



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

JÚLIA DIDIER PEDROSA DE AMORIM

**OBTENÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA ADITIVADA COM EXTRATO
DE PRÓPOLIS PARA APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS**

Recife
2020

JÚLIA DIDIER PEDROSA DE AMORIM

**OBTENÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA ADITIVADA COM EXTRATO
DE PRÓPOLIS PARA APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Materiais Não Metálicos

Orientadora: Prof. Dra. Glória Maria Vinhas e Prof. Dra. Leonie Asfora Sarubbo

Coorientadora: Profa. Dra. Andrea Fernanda de Santana Costa

Recife
2020

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mariana de Souza Alves CRB4-2105

A524o Amorim, Júlia Didier Pedrosa de
Obtenção de celulose bacteriana aditivada com extrato de própolis para aplicação em cosméticos / Júlia Didier Pedrosa de Amorim. – 2020.
108f.: il., fig., tab.

Orientadora: Glória Maria Vinhas.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de Materiais, Recife, 2020.
Inclui referências e apêndices.

1. Materiais Não Metálicos. 2. Celulose bacteriana. 3. *Gluconacetobacter hansenii*. 4. Cosmecêutico. I. Vinhas, Glória Maria. (orientadora) II. Título.

620.19

CDD (22. ed.)

UFPE-CCEN 2020-181

JÚLIA DIDIER PEDROSA DE AMORIM

**OBTENÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA ADITIVADA COM EXTRATO DE
PRÓPOLIS PARA APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Aprovada em: 23/ 09 / 2020

BANCA EXAMINADORA

Participação via Videoconferência

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Participação via Videoconferência

Profa. Dra. Raquel Diniz Rufino (Examinadora Externa)
Faculdade de Integração do Sertão - FIS

Participação via Videoconferência

Prof. Dr. Severino Alves Júnior (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dedico aos meus familiares e amigos, que sempre acreditaram no meu potencial, e pela força e incentivo dados em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Glória Maria Vinhas, por toda sua sabedoria durante o processo da pesquisa.

À minha orientadora externa, Prof^a Dr^a Leonie Asfora Sarubbo, que me acolheu desde a graduação, e que me incentiva a dar o melhor de mim, até nos momentos mais difíceis. Sou eternamente grata pela sua sabedoria e competência.

À minha coorientadora, Prof^a Dr^a Andréa Fernanda da Santana Costa, pelo seu apoio incondicional e conhecimento compartilhado.

Aos amigos da pesquisa, Msc Cláudio José Galdino da Silva Júnior, Dr^a Fabíola Carolina Gomes de Almeida, Msc Helenise Almeida do Nascimento e Msc Ivo Diego de Lima Silva, pela colaboração na realização experimental da pesquisa. Ao técnico do Laboratório de Biotecnologia da UNICAP, Lucas Ferreira da Costa, por toda sua ajuda.

Aos meus pais e irmãos, pelo suporte ao longo da vida.

À minha bisavó, Odile Vital César Cantinho (*in memorian*), que sempre me inspirou em ir mais longe.

Ao meu melhor amigo, Rodrigo Leite Ferreira, por todo seu apoio e carinho dado, me incentivando para sempre dar o meu melhor.

Ao CNPq, CAPES, FACEPE, FINEP e PETROBRÁS, pelo suporte financeiro ao Laboratório de Petroquímica da UFPE, e Laboratório de Biotecnologia da UNICAP.

Por fim, a todos que de maneira direta ou indiretamente, me ajudaram na conquista desse trabalho.

