

**Universidade Feevale
Mestrado Profissional em Tecnologia de Materiais
e Processos Industriais**

ALINE KRINDGES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
COMPÓSITOS DE CELULOSE BACTERIANA COM
MICRO/NANOCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON NARDUS***

NOVO HAMBURGO

2017

**Universidade Feevale
Mestrado Profissional em Tecnologia de Materiais
e Processos Industriais**

ALINE KRINDGES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE CELULOSE
BACTERIANA COM MICRO/NANOCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL
DE *CYMBOPOGON NARDUS***

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Tecnologia de Materiais e Processos Industriais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Materiais e Processos Industriais.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Dal Pont Morisso

Coorientadora: Prof^a Dr^a Vanusca Dalosto Jahno

Coorientador: Prof. Dr. Hernane da Silva Barud

NOVO HAMBURGO

2017

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

Krindges, Aline.

Preparação e caracterização de compósitos de celulose bacteriana com micro/nanocápsulas contendo óleo essencial de *cymbopogon narduss* / Aline Krindges. – 2017.

95 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Materiais e Processos Industriais) – Universidade Feevale, Novo Hamburgo-RS, 2017.

Inclui bibliografia e apêndice.

“Orientador: Prof. Dr. Fernando Dal Pont Morisso ;
Coorientadora: Prof^a. Dr^a Vanusca Dalosto Jahno ; Coorientador:
Prof. Dr. Hernane da Silva Barud”.

1. Celulose. 2. Laranja - Resíduos. 3. Incorporação. I. Título.

CDU 547.458.8

Bibliotecária responsável: Tatiane de Oliveira Bourscheidt – CRB 10/2012

**Universidade Feevale
Mestrado Profissional em Tecnologia de Materiais
e Processos Industriais**

ALINE KRINDGES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE CELULOSE
BACTERIANA COM MICRO/NANOCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL
DE *CYMBOPOGON NARDUS***

Dissertação de mestrado aprovada pela banca examinadora em 23 de fevereiro de 2017, necessária para conferir ao autor o título de Mestre em Tecnologia de Materiais e Processos Industriais.

Componentes da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fernando Dal Pont Morisso
(Orientador)
Universidade Feevale

Prof. Dr. Valdir Soldi
Universidade Feevale

Prof. Dr. Tiago Moreno Volkmer
Centro Universitário Franciscano (UNIFRA)

Dedicatória: Esse trabalho é dedicado à memória de minha mãe, Maria Lurdes Krindges, e de meu pai, Egon Lauro Krindges.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado o dom da vida.

Agradeço também aos meus pais Lurdes e Egon, mesmo não estando mais presentes, por terem me dado a base do que hoje sou.

Ao meu professor orientador Prof. Dr. Fernando Dal Pont Morisso e aos meus professores coorientadores a Prof^a Dr^a Vanusca Dalosto Jahno e o Prof. Dr. Hernane da Silva Barud por terem acreditado em mim, pela dedicação, e orientação para realização deste trabalho.

Ao pessoal do laboratório de materiais da Universidade Feevale, a Maria Luiza, a Júlia e ao Kevin.

À Rachel (Laboratório UNIARA) pela recepção e ajuda com as amostras.

À Andressa pela ajuda com amostras e pela amizade.

À todos os meus tios, primos, e a minha irmã, que quando na falta de minha mãe, me apoiaram e deram forças para que continuasse.

Ao meu namorado Artur e a Marli, por todo carinho e apoio que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos meus colegas do mestrado, em especial a Kelly, a Leisle, a Iara e o Vitor pelo amizade.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma participaram desta etapa.

RESUMO

A utilização de resíduos da agroindústria, como fonte de carbono e nutrientes para a produção da celulose bacteriana, pode servir como alternativa de baixo custo para produção da mesma. O presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de membranas de celulose bacteriana com e sem o uso de resíduos do processo de beneficiamento da laranja para posterior incorporação de micro/nanopartículas contendo óleo essencial. Para o desenvolvimento das membranas foi utilizado o meio de cultura estático e para a preparação das micro/nanopartículas foi utilizada a metodologia de nanoprecipitação. A incorporação das micro/nanopartículas foi realizada em amostras da celulose bacteriana na forma úmida e seca, do meio de cultivo que não utilizou resíduos da laranja. A dispersão com micro/nanopartículas utilizou solventes como água ou etanol para incorporação na celulose bacteriana. As amostras de celulose foram avaliadas em seu comportamento morfológico por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e foi realizada análise de espectroscopia no infravermelho (FTIR) para avaliação prévia da composição química. A cristalinidade foi avaliada pela análise de difração de raio-x e a molhabilidade foi avaliada pela medida de ângulo de contato. Para a caracterização das micro/nanopartículas foram realizadas análise de MEV, potencial zeta (PZ) e tamanho de partícula (TP). Já para a verificação da incorporação das partículas na celulose, foram realizadas análises de MEV e de FTIR. A morfologia das amostras de celulose apresentaram-se semelhantes, quando comparados os diferentes meios de cultivo. O ângulo de contato sugere a influência da cristalinidade das amostras. O perfil espectroscópico das análise de FTIR das amostras de celulose apresentaram-se semelhante ao encontrado na literatura. Para o processo de obtenção das micro/nanopartículas, os resultados corroboram a literatura para os diferentes tamanho de partículas, estabilidade da dispersão e PZ. A microscopia sugere que a incorporação das partículas nas celulosas úmida e seca e ocorre somente na superfície e não entre as suas fibras, exceto para amostra que utilizou etanol na celulose úmida. Este fato pode advir do tamanho da partícula ser maior que o espaço intersticial entre as fibras da celulose e também a interação entre solvente e a membrana da celulose bacteriana. Os resultados mostraram que é possível o desenvolvimento de membranas de celulose bacteriana com o uso dos resíduos de laranja e a produção e incorporação micro / nanopartículas contendo óleo essencial em membranas de celulose bacteriana, na forma úmida com etanol.

Palavras Chave: Celulose Bacteriana. Resíduos da Laranja. Micro/nanopartículas. Incorporação, Óleo essencial

ABSTRACT

The utilization of agroindustrial residues, as carbon source and nutrients for the bacterial cellulose production may be used as a low cost alternative for its production. This present study aims the development of bacterial cellulose membranes with and without the use of the residues of orange benefiting process further incorporation of oil essential micro/nanoparticles. For the development of the membranes it was used the static medium culture and for the preparation micro/nanoparticles it was used the nanoprecipitation methodology. The micro/nanoparticles incorporation was accomplished in bacterial cellulose samples, in the humid and dry form, the medium of culture that didn't use orange residues. The dispersion, with micro/nanoparticles, used water or ethanol solvents for incorporation in bacterial cellulose samples. The cellulose samples were evaluated in its morphological behavior through Scanning Electron Microscopy (SEM) and It was accomplished the Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) for the preliminary evaluation of chemical composition. The crystallinity was evaluated by measuring X-ray diffraction analysis and the wettability was evaluated by measuring contact angle. For the micro/nanoparticles characterization it was accomplish SEM, Zeta Potential (ZP) and particle size analysis. As for the cellulose incorporation it was carried SEM and FTIR analysis. The celluloses samples morphology presented themselves similar, when comparing the different culture medium. The contact angle suggests the influence of crystallinity on sample. The spectroscopic profile of the FTIR analysis, of the cellulose samples, showed up similar to the one in the literature. For the micro/nanoparticles process obtaining, the results corroborate in the literature for the different particles size, emulsion stability and zeta potencial. The microscopy suggest that particles incorporation in humid and dry celluloses, occurs only on the surface and not between its fibers, except that using ethanol in the humid cellulose. This may be due to the fact that the particles size is bigger than the cellulose fiber interstitial space and also the interaction between the solvent and the bacterial cellulose. The results showed that is possible the development of bacterial cellulose membranes with the use of the residues of orange and the production and incorporation of oil essential micro/nanoparticles in bacterial cellulose membranes, in the humid form and with ethanol.

Keywords: Bacterial Cellulose, Orange Residues, Micro/nanoparticles, Incorporation, Essential Oil

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura linear da celulose.....	17
Figura 2: Fibras de CB (a) e fibras da celulose vegetal (b)	18
Figura 3: Fluxo de produção da celulose bacteriana, meio de cultura estático	20
Figura 4: Potencial de valorização de resíduos agroindustriais.....	21
Figura 5: Estrutura de Nanocápsulas e de Nanoesferas	25
Figura 6: Divisão de Polímeros Biodegradáveis	26
Figura 7: Planta de <i>Cymbopogon nardus</i>	27
Figura 8: Método de preparação de nanopartículas – Nanoprecipitação	29
Figura 9: Representação do ângulo de contato maior que 90°C (a); menor que 90°C (b) e zero grau, representando um espalhamento total sobre a superfície (c).	30
Figura 10: Fluxograma de produção da CB meio de cultura estático.....	36
Figura 11: Processo de a) Preparação inicial meios de cultura, b) Inoculação, c) Lavagem e d) Secagem.	37
Figura 12: Processo de preparação das micro/nanopartículas	39
Figura 13: Semelhança entre as membranas de celulose bacteriana produzidas pelos diferentes meios (a) CB, (b) 100% de suco, (c) 50% de suco e (d) 25% de suco.....	44
Figura 14: Difractogramas de raio-x para: CB, CBL 100%, CBL 50% e CBL 25%.....	46
Figura 15: Celulose Bacteriana aumento de 10000x meio de cultura (a) HS, (b) 100%, (c) 50% e (d) 25% de suco.....	47
Figura 16: Espectros de infravermelho de (a) CB, (b) 100%, (c) 50% e (d) 25% de suco	48
Figura 17: Espectros de infravermelho com valores da CB meio de cultura (a) CB, (b) 100%, (c) 50% e (d) 25% de suco.....	49
Figura 18: Análise de AC para CB: (a) tempo zero; (b) 15 segundos; (c) 30 segundos.....	51
Figura 19: Amostra de micro e nanopartículas de PCL com óleo essencial de citronela.....	52
Figura 20: Micrografias das micro/nanopartículas das formulações: (a) 1, (b) 2 e (c) 3 tempo de evaporação de 4 horas – aumento de 5000X.....	53
Figura 21: Micrografias das micro/nanopartículas das formulações: (a) 4, (b) 5 e (c) 6 tempo de evaporação de 24 horas – aumento de 5000X.....	54

Figura 22: Resultados de tamanho de partícula formulações 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	55
Figura 23: Resultados da polidispersão(PDI) das formulações 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	56
Figura 24: Micrografia (a) CBS-3 (b) CBU-3.....	58
Figura 25: Micrografia (a) CBS-3 (b) CBU-3 (c) CBS-33, (d) CBU-33, (e) CBS-12 e (f) CBU-12 aumento de 3000 X.....	59
Figura 26: Micrografia CBU-33, aumento de 11000 X.....	60
Figura 27: Micrografia Transversal (a) CBS-3 (b) CBU-3 (c) CBS-33, (d) CBU-33, (e) CBS-12 E (f) CBU-12, aumento de 11000 X.....	61
Figura 28: Micrografia Transversal (a) CBS-3 (b) CBU-3 (c) CBS-33, (d) CBU-33, (e) CBS-12 E (f) CBU-12, aumento de 2000 X.....	63
Figura 29: Espectros de infravermelho: (a) óleo essencial, (b) PCL, (c) CB, (d) CBS-3 (e) CBU-3 (f) CBS-33, (g) CBU-33, (h) CBS-12 e (i) CBU-12.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Algumas aplicações da celulose bacteriana.....	23
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reagentes utilizados na preparação das membranas de CB.....	33
Tabela 2: Composição meio de cultura HS por bandeja 15x20cm com 500mL.	34
Tabela 3: Composição meio de cultura CB Controle e com diferentes concentrações de suco.....	35
Tabela 4: Reagentes utilizados na preparação das partículas.....	38
Tabela 5: Formulações utilizadas para a produção das micro e nanopartículas carregadas com óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i>	38
Tabela 6: Descrição do conteúdo de cada amostra de CB com incorporação de micro/nanopartículas.....	40
Tabela 7: Métodos de caracterização por etapa do processo.....	41
Tabela 8: Massa da CB e CBL's seca.....	45
Tabela 9: Tempo e AC encontrados na CB, CBL 100%, 50% e 25% de suco.....	50
Tabela 10: Potencial zeta(PZ) das formulações 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	57

LISTA DE ABREVIações

AC – Ângulo de Contato

CB – Celulose Bacteriana

CBHS – Celulose Bacteriana Hestrim e Schramm

CBL – Produzir membranas de celulose bacteriana a partir de resíduos agroindustriais da cadeia produtiva da laranja

CBS-3 – Celulose Bacteriana Seca com 3 mL de Dispersão

CBU-3 – Celulose Bacteriana Úmida com 3 mL de Dispersão

CBS-33 – Celulose Bacteriana Seca com 3 mL de Dispersão + 3 mL de álcool etílico

CBU-33 – Celulose Bacteriana Úmida com 3 mL de Dispersão + 3 mL de álcool etílico

CBS-12 – Celulose Bacteriana Seca com 1 mL de Dispersão + 2 mL de água purificada

CBU-12 – Celulose Bacteriana Úmida com 1 mL de Dispersão + 2 mL de água purificada

DRX – Difração de raios-X

FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy , Espectroscopia Vibracional de Infravermelho

HS - Hestrim e Schramm

MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

MIC – Concentração Inibitória Mínima

PCL - Policaprolactona

PDI - Polidispersão

PZ – Potencial Zeta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	16
1.1.1 Objetivo Geral	16
1.1.2 Objetivos Específicos	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 CELULOSE	17
2.2 CELULOSE BACTERIANA	18
2.2.1 Biossíntese	19
2.2.2 Resíduos da agroindústria	20
2.2.3 Aplicações da celulose bacteriana	22
2.3 PREPARAÇÃO DE COMPÓSITOS COM CELULOSE BACTERIANA	24
2.4 NANOPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS	25
2.4.1 Óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i>	27
2.4.2 Métodos de preparação de micro/nanopartículas	28
2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA, MICRO/NANOPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO DE CITRONELA E COMPÓSITOS	29
2.5.1 Difração de Raio-X	29
2.5.2 Ângulo de contato	30
2.5.3 Potencial zeta, tamanho de partícula e polidispersão	31
2.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura	31
2.5.5 Espectroscopia vibracional de infravermelho	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 PREPARAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA (CB)	33
3.2 PREPARAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA A PARTIR DE RESÍDUOS DA CADEIA PRODUTIVA DA LARANJA (CBL)	35
3.3 PREPARAÇÃO DE MICRO E NANOPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA	37
3.4 INCORPORAÇÃO DAS PARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA NAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA	40
3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	41
3.5.1 Difratometria de raio-X (DRX)	41

3.5.2 Ângulo de Contato (AC)	42
3.5.3 Potencial Zeta (PZ), Tamanho de Partícula e Polidispersão (PDI).....	42
3.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	42
3.5.5 Espectroscopia Vibracional de Infravermelho (FTIR)	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA	44
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICRO/NANOPARTÍCULAS	52
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA CONTENDO MICRO/NANOPARTÍCULAS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA.....	57
5 CONCLUSÃO	67
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	69
REFERÊNCIAS.....	70
APÊNDICES	86

1 INTRODUÇÃO

Novos compósitos têm sido estudados para aplicação em diversas áreas como a medicina, a cosmética e de eletrônicos, entre outras. Os materiais compósitos são preparados por combinação de um ou mais materiais com um polímero e as propriedades finais devem ser melhores do que as dos materiais constituintes sozinhos (MAZUMDAR, 2001).

Um material que vem despertando interesse como matéria prima para compósitos é a celulose bacteriana (CB) por conta de suas características químicas e biológicas como a biocompatibilidade e por ser atóxica (RECOUVEREX, 2008; JORFI & FOSTER, 2015). Outras características que fazem da celulose bacteriana um polímero atraente na utilização em compósitos são: a alta cristalinidade, resistência à tração, porosidade, elasticidade, durabilidade e alta capacidade de absorção e retenção de água (KLEMM *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2014).

Porém, a CB carece de algumas propriedades dependendo o campo de utilização e os compósitos com CB aparecem para adaptar características conforme a finalidade da aplicação (BISMARCK *et al.*, 2011; SHAH *et al.*, 2013). Alguns compósitos contendo nanopartículas associadas a CB já foram estudados em materiais com propriedades antibacteriana, em sensores e materiais fotocatalíticos, entre outros (MÜLLER, 2012; MOÇO, 2013; WANG *et al.*, 2015).

O fato da estrutura da CB ser porosa e tridimensional facilita a interligação entre dois ou mais componentes em sua estrutura. Porém, seu custo ainda é elevado, uma vez que o material é desenvolvido em meio sintético (GOMES *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2015).

O uso de resíduos agroindustriais na produção de CB pode ser uma alternativa de baixo custo e fonte abundante de matéria-prima (CAVKA *et al.*, 2013). Neste contexto, alguns resíduos de alimentos e da agroindústria podem servir como fonte de carbono e nutrientes para a produção da CB entre eles estão a água residual da batata, o melaço, sucos de abacaxi, uva e laranja entre outros (THOMPSON & HAMILTON, 2001; HONG & QIU, 2008; NAKAMURA *et al.*, 2009; DUFRESNE; THOMAS; POTHAN, 2013).

O Brasil é o maior produtor de laranjas no mundo, com uma produção em torno de 413 milhões de caixas de aproximadamente 41 Kg cada uma em 2013/14

(CANAL RURAL, 2014). Já as perdas da laranja após a colheita, chegam a 22%, sendo que se dividem em 10% no próprio campo, 50 % no manuseio e nas centrais de abastecimento, 30% comercialização e 10% pelo consumidor (SOARES, 2009). O suco de frutas, entre eles o de laranja, já foi utilizado com resultados satisfatórios na produção da CB (NAKAMURA *et al.*, 2009; CARREIRA *et al.*, 2011).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto foi produzir membranas de celulose bacteriana a partir de resíduos agroindustriais provenientes da cadeia produtiva da laranja e preparar e incorporar micro/nanopartículas contendo óleo essencial de *cymbopogon nardus* em membranas de CB.

1.1.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- a) Produzir membranas de celulose bacteriana a partir de resíduos agroindustriais da cadeia produtiva da laranja (CBL);
- b) Comparar a CBL com a CB;
- c) Produzir e caracterizar micro/nanopartículas contendo óleo essencial *cymbopogon nardus*;
- d) Incorporar micro/nanopartículas com óleo essencial na CB.

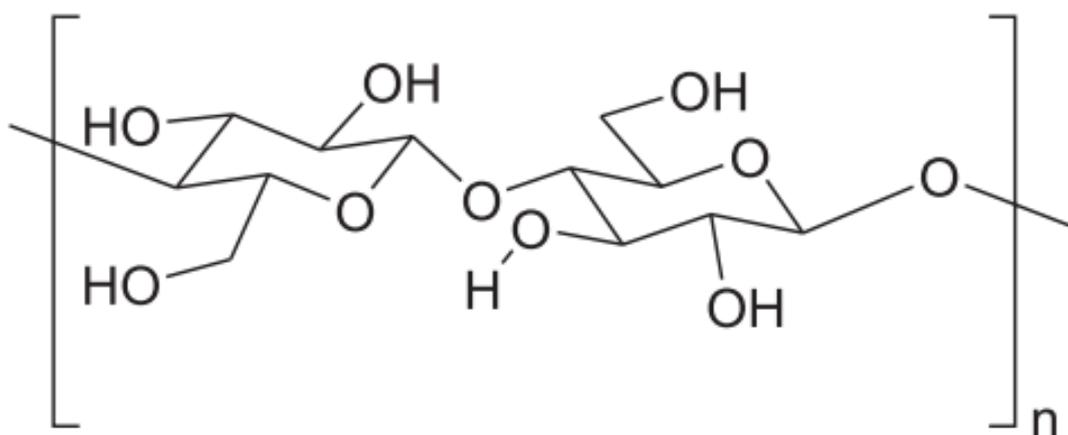
2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo, são abordados os principais conceitos referentes ao assunto deste trabalho e também ao aprofundamento da pesquisa. Para isto faz-se a revisão do que é a celulose, os tipos de celulose, sua biossíntese, alternativas na produção, nanopartículas contendo óleo essencial e métodos de caracterização.

2.1 CELULOSE

A celulose ($C_6H_{10}O_5$) é o biopolímero mais abundante no mundo e pode ser encontrados nas plantas verdes, em fungos e protozoários entre outros (SHODA & SUGANO, 2005; DONINI *et al.*, 2010; OKSMAN *et al.*, 2014). A celulose vegetal contém lignina e hemicelulose, componentes que exigem a remoção antes do uso, já a celulose bacteriana é livre destes dois componentes (CZAJA *et al.*, 2006). Na Figura 1 está representada a estrutura linear da celulose

Figura 1: Estrutura linear da celulose.

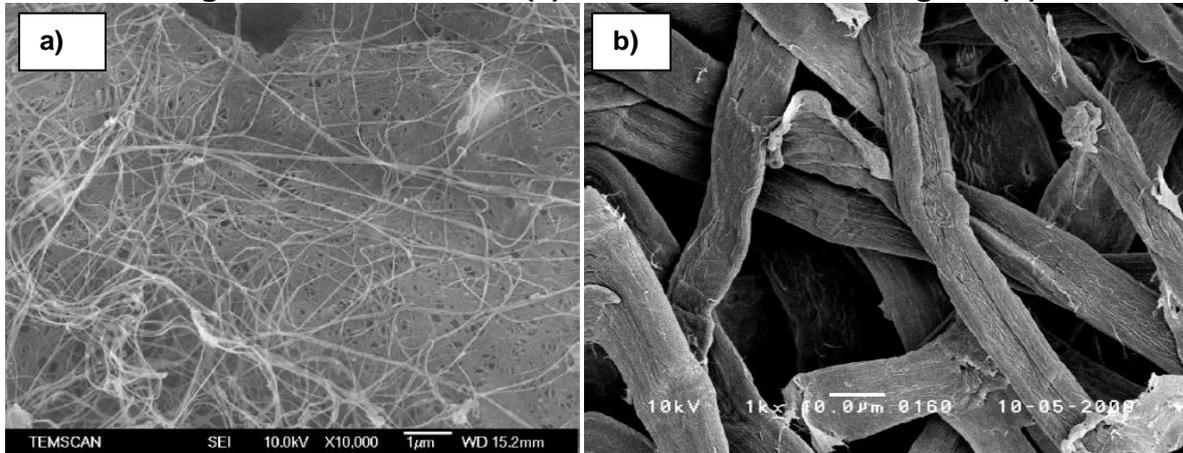


Fonte: Junior *et al.*, 2006

Sendo a celulose o polímero natural mais abundante e um dos principais constituintes das plantas, o interesse pela celulose surge naquela produzida por micro-organismos, que é conhecida como celulose bacteriana (DUARTE, 2014).

A Figura 2 mostra a diferença entre as fibras da CB e da celulose vegetal (DONINI *et al.*, 2010).

Figura 2: Fibras de CB (a) e fibras da celulose vegetal (b).



Fonte: Donini *et al.*, 2010

2.2 CELULOSE BACTERIANA

A fórmula química da CB é a mesma da celulose vegetal ($C_6H_{10}O_5$), porém suas fibras possuem dimensões nanométricas, o que oferece a mesma características distintas como alta resistência mecânica e à tração (DONINI *et al.*, 2010).

A bactéria *Acetobacter xylinum* (atualmente chamada de *Gluconacetobacter xylinus*) é uma das poucas que consegue secretar extracelularmente a celulose como fibras e neste sentido, a CB possui alta pureza química, ou seja, é livre de impurezas como a lignina e a hemicelulose (BAETS *et al.*, 1997; MARVÁN *et al.*, 2004; CZAJA *et al.*, 2006).

A CB possui excelentes características químicas e biológicas como biocompatibilidade, biodegradabilidade e ausência de toxicidade (JORFI & FOSTER, 2015). A CB ainda possui características como a alta cristalinidade, elasticidade, durabilidade e alta capacidade de absorção e retenção de água (KLEMM *et al.*, 2005).

No processo de biossíntese, a película de CB funciona como agente de flotação, permitindo que a bactéria permaneça em uma interface ar/líquido para

obter oxigênio e facilitar o seu crescimento. O mesmo ocorre para que o micro-organismo possa se proteger de condições ambientais prejudiciais. Ainda, o *Gluconacetobacter xylinus*, é gram negativo e estritamente aeróbico que realiza oxidação incompleta de vários açúcares e alcoóis (WILLIAMS & CANNON, 1989; MARVÁN *et al.*, 2004) .

