

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PLANEJAMENTO E USO DE
RECURSOS RENOVÁVEIS

Thais Lara Mezzelani

Preparo de filme repelente biodegradável a partir de nanocelulose obtida do resíduo biológico da Kombucha, amido e óleo essencial de citronela

Sorocaba - SP
2024

Thais Lara Mezzelani

Preparo de filme repelente biodegradável a partir de nanocelulose obtida do resíduo biológico da Kombucha, amido e óleo essencial de citronela

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar – Campus Sorocaba/SP, para obtenção do título de mestre em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis.

Orientador: Prof. Dr. Vagner Roberto Botaro

Coorientador: Dr. Vitor Hugo de Lima

Sorocaba-SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Mezzelani, Thais Lara

Preparo de filme repelente biodegradável a partir de nanocelulose obtida do resíduo biológico da Kombucha, amido e óleo essencial de citronela / Thais Lara Mezzelani – 2024.
77f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Prof. Dr. Vagner Roberto Botaro
Banca Examinadora: Dra. Joice Jaqueline Kaschuk, Dra. Elisa Silva Ferreira
Bibliografia

1. Filme biodegradável. 2. Kombucha. 3. Celulose bacteriana. I. Mezzelani, Thais Lara. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Thais Lara Mezzelani, realizada em 23/01/2024.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Vagner Roberto Botaro (UFSCar)

Profa. Dra. Joice Jaqueline Kaschuk (WUR)

Profa. Dra. Elisa Silva Ferreira (CNPEM)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis.

Dedico este trabalho à minha família e amigos: vocês foram propósito e meios.

AGRADECIMENTO

A todos que contribuíram para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho, presto minhas sinceras homenagens:

Aos meus pais, Valéria e Luiz, e à minha irmã Laura por todo incentivo, orientação, suporte ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Sem vocês eu não seria capaz.

Aos meus sogros, Marilda e Valmir, e à minha cunhada Mirella os quais sempre estiveram ao meu lado prestando qualquer ajuda, independente das dificuldades.

Ao meu marido Douglas e às minhas filhas Olivia e Melina pela paciência de todos os dias, os sorrisos incansáveis e por serem a motivação que eu precisava para concluir este trabalho. Vocês representam a base forte da minha dedicação e meu porto seguro pra todo o sempre.

Aos amigos Amanda, Milena, Gustavo, Giselle, Rafael, Laura, Junior, Carla e Max por estarem dispostos a ouvir e a me fazer rir sempre que precisei. Vocês foram essenciais.

As parceiras do dia a dia Kelly, Karoline, Daniela, Renata e Elaine. A nossa convivência me ensinou a ser mais forte e que sim, seria possível concluir este trabalho.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Vagner Roberto Botaro pela experiência e ensinamentos compartilhados que permitiram enxergar bem mais longe.

Ao meu Coorientador e amigo Dr. Vitor Hugo por ter tido a primeira conversa que levou a idealizar este projeto, o incentivo para começar e todos os momentos de ensinamento e de descontração proporcionados os quais foram essenciais para completar toda a jornada.

À Dra. Roberta Ranielle e à Dra. Jéssica Rodrigues pela participação e contribuição na banca de qualificação.

À UFSCar - Campus Sorocaba pela disposição de instalações, materiais e equipamentos. Ao Programa de Pós-graduação em Planejamento e Uso de Recursos Renováveis pela contribuição em minha formação acadêmica.

A todos os familiares, profissionais, colegas e instituições que de alguma forma contribuíram para realização de todas as etapas concluídas.

Muito obrigada

RESUMO

Diante de um cenário de crescente registro de casos prováveis de doenças transmitidas por insetos, repelentes alternativos têm sido buscados como forma de prevenção e, entre estes, encontram-se os adesivos repelentes por meio do óleo essencial de citronela. Esses adesivos são produzidos com material plástico não renovável e disponibilizados no mercado nacional através de importação. Considerando o exposto, objetivou-se preparar um filme repelente biodegradável a partir de uma fonte renovável como a celulose bacteriana obtida através da fermentação da Kombucha, somada ao amido e ao óleo essencial de citronela, conhecido por suas propriedades repelentes. Para tanto, uma membrana inicial foi obtida e então purificada para produção de celulose bacteriana e isolamento de nanofibras que foi posteriormente utilizada como agente estabilizante no preparo de uma emulsão contendo óleo de citronela. Filmes de amido de mandioca foram preparados a partir dessa emulsão com a finalidade de obter um material com atividade repelente. Estes filmes foram caracterizados quanto a sua morfologia através de técnicas de microscopia como MEV e AFM, sua estrutura via FTIR e DRX, propriedades térmicas e mecânicas via TGA e ensaio de tração uniaxial. Observou-se que o processo de purificação por meios alcalinos das fibras obtidas após a fermentação pode alterar sua composição química, de modo que o percentual de α -celulose pode atingir até 90% da composição das fibras. A cristalinidade também é diretamente afetada devido ao tratamento de purificação. As propriedades de biodegradação destes filmes sob avaliação num período atual de 17 semanas e evidenciaram, previamente, a influência do óleo de citronela na atividade microbiológica do solo, assim como, nas propriedades mecânicas dos filmes de acordo com o percentual de óleo de citronela utilizado na confecção de filmes que dispõem de amido de mandioca como matriz.

Palavras-chave: Filme biodegradável, Kombucha, repelente, citronela, nanocelulose.

ABSTRACT

Faced with a scenario of increasing records of probable cases of diseases transmitted by insects, alternative repellents have been sought as a form of prevention and, among these, are repellent patches using citronella essential oil as the repellent substance. These patches are produced with non-renewable plastic material and made available on the national market through imports. Considering the above, the objective was to prepare a biodegradable repellent film from a renewable source such as bacterial cellulose obtained through the fermentation of Kombucha, added to starch and citronella essential oil, known for its repellent properties. To this end, an initial membrane was obtained and then purified to produce bacterial cellulose and isolate nanofibers, which was later used as a stabilizing agent in the preparation of an emulsion containing citronella oil. Cassava starch films were prepared from this emulsion to obtain a material with repellent activity. These films were characterized in terms of their morphology using microscopy techniques such as SEM and AFM, their structure via FTIR and XRD, thermal and mechanical properties via TGA, and uniaxial tensile testing. It was observed that the process of purification by alkaline means of the fibers obtained after fermentation can change their chemical composition so that the percentage of α -cellulose can reach up to 90% of the fiber composition. Crystallinity is also directly affected due to the purification treatment. The biodegradation properties of these films are under evaluation over a current period of 17 weeks, and previous results have shown the influence of citronella oil on the microbiological activity of the soil, as well as on the mechanical properties of the films according to the percentage of citronella oil used. in the production of films that use cassava starch as a matrix.

Keywords: Biodegradable film, Kombucha, repellent, citronella, nanocellulose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ligação β -1,4-glicosídica entre moléculas de glicose

Figura 2 – Regiões cristalina e amorfa das microfibrilas

Figura 3 – Filme resistente e gelatinoso de celulose bacteriana

Figura 4 – Etapas da síntese da celulose bacteriana

Figura 5 – Interação simbiótica e produção de celulose

Figura 6 - Recipiente de vidro utilizado para fermentação da kombucha

Figura 7 – SCOBYs cedidos pelo produtor independente

Figura 8 - Ultrarrefinador Super Mass Colloider Masuko

Figura 9 - Aplicação do método de Segal no difratograma de amostras de FB e CB

Figura 10 - Preparo da emulsão, onda: (A) Solução estável após 24 horas, (B) Preparo com auxílio de Ultraturrax e (C) Emulsão após período de agitação

Figura 11 - Preparo da solução filmogênica, (A) Conjunto sob aquecimento e agitação, (B) Solução filmogênica finalizada, em temperatura ambiente

Figura 12 - Lâmina Doctor Blade, (A) Vista frontal; (B) Vista superior

Figura 13 - Deposição da solução filmogênica sobre o substrato. (A) Solução na lâmina para arraste, (B) Deposição da solução úmida, (C) Solução após deposição para secagem

Figura 14 - Ilustração do método respirométrico de Bartha

Figura 15 - Dimensões das amostras para biodegradação, (A) AM/Citronela, (B) Adesivo da marca “SAI MOSQUITO”, e (C) adesivo da marca ‘NO2PROBLEMS’

Figura 16 - Incubação dos filmes para biodegradação

Figura 17 – SCOBY produzido em recipiente retangular de vidro

Figura 18 - Espectros de FTIR para FB, CB e CBCNF

Figura 19 – Micrografias de FB e CB, onde: (A) FB 60x, (B) FB 300x, (C) FB 600x, (D) CB 60x, (E) CB 300x e (F) CB 600x

Figura 20 - Curvas TG e DTG para amostras de FB e CB.

Figura 21 - Difratogramas para amostras de FB e CB.

Figura 22 - Coleta de diâmetros de CNCNF, (A) 1 x 1 μ m, (B) e (C) 2 x 2 μ m.

Figura 23 – Curvas para ensaio mecânico Tensão x Deformação para os filmes AM, AM/CBCNF e AM/CBCNF/Citr.

Figura 24 – Processos de biodegradação em solo para os filmes de amido e adesivos repelentes comerciais.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características da celulose bacteriana comparada com a celulose vegetal

Tabela 2 - Massa dos filmes utilizados no processo de biodegradação em solo

Tabela 3 - Massa dos SCOBYS após fermentação e processo de secagem em estufa.

Tabela 4 - Valores obtidos para m_1 , m_2 , e %Celulose_{total}

Tabela 5 - Valores obtidos para m_1 , m_2 , e % α -celulose

Tabela 6 – Distribuição dos diâmetros e frequência de medidas para amostra de CB

Tabela 7 - Temperaturas e percentual de perda de massa para FB e CB

Tabela 8 - Índice de cristalinidade para FB, CB e CBCNF

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 CELULOSE	17
3.2 CELULOSE BACTERIANA	18
3.3 KOMBUCHA	22
3.4 FILMES DE AMIDO	23
3.6 ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA E ATIVIDADE REPELENTE	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 PRODUÇÃO DA KOMBUCHA PARA OBTENÇÃO DO SCOBY	26
4.2 PREPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS FIBRAS	28
4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	29
4.3.1 Teor de Material Celulósico	29
4.3.2 Teor de α-celulose	31
4.4 OBTENÇÃO DE NANOCELULOSE BACTERIANA (CBCNF)	31
4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	33
4.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	33
4.7 DIFRAÇÃO DE RAIO-X (DR-X)	33
4.8 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	34
4.9 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)	35
4.10 PREPARO DO FILME DE AMIDO REFORÇADO COM NANOCELULOSE E INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA	35
4.10.1 Emulsão de CBCNF e Óleo de Citronela	36
4.10.2 Solução Filmogênica de Amido de Mandioca	37
4.10.3 Preparo dos filmes via técnica de <i>Tape casting</i>	38
4.11 ENSAIO DE TRAÇÃO UNIAXIAL	39
4.12 BIODEGRADAÇÃO	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 CARACTERIZAÇÃO FB, CB E CBCNF	45
5.1.1 Rendimento do SCOBY Após Fermentação e Secagem	45
5.1.2 Purificação de FB e Obtenção de CB	46

5.1.3 Composição Química.....	46
5.1.3.1 Teor de Material Celulósico.....	46
5.1.3.2 Teor de α -celulose	47
5.1.4 Espectroscopia da Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	47
5.1.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	50
5.1.6 Análise Termogravimétrica	53
5.1.7 Difração de Raio-x (DR-X).....	55
5.1.8 Microscopia de Força Atômica (AFM)	58
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO FILME	59
5.2.1 Ensaio de Tração Uniaxial.....	59
5.2.2 Biodegradação	62
6 CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO

Estudos recentes destacam a economia circular como um modelo de manufatura que utiliza o reaproveitamento de resíduos para contribuição com benefícios biológicos e ambientais no processo produtivo. Por exemplo, a utilização de nanoestruturas de celulose, derivadas de resíduos agrícolas, em materiais de consumo no setor alimentício e aplicações relacionadas aos resíduos da produção de Kombucha (Coelho et al., 2020; Franco et al., 2019; Mu et al., 2019; Van Eygen et al., 2017).

A Kombucha é uma bebida fermentada com sabor levemente ácido e carbonatado (Leal et al., 2018), originária do Leste asiático, especificamente no nordeste da China na região da Manchúria por volta de 220 a.C. (Jayabalan et al., 2016), preparada a partir da fermentação de um chá adoçado, sendo comumente usados o chá preto ou verde (Coelho et al., 2020). O processo de fermentação ocorre através de uma colônia simbiótica de leveduras e bactérias em substrato de celulose formada como produto de reação formando então o SCOBY (cultura simbiótica de bactérias e leveduras) (Chakravorty et al., 2016; De Filippis et al., 2018).

O consumo da Kombucha tem aumentado nos últimos anos por suas propriedades benéficas à saúde e metabolismo humano como, por exemplo, atividade antioxidante (Dufresne and Farnworth, 2000; Jayabalan et al., 2014), propriedades antimicrobianas e até mesmo anticancerígenas (Battikh et al., 2012; Jayabalan et al., 2014; Srihari et al., 2013).

Por se tratar de uma bebida de fácil produção e derivada de atividade microbiológica, o Ministério da Agricultura e Pecuária regulamentou a produção de Kombucha a partir da Instrução Normativa nº 41, de 17 de dezembro de 2019.

O Brasil é o único país que possui legislação para Kombucha, onde foram definidos os padrões de identidade e qualidade para o produto, como por exemplo, classificação, rotulagem, parâmetros analíticos, ingredientes obrigatórios e opcionais e restrições quanto sua comercialização (Coelho et al., 2020).

Com o crescimento do consumo e consequentemente o aumento da produção da bebida, é inevitável que a cadeia de manufatura gere rejeitos e resíduos. Após seguidas produções ocorre queda de produtividade quanto a capacidade de síntese de celulose e geração de ácidos por meio das bactérias e a capacidade de fermentação das leveduras levando ao descarte do SCOBY (Jayabalan et al., 2014;

Leal et al., 2018).

A celulose bacteriana apresenta estrutura idêntica a celulose vegetal, entretanto com maior grau de pureza, polimerização, índice de cristalinidade e resistência mecânica, além de melhor adaptabilidade biológica como biocompatibilidade e biodegradabilidade (Coelho et al., 2020).

As características citadas acima reforçam o potencial da aplicabilidade da celulose bacteriana na área biomédica, podendo ser aplicada para tratamento de lesões cutâneas como queimaduras, tecidos cardiovasculares e estruturas de apoio resistentes além do uso nas áreas de alimentos, agricultura e eletrônica (Czaja et al., 2007; Navya et al., 2022).

Outro polímero de fonte natural amplamente estudado e uma das mais promissoras fontes de matéria-prima para novos materiais na transição da economia linear para a circular e bioeconomia é o amido. (Cui et al., 2022; Garlapati et al., 2020; Lauer and Smith, 2020; Van Eygen et al., 2017).

Investigações abordando diferentes aplicações utilizando filmes de amido descrevem esse material como um bioplástico emergente como alternativa aos plásticos convencionais devido à sua biodegradabilidade e compostabilidade (Bangar et al., 2021; Bangar and Whiteside, 2021; Cui et al., 2021). Porém, devido às suas limitações mecânicas, é necessária a combinação destes filmes com outros biopolímeros, como a celulose bacteriana por exemplo, resultando em filmes com maior resistência mecânica e baixo custo (Cazón and Vázquez, 2021).

Dentre as características dos polímeros naturais, como a celulose e o amido, a biocompatibilidade também é uma promissora via para a inclusão destes polímeros como matéria prima na produção de biomateriais, por exemplo, na confecção de curativos; próteses permanentes ou temporárias, parciais ou integrais; controle na entrega de medicação em tratamentos específicos, entre outras (Las-Casas et al., 2023).

Entretanto, as aplicações destinadas a estes polímeros na área médica em grande parte abordam o tratamento de doenças, lesões cutâneas e o encapsulamento de fármacos para entrega controlada, ou seja, atuando como agentes de remediação (Bakrudeen et al., 2016; Coltelli et al., 2022; Hussin et al., 2022; Thambiraj and Ravi Shankaran, 2017). Não sendo relatadas investigações que abordam o uso destes materiais para a confecção de ativos de prevenção a eventos que podem desencadear complicações sanitárias, como por exemplo, o

desencadeamento de doenças transmissíveis por insetos.

Ressalta-se que as doenças transmitidas por mosquitos como o *Aedes aegypti* são de grande importância em saúde pública no Brasil e, conforme o Boletim Epidemiológico nº45, do Ministério da Saúde, sobre a situação epidemiológica dos casos de arboviroses no Brasil para o ano de 2022, foram registrados 1.400.100 casos prováveis de dengue, 170.186 casos prováveis de Chikungunya e 9.256 casos prováveis Zica (Secretaria de Vigilância em Saúde and Coordenação-Geral de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis do Departamento de Análise Epidemiológica e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis (Cgdant/Daent/SVS), 2022).

Diante desse cenário, destaca-se a importância do uso de repelentes como ação contra as picadas de mosquito sendo o óleo essencial de citronela um dos repelentes naturais mais utilizados em produtos na indústria por conter componentes associados à ação repelente como o citronelol, citronelal e geraniol (Pardini et al., 2021).

Atualmente os produtos com atividade repelente comercializados são exclusivamente produzidos com material plástico não renovável, como os adesivos repelentes, e majoritariamente disponibilizados no mercado nacional através de importação (Mapossa et al., 2021; Revay et al., 2013).

Sendo assim, o preparo de um filme repelente, de fonte renovável e produção nacional é inovadora, atrativa economicamente e plausível de proteção de propriedade intelectual.

Para tanto, celulose bacteriana foi obtida a partir do resíduo biológico da Kombucha, através do processo de purificação e foram aplicadas técnicas de caracterização para determinar a sua composição química e morfológica. Além disso, a celulose bacteriana purificada foi aplicada como reforço em filme de amido para posterior incorporação de óleo essencial de citronela como agente repelente.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Preparo de um filme de amido reforçado com nanocelulose bacteriana com propriedades repelentes a insetos por meio da incorporação do óleo essencial de citronela.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter celulose bacteriana a partir do resíduo da Kombucha por meio do processo de purificação;
- Isolar as nanofibras por meio do cisalhamento mecânico;
- Preparar filme de amido reforçado com nanocelulose e incorporado com óleo essencial de citronela para atividade repelente;
- Caracterizar a celulose bacteriana quanto à sua composição química e morfologia;
- Caracterizar o filme preparado quanto às suas propriedades mecânicas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

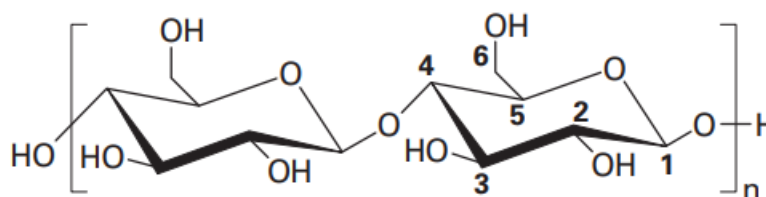
3.1 CELULOSE

A celulose consiste em um material insolúvel em água, resistente e fibroso. Dados da literatura demonstram que 50 bilhões de toneladas de celulose são produzidas por ano, em média, pela natureza, caracterizando esse biopolímero como o polímero natural mais abundante na natureza (Chrisandina et al., 2019; Las-Casas et al., 2023; Trifol and Moriana, 2022). É um polissacarídeo linear, com unidade de repetição composta de duas moléculas de glicose (β -D-glicopiranoose) ligadas pelos carbonos 1 e 4, de cada molécula, resultando em uma cadeia β -1,4-glicosídicas, sua estrutura regular (Dufresne, 2012).

A síntese da celulose pode ocorrer por plantas, bactérias, fungos, algas e urochordata (tunicados), em diferentes proporções, sendo a madeira a fonte natural de celulose mais explorada comercialmente em atendimento, primariamente, às demandas da indústria de papel. Há também uma grande variedade de plantas que sintetizam celulose com destaque para o algodão, sisal, rami, juta e linho por possuírem em sua composição alto percentual desse polímero (de Goes, 2020; de Lima, 2016; Lima et al., 2015; Younesi et al., 2019).

Para a biossíntese de cadeias de celulose é necessário que haja a formação de uma unidade de repetição denominada celobiose e sua polimerização. Esse processo ocorre a partir da ligação β -1,4-glicosídica, como apresentada na Figura 1, sendo resultado da ligação dos carbonos 1 e 4 de duas moléculas distintas de glicose (de Lima, 2016; Dufresne, 2012).

Figura 1 – Ligação β -1,4-glicosídica entre moléculas de glicose.