RESUMO

A necessidade da população em aliar cuidados com o corpo a produtos que utilizam recursos naturais, vem garantindo um desenvolvimento sustentável das novas tecnologias exploradas pelo mercado de cosméticos. Seguindo esta ideia, este trabalho consistiu em estudar a utilização de uma película de celulose bacteriana (CB) aditivada *in situ* e *ex situ* (durante e após obtenção da membrana, respectivamente) com extrato de própolis (EP), visando uma aplicação promissora e benéfica à pele. A película CB, além de servir como suporte para incorporação de tais princípios ativos, devido à sua alta porosidade e estrutura nanofibrilar, possui alta atividade de água e biocompatibilidade à derme, auxiliando, assim, na taxa de retenção de umidade da mesma. Para a produção da película, a bactéria *Glucanacetobacter hansenii* foi cultivada em meio padrão HS (Hestrim-Schramm), e meio HS modificado com EP. Os experimentos foram realizados após 7 dias do cultivo da bactéria nos meios citados previamente. Também foi investigada a estabilidade da membrana após o processo de esterilização radiolítica, pela fonte de ^{60}Co , técnica de esterilização extremamente eficiente e segura, sugerida como padrão internacional para materiais poliméricos. Foi confeccionado um protótipo de máscara de CB a partir das películas obtidas. Os resultados demonstraram um bom rendimento de produção celulósica, com média de $120,55 \pm 2,4\text{g}$ de celulose/L. O processo *in situ* não favoreceu a produção da CB, pelo efeito inibitório do extrato da própolis na atividade bacteriana. A CB padrão apresentou cristalinidade de 66,7%, e a CB aditivada *ex situ* com própolis diminuiu para 46,3%. O sistema polimérico possuiu teor de atividade antioxidante em 15,16% e sua capacidade de retenção de água de $98,01 \pm 0,17\%$, contribuindo, assim, para uma fácil liberação dos ativos à pele, de maneira oclusiva. O sistema polimérico obtido foi termoestabilizado através da irradiação gama, de acordo com os dados da Análise Termogravimétrica. Pode-se concluir que a adição de aditivos naturais via *ex situ*, e sua esterilização gama, concede à película de celulose características com propriedades antioxidantes, ideais para a hidratação da pele via aplicação oclusiva, possibilitando o desenvolvimento de um novo produto biotecnológico para as indústrias farmacêuticas e cosméticas do país.

Palavras-chave: Celulose bacteriana. *Glucanacetobacter hansenii*. Cosmecêutico. Máscara facial.

ABSTRACT

The population's need to combine body care with products from natural resources, ensures a sustainable development of new technologies explored by the cosmetics market. Regarding this idea, this work consisted of studying the use and production of a bacterial cellulose (BC) film added *in situ* and *ex situ* (during and after membrane production, respectively) with propolis extract (PE) justifying a promising application to the skin. The BC film, in addition to serving as a support for incorporating such active principles, due to its high porosity and nanofibrillar structure, has high water activity and biocompatibility to the dermis, thus helping in the moisture retention rate of the skin. For the production of this film, the bacterium *Glucanacetobacter hansenii* was grown in standard HS (Hestrim-Schramm) medium and in modified HS medium with PE. The experiments were carried out after 7 days of bacterial cultivation in the previously mentioned media. As it is an application in the cosmetic area, the stability of the BC membrane after the radiolytic sterilization process, with a ^{60}Co source, was also investigated, as an extremely efficient and safe sterilization technique, suggested as an international standard for polymeric materials. In addition, a BC mask prototype was made from the obtained films. The results demonstrated a good film yield with an average production of $120.55 \pm 2.4\text{g}$ of cellulose / L. The *in situ* process did not favor the production of BC, probably due to the inhibitory effect of PE on the bacterial activity. The standard membrane showed a crystallinity value of 66.7%, and the BC additivated *ex situ* with PE decreased to 46.3%. The polymeric system had an antioxidant activity content of 15.16% and its water retention capacity of $98.01 \pm 0.17\%$, thus contributing to an easy release of the assets to the skin, in an occlusive manner. The polymeric system obtained was thermally stabilized through gamma irradiation, according to the Thermal Gravimetric Analysis data. It can be concluded that the addition of natural additives *ex situ*, and its gamma sterilization, gives the cellulose film antioxidant properties, ideal for skin hydration and prevention of skin aging through occlusive application, enabling the development of a new biotechnological product for the pharmaceutical and cosmetic industries in the country.