2.2.1 Biossíntese

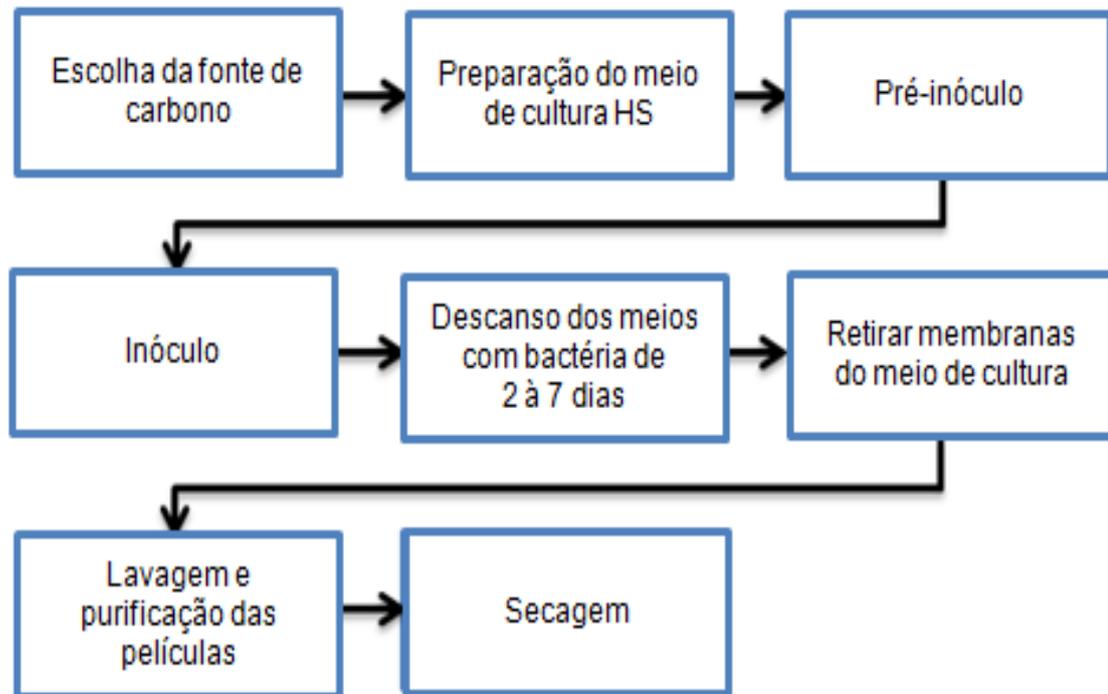
O processo de síntese de CB compreende três principais etapas. Na primeira ocorre a polimerização dos resíduos de glicose, na segunda ocorre a secreção extracelular das cadeias de CB e, por fim, na terceira, as glucanas se organizam e cristalizam por meio de interações de hidrogênio e forças de Van der Waals (BARUD, 2010).

Segundo Nakamura *et al.* (2009) existem 3 possíveis ações sobre o meio de cultura a serem utilizadas para a produção da CB a partir de sucos. Sendo elas :

- 1) Ajuste do pH do suco para 6 e utilização de fonte de nitrogênio na solução pelo método de Schramm e Hestrin (HS);
- 2) Somente ajuste do pH;
- 3) Utilização dos açúcares e utilização de fonte de nitrogênio pelo método de HS.

Já a manipulação dos meios de cultura para produção da CB pode ser estática, gerando uma membrana de CB, ou dinâmica, que gera pellets de CB. O mais comum e utilizado é o meio estático. A Figura 3 apresenta um fluxograma representativo da produção de CB em meio de cultura estático (DUARTE, 2014; GOMES *et al.* 2013).

Figura 3: Fluxo de produção da celulose bacteriana, meio de cultura estático.



Fonte: adaptado de Gomes *et al.*, 2013 e Duarte, 2014

Os meios de cultura que contém glicose como fonte de carbono, para produção da celulose, são muito caros. Assim, os resíduos agroindustriais podem vir a servir como uma fonte barata de carbono e nutrientes para aumentar a competitividade da CB (FREIRE *et al.*, 2011).

A membrana de CB depois de formada, deve ser removida do meio de cultura, lavada e purificada para retirar as impurezas. A secagem pode ser realizada em estufa ou outro ambiente compatível (NAKAMURA *et al.*, 2009; DUARTE *et al.*, 2014).

2.2.2 Resíduos da agroindústria

A agropecuária, a agroindústria, juntamente com a urbanização, são as maiores fontes de resíduos no Brasil e no mundo. Neste contexto, transformá-los em matéria-prima é um dos grande desafio da ciência atual (ROCHA, 2014).

A preocupação com resíduos não se restringe unicamente aos resíduos urbanos. Os maiores impactos ambientais são decorrentes dos processos de fermentação que conduzem ao chorume, que promovem a geração de odores e causam a diminuição de oxigênio dissolvido na água (GRAMINHA *et al.* 2008).

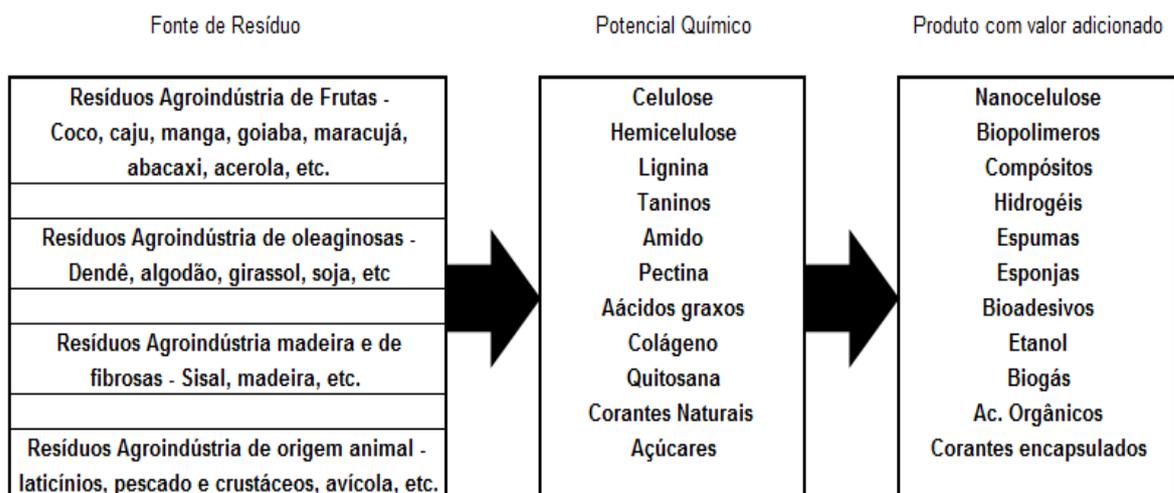
Os resíduos sólidos da agropecuária e da agroindústria são provenientes de usinas sucroalcooleiras, do processamento de carnes, de frutas e hortaliças, indústria de celulose e curtumes dentre outras fontes. Neste contexto, o que os torna atraentes é que possuem quantidades de nutrientes interessantes para serem convertidos em produtos comerciais ou secundários (DANTAS & AQUINO, 2010).

As utilizações de outros meios de cultura para produzir a CB, como os que utilizam resíduos agroindustriais, necessitam de um estudo mais detalhado sobre o processo de fabricação. Assim como também se faz necessário a verificação da ação dos nutrientes como açúcares e ácidos na produção da CB (DANESI & WOSIACKI, 1998).

Quanto à utilização de sucos de frutas na produção de CB, a laranja (em forma de suco, casca e restos de polpa) apresenta boas possibilidades. A bactéria pode utilizar-se de vários açúcares para produzir a CB e na laranja a sacarose é abundante (NAKAMURA *et al.*, 2009).

Na Figura 4 demonstram-se as fontes de resíduos agroindustriais e o potencial de valorização destes resíduos (ROSA *et al.*, 2011).

Figura 4: Potencial de valorização de resíduos agroindustriais.



Fonte: Rosa *et al.*, 2011

Também na Figura 4 é possível verificar alguns motivos que Graminha (2011) aponta como razão para os resíduos da agroindústria serem utilizados como fonte de carbono e demais nutrientes para a produção da CB, uma vez que apresentem cargas orgânicas e de nutrientes adequadas que propiciem o crescimento da CB.

2.2.3 Aplicações da celulose bacteriana

A CB pode ser aplicada nos mais variados setores, como o médico, o odontológico, o eletrônico e o de alimentos, dentre outros. Na área da saúde a CB possui propriedades físicas e mecânicas adequadas para ser utilizada como biomaterial. Como biomaterial, a CB pode ser utilizada na composição de dispositivos para promoção da recuperação de funções biológicas ocasionadas por doenças ou por acidentes (SILVA, 2012).

As características que permitem a aplicação da celulose na área biomédica são a morfologia, a pureza, a hidrofiliabilidade e a biocompatibilidade. Neste ínterim, estas características associadas às variações na disposição da malha de fibras, das diferentes capacidades de retenção de água e de diferentes capacidades de sofrer reidratação obtidas através da variação da manipulação do meio de cultura e da própria composição do meio, tornam a CB um material ainda a ser explorado. Na área biomédica a CB vem sendo aplicada na substituição de tecidos, em lentes de contato e na substituição de cartilagens, por exemplo. No entanto algumas dificuldades podem ser evidenciadas. Para maior sucesso na aplicação em tecidos, o grande desafio está no tamanho das moléculas da CB quando comparadas as células humanas, pois as primeiras são menores (SILVA, 2012; JORFI & FOSTER, 2015).

Ainda na área biomédica a CB vem sendo usada na segmentação do câncer, em enxertos vasculares, vasos sanguíneos artificiais, curativos em queimaduras, cicatrização de feridas e na engenharia de tecidos. Em cosméticos ela é usada em cremes hidratantes e loções adstringentes (SILVA, 2012; HSU *et al.*, 2013; JORFI & FOSTER, 2015; WEIBEL *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2015; HWANG *et al.*, 2015). Ao que tange o ramo alimentício, esta pode ser utilizada no recobrimento de frutas, como substituinte da cera de carnaúba, para conservação. Ainda a mesma é aplicada em sobremesas como a “nata de coco”. Já em outro segmento industrial a CB é utilizada na fabricação de sensores de gases, sensores magnéticos, em membranas condutivas entre outras aplicações (PECORARO *et al.*, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2015). O Quadro 1 relaciona algumas destas aplicações coletadas na literatura.

Quadro 1: Algumas aplicações da celulose bacteriana.

Indústria	Aplicação	Fonte
Biomédica e estética	Lentes de Contato	Dennis & Glonek (2010)
	Cápsulas de Medicamentos	Jorfi & Foster (2015)
	Substituição de Cartilagens	Gatenholm <i>et al.</i> (2005); Backdahl <i>et al.</i> (2006); Jorfi & Foster (2015); Weibel <i>et al.</i> (2015)
	Enxertos Vasculares	Klemm <i>et al.</i> (2001) ; Silva (2012) ; Yang <i>et al.</i> (2015)
	Curativos de feridas	Czaja <i>et al.</i> (2006) ; Hsu <i>et al.</i> (2013); Chen & Chang (2014) Hwang <i>et al.</i> (2015);
	Queimaduras	Czaja <i>et al.</i> (2006)
	Crems Hidratantes	Silva (2012); Lee <i>et al.</i> (2013)
	Loções Adstringentes	Silva (2012); Lee <i>et al.</i> (2013)
Alimentícia	Recobrimento de Alimentos	Assis <i>et al.</i> (2009); Almeida <i>et al.</i> (2013)
	Espessante	Clark <i>et al.</i> (1997)
	Sobremesa	Oliveira, (2013)
	Redução do colesterol	Stephens <i>et al.</i> (1990)
	Chá	Brown JR., (1998); Oliveira (2013)
Outras	Membranas condutoras Flexíveis	Vasconcelos (2009); Viana (2013); Chen <i>et al.</i> (2014); Wang <i>et al.</i> (2015)
	Sensores	Muller (2012); Wang <i>et al.</i> (2015)
	Componentes de Audio	Iguchi (1988); Brown JR., (1998)
	Fraldas e Absorventes	Sannino; Demitri; Madaghiele (2009)

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Na área da medicina, a CB, ainda pode ser utilizada como curativos, cosméticos e como agente de liberação de fármacos de forma controlada (PECORARO *et al.*, 2008).

2.3 PREPARAÇÃO DE COMPÓSITOS COM CELULOSE BACTERIANA

A formação de compósitos com a incorporação de outros componentes na CB podem ser realizada *in situ*, ou *ex situ* a sua síntese. O fator negativo da incorporação de componentes na síntese deve-se ao fato de perturbar os microorganismos que formam a CB e estes quando perturbados podem ter sua produtividade comprometida (BISMARCK *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2015).

O desenvolvimento de compósitos com a CB é comumente explorado, mas em alguns casos inclui-se um pré-tratamento na mesma. Este fato deve-se a interação entre os materiais que irão formar o compósito e assim pode-se utilizar, por exemplo, um agente de interface, que no caso da CB a confere um caráter menos hidrofílico para que seja utilizada com materiais hidrofóbicos (PINTO, 2007; SOUZA *et al.* 2012 a).

O tratamento superficial das fibras da CB pode ser feito por meios físicos ou químicos. Os meios físicos utilizados são, por exemplo, a calandragem, o tratamento térmico e a mistura de fios/fibras dentre outros. Já os tratamentos químicos podem ser a modificação da tensão superficial, que esta diretamente ligada a hidrofiliicidade das fibras, a impregnação de um agente de reforço, ou o acoplamento químico, que melhora a adesão interfacial, etc (BLEDZKI & GASSAN, 1999; WANG *et al.*, 2014)

A malha de fibras e a presença de água na CB, faz com que a mesma apresente grande número de interstícios entre as fibras, facilitando, assim, a incorporação de outros materiais em sua estrutura e nem sempre sendo necessários algum tratamento superficial (KLEMM *et al.*, 2001; PECORARO *et al.*, 2008; VITTA & THIRUVENGADAM, 2012).

Alguns processos de incorporação de componentes *ex situ* na CB são realizados com a mesma na forma úmida. Neste caso a membrana é imersa em meio com material a ser impregnado, ou ainda, o material pode ser depositado sobre a membrana úmida. Já a impregnação na forma seca, pode seguir dois processos. Um de trituração da membrana e posterior mistura aos agentes que formarão o compósito e outro de tratamento da membrana seca para posterior aplicação de outros componentes (SOUZA *et al.*, 2012 a; MARINS *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2014).

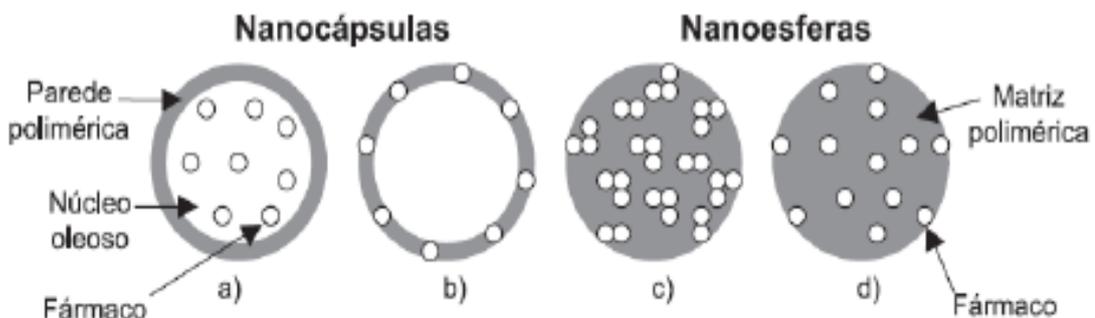
2.4 NANOPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS

Existem algumas interpretações sobre o que é um material em escala nanométrica e isso depende, em muito, da aplicação que se pretende. Parte da literatura diz que a escala estaria compreendida na faixa de 1 nm à 100 nm. Já em outras, define como aquela que contém partículas com diâmetro inferior à 1 μm (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; RÓZ *et al.*, 2015).

O uso de nanopartículas para liberação de fármacos de forma controlada vem crescendo, visto que esta tecnologia permite a absorção mais eficiente de princípios ativos, o que evita o uso de altas doses e efeitos colaterais. Desta forma esta tecnologia vem se consolidando como ferramenta para administração de fármacos. Por outro lado, quando se fala em o uso da nanotecnologia envolvendo óleos essenciais, normalmente o objetivo é a proteção do óleo dentro da partícula para que a liberação do mesmo ocorra de forma gradual (DELGADO, 2013; BOTTENE, 2015).

As nanopartículas poliméricas incluem as nanocápsulas e as nanoesferas. Estas se diferenciam pela composição e pela organização estrutural. As nanocápsulas são compostas por um invólucro contendo óleo essencial ou outro princípio ativo em seu interior e a nanoesfera é composta por uma matriz polimérica onde o óleo essencial ou princípio ativo fica aderido/retido na superfície (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Esta diferença esta representada na Figura 5.

Figura 5: Estrutura de Nanocápsulas e de Nanoesferas.



Fonte: Schaffazick *et al.*, 2003

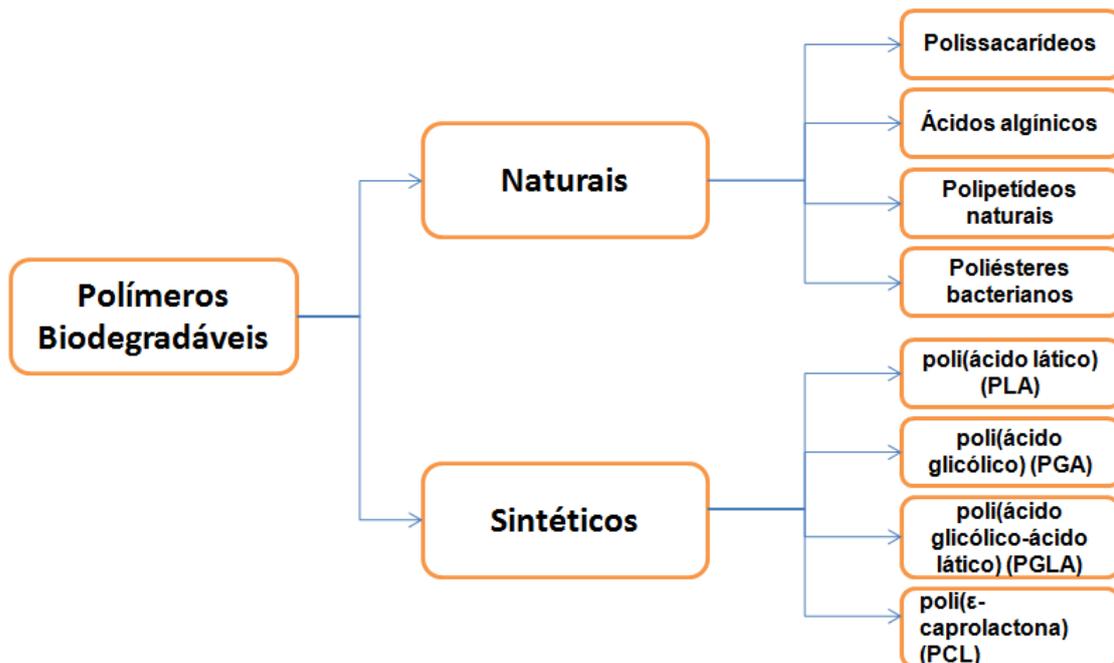
Para produzir micro/nanopartículas poliméricas se exige a utilização de um polímero, de solventes, tensoativos e do princípio ativo. Os polímeros podem se

dividir em biodegradáveis e em não biodegradáveis. Já o tensoativo pode ser utilizado na fase aquosa e/ou na orgânica (DELGADO, 2013; FRANCHETTI & MARCONATO, 2006).

Os polímeros biodegradáveis vem sendo usados em embalagens, na encapsulação de fármacos para liberação de forma controlada, na agricultura como proteção para plantas e embalagem para as mesmas. As principais características dos polímeros biodegradáveis é a facilidade de síntese. Porém seu custo é geralmente elevado quando comparado ao de polímeros não degradáveis (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006; CASARANO, 2009; LEJA & LEWANDOWICZ, 2010; CASARIN *et al.*, 2013)

Os polímeros biodegradáveis podem se dividir em naturais e sintéticos como observa-se na Figura 6.

Figura 6: Divisão de Polímeros Biodegradáveis.



Fonte: Adaptado de Franchetti & Marconato, 2006

Considerando o polímero para preparação de nanopartículas, há uma grande variedade que pode ser utilizada. Entre eles está a policaprolactona (PCL), que é um polímero não tóxico e que possui características como tenacidade e flexibilidade e sua temperatura de fusão é de aproximadamente 60° C (LIMAYEM *et al.*, 2006; ROA *et al.*, 2010)

Já os agentes tensoativos, não são essenciais para a fabricação de micro e nanopartículas, mas ajudam a impedir a agregação das partículas durante e após o preparo da dispersão. Os tensoativos possuem natureza anfifílica, que significa que possui uma parte de sua estrutura polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbica, sendo capaz de promover a interação com meios de polaridade diferentes (SANTOS, 2011; BOTTENE, 2015).

2.4.1 Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*

A utilização de óleos essenciais juntamente com a nanotecnologia vem desenvolvendo produtos com propriedades distintas como a liberação de fármacos de forma controlada e por possuírem ações bactericida, antifúngica, analgésica e anti-inflamatória, por exemplo (LAVABRE, 1997).

O *Cymbopogon nardus* ou *Cymbopogon winterianus*, nome popular da citronela, é natural de países do sudeste da Ásia, Índia e Sri Lanka. O óleo essencial de citronela é extraído das folhas da planta, comumente pelo método de destilação por arraste e vapor (LORENZI & MATOS, 2008; PICHARD, 2012; ANDRADE *et al.*, 2012). A Figura 7 refere-se a uma imagem da planta.

Figura 7: Planta de *Cymbopogon nardus*.



Fonte: <http://www.kanta-group.com/citronella-java-oil.html>

O óleo essencial de citronela pode ser usado como repelente para insetos e inseticida e como, por exemplo, larvicida para *Aedes aegypti* (LORENZI & MATOS, 2008; PICHARD, 2012; ANDRADE *et al.*, 2012). Também é utilizado para acalmar coceiras, dores musculares, reumáticas e de cabeça e como antitranspirante. As formas de uso podem ser por massagem, compressa, banho, cuidados cosméticos, inalação, difusão, sobre um comprimido neutro ou em alimentos (PICHARD, 2012).

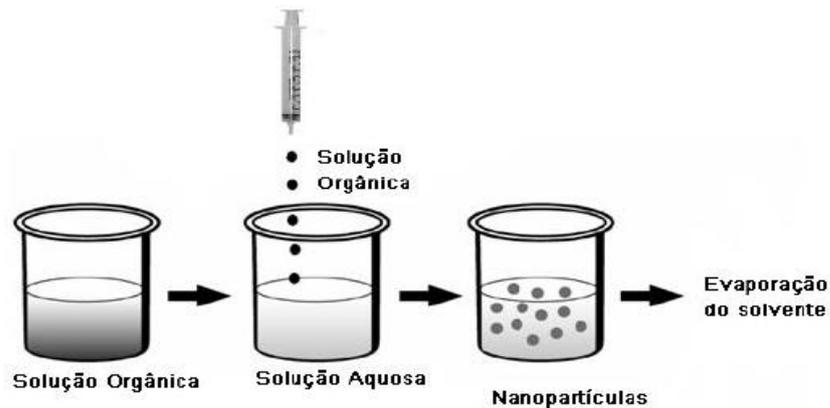
Os principais componentes químicos do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* são o citronelal, o geraniol e o citronelol. Estes componentes possuem propriedades anti-inflamatória, sedativa e antivirótica. O óleo essencial de citronela pode conter teores diferentes dos componentes mencionados por fatores de colheita e plantio, por exemplo (LAVABRE, 1997; ANDRADE *et al.*, 2012). Porém os óleos essenciais são sensíveis ao efeito da luz, umidade e altas temperaturas, além da volatilidade. Por esses motivos é importante a sua encapsulação para proteger o princípio ativo (FERNANDES, 2013; JUSTO *et al.*, 2008).

2.4.2 Métodos de preparação de micro/nanopartículas

Existem vários métodos para preparação de micro e nanopartículas. Os métodos de preparação podem se dar através de reações diretas de polimerização de monômeros ou a partir de polímeros pré-formados. Alguns métodos que podem ser citados são o de emulsão/evaporação do solvente, nanoprecipitação e emulsão dupla (GOMES, 2009).

O método de emulsão/evaporação do solvente consiste na preparação de uma solução orgânica, que contém o princípio ativo e o polímero, e de outra solução que contém o tensoativo. Após este preparo a solução orgânica é misturada a aquosa é dispersada por aplicação de ultrassom ou outra fonte de energia que exerça a mesma função. Já o método de nanoprecipitação ocorre em duas etapas, uma composta por uma fase orgânica e a outra por uma fase aquosa. A fase orgânica é composta pelo polímero, sintético ou natural, solvente orgânico, tensoativo e o princípio ativo. A fase aquosa é composta por água e um tensoativo (MOINARD-CHÉCOT *et al.*, 2008; GOMES, 2009; DELGADO, 2013). A Figura 8 mostra a representação deste método.

Figura 8: Método de preparação de nanopartículas – Nanoprecipitação.



Fonte: Gomes, 2009

O método consiste em misturar a solução orgânica, contendo o polímero e o óleo essencial, lentamente em uma solução aquosa. Para estabilizar este sistema podem ser utilizados agentes tensoativos. Neste processo ocorre a formação de nanopartículas, cujo tamanho varia entre 100 e 500 nm (MOINARD-CHÉCOT *et al.*, 2008; GOMES, 2009; DELGADO, 2013).

2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA, MICRO/NANOPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO DE CITRONELA E COMPÓSITOS

2.5.1 Difração de Raio-X

A técnica de difração de raios-X (DRX) é utilizada para a identificação da estrutura cristalina de materiais. Para isto a fonte de raios-X percorre uma faixa da amostra, onde os feixes de raio-X difratados nos planos cristalinos do material são coletados pelo detector (SOUZA, 2010).

Segundo Barud (2014), atualmente a técnica consiste em além de identificar a estrutura cristalina do material, avaliar outras características como “análises químicas, tamanhos de partículas e determinação de orientação dos cristais”.

Na celulose a estrutura cristalina é estudada para identificação das fontes de celulose. As hidroxilas livres na celulose podem estar envolvidas a uma série de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares e este fator pode dar origem a varias

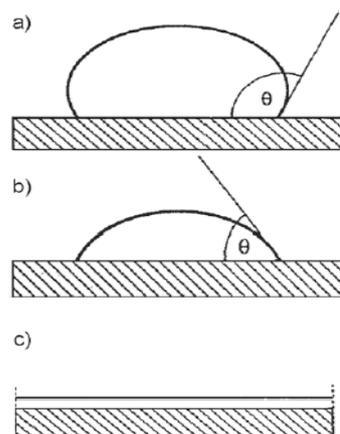
disposições cristalinas ordenadas. A celulose I, a forma natural, é a mais abundante e sua estrutura tridimensional é complexa e pode compreender duas formas cristalinas: a α , que é proveniente de algas, bactérias e similares, e β , proveniente da celulose vegetal como algodão e tecidos lenhosos. Neste tipo de celulose as cadeias encontram-se em empacotamento paralelo (PÉREZ & SAMAIN, 2010).