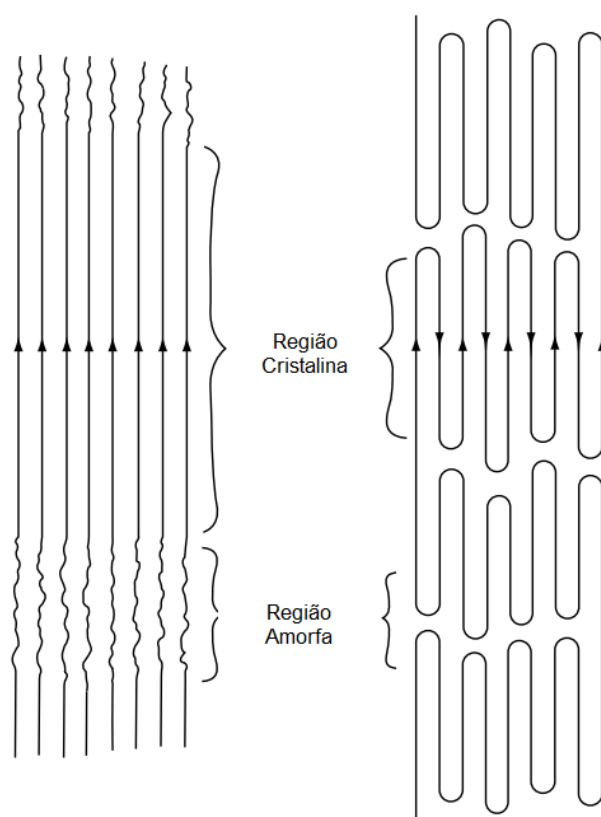


Fonte: Dufresne, 2012.

A presença de grupos hidroxila na celobiose e o oxigênio de moléculas adjacentes, através de ligações de hidrogênio, estabelecem lateralmente as microfibrilas. Essas ligações intramoleculares e intermoleculares, e forças do tipo Van der Waals estabilizam a estrutura molecular conferindo sustentação e resistência para as fibras contidas na parede celular (de Goes, 2020; de Lima, 2016; Mu et al., 2019).

As microfibrilas possuem regiões cristalinas, altamente ordenadas, que se alternam com regiões amorfas ou desordenadas, conforme demonstrado na Figura 2. As regiões amorfas são mais porosas que as regiões cristalinas e por esta característica ficam mais suscetíveis à penetração de água (de Lima, 2016; Holtzaple, 2003).

Figura 2 – Regiões cristalina e amorfa das microfibrilas



Fonte: Adaptado de Holtzaple, 2003.

3.2 CELULOSE BACTERIANA

A celulose microbiana ou celulose bacteriana foi isolada pela primeira vez em 1886 por Adrian Brown e pode ser considerada uma forma pura de celulose por não possuir em sua composição hemicelulose e lignina que estão presentes na celulose

obtida a partir de plantas e madeira (Navya et al., 2022; Raghavendran et al., 2020).

Brown evidenciou que espécies de bactéria do gênero *Komagataeibacter* (anterior gênero *Gluconacetobacter*), especificamente um gênero de bactérias aeróbias fermentadoras de ácido acético, poderiam produzir uma espécie de filme resistente e gelatinoso como mostra a Figura 3. Essas mesmas características foram observadas por produtores de vinagre os quais a denominaram como “planta do vinagre” por constituir a principal fonte de ácido acético (Cazón and Vázquez, 2021; de Goes, 2020; Navya et al., 2022).

Figura 3 – Filme resistente e gelatinoso de celulose bacteriana



Fonte: Adaptado de (Laavanya et al., 2021).

A síntese de celulose bacteriana a partir de bactérias gram-negativas em formato de bacilos e altamente resistentes em condições ácidas se dá principalmente por bactérias *G. xylinus*. Essas bactérias são as mais utilizadas para a produção de celulose bacteriana em escala industrial devido a sua habilidade em produzir esse biopolímero a partir do metabolismo de diversas fontes de açúcar e álcoois (de Goes, 2020; Donini et al., 2010).

Diversos gêneros de bactérias aeróbias não patogênicas são capazes de produzir celulose bacteriana, uma vez que a celulose bacteriana é excretada como

um exopolissacarídeo a partir da fermentação de açúcares fornecidos por sucos de frutas, resíduos agroindustriais (bagaços, sucos de frutas, melaço, etc), Kombucha (bebida fermentada a partir de chá), entre outros (Cazón and Vázquez, 2021; de Goes, 2020; Duarte et al., 2019; Wang et al., 2019).

A produção de celulose bacteriana pode ser dar a partir de condições estáticas e em agitação. No primeiro caso, a manta gelatinosa é formada, à princípio, por fitas que formam películas na interface ar/líquido e que ao longo do tempo se tornam mais grossas cobrindo a superfície livre do meio. Já no segundo caso, produção sob agitação, as nanofibras são formadas com morfologias distintas como em esferas, por exemplo, com massas irregulares ao invés de uma massa mais uniforme em comparação com o método estático (Cazón and Vázquez, 2021).

A bactéria *G. xylinus* é o microorganismo mais estudado em modelos de biossíntese de celulose bacteriana e o processo de síntese pode ser descrito, simplificadaamente, em três etapas que resultam na formação das nanofibras. A primeira etapa consiste na polimerização da glicose em cadeias 1-4-glucana (Donini et al., 2010; Wang et al., 2019). A segunda etapa está relacionada à secreção extracelular de cadeias lineares e a terceira está ligada à cristalização e organização dessas cadeias de glucanas através de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals conferindo uma disposição hierárquica em tiras (Donini et al., 2010; Wang et al., 2019).

Figura 4 – Etapas da síntese da celulose bacteriana



Fonte: Adaptado Pan et al., 2023.

As fontes disponíveis, concentração de carbono e de nitrogênio, o pH, a temperatura e o suprimento de oxigênio são aspectos que influenciam na produção efetiva de celulose bacteriana, bem como as propriedades da membrana, seja em cultura de células estática ou agitada, conforme citado anteriormente (Duarte et al.,

2019).

A manta gelatinosa de celulose bacteriana formada na superfície do caldo de fermentação de vinagre, conforme exemplo na Figura 3, descrita por Brown em 1886, possui a mesma fórmula química quando comparada à celulose vegetal, porém, é composta por uma rede de fibrilas em escala nanométrica com alto índice de cristalinidade, diferenciando-a significativamente da celulose vegetal (Cazón and Vázquez, 2021; Czaja et al., 2007; Wang et al., 2019).

Apesar da celulose vegetal ser a fonte de celulose mais amplamente utilizada, a celulose bacteriana apresenta características similares e até superiores que oferecem vantagem em suas aplicações como: a largura da fibra, exclusivamente em escala nanométrica; índice de cristalinidade, grau de polimerização, módulo de Young, resistência à tração e quantidade de água como podem ser observados na Tabela 1:

Tabela 1 – Características da celulose bacteriana	
Característica	Celulose Bacteriana
Largura da fibra (nm)	50 - 80
Cristalinidade (%)	84 - 89
Grau de polimerização	2.000 - 6.000
Módulo de Young (GPa)	15 - 138
Resistência à tração (MPa)	91 - 260
Quantidade de água (%)	98,5

Fonte: Adaptado de Duarte et al., 2019.

Essas características, tornam a celulose bacteriana foco de interesse como fonte de celulose, destacando-se também por excelentes propriedades mecânicas e à tração, biodegradabilidade e biocompatibilidade permitindo sua aplicação como reforço em materiais nas indústrias da área biomédica, de alimentos, agricultura e incorporação de substâncias bioativas (Fischer et al., 2017; Navya et al., 2022; Wang et al., 2019).

3.3 KOMBUCHA

O Kombucha é uma bebida, não alcoólica, fermentada, produzida mais comumente à base de chá preto ou chá verde, originária da China, região de Manchúria, muito consumida devido a seus supostos benefícios à saúde como desintoxicação e propriedades energizantes (Jayabalan et al., 2014; Laureys et al., 2020).

Recentemente, o consumo de Kombucha tem se tornado cada vez mais popular e, em decorrência desse aumento, o número de indústrias produtoras no Brasil também se mostra em crescimento. De acordo com a ABKOM – Associação Brasileira de Kombucha, em novembro de 2022 havia 132 indústrias registradas no MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), órgão responsável pela regulamentação desse setor no Brasil. Dessa forma, a membrana de Kombucha pode ser considerada uma fonte promissora de celulose bacteriana (de Goes, 2020).

Kombucha é geralmente preparado através da fermentação aeróbia de chá preto ou verde, com teor de 5% a 8% de sacarose, por um consórcio simbiótico de bactérias e leveduras denominada SCOBY – cultura simbiótica de bactérias e leveduras (Coelho et al., 2020; de Goes, 2020).

Os principais microrganismos presentes no Kombucha são bactérias acéticas e leveduras as quais realizam o processo de fermentação em um período compreendido entre 3 e 21 dias iniciando em um meio aeróbico com alto teor de sacarose e levemente ácido. Gradualmente, a oxigenação diminui devido ao crescimento de uma camada de biofilme microbiano composto por uma matriz de diversas camadas emaranhadas de nano e NANOFIBRAS de celulose bacteriana (de Goes, 2020; Laureys et al., 2020).

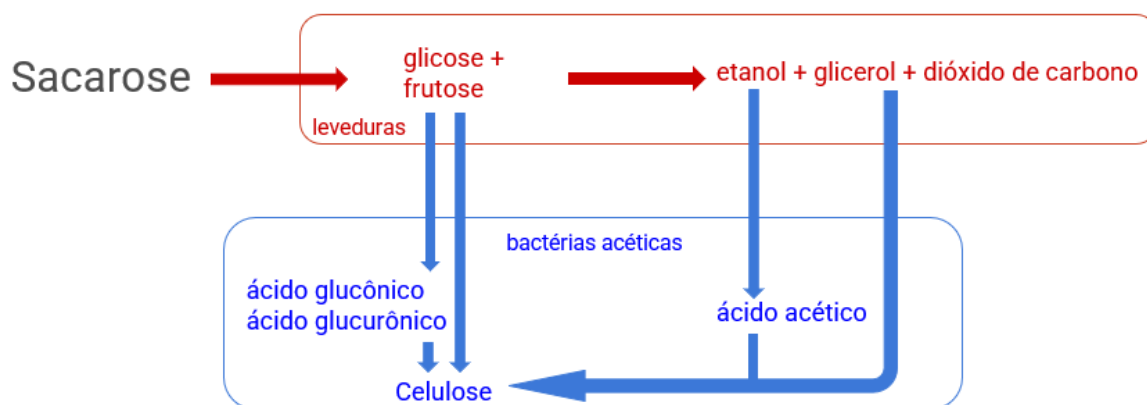
O contínuo crescimento da película de celulose na interface entre o ar e o líquido diminui o oxigênio disponível e consequentemente o pH, o que se caracteriza também como uma proteção contra microrganismos patogênicos, apesar de ter uma origem microbiana (Leal et al., 2018).

Sob as condições ácidas, as leveduras hidrolisam a sacarose em glicose e frutose estimulando a conversão destas em ácido glucônico e ácido glucurônico, pelas bactérias acéticas. Ao mesmo tempo as leveduras fermentam a glicose e frutose em etanol, dióxido de carbono e glicerol (Laureys et al., 2020). O etanol resultante desse

processo é utilizado pelas bactérias acéticas para a produção de ácido acético o que, em retorno, também estimula a produção de etanol pelas leveduras. Ao final do processo simbiótico, a concentração de etanol diminui e, conforme demonstra a Figura 5, essa característica estimula a produção de celulose pelas bactérias acéticas (Laureys et al., 2020).

A bebida obtida ao final do processo de fermentação possui uma variedade de componentes como vitaminas, minerais, polifenóis, antioxidantes e desintoxicantes e o benefício do seu consumo está associado à sinergia entre esses componentes e a saúde (Dima et al., 2017; Leal et al., 2018).

Figura 5 – Interação simbiótica e produção de celulose



Fonte: Adaptado de Laureys et al, 2020.

Ademais, é importante ressaltar a importância da purificação da celulose bacteriana obtida a partir do Kombucha, de forma a eliminar células bacterianas provenientes de leveduras, proteínas, peptídeos, oligossacarídeos e metabólitos para melhorar as características da celulose como produto final desse processo (de Goes, 2020).

3.4 FILMES DE AMIDO

Como já citado anteriormente, a crescente preocupação com o impacto dos resíduos gerados e descartados no meio ambiente têm levado a uma crescente busca por novos biopolímeros naturais biodegradáveis, incluindo plásticos a base de polissacarídeos (Bangar and Whiteside, 2021). Entre esses polímeros biodegradáveis

destaca-se o amido por suas características renováveis, de baixo custo, biodegradabilidade sem oferecer toxicidade e também características estéticas sendo sua aplicação possível em diversos ramos, principalmente na indústria de alimentos (Bangar and Whiteside, 2021; Cui et al., 2022)

O amido é considerado o principal biopolímero termoplástico utilizado em embalagens de alimentos sustentáveis, devido à sua disponibilidade, custo baixo e adequação para uso em contato com alimentos. Sua composição varia em relação às proporções de amilose e amilopectina, dependendo da planta de origem, tais como mandioca, milho, batata e arroz (Haq et al., 2019; Vianna et al., 2021).

O amido nativo pode ser transformado em termoplástico por meio do processo de gelatinização, que é realizado por meio da aplicação de temperatura e adição de plastificantes, sendo a água e o glicerol os mais comumente utilizados (Collazo-Bigliardi et al., 2018).

Os filmes de amido são um tipo de bioplástico promissor que tem atraído a atenção de pesquisadores e indústrias, devido à sua biodegradabilidade e compostabilidade e, portanto, a produção desses filmes tem sido intensamente estudada como alternativa aos plásticos convencionais (Bangar et al., 2021). No entanto, os filmes de amido apresentam algumas limitações em relação a suas propriedades, como baixa resistência mecânica e barreira limitada a gases e vapor de água. Para contornar esses problemas, diversas estratégias têm sido exploradas, como a adição de agentes de reforço e a utilização de diferentes fontes de amido (Bangar et al., 2021; Bangar and Whiteside, 2021; Fan and Picchioni, 2020).

Outra abordagem que já foi investigada é a combinação de amido com outros biopolímeros, como a celulose bacteriana. A combinação de amido e celulose bacteriana pode resultar em filmes com propriedades superiores em relação ao amido isolado, como maior resistência mecânica por exemplo (Cazón and Vázquez, 2021).

De modo geral, diversos trabalhos que exploram diferentes estratégias para melhorar as propriedades dos filmes de amido, como por exemplo a combinação com celulose bacteriana para atuar em propriedades mecânicas e também a incorporação de óleos essenciais com o objetivo de criar barreiras antimicrobianas ou antioxidantes com diversas aplicações (Bangar et al., 2021; Vianna et al., 2021).

3.6 ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA E ATIVIDADE REPELENTE

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos lipofílicos, pequenos e voláteis originadas do metabolismo secundário das plantas, geralmente concentrados nas folhas, frutos ou cascas (Carneiro, 2016; Kumoro et al., 2021). São naturais e biodegradáveis usados na indústria por muitos anos com aplicações antibacteriana, antiviral e repelente de mosquitos (Tariq et al., 2022).

O óleo essencial de citronela pode ser obtido a partir de várias espécies do gênero *Cymbopogon* sendo o citronelal, citrionelol e o geraniol, as substâncias presentes no óleo que possuem ação de repelência contra mosquitos (Kakaraparthi et al., 2014; Kumar et al., 2021).

A aplicação do óleo essencial de citronela como repelente para mosquitos é bastante estudada incluindo aplicações em géis e em tecidos através da incorporação do óleo em matrizes poliméricas, com testes de repelência que demonstram resultados que variam de 85% a 90% de repelência contra mosquitos (Kumar et al., 2021; Tariq et al., 2022).

As arboviroses como as doenças Dengue, Zika e Chikungunya são causadas por mosquitos da espécie *Aedes* e, especialmente a dengue tem se tornado um grande problema de saúde pública não só no Brasil, mas também no mundo, já sendo considerada endêmica por ter sido descrita em mais de 100 países (Gomes Fernandes et al., 2021; Pan American Health Organization; and World Health Organization;, 2023).

A dengue é uma doença viral, transmitida pela picada do mosquito fêmea infectado com um dos quatro sorotipos diferentes já identificados levando ao quadro de uma doença febril que afeta bebês, crianças e adultos sem haver um medicamento específico para tratar o quadro (Pan American Health Organization; and World Health Organization;, 2023). Humanos infectados, sintomáticos ou assintomáticos, são os principais multiplicadores desse vírus, pois podem transmitir a infecção por 4 a 5 dias, 12 dias no máximo, após o aparecimento dos sintomas e, junto ao fato de que o mosquito infectado é capaz de transmitir o vírus pelo resto da sua vida a melhor alternativa apontada para a contenção da doença é a prevenção. (Gomes Fernandes et al., 2021; Pan American Health Organization; and World Health Organization;, 2023).

As formas de prevenção incluem a vigilância com relação às formas de

possíveis de multiplicação dos mosquitos vetores e o uso de proteções individuais como uso de mangas compridas, telas em janelas e uso de materiais tratados com substâncias inseticidas (Pan American Health Organization; and World Health Organization;, 2023).

Os mosquitos geralmente são atraídos por odores eliminados pela pele dos humanos e o papel de um repelente é cancelar esses odores direcionando os mosquitos para uma direção oposta e como consequência, prevenir a picada (Gomes Fernandes et al., 2021).

Nesse sentido, os adesivos repelentes podem conferir uma alternativa mais segura e, de acordo com dois modelos comerciais, importados, adquiridos no Brasil *Sai Mosquito* e *NO2PROBLEMS*, o óleo essencial de citronela é o ativo com capacidade repelente e podem conferir de 8 a 12 horas de repelência, respectivamente, em um raio de até 50 cm, sendo o adesivo aplicado em superfícies próximas ao indivíduo que se deseja proteger, como no berço ou na roupa.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PRODUÇÃO DA KOMBUCHA PARA OBTENÇÃO DO SCOBY

Foram utilizadas para a produção da Kombucha folhas desidratadas de chá verde (*Camellia sinensis*) da marca Master Sabor, açúcar cristal (sacarose) da marca União, água filtrada e colônias de bactérias e leveduras (SCOBY) gentilmente cedidas por um produtor independente localizado na cidade de Sorocaba-SP, para iniciar o processo fermentativo e obtenção da celulose bacteriana.

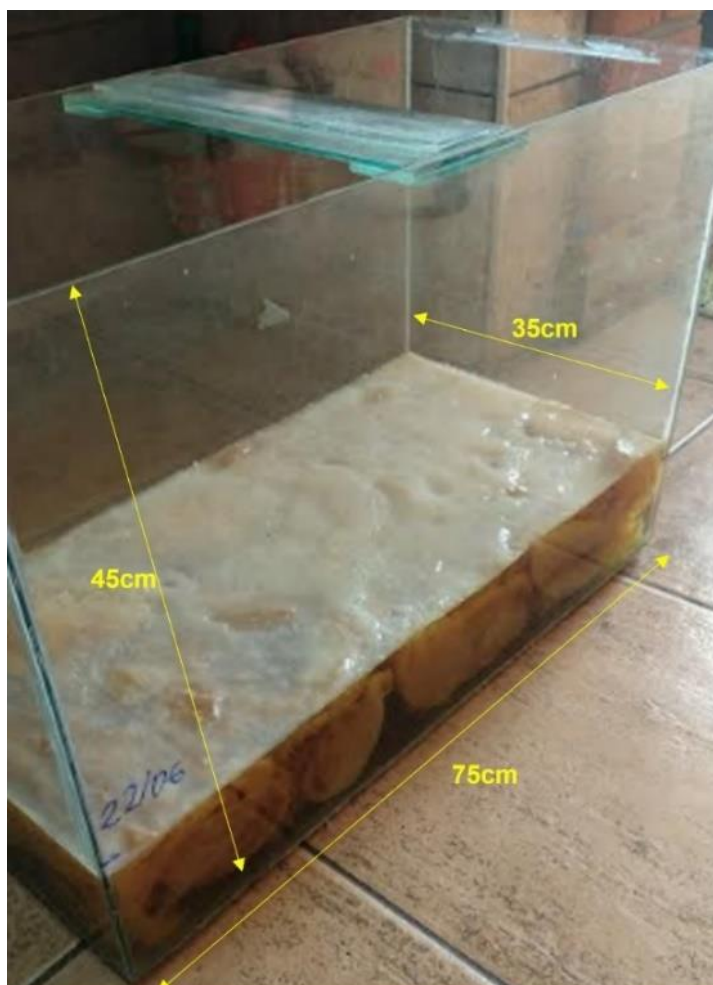
O preparo teve início com a produção da infusão utilizando apenas água filtrada, as folhas desidratadas de chá verde e o açúcar. Em um béquer com capacidade de 5 L foram adicionados 4 L de água deionizada e aquecidos até a fervura.