Keywords: Bacterial cellulose. *Glucanacetobacter hansenii*. Cosmeceutical. Face mask.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Inter e intra ligações de hidrogênio da celulose bacteriana	23
Figura 2 –	Síntese <i>in situ</i> da produção de celulose bacteriana	27
Figura 3 –	Síntese <i>ex situ</i> da produção de celulose bacteriana	28
Figura 4 –	Membrana polimérica celulose bacteriana + poli-3-hidroxi-butarato para uso em embalagens alimentícias	28
Figura 5 –	Produção de microfibrilas de celulose por <i>Gluconacetobacter</i>	29
Figura 6 –	Membrana de celulose bacteriana no processo de purificação por Hidróxido de Sódio	31
Figura 7 –	Aplicação da máscara de celulose bacteriana na pele do rosto	36
Figura 8 –	Aparência da resina de própolis pura	38
Figura 9 –	Imagens da adesão da máscara de celulose bacteriana à testa (a) e à mão (b), indicadas pela seta	41
Figura 10 –	Comparação da membrana de celulose bacteriana úmida e seca	47
Figura 11 –	Meios de cultivo após processo de produção a) Hestrim-Scramm (HS) padrão; b) P25 (75% do meio HS padrão e 25% do extrato de própolis); c) P50 (50% do meio HS padrão e 50% do extrato de própolis) e d) P100 (100% do extrato de própolis)	52
Figura 12 –	Aspectos das membranas de celulose bacteriana úmidas antes (a) e após da aditivação <i>ex situ</i> do extrato de própolis (b)	54
Figura 13 –	Membrana de celulose bacteriana aditivada com própolis (CB – P), de maneira <i>ex situ</i> , após secagem	55
Figura 14 –	Difratograma obtido das membranas obtidas com meio Hestrim-Scramm padrão (CB pura), e da aditivada <i>ex situ</i> com extrato de própolis (CB – P)	57
Figura 15 –	Espectroscopia ATR/FITR das membranas CB e CB aditivada <i>ex situ</i> com extrato de própolis	57
Figura 16 –	Microscopias eletrônicas com aumento de 25k x para a membrana de celulose bacteriana produzida em meio HS (a) e produzida em meio Hestrim-Schramm e aditivada com extrato de própolis (b)	60
Figura 17 –	Curvas de variação de peso durante degradação térmica das membranas de celulose bacteriana produzida em meio Hestrim-Schramm (CB) e produzida em meio HS com posterior aditivação	62

	com extrato de própolis (CB - P)	
Figura 18 –	Teste de crescimento microbiológico com a) membrana esterilizada b) membrana não esterilizada, apenas purificada	63
Figura 19 –	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da celulose bacteriana esterilizada (CB est) da CB aditivada com própolis esterilizada (CB-P est)	65
Figura 20 –	Representação gráfica da Análise de Componentes Principais das membranas obtida com meio Hestrim-Schramm (CB), aditivada com extrato de própolis (CB – P), e das membranas esterilizadas por radiação, as CB est e CB – P est.	66
Figura 21 –	Gráfico dos <i>loadings</i> das membranas de celulose bacteriana para a primeira componente principal – PC1 (a) e segunda componente principal – PC2 (b)	67
Figura 22 –	Curvas de variação de massa durante degradação térmica da celulose bacteriana esterilizada (CB est) e a membrana aditivada com própolis esterilizada (CB-P est)	69
Figura 23 –	Protótipo de máscara de celulose bacteriana	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Propriedades mecânicas da celulose bacteriana em relação a outros materiais	23
Tabela 2 –	Comparativo entre diferentes fontes de carbono, suplementação e tempo de cultura e seus respectivos rendimentos da produção de celulose bacteriana	24
Tabela 3 –	Extratos naturais utilizados na indústria cosmética	36
Tabela 4 –	Composição de meio alternativo com extrato de própolis	45
Tabela 5 –	Rendimento de produção de celulose por meio utilizado, sendo o meio P25 formulado com 75% do meio HS padrão e 25% do extrato de própolis, o meio P50 formulado com 50% do meio HS padrão e 50% do extrato de própolis e o meio P100 formulado com 100% do extrato de própolis	52
Tabela 6 –	Capacidade de Retenção de Água das membranas obtidas com meio HS padrão (CB), e da aditivada <i>ex situ</i> com extrato de própolis (CB – P)	55
Tabela 7 –	Porosidade das membranas obtidas com meio HS padrão (CB), e da aditivada <i>ex situ</i> com extrato de própolis (CB – P)	56
Tabela 8 –	Índice de Cristalinidade das membranas obtidas com meio HS padrão (CB), e da aditivada <i>ex situ</i> com extrato de própolis (CB – P)	56
Tabela 9 –	Determinação da capacidade de sequestro de radicais livres (DPPH*) do extrato aquoso de própolis e da membrana aditivada com o extrato de própolis (1% v/v)	59
Tabela 10 –	Decomposição térmica das amostras (dados obtidos através das curvas do TGA) de CB produzida em meio HS (CB) e produzida em meio HS e aditivada com extrato de própolis (CB – P)	61
Tabela 11 –	Eficiência da esterilização da radiação gama	63
Tabela 12 –	Decomposição térmica das amostras esterilizadas (dados obtidos através das curvas da Análise Termogravimétrica (TGA)	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIHPEC	Associação Brasileira das Indústrias de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
ATR	Refletância Total Atenuada
CB	Celulose bacteriana
CRA	Capacidade de retenção de água
CV	Celulose vegetal
DRX	Difratometria de Raio-X
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
HPPC	Higiene Pessoal Perfumaria e Cosméticos
IC	Índice de Cristalinidade
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PCA	Análise dos Componentes Principais
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PEG	Polietilenoglicol
PELBD	Polietileno Linear de Baixa Densidade
PHB	Poli-3-hidroxibutirato
PU	Poliuretano
PVC	Policloreto de Vinila
TGA	Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1	CELULOSE BACTERIANA (CB).....	20
3.1.1	Estrutura da CB.....	21
3.1.2	Produção da CB.....	24
3.1.3	Métodos combinatórios de produção.....	26
3.1.4	Síntese da CB.....	29
3.1.5	Recuperação e purificação da CB.....	30
3.2	COSMÉTICOS.....	31
3.2.1	Envelhecimento cutâneo.....	32
3.2.2	Máscara hidratante de CB.....	34
3.3	EXTRATOS NATURAIS.....	36
3.3.1	Própolis.....	37
3.4	ESTERILIZAÇÃO GAMA EM POLÍMEROS.....	41
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1	MICROORGANISMO.....	43
4.2	MEIO DE MANUTENÇÃO.....	42
4.3	PREPARO DO PRÉ-INÓCULO E INÓCULO.....	43
4.4	PREPARO DO EXTRATO NATURAL.....	44
4.5	MEIOS MODIFICADOS DE PRODUÇÃO E ADITIVAÇÃO <i>IN SITU</i>	45
4.6	PURIFICAÇÃO E LAVAGEM DAS MEMBRANAS.....	46
4.7	ADITIVAÇÃO <i>EX SITU</i> DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS NAS MEMBRANAS.....	46
4.8	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CB.....	46
4.8.1	Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	46
4.8.2	Porosidade.....	47
4.8.3	Difratometria de Raios-X (DRX).....	47