2.5.2 Ângulo de contato

A medida de ângulo de contato (AC) é utilizada para avaliar os aspectos relacionados à tensão superficial dos materiais. A energia de um sistema é diferente em sua superfície, quando comparada ao seu interior. A energia dos átomos superficiais é mais alta que dos átomos internos (NETZ & ORTEGA, 2002; LUZ *et al.* 2008).

A Figura 9 traz a representação de diferentes medidas de ângulo de contato.

Figura 9: Representação do ângulo de contato maior que 90°C (a); menor que 90°C (b) e zero grau, representando um espalhamento total sobre a superfície (c).



Fonte: Luz *et al.* , 2008

Quando ângulos de contato maiores que 90° são medidos, não se observa molhamento do sólido pelo líquido. Já ângulos menor que 90° representam algum grau de molhamento do sólido pelo líquido enquanto ângulo de 0° representa molhamento total da superfície (LUZ *et al.* 2008).

Entre a gota de um líquido e uma superfície sólida, o valor do ângulo de contato dependerá das forças adesivas, que fazem com que a gota se espalhe na superfície e das forças coesivas, que contraem o líquido formando uma esfera sobre a superfície sólida (COUTINHO, 2007). Segundo Souza (2013) os solventes polares, água e formamida por exemplo, apresentaram maior afinidade com a CB.

2.5.3 Potencial zeta, tamanho de partícula e polidispersão

O potencial zeta (PZ) é um dos parâmetros utilizados para avaliar as propriedades superficiais dos materiais, caracterizando a carga superficial dos mesmos. O PZ pode ser obtido a partir da medida de mobilidade eletroforética de partículas dispersas em meios dispersantes quaisquer. Alguns fatores que podem interferir no resultado são a temperatura da amostra, o tempo de descanso da amostra antes da análise, a preparação da amostra, entre outras (VARENNE *et al.*, 2015 a).

Para as análises de tamanho de partícula e polidispersão (PDI), a técnica normalmente utilizada é a de espalhamento de luz dinâmico. A mesma consiste em um laser que ilumina a amostra e a intensidade da sua luz causa o movimento das partículas. A velocidade com que as partículas se movimentam está ligada a sua massa e tamanho. Alguns fatores que podem causar interferência nesta técnica são a coloração da amostra, a concentração de partículas e a temperatura das amostras (VARENNE *et al.*, 2015 b ; BHATTACHARJEE, 2016)

2.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica de análise que fornece imagens da morfologia superficial da amostra. Para obter a imagem um feixe de elétrons incide na superfície da amostra, quando recebido sobre a superfície é armazenado e convertido em imagem por um computador (SKOOG, 2009).

A preparação para MEV deve manter em condições as características a serem analisadas na amostra. Sobre a amostra seca deve ser depositada uma camada condutora de ouro ou carbono. A camada condutora deve ser fina suficiente para não influenciar a análise (CASTRO, 2001).

2.5.5 Espectroscopia vibracional de infravermelho

A técnica de caracterização por espectroscopia vibracional de infravermelho (FTIR) analisa a estrutura do material através da medida dos modos vibracionais de suas moléculas, que se dão em frequências específicas. Os instrumentos utilizados para realizar esta análise são os espectrômetros de infravermelho, nos quais a propriedade física medida é a capacidade da substância absorver, transmitir ou refletir a radiação de infravermelho. Quando a radiação interage com a molécula, são produzidas vibrações nas ligações químicas e os valores de frequência destas vibrações são processados pelo equipamento para gerar um espectro (SMITH, 2011; HAACK, 2010).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritas as metodologias de preparação das celulosas (CBL e CB) e das partículas contendo óleo de *Cymbopogon nardus*, bem como a impregnação destas partículas na CB. Para obtenção da CBL e CB com adesão de micro/nanopartículas com óleo essencial foram necessárias três etapas.

A primeira foi fabricar as membranas de CBL e CB. Na segunda etapa foram preparadas as nanopartículas com o óleo essencial de *Cymbopogon nardus*, nome popular Citronela. E na terceira etapa onde realizou-se a incorporação das partículas contendo óleo essencial na CB úmida e seca.

3.1 PREPARAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA (CB)

As membranas de CB foram preparadas no Laboratório de Biotecnologia da Universidade de Araraquara, Uniara, Araraquara/SP. Primeiramente foram produzidas membranas pelo método clássico, utilizando meio de cultura Hestrin e Schramm (HS). A celulose foi obtida com o uso da cepa *Komagataeibacter rhaeticus*. Esta celulose foi preparada como referência para se estudar a adesão de micro/nanopartículas.

Nesta etapa foram utilizados os reagentes descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Reagentes utilizados na preparação das membranas de CB.

Reagente	Marca	Observação
Glicose anidra (g)	Synth	P.M. 180,16
Extrato de levedura (g)	Merck KGaA	
Fosfato potássio (g)	Synth	P.M. 136,09
Sulfato magnésio (g)	Synth	P.M. 246,48
Álcool PA (mL)	J.T.Baker	Desnaturalizado 40B
Água Destilada (mL)	-	-

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

A primeira etapa da utilização do meio de cultura HS consistiu em dissolver a glicose em água destilada enquanto os demais insumos foram dissolvidos em outra parte de água, dispostas dois Erlenmeyers. Ambos os frascos foram levados à autoclave por 15 minutos a uma temperatura aproximada de 120°C para eliminar microrganismos eventualmente existentes no meio de cultura. Em seguida, foi realizada a pré-inoculação nos próprios Erlenmeyers, e estes foram colocados em estufa a 28°C pelo período de 24 horas. Após este período, o meio de cultura foi disposto em bandejas e nestas foi realizada a inoculação que seguiu para crescimento dentro de estufa com temperatura de 28°C por 72 horas. A quantidade de cada reagente componente de cada uma destas amostras encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2: Composição meio de cultura HS por bandeja 15x20cm com 500mL.

Reagente	Quantidade
Glicose anidra (g)	25
Extrato de levedura (g)	2
Fosfato potássio (g)	1
Sulfato magnésio (g)	0,365
Alcool PA (mL)	10
Água Destilada (mL)	490

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Ao final do período de 72 horas as membranas foram retiradas do meio de cultura, lavadas, purificadas com um tratamento com solução de NaOH 0,1% a 70°C por 15 minutos e, posteriormente, lavadas em água destilada até o pH retornar a neutralidade. As membranas provenientes deste processo foram mantidas úmidas para a incorporação das micro/nanopartículas.

3.2 PREPARAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA A PARTIR DE RESÍDUOS DA CADEIA PRODUTIVA DA LARANJA (CBL)

Para a preparação da celulose bacteriana a partir de resíduos, foram utilizadas laranjas descartadas do processo de beneficiamento na empresa Laranjas Jr, localizada em Pareci Novo, RS. As laranjas foram produzidas na fazenda São Jerônimo, localizada na cidade de São Jerônimo, estado do Rio Grande do Sul.

Quatro meios de cultura foram preparados, um tradicional (HS) para controle e os outros foram preparados com 100%, 50% e 25% de suco de laranja substituindo a glicose. Os insumos utilizados nesta etapa encontram-se descritos na Tabela 3.

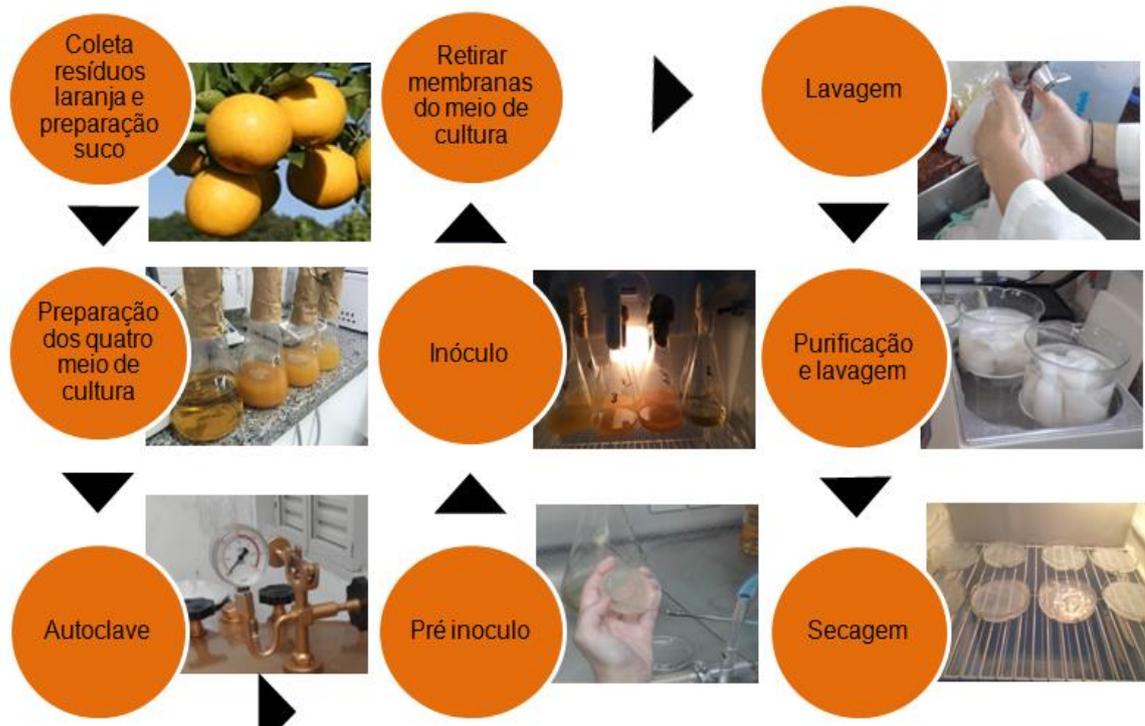
Tabela 3: Composição meio de cultura CB Controle e com diferentes concentrações de suco

	CB Controle	100% suco	50% suco	25% suco
Glicose anidra (g)	5	-	-	-
Extrato de levedura (g)	0,4	0,4	0,4	0,4
Fosfato potássio (g)	0,2	0,2	0,2	0,2
Sulfato magnésio (g)	0,07	0,07	0,07	0,07
Álcool PA (mL)	2	2	2	2
Água Destilada (mL)	98	-	49	73
Suco de laranja (mL)	-	98	49	25

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

O fluxograma de produção das membranas de celulose bacteriana com resíduo da laranja está descrito na Figura 10.

Figura 10: Fluxograma de produção da CB meio de cultura estático.

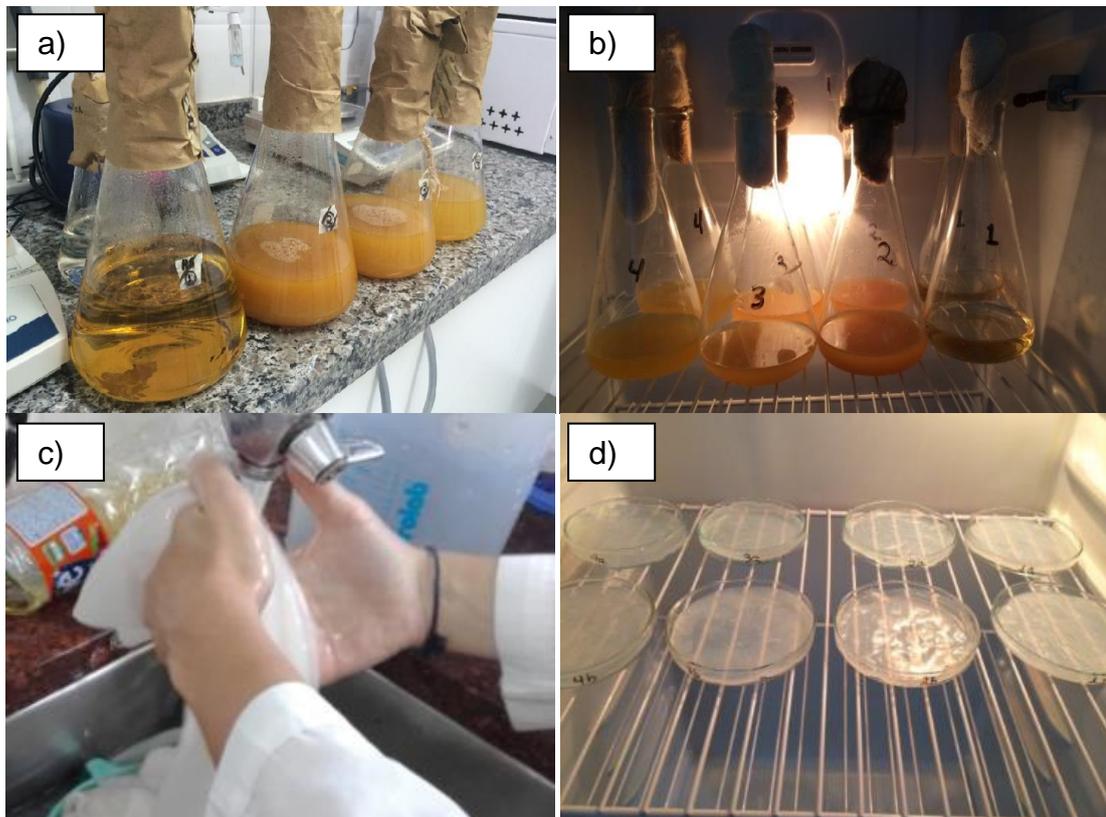


Fonte: Elaborado pela autora, 2017

De início as laranjas foram partidas ao meio e delas foi extraído o suco através de um espremedor de frutas doméstico. O suco, não peneirado, foi adicionado aos meios de cultura para fabricação da celulose bacteriana.

Os meios de cultura foram preparados em Erlenmeyers e também foram levados à autoclave por 15 minutos a uma temperatura aproximada de 120°C para eliminar microorganismos que pudessem existir no meio de cultura. Após esta etapa, foi realizada a pré-inoculação e demais etapas do processo descrito anteriormente para o meio de cultura HS. Os meios de cultura foram conduzidos para estufa com temperatura controlada de 28°C e lá ficaram durante 72 horas. Não foram ajustados e nem controlados o pH dos meios de cultura. A Figura 11 mostra fotos de algumas das etapas do processo de produção da celulose bacteriana com resíduos provenientes da cadeia produtiva da laranja.

Figura 11: Processo de a) Preparação inicial meios de cultura, b) Inoculação, c) Lavagem e d) Secagem.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Quando retiradas do meio de cultura as membranas também foram lavadas, purificadas por tratamento com solução de NaOH 0,1% a 70°C por 15 minutos e lavadas com água destilada. Já estas amostras foram secas em estufa a 37°C durante 12 horas para caracterização.

3.3 PREPARAÇÃO DE MICRO E NANOPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA

Foram preparadas formulações, em triplicatas, com três diferentes relações polímero/óleo, que foram mantidas sob exaustão durante 4h ou 24h com agitação magnética constante para evaporação do solvente. A Tabela 4 demonstra os reagentes utilizados.

Tabela 4: Reagentes utilizados na preparação das partículas.

Reagente	Marca	Observação
Acetona	Quimis PA	PA
Policaprolactona (PCL)	Sigma-Aldrich	Mn 45.000 g/mol
Óleo Essencial	WNF	<i>Cymbopogon nardus</i>
Tween [®] 80	Sigma-Aldrich	<i>Average Micellar Weight 79,000</i>
Span [®] 80	Sigma-Aldrich	Mw: 428,62 g/mol

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

. A Tabela 5 demonstra a concentração e o tempo de evaporação de cada formulação.

Tabela 5: Formulações utilizadas para a produção das micro e nanopartículas carregadas com óleo essencial de *Cymbopogon nardus*.

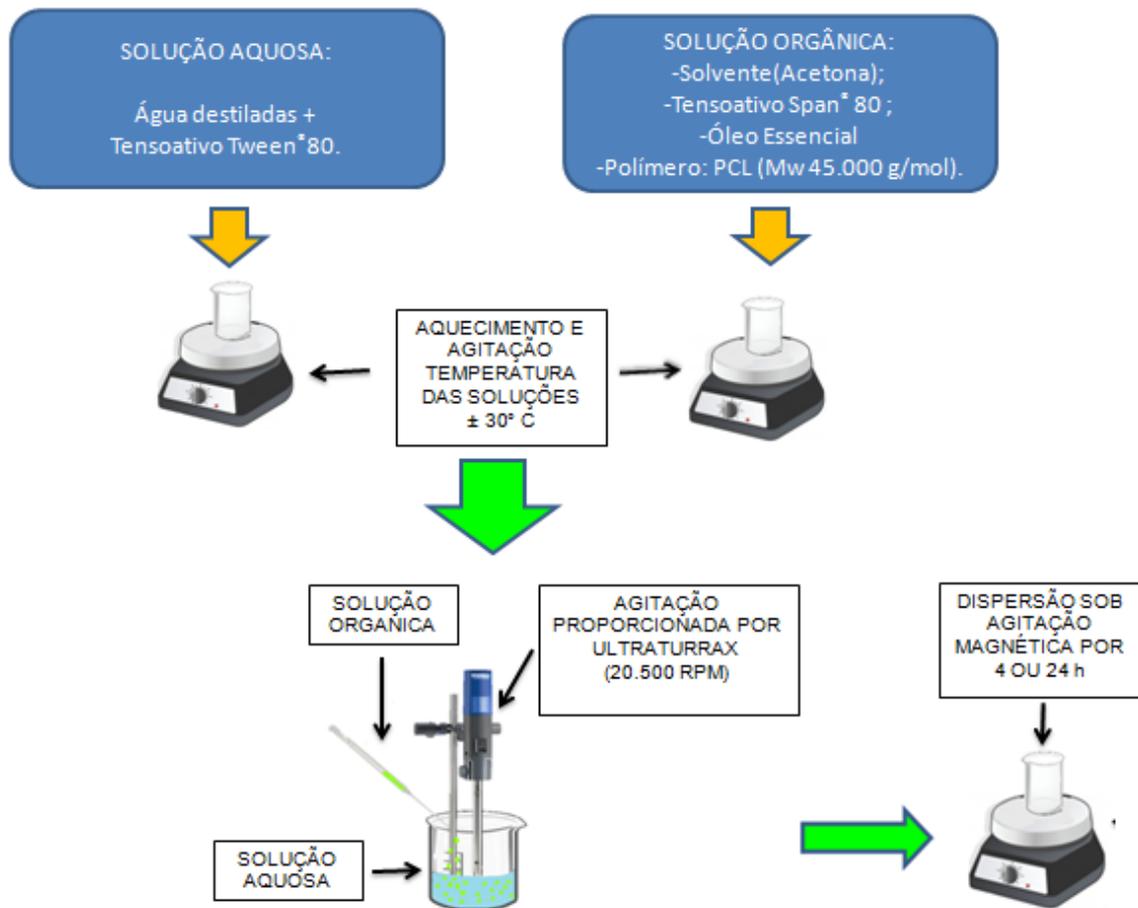
Formulação	Concentração PCL/Óleo (%)	Tempo de evaporação (h)	Fase orgânica	
			PCL (mg)	Óleo de citronela (mg)
1	Óleo 17%	4	110	18,5
2	Óleo 25%	4	110	27,5
3	Óleo 40%	4	110	44
4	Óleo 17%	24	110	18,5
5	Óleo 25%	24	110	27,5
6	Óleo 40%	24	110	44

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Foi utilizado o óleo essencial de *Cymbopogon nardus*, nome popular citronela. A viscosidade do óleo de citronela foi medida através do viscosímetro BrookField modelo DV2TLV.

A Figura 12 traz a representação do processo de fabricação das micro/nanopartículas.

Figura 12: Processo de preparação das micro/nanopartículas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

A fase orgânica foi obtida por dissolução de PCL (Mw 45.000 g/mol), de tensoativo Span® 80 e óleo em 30 mL de acetona, sob agitação magnética e temperatura de aproximadamente 30°C. Já a fase aquosa foi preparada com aproximadamente 53 mL de água destilada e 0,08 g de tensoativo Tween®80 também sob agitação magnética. Após as duas fases atingirem a mesma temperatura, 30°C, a fase orgânica foi adicionada com pipeta Pasteur à fase aquosa, sob agitação proporcionada por ultra-turrax (20.500 rpm) até a completa mistura da solução orgânica na aquosa, formando assim uma pré-emulsão. Em sequência as pré-emulsões foram mantidas sob agitação durante 4h ou 24h com agitação magnética constante para evaporação do solvente. Após a evaporação as dispersões foram armazenadas em frascos âmbar e guardadas ao abrigo da luz, em temperatura ambiente.

3.4 INCORPORAÇÃO DAS PARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA NAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA

A incorporação de micro e nanopartículas na CB, foi realizada em triplicatas para cada incorporação, na forma seca e úmida. Sobre cada uma das amostras de CB, foram dispensadas a quantidade de reagentes e dispersões de micro/nanopartículas contendo óleo de citronela (Formulação 3 da Tabela 5) apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Descrição do conteúdo de cada amostra de CB com incorporação de micro/nanopartículas.

Sigla	Conteúdo da Incorporação
CBS-3	Celulose bacteriana seca com 3 mL de dispersão
CBU-3	Celulose bacteriana úmida com 3 mL de dispersão
CBS-33	Celulose bacteriana seca com 3 mL de dispersão + 3 mL de álcool etílico
CBU-33	Celulose bacteriana úmida com 3 mL de dispersão + 3 mL de álcool etílico
CBS-12	Celulose bacteriana seca com 1 mL de dispersão + 2 mL de água purificada
CBU-12	Celulose bacteriana úmida com 1 mL de dispersão + 2 mL de água purificada

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Inicialmente segregou-se uma membrana de CB úmida. Esta foi segmentada em nove amostras de 3,0 x 3,0 cm, que foram secas por dois dias em temperatura ambiente em placa de Petri. Em seguida, estas amostras foram dispostas, cada uma, em um becker de 50 mL e sobre elas foram dispensados os insumos descritos na Tabela 6.

Outra membrana de celulose úmida foi cortada também em nove amostras de 3,0 x 3,0 cm que também foram, cada uma, dispostas em copos becker de 50 mL. Estas últimas foram levemente prensadas com papel filtro para retirada do

excesso de umidade e sobre elas foram dispensados os mesmos reagentes descritos no processo anterior, para CB seca. Os beckeres contendo o sistema de incorporação foram conduzidos para capela onde repousaram entre 48 à 72 horas para secagem completa das membranas de celulose bacteriana com impregnação de micro/nanopartículas.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As técnicas de caracterização das amostras das membranas de CB e CBL, micro/nanopartículas e CB com incorporação de micro/nanopartículas encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7: Métodos de caracterização por etapa do processo.

Etapa do Processo	Método de caracterização				
	MEV	FTIR	Ângulo de Contato	Potencial Zeta	DRX
Produção da celulose	X	X	X	-	X
Produção da micro/nanopartículas	X	-	-	X	-
Adesão de micro/nanopartículas	X	X	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

As caracterização da produção das membranas, CB e CBL, foram realizadas em paralelo com as micro e nanopartículas contendo óleo essencial de citronela. Já a etapa de adesão de micro/nanopartículas foi realizada por último.

3.5.1 Difractometria de raio-X (DRX)

Utilizou-se o equipamento Difrátômetro Bruker D2 Advance com tubo de cobre disponível no Laboratório de Caracterização de Materiais da UNIFRA, para obter os difratogramas de raios X. A geometria deste equipamento é $\theta - \theta$. A radiação utilizada para análise foi de $K\alpha = 1,5418 \text{ \AA}$, com tensão e corrente no tubo de 30 kV e 30 mA, respectivamente. A velocidade de varredura do goniômetro foi de

0,05 graus/s, sendo o intervalo de varredura de 5 a 75 graus. As amostras de CB e CBL seguiram para análise na condição seca.

3.5.2 Ângulo de Contato (AC)

A análise do AC foi realizada no Laboratório de Condutividade Térmica no Feevale Techpark, utilizando Tensiômetro Dataphysics, modelo OCA-15EC. A cada amostra com dimensão de 1,5 cm² foi aplicada 1 gota de água deionizada (3µL). As amostras da CB e CBL foram analisadas na condição seca em 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 segundos.

3.5.3 Potencial Zeta (PZ), Tamanho de Partícula e Polidispersão (PDI)

Utilizou-se o equipamento NanoBrook modelo 90 Plus Pals disponível no Laboratório de Estudos Avançados em Materiais da Universidade Feevale, para realizar as análises de PZ, tamanho de partícula e PDI.

As análises foram realizadas pelo período de seis semanas, em todas as formulações e triplicatas correspondentes. As análises foram realizadas em temperatura ambiente. As dispersões não foram diluídas e as amostras foram agitadas duas vezes antes da coleta da dispersão para realização do ensaio.

Para a análise as dispersões foram dispensadas em cubetas de secção reta transversal de 1 cm de lado e confeccionada em poliestireno e com volume de 4,5 mL.

Foram realizadas três repetições de leitura para cada análise, com a temperatura da mesma de 25°C, realizada por controle interno do equipamento. O ângulo de observação do espalhamento de luz foi de 90°. O modo de operação para o tamanho de partícula foi o *Dynamic Light Scattering* (DLS) e para o potencial zeta o *Phase Analysis Light Scattering* (PALS).

