellulose, and citric acid for supercapacitor. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, 2020.

ZACTITI, E. M.; KIECKBUSCH, T. G. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 462-467, 2006.

ZENG, X. B. *et al.* Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose. **Ind. Microbiol. Biotechnol**, v. 38, p.1993-1999, 2011.

ZIANI, K. *et al.* Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of de acetylation. **LWT. Food Science and Technology**, v. 41, p. 2159-2165, 2008.