4.8.4	Reflectância total atenuada e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR/FTIR).....	48
4.8.5	Análise da Atividade Antioxidante.....	48
4.8.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	49
4.8.7	Análise Termogravimétrica (TGA).....	49
4.9	ESTERILIZAÇÃO DA MEMBRANA POR IRRADIAÇÃO.....	50
4.10	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	50
4.11	CONFECÇÃO DO PROTÓTIPO DE BIOMÁSCARA DE CB.....	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	52
5.1	PRODUÇÃO E ADITIVAÇÃO <i>IN SITU</i> DAS MEMBRANAS DE CB.....	52
5.2	ADITIVAÇÃO <i>EX SITU</i> DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS NAS MEMBRANAS.....	53
5.3	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CB.....	54
5.3.1	Capacidade de Retenção de Água (CRA) <i>in situ</i>.....	54
5.3.2	Porosidade.....	56
5.3.3	Difratometria de Raios-X (DRX).....	56
5.3.4	Reflectância total atenuada e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR/FTIR).....	56
5.3.5	Análise da Atividade Antioxidante.....	59
5.3.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	59
5.3.7	Análise Termogravimétrica (TGA).....	60
5.4	ESTERILIZAÇÃO VIA IRRADIAÇÃO GAMA.....	62
5.4.1	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR/FTIR) da CB Esterilizada por Irradiação Gama.....	64
5.4.2	Análise dos Componentes Principais (PCA).....	65
5.4.3	Análise Termogravimétrica (TGA) da CB Esterilizada por Irradiação Gama.....	67
5.5	CONFECÇÃO DO PROTÓTIPO DE BIOMÁSCARA DE CB.....	69
6	CONCLUSÕES.....	71
7	SUGESTÕES FUTURAS.....	72
	REFERÊNCIAS.....	73
	APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA	

ENVIRONMENTAL CHEMISTRY LETTERS.....	82
APÊNDICE B – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS.....	97
APÊNDICE C – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS.....	103

1 INTRODUÇÃO

Definido pela regulação da Comissão Europeia, cosméticos são definidos como “qualquer substância ou mistura destinada a ser colocada em contato com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistema capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos) ou com os dentes e as mucosas da cavidade oral, com a finalidade de promover mudança na aparência, proteção, preservar em boas condições ou corrigir odores corporais, desempenhando, assim, um papel essencial na sociedade atual” (Comissão Europeia, 2015).

De acordo com o relatório da Associação Brasileira das Indústrias de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (Abihpec), o mercado de cosméticos é um setor que vem crescendo consideravelmente a cada ano. Em 2019, o Brasil chegou a ficar em quarto lugar em ranking mundial de consumo de produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (HPPC), representando em 6,2% do mercado mundial e 48,6% do mercado da América Latina. Dentre os quais, os produtos para a pele, se encontraram em oitavo lugar no consumo (ABIHPEC, 2019).