3.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises morfológicas por MEV foram realizadas em equipamento JEOL, Modelo JSM-6510LV, disponível no Laboratório de Estudos Avançados em Materiais da Universidade Feevale. As amostras de cada etapa do processo foram secas

antes de serem metalizadas com sobreposição de camada de ouro, conforme procedimento padrão e foi aplicada um voltagem entre 5 e 15 kV dependendo a amostra.

3.5.5 Espectroscopia Vibracional de Infravermelho (FTIR)

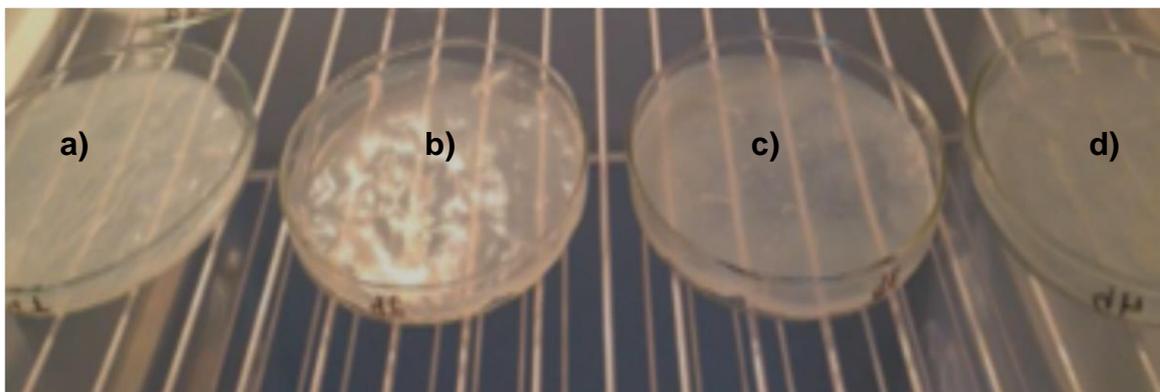
Os espectros de infravermelho foram obtidos no Laboratório de Estudos Avançados em Materiais da Universidade Feevale, utilizando o equipamento Spectrum Two, da Perkin Elmer, com acessório Universal ATR (UATR), na faixa de varredura de 450 a 4000 cm^{-1} . As amostras testadas de CB, CBL e CB com incorporação de micro/nanopartículas contendo óleo de citronela foram avaliadas na condição seca. As amostras do óleo essencial de citronela e de PCL foram avaliadas em condição original.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA

A primeira observação que se pode fazer a respeito das membranas de celulose bacteriana é que logo após a retirada do meio de cultura, tanto CB quanto CBL apresentaram aspecto similar. Em ambos os casos as amostras apresentaram aspecto gelatinoso e esbranquiçado. A Figura 13 traz as amostras ainda úmidas antes de serem secas dentro da estufa.

Figura 13: Semelhança entre as membranas de celulose bacteriana produzidas pelos diferentes meios (a) CB, (b) 100% de suco, (c) 50% de suco e (d) 25% de suco.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Estas observações apresentam concordância com a literatura (DUFRESNE; THOMAS; POTHAN, 2013), que descreve pouca variação no aspecto físico de amostras originadas com diferentes fontes de carbono e nutrientes. A literatura também menciona que alguns resíduos agroindustriais podem fazer com que a membrana da celulose bacteriana fique com a coloração mais escura e que isso requeira um número maior de lavagens alcalinas após a purificação (DUFRESNE; THOMAS; POTHAN, 2013). No entanto, este aspecto de mudança de coloração não foi observado nas amostras de CBL quando retiradas do meio de cultura .

O aumento de lavagens podem significar uma perda de massa devido a uma perda de fibras na estrutura da membrana (DUFRESNE; THOMAS; POTHAN, 2013). O número de lavagens das membranas de CB e CBL foram os mesmos. Para verificar esta possibilidade a massa das amostras depois do processo de secagem estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8: Massa da CB e CBL's seca.

Teste	Meio de cultura	\bar{X} Massa (g/L)
1	CB	0,17
2	100% suco sem adição de açúcar	0,12
3	50% suco sem adição de açúcar	0,17
4	25% suco sem adição de açúcar	0,17

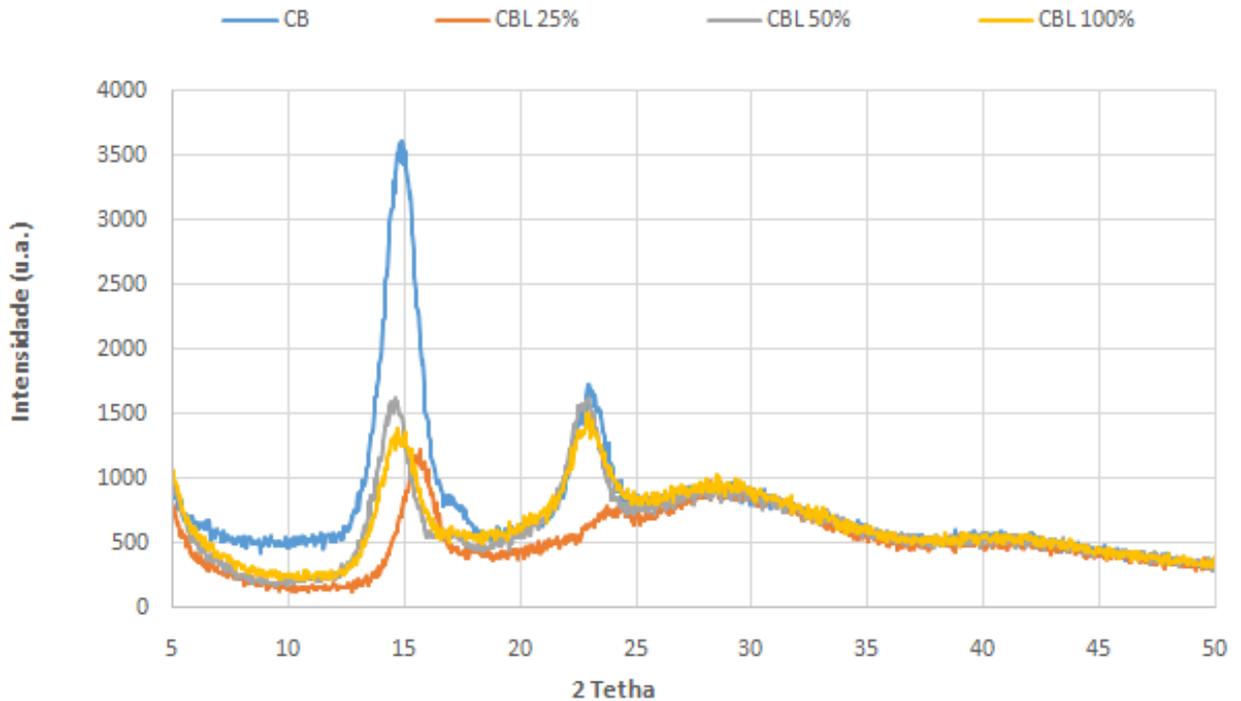
Fonte: Elaborado pela autora, 2017

As massas comparadas na Tabela 8 são provenientes da preparação das membranas para avaliação do rendimento e neste contexto, é interessante observar que entre si, as membranas CB e CBL nas diferentes concentração de suco foram obtidas com massas semelhantes. Segundo Carreira *et al.* (2011) a produção da CB a partir de diferentes resíduos da agroindústria como, por exemplo, do soro do queijo e da casca de uva. Neste trabalho a massa de CB obtida a partir destes meios correspondeu, no melhor resultado, a 27% da massa total de um meio de CB. Então é necessário ressaltar que o rendimento da preparação de CBL em relação à de CB é melhor que o descrito na literatura.

O outra questão a ser pontuada é a massa da membrana de CBL produzida com 100% de suco. A massa obtida ficou um pouco abaixo das membranas dos outros processos. Neste contexto Lima (2014), apresenta a produção de CB através de resíduos do sisal e caju, e a compara com a CB produzida pelo método clássico HS. Neste estudo a produtividade foi maior (em g/L) no meio em que utilizava o sisal, que apresentava a menor quantidade de açúcares em g/L. Ainda segundo a literatura, meios ricos em glicose produzem e acumulam ácidos orgânicos no meio, que por fim acabam modificando o pH e paralisando a produção da membrana. Sugere-se que em decorrência deste fator o meio de cultura alimentado com 100% de suco de laranja tenha sofrido o mesmo tipo de intoxicação e, conseqüentemente, teve a massa produzida menor em g/L.

No contexto da comparação entre amostras oriundas de diferentes fontes de carbono, a cristalinidade é um parâmetro interessante a se avaliar e esta análise está demonstrada nos difratogramas de raio-x da CB e das CBL, Figura 14.

Figura 14: Difratogramas de raio-x para: CB, CBL 100%, CBL 50% e CBL 25% .



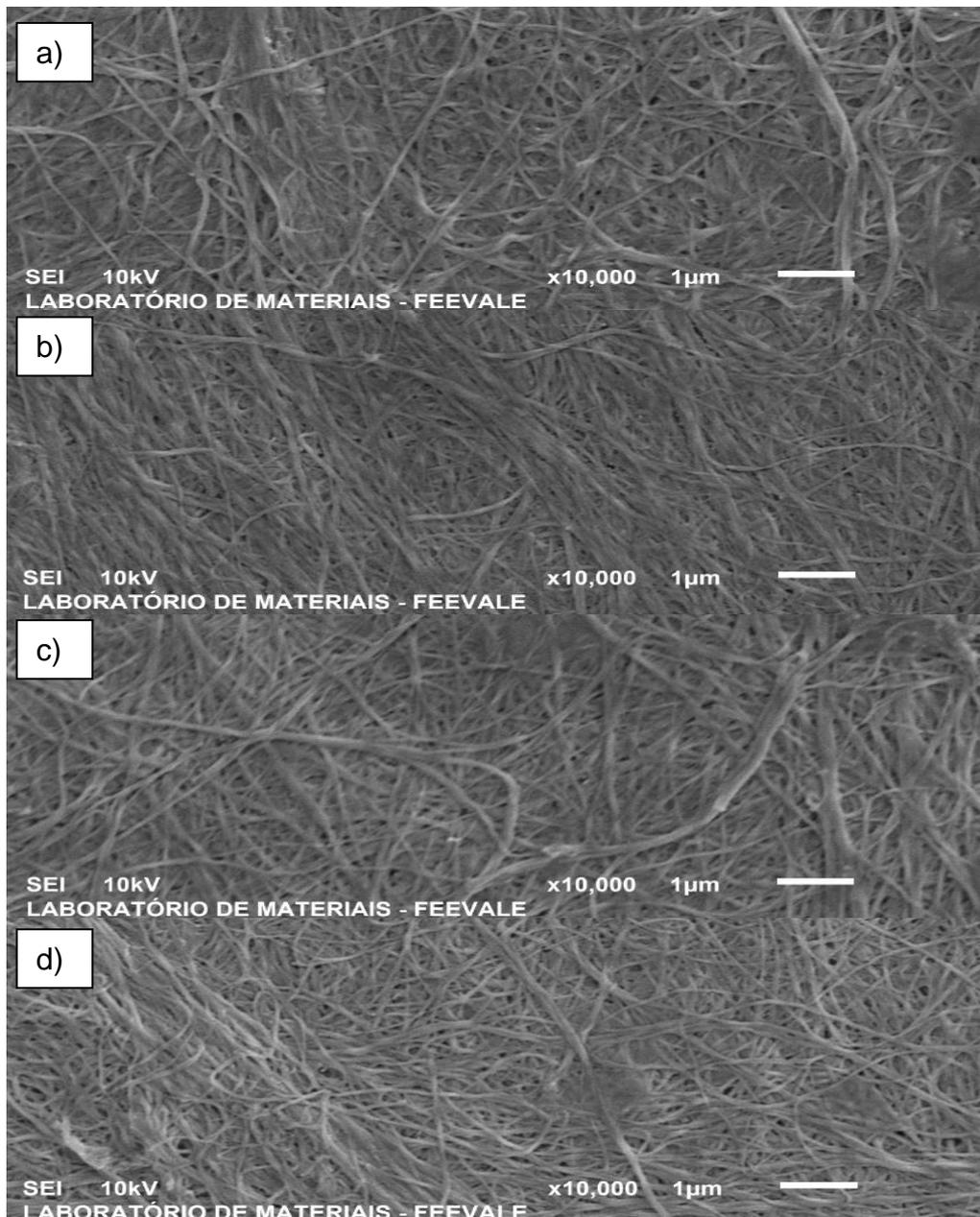
Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Nos difratogramas da Figura 14 observa-se uma diminuição relativa da cristalinidade nas amostras de CBL, observada pelo perfil da curva de cada amostra. Sendo a amostra com 25% de suco a que apresenta o perfil de menor cristalinidade quando comparada a CB. No estudo de Picchi (2010), quanto maior a quantidade de própolis adicionada a membrana, mais amorfa se apresentava a mesma. Segundo o autor este fator pode ter ocorrido devido a presença do própolis em meio as fibras da CB. Já para Gomes *et al* (2015) a diminuição da cristalinidade da celulose derivou-se do tratamento alcalino com NaOH, que pode facilitar a degradação. Com respeito as celuloses obtidas para esta dissertação, os perfis dos difratogramas apresentam semelhança com a celulose do tipo I, por não apresentarem os picos relativos as celuloses dos tipos II, III e IV, mesmo considerando a presença de algum tipo de resíduo e o tratamento com hidróxido de sódio(NaOH). Estas observações requerem

mais atenção com respeito a estrutura cristalina das celuloses obtidas, por apresentarem perfis diferentes dos encontrados na literatura. No entanto, por não ser o objetivo deste trabalho sugere-se este aprofundamento como desenvolvimento futuro.

A análise morfológica demonstra uma malha homogênea, com fibras bem distribuídas. A Figura 15, apresenta micrografias com aumento de 10.000 x onde observa-se estas características.

Figura 15: Celulose Bacteriana aumento de 10000x meio de cultura (a) CB, (b) 100%, (c) 50% e (d) 25% de suco.

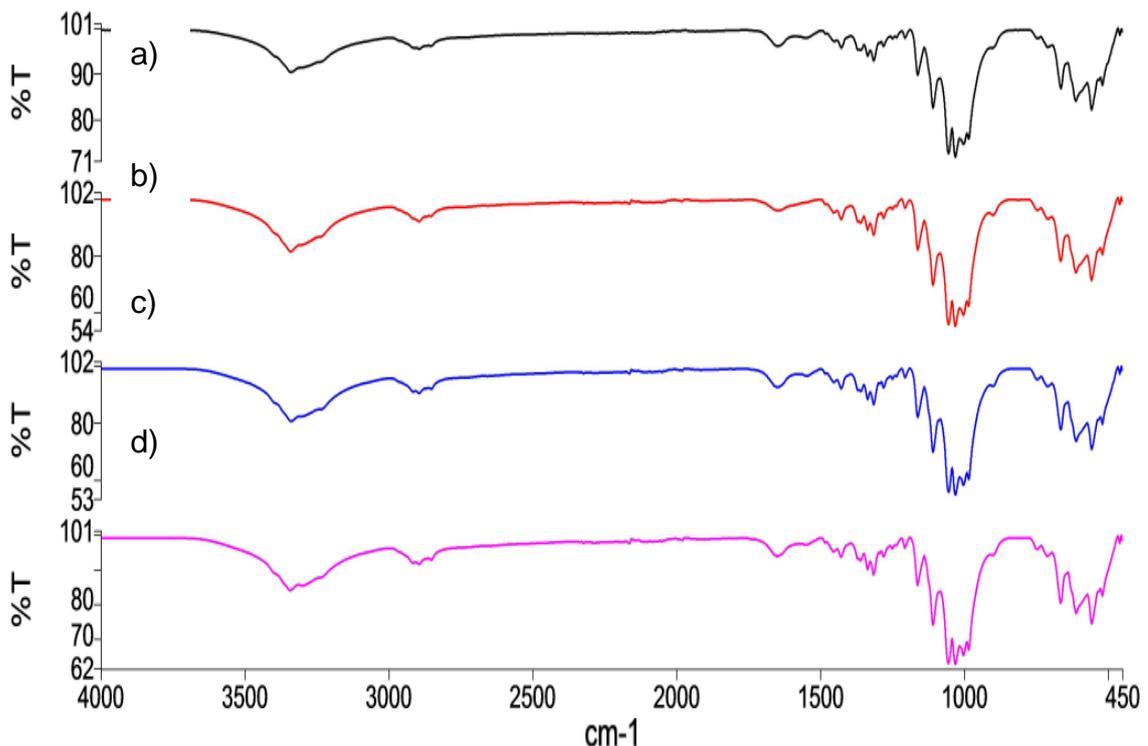


Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Nas micrografias da Figura 15 observa-se claramente uma estrutura coesa formada por fibras longas com espessura nanométrica (imagem com medidas no Apêndice A), ainda permitem sugerir que não há diferenças significativas nos arranjos das fibras produzidas pelos diferentes meios de cultura. Ainda, que possivelmente o processo de lavagem dos diferentes meios de cultura não danificou a estrutura das fibras. Observa-se que há áreas com concentração maior de fibras e outras onde há menos fibras. De acordo com a literatura (NUNES, 2012) esta organização pode estar ligada ao processo de remoção de água da matriz através de estufa e as nanofibras se organizam de forma aleatória, ora com as fibras mais agregadas e ora com as fibras dispersas. Porém nestas micrografias não foi possível observar a presença de algum resíduo entre as fibras conforme sugestão anterior nos difratogramas de raio-X.

Outra comparação importante é a que se dá entre os espectros de infravermelho das amostras de CB preparadas com suco de laranja e no meio HS. A Figura 16 apresenta a comparação de seus espectros de infravermelho.

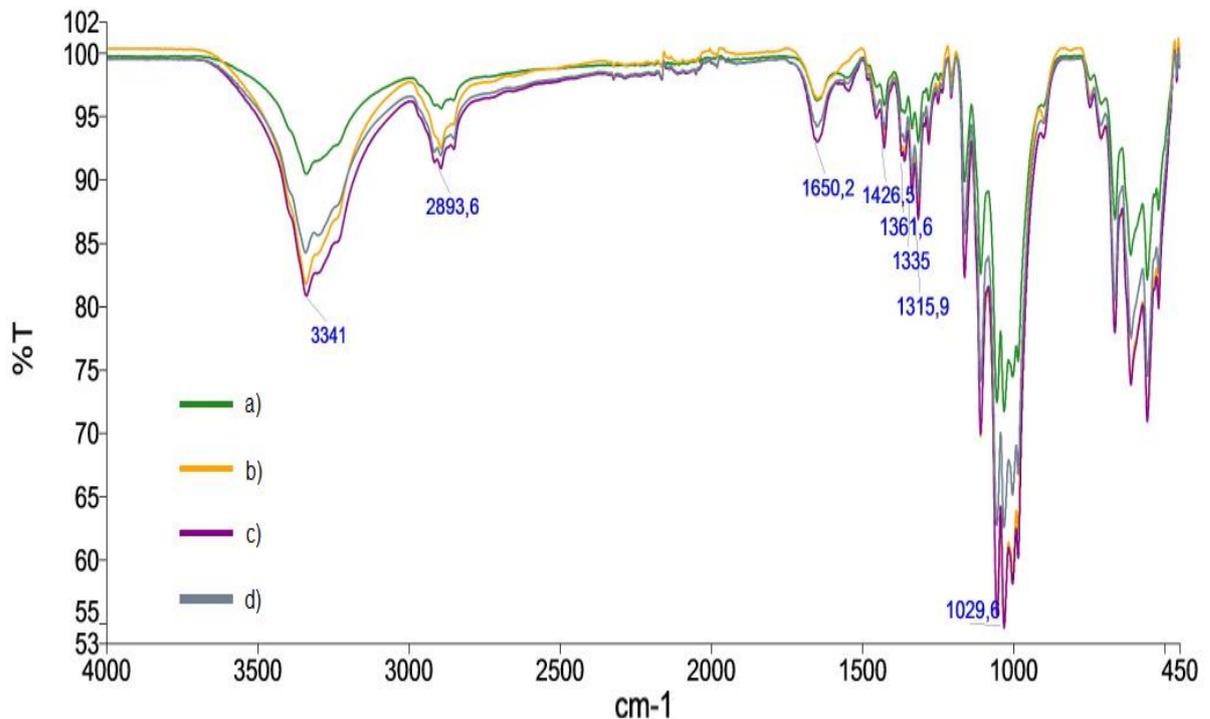
Figura 16: Espectros de infravermelho de: (a) CB, (b) 100%, (c) 50% e (d) 25% de suco .



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Nos espectros da Figura 16 observa-se uma semelhança bastante grande entre as amostras dos quatro meios de cultura. O perfil espectral segundo Machado *et al.* (2014) é característico da celulose. A Figura 17 apresenta uma sobreposição destes espectros com os devidos assinalamentos.

Figura 17: Espectros de infravermelho com valores da CB meio de cultura (a) CB, (b) 100%, (c) 50% e (d) 25% de suco.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Na Figura 17 é possível observar bandas em aproximadamente 3300 cm⁻¹ que sugerem a presença de grupamentos hidroxila, naturalmente esperados, e a associação dos grupos por pontes de hidrogênio, em função do alargamento das mesma. Em seguida observa-se as bandas entre 3000 - 2900 cm⁻¹ correspondente aos estiramentos CH. As bandas em torno de 1640 cm⁻¹, 1400 cm⁻¹, 1370 cm⁻¹, 1340 cm⁻¹ e 1320-1030 cm⁻¹, referem-se a deformação de OH, CH₂, CH₃, OH e CO respectivamente (KAKURÁKOVÁ *et al.*, 2002; DUFRESNE; THOMAS; POTHAN, 2013; MACHADO *et al.*, 2014). Considerando os resultados obtidos por espectroscopia de infravermelho, é possível dizer que a celulose obtida a partir de

resíduos da cadeia produtiva da laranja (CBL) é compatível quimicamente com a celulose obtida por via tradicional, com glicose (CB).

Este resultado sugere possibilidade de se utilizar este tipo de resíduo, abundante em determinadas regiões produtivas, para a preparação de membranas de celulose e esta constatação permite pensar em aspectos de sustentabilidade relacionados à utilização do resíduo.

A Tabela 9 apresenta as médias dos valores de AC encontrados para as amostras obtidas com meio de cultura tradicional e com suco de laranja.

Tabela 9: Tempo e AC encontrados na CB, CBL 100%, 50% e 25% de suco.

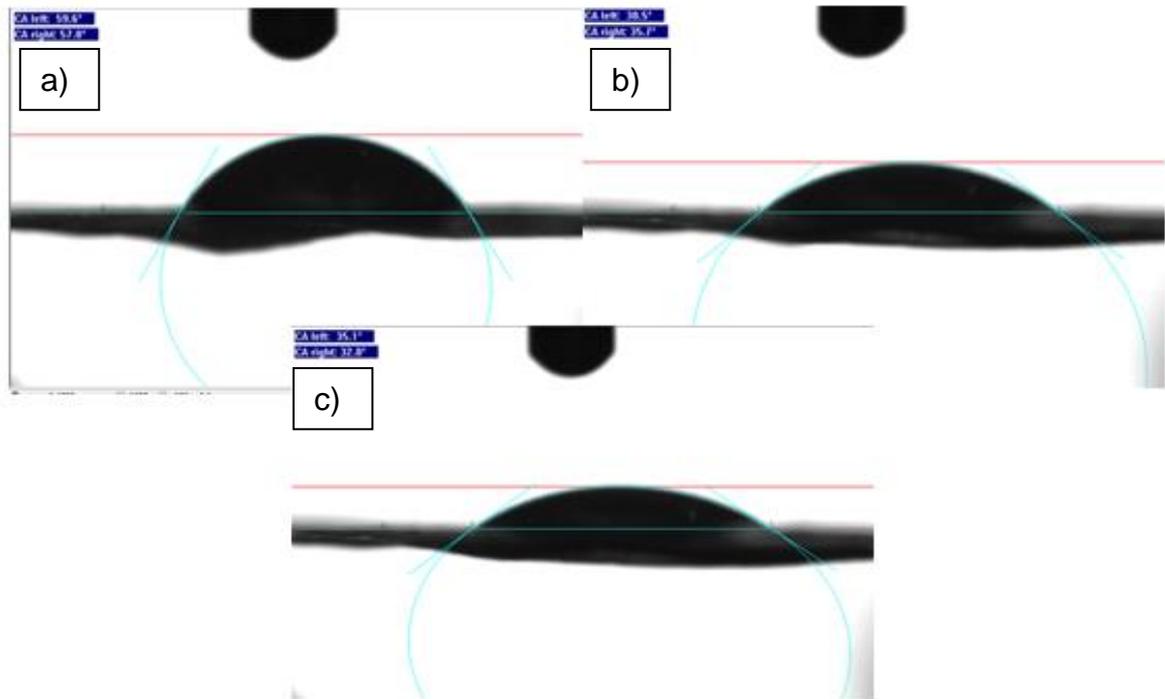
Tempo (s)	CB			100% Suco			50% Suco			25% Suco		
	Esq.	Dir.	\bar{X}	Esq.	Dir.	\bar{X}	Esq.	Dir.	\bar{X}	Esq.	Dir.	\bar{X}
0	59,6	57,8	58,7	46,2	45,4	45,8	45,4	44,6	45,0	39,1	39,1	39,1
5	45,5	44,0	44,8	38,1	37,2	37,7	28,8	27,9	28,4	Totalmente absorvida		
10	41,3	39,7	40,5	34,3	35,5	34,9	24,5	23,7	24,1	Totalmente absorvida		
15	38,5	35,7	37,1	33,4	34,8	34,1	21,8	20,5	21,2	Totalmente absorvida		
20	37,8	33,9	35,9	31,4	32,8	32,1	20,7	19,5	20,1	Totalmente absorvida		
25	36,1	33,5	34,8	30,6	32,2	31,4	19,7	17,7	18,7	Totalmente absorvida		
30	35,1	32,8	34,0	Totalmente absorvida			Totalmente absorvida			Totalmente absorvida		

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Na Tabela 9, é possível verificar que a CB comparada às CBL's é menos hidrofílica, tanto no tempo de 0 s quanto em 30 segundos. Sendo a CBL de 25% de suco a mais hidrofílica das amostras. Embora os valores encontrados que o ângulo de contato apresentou valores inferiores à 90°, o que segundo a literatura (LUZ *et. al.*, 2008) indica que as celuloses derivadas de ambos meios de cultivo são molhadas pela água.