Conforme sugerido pela empresa fornecedora, foram adicionados ao recipiente 40 g de folhas desidratadas de chá verde, (divididas em 5 sachês de papel com 8 g cada), 400 g de açúcar de acordo com o relatado por (Sanwal et al., 2023) para favorecimento do processo fermentativo, e mantidos sob aquecimento por 5 min. Após esse período o aquecimento foi suspenso, o conjunto foi tampado e permaneceu

em repouso até atingir a temperatura ambiente, obtendo-se assim a infusão de chá verde. Este procedimento foi repetido por mais 2 vezes até obter-se um volume de aproximadamente 12 litros de infusão.

Após o preparo da infusão, todo o volume foi transferido para um recipiente de vidro (Figura 6) com dimensões de 75 cm x 35 cm x 45cm (comprimento x largura x altura, respectivamente).

Figura 6 - Recipiente de vidro utilizado para fermentação da Kombucha.



Fonte: o próprio Autor.

Foram então adicionadas 10 unidades de SCOBY, com diâmetro de, aproximadamente, 10 cm (Figura 7A) e 2cm (Figura 7B) de altura. O recipiente retangular de vidro foi mantido com a superfície coberta por um tecido para impedir o acesso de insetos ou impurezas externas para evitar contaminação da infusão e para permitir a presença de oxigênio para o processo de fermentação.

Figura 7 – SCOBYs cedidos pelo produtor independente



Fonte: o próprio Autor.

Esse sistema foi mantido em repouso por 15 dias para que a fermentação ocorresse e um novo SCOBY fosse formado e utilizado para o desenvolvimento do trabalho. (de Goes, 2020; Sanwal et al., 2023)

4.2 PREPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS FIBRAS

O SCOBY obtido no processo de fermentação foi lavado com água deionizada para remoção de possíveis resíduos sólidos da infusão. Uma segunda etapa de lavagem foi realizada utilizando uma solução aquosa de ácido acético 6% (m/m) para remoção de resíduos de açúcar, solúveis em ácido acético, e para não afetar os microrganismos presentes no SCOBY, que são conhecidamente resistentes à esse ácido (Laureys et al., 2020). O material então foi seco com auxílio de uma estufa com circulação de ar a uma temperatura de 60°C por 48 h.

A fibra bruta (FB) obtida foi moída e selecionada para o tamanho inferior a 60 mesh (0,25 mm) com o auxílio de um moinho de facas e peneira vibratória. O material

peneirado foi seco com auxílio de uma estufa com circulação de ar a uma temperatura de 60°C por 24 h para posteriormente ser submetido ao tratamento alcalino de purificação.

Em um béquer de 2 L, foram adicionadas a FB moída e uma solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) na concentração de 2% (m/m) até atingir um volume aproximado de 1,5 L. O conjunto foi mantido sob agitação constante e temperatura de 80°C por um período de 2 horas. (de Goes, 2020)

Após esse período, o conjunto foi filtrado a vácuo com auxílio de um balão Kitasato e funil de Buchner e lavado com um volume aproximado de 500 mL de água deionizada. O material foi então novamente colocado sob agitação constante em solução alcalina pelo mesmo período de 2 h em temperatura de 80°C. (de Goes, 2020; Moon et al., 2011)

O procedimento de filtração e purificação com solução alcalina se repetiu mais uma vez, totalizando 3 ciclos de purificação sob as mesmas condições de temperatura e período de agitação citados anteriormente.

Obteve-se então fibras de celulose bacteriana (CB) purificadas as quais foram utilizadas nas etapas de obtenção de nanocelulose bacteriana (CBCNF) e posterior caracterização.

4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química da celulose bacteriana foi determinada através da quantificação dos teores de material celulósico, e α -celulose das fibras brutas e tratadas. O procedimento para determinação do teor de material celulósico foi executado conforme a norma TAPPI T257om-85, enquanto para α -celulose a norma aplicada foi a TAPPI T222om-88.

4.3.1 Teor de Material Celulósico

Com a finalidade de se determinar com maior o percentual de material celulósico nas fibras de celulose bacteriana, foi utilizado o método de determinação do teor de holocelulose das fibras de FB a partir da norma TAPPI T257om-85 com o intuito de remover os componentes não celulósicos presentes nas fibras, como açúcares residuais entre outros possíveis componentes glicosídicos presentes nas folhas de

chá verde utilizadas no processo de infusão e fermentação (Liu et al., 2021; Segato et al., 2014; Tureck et al., 2021)

Sabendo-se de a impossibilidade de fibras de celulose bacteriana conterem hemicelulose e lignina, utilizou-se o procedimento descrito na norma para quantificação do material celulósico (%Celulose_{total}) residual que posteriormente foi utilizado para determinação dos teores de α -celulose, descritos no item 4.3.2.

Em um Erlenmeyer com capacidade de 250,0 mL foi adicionada uma quantidade de aproximadamente 3,0g (m_1) de fibras secas e 120,0 mL de água deionizada. Então 1,0 mL de ácido acético glacial foi adicionado junto a 2,5 g de clorito de sódio. O conjunto foi tampado e o sistema foi submetido à agitação constante em temperatura de 70°C por 1 hora. Após este período foram novamente adicionados 1,0 mL de ácido acético e 2,5 g de clorito de sódio. O sistema foi mantido novamente em agitação e temperatura de 70°C constantes por mais 1 hora. Este procedimento foi repetido por mais uma vez resultando num período de 3 horas de reação sob as condições descritas.

Em seguida o sistema foi mantido em temperatura ambiente para resfriamento e então alocado em um refrigerador para que atingisse a temperatura aproximada de 10°C para filtração a vácuo. Onde as fibras foram lavadas com água deionizada para remoção de possíveis resquícios de ácido e clorito após o processo.

As fibras então foram secas em estufa a uma temperatura de 60°C por 24 horas e em seguida foram alocadas em um dessecador até que atingissem temperatura ambiente. Após esse período as fibras foram pesadas (m_2) e o teor de material celulósico (%Celulose_{total}) foi determinado através da Equação 1. Este processo foi realizado em triplicata e os valores para m_1 , m_2 , %Celulose_{total} e desvio padrão de todas as amostras

$$\%Celulose_{total} = \left(\frac{m_2}{m_1} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

As quantidades em massa restantes do cálculo do teor de material celulósico foram armazenadas em estufa a 60°C por um período de 24 horas e utilizadas para o cálculo do teor de α -celulose descrito a seguir.

4.3.2 Teor de α -celulose

As amostras utilizadas para a determinação do teor de material celulósico foram coletadas após o procedimento descrito no item 4.3.1. A norma utilizada para determinação do teor de α -celulose foi a TAPPI T222om-88.

Foram utilizadas duas soluções aquosas, a primeira de hidróxido de sódio com concentração de 17,5% (m/m) e a segunda de ácido acético com concentração de 20,0% (m/m). Então, uma quantidade aproximada de 1,0 g foi adicionada a um béquer com capacidade de 50 ml. Onde 10 ml da solução alcalina foi adicionado à amostra e o sistema foi mantido em repouso por 2 minutos. Após este período a amostra foi macerada por 8 minutos. Em seguida foram adicionados novamente 10 ml da solução alcalina à amostra e o sistema foi mantido em repouso por 20 minutos.

Após o período de repouso adicionou-se um volume de 40 ml de água deionizada ao sistema, e então o material foi filtrado à vácuo. Onde o material foi lavado com aproximadamente 200 ml de água deionizada no processo de filtração e em seguida com 20 ml da solução ácida. Novamente a etapa de lavagem com 200 ml de água deionizada foi realizada para remoção de possíveis resquícios alcalinos ou ácidos das respectivas soluções utilizadas.

Este material foi seco em estufa por 24 horas sob temperatura de 60°C e então foram armazenadas em dessecador para que atingissem temperatura ambiente para a pesagem e determinação de (m_2). Em seguida o teor de α -celulose foi determinado através da Equação 2. Este processo foi realizado em triplicata.

$$\% \alpha - \text{celulose} = \left(\frac{m_1}{m_2} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

4.4 OBTENÇÃO DE NANOCELULOSE BACTERIANA (CBCNF)

Uma massa de aproximadamente 10 g de CB foi adicionada em um volume de 1 L de água deionizada (concentração de 1% (m/m)) e submetida a agitação constante por um período de 2 h até dispersão total das fibras.

Após dispersão total, o material foi desfibrilado no disco ultrarrefinador Super Mass Colloider Masuko (Figura 8), modelo MKCA6-5J, localizado no Laboratório de Nanobiotecnologia Aplicada do Campus Lorena da Universidade de São Paulo (USP).

Os discos (modelo MKGA10-80) são confeccionados em material cerâmico (óxido de alumínio e resina) sem porosidade para evitar qualquer infiltração de partículas nanométricas e para permitir um melhor encaixe entre os discos.

Figura 8 - Ultrarrefinador Super Mass Colloider Masuko



Fonte: o próprio Autor.

Durante o processamento das fibras de CB, um dos discos permaneceu estacionário e outro em movimento, com rotação de 1600 rpm. A distância entre os discos foi determinada e fixada conforme descrito por Wang *et al.*, (2012) e Berto e Arantes, (2019). A posição de movimento zero foi determinada pelo ruído gerado pela posição de contato entre os dois discos antes da suspensão ser colocada no ultrarrefinador. (Berto and Arantes, 2019; Wang *et al.*, 2012)

A partir da posição de movimento zero, o ultrarrefinador foi carregado com a suspensão celulósica e os discos foram imediatamente ajustados para a posição de amplitude de -100 μm entre os discos. Embora a posição seja negativa, a presença da suspensão de celulose atua como um lubrificante garantindo que os discos não se

toquem e se desgastem.

O ultrarrefinador foi operado com o sistema de resfriamento utilizando fluxo de água em temperatura ambiente até o final do processo.

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Foram obtidas micrografias para avaliar a morfologia das amostras de FB e CB através de um microscópio eletrônico de bancada da marca Hitachi, modelo TM-3000, localizado no Laboratório de Bioenergia e Materiais Lignocelulósicos da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Sorocaba, com tensão de operação de 15 kV, baixo vácuo, e obtenção de micrografias por elétrons retro espalhados.

Uma massa de cada uma das amostras, previamente secas em estufa a 60°C por 24 horas, sem recobrimento metálico foi alocada sobre o porta amostras contendo fita de carbono e submetida ao feixe de elétrons nas condições citadas acima para obtenção das micrografias nas magnificações de 60x, 300x e 600x.

4.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

As propriedades térmicas das amostras de FB e CB foram avaliadas com o auxílio de um analisador termogravimétrico da marca Shimadzu, modelo TGA-50, localizado no Laboratório de Nanobiotecnologia Aplicada do Campus Lorena da Universidade de São Paulo (USP) e cadinho de platina.

O intervalo de temperatura utilizado foi de 25 a 430°C na taxa de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio (N₂) com fluxo de 50 mL/min para as amostras FB e CB.

Para a amostra de CBCNF utilizou-se um equipamento da marca Perkin Elmer, modelo Pyris 1 TGA, localizado no Laboratório de Bioenergia e Materiais Lignocelulósicos da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Sorocaba. Os parâmetros utilizados foram: intervalo de temperatura de 40 a 750°C com taxa de 10°C/min em atmosfera de ar sintético com fluxo de 20 mL/min, também, com cadinho de platina.

4.7 DIFRAÇÃO DE RAIO-X (DR-X)

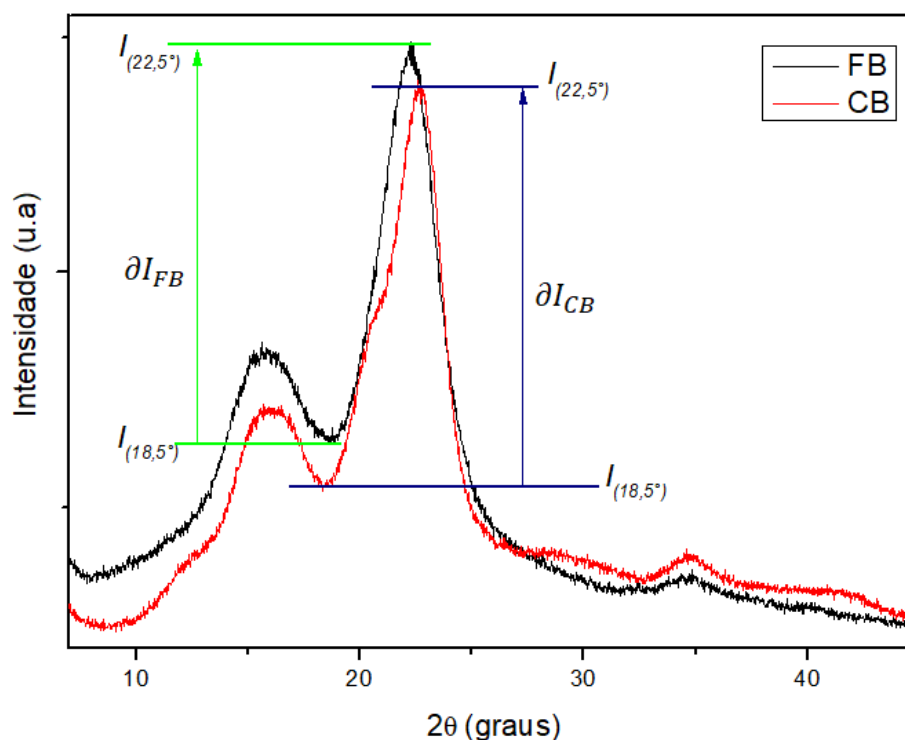
A cristalinidade das amostras de FB, CB e CBCNF foi avaliada com o auxílio de um difratômetro da marca Bruker, modelo D2 Phaser Diffractometer, localizado no

Laboratório de Física da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Sorocaba, equipado com fenda de 1,0 mm, fenda de 3,0 mm, tubo de radiação de Cu ($k\alpha = 0,15406$ nm, 30 kV, 10 mA), em um passo de $0,02^\circ$, com intensidades registradas por 1 s em cada passo.

O método de Segal, (1959) define que o grau de cristalinidade para celulose pode ser determinado através do cálculo da diferença de intensidade entre picos e vales em áreas determinadas no difratograma (Segal et al., 1959; Thygesen et al., 2005). Conforme apresentado na Equação 3, onde $I(22,5^\circ)$ se refere ao valor de intensidade no pico onde $2\theta = 22,5^\circ$ e $I(18,5^\circ)$ ao valor de intensidade no vale onde $2\theta = 18,5^\circ$. A Figura 9 ilustra onde foram obtidos estes dados no difratograma de FB e CB e apresenta a zona de diferença de intensidade (∂I).

$$CI_{Segal} = \frac{I_{(22,5^\circ)} - I_{(18,5^\circ)}}{I_{(22,5^\circ)}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Figura 9 - Aplicação do método de Segal no difratograma de amostras de FB e CB.



Fonte: o próprio Autor.

4.8 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A análise estrutural da amostra de FB, CB e CBCNF foi conduzida nas instalações do Laboratório de Materiais Nanoestruturados e Química Ambiental (FINEP 1) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) Campus Sorocaba. Utilizou-se o espectrômetro de infravermelho modelo Nicolet Summit IR 200 FTIR no modo ATR (Reflectância Total Atenuada), com 128 varreduras, resolução nominal de 4,0 cm⁻¹, abrangendo a faixa de 4000 a 400 cm⁻¹. Os espectros foram adquiridos no software Ominic Paradigm (Thermo Scientific, EUA) e posteriormente plotados utilizando o software Origin Pro 8.5.

4.9 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)

A amostra de CBCNF foi submetida à análise morfológica via técnica de microscopia de força atômica com o auxílio de um microscópio da marca Bruker, modelo Dimension Icon em modo de contato intermitente *tapping mode*, localizado no Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP).

Foram gotejadas de 3 a 5 gotas da suspensão (um volume de aproximadamente 5 µL) na concentração de 0,05 g/L sobre a superfície de uma mica duplamente clivada e secas naturalmente sem o uso de aquecimento externo. As imagens obtidas foram analisadas com auxílio do software NanoScope 8, Bruker.

A distribuição média dos diâmetros das nanofibras de CBCNF foi calculada com base em 20 pontos em boa definição de imagem e topograficamente alinhados nas micrografias obtidas em varreduras de 2 x 2 µm, coletados na região superior considerando a intensidade da coloração da escala topográfica (César et al., 2015; Raju et al., 2023).

4.10 PREPARO DO FILME DE AMIDO REFORÇADO COM NANOCELULOSE E INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA

Foram preparados filmes de amido de mandioca reforçados com CBCNF e óleo de citronela. Para melhor incorporação do óleo de citronela através da gelatinização do amido, que ocorre em meio aquoso, foi utilizada uma emulsão composta pela dispersão de CBCNF e óleo de citronela.

A composição dos filmes foi determinada através de testes prévios em relação à quantidade ideal de amido, CBCNF e óleo citronela para avaliar o aspecto dos filmes sendo: uma composição de 5% de amido (m/m) referente à massa total da solução filmogênica e 10% de CBCNF (m/m) em relação à massa do amido o qual resultou em um filme quebradiço, uma composição de 10% de amido (m/m) referente à massa total da solução filmogênica e 5% de CBCNF (m/m) em relação à massa do amido o qual resultou em um filme muito viscoso e uma composição de 5% de amido (m/m) em relação à massa total da solução filmogênica e 5% de CBCNF (m/m) em relação à massa do amido o qual resultou em um filme com superfície regular e não quebradiço.

Dessa forma, a composição ideal foi composta por 5% de amido (m/m) referente à massa total da solução filmogênica utilizada no preparo dos filmes; 5% de CBCNF (m/m) em relação à massa do amido, e 3% de óleo de citronela (m/m) em relação à massa total da solução filmogênica e 10% de glicerol (m/m) em relação à massa do amido.

4.10.1 Emulsão de CBCNF e Óleo de Citronela

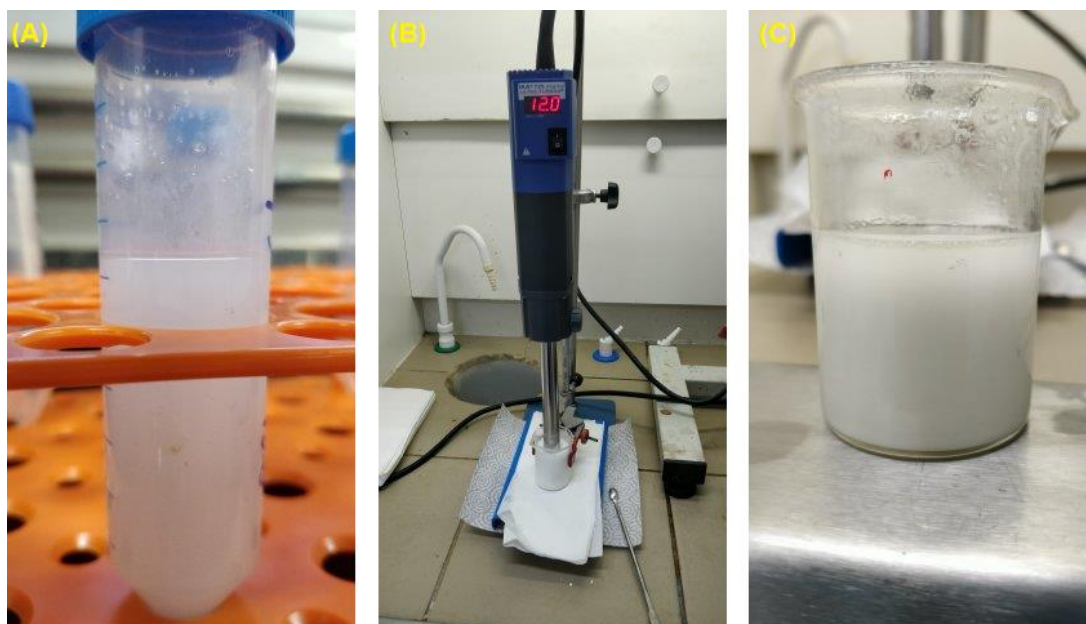
Foi produzida uma emulsão por via rápida (Brito et al., 2022) utilizando sistema de agitação constante com o auxílio de um dispersador Ultraturrax da marca IKA, modelo T25.

Foram testadas diferentes concentrações do óleo de citronela, marca Balão das Essências, na suspensão de CBCNF com a finalidade de determinar a versão mais estável contendo a maior concentração de óleo de citronela. Concentrações de 1% a 10% apresentaram boa dispersão e estabilidade após a produção das emulsões, entretanto, acima da concentração de 3% (m/m) ocorreu a separação da fase oleosa da aquosa em um período de até 24 horas, conforme apresenta a Figura 10A. Determinou-se então o uso da concentração de 3% (m/m) para o processo de incorporação do óleo de citronela nos filmes de amido.