O setor de cosméticos, além de se caracterizar por atividades fortemente geradoras de valor, apresenta elevada capacidade de geração de empregos e renda, onde em 2019, foi o segundo setor industrial que mais investiu em inovação e primeiro em marketing. Podendo, assim, contribuir de forma considerável para a movimentação da economia mundial (ABIHPEC, 2019).

Contudo, a indústria faz a utilização de substâncias químicas oriundas de óleos, de sínteses e de materiais providos da indústria petroquímica. Tais componentes utilizados são responsáveis por contaminação do solo, poluição da água e emissão de dióxido de carbono em grande escala (FLETCHER, 2009).

Devido ao crescimento da preocupação com o meio ambiente e o reconhecimento da importância da questão ambiental, os custos de materiais sintéticos, como os petroderivados, têm aumentado, levando as indústrias a incorporarem novas práticas de produção, unindo benefícios ambientais às vantagens econômicas. No caso específico de cosméticos destinados às máscaras faciais, sua matriz polimérica pode ser produzida por materiais biodegradáveis, que após o consumo seja desintegrada sem qualquer prejuízo ambiental. A inovação

ainda é mais pronunciada quando se trata de estruturas oriundas de fontes renováveis, garantindo a sustentabilidade e o desempenho dos aditivos em sua formulação. Somando a isso, a aditivação, pode também ser de maneira inovadora, onde as mesmas possam também ser oriundas de produtos naturais atóxicos, eficientes e de subprodutos industriais. Nesse sentido, podemos citar resíduos de fruta, vegetais e plantas com alta capacidade antioxidante (TRILOKCHANDRAN; VIJAYAKUMAR; THIPPAREDDY, 2019) e antimicrobianas (LETULLIER et al., 2020), que vêm sendo estudados em diversas aplicações.

Polímeros naturais, de origem animal, vegetal e microbiológica, como a celulose, amido, proteína, quitosana, borracha natural, etc, são consideradas fontes com características não tóxicas e podem ser utilizados na confecção de produtos cosméticos que têm capacidade de adsorver os aditivos com princípios ativos, os quais são denominados de cosmeceuticos (Garcia e Furtado, 2002).

Dentre os materiais poliméricos citados, podemos destacar a celulose, que é o polímero natural mais abundante na Terra, sendo sua maioria produzida por plantas; contudo, vários tipos de microrganismos também são capazes de produzir a mesma, como fonte alternativa. A celulose bacteriana (CB) é uma forma peculiar de celulose por causa de seus mecanismos singulares e das propriedades de sua estrutura, podendo, assim, ser explorada em inúmeras aplicações. A celulose vegetal (CV) é caracterizada por possuir, em sua composição, substâncias como hemicelulose, lignina e pectina, exibindo assim, uma baixa pureza. Em contrapartida, a CB não está atrelada a tais componentes, possuindo desta forma, um alto grau de pureza (GOMES et al., 2013).

As fibras da CV possuem diâmetros de aproximadamente 13-22 μm e sua cristalinidade se dá em torno de 44-65% (VERVERIS et al., 2004), enquanto que as fibrilas de CB possuem diâmetro de 10-100nm, cristalinidade de 60-90% e são altamente hidrofílicas, devido ao seu alto número de grupos hidroxílicos na sua superfície. Além disto, a CB possui alta força de tensão (>2 GPa) e alta área de superfície (GELIN et al., 2007), conferindo assim, características de alto interesse para diversas indústrias, como de embalagens, cosméticos, biomédica, etc.

De acordo com um estudo feito por Sheykhnazari et al. (2011), a produção de CB ocorre em forma de fermentação, podendo ser realizada tanto em condições estáticas, ou sob condições de agitação. Diferentes formas de celulose são produzidas sob estas condições. O processo de formação de celulose sob

condições estáticas é regulado por alimentação de ar na superfície do meio e o rendimento depende moderadamente da concentração da fonte de carbono. O aumento do tempo de crescimento irá aumentar a formação de CB juntamente com hidrogênio e ligações C-H. A síntese da CB atinge o seu limite quando o crescimento da película no sentido inferior do meio aprisiona todas as bactérias, que se tornam inativas devido ao fornecimento insuficiente de oxigênio. O processo semi-contínuo na condição estática é recomendado em escala industrial, uma vez que consegue aumentar a produtividade CB em relação ao processo contínuo (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014).