A Figuras 18 traz a análise do ângulo de contato para a CB. As imagens das demais análises do ângulo de contato encontram-se nos Apêndices B, C e D.

Figura 18: Análise de AC para CB: (a) tempo zero; (b) 15 segundos; (c) 30 segundos.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

No trabalho de Pezzin e colaboradores (2013) mencionam a alta hidrofiliabilidade da celulose bacteriana devida a presença de grupo OH. Esta sugestão vem ao encontro dos espectros de infravermelho das membranas dos quatro meios de cultura, onde os espectros sugerem a presença deste grupo nas mesmas. Os valores do ângulo de contato da CB corroboram com o resultado da CB comercial mencionado na literatura, que fica próximo a 50° (PÉRTILE, 2007), mas os ângulos obtidos para as CBL's são menores do que os da literatura e sugerem maior hidrofiliabilidade. Considerando os difratogramas de raio-x, que para a CBL de 25% a cristalinidade relativa apresentou-se menor, segundo Brisolari (2008) e Salvi (2010) quanto menor a cristalinidade da celulose, mais fácil a penetração de solventes em sua estrutura. É importante notar que esta maior hidrofiliabilidade pode acarretar aplicações diferentes das usuais envolvendo a CB produzida com meio tradicional HS.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICRO/NANOPARTÍCULAS

A Figura 19 apresenta a dispersão com micro/nanopartículas decorrido o prazo de 24 horas de evaporação do solvente.

Figura 19: Amostra de micro e nanopartículas de PCL com óleo essencial de citronela.

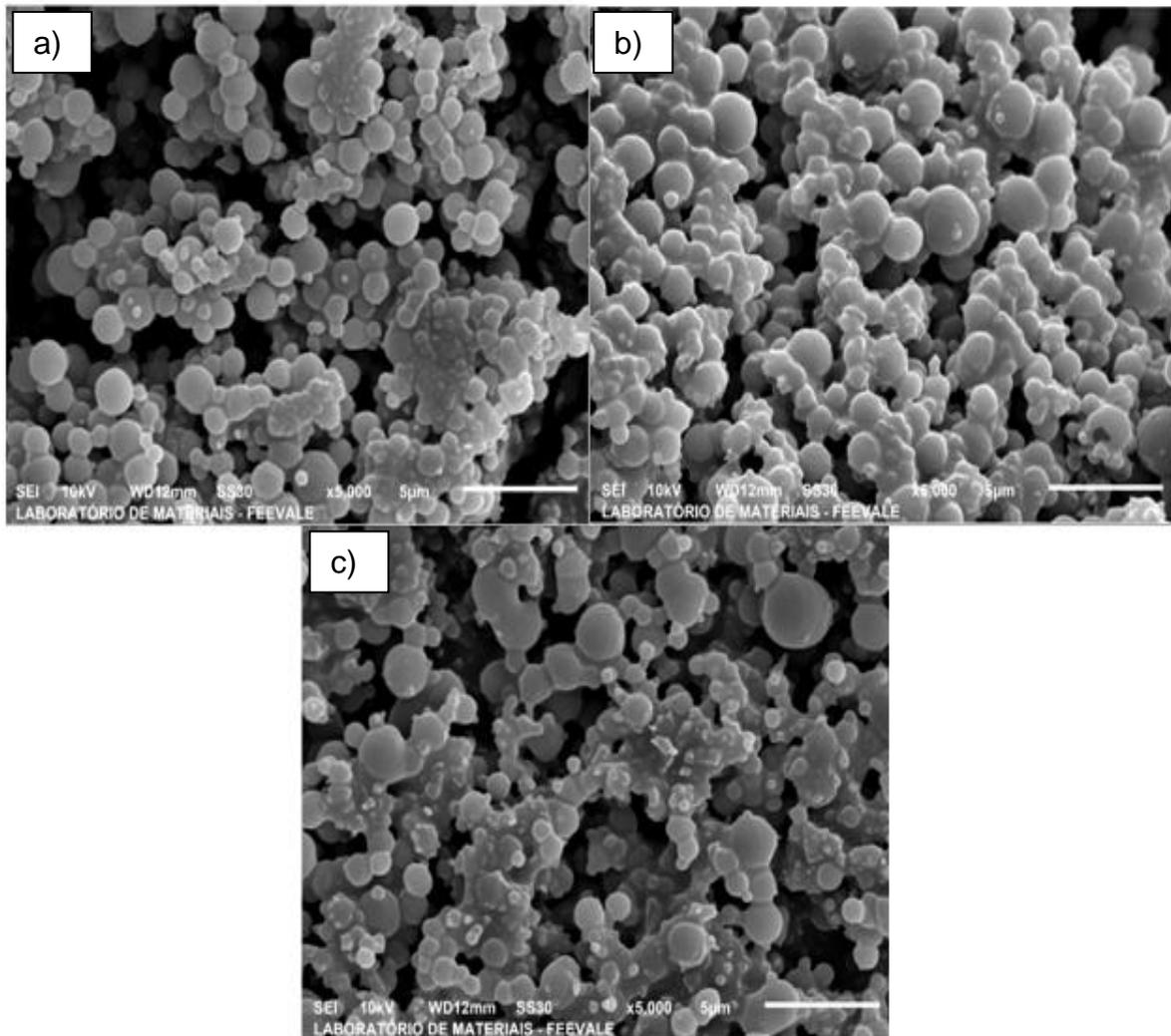


Fonte: Elaborado pela autora, 2017

As amostras apresentaram-se como um líquido leitoso e homogêneo que vem ao encontro do descrito na literatura em relação ao aspecto macroscópico das soluções quando as mesmas advém de polímeros pré-formados (SCHAFFAZICK et al., 2002; SANTOS, 2011). Foi observado que o volume de aproximadamente 80 mL foi reduzido para em torno de 40 mL. O que pode ser entendido como evaporação do solvente, acetona, e de água por arraste. Já para as amostras de 4 horas de evaporação o volume após o processo de evaporação ficou próximo a 50 mL.

Com o objetivo de verificar a morfologia das micro/nanopartículas preparadas neste trabalho, foram obtidas diversas micrografias do material seco. A Figura 20 apresenta micrografias das dispersões de micro/nanopartículas com óleo essencial de citronela, formulações 1, 2 e 3, com aumento de 5000 X.

Figura 20: Micrografias das micro/nanopartículas das formulações: (a) 1, (b) 2 e (c) 3, tempo de evaporação de 4 horas – aumento de 5000X .

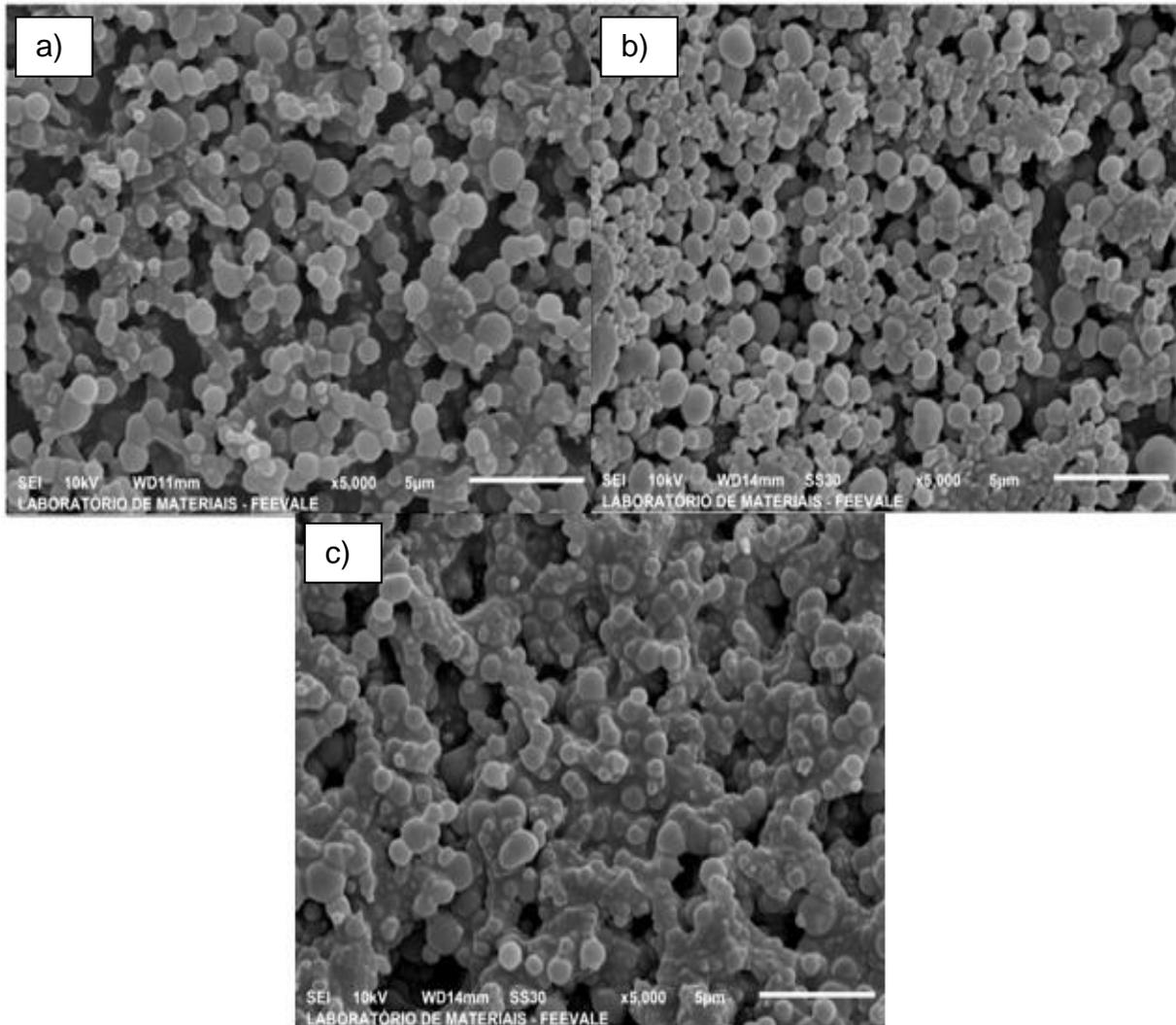


Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Na Figura 20 é possível verificar que houve a formação de micro e nanopartículas, em ambas as formulações, sendo grande parte delas de aparência esféricas e uniformes. O tamanho das partículas apresentam pontos de não homogeneidade. Este resultado vem ao encontro do que menciona Moinard-Chécot *et al.* (2008), que o tamanho da gotícula dispensada na solução aquosa influencia no tamanho da partícula. Neste caso é necessário considerar que a adição da fase orgânica foi realizada manualmente à fase aquosa.

A Figura 21 apresenta micrografias das dispersões de micro/nanopartículas com óleo essencial de citronela, formulações 4, 5 e 6 aumento de 5000 X.

Figura 21: Micrografias das micro/nanopartículas das formulações: (a) 4, (b) 5 e (c) 6, tempo de evaporação de 24 horas – aumento de 5000X.

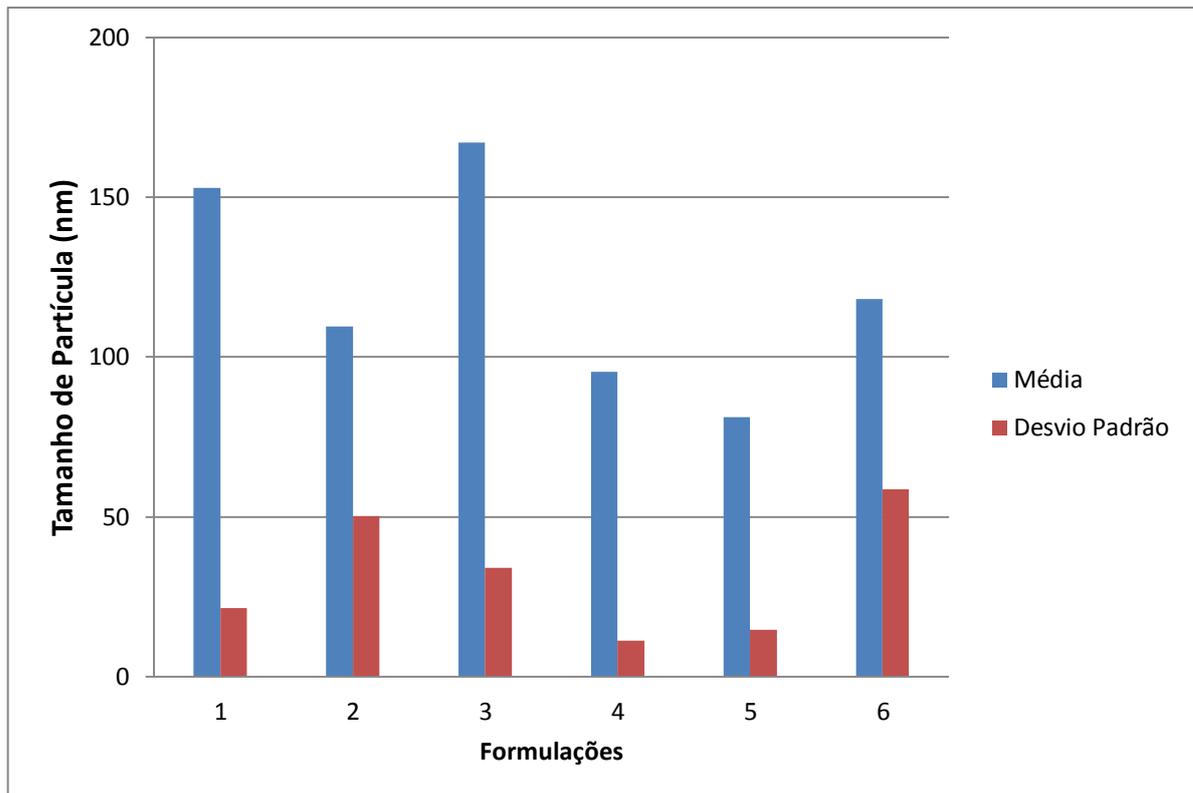


Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Na Figura 21 também é possível verificar que houve a formação de micro e nanopartículas, em ambas as formulações, sendo grande parte delas de aparência esféricas e uniforme. A literatura comenta que o tamanho da partícula pode variar em função da quantidade de óleo em relação ao polímero e, que em alguns casos, quando se aumenta a proporção de óleo/polímero na fase orgânica, o mesmo também pode ocorrer. Este último fator se deve aumento da resistência de difusão da fase orgânica para a fase aquosa, permitindo maior associação do ativo/óleo nas nanopartículas (BUDHIAN *et al.*, 2007; MORAES *et al.*, 2009) .

O tamanho de partícula médio e desvio padrão de cada formulação apresenta-se na Figura 22. O acompanhamento semanal de cada formulação encontra-se no APÊNDICE- E ao APÊNDICE–J .

Figura 22: Resultados de tamanho de partícula formulações 1, 2, 3, 4, 5 e 6.



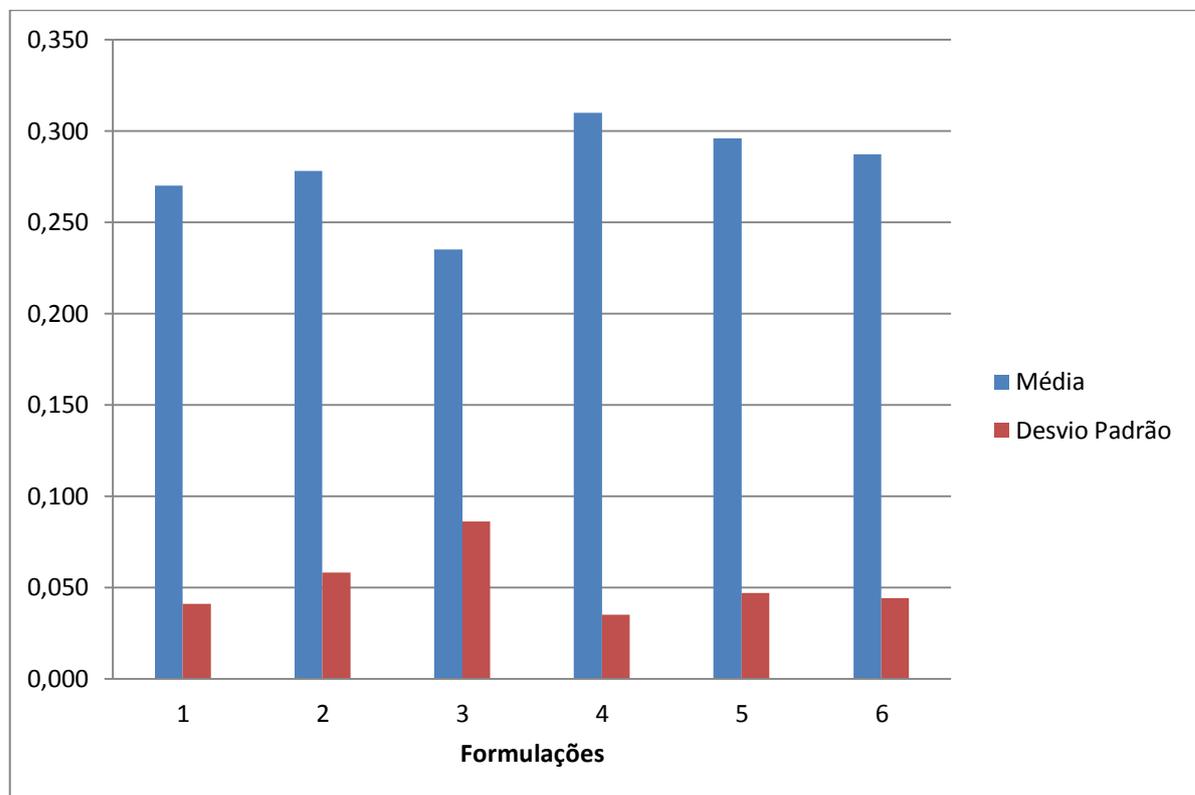
Fonte: Elaborado pela autora, 2017

A Figura 22 demonstra que as análises de tamanho de partícula realizadas na formulações 1, 2 e 3 apresentaram o tamanho de partícula maior que da das formulações 4, 5 e 6. Sugere-se que este fator esteja ligado ao tempo de evaporação do solvente, uma vez que as formulações 1 e 4, 2 e 5 e 3 e 6 possuem aproximadamente a mesma razão de óleo/polímero que $1/5$, $1/4$ e $2/5$ respectivamente.

O tamanho de partícula corrobora o trabalho de Schaffazick *et al.*(2003), em que os autores levantam que independentemente do método adotado, em geral o tamanho das partículas varia entre 100 e 300 nm. Ocorre que, em alguns processos, este tamanho pode ser inferior ao limite mínimo desta faixa devido a escolha do óleo, que modifica as características de viscosidade e hidrofobicidade entre outras (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Já a diferença de tamanho de partículas utilizando espalhamento de luz e MEV pode estar relacionada ao fato da preparação das amostras deste último exigir um procedimento de secagem e de metalização antes da análise, que são conduzidos, assim como própria análise, sob alto vácuo. Esta exposição ao vácuo na preparação e análise da amostra pode ser responsável por impor volatilização do óleo essencial e conseqüentemente por uma dilatação da partícula (DOMINGUES *et al.*, 2008). Isso justificaria a diferença de tamanho observada nas duas metodologias utilizadas para avaliar esta característica. Já os valores de PDI de cada formulação apresentam-se na Figura 23.

Figura 23: Resultados da polidispersão (PDI) das formulações 1, 2, 3, 4, 5 e 6.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

O valor de PDI apresentado na Figura 23 para seis formulações, é próximo a 0,3. O que segundo a literatura, representa uma PDI moderada e relativa homogeneidade na distribuição do tamanho das partículas (TRIERWEILER, 2009).

A Tabela 10 apresenta os valores de PZ das formulações com micro/nanopartículas.

Tabela 10: Potencial zeta (PZ) das formulações 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

PZ (mV)		
Formulação	Média	Desvio Padrão
1	-13,940	9,74
2	-14,710	6,76
3	-14,940	5,06
4	-8,71	7,69
5	-7,18	8,98
6	-12,31	8,94

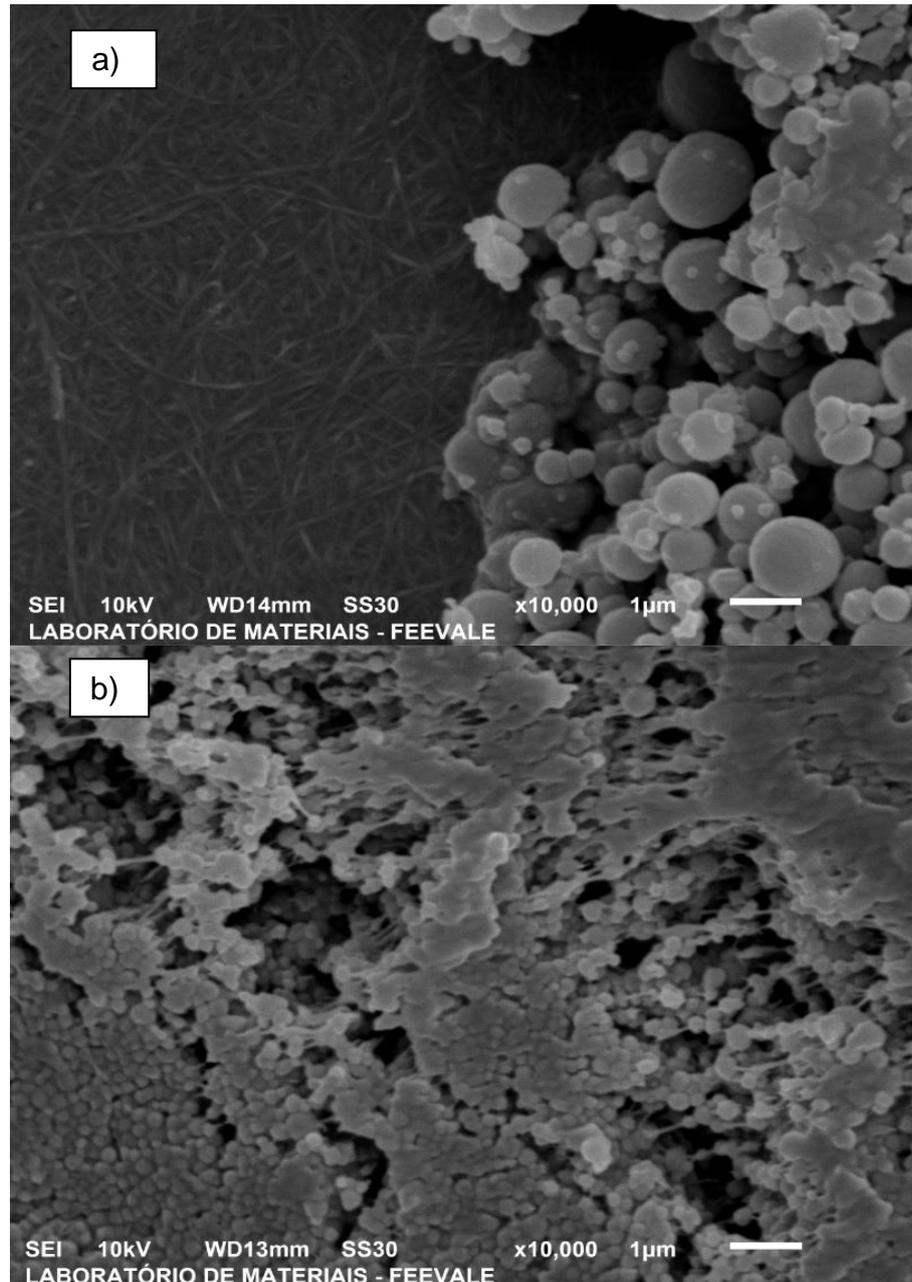
Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Na tabela 10 podem ser observados os valores de PZ próximos à -15 mV para as formulações 1, 2 e 3 e próximo a -10 mV para as formulações 4, 5 e 6. De acordo com Souza *et al.* (2012), quanto mais alto o valor do PZ (menos negativo) maior a quantidade de polímero da partícula e maior tendência de agregação. Ainda de acordo com Mohanraj e Chen (2006) nanopartículas com PZ acima de ± 30 mV são suspensões estáveis o que impede a agregação de nanopartículas. Ainda, a literatura (Delgado, 2013) aborda que valores de PZ aproximados de 20 mV (módulo) apresentam uma boa estabilidade a curto prazo.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA CONTENDO MICRO/NANOPARTÍCULAS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA

Após o processo de incorporação e secagem, tanto as celulosas secas quanto as úmidas, encontravam-se com uma aparentemente camada embranquecida depositadas sobre as mesmas. A diferença entre as amostras é que na seca foi possível verificar o desprendimento de um pó branco de sua superfície.