Uma massa de 36,75 g da dispersão de CBCNF (percentual de sólidos de 0,68%, representando 0,25 g de nanofibras para a massa utilizada) foi adicionada em um béquer de capacidade volumétrica de 250 ml. Junto à CBCNF, foram adicionadas uma massa de 3 g do óleo de citronela e 54,75 g de água deionizada, totalizando 94,5 g do conjunto de prepara da emulsão. Estes foram mantidos em agitação constante

de 12.000 rpm (velocidade limite para evitar a formação de espuma durante a agitação) por um período de 2 horas em temperatura ambiente (Figura 10B) com o intuito de favorecer possíveis interações entre os grupos hidroxila (Lis et al., 2018; Montoya-yepes et al., 2024; Wan et al., 2017) presentes na estrutura da CBCNF e do óleo de citronela.

Figura 10 - Preparo da emulsão, onde: (A) Solução estável após 24 horas, (B) Preparo com auxílio de Ultraturrax e (C) Emulsão após período de agitação.



Fonte: o próprio Autor

4.10.2 Solução Filmogênica de Amido de Mandioca

A solução filmogênica de amido de mandioca foi preparada sequencialmente ao preparo da emulsão contendo o óleo de citronela, no mesmo recipiente. Após o período de 2 horas de agitação do conjunto contendo a emulsão (Figura 10C), foi adicionada uma massa de 5 g de amido de mandioca, 0,5 g de glicerol, totalizando uma massa de 100g para todo o conjunto (emulsão + amido + glicerol), e mantidos ainda em agitação constante de 12.000 rpm e temperatura ambiente por 1 hora (Brito et al., 2022).

Após o período de homogeneização da dispersão, o conjunto foi transferido para uma placa de aquecimento; e ainda em agitação constante, agora com o auxílio

de um agitador mecânico e haste metálica, foi submetido ao aquecimento até a temperatura de 80°C para que ocorresse a gelatinização do amido, obtendo-se assim uma solução filmogênica que é apresentada na Figura 11.

Figura 11 - Preparo da solução filmogênica, (A) Conjunto sob aquecimento e agitação, (B) Solução filmogênica finalizada, em temperatura ambiente.



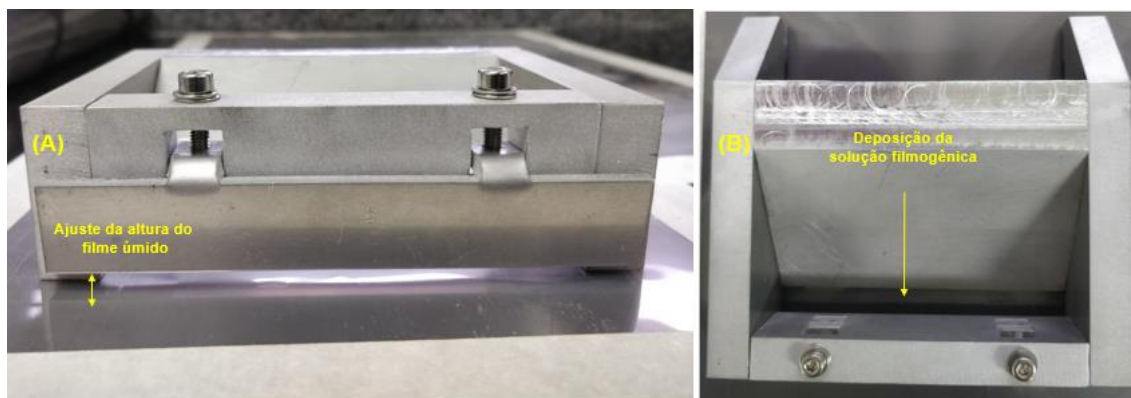
Fonte: o próprio Autor

4.10.3 Preparo dos filmes via técnica de *Tape casting*

Os filmes foram produzidos via técnica de *tape casting* a partir da deposição da solução filmogênica de amido na superfície de um substrato plástico de politereftalato de etileno (PET) com o auxílio de uma lâmina *Doctor Blade* conforme apresentado nas Figuras 12 e 13. Na qual a Figura 12A detalha o ajuste para determinação da altura do filme úmido a ser depositado no substrato, enquanto em 12B é apresentado o compartimento para abastecimento da solução filmogênica.

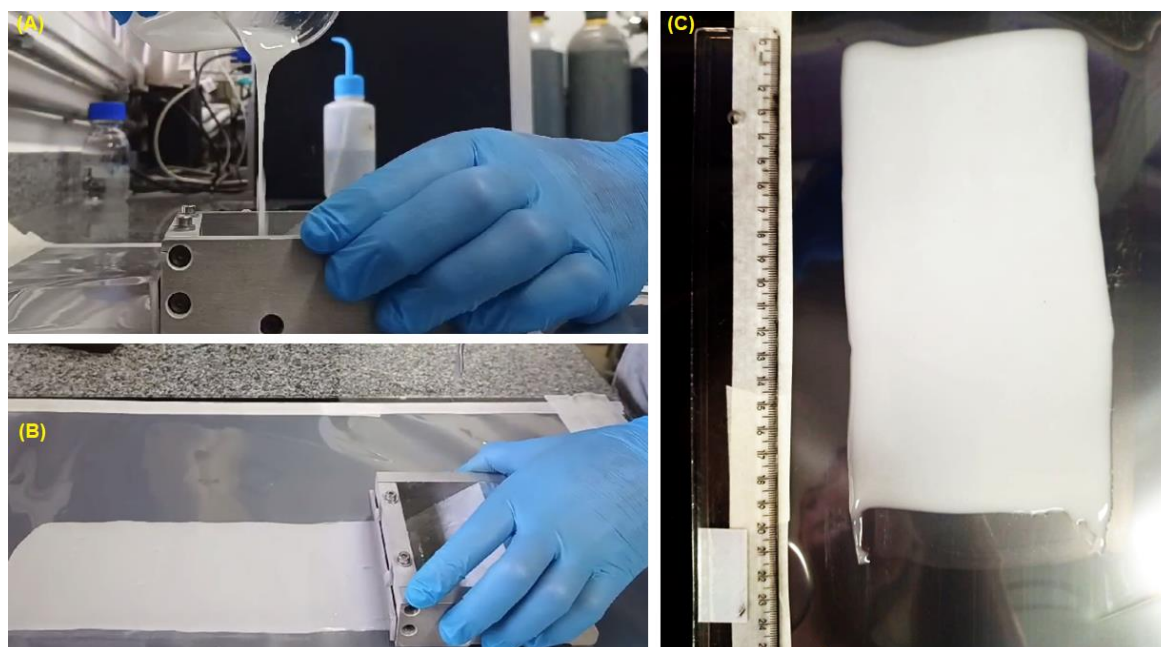
A Figura 13 apresenta a deposição da solução filmogênica sobre o substrato plástico. Após o preparo dos filmes sobre o substrato, os mesmos foram submetidos à secagem em temperatura ambiente por um período de 24 horas.

Figura 12 - Lâmina *Doctor Blade*, (A) Vista frontal; (B) Vista superior



Fonte: Adaptado de Lima, V. H.; 2023.

Figura 13 - Deposição da solução filmogênica sobre o substrato. (A) Solução na lâmina para arraste, (B) Deposição da solução úmida, (C) Solução após deposição para secagem.



Fonte: o próprio Autor.

4.11 ENSAIO DE TRAÇÃO UNIAXIAL

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas através de ensaios mecânicos de tração uniaxial com o auxílio de um equipamento de análise termodinâmica-mecânica da marca TA Instruments, modelo DMA Q 800, localizado no Laboratório de Bioenergia e Materiais Lignocelulósicos, UFSCar Sorocaba. Os parâmetros utilizados foram: modo *controlled force*, teste *strain/stress*, pré-carga de 0,5 N, isoterma em 30°C, taxa de força de 8 N/min, tempo de permanência de 5 minutos.

Os corpos de prova foram cortados em amostras retangulares, com dimensões de aproximadamente 25 mm x 6,5 mm, utilizando um bisturi cirúrgico. O corte foi realizado de maneira a minimizar os danos na lateral da amostra, prevenindo a formação de pontos frágeis que poderiam interferir nos resultados do ensaio. A espessura foi avaliada por meio de um micrômetro, utilizando a média de cinco pontos medidos ao longo da amostra. Os dados foram coletados pelo software TA Analyse Universal, versão 2.9 e posteriormente plotados com o auxílio do OriginPro, versão 8.5.

4.12 BIODEGRADAÇÃO

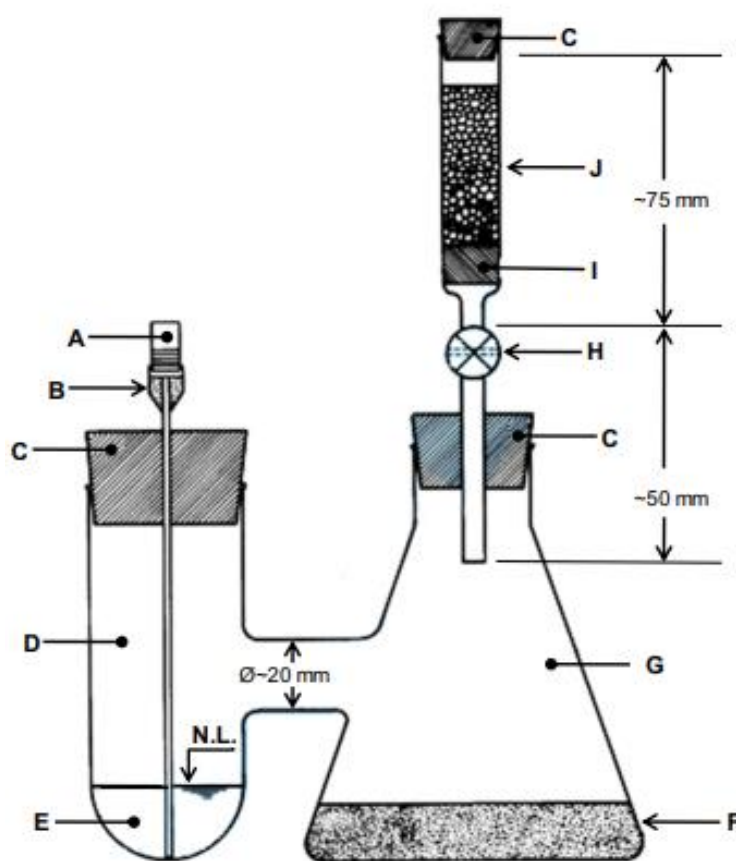
O método respirométrico de Bartha, de acordo com a norma ABNT NBR 14283 - Resíduos em solo: Determinação da biodegradação pelo método respirométrico, foi utilizado para mensurar o índice de biodegradação da matéria orgânica presente nos resíduos destinados ao tratamento no solo. Esse método quantifica a emissão de dióxido de carbono (CO_2) pelos microorganismos do solo sob condições padronizadas. O conjunto de respirômetros foi composto por amostras de controle, contendo apenas solo, e por amostras destinadas à biodegradação, que incluem solo e os resíduos em questão.

Os materiais utilizados no ensaio incluem água livre de gás carbônico (CO_2), solução aquosa de hidróxido de potássio (KOH) 0,2 N, solução aquosa padronizada de ácido clorídrico (HCl) 0,1 N ($F_c = 0,86$), solução aquosa de cloreto de bário (BaCl_2) 1,0 N e solução indicadora de fenolftaleína (0,2g dissolvidos em 60 mL de etanol, sendo o volume final de 100 mL completado com água deionizada).

O procedimento experimental consiste em três etapas distintas. A primeira etapa envolve a coleta do solo e sua caracterização em relação à densidade global (pg), densidade aparente (A), umidade residual (UR), capacidade de campo (CC) e pH inicial do solo. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

A segunda etapa é a incubação das amostras e solo nos respirômetros que são apresentados na Figura 14.

Figura 14 - Ilustração do método respirométrico de Bartha.



Fonte: Adaptado de Soldera *et. Al.*; 2020

Onde: A - Tampa da cânula
 B - Cânula (ϕ entre 1 mm e 2 mm), com canhão Luer
 C - Rolha de borracha
 D - Braço lateral (ϕ ~40 mm; H~100 mm)
 E - Solução de KOH
 F - Amostra de efluente
 G - Frasco de Erlenmeyer (250 mL)
 H - Válvula
 I - Suporte (lã de vidro ou algodão)
 J - Filtro de ascarita (ϕ ~15 mm; H~ 40 mm)

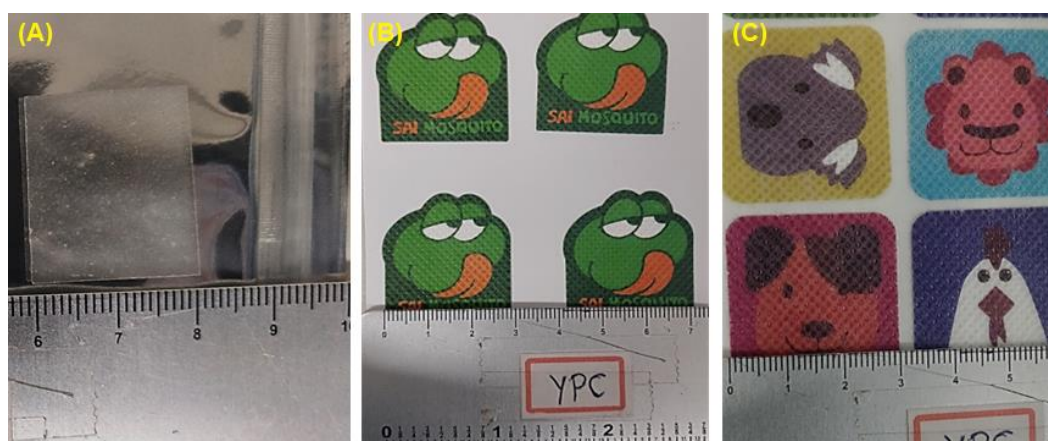
Nessa etapa tomou-se a atenção para que as massas dos filmes fossem semelhantes. Foram cortados filmes de amido com citronela (AM/Citronela) quadrados na dimensão de 2 cm x 2 cm. Os adesivos comerciais SAI MOSQUITO e NO2 PROBLEMS são disponibilizados já em dimensões específicas conforme mostra a Figura 15. As respectivas massas são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Massa dos filmes utilizados no processo de biodegradação em solo

Amostra	Massa (g)		
Controle	0,125	0,114	0,119
AM/Citronela	0,107	0,109	0,113
SM	0,108	0,106	0,103
NO2P	0,112	0,116	0,108

Fonte: o próprio Autor.

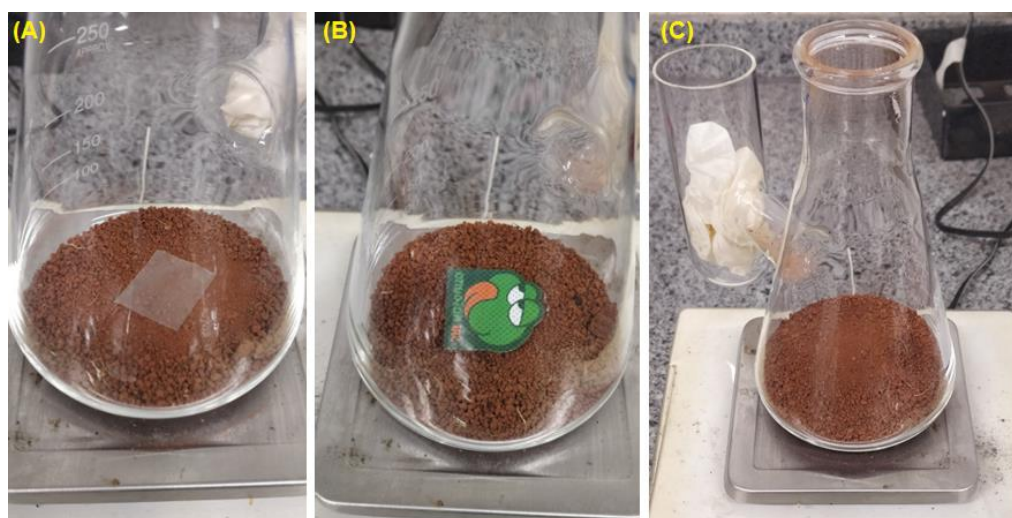
Figura 15 - Dimensões das amostras para biodegradação, (A) AM/Citronela, (B) Adesivo comercial da marca “SAI MOSQUITO”, e (C) adesivo comercial da marca “NO2PROBLEMS”.



Fonte: o próprio Autor.

Os filmes foram então encubados nos respirômetros, de modo que 25 g de solo foram depositadas anteriormente ao filme para que toda área superficial da amostra estivesse em contato com o solo, conforme apresentado na Figura 16.

Figura 16 - Incubação dos filmes para biodegradação, (A) e (B) Amostras de AM/Citronela e “SAI MOSQUITO” contendo 25 g de solo e (C) Amostra “NO2PROBLEMS” com 50 g de solo.



Fonte: o próprio Autor.

Após a fase de incubação, 10 mL da solução de KOH foram adicionados aos respirômetros, que foram posteriormente vedados de acordo com a demonstração fornecida anteriormente na ilustração. Subsequentemente, todos os respirômetros foram colocados em uma estufa, mantida a uma temperatura constante de 28°C.

A última etapa do processo de biodegradação consiste na mensuração do CO₂ liberado pelo sistema de biodegradação, por meio de titulação com uma solução padronizada de HCl. Conforme estabelecido pela norma ABNT NBR 14283, essa quantificação deve ser realizada diariamente nos primeiros 7 dias do ensaio e, a partir desse ponto, a cada intervalo de 7 dias, até que o volume consumido da solução padronizada para titulação das amostras de controle seja estatisticamente similar ao consumido pelas amostras em processo de biodegradação.

O procedimento de mensuração teve início com a adição de 1 mL da solução de BaCl₂ a um Erlenmeyer de capacidade volumétrica de 100 mL, juntamente com 3 gotas da solução de fenolftaleína. A solução de KOH presente no respirômetro é então retirada com uma pipeta volumétrica e adicionada ao Erlenmeyer. Espera-se que a coloração se altere devido à reação de modificação do pH do meio com a solução indicadora de fenolftaleína, apresentando um tom rosa intenso.

A seguir, a região do respirômetro de onde a solução de KOH foi retirada foi enxaguada com água livre de CO₂. Utilizando uma pipeta volumétrica, foram acrescentados 10 mL de água, que foram posteriormente coletados para serem incorporados ao Erlenmeyer. Esse processo foi repetido mais duas vezes, totalizando três ciclos de lavagem com um volume total de 30 mL de água isenta de CO₂.

Em seguida, o conjunto foi direcionado para a titulação utilizando uma solução padronizada de HCl. O procedimento foi conduzido gota a gota até que a coloração rosa do conjunto perdesse sua intensidade, transformando-se em uma solução opaca com uma tonalidade esbranquiçada, indicando a neutralização do pH do meio..(Soldara et al., 2020)

Após a conclusão da titulação, foram adicionados mais 10 mL da solução de KOH ao respirômetro, que foi então colocado de volta na estufa, aguardando o momento para uma nova titulação.

Esse procedimento foi repetido até que o volume consumido da solução padronizada de HCl, utilizado na titulação das amostras de controle, se aproximasse estatisticamente do volume consumido na titulação das amostras dos filmes biodegradados.

A determinação do consumo de CO₂ em mol e sua conversão para massa em gramas, de acordo com a quantidade de carbono (C) biodegradado, são apresentados a seguir.

(a) Quantidade de CO₂ produzida:

$$\text{mol CO}_2 (\text{filmes}) = (A - B) \times 50 \times f_{HCl} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde: A = volume (mL) HCl 0,1 N consumido para titulação do controle; B = volume (mL) HCl 0,1 N consumido para titulação da amostra; 50 = fator equivalente de transformação em mol de CO₂; f_{HCL} = fator de correção da solução padronizada de HCl.

b) Quantidade de carbono biodegradado (C_b):

$$C_b (\text{mol C}) = 2 \times \text{CO}_{2b} (\text{mol CO}_2 (\text{filmes})) \quad (\text{Equação 5})$$

Onde: C_b = carbono biodegradado (mol); CO_{2b} = quantidade de CO₂ devida a biodegradação (A-B).

De acordo com a norma utilizada, 50% do carbono biodegradado é transformado em CO₂, enquanto os demais 50% se incorporam ao solo. Desse modo, sugere-se multiplicar por 2x o valor de CO_{2b} para equivalência do carbono total liberado no processo de biodegradação.

Os dados obtidos a partir dos cálculos para CO₂ emitido são apresentados adiante através da interpretação de um gráfico referente ao valor de CO₂ produzido em função do tempo (dias) de biodegradação. Para elaboração do gráfico foi utilizado o software OriginPro versão 8.5.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FB, CB E CBCNF

5.1.1 Rendimento do SCOBY Após Fermentação e Secagem

O SCOBY obtido após o processo completo de fermentação em recipiente retangular de vidro apresentou 70 cm x 30 cm x 2 cm, comprimento x largura x altura, respectivamente (Figura 17). Observou-se a característica gelatinosa conforme observado também por Laavanya et al., 2021.