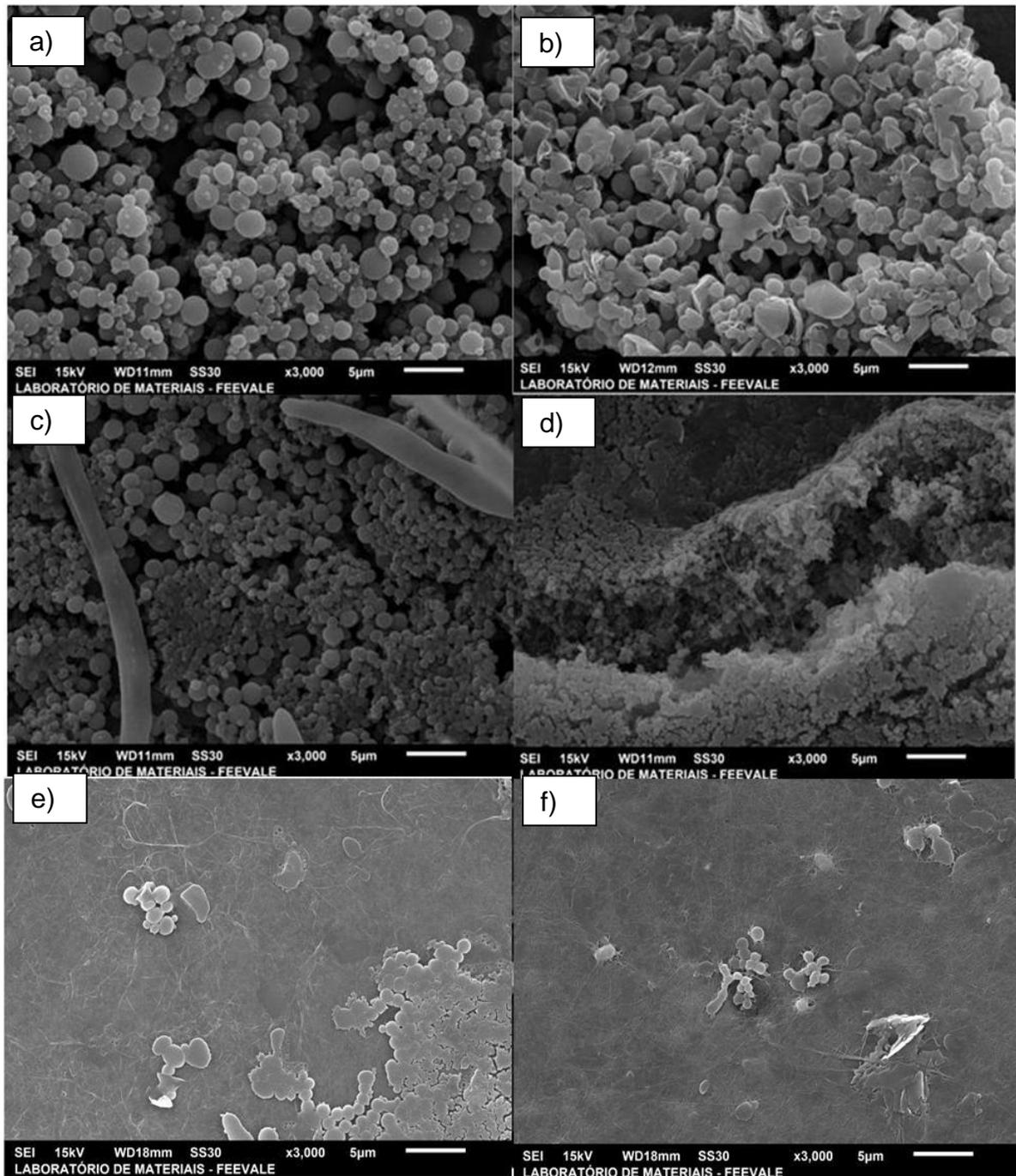
As Figura 24 apresenta esta característica na CB seca (Figura 24a) e na úmida (Figura 24b) com a deposição de micro/nanopartículas de óleo essencial de citronela, sendo a da parte seca onde foi possível remover parte deste recobrimento.

Figura 24: Micrografia (a) CBS-3 (b) CBU-3.

Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Com aumento de 10000 X observa-se na celulose seca, Figura 24 a), a matriz celulósica ao fundo, como decorrência do desprendimento natural da camada esbranquiçada, que por microscopia pode ser verificado que se trata da deposição de partículas, enquanto na celulose úmida, Figura 24 b), o desprendimento não ocorreu. A Figura 25 traz todas as combinações de impregnação CBS-3, CBU-3, CBS33, CBU33, CBS-12 e CBU-12 onde é possível verificar a deposição das nanopartículas sobre a celulose bacteriana.

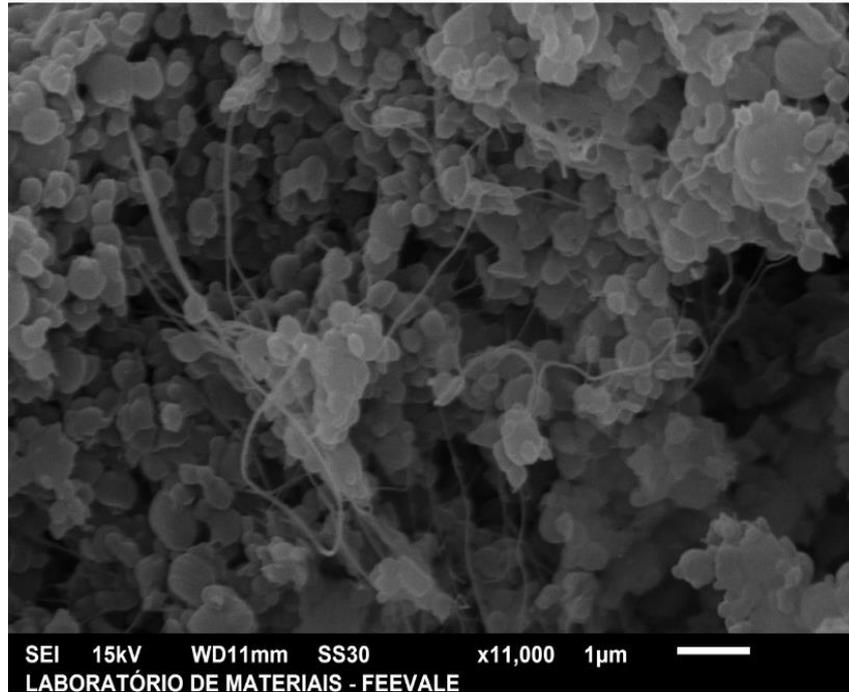
Figura 25: Micrografia (a) CBS-3 (b) CBU-3 (c) CBS-33, (d) CBU-33, (e) CBS-12 e (f) CBU-12 aumento de 3000 X.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Nestas micrografias, tanto para a celulose seca quanto para úmida, não é possível visualizar as fibras da celulose bacteriana, exceto na amostra CBU-33. Este aspecto fica mais visível com aumento 11000 X desta amostra, apresentado na Figura 26.

Figura 26: Micrografia CBU-33, aumento de 11000 X.

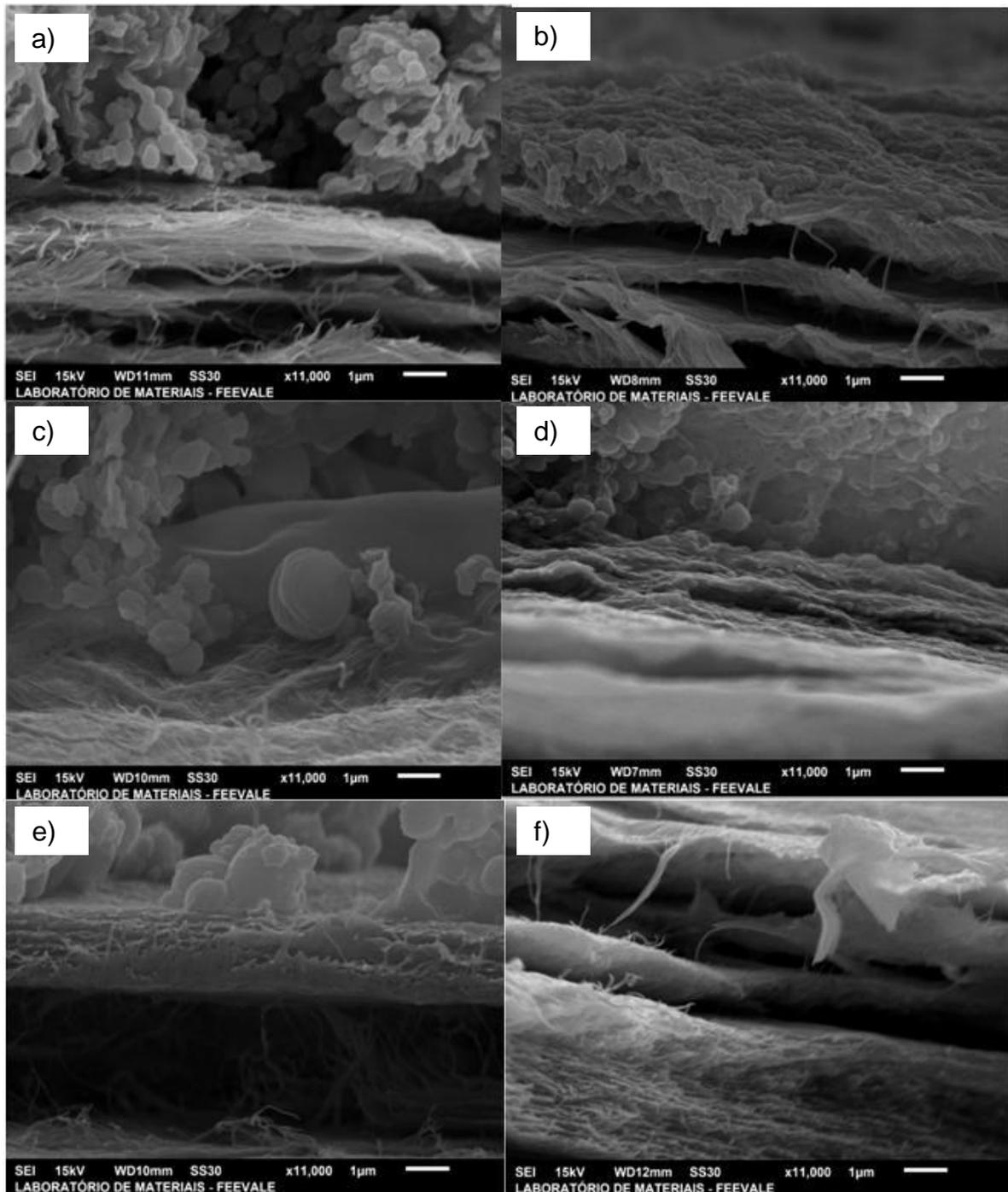


Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Ao centro da Figura 26 é possível verificar a presença de filamentos, que sugerem ser fibras da CB, junto as micro/nanopartículas.

Para analisar a presença de fibras entre as micro/nanopartículas, a Figura 27 mostra a secção transversal das amostras CBS-3, CBU-3, CBS-33, CBU-33, CBS-12 e CBU-12 com aumento de 11000 X.

Figura 27: Micrografia Transversal (a) CBS-3 (b) CBU-3 (c) CBS-33, (d) CBU-33, (E) CBS-12 E (f) CBU-12, aumento de 11000 X.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

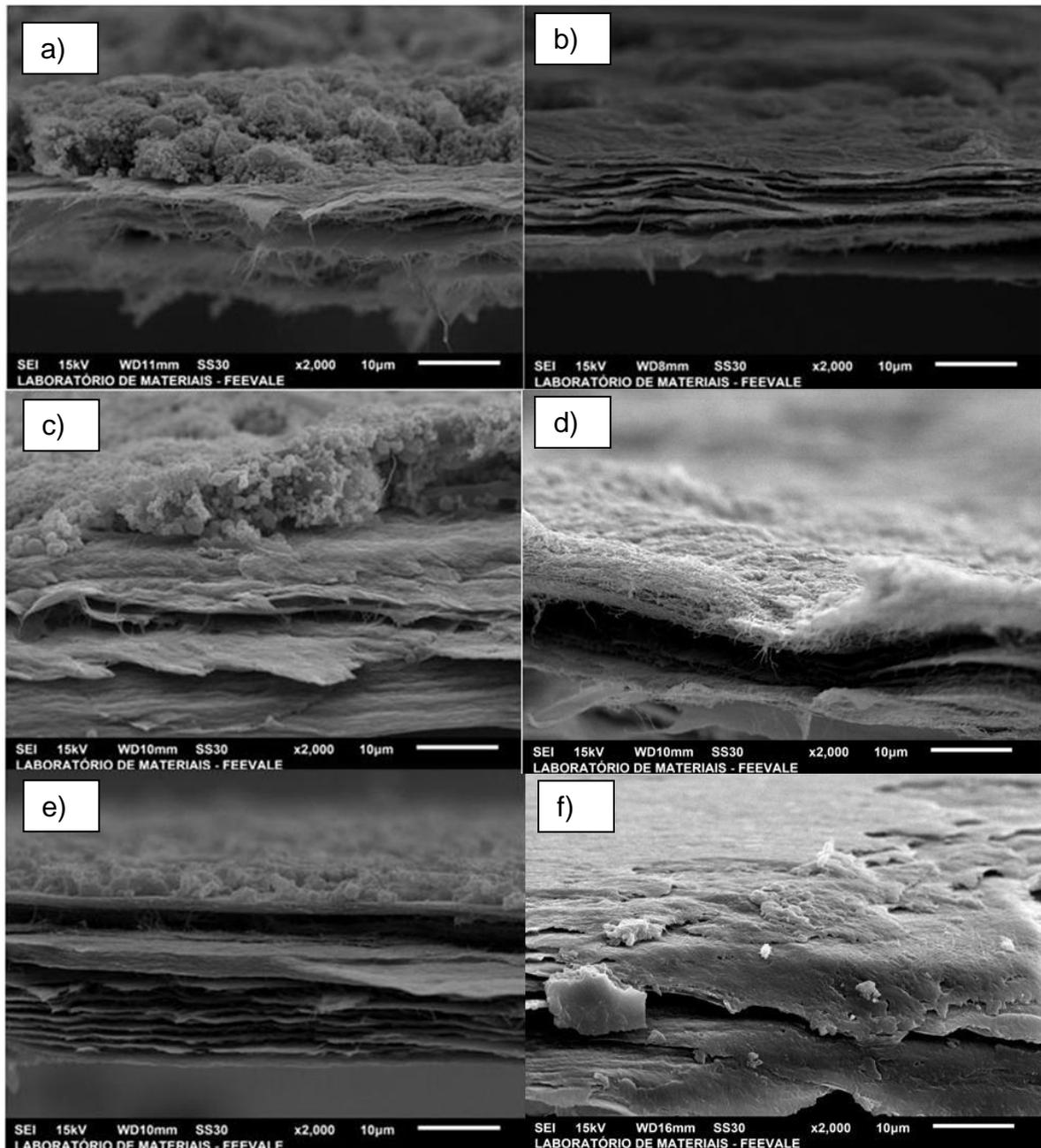
Na Figura 27 em (a) CBS-3, (b) CBU-3, (c) CBS33, (e) CBS-12 e (f) CBU-12 observa-se a deposição de micro/nanopartículas sobre a região superficial da membrana da CB. Nestas amostras, na secção transversal, também não se evidencia a presença de micro/nanopartículas ao meio das fibras da membrana. Já

na amostra (d) CBU-33 observa-se a presença de micro/nanopartículas entre as fibras da CB.

Uma outra diferença entre as membranas secas e úmidas que receberam a impregnação de micro/nanopartículas, é que as secas permitiram a formação de uma camada mais volumosa sobre a superfície da membrana da CB. Esta diferença está representada na Figura 28. Este fato sugere, juntamente com o fato de a deposição desprender-se voluntariamente da superfície nas membranas secas, que existem modos de interação diferentes nas duas membranas.

Neste caso, as membranas úmidas permitiriam mais facilmente uma deposição mais homogênea e, aparentemente, menos espessas localmente, dando a impressão de absorção das dispersões. Segundo a literatura (OLIVEIRA, 2011) a celulose úmida possui 99% de sua massa composta por água, e esta hidratação propicia espaços entre as fibras. Além disso, é importante notar a diferença de comportamento das membranas que foram impregnadas utilizando etanol, caso em que a seca também não apresentou distribuição homogênea e em que a úmida chegou a permitir a penetração.

Figura 28: Micrografia Transversal (a) CBS-3 (b) CBU-3 (c) CBS-33, (d) CBU-33, (e) CBS-12 E (f) CBU-12, aumento de 2000 X.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

Esta ausência de micro/nanopartículas entre as fibras e camadas de fibras da CB se difere de outros resultados da literatura nos quais foi possível verificar nanopartículas entre as fibras da CB. A diferença, no entanto, pode estar ligada ao fato da inclusão das nanopartículas ser promovida durante o processo de preparação das membranas ou ainda devido ao fato das micro/nanopartículas

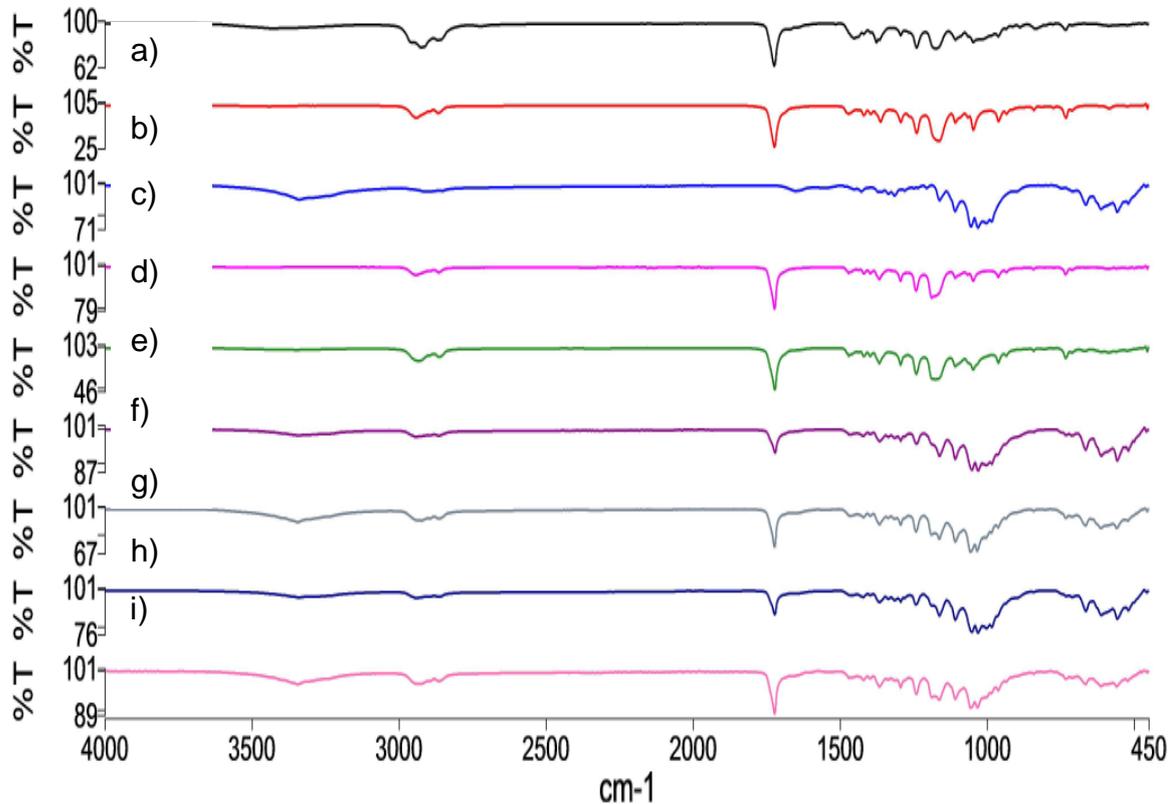
impregnadas nestes trabalhos, possuem tamanhos menores que os espaços intersticiais das fibras da celulose bacteriana (SANTOS, 2012; WANG *et al.*, 2014).

Quanto à interação dos materiais com o PCL, polímero utilizado na preparação das micro/nanopartículas, é um polímero hidrofóbico e que tem aplicação na preparação de compósitos com polímeros hidrofílicos como a CB (SARASAM & MADIHALLY, 2005). A CB tem grande afinidade com solventes polares como a água, e se presta à preparação de compósitos, com, por exemplo, PCL (SOUZA, 2013). Sugere-se, assim, que a ausência de micro/nanopartículas nas amostras CBS-3, CBU-3, CBS33, CBS-12 e CBU-12 não esteja ligada a interação entre polímero e CB e sim devido ao tamanho e agregação das partículas. Os resultados de potencial zeta, sugerem a formação de agregados de partículas nas diferentes formulações. Neste contexto, os baixos potenciais das formulações sugerem a possibilidade de agregação, mas não foram observados agregados ou precipitados nas dispersões.

As questões relacionadas a interação entre polímeros, apontadas na literatura (SARASAM & MADIHALLY, 2005; SOUZA, 2013) vem ao encontro do resultado obtido na amostra CBU-33. Sugere-se, assim, que o etanol, tenha interagido com a CB, mais facilmente pelo fato da membrana estar úmida, possibilitando a interação mais eficiente entre as micro/nanopartículas e a membrana.

Ainda como caracterização, a Figura 29 apresenta os espectros de infravermelho do óleo de citronela, da PCL, da CB, e das amostras CBS-3, CBU-3, CBS33, CBU33, CBS-12 e CBU-12.

Figura 29: Espectros de infravermelho: (a) óleo essencial, (b) PCL, (c) CB, (d) CBS-3 (e) CBU-3 (f) CBS-33, (g) CBU-33, (h) CBS-12 e (i) CBU-12.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017

É importante notar que nas amostras d) e e), a presença de bandas relativas à policaprolactona, e ao óleo de citronela. Uma em aproximadamente em 2945 cm^{-1} relativas aos estiramento de CH's e outra na faixa de 1724 cm^{-1} referente ao estiramento de C=O (ROA *et al.*, 2010; SILVA, 2009; BARBANTI; ZAVAGLIA, DUEK, 2006). Como estas duas bandas são características das duas amostras, torna-se necessário analisar outra região do espectro, a da impressão digital (abaixo de 1500 cm^{-1}) onde se pode evidenciar semelhança maior com a policaprolactona do que com o óleo de citronela.

Para as amostras f), g), h) e i) observa-se semelhança com a policaprolactona nas faixas de em 2945 cm^{-1} e 1724 cm^{-1} . Já as bandas em aproximadamente 1400 cm^{-1} , 1370 cm^{-1} , 1340 cm^{-1} e $1320\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$, se assemelham as bandas da CB e os grupos químicos já mencionados anteriormente (KAKURÁKOVÁ *et al.*, 2002; DUFRESNE; THOMAS; POTHAN, 2013; MACHADO *et al.*, 2014). Em vista desta comparação, sugere-se que as amostras d) e e), não apresentam o perfil da CB no

espectro de infravermelho por terem mais policaprolactona na superfície em decorrência do tipo de impregnação que sofreram. Enquanto as outras amostras f), g), h) e i), que tiveram impregnação, com dispersões mais diluídas, respectivamente com etanol e água, tiveram parte de sua superfície exposta e assim apresentam o perfil da CB no espectro de infravermelho.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho é possível concluir que as membranas de celulose bacteriana produzidas com resíduos da cadeia produtiva da laranja e com método convencional são semelhantes na sua morfologia, estrutura química e aspecto visual. Nesse sentido são semelhantes as características vibracionais e morfológicas das amostras, bem como a aparência física e visual das mesmas. Não obstante, existem algumas diferenças, como na molhabilidade, que foi maior para o material obtido com resíduos da cadeia produtiva da laranja. Neste caso, é possível pensar que aplicações diferentes possam ser atribuídas a este material e ao material obtido por método convencional. Além disso, os resultados de difração de raios-X, sugerem cristalinidades diferentes para os dois materiais. Este resultado corrobora com o de molhabilidade, pois segundo a literatura a menor cristalinidade pode aumentar a molhabilidade.

O sucesso da preparação de membranas de celulose bacteriana a partir de resíduos da cadeia produtiva da laranja sugere a possibilidade de se utilizar este tipo de resíduo, abundante em determinadas regiões, permite pensar em aspectos de sustentabilidade relacionados à utilização do resíduo.

Quanto a preparação de micro/nanopartículas contendo óleo essencial de citronela, as diferentes formulações apresentaram morfologia semelhante onde as imagens demonstram a formação de partículas esféricas com tamanhos variados, com dimensões nano e micrométricas. A polidispersão observado das partículas deve-se entre outros fatores, provavelmente à forma manual de adição da fase orgânica à fase aquosa.

As amostras de impregnação CBS-3, CBU-3, CBS-33, CBU-33, CBS-12 e CBU-12 apresentaram resultados diferentes entre os processos com membrana seca e úmida. Quando as amostras CBS-3, CBS-33 e CBS-12 foram friccionadas uma camada nas micro/nanopartículas foi removida, aparentemente a camada com micro/nanopartículas ficou depositada sobre a superfície da membrana e não interagiu com a matriz.

Já as amostras CBU-3 e CBSU-12, a camada com as micro/nanopartícula ficou com aspecto de compactada contra a superfície da celulose bacteriana, porém aparentemente não se observou micro/nanopartículas entre as fibras.

Sendo a amostra CBU-33 a única em que foi possível evidenciar a presença de micro/nanopartículas em suas fibras e nas camadas mais internas da membrana de celulose bacteriana. Este fato de acordo com a literatura pode dever-se ao fato do etanol, solvente anfifílico, conseguir trabalhar com as diferentes situações encontradas nos materiais, a membrana predominantemente polar mas com algumas regiões apolares e o polímero que compõem as nanopartículas ser hidrofóbico.

Por esses motivos a formulação 3 impregnada na celulose bacteriana na forma úmida, juntamente com o etanol foi a amostra que apresentou o resultado mais satisfatório, por apresentar micro/nanopartículas entre as fibras da CB . Sendo que o mesmo pode ser observado nas imagens de microscopia e nos espectros de infravermelho da mesma, presença de bandas do polímero e da CB.