Figura 17 – SCOBY produzido em recipiente retangular de vidro



Fonte: o próprio Autor.

O SCOBY retangular demonstrado na Figura 17 apresentou massa de 1078 g. Foram coletados também os 10 SCOBYs circulares utilizados para iniciar o processo fermentativo e estes apresentaram massa de 794 g. Totalizando 1872 g de SCOBY para obtenção de CB.

Todo o material, após secagem e pesagem, obteve os seguintes valores de massa: a) SCOBY retangular: 62,29 g, b) SCOBYs circulares: 41,33 g. A média de perda de líquidos na secagem dos SCOBYs foi de 94,1%, corroborando com os dados

descritos por Duarte *et. al.*, 2019 ara fibras de celulose bacteriana. Esses dados foram apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Massa dos SCOBYs após fermentação e processo de secagem em estufa.

ITEM	Massa inicial (g)	Massa final (g)	Perda de massa (%)	
SCOBY retangular	1078	67,29	93,57	
SCOBYs circulares	794	41,33	94,71	
TOTAL	1872 ± 2,0	108,62 ± 0,1	Média	94,14

Fonte: o próprio Autor.

A perda de massa observada após secagem é decorrente quantidade de água contida nos SCOBYs, uma vez que fibras de celulose bacteriana apresentam percentuais de até 98% de água em sua composição anteriormente aos processos de lavagem e purificação (Duarte et al., 2019).

5.1.2 Purificação de FB e Obtenção de CB

A massa final de FB (108,62 g) foi submetida ao tratamento alcalino para remoção de possíveis folhas de chá resultantes da infusão e, após o processo de purificação apresentou uma perda de 17,4% em relação à massa inicial, totalizando 89,72 g de CB, ou fibras purificadas após o tratamento.

5.1.3 Composição Química

5.1.3.1 Teor de Material Celulósico

O percentual médio calculado para o teor de material celulósico a partir das fibras de FB foi de 69,39%, conforme apresentado na Tabela 4, o que indica que aproximadamente 70% da celulose bacteriana é composta possivelmente por celulose. Esses valores são similares aos descritos por demais autores, como Ilyas *et. al.*, 2020 (76,47%) referente à caracterização de fibras branqueadas de palmeiras e as fibras de bagaço de cana-de-açúcar (67,20%) e fibra branqueada do bagaço de cana-de-açúcar (72,70%) apresentadas por Leão *et. al.*, 2017.

As quantidades em massa restantes do cálculo do teor de material celulósico foram armazenadas em estufa a 60°C por um período de 24 horas e utilizadas para

o cálculo do teor de α -celulose descrito anteriormente.

Tabela 4 - Valores obtidos para $m1$, $m2$, e $\%Celulose_{total}$.

AMOSTRA	$m1$ (g)	$m2$ (g)	$\%Celulose_{total}$ (%)
1	3,0405	0,9393	69,1070
2	3,0028	0,9132	69,5888
3	3,1536	0,9621	69,4920
MÉDIA	$3,0656 \pm 0,08$	$0,9382 \pm 0,02$	$69,3959 \pm 0,21$

Fonte: o próprio Autor.

5.1.3.2 Teor de α -celulose

A média calculada para o percentual de α -celulose foi de 92,01% em relação à massa total residual das fibras após a determinação do teor de material celulósico apresentado anteriormente no item 4.1.3.1. Esse valor indica que o SCOBY obtido através da fermentação da Kombucha é, majoritariamente, composto por celulose. A Tabela 5 apresenta os valores médios calculados para $m1$, $m2$, $\%\alpha$ -celulose e o desvio padrão para cada amostra.

Tabela 5 - Valores obtidos para $m1$, $m2$, e $\%\alpha$ -celulose.

AMOSTRA	$m1$ (g)	$m2$ (g)	$\%\alpha$ -celulose (%)
1	0,9393	0,8531	90,8223
2	0,9132	0,8474	92,7946
3	0,9621	0,8892	92,4228
MÉDIA	$0,9382 \pm 0,02$	$0,8632 \pm 0,02$	$92,0132 \pm 0,86$

Fonte: o próprio Autor.

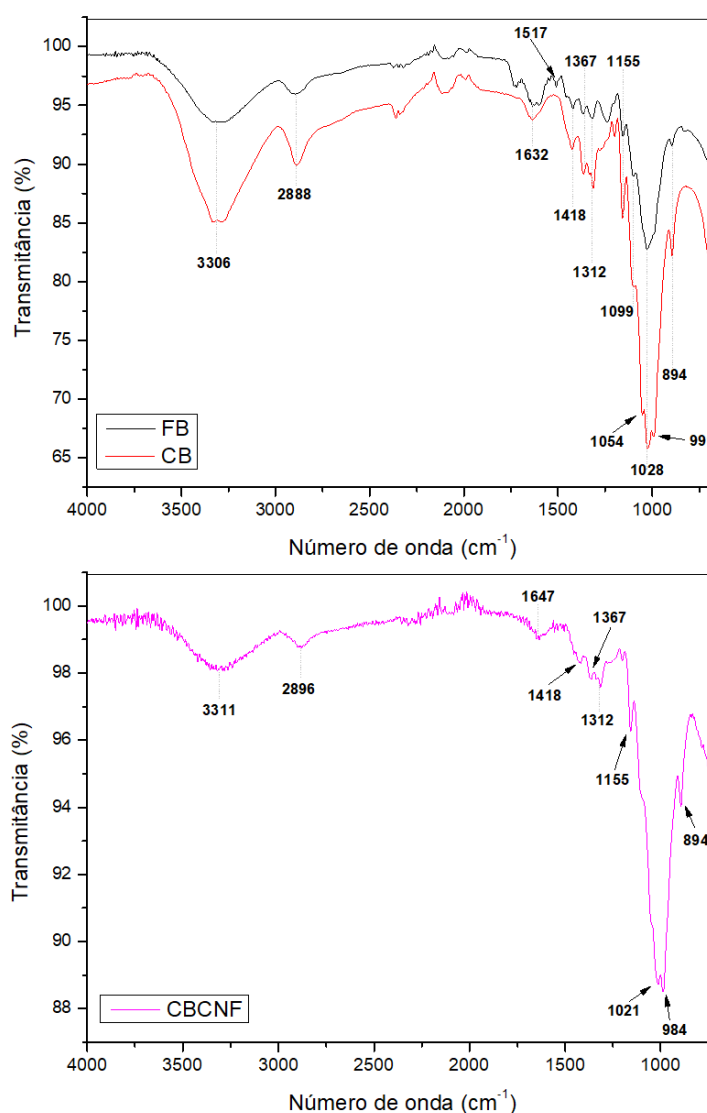
5.1.4 Espectroscopia da Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise estrutural de FB, CB e CBCNF foi realizada com o auxílio de técnica de FTIR. Os espectros são apresentados na Figura 18 e discutidos a seguir.

As ligações do tipo β -glicosídicas realizadas entre as unidades de glicose na formação da celobiose apresentaram picos em regiões distintas do espectro para todas as amostras. Sendo o pico observado em FB, CB e CBCNF no número de onda de 894 cm^{-1} referente à região amorfa na estrutura da celulose. Enquanto em 1418 cm^{-1} para CBCNF e 1427 cm^{-1} para FB e CB, referentes à região cristalina da estrutura das fibras (Bergottini and Bernhardt, 2023; Sederavičiūtė et al., 2019; Tureck et al., 2021).

Os picos observados nos números de onda de 984 cm^{-1} em CBCNF, e em 991 cm^{-1} em CB são referentes à vibração de valência das ligações CO na estrutura C6 (Tureck et al., 2021). CB e FB apresentaram picos atribuídos ao estiramento das ligações CO em 1021 cm^{-1} e 1028 cm^{-1} , respectivamente (Bergottini and Bernhardt, 2023; Tureck et al., 2021).

Figura 18 - Espectros de FTIR para FB, CB e CBCNF.



Em 1054 cm^{-1} e para CB observou-se a presença de um pico característico da presença de proteínas (Sousa et al., 2021), assim como em 1099 cm^{-1} para FB e novamente para CB, apresentando picos referentes à presença de grupos NH (Sederavičiūtė et al., 2019; Tureck et al., 2021). Outros autores relatam que picos nessa região também podem ser atribuídos à vibrações do alongamento assimétrico do anel aromático e vibrações do estiramento das ligações C-O-C e C-O-H presentes na estrutura do anel das cadeias glicosídicas (Bergottini and Bernhardt, 2023; Sederavičiūtė et al., 2019; Tureck et al., 2021).

Um pico em 1155 cm^{-1} foi observado em todas as amostras, porém mais intenso em CB e CBCNF. Esse pico é característico referente ao anel de ligação glicosídico C-O-C derivado da estrutura da celulose (Tureck et al., 2021).

Para os picos observados em 1312 cm^{-1} em FB e CB, e em 1315 cm^{-1} para CBCNF, atribui-se a vibração de CH na estrutura C6 (Sederavičiūtė et al., 2019). Já em 1367 cm^{-1} para FB e CB, e 1364 cm^{-1} em CBCNF, esses picos são referentes flexão simétrica de CH no plano e vibrações do esqueleto aromático da celulose (Tureck et al., 2021).

A presença de um pico em 1517 cm^{-1} apenas em FB reforça a hipótese de que ocorreu a presença de resíduos das folhas de chá verde utilizadas no processo de infusão, uma vez que, picos nessa região são atribuídos à grupos presentes em extrativos de fibras vegetais, por exemplo, os taninos (Kalinina et al., 2020; Khasnabis et al., 2015; Salim et al., 2021; Tsujimura, 1930).

Em 1632 cm^{-1} em CB e FB foi observado um pico, que também ocorreu em CBCNF no número de onda de 1647 cm^{-1} . A ocorrência de picos nessa região está atribuída ao estiramento de CO presente na estrutura da glicose (Bergottini and Bernhardt, 2023; Sederavičiūtė et al., 2019; Tureck et al., 2021).

Picos correspondentes ao estiramento de CH na estrutura C6 foram observados em 2888 cm^{-1} em FB e CB, respectivamente. Para CBCNF foi observado em 2896 cm^{-1} (Bergottini and Bernhardt, 2023; Sederavičiūtė et al., 2019; Tureck et al., 2021).

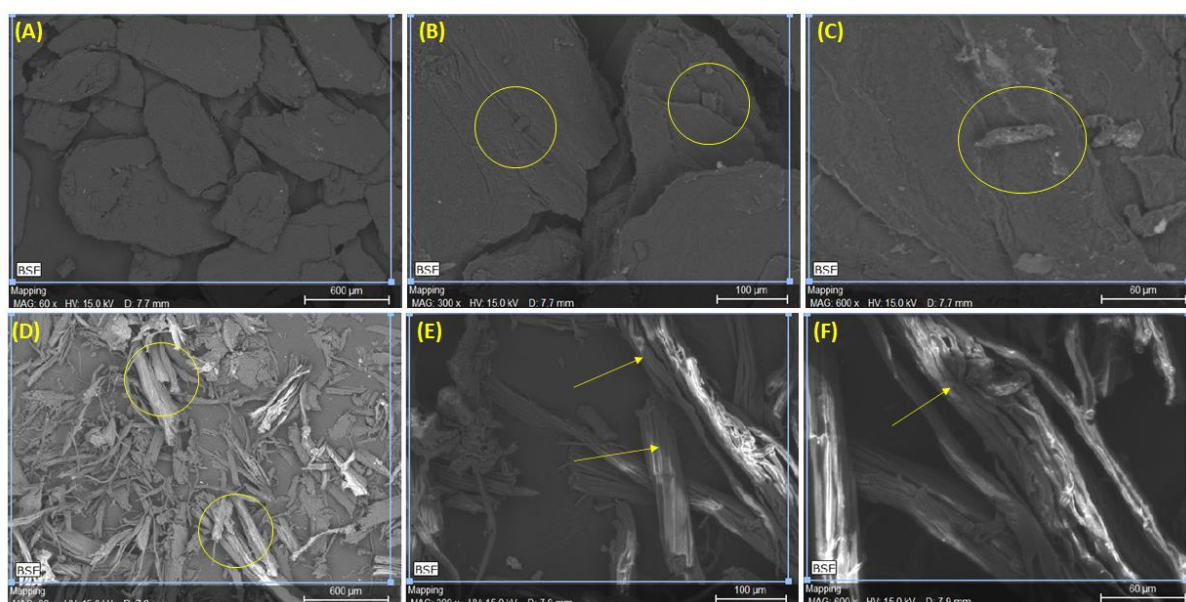
Os picos observados em 3306 cm^{-1} para FB e CB, e em 3311 cm^{-1} em CBCNF são referentes ao estiramento de OH nos grupos CH_2OH (álcool primário) (Bergottini and Bernhardt, 2023; Sederavičiūtė et al., 2019; Tureck et al., 2021).

5.1.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das amostras de FB e CB foram avaliadas através da técnica de MEV. Pode-se observar a efetividade do tratamento de purificação das fibras na remoção de possíveis açúcares residuais na superfície de FB. Assim como, uma superfície uniforme em CB com aspecto fibroso característico da celulose. (Dima et al., 2017; Sederavičiūtė et al., 2019)

A Figura 19 apresenta as micrografias de FB e CB nas magnificações de 60x, 300x e 600x para comparativo da eficiência do processo de purificação.

Figura 19 – Micrografias de FB e CB, onde: (A) FB 60x, (B) FB 300x, (C) FB 600x, (D) CB 60x, (E) CB 300x e (F) CB 600x



Fonte: o próprio Autor.

Nas Figuras 19A e 19D foram observadas FB e CB na magnificação de 60x, respectivamente, apresentando diferentes aspectos. Observou-se que FB (Figura 19A) apresenta um aspecto não fibroso, possivelmente pela presença de resíduos da infusão mesmo após os ciclos de lavagem com água deionizada e posteriormente com solução aquosa de ácido acético. O mesmo comportamento pode ser observado em membranas obtidas a partir da fermentação de Kombucha utilizadas na produção de celulose microfibrilada por (Arteaga-Ballesteros et al., 2021) e em membranas não purificadas apresentada por (Sousa et al., 2021) e (Dima et al., 2017).

Já para CB (Figura 19D), resultado do processo de purificação, é evidente o aspecto fibroso das amostras (Sederavičiūtė et al., 2019), onde pode-se observar uma

superfície regular sem a presença de possíveis resquícios da infusão (fibras celulósicas do chá verde e açúcar) como observado em FB (Figura 19A). Fibras com diâmetros bem definidos após a purificação também foram abordadas em outras investigações como, por exemplo, as fibras de celulose bacteriana tratadas em temperatura ambiente com NaOH por (Amarasekara et al., 2020).

As micrografias com magnificação de 300x de FB (Figura 19B) e CB (Figura 19E) mostram com mais detalhes, conforme destacado nos círculos e setas, a presença dos possíveis resíduos da infusão em FB (Figura 19B) e uma superfície mais homogênea característica de fibras celulósicas em CB (Figura 19E). Esses detalhes se tornam mais evidentes em FB (Figura 19C) e CB (Figura 19F), onde a magnificação aplicada para obtenção das imagens foi de 600x.

Pode-se observar com maior clareza nos pontos indicados nas micrografias, nos círculos e setas, a presença de estruturas não características de fibras celulósicas em FB (Figura 19C), e que não estão presentes ao longo das fibras apresentadas em CB (Figura 19F).

A média de diâmetros de CB foi calculada a partir da medida de 50 pontos aleatórios nas micrografias com magnificação de 300x, onde foi possível observar com mais clareza o perfil da fibra. O valor médio de diâmetro para as fibras foi de 46,85 μm conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Distribuição dos diâmetros e frequência de medidas para amostra de CB.

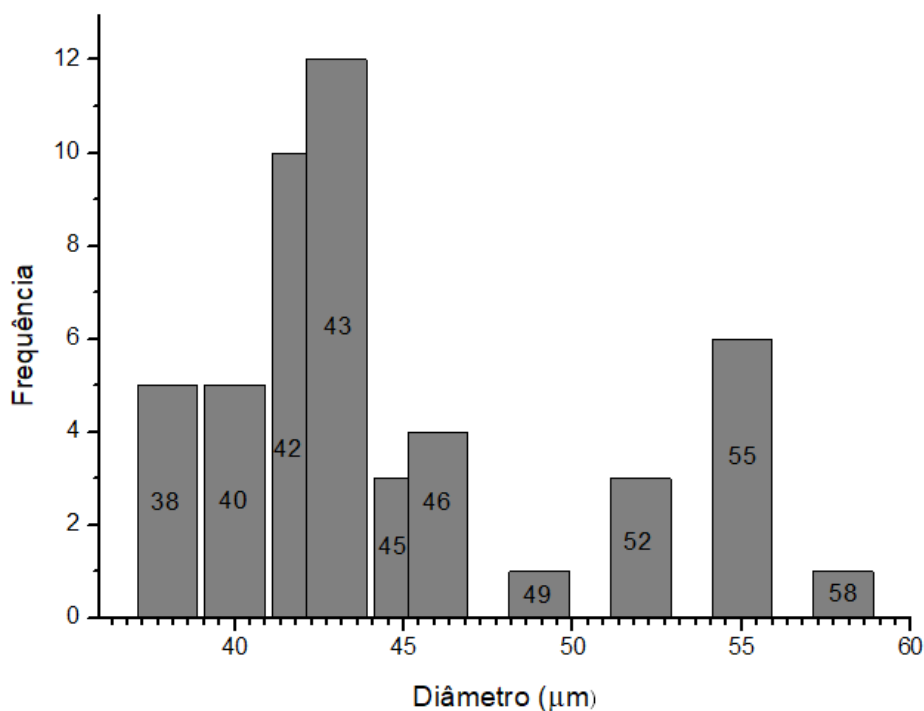
Diâmetro (μm)	Frequência
38	5
40	5
42	10
43	12
45	3
46	4
49	1
52	3
55	6
5	1
Média (μm)	46,8
	Medições
	50

Fonte: o próprio Autor.

A distribuição dos diâmetros foi apresentada no Gráfico 1. Observou-se uma distribuição heterogênea entre 38 μm e 58 μm , sendo as medidas de 42 μm e 43 μm de maior incidência. Esse intervalo representou 44% do valor total das medidas.

Abaixo desses valores a frequência das medidas em diferentes diâmetros não apresentou diferença significativa, sendo as medidas de 49 μm e 58 μm as de menor frequência com apenas 1 medida cada.

Gráfico 1 - Distribuição dos diâmetros e frequência de medidas para amostra de CB.



Fonte: o próprio Autor.

Entretanto, devido às limitações operacionais do equipamento utilizado na coleta das imagens e falta de recobrimento metálico das amostras, não foi possível obter imagens com boa qualidade em magnificações superiores às apresentadas.

É considerada a hipótese de que as fibras apresentadas nas micrografias sejam aglomerados de fibras com diâmetros inferiores aos observados, pois, a literatura apresenta dados sobre média de diâmetros de fibras de celulose bacteriana provenientes da fermentação da Kombucha entre 50 e 2000 nm em magnificações acima de 10.000 a 30.000x (Amarasekara et al., 2020; Arteaga-Ballesteros et al., 2021; Avcioglu et al., 2021; Dima et al., 2017; Oliver-Ortega et al., 2021; Sederavičiūtė et al., 2019; Sousa et al., 2021; Zhu et al., 2014)

5.1.6 Análise Termogravimétrica

As propriedades térmicas de FB, CB e CBCNF foram avaliadas em função da perda de massa em relação ao aumento da temperatura em atmosfera inerte de gás nitrogênio (N₂). A Figura 20 apresentou as curvas TG (termogravimétrica) e DTG (termogravimétrica derivada) para FB (Figura 20A), CB (Figura 20B) e CBCNF (Figura 20C), respectivamente.

O comportamento térmico das fibras de FB foi dividido em 3 estágios, enquanto para CB e CBCNF, foram observados apenas 2 estágios de perda de massa.

O primeiro estágio (1), observado para todas as amostras, foi referente à perda de água retida nas amostras. Esse estágio teve início em torno de 35°C e término em 120°C tanto para FB e CB, e para CBCNF em 48°C. Entretanto, pode-se observar um menor percentual de perda de massa em CB, possivelmente ocasionado pela ausência de resíduos da infusão que poderiam influenciar na retenção de água, conforme descrito por (Avcioglu et al., 2021) sobre a desidratação das fibras até temperatura em torno de 225°C. Neste intervalo de temperatura a perda de massa foi de 9,3% para FB, enquanto CB apresentou 3,1% de perda em relação à massa inicial. CBCNF apresentou um percentual de 7,8% de perda de massa. O que pode indicar que as fibras não estavam completamente secas, uma vez que são provenientes de CB.