Dados expostos acima conclui-se que os objetivos específicos listados neste trabalho foram concluídos em sua totalidade. Sendo que membranas de CB podem ser feitas com resíduos da cadeia produtiva da laranja assim como método convencional. Ainda também pode se evidenciar que é possível produzir e incorporar micro/nanopartículas em membranas de CB, sendo a forma úmida com o uso de um solvente anfifílico o que obteve resultado satisfatório.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Findo o trabalho, novos questionamentos surgem permitindo a proposição para novas pesquisas. A seguir sugere-se uma possível linha a ser seguida:

- Avaliar fatores de rendimento do meio de cultura de produção da CBL tais como quantidade e tipos de açúcares do resíduo e pH do meio de cultura;
- Caracterizar termicamente as membranas CBL's;
- Estudar a estrutura cristalina das membranas de CB e CBL's, de forma a definir em que tipo se enquadram;
- Avaliar as membranas de CBL's com relação à degradação, aplicação e impregnação de micro/nanopartículas;
- Avaliar padrão de análise de PZ, tamanho de partícula e PDI para amostras de micro/nanopartículas que obtenha menor desvio padrão entre as mesmas;
- Realizar nas amostras de micro/nanopartículas com óleo essencial de citronela análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET), para avaliar a presença de óleo, e concentração inibitória mínima (MIC), para avaliar características antimicrobianas;
- Avaliar aplicação do compósito de CB com micro/nanopartículas contendo óleo essencial de citronela.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Denise M. *et al.* **Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata.** 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/po/2013nahead/aop_1002.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2017.

ANDRADE, Milene Aparecida *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p.399-408, 2012.

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D.; FORATO, L. A. “O Uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in natura e Minimamente Processadas”, **Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** - São Carlos, n.29, 2009.

BÄCKDAHL, H. *et al.* **Artificial Vessels.** Patente EP 2079845 A2, 2 out. 2006, 22 jul. 2009.

BAETS, S. de *et al.* Improved production of bacterial cellulose and its application potential. **Polymer Degradation And Stability**, v. 59, p.93-99,1997.

BARBANTI, Samuel H.; ZAVAGLIA, Cecília A. C.; DUEK, Eliana A. R. Degradação acelerada de suportes de Poli (ϵ -caprolactona) e Poli (D, L-ácido láctico-co- ácido glicólico) em meio alcalino. **Polímero: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 2, p. 141-148, 2006.

BARUD, Héliida Gomes de Oliveira. **CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CITOCOMPATIBILIDADE DE NANOCOMPÓSITOS BASEADOS EM CELULOSE BACTERIANA E FIBROÍNA PARA APLICAÇÃO EM REGENERAÇÃO TECIDUAL.** 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Odontológicas, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2014.

BARUD, Hernane da Silva. **NOVOS MATERIAIS MULTIFUNCIONAIS BASEADOS EM CELULOSE BACTERIANA**. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal Of Controlled Release**, v. 235, p.337-351, 2016.

BISMARCK, Alexander *et al.* Surface only modification of bacterial cellulose nanofibres with organic acids. **Springer**, n. 18, p.595-605, 2011.

BLEDZKI, A. K.; GASSAN, J. Composites reinforced with cellulose based fibres. **Progress in Polymer Science**, n. 24, p. 221-274, 1999.

BOTTENE, Marcia K. **DESENVOLVIMENTO DE MICRO/NANOPARTÍCULAS DE POLICAPROLACTONA COM INCORPORAÇÃO DE *Rosmarinus Officinalis***. Trabalho de conclusão de curso. Feevale. Novo Hamburgo, RS. 2015.

BRISOLARI, André. **ESTUDO DA MOLHABILIDADE EM MADEIRAS TROPICAIS OU DE REFLORESTAMENTO POR MEDIDAS DO ÂNGULO DE CONTATO E DE PERMEABILIDADE**. 2008. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Instituto de Física de São Carlos Interunidades em Ciência e Engenharia de Materiais Grupo de Polímeros Bernhard Gross, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

BROWN JR., M. R. “Microbial Cellulose: a new resource for wood, paper, textiles, food and specialty products”, (www.botany.utexas.edu/facstaff/facpages/mbrown), **Position Paper**, 1998.

BUDHIAN, A.; SIEGEL, S. J.; WINEY, K. I. Haloperidol-loaded PLGA nanoparticles: Systematic study of particle size and drug content. **Int. J. Pharm.**, v. 336, p. 367-375, 2007.

Canal Rural. Disponível em: <<http://www.canalrural.com.br/noticias/citrus/usda-safra-brasileira-laranja-2014-2015-deve-diminuir-315-53982>>. Acesso em: 11 abr. 2015.

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

CASARANO, Romeu. **COPOLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS COM POTENCIAL USO COMO BIOMATERIAIS.** 2009. 281 f. Tese (Doutorado em Química – Química Orgânica). Instituto de Química de São Paulo. Universidade de São Paulo, 2009.

CASARIN, Suzan A. *et al.* Blendas PHB/Copoliésteres Biodegradáveis – Biodegradação em solo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. v. 23, n. 1, p. 115-122, 2013.

CASTRO, Luis Antônio Suita de. Processamento de Amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura. **Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Documentos 93**, p.1-37, 2001. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/32390/1/documento-93.pdf>>. Acesso em: 21 jan. 2017.

CAVKA, A. *et al.* Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. **Biotechnology For Biofuels**, v. 6, n. 25, p.0-10, 2013.

CHEN, Shiyan *et al.* “Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites”, **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p.1043-1060, 2014.

CHEN, Hui-huang; CHANG, Wen-shuo. “ Physical properties of bacterial cellulose composites for wound dressings”, **Food Hydrocolloids**, p.1-9, 2014.

Citronella Java Oil. Disponível em: <<http://www.kanta-group.com/citronella-java-oil.html>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

CLARK, R. *et al.* **Food products containing bacterial cellulose**. Patente WO 1997048402 A1 20 jun. 1996, 24 dez. 1997.

COUTINHO, Murilo Pereira. **INFLUÊNCIA DA MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE NA MOLHABILIDADE DO TITÂNIO COMERCIALMENTE PURO**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais). Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro, 2007.

CZAJA , W. *et al.* “Microbial cellulose the natural power to heal wounds”, **Biomaterials**, v. 27, p.145-151, 2006.

DANESI, E. D. G.; WOSIACKI, G. Otimização da produção de nata (celulose bacteriana) por fermentação em superfície. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p.1-23, 1998.

DANTAS, Érica Mara; AQUINO, Luciana Cristina Lins de. Fermentação em estado sólido de diferentes resíduos para a obtenção de lipase microbiana. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 12, n. 1, p.81-87, 2010.

DELGADO, Jorge Miguel Ferreira. **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOTRANSPORTADORES (NANOCÁPSULAS, NANOESFERAS, LIPOSSOMAS E TRANSPORTADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS) SEM SUBSTÂNCIA ATIVA**. 2013. 117 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Biomédica pela Escola Superior de Tecnologia e Gestão). Instituto Politécnico de Bragança. Bragança, Portugal. 2013.

DENNIS. J. L., GLONEK, T. **Microbial cellulose contact lens**. Patente US 7832857 B2, 18 ago. 2008, 16 nov. 2010.

DOMINGUES, Gislane Scholze; GUTERRES, Sílvia Stanisçuaski; BECK, Ruy Carlos Ruver; POHLMANN, Adriana Raffin. Micropartículas nanorevestidas contendo um

fármaco modelo hidrofóbico: preparação em etapa única e caracterização biofarmacêutica. **Química Nova**, v. 31, n. 8, 1966-1972, 2008.

DONINI, Ígor A. N., *et al.* Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p.165-178, 2010.

DUARTE, Eden Batista. **PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE CELULOSE BACTERIANA E HIDROXIAPATITA COMO ROTA DE VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS**. 2014. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

DUARTE, Eden Batista *et al.* **Obtenção de nanocompósitos de celulose bacteriana e hidroxiapatita a partir de resíduos agroindustriais**. Embrapa, Juiz de Fora, VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, p.432-435, setembro de 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1029293/obtencao-de-nanocompositos-de-celulose-bacteriana-e-hidroxiapatita-a-partir-de-residuos-agroindustriais>>. Acesso em: 28 out. 16.

DUFRESNE, Alain; THOMAS, Sabu; POTHAN, Laly A. (Comp.). **Biopolymer nanocomposites: Processing, properties, and applications**. New Jersey: Wiley, 2013. 696 p.

FERNANDES, Regiane Victoria de Barros. **Microencapsulamento de Óleo Essencial de Alecrim (Rosmarinus Officinalis L.) através de Secagem por Atomização**. 2013. 134 f . Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, MG. 2013.

FRANCHETTI, Sandra Mara Martins; MARCONATO, José Carlos. Polímeros Biodegradáveis – Uma solução para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FREIRE, Carmen S.r. *et al.* Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. **Bioresource Technology**, p.1-34, 2011.

GATENHOLM, P. *et al.* "Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage", **Biomaterials**, v. 26, p.419-431, 2005.

GOMES, Vera Marta Almeida. **ENCAPSULAÇÃO DE CIRPROFLOXACINA EM NANOPARTÍCULAS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO)**. 2009. 78 f. Dissertação de Mestrado em Química Analítica e Controle de Qualidade. Universidade de Aveiro. Aveiro, Portugal. 2009.

GOMES, Fabio P. *et al.* Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. **Biomass and Bioenergy**, v. 55, p.205-211, 2013.

GOMES, G. M. F. *et al.* BIODEGRADAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR POR MICRORGANISMOS RUMINAIS DE CAPRINOS E OVINOS. **Biosci. J**, Uberlândia, v. 31, n. 1, p.204-214, jan/fev, 2015

GRAMINHA, E.b.n. *et al.* Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 144, n., p.1-22, 2008.

HAACK, Micheli de Souza. **ANÁLISE DE MATERIAIS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO DENTRO DO SISTEMA DE GESTÃO DE QUALIDADE CONFORME ABNT NBR ISO/IEC 17025**. 2010. 49f. Trabalho de conclusão de curso (Monografia) - Curso de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2010.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacterxylinum*: II. Preparation of freeze - dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochem.J.**, v. 58, p. 345–352, 1954.

HONG, Feng; QIU, Kaiyan. An alternative carbon source from konjac powder for enhancing production of bacterial cellulose in static cultures by a model strain *Acetobacter acetii* subsp. *xylinus* ATCC 23770. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p.545-549, 2008.

HSU, Shan-hui *et al.* Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p.603-611, 2013.

HWANG, Dae Youn *et al.* Bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter sp.* A10 for burn wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p.387-398, 2015.

IGUCHI, Masatoshi *et al.* **Bacterial cellulose-containing molding material having high dynamic strength**". Patente US4742164 A, 16 abr. 1985, 3 mai.1988.

JORFI, Mehdi; FOSTER, E. Johan. Recent advances in nanocellulose for biomedical applications. **Applied Polymer Science**, p.1-19, 2015. DOI: 10.1002/APP.41719.

JUNIOR , Ivanildo José da Silva *et al.* Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p.1027-1037, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000500024>. Acesso em: 11 dez. 2016.

JUSTO, Oselys Rodriguez *et al.* Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Quím. Nova**, v.31, n.7, p.1699-1705, 2008. ISSN 0100-4042.

KAKURÁKOVÁ, Marta *et al.* Molecular interactions in bacterial cellulose composites studied by 1D FT-IR and dynamic 2D FT-IR spectroscopy. **Elsevier: Carbohydrate Research**, n. 337, p.1145-1153, 2002.

KLEMM, Dieter *et al.* "Bacterial synthesized cellulose – artificial blood vessels for microsurgery", **Progress in Polymer Science**, v. 26, p.1561-1603, 2001.

KLEMM, Dieter *et al.* Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Polymer Science**, v. 44, p.3358-3393, 2005.

LAVABRE, Marcel. **Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais**. Tradução de Raffaella de Fillippis. 4ª ed. Editora Nova Era. Rio de Janeiro, RJ, 1997.

LEE. C. K. *et al.* **Cosmetic bio-cellulose mask pack sheet and method for manufacturing same. Amorepacific corporation**. Patente US 20130244977 A1, 26 out. 2010, 19 set. 2013.

LEJA, Katarzyna; LEWANDOWICZ, Grazyna. Polymer Biodegradation and **Biodegradable Polymers – a Review**. Polish J. of Environ. Stud, v. 19, n. 2, p. 255-266, 2010.

LIMA, Helder Levi Silva. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO LÍQUIDO DO SISAL E SUCO DO CAJU PARA A PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA**. 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

LIMAYEM I.,*et al.* Preparation and characterization of spironolactone-loaded nanocapsules for paediatric use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 325. p. 124-131, 2006.

LORENZI, Harri; MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa, Sp: Instituto Plantarum, 2008.

LUZ A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI V. C. Artigo revisão: Uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, n. 54; p. 174-183, 2008.

MACHADO, Rachel Temperani A. *et al.* Preparação e caracterização térmica de membranas de biocelulose obtidas pela biossíntese da bactéria *Komagataeibacter rhaeticus*. **Abratec: IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria**, Serra Negra- SP, nov. 2014.

MARINS, Jéssica A. et al. Flexible magnetic membranes based on bacterial cellulose and its evaluation as electromagnetic interference shielding material. **Materials Science And Engineering C**, n. 33, p.3994-4001, 2013.

MARVÁN, Edgardo Escamilla *et al.* Celulosa bacteriana en *Gluconacetobacter xylinum* biosíntesis y aplicaciones. **Tip Revista Especializada En Ciencias Químico Biológicas**, v. 7, p.18-25, 2004.

MAZUMDAR, Sanjay K.. **COMPOSITES MANUFACTURING Materials, Product, and Process Engineering**. Nova Iorque: Crc Press, 2001.

MOÇO, Salomé Soares da Silva. **IMPREGNAÇÃO DE FIBRAS DE CELULOSE COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA, ÓXIDO DE ZINCO E ÓXIDO DE COBRE PARA APLICAÇÕES ANTI-BACTERIANAS**. 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Materiais, Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2013.

MOHANRAJ, Vj; CHEN, y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**,, ., v. , n. , p.561-573, jun. 2006. Disponível em: <<http://www.bioline.org.br/pdf?pr06007>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

MOINARD-CHÉCOT, D.; *et al.* Mechanism of nanocapsules formation by the emulsion–diffusion process. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 317, p. 458-468, 2008.

MORAES, Carolina Morales *et al.* Benzocaine loaded biodegradable poly-(d,l-lactide-co-glycolide) nanocapsules: factorial design and characterization. **Materials Science And Engineering B**. Sorocaba, p. 243-246, 2009.

MÜLLER, Daliana. **INCORPORAÇÃO DE POLÍMEROS INTRINSECAMENTE CONDUTORES EM NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA**. 2012. 143 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

NAKAMURA, Yoshitoshi *et al.* Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. **Carbohydrate Polymers**, v. 6, p.333-335, 2009.

NETZ, Paulo A.; ORTEGA, George González. **Fundamentos de Físico Química: Uma abordagem conceitual para ciências farmacêuticas**. São Paulo: Artmed, 2002. 299 p.

NUNES, Ana Sofia Costa. **BACTERIAL CELLULOSE AS A NANOSTRUCTURED FUNCTIONAL MATERIAL FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS**. 2012. 141 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Biomédica, Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal, 2012.

Disponível em: <<http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/23524>>. Acesso em: 10 jul. 2016.

OKSMAN, Kristiina *et al.* **HANDBOOK OF GREEN MATERIALS: Bionanomaterials: separation processes, characterization and properties**. : World Scientific, 2014. 1124 p.

OLIVEIRA, Vanessa Almeida de. **Produção e Degradação in vitro de Vasos Sanguíneos Artificiais à Base de Celulose Bacteriana**. 2011. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

OLIVEIRA, Rafael Leite de. **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS CELULÓSICOS OBTIDOS A PARTIR DA CELULOSE BACTERIANA E OBTENÇÃO DE FILMES PARA APLICAÇÕES ÓTICAS**. 2013. 176 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

PECORARO, Édison *et al.* Bacterial Cellulose from *Gluconacetobacter xylinus*: Preparation, Properties and Applications. **Monomers, Polymers and Composite From Renewable Resources**. Amsterdam: Elsevier, v. 1, p.369-383, 2008.

PÉREZ, Serge; SAMAIN, Daniel. STRUCTURE AND ENGINEERING OF CELLULOSES. **Advances In Carbohydrate Chemistry And Biochemistry**, v. 64, p.25-116, 2010.

PÉRTILE, Renata Aparecida Nedel. **ESTUDO IN VITRO DA INTERAÇÃO DA LINHAGEM DE FIBROBLASTOS L929 COM MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA PARA APLICAÇÕES EM ENGENHARIA DE TECIDOS**. 2007. 79 f. Dissertação (Mestrado em engenharia Química). Departamento de engenharia Química e engenharia de alimentos, Curso de Pós Graduação em Engenharia Química, Grupo de Engenharia Genômica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PEZZIN, Ana Pula Testa, *et al.* Estudo de biocompósitos de poli (L-ácido láctico) (PLLA) com celulose bacteriana (CB) visando a aplicação como membranas biomédicas. **12º Congresso Brasileiro de Polímeros – CBPOL**. Florianópolis, Santa Catarina, 2013.

PICCHI, Juliano Bottura. **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE UM BIOCOMPÓSITO À BASE DE CELULOSE ASSOCIADA À PRÓPOLIS**. 2010. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

PICHARD, Marie-noëlle. **50 óleos essenciais**. São Paulo: Lafonte, 2012. 93 p. Tradução: Cristina Fernandes. -- São Paulo: Editora Lafonte, 2012. Título original: Les 50 huiles essentielles incontournables.

PINTO, Elaine Rusguz Pereira. **ESTUDO DO SISTEMA CELULOSE BACTERIANA - POLIURETANA PARA PRODUÇÃO DE NOVOS COMPÓSITOS**. 2007. 170 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Unesp – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

RECOUVREUX, Derce de Oliveira Souza. **DESENVOLVIMENTO DE NOVOS BIOMATERIAIS BASEADOS EM CELULOSE BACTERIANA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS E DE ENGENHARIA DE TECIDOS**. 2008. 145 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

ROA, Juan P.B.; *et al.* Síntese e caracterização do copolímero Poli(3-hidroxi-butarato-co- ϵ -caprolactona) a partir de Poli (3-hidroxi-butarato) e Poli (ϵ -caprolactona). **Revista Polímeros** v. 20, n. 3, p. 221-226, 2010.

ROCHA, José Dilcio. **O Brasil é o país dos resíduos**. 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/1647258/o-brasil-e-o-pais-dos-residuos>>. Acesso em: 20 abr. 2015.

ROSA *et al.* Valorização de resíduos da agroindústria. **II Simpósio Internacional Sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – II Sigera**, Foz do Iguaçu, v. 1, p.100-107, mar. 2011.

RÓZ, Alessandra Luzia da *et al.* **Nanoestruturas**. Rio de Janeiro: Elsevier, v. 1, 2015.

SALVI, Denise Toledo Bonemer de. **MEMBRANAS CONDUTORAS IÔNICAS DE CELULOSE BACTERIANA**. 2010. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Unesp – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

SANNINO, A.; DEMITRI, C.; MADAGHIELE, M. “Biodegradable Cellulose-based Hydrogels: Design and Applications”, **Materials**, v. 2, p.353-373, 2009.

SANTOS, Ester Pinheiro dos. **AVALIAÇÃO DE AMIDOS HIDROLISADOS, ANIÔNICO E CATIONICO, COMO TENSOATIVOS NAS FORMULAÇÕES DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS PARA APLICAÇÃO EM FILTROS SOLARES**. 2012. 151 f. Dissertação de mestrado em Engenharia Química na Área de

concentração: Novos materiais e Química fina. Universidade São Paulo. Lorena, SP. 2011.

SANTOS, M. V.. **NANOCOMPÓSITOS BASEADOS EM CELULOSE BACTERIANA PARA APLICAÇÕES ÓPTICAS**. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

SARASAM, Aparna; MADIHALLY, Sundararajan V.. Characterization of chitosan–polycaprolactone blends for tissue engineering applications. **Biomaterials**, v. 26, p.5500-5508, 2005.

SCHAFFAZICK, Scheila Rezende; GUTERRES, Sílvia Stanisçuaski ; FREITAS, Liane de Lucca; POHLMANN, Adriana Raffin. Caracterização e estudo de estabilidade de suspensões de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas contendo diclofenaco. **Revista Acta Farm.** p. 99-106, 2002.

SCHAFFAZICK, Scheila Rezende; *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Revista Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SHAH, Nasrullah et al. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p.1585-1598, ago. 2013.

SHODA, Makoto; SUGANO, Yasushi. Recent advances in nanocellulose for biomedical applications. **Biotechnology And Bioprocess Engineering**, v. 10, p.1-8, 2005.

SILVA, Emerson Alvez da. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BLENDS DE POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS E POLIPIRROL**. 2009. 99f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciência no Instituto de Física da Universidade de São Paulo, 2009.

SILVA, Taisa Regina Stumpf da. **DESENVOLVIMENTO DE HIDROGÉIS DE CELULOSE BACTERIANA PARA CULTURA DE CÉLULAS E PERMEAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS**. 2012, 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Eqa, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

SMITH, Brian C.. **Undamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy**. 2. ed. 1: Crc Press, 2011. 175 p.

SOARES, Antonio Gomes. **Perdas pós-colheita de frutas e hortaliças**. 2009. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/downloads/PerdasPosColheitasFrutaseHortalicas.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2015.

SOUZA, Clayton Fernandes de. **PROSPECÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS BIOCURATIVAS A PARTIR DA INTERAÇÃO ENTRE CELULOSE BACTERIANA, XILOGLUCANA E/OU GELANA E FLUCONAZOL**. 2013. 142 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SOUZA, Clayton F. de *et al.* Property evaluations of dry-cast reconstituted bacterial cellulose/tamarind xyloglucan biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p.144-153, maio 2012.

SOUZA, Gelson Biscaia de. **CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS, QUÍMICAS E E BIOATIVIDADE DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO MODIFICADAS PARA APLICAÇÃO MÉDICA**. 2010. 242 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Setor de Tecnologia e Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SOUZA, Patrícia Moraes Sinohara; LOBO, Fabiana Aparecida; ROSA, André Henrique; FRACETO, Leonardo Fernandes. Desenvolvimento de nanocápsulas de poli- ϵ -caprolactona contendo o herbicida atrazina. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 132-137, 2012.

STEPHENS, R. S. *et al.* **Method of using bacterial cellulose as a dietary fiber component**, Patente US 4960763 A, 18 abr. 1988, 2 out. 1990.

THOMPSON, David N.; HAMILTON, Melinda A.. Production of Bacterial Cellulose from Alternate Feedstocks. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, v. 91- 93, p. 503-513, 2001.

TRIERWEILER, Luciane Ferreira. **NANOPARTÍCULAS: COMO PRODUZÍ-LAS EM ESCALA INDUSTRIAL** 2009. 214 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Engenharia, Ufrgs, Porto Alegre, 2009. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/21398/000737399.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 jul. 2016.

VARENNE, Fanny *et al.* Standardization and validation of a protocol of zeta potential measurements by electrophoretic light scattering for nanomaterial characterization. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects**, v. 486, p. 218-231, 2015.

VARENNE, Fanny *et al.* Standardization and validation of a protocol of size measurements by dynamic light scattering for monodispersed stable nanomaterial characterization. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects**, v. 486, p.124-128, 2015.

VASCONCELOS, Yuri. Finas e flexíveis, **Revista Pesquisa Fapesp**, v. 164, p.70-73, out. 2009.

VIANA, L. C. **DESENVOLVIMENTO DE FILMES CELULÓSICOS NANOESTRUTURADOS A PARTIR DA polpa kraft DE Pinus SP**", Tese

(Doutorado) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

VITTA, Satish; THIRUVENGADAM, V.. Multifunctional bacterial cellulose and nanoparticle-embedded composites. **Current Science**, ., v. 102, n. 10, p.1398-1405, 2012.

WANG, Huaping *et al.* Flexible conductive polypyrrole nanocomposite membranes based on bacterial cellulose with amphiphobicity. **Carbohydrate Polymers**, n. 117, p.230-235, 2015.

WANG, Huaping *et al.* Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites: . **Elsevier: Carbohydrate Polymers**, n. 101, p.1043-1060, 01 jan. 2014.