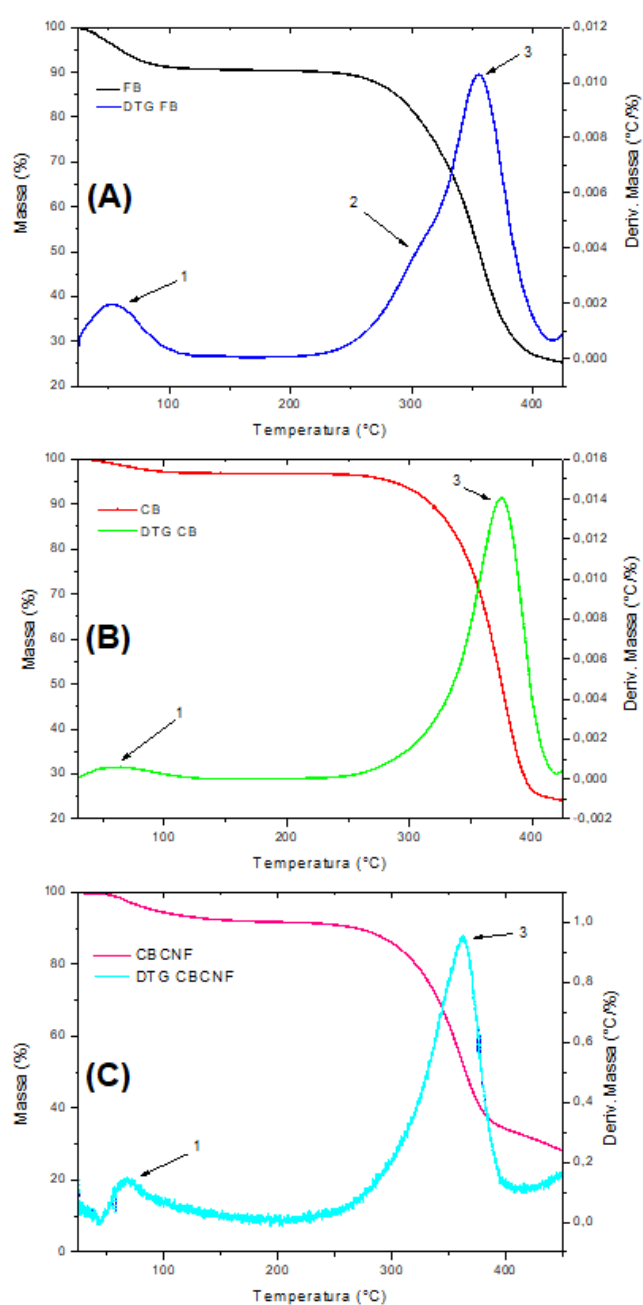
Após o primeiro estágio foi possível observar uma tendência linear nas curvas TG, indicando que não há perda de massa expressiva no intervalo entre 120°C e 225°C. Este comportamento linear se manteve até aproximadamente 225°C, quando teve início o segundo estágio (2), conforme pode ser observado na Figura 20 na curva TG de FB.

Nesse estágio notou-se uma perda de massa pouco acentuada em torno de 300°C em FB, a qual não pode ser observada nas demais amostras. Considerando a temperatura de degradação referente à decomposição de grupos presentes na celulose como a desidratação e decomposição de unidades glicosídicas, pode-se sugerir que em FB possivelmente podem ser encontrados resíduos do processo de infusão como fibras celulósicas da folha de chá verde e açúcares (sacarose), conforme evidenciado nas análises de FTIR anteriormente (Avcioglu et al., 2021; Dufresne, 2012; Liu et al., 2023; Siqueira et al., 2009). Esse evento pode ser observado com mais clareza no ponto indicado na curva DTG. A perda de massa de massa referente ao segundo estágio de degradação térmica em FB foi de 26,5% em

relação à massa inicial.

O processo de perda de massa com ponto mais expressivo em 355°C e estabilização em torno de 415°C para FB e CB foi chamado de terceiro estágio (3). Para CBCNF este estágio ocorreu entre as temperaturas de 361°C e 417°C. O qual foi o último evento observado para todas as amostras até a temperatura final de ensaio em torno de 450°C. As perdas de massa ocorridas no segundo e terceiro estágio são referentes a degradação da celulose presente em ambas as amostras (Avcioglu et al., 2021; César et al., 2015; Dufresne, 2012).

Figura 20 - Curvas TG e DTG para amostras de FB e CB.



Apesar de comportamentos semelhantes entre as amostras, a amostra de CBCNF apresentou melhor comportamento térmico, com menos estágios de perda de massa e curvas TG e DTG mais bem definidas em relação à FB e temperaturas de pico e finais superiores às demais amostras.

Os dados observados e discutidos de temperatura inicial (T_i), temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f) e os percentuais de perda de massa (m) referentes a cada estágio para as fibras, estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Temperaturas e percentual de perda de massa para FB, CB e CBCNF.

Estágio	Amostra	T_i (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)	m (%)
1	FB	35	60	120	9,3
	CB				3,1
	CBCNF	48	68	156	7,8
2	FB	225	300	327	26,5
3	FB	327	355	415	20,6
	CB	225	355	415	71,2
	CBCNF	210	361	417	67,5

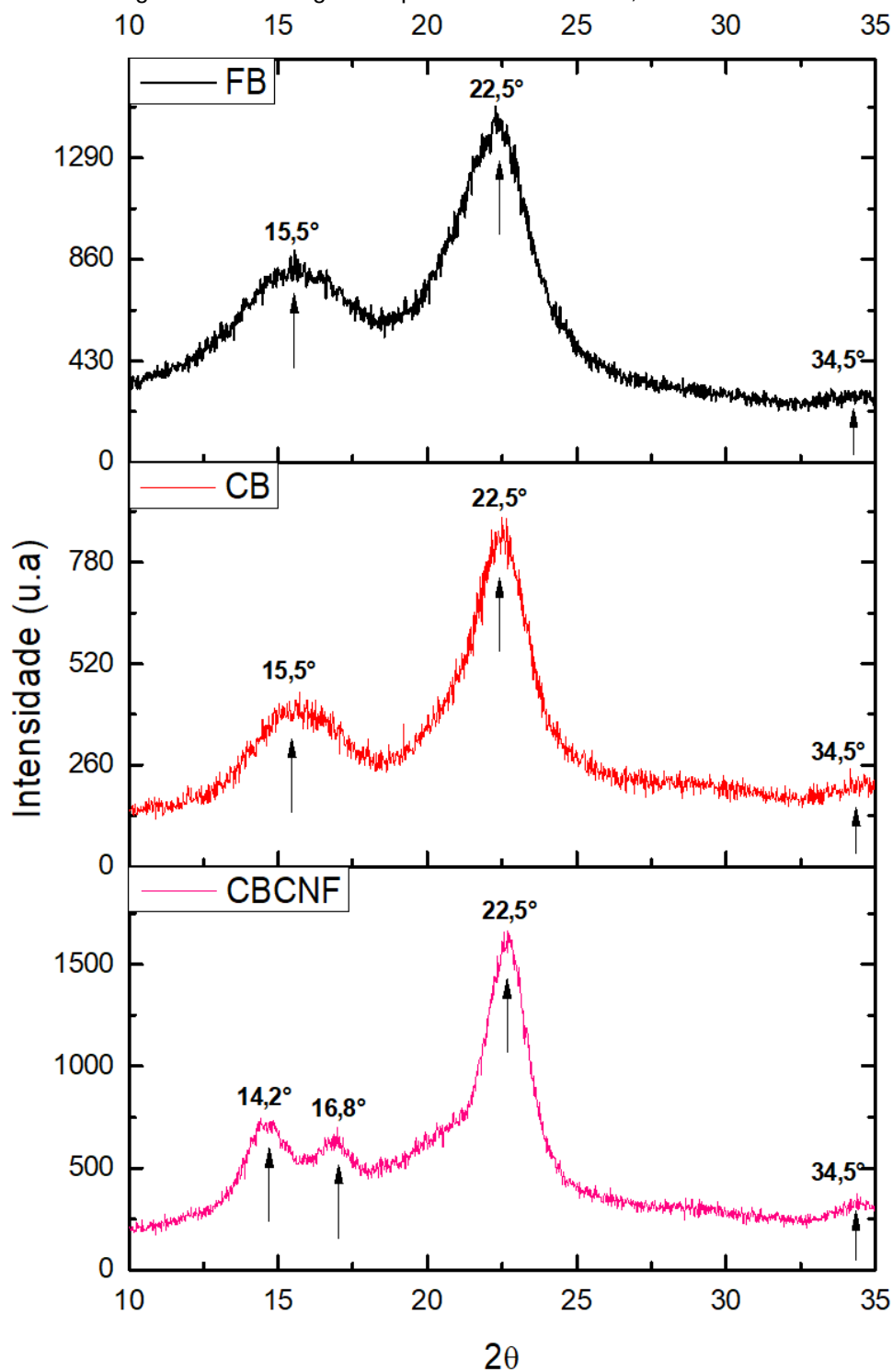
Fonte: o próprio Autor.

5.1.7 Difração de Raio-x (DR-X)

Como esperado os difratogramas de FB e CB não apresentaram diferenças significativas nos picos obtidos, pois não foram realizados tratamentos químicos para remoção de componentes da fibra, como no caso de fibras vegetais. Uma vez que a celulose bacteriana é mais pura quando comparada à celulose vegetal e não demanda tratamentos mais severos para remoção de componentes de fibras como lignina e hemicelulose (de Goes, 2020; Dufresne, 2012; Laavanya et al., 2021).

Para ambas as amostras (FB e CB) pode-se observar (Figura 21) a predominância de picos característicos de celulose tipo I, por exemplo em $2\theta = 15,5^\circ$, $22,5^\circ$ e $34,5^\circ$ e seus respectivos índices de Miller, ou planos cristalinos. Sendo eles $15,5^\circ$ (101), $22,5^\circ$ (001) e $34,5^\circ$ (004) (Amarasekara et al., 2020; Avcioglu et al., 2021; Kacsó et al., 2022) (Avcioglu et al., 2021; Chen et al., 2021).

Figura 21 - Difratogramas para amostras de FB, CB e CBCNF.



Fonte: o próprio Autor.

Na Tabela 8 é possível observar os índices de cristalinidade obtidos para FB e CB através do método de Segal evidenciando um índice de 72% de cristalinidade para CB e 59% para FB. Apesar da proximidade nos resultados observados para os índices de cristalinidade das amostras, o I_c de CB foi superior provavelmente por não

conter resíduos da infusão na amostra, conforme indicada na análise de FTIR anteriormente (Avcioglu et al., 2021; Chen et al., 2021).

Apesar de outras fontes apresentarem valores superiores de I_c para celulose bacteriana, em torno de 66% a 93% (Amarasekara et al., 2020; Avcioglu et al., 2021; Chen et al., 2021; Liu et al., 2023; Mittal et al., 2011), dados semelhantes aos apresentados na tabela foram observados por (Liu et al., 2023) e (Amorim et al., 2023)

Outros autores também relatam a influência do meio de cultivo ou tratamentos químicos no índice de cristalinidade da celulose bacteriana (Amarasekara et al., 2020; Avcioglu et al., 2021; Chen et al., 2021). Além de estudos que mostram que o cultivo de celulose bacteriana a partir da fermentação de um chá apresentaram cristalinidade inferior aos demais métodos de produção (Amorim et al., 2023; Avcioglu et al., 2021; Liu et al., 2023).

Tabela 8 - Índice de cristalinidade para FB, CB e CBCNF.

Amostra	IC (%)	Ângulo de Bragg (2θ)	Plano Cristalino
FB	59	15,5°	(101)
		22,5°	(110)
CB	72	34,5°	(004)
		14,2°	(100)
CBCNF	72	16,8°	(010)
		22,5°	(110)
		34,5°	(004)

Fonte: o próprio Autor.

Para CBCNF foram observados picos distintos em relação às demais amostras, em 14,2° e 16,8° com planos cristalinos (100) e (010), respectivamente. Estes picos são atribuídos à celulose tipo Ia conforme descrito por Ling *et al.*, 2018, onde os autores evidenciam a possibilidade de conversão do alomorfo da celulose através de tratamentos termoquímicos. Entretanto, CBCNF foi obtida através de um processo via cisalhamento mecânico sob condições de temperatura ambientes, indicando que podem ocorrer tais alterações via processos dessa natureza (Ling et al., 2018; Ruan et al., 2016; Sousa et al., 2021).

Os demais picos observados no difratograma de CBCNF foram em 22,5° e 34,5°, com planos cristalinos (110) e (004), assim como às demais amostras de celulose bacteriana (FB e CB). CBCNF apresentou um I_c de 72%, assim como CB.

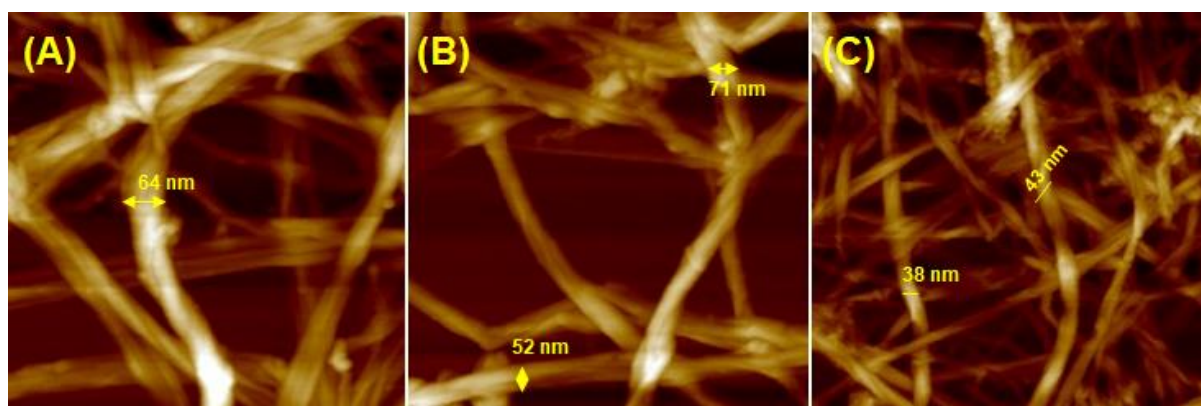
Indicando que o processamento mecânico na obtenção de nanocelulose bacteriana não influenciou na cristalinidade do material.

5.1.8 Microscopia de Força Atômica (AFM)

As amostras de CBCNF apresentaram variação nos diâmetros calculados, com média de $51,14 \pm 18,56$ nm. Os valores obtidos para a média dos diâmetros calculados correspondem aos descritos anteriormente por Dufresne, 2012 para nanofibras de celulose obtidas via cisalhamento mecânico utilizando o processo de discos cerâmicos rotativos.

A figura 22 apresenta micrografias de AFM para amostras de CBCNF em (A) $1 \times 1 \mu\text{m}$, (B) e (C) $2 \times 2 \mu\text{m}$, onde estão destacadas algumas regiões de coleta de medidas de diâmetros para consideração da média e desvio padrão para as amostras.

Figura 22 - Coleta de diâmetros de CNCNF, (A) $1 \times 1 \mu\text{m}$, (B) e (C) $2 \times 2 \mu\text{m}$.

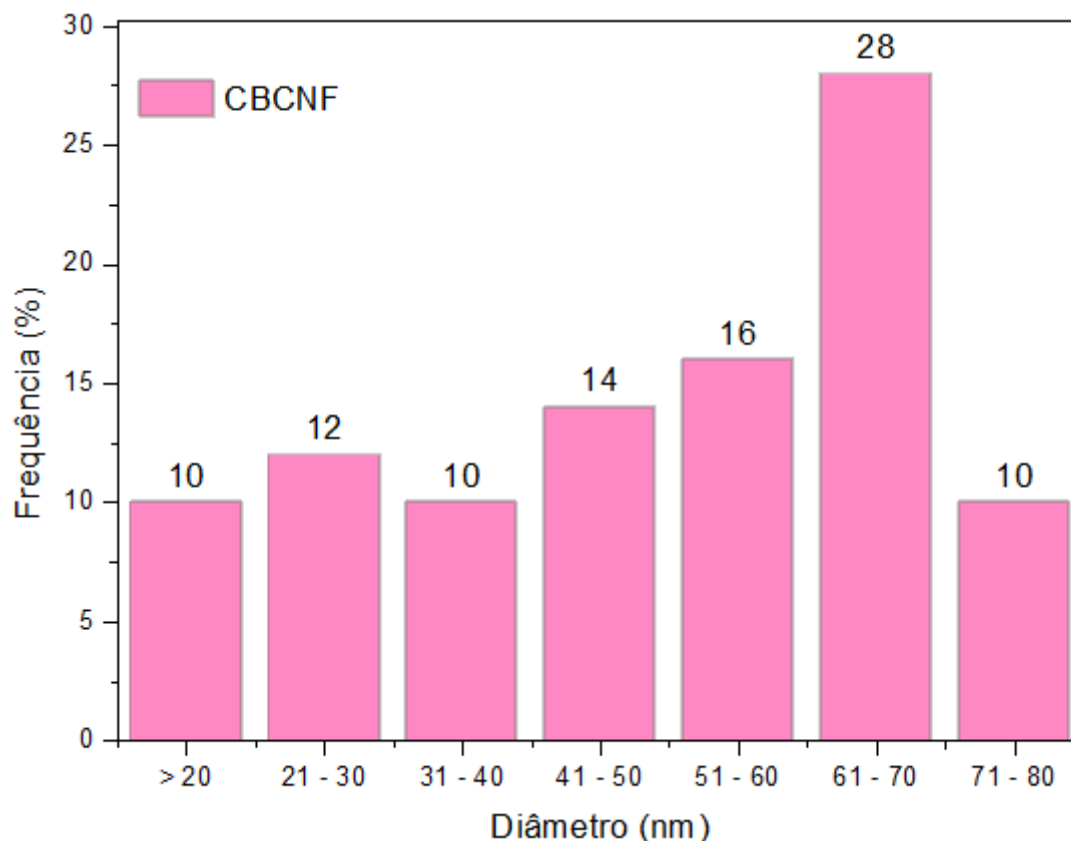


Fonte: o próprio Autor.

Observou-se uma predominância para diâmetros com medidas no intervalo entre 61 e 70 nm, conforme apresentado no gráfico 2. Esse intervalo representou 28% da frequência de diâmetros calculados para CBCNF. A partir da medida de 41 nm CBCNF apresentou um comportamento crescente até a faixa de 70 nm, com frequências de 14% para o intervalo de 41 e 50 nm, e 16% para medidas entre 51 e 60 nm.

Medidas acima dessas faixas representaram uma frequência de 10% dos diâmetros calculados, assim como o intervalo de 31 e 41 nm e medidas com diâmetro inferior a 20 nm.

Gráfico 2 – Distribuição dos diâmetros para CBCNF.



Fonte: o próprio Autor.

Outros autores apresentaram resultados similares para variação de diâmetros em nanofibras de celulose bacteriana, como por exemplo Sardjono e Muhajir, 2019 no estudo da variação da cristalinidade e morfologia da nanocelulose bacteriana extraída da membrana produzida a partir do resíduo da casca de abacaxi via homogeneização em alta pressão, com diâmetros calculados na faixa de 35 a 150 nm.

Oliver-Ortega *et. al.*, 2021 obtiveram uma média de 37 nm para diâmetros das nanofibras de celulose bacteriana obtidas a partir da fermentação de Kombucha e utilizadas no processo de reticulação com uma emulsão polimerizada de polimetilmetacrilato para desenvolvimento de nanocompósitos.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO FILME

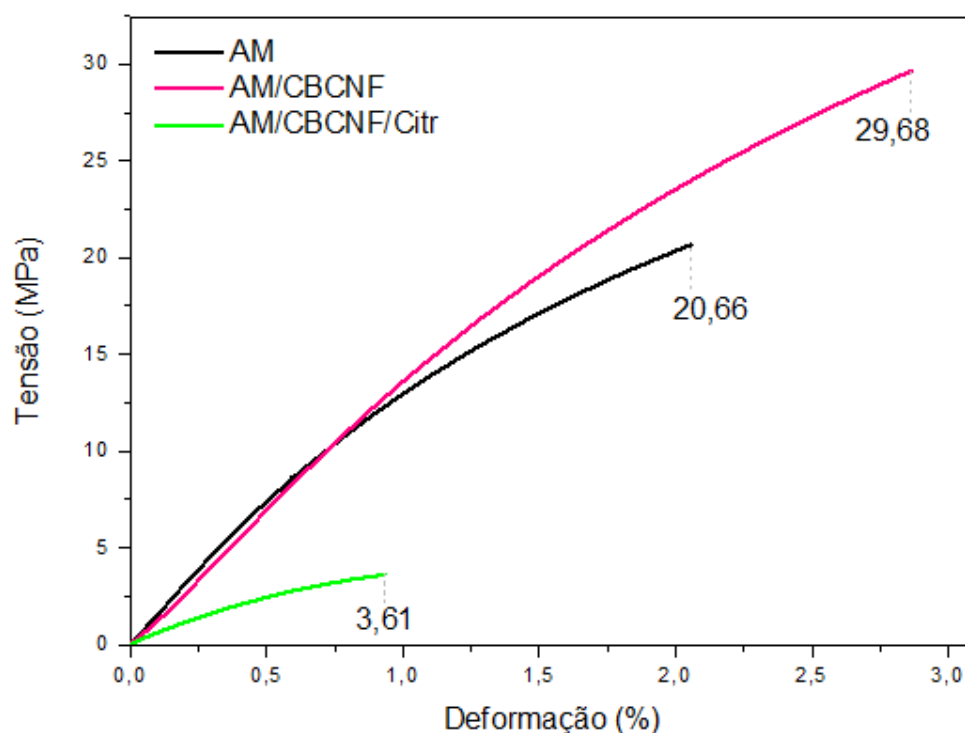
5.2.1 Ensaio de Tração Uniaxial

Os filmes foram submetidos ao ensaio mecânico de tração uniaxial e

apresentaram propriedades distintas quanto ao limite de resistência à tração. O filme AM apresentou limite de resistência à tração de 20,66 MPa, enquanto o AM/CBCNF 29,68 MPa, conforme apresentados na figura 23.

Estes dados corroboram com as evidências apresentadas por Montoya *et. al.*, 2019, Almeida *et. al.*, 2023 e Dmitrenko *et. al.*, 2023 em relação as melhorias das propriedades mecânicas devido à aplicação de nanocelulose em filmes de amido (Almeida *et al.*, 2023; Dmitrenko *et al.*, 2023; Montoya *et al.*, 2019).

Figura 23 – Curvas para ensaio mecânico Tensão x Deformação para os filmes AM, AM/CBCNF e AM/CBCNF/Citr.



Fonte: o próprio Autor.

Esse comportamento também foi observado na investigação apresentada por Efthymiou *et. al.*, 2022, abordando o desenvolvimento de embalagens alimentícias utilizando farinha de girassol como polissacarídeo da matriz dos biofilmes, reforçados com celulose bacteriana, para a finalidade de armazenamento de frutas. Onde, biofilmes contendo diferentes percentuais de nanocelulose bacteriana em suas composições, apresentaram melhores propriedades mecânicas em relação ao limite de resistência à tração (Efthymiou *et al.*, 2022).

Entretanto, os valores máximos para esta propriedade apresentados neste estudo são entre 1,7 e 3,0 MPa (Efthymiou *et al.*, 2022). O que representa uma inferioridade aproximadamente 10 vezes quando comparadas à AM/CBCNF.

Sugerindo que o polissacarídeo destinado à matriz do filme, também pode influenciar nas melhorias das propriedades mecânicas.

Os filmes contendo óleo de citronela (AM/CBCNF/Citr) apresentaram propriedades mecânicas muito inferiores quanto ao limite de resistência à tração em relação às demais amostras. Sendo AM/CBCNF mais de 8 vezes superior quando comparada à AM/CBCNF/Citr, evidenciando que a adição do óleo de citronela pode comprometer as propriedades mecânicas dos filmes a base de amido. A inclusão do óleo dificulta a aproximação das cadeias de celulose e, dessa forma, ocorre uma menor interação de segunda ordem via ligação hidrogênio entre os grupos hidroxílicos presentes em toda extensão das cadeias (Aitboulahsen et al., 2020; Vianna et al., 2021; Zubair et al., 2022).

Comportamentos semelhantes foram observados em outros trabalhos que contemplam o uso do óleo de citronela como componente de filmes a base de fontes naturais. Como o apresentado por Go e Song, 2020 na avaliação dos efeitos causados nas propriedades físico-químicas em filmes a base de quitosana quando adicionado óleo de citronela. Outro exemplo, é trabalho desenvolvido por Ferreira et al., 2023 onde o óleo de citronela foi adicionado em filmes a base de poliácido láctico (PLA) para avaliação de atividade antibacteriana.

Em ambos os estudos os filmes contendo óleo de citronela apresentaram propriedades mecânicas inferiores quando comparados às versões dos filmes puramente compostas pela fonte matriz. No caso dos filmes de quitosana, a relação entre o percentual de óleo adicionado e o limite de resistência à tração foi inversamente proporcional. Tendo o filme com maior percentual de óleo (1,5% m/m) apresentado o menor valor para tal propriedade. Este, quando comparado ao filme de quitosana, apresentou limite de resistência à tração 50% inferior (Go and Song, 2020).

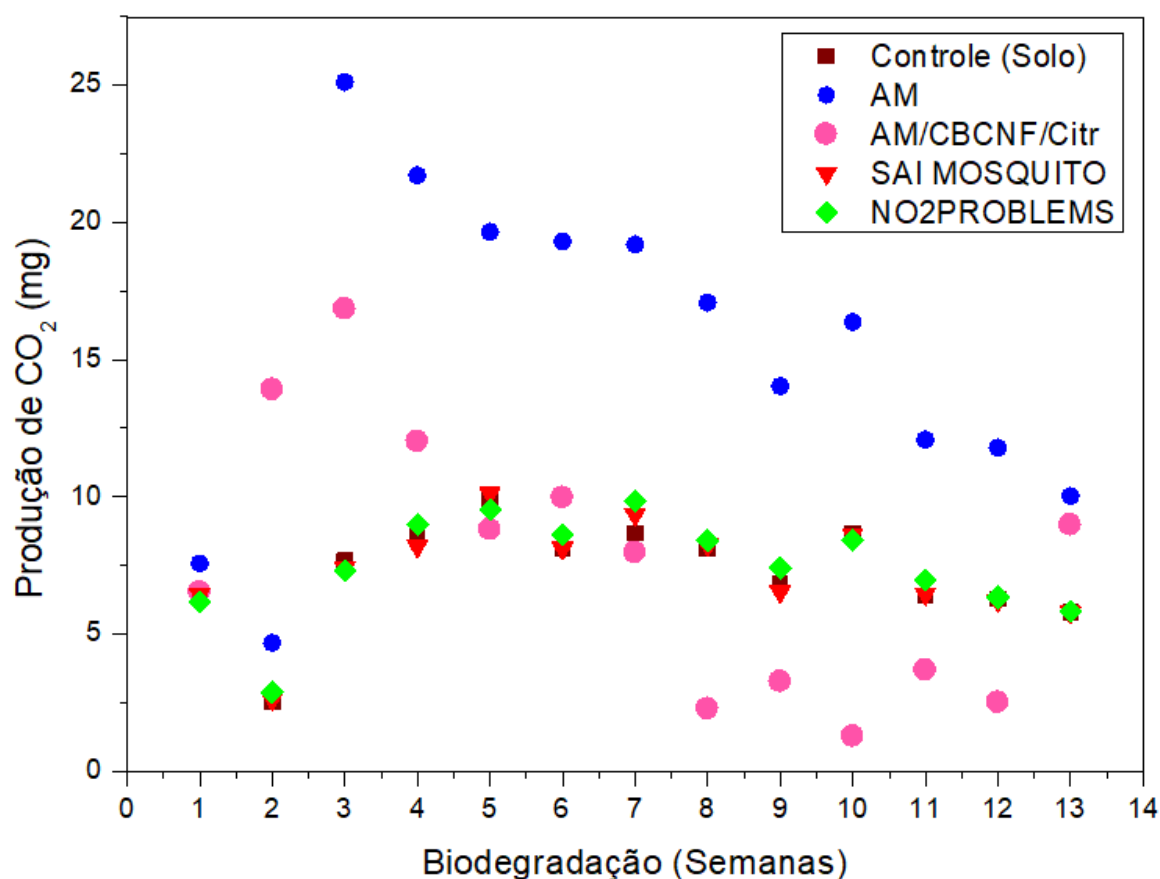
Para os filmes de PLA, observou-se que a amostra contendo 10% (m/m) de óleo de citronela (PLA/10%cit) obteve o melhor resultado em relação ao limite de resistência à tração quando comparado aos demais filmes (PLA, PLA/3%cit, PLA/15%cit e PLA/20%cit). Entretanto, o filme PLA/15%cit apresentou valor inferior à PLA/3%cit e superior à PLA/20%cit. Sugerindo que, a adição do óleo de citronela pode auxiliar no ganho das propriedades mecânicas em relação ao limite de resistência à tração, porém, existe uma faixa limitante quanto à incorporação do óleo em matrizes poliméricas para que não ocorra o efeito plastificante, reduzindo a coesão molecular e afetando negativamente as propriedades mecânicas, como a

resistência à tração (Ferreira et al., 2023; Majeed et al., 2016; Rojas-lerma et al., 2023)

5.2.2 Biodegradação

Os dados do processo de biodegradação em solo referentes ao período inicial de 13 semanas para os filmes de amido (AM), utilizado como parâmetro quanto à influência do óleo de citronela na biodegradação, amido reforçado combinado em emulsão de nanocelulose e óleo de citronela (AM/CBCNF/Citr), os adesivos repelentes comerciais das marcas “SAI MOSQUITO” e “NO2PROBLEMS”, além de uma amostra controle do solo, são apresentados na figura 24.

Figura 24 – Processos de biodegradação em solo para os filmes de amido e adesivos repelentes comerciais.



Fonte: o próprio Autor.

A primeira semana, que configura o início do processo de biodegradação mostrou que não ocorreu nenhuma atividade biológica de degradação dos filmes ou emissão de CO_2 significativa entre os materiais. Visto que o processo de

biodegradação de polímeros à base de amido é desencadeada pelo ataque enzimático nas ligações glicosídicas entre as unidades de açúcar, o que pode demandar um período superior a 7 dias para ocorrer (Avérous, 2004; Bher et al., 2022).

A segunda coleta de dados, referente à segunda semana do processo de encubação dos filmes, apresentou um comportamento similar para as amostras Controle e dos adesivos comerciais. Entretanto, para os filmes AM e AM/CBCNF/Citr observou-se a produção de aproximadamente 4,8 e 14,6 mg de CO₂, respectivamente. Evento esse, resultante da clivagem das cadeias poliméricas, originando oligossacarídeos, dissacarídeos e monossacarídeos. Unidades de menor complexidade e mais susceptíveis à degradação microbiana ou enzimática.

O comportamento durante o processo de biodegradação dos adesivos comerciais foi semelhante ao da amostra controle durante todo o período das 13 semanas. Apresentando maior produção de CO₂ na sétima semana. Entretanto, estatisticamente essa produção de CO₂ é mínima, não podendo ser atribuída à uma degradação decorrente de uma ação microbiana (Avérous, 2004). O que pode ser esperado para estes materiais devido as suas composições majoritariamente a base de polímeros de origem não natural (Bher et al., 2022).

Para AM pode-se observar um comportamento linear em relação ao decaimento na produção de CO₂, com valor máximo de produção de aproximadamente 26,1 mg obtido na terceira semana de incubação. Indicando que o processo de degradação via ação microbiana está ocorrendo (Avérous, 2004).

Assim como AM, o filme AM/CBCNF/Citr apresentou sua maior produção de CO₂ na terceira semana, com valor de aproximadamente 16,7 mg. Após esse período, pode-se observar um comportamento linear em relação ao decaimento dos valores de produção de CO₂. Entretanto, diferentemente de AM, a amostra de AM/CBCNF/Citr apresentou valores de produção de CO₂ abaixo dos valores observados para a amostra controle a partir da quinta semana de incubação.

Outros autores relataram que o óleo de citronela é um potencial agente antimicrobiano (Arancibia et al., 2014; Ferreira et al., 2023), podendo interferir na proliferação de microrganismos e assim utilizados como aditivos na confecção de materiais para prolongar a qualidade de alimentos, por exemplo.

Esta propriedade atribuída ao óleo de citronela pode afetar os microrganismos

presentes no solo durante o período de incubação, tornando assim o processo de degradação polimérica via ataque microbiano menos eficiente. Ao ponto de apresentar uma produção de CO₂ abaixo dos níveis observados para a amostra controle durante o mesmo período de incubação. Indicando que AM/CBCNF/Citr apresentou atividade antimicrobiana, conforme descrito por outros autores anteriormente, durante o período entre a quinta e décima segunda semana de incubação (Arancibia et al., 2014; Avérous, 2004; Bher et al., 2022; Ferreira et al., 2023).

Após o período referente à décima segunda semana, AM/CBCNF/Citr voltou a apresentar produção de CO₂ acima dos valores observados para a amostra controle, sugerindo que o aumento da atividade microbiana ocorreu após este período.

É esperado que o processo de biodegradação referente à materiais de origem natural, como amido e celulose, atinja ao menos 70% da decomposição destes materiais em um período de até 180 dias (Avérous, 2004; Bher et al., 2022).

6 CONCLUSÕES

O método de fermentação de Kombucha através de folhas de chá verde é capaz de produzir celulose bacteriana, conforme evidenciado através das técnicas de caracterização empregadas neste trabalho.

A remoção dos resíduos presentes no SCOBY é necessária para que se obtenha celulose bacteriana de maior pureza, conforme observado através das imagens de MEV, e com maior índice de cristalinidade de acordo com as análises de DRX.

O processo de cisalhamento mecânico foi eficiente para isolar nanofibras, de acordo com as imagens obtidas via técnica de AFM e análise da frequência de diâmetros calculados em pontos aleatórios das fibras.

É possível obter uma emulsão estável de CBCNF e óleo de citronela através do processo de agitação constante em velocidades acima de 12.000 RPM.

O uso da técnica de *tape casting* no preparo de filmes a partir de uma solução filmogênica de amido de mandioca e emulsão de CBCNF com óleo de citronela foi eficiente. De modo que os filmes obtidos apresentaram regularidade superficial quanto à rugosidade e possíveis defeitos.

Adesivos comerciais com atividade repelente a base de citronela, não apresentam propriedades de biodegradação num período inicial de 13 semanas de incubação em solo. Entretanto, filmes de amido contendo óleo de citronela podem interferir diretamente no processo de biodegradação devido a atividade antimicrobiana a partir do óleo de citronela, podendo apresentar um período de degradação total ou parcial, superior aos filmes puramente de amido.

Análises complementares, como testes de repelência no modo gaiola, e testes de citotoxicidade são essenciais para a conclusão do estudo quanto a possibilidade de desenvolvimento e aplicação de filmes de amido com atividade repelente a base do óleo de citronela em escalas superiores às laboratoriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aitboulahsen, M., El Galiou, O., Laglaoui, A., Bakkali, M., Hassani Zerrouk, M., 2020. Effect of plasticizer type and essential oils on mechanical, physicochemical, and antimicrobial characteristics of gelatin, starch, and pectin-based films. *J. Food Process. Preserv.* 44, 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14480>
- Almeida, T., Karamysheva, A., Valente, B.F.A., Silva, J.M., Braz, M., Almeida, A., Silvestre, A.J.D., Vilela, C., Freire, C.S.R., 2023. Biobased ternary films of thermoplastic starch, bacterial nanocellulose and gallic acid for active food packaging. *Food Hydrocoll.* 144. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108934>
- Amarasekara, A.S., Wang, D., Grady, T.L., 2020. A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Appl. Sci.* 2, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1982-2>
- Amorim, L.F.A., Li, L., Gomes, A.P., Figueiro, R., Gouveia, I.C., 2023. Sustainable bacterial cellulose production by low cost feedstock: evaluation of apple and tea by-products as alternative sources of nutrients. *Cellulose* 30, 5589–5606. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05238-0>
- Arancibia, M.Y., López-caballero, M.E., Gómez-guillén, M.C., 2014. Release of volatile compounds and biodegradability of active soy protein lignin blend films with added citronella essential oil. *Food Control* 44, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.025>
- Arteaga-Ballesteros, B.E., Guevara-Morales, A., Martín-Martínez, E.S., Figueroa-

- López, U., Vieyra, H., 2021. Composite of polylactic acid and microcellulose from kombucha membranes. *E-Polymers* 20, 015–026.
<https://doi.org/10.1515/epoly-2021-0001>
- Avcioglu, N.H., Birben, M., Seyis Bilkay, I., 2021. Optimization and physicochemical characterization of enhanced microbial cellulose production with a new Kombucha consortium. *Process Biochem.* 108, 60–68.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.06.005>
- Avérous, L., 2004. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review. *J. Macromol. Sci. - Polym. Rev.* <https://doi.org/10.1081/MC-200029326>
- Bakrudeen, H.B., Sudarvizhi, C., Reddy, B.S.R., 2016. Starch nanocrystals based hydrogel: Construction, characterizations and transdermal application. *Mater. Sci. Eng. C* 68, 880–889. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.018>
- Bangar, S.P., Purewal, S.S., Trif, M., Maqsood, S., Kumar, M., Manjunatha, V., Rusu, A.V., 2021. Functionality and applicability of starch-based films: An eco-friendly approach. *Foods* 10, 1–24. <https://doi.org/10.3390/foods10092181>
- Bangar, S.P., Whiteside, W.S., 2021. Nano-cellulose reinforced starch bio composite films- A review on green composites. *Int. J. Biol. Macromol.* 185, 849–860.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.017>
- Battikh, H., Bakhrouf, A., Ammar, E., 2012. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT - Food Sci. Technol.* 47, 71–77.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.033>
- Bergottini, V.M., Bernhardt, D., 2023. Bacterial cellulose aerogel enriched in nanofibers obtained from Kombucha SCOBY byproduct. *Mater. Today Commun.* 35, 105975. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.105975>
- Berto, G.L., Arantes, V., 2019. Kinetic changes in cellulose properties during defibrillation into microfibrillated cellulose and cellulose nanofibrils by ultra-refining. *Int. J. Biol. Macromol.* 127, 637–648.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.169>
- Bher, A., Mayekar, P.C., Auras, R.A., Schvezov, C.E., 2022. Biodegradation of Biodegradable Polymers in Mesophilic Aerobic Environments. *Int. J. Mol. Sci.* 23. <https://doi.org/10.3390/ijms232012165>
- Brito, F., Carvalho-guimar, D., Correa, K.L., Souza, T.P. De, 2022. A Review of Pickering Emulsions : Perspectives and Applications. *Pharmaceuticals* 15, 1–21.