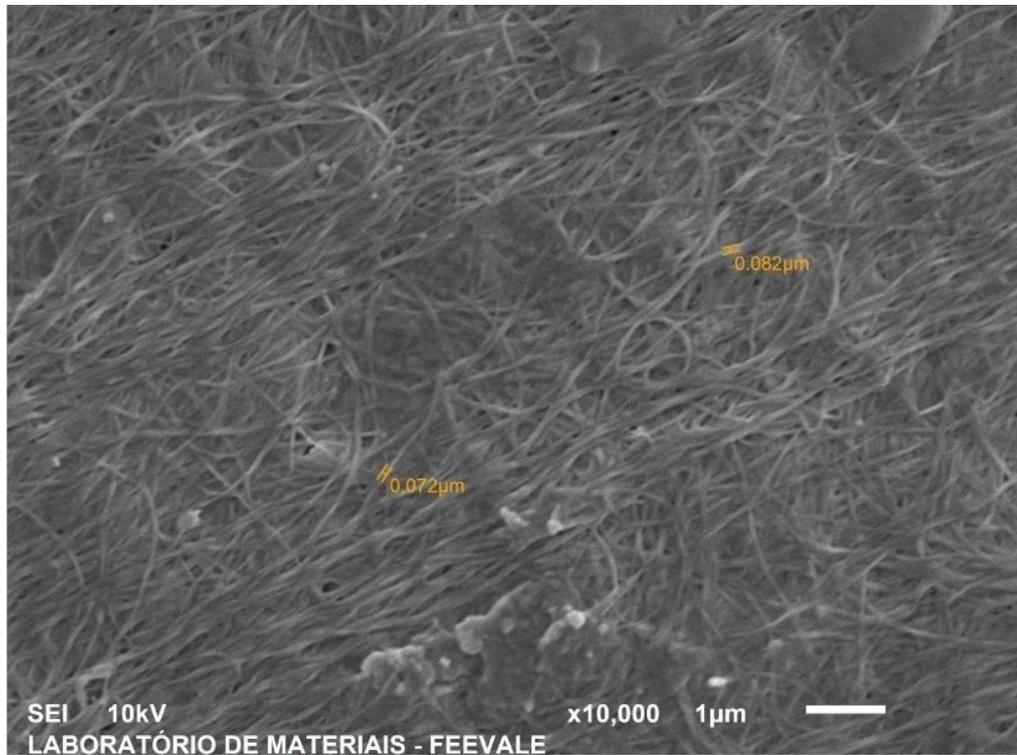
WEIBEL, Douglas B. *et al.* Agarose particle-templated porous bacterial cellulose and its application in cartilage growth in vitro. **Acta Biomaterialia**, v. 12, p.129-138, 2015.

WILLIAMS, W. Scott; CANNON, Robert E.. Alternative Environmental Roles for Cellulose Produced by *Acetobacter xylinum*. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 55, n. 10, p.2448-2452, out. 1989.

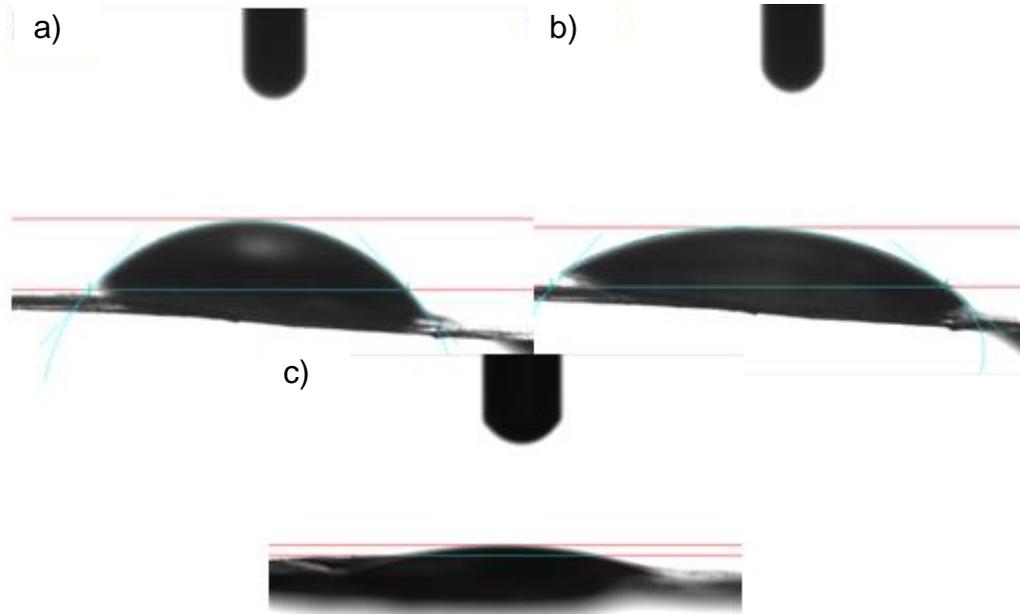
YANG, Guang *et al.* Investigation on artificial blood vessels prepared from bacterial cellulose. **Materials Science And Engineering C**, v. 46, p.111-117, 2015.

APÊNDICES

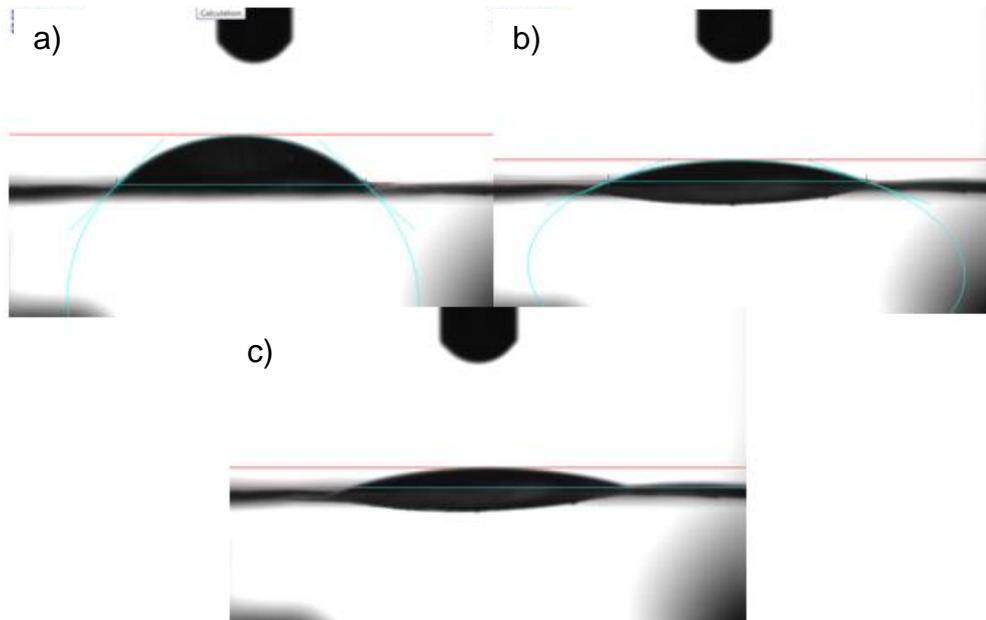
APÊNDICE A – Micrografia celulose bacteriana com aumento de 10000X e com medida das fibras.



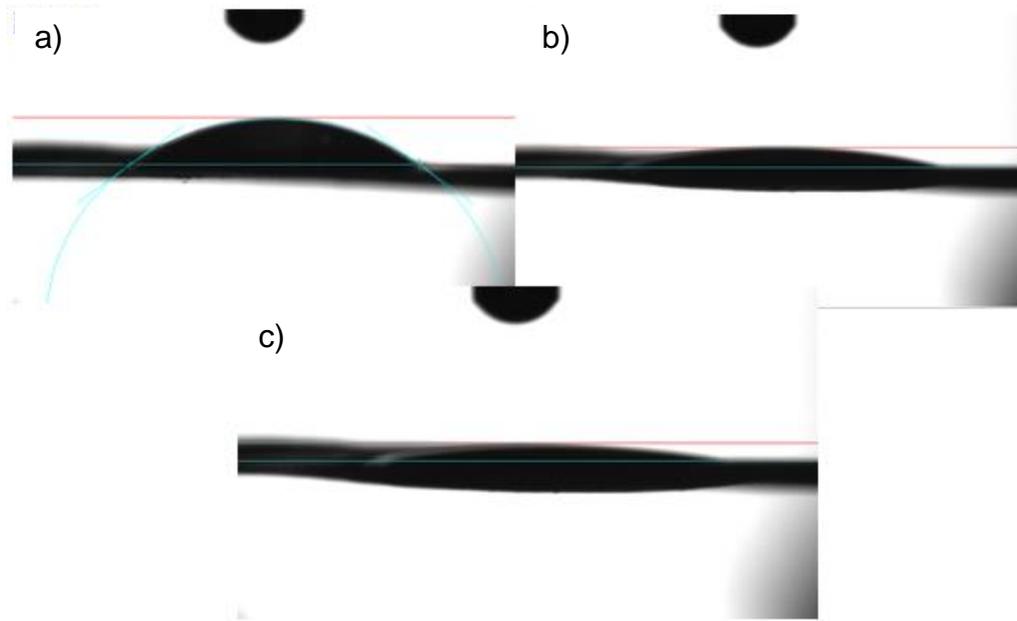
APÊNDICE B – Análise de AC para CBL 100%: (a) tempo zero; (b) 15 segundos e (c) 30 segundos.



APÊNDICE C – Análise de AC para CBL 50%: (a) tempo zero; (b) 15 segundos e (c) 30 segundos.



APÊNDICE D – Análise de AC para CBL 25 %: (a) tempo zero; (b) 15 segundos e (c) 30 segundos.



APÊNDICE E - Médias dos Resultados das dispersões contendo óleo de citronela,
Formulação 1.

Formulação 1	Análise semana	Potencial Zeta	Tamanho de Partícula	Polidispersão	pH
Amostra 1	1	-10,05	140,55	0,207	4,90
		-20,26	145,42	0,199	4,84
		-18,33	142,77	0,271	4,89
	2	-13,25	129,83	0,222	4,62
		-12,56	136,75	0,242	4,09
		-12,52	135,26	0,253	4,21
	3	9,99	150,11	0,230	4,02
		17,27	155,25	0,228	4,12
		-7,52	158,83	0,274	4,52
	4	-17,60	161,45	0,285	4,30
		-13,27	165,52	0,290	4,18
		-7,72	170,6	0,281	4,14
	5	-13,30	173,12	0,314	4,27
		-12,73	185,77	0,305	4,53
		-18,57	173,8	0,317	4,10
	6	-21,41	175,83	0,303	4,07
		-32,31	191,84	0,281	3,81
		-25,23	187,73	0,277	4,21
Amostra 2	1	-19,56	116,71	0,273	4,75
		-21,77	115,45	0,267	4,91
		-20,34	117,7	0,270	4,90
	2	-21,33	107,86	0,169	4,91
		-25,66	108,33	0,218	4,78
		-21,77	112,81	0,233	4,66
	3	-16,33	135,62	0,297	4,52
		8,34	134,53	0,277	4,56
		2,55	147,08	0,241	5,07
	4	-19,66	169,37	0,272	4,81
		-21,77	148,28	0,330	4,74
		-20,34	165,63	0,291	4,53
	5	-18,27	143,68	0,336	4,50
		-17,11	151,06	0,305	4,80
		-5,24	154,02	0,240	4,75
	6	-19,71	151,74	0,297	4,53
		-25,93	152,48	0,352	4,42
		-21,89	158,73	0,334	4,42
Amostra 3	1	-11,70	159,48	0,293	6,02
		-13,56	159,07	0,276	5,94
		-10,68	163,51	0,271	6,11
	2	-15,91	135,92	0,121	5,88
		-2,98	134,44	0,239	6,40
		14,68	136,85	0,246	5,80
	3	-13,50	148,37	0,275	5,76
		-13,62	154,61	0,279	5,72
		-15,83	160,62	0,263	5,91
	4	-13,72	172,44	0,251	6,50
		-5,24	172,87	0,307	5,99
		-16,63	181,65	0,298	5,76
	5	-19,37	189,11	0,280	5,79
		-17,90	188,75	0,299	5,83
		-16,08	195,9	0,297	6,50
	6	-15,07	170,95	0,270	5,84
		-18,37	165,07	0,250	5,66
		-11,88	171,54	0,295	5,73
	Média	-13,94	152,94	0,270	4,99
	Desvio Padrão	9,74	21,38	0,041	0,75
	Máximo	17,27	195,90	0,35	6,50
	Mínimo	-32,31	107,86	0,12	3,81

APÊNDICE F – Médias dos Resultados das dispersões contendo óleo de citronela,
Formulação 2.

Formulação 2	Análise semana	Potencial Zeta	Tamanho de Partícula	Polidispersão	pH
Amostra 1	1	-19,47	164,63	0,297	5,02
		-22,24	161,12	0,308	4,83
		-27,17	155,79	0,303	4,42
	2	-13,78	141,02	0,255	4,31
		-19,98	146,77	0,237	3,92
		-15,11	149,81	0,245	4,64
	3	-14,59	175,81	0,325	4,98
		-17,08	168,53	0,349	4,76
		-6,51	172,37	0,323	4,44
	4	-13,06	133,97	0,209	4,39
		-15,08	144,34	0,254	4,18
		-18,95	149,91	0,217	4,75
	5	-16,01	160,59	0,318	5,01
		-21,55	168,35	0,330	4,80
		-20,42	168,02	0,318	4,37
	6	-22,06	164,37	0,327	4,45
		-24,23	181,25	0,269	4,07
		-17,77	165,2	0,350	4,59
Amostra 2	1	-9,58	41,37	0,285	4,91
		-18,07	41,88	0,279	4,90
		-23,67	41,05	0,286	4,92
	2	-33,74	37,14	0,285	4,79
		-14,67	38,99	0,253	4,33
		-11,46	38,65	0,299	4,13
	3	-7,22	37,15	0,242	4,08
		8,20	38,58	0,266	4,25
		-8,88	40,25	0,279	4,63
	4	-14,87	42,76	0,295	4,48
		-14,65	46,01	0,270	4,21
		6,04	45,69	0,250	4,26
	5	-17,96	49,23	0,310	4,09
		-15,12	50,16	0,290	4,63
		-7,44	55,36	0,252	4,34
	6	-15,47	49,44	0,304	4,28
		-10,31	54,16	0,239	4,08
		-12,09	49,63	0,320	4,03
Amostra 3	1	-16,16	124,25	0,285	6,22
		-16,12	128,04	0,306	6,15
		-20,15	128,48	0,304	6,21
	2	-15,50	94,39	0,301	5,95
		-8,06	100,38	0,011	5,95
		-11,58	102,31	0,149	5,91
	3	-11,64	110,3	0,226	5,81
		-9,52	120,24	0,171	5,94
		-13,45	127,63	0,239	5,94
	4	-9,33	129,52	0,313	5,93
		-11,45	136,1	0,342	5,92
		-15,49	146,38	0,342	5,86
	5	-13,19	142,54	0,347	5,81
		-16,12	146,19	0,357	5,88
		-14,53	152,72	0,323	5,94
	6	-16,38	115,95	0,245	5,94
		-11,09	118,18	0,262	5,74
		-18,51	120,41	0,260	5,79
	Média	-14,71	109,51	0,278	4,97
	Desvio Padrão	6,76	50,23	0,058	0,75
	Máximo	8,20	181,25	0,36	6,22
	Mínimo	-33,74	37,14	0,01	3,92

APÊNDICE G – Médias dos Resultados das dispersões contendo óleo de citronela,
Formulação 3.

Formulação 3	Análise semana	Potencial Zeta	Tamanho de Partícula	Polidispersão	pH
Amostra 1	1	-19,47	178,45	0,229	4,83
		-22,24	180,58	0,240	4,72
		-27,17	182,31	0,255	4,83
	2	-18,29	164,29	0,183	4,66
		-4,30	170,74	0,203	4,75
		-8,16	168,22	0,176	4,66
	3	-19,06	190,4	0,247	4,69
		-13,62	195,36	0,317	4,71
		-16,57	191,41	0,288	4,71
	4	-15,83	190,47	0,218	4,79
		-11,39	183,92	0,257	4,79
		-13,74	207,89	0,295	4,69
	5	-19,85	190,38	0,336	4,57
		-16,94	202,46	0,316	4,61
		-18,23	199,04	0,255	4,52
	6	-19,03	198,98	0,278	4,47
		-14,29	209,31	0,258	4,39
		-18,95	205,51	0,340	4,37
Amostra 2	1	-16,84	137,44	0,346	4,88
		-14,84	155,36	0,250	4,94
		-18,46	140,94	0,347	4,97
	2	-12,25	130,35	0,373	4,58
		-13,16	138,99	0,314	4,67
		-16,77	161,57	0,197	4,55
	3	-12,88	126,37	0,331	4,35
		-12,76	131,5	0,337	4,21
		-19,15	142,99	0,331	4,11
	4	-14,38	107,6	0,246	4,32
		-9,36	109,42	0,253	4,17
		-12,93	110,03	0,243	4,12
	5	-15,79	114,84	0,240	4,29
		-16,52	123,21	0,276	4,21
		-14,39	121,19	0,265	4,17
	6	-14,43	111,72	0,258	4,18
		-11,02	110,19	0,258	4,16
		-7,48	110,51	0,237	4,13
Amostra 3	1	-18,20	155,65	0,143	5,83
		-17,44	158,23	0,144	5,59
		-12,43	161,55	0,115	5,74
	2	-13,03	155,3	0,092	5,88
		0,88	161,56	0,052	5,76
		-4,06	163,46	0,110	5,80
	3	-12,49	175,73	0,250	5,85
		-9,78	180,08	0,091	5,74
		-15,94	204,1	0,039	5,69
	4	-18,86	186,77	0,223	5,58
		-18,69	188,26	0,255	5,80
		-6,54	199,61	0,282	5,81
	5	-17,75	222,77	0,226	5,60
		-12,07	227,03	0,291	5,80
		-16,91	228,04	0,302	5,60
	6	-22,06	177,02	0,040	5,64
		-24,23	188,75	0,036	5,63
		-16,43	190,32	0,184	5,54
	Média	-14,94	167,00	0,235	4,92
	Desvio Padrão	5,06	34,01	0,086	0,61
	Máximo	0,88	228,04	0,37	5,88
	Mínimo	-27,17	107,60	0,04	4,11

APÊNDICE H – Médias dos Resultados das dispersões contendo óleo de citronela,
Formulação 4.

Formulação 4	Análise semana	Potencial Zeta	Tamanho de Partícula	Polidispersão	pH
Amostra 1	1	-13,06	92,06	0,279	4,36
		-13,11	90,84	0,313	4,32
		-11,36	99,22	0,278	4,24
	2	-12,61	88,13	0,312	4,31
		-11,58	93,95	0,314	4,09
		-14,44	91,95	0,329	4,08
	3	-13,51	72,83	0,260	3,95
		-12,89	75,38	0,276	4,00
		-7,62	75,5	0,267	4,39
	4	-12,82	94,57	0,343	4,07
		-12,03	96,93	0,317	4,24
		2,90	100,83	0,314	3,98
	5	-13,53	100,77	0,332	4,12
		7,27	97,26	0,330	4,25
		-1,56	99,85	0,337	3,92
	6	-15,54	98,39	0,321	4,00
		-9,18	107,08	0,331	3,86
		-13,89	108,74	0,323	3,94
Amostra 2	1	-11,33	86,5	0,235	4,80
		-4,47	98,74	0,337	4,74
		-2,01	86,49	0,331	4,80
	2	-10,76	80,91	0,305	4,37
		-10,61	83,5	0,353	4,45
		-18,38	84,68	0,336	4,08
	3	-9,59	69,85	0,263	4,00
		-3,53	72,95	0,261	3,85
		-3,81	75,57	0,265	4,43
	4	-8,22	87,32	0,327	4,19
		5,29	91,73	0,304	3,98
		-8,97	88,12	0,336	3,88
	5	9,47	88,55	0,307	3,91
		7,44	91,2	0,334	4,42
		5,05	92,48	0,330	4,01
	6	-19,20	95,29	0,354	4,13
		-18,44	94,87	0,314	3,84
		-7,78	97,98	0,339	3,82
Amostra 3	1	-17,19	102,43	0,291	5,69
		-15,86	97,02	0,349	5,72
		-15,49	96,4	0,342	5,66
	2	-15,89	95,85	0,309	5,08
		-16,99	105,76	0,239	4,74
		7,41	98,83	0,311	4,82
	3	-14,49	104,93	0,196	4,45
		-4,68	104,61	0,248	4,36
		2,32	110,76	0,295	5,11
	4	-16,44	112,18	0,303	4,76
		-10,72	109,75	0,356	4,70
		-5,02	116,84	0,339	4,34
	5	-15,55	108,66	0,328	4,16
		-19,84	116,34	0,291	5,09
		-7,69	101,58	0,361	4,76
	6	-2,54	104,55	0,323	4,60
		-7,10	101,52	0,325	4,45
		-6,36	110,6	0,304	4,18
	Média	-8,71	95,36	0,310	4,38
	Desvio Padrão	7,69	11,29	0,035	0,47
	Máximo	9,47	116,84	0,36	5,72
	Mínimo	-19,84	69,85	0,20	3,82

APÊNDICE I – Médias dos Resultados das dispersões contendo óleo de citronela,
Formulação 5.

Formulação 5	Análise semana	Potencial Zeta	Tamanho de Partícula	Polidispersão	pH
Amostra 1	1	-7,86	104,08	0,318	4,39
		-6,19	110,37	0,330	4,63
		9,70	109,11	0,334	4,11
	2	-27,95	89,67	0,276	4,09
		-2,33	91,37	0,296	4,01
		-12,68	95,37	0,293	3,97
	3	6,02	86,3	0,233	4,61
		-11,45	87,58	0,270	4,11
		-8,53	90,01	0,290	3,95
	4	-14,57	109,74	0,310	4,02
		-7,64	108,17	0,333	3,93
		-8,93	100,47	0,359	4,00
	5	-6,69	101,71	0,313	3,92
		-8,56	111,34	0,306	4,59
		-15,48	109,68	0,298	4,01
	6	-11,01	94,35	0,274	3,86
		-3,64	91,13	0,293	3,97
		-8,46	96,3	0,298	3,82
Amostra 2	1	17,60	67,86	0,294	5,31
		-7,13	69,16	0,312	5,48
		12,26	70,94	0,312	5,43
	2	5,32	70,96	0,258	4,57
		-10,05	74,22	0,279	4,08
		-14,83	74,01	0,306	4,27
	3	4,34	65,64	0,057	4,24
		-7,58	72,21	0,183	4,19
		-1,95	75,79	0,228	4,64
	4	-13,38	81,18	0,332	4,06
		-3,19	82,05	0,329	4,28
		-5,82	86,86	0,328	4,05
	5	-9,98	69,37	0,315	4,30
		-3,30	67,63	0,340	4,59
		-16,19	74,13	0,302	4,06
	6	-4,08	71,94	0,312	4,36
		-17,36	73,71	0,343	4,10
		-8,00	74,86	0,340	4,04
Amostra 3	1	-3,62	69,81	0,318	5,17
		-4,20	79,25	0,323	5,27
		4,18	69,52	0,312	5,26
	2	-6,27	63,73	0,314	4,37
		-13,11	69,59	0,287	3,87
		-17,14	68,71	0,319	4,11
	3	3,50	66,52	0,243	4,07
		13,09	72,72	0,245	3,88
		-17,22	71,96	0,309	4,36
	4	-16,19	69,68	0,301	3,86
		-2,53	66,11	0,347	4,31
		-15,54	75,75	0,274	4,06
	5	-13,67	79,91	0,325	4,07
		-9,67	75,11	0,306	4,24
		-5,99	89,01	0,265	3,84
	6	-16,34	61,31	0,286	4,07
		-15,17	64,96	0,324	4,01
		-22,02	71,89	0,278	3,97
	Média	-7,18	81,39	0,296	4,27
	Desvio Padrão	8,98	14,58	0,047	0,43
	Máximo	17,60	111,34	0,36	5,48
	Mínimo	-27,95	61,31	0,06	3,82

APÊNDICE J – Médias dos Resultados das dispersões contendo óleo de citronela,
Formulação 6.

Formulação 6	Análise semana	Potencial Zeta	Tamanho de Partícula	Polidispersão	pH
Amostra 1	1	-6,25	95,24	0,340	5,15
		-5,15	89,02	0,361	5,06
		2,03	96	0,355	5,10
	2	-27,95	86,93	0,277	5,13
		-2,33	88,35	0,299	4,46
		-12,68	88,55	0,299	4,44
	3	-13,32	74,44	0,253	4,12
		-15,31	80,17	0,255	4,16
		-15,72	76,4	0,297	4,57
	4	-5,79	104,82	0,294	4,36
		-11,40	99,15	0,316	4,27
		-9,17	104,26	0,315	4,05
	5	2,12	103,35	0,317	4,26
		-4,12	101,18	0,353	4,30
		-16,84	95,78	0,356	4,54
	6	-13,99	87,8	0,326	4,25
		-9,20	88,94	0,310	4,05
		-10,75	87,95	0,344	4,02
Amostra 2	1	-8,78	92,37	0,199	6,40
		2,90	95,7	0,224	6,55
		-7,00	103,36	0,279	7,80
	2	-42,36	187,97	0,193	6,39
		-28,70	192,91	0,202	6,61
		-32,89	204,49	0,238	7,84
	3	-16,22	188,06	0,203	6,47
		-18,13	180,29	0,258	7,80
		-24,28	191,03	0,275	6,66
	4	-20,32	216,06	0,294	6,36
		-15,36	210,5	0,271	6,30
		-12,93	203,74	0,293	6,32
	5	-11,10	173,68	0,245	6,26
		-15,98	179,62	0,244	6,50
		-16,82	185,28	0,191	6,49
	6	-17,80	206,55	0,262	6,24
		-15,83	204,24	0,283	6,26
		-17,89	198,11	0,262	6,24
Amostra 3	1	-16,30	71,01	0,309	5,84
		-18,06	77,37	0,269	4,61
		-21,62	72,29	0,303	4,73
	2	-6,08	64,11	0,291	4,40
		2,19	75,63	0,259	4,15
		-5,80	70,55	0,293	4,05
	3	-7,39	86,02	0,272	6,00
		-9,77	85,71	0,325	5,96
		-3,53	90,76	0,323	4,40
	4	4,33	79,97	0,305	4,16
		-10,69	81,36	0,325	4,10
		-9,95	88,44	0,283	4,12
	5	-18,17	100,97	0,263	4,14
		-8,93	86,71	0,352	4,61
		-4,65	97,06	0,305	4,14
	6	-15,37	69,37	0,341	4,17
		-6,11	75,55	0,306	3,98
		-13,57	78,2	0,304	4,06
	Média	-12,31	118,15	0,287	5,21
	Desvio Padrão	8,94	50,59	0,044	1,16
	Máximo	4,33	216,06	0,36	7,84
	Mínimo	-42,36	64,11	0,19	3,98