- Carneiro, W.V., 2016. Oléo Essencial de Cintronela: Avaliação do seu pontencial repelente veiculado em uma loção cremosa.
- Cazón, P., Vázquez, M., 2021. Improving bacterial cellulose films by ex-situ and in-situ modifications: A review. *Food Hydrocoll.* 113.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106514>
- César, N.R., Pereira-da-silva, M.A., Botaro, V.R., Menezes, A.J. De, 2015. Cellulose nanocrystals from natural fiber of the macrophyte *Typha domingensis* : extraction and characterization. *Cellulose* 22, 449–460.
<https://doi.org/10.1007/s10570-014-0533-7>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., Gachhui, R., 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *Int. J. Food Microbiol.* 220, 63–72.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- Chen, S.Q., Meldrum, O.W., Liao, Q., Li, Z., Cao, X., Guo, L., Zhang, S., Zhu, J., Li, L., 2021. The influence of alkaline treatment on the mechanical and structural properties of bacterial cellulose. *Carbohydr. Polym.* 271, 118431.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118431>
- Chrisandina, N.J., Kwok, T.T., Bommarius, A.S., Realff, M.J., 2019. Techno-economic analysis of water precipitation for lignin value prior to pulping. *Chem. Eng. Res. Des.* 143, 4–10. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2018.10.042>
- Coelho, R.M.D., Almeida, A.L. de, Amaral, R.Q.G. do, Mota, R.N. da, Sousa, P.H.M. d., 2020. Kombucha: Review. *Int. J. Gastron. Food Sci.* 22, 100272.
<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>
- Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., Boix, A.C., 2018. Reinforcement of thermoplastic starch films with cellulose fibres obtained from rice and coffee husks. *J. Renew. Mater.* 6, 599–610. <https://doi.org/10.32604/JRM.2018.00127>
- Coltelli, M., Morganti, P., Castelvetro, V., Lazzeri, A., Danti, S., Benjelloun-mlayah, B., Gagliardini, A., Fusco, A., Donnarumma, G., 2022. Chitin Nanofibril-Nanolignin Complexes as Carriers of Functional Molecules for Skin Contact Applications. *Nanomaterials* 12, 1295.
- Cui, C., Ji, N., Wang, Y., Xiong, L., Sun, Q., 2021. Bioactive and intelligent starch-based films : A review. *Trends Food Sci. Technol.* 116, 854–869.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.024>

- Cui, C., Jia, Y., Sun, Q., Yu, M., Ji, N., Dai, L., Wang, Y., Qin, Y., Xiong, L., 2022. Recent advances in the preparation, characterization, and food application of starch-based hydrogels. *Carbohydr. Polym.* 291, 119624. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119624>
- Czaja, W.K., Young, D.J., Kawecki, M., Brown, R.M., 2007. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. *Biomacromolecules* 8, 1–12. <https://doi.org/10.1021/bm060620d>
- De Filippis, F., Troise, A.D., Vitaglione, P., Ercolini, D., 2018. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiol.* 73, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>
- de Goes, T.S., 2020. Obtenção de nanocelulose bacteriana de Kombucha. Repositório Inst. da Univ. Fed. São Carlos.
- de Lima, V.H., 2016. Obtenção de nanocelulose via hidrólise ácida a partir dos resíduos da produção de cerveja.
- Dima, S.O., Panaitescu, D.M., Orban, C., Ghiurea, M., Doncea, S.M., Fierascu, R.C., Nistor, C.L., Alexandrescu, E., Nicolae, C.A., Trica, B., Moraru, A., Oancea, F., 2017. Bacterial nanocellulose from side-streams of kombucha beverages production: Preparation and physical-chemical properties. *Polymers (Basel)*. 9, 5–10. <https://doi.org/10.3390/polym9080374>
- Dmitrenko, M., Kuzminova, A., Cherian, R.M., Joshy, K.S., Pasquini, D., John, M.J., Hato, M.J., Thomas, S., Penkova, A., 2023. Edible Carrageenan Films Reinforced with Starch and Nanocellulose: Development and Characterization. *Sustainability* 15, 15817. <https://doi.org/10.3390/su152215817>
- Donini, Í.A.N., De Salvi, D.T.B., Fukumoto, F.K., Lustri, W.R., Barud, H.S., Marchetto, R., Messaddeq, Y., Ribeiro, S.J.L., 2010. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. *Eclet. Quim.* 35, 165–178. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000400021>
- Duarte, É.B., Andrade, F.K., Lima, H.L.S., Nascimento, E.S. do, Carneiro, M.J.M., Borges, M. de F., Luz, E.P.C.G., Chagas, B.S. das, Rosa, M. de F., 2019. Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações. *Doc. (Embrapa Agroindústria Trop.* 186, 1–37.
- Dufresne, A., 2012. Nanocellulose: From nature to high performance tailored

- materials, Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials. <https://doi.org/10.1515/9783110480412>
- Dufresne, C., Farnworth, E., 2000. Tea, Kombucha, and health: A review. *Food Res. Int.* 33, 409–421. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3)
- Efthymiou, M.N., Tsouko, E., Papagiannopoulos, A., Athanasoulia, I.G., Georgiadou, M., Pispas, S., Briassoulis, D., Tsironi, T., Koutinas, A., 2022. Development of biodegradable films using sunflower protein isolates and bacterial nanocellulose as innovative food packaging materials for fresh fruit preservation. *Sci. Rep.* 12, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10913-6>
- Fan, Y., Picchioni, F., 2020. Modification of starch: a review on the application of “green” solvents and controlled functionalization. *Carbohydr. Polym.* 116350. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116350>
- Ferreira, R.R., Farina, M.C., Maia, A., Torin, R.F.S., 2023. PLA Films Containing Montmorillonite Nanoclay–Citronella Essential Oil Hybrids for Potential Active Film Formulation. *Macromol* 3, 200–210. <https://doi.org/10.3390/macromol3020012>
- Fischer, M.R., Garcia, M.C.F., Nogueira, A.L., Porto, L.M., Schneider, A.L. dos S., Pezzin, A.P.T., 2017. Biossíntese e caracterização de nanocelulose bacteriana para engenharia de tecidos. *Rev. Mater.* 22. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620170005.0270>
- Franco, T.S., Potulski, D.C., Viana, L.C., Forville, E., de Andrade, A.S., de Muniz, G.I.B., 2019. Nanocellulose obtained from residues of peach palm extraction (*Bactris gasipaes*). *Carbohydr. Polym.* 218, 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.035>
- Garlapati, V.K., Chandel, A.K., Kumar, S.P.J., Sharma, S., Sevda, S., Ingle, A.P., Pant, D., 2020. Circular economy aspects of lignin: Towards a lignocellulose biorefinery. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 130, 109977. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109977>
- Go, E.J., Song, K. Bin, 2020. Effect of java citronella essential oil addition on the physicochemical properties of Gelidium corneum-chitosan composite films. *Food Sci. Biotechnol.* 29, 909–915. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00740-8>
- Gomes Fernandes, M.R., Cruz Lopes, L., Suguimoto Iwami, R., Del Grossi Paglia, M., Mateus de Castilho, B., Maicon de Oliveira, A., Fulone, I., Silveira Leite, R.,

- de Cássia Bergamaschi, C., 2021. Efficacy and safety of repellents marketed in Brazil against bites from *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: A systematic review. *Travel Med. Infect. Dis.* 44. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2021.102179>
- Haq, F., Yu, H., Wang, L., Teng, L., Haroon, M., Khan, R.U., Mehmood, S., Bilal-Ul-Amin, Ullah, R.S., Khan, A., Nazir, A., 2019. Advances in chemical modifications of starches and their applications. *Carbohydr. Res.* 476, 12–35. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.02.007>
- Holtzapple, M.T., 2003. Cellulose. *Encycl. Food Sci. Nutr.* 998–1007.
- Hussin, M.H., Nelson, J., Eng, N., Hanis, N., Latif, A., Brosse, N., Ziegler-devin, I., Vahabi, H., Aulya, F., Fatriasari, W., Nurfajrin, N., Karimah, A., Heri, A., 2022. A recent advancement on preparation, characterization and application of nanolignin. *Int. J. Biol. Macromol.* 200, 303–326. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.007>
- Ilyas, R.A., Sapuan, S.M., Atikah, M.S.N., Asyraf, M.R.M., Rafiqah, S.A., Aisyah, H.A., Nurazzi, N.M., 2020. Effect of hydrolysis time on the morphological , physical , chemical , and thermal behavior of sugar palm nanocrystalline cellulose (*Arenga pinnata* (*Wurmb* .) Merr). *Text. Res. J.* 1, 1–13. <https://doi.org/10.1177/0040517520932393>
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Sathishkumar, M., 2014. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Sathishkumar, M., 2016. Kombucha. *Ref. Modul. Food Sci.* 1–8. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.03032-8>
- Kacsó, T., Hanna, E.A., Salinas, F., Astete, C.E., Bodoki, E., Oprean, R., Price, P.P., Doyle, V.P., Bonser, C.A.R., Davis, J.A., Sabliov, C.M., 2022. Zein and lignin-based nanoparticles as soybean seed treatment: translocation and impact on seed and plant health. *Appl. Nanosci.* 12, 1557–1569. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-02307-3>
- Kakaraparthi, P.S., Srinivas, K.V.N.S., Kumar, J.K., Kumar, A.N., Rajput, D.K., Sarma, V.U.M., 2014. Variation in the essential oil content and composition of *Citronella* (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. *Ind. Crops Prod.* 61, 240–248.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.044>

- Kalalinia, F., Amiri, N., Mehrvarzian, N., Sedigheh, B., Bazzaz, F., Shahroodi, A., Arabzadeh, S., Abbaspour, M., Aaval, B., Movaffagh, J., 2020. Topical green tea formulation with anti-hemorrhagic and antibacterial effects. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 23, 1–6. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.41397.9782>
- Khasnabis, J., Rai, C., Roy, A., 2015. Determination of tannin content by titrimetric method from different types of tea. *J. Chem. Pharm. Res.* 7, 238–241.
- Kumar, N., Kumar, S., Singh, S.P., Rao, R., 2021. Enhanced protective potential of novel citronella essential oil microsphere hydrogel against *Anopheles stephensi* mosquito. *J. Asia. Pac. Entomol.* 24, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.11.005>
- Kumoro, A.C., Wardhani, D.H., Retnowati, D.S., Haryani, K., 2021. A brief review on the characteristics, extraction and potential industrial applications of citronella grass (*Cymbopogon nardus*) and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oils. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 1053, 012118. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1053/1/012118>
- Laavanya, D., Shirkole, S., Balasubramanian, P., 2021. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *J. Clean. Prod.* 295, 126454. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126454>
- Las-Casas, B., Dias, I.K.R., Yupanqui-Mendoza, S.L., Pereira, B., Costa, G.R., Rojas, O.J., Arantes, V., 2023. The emergence of hybrid cellulose nanomaterials as promising biomaterials. *Int. J. Biol. Macromol.* 250. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126007>
- Lauer, M.K., Smith, R.C., 2020. Recent advances in starch-based films toward food packaging applications: Physicochemical, mechanical, and functional properties. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 19, 3031–3083. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12627>
- Laureys, D., Britton, S.J., De Clippeleer, J., 2020. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 78, 165–174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Leal, J.M., Suárez, L.V., Jayabalan, R., Oros, J.H., Escalante-Aburto, A., 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites.

- CYTA - J. Food 16, 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
- Leão, R.M., Miléo, P.C., Maia, J.M.L.L., Luz, S.M., 2017. Environmental and technical feasibility of cellulose nanocrystal manufacturing from sugarcane bagasse. *Carbohydr. Polym.* 175, 518–529. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.087>
- Lima, L.R., Santos, D.B., Santos, M. V., Barud, H.S., Henrique, M.A., Pasquini, D., Pecoraro, E., Ribeiro, S.J.L., 2015. Cellulose Nanocrystals From Bacterial Cellulose. *Quim. Nova* 38, 1140–1147. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150131>
- Ling, Z., Zhang, X., Yang, G., Takabe, K., Xu, F., 2018. Nanocrystals of cellulose allomorphs have different adsorption of cellulase and subsequent degradation. *Ind. Crop. Prod.* 112, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.052>
- Lis, M.J., Carmona, O.G., Carmoma, C.G., Bezerra, F.M., 2018. Inclusion Complexes of Citronella Oil with β -Cyclodextrin for Controlled Release in Biofunctional Textiles. *Polymers (Basel)*. 10, 1–14. <https://doi.org/10.3390/polym10121324>
- Liu, X., Cao, L., Wang, S., Huang, L., Zhang, Y., Tian, M., Li, X., Zhang, J., 2023. Isolation and characterization of bacterial cellulose produced from soybean whey and soybean hydrolyzate. *Sci. Rep.* 13, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42304-w>
- Liu, Y., Wang, F., Sun, Y., 2021. Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* CGMCC 1.2378 Using Coconut Shell Acid Hydrolysate as Carbon Source. *BioResources* 16, 1042–1062.
- Majeed, Z., Mansor, N., Man, Z., Wahid, S.A., 2016. Lignin reinforcement of urea-crosslinked starch films for reduction of starch biodegradability to improve slow nitrogen release properties under natural aerobic soil condition. *e-Polymers* 16, 159–170. <https://doi.org/10.1515/epoly-2015-0231>
- Mapossa, A.B., Focke, W.W., Tewo, R.K., Androsch, R., Kruger, T., 2021. Mosquito-repellent controlled-release formulations for fighting infectious diseases. *Malar. J.* 20. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03681-7>
- Mittal, A., Katahira, R., Himmel, M.E., Johnson, D.K., 2011. Effects of alkaline or liquid-ammonia treatment on crystalline cellulose: Changes in crystalline structure and effects on enzymatic digestibility. *Biotechnol. Biofuels* 4, 1–16.

<https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-41>

- Montoya-yepes, D.F., Jiménez-rodríguez, A.A., Aldana-porras, A.E., Velásquez-holguin, L.F., Méndez-arteaga, J.J., Murillo-arango, W., 2024. Starches in the encapsulation of plant active ingredients: state of the art and research trends. *Polym. Bull.* 81, 135–163. <https://doi.org/10.1007/s00289-023-04724-6>
- Montoya, Ú., Zuluaga, R., Castro, C., Vélez, L., Gañán, P., 2019. Starch and Starch/Bacterial Nanocellulose Films as Alternatives for the Management of Minimally Processed Mangoes. *Starch/Staerke* 71. <https://doi.org/10.1002/star.201800120>
- Moon, R.J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youngblood, J., 2011. Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites, *Chemical Society Reviews*. <https://doi.org/10.1039/c0cs00108b>
- Mu, R., Hong, X., Ni, Y., Li, Y., Pang, J., Wang, Q., Xiao, J., Zheng, Y., 2019. Recent trends and applications of cellulose nanocrystals in food industry. *Trends Food Sci. Technol.* 93, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.013>
- Navya, P. V., Gayathri, V., Samanta, D., Sampath, S., 2022. Bacterial cellulose: A promising biopolymer with interesting properties and applications. *Int. J. Biol. Macromol.* 220, 435–461. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.056>
- Nechyporchuk, O., Belgacem, M.N., Bras, J., 2016. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. *Ind. Crops Prod.* 93, 2–25. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016>
- Oliver-Ortega, H., Geng, S., Espinach, F.X., Oksman, K., Vilaseca, F., 2021. Bacterial cellulose network from kombucha fermentation impregnated with emulsion-polymerized poly(Methyl methacrylate) to form nanocomposite. *Polymers (Basel)*. 13, 1–17. <https://doi.org/10.3390/polym13040664>
- Pan American Health Organization;, World Health Organization;, 2023. Report on the Epidemiological Situation of Dengue in the Americas 2023.
- Pan, X., Li, J., Ma, N., Ma, X., Gao, M., 2023. Bacterial cellulose hydrogel for sensors. *Chem. Eng. J.* 461, 142062. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.142062>
- Pardini, F., Iregui, Á., Faccia, P., Amalvy, J., González, A., Irusta, L., 2021. Development and characterization of electrosprayed microcapsules of poly ϵ -caprolactone with citronella oil for mosquito-repellent application. *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 26, 497–516. <https://doi.org/10.1080/1023666X.2021.1916726>

- Raghavendran, V., Asare, E., Roy, I., 2020. Bacterial cellulose: Biosynthesis, production, and applications, 1st ed, Advances in Microbial Physiology. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2020.07.002>
- Raju, V., Revathiswaran, R., Subramanian, K.S., Parthiban, K.T., Chandrakumar, K., Anoop, E.V., Chirayil, C.J., 2023. Isolation and characterization of nanocellulose from selected hardwoods, viz., Eucalyptus tereticornis Sm. and Casuarina equisetifolia L., by steam explosion method. Sci. Rep. 13, 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26600-5>
- Revay, E.E., Junnila, A., Xue, R. De, Kline, D.L., Bernier, U.R., Kravchenko, V.D., Qualls, W.A., Ghattas, N., Müller, G.C., 2013. Evaluation of commercial products for personal protection against mosquitoes. Acta Trop. 125, 226–230. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.10.009>
- Rojas-lema, S., Nilsson, K., Langton, M., Trifol, J., Gomez-caturla, J., Balart, R., Garcia-garcia, D., Moriana, R., 2023. The effect of pine cone lignin on mechanical , thermal and barrier properties of faba bean protein films for packaging applications. J. Food Eng. 339, 111282. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111282>
- Ruan, C., Zhu, Y., Zhou, X., Abidi, N., Hu, Y., Catchmark, J.M., 2016. Effect of cellulose crystallinity on bacterial cellulose assembly. Cellulose 23, 3417–3427. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1065-0>
- Salim, R., Asik, J., Sani, M., 2021. Chemical functional groups of extractives, cellulose and lignin extracted from native Leucaena leucocephala. Wood Sci. Technol. 55, 295–313. <https://doi.org/10.1007/s00226-020-01258-2>
- Sanwal, N., Gupta, A., Bareen, M.A., Sharma, N., Sahu, J.K., 2023. Kombucha fermentation: Recent trends in process dynamics, functional bioactivities, toxicity management, and potential applications. Food Chem. Adv. 3, 100421. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100421>
- Sardjono, S.A., Muhajir, M., 2019. Crystallinity and Morphology of the Bacterial Nanocellulose Membrane extracted from Pineapple Peel Waste using High-Pressure Homogenizer. AIP Conf. Proc. 2120, 1–6.
- Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis do Departamento de Análise Epidemiológica e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis (Cgdant/Daent/SVS), 2022.

- Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 48 de 2022, Boletim Epidemiológico.
- Sederavičiūtė, F., Bekampienė, P., Domskienė, J., 2019. Effect of pretreatment procedure on properties of Kombucha fermented bacterial cellulose membrane. *Polym. Test.* 78. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105941>
- Segal, J.L., Creely, J.J., Martin, A.E., Conrad, M., 1959. Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer 786–794.
- Segato, F., Damásio, A.R.L., de Lucas, R.C., Squina, F.M., Prade, R.A., 2014. Genomics Review of Holocellulose Deconstruction by *Aspergilli*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 78, 588–613. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00019-14>
- Siqueira, G., Bras, J., Dufresne, A., 2009. Cellulose whiskers versus microfibrils: Influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites. *Biomacromolecules* 10, 425–432. <https://doi.org/10.1021/bm801193d>
- Soldera, P.E. dos S., Figueiredo, T.S., Dantas, R.F., Fagnani, E., 2020. Respirometria de Bartha como ferramenta na avaliação da decomposição anaeróbia de efluentes de abatedouros. *Rev. DAE* 68, 80–92.
- Sousa, L.P. dos S.B. de, Leite, P.M.S.C.M., Vieira, A.A., Faria, A.C., Vieira, L., 2021. Effect of water and alkali on purification bacterial cellulose membrane from Kombucha. *Res. Soc. Dev.* 10, e526101523267. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.23267>
- Srihari, T., Arunkumar, R., Arunakaran, J., Satyanarayana, U., 2013. Downregulation of signalling molecules involved in angiogenesis of prostate cancer cell line (PC-3) by kombucha (lyophilized). *Biomed. Prev. Nutr.* 3, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.001>
- Tariq, Z., Izhar, F., GMD, Z., Zulfiqar, A., Malik, M.H., Oneeb, M., Khan, A., 2022. Fabrication of highly durable functional textile through microencapsulation of organic citronella oil. *Ind. Crops Prod.* 190, 115878. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115878>
- Thambiraj, S., Ravi Shankaran, D., 2017. Preparation and physicochemical characterization of cellulose nanocrystals from industrial waste cotton. *Appl. Surf. Sci.* 412, 405–416. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.272>

- Thygesen, A., Oddershede, J., Lilholt, H., Thomsen, A.B., Ståhl, K., 2005. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. *Cellulose* 12, 563–576. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9001-8>
- Trifol, J., Moriana, R., 2022. Barrier packaging solutions from residual biomass: Synergetic properties of CNF and LCNF in films. *Ind. Crops Prod.* 177, 114493. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114493>
- Tsujimura, M., 1930. On Tea Tannin Isolated from Green Tea. *J. Agric. Chem. Soc. Japan* 6, 71–75. <https://doi.org/10.1080/03758397.1930.10856940>
- Tureck, B.C., Hackbarth, H.G., Neves, E.Z., Garcia, M.C.F., Apati, G.P., Recouvreux, D. de O.S., Pezzin, A.P.T., Schneider, A.L.D.S., 2021. Obtaining and characterization of bacterial cellulose synthesized by *Komagataeibacter hansenii* from alternative sources of nitrogen and carbon. *Rev. Mater.* 26. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620210004.1392>
- Van Eygen, E., Laner, D., Fellner, J., 2017. Circular economy of plastic packaging: Current practice and perspectives in Austria. *Waste Manag.* 72, 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.040>
- Vianna, T.C., Marinho, C.O., Marangoni Júnior, L., Ibrahim, S.A., Vieira, R.P., 2021. Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 182, 1803–1819. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.170>
- Wan, L., Li, H., Huang, C., Feng, Y., Chu, G., Zheng, Y., Tan, W., Qin, Y., Sun, D., Fang, Y., 2017. Influence of the temperature on the (liquid + liquid) phase equilibria of (water + 1-propanol + linalool or geraniol). *J. Chem. Thermodyn.* 109, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2016.12.011>
- Wang, J., Tavakoli, J., Tang, Y., 2019. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. *Carbohydr. Polym.* 219, 63–76. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008>
- Wang, Q.Q., Zhu, J.Y., Gleisner, R., Kuster, T.A., Baxa, U., McNeil, S.E., 2012. Morphological development of cellulose fibrils of a bleached eucalyptus pulp by mechanical fibrillation. *Cellulose* 19, 1631–1643. <https://doi.org/10.1007/s10570-012-9745-x>
- Younesi, M., Wu, X., Akkus, O., 2019. Controlled mercerization of bacterial cellulose provides tunability of modulus and ductility over two orders of magnitude. *J.*

Mech. Behav. Biomed. Mater. 90, 530–537.

<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.11.005>

Zhu, C., Li, F., Zhou, X., Lin, L., Zhang, T., 2014. Kombucha-synthesized bacterial cellulose: Preparation, characterization, and biocompatibility evaluation. J.

Biomed. Mater. Res. - Part A 102, 1548–1557.

<https://doi.org/10.1002/jbm.a.34796>

Zubair, M., Shahzad, S., Hussain, A., Pradhan, R.A., Arshad, M., Ullah, A., 2022.

Current Trends in the Utilization of Essential Oils for Polysaccharide-and Protein-Derived Food Packaging Materials. Polymers (Basel). 14.

<https://doi.org/10.3390/polym14061146>