Embora a CB tenha propriedades únicas, a falta de propriedades antibacterianas, transparência óptica e capacidade de suporte de pressão representam limitações em suas aplicações (WEYELL et al., 2019). Para melhorar essas características, inúmeros compósitos, blendas e aditivações de CB vêm sendo investigados, para ampliar suas aplicações (EL MRABATE et al., 2020; SHARMA et al., 2019). A modificação polimérica se dá como um método eficiente de melhoria das características estruturais dos filmes de CB (PHISALAPHONG; JATUPAIBOON, 2008), conferindo assim, propriedades antimicrobianas, cicatrizantes, condutoras, magnéticas, ópticas, entre outras (SHAH et al., 2013). O futuro potencial para a CB está muito além das aplicações existentes, especialmente para a produção de grandes quantidades a partir de matérias-primas de baixo custo (CAVKA et al., 2013).

Uma outra consideração que deve ser feita à respeito da produção da CB, se dá pelo alto custo dos substratos utilizados no seu meio de fermentação, representando em média 30% do custo total do processo de produção, desempenhando, assim, um papel crítico ao longo do valor monetário total do processo (AMORIM et al., 2019). Com isso, diversos estudos são feitos com a adição de resíduos industriais no meio de cultura, como milhocina (COSTA et al., 2018), casca de batata (ABDELRAOF; HASANIN; EL-SAIED, 2019), proteína do soro do leite (BEKATOROU et al., 2019), resíduo de acerola (AMORIM et al., 2019) entre outros, visando baratear o processo de produção e o rendimento do biopolímero.

Modificações das propriedades do polímero também podem ser feitas, através de formulações de aditivos. Estudos reportam tal processo de duas maneiras: *in situ* (durante formação da membrana), ou *ex situ* (membrana já formada) (UL-ISLAM;

KHAN; PARK, 2012). Técnicas químicas, bioquímicas e mecânicas fornecem abordagens para modificar e aditar a nanocelulose para a produção de propriedades aprimoradas, como atividade antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 2020), atividade antioxidante (TSAI et al., 2018), propriedades cicatrizantes (ZIMMERMANN et al., 2011) entre outras.

Nesse sentido, a motivação desse trabalho foi o desenvolvimento de um novo sistema polimérico composto por CB e extrato natural de própolis como aditivo ativo antioxidante para a produção de celulose bacteriana. Outrossim, a inovação de esterilização das membranas por irradiação gama, traz um diferencial nesse estudo por garantir a alta biossegurança desse material. Com características relevantes investigadas, foi desenvolvido um protótipo de uma máscara facial com vista à sua futura aplicação na indústria cosmética.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir um novo material polimérico de Celulose Bacteriana (CB) aditivado com extrato de própolis para aplicação cosmética.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir CB utilizando meio alternativo à base de resíduo natural industrial previamente formulado;
- Avaliar a metodologia de aditivação da CB *in situ* e *ex situ* com alta atividade antioxidante;
- Investigar a atividade antioxidante do extrato da própolis e das membranas aditivadas;
- Avaliar a possibilidade de esterilização da membrana de CB através de irradiação gama;
- Determinar as propriedades mecânicas do polímero;
- Analisar a estabilidade térmica do polímero;
- Caracterizar a morfologia e os arranjos formadores do sistema polimérico;
- Caracterizar a cristalinidade e porosidade do polímero;
- Desenvolver um protótipo de biomáscara de celulose bacteriana para uso oclusivo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CELULOSE BACTERIANA (CB)

A celulose é o biopolímero mais abundante no mundo, com uma produção anual estimada em 1014 toneladas, sendo a maioria de fonte vegetal (GOMES et al., 2013). De grande importância tecnológica, pode ser encontrada em diversas formas de vida, como plantas vasculares, bactérias, fungos, protozoários e procariontes (N DONINI et al., 2010).

Plantas e madeiras são biocompósitos naturais constituídos por microfibrilas de celulose, um compósito natural presente na parede celular dos vegetais. Resultante da íntima associação de quatro fibrilas elementares agrupadas por uma monocamada de hemicelulose, sendo posteriormente circundadas em uma matriz de hemicelulose e lignina (associadas entre si por meio de interações físicas e ligações covalentes). A estrutura resultante desse arranjo químico é denominada fibrila elementar, que apresenta características de insolubilidade em água (RAMBO et al., 2008).

As nanofibrilas da celulose bacteriana (CB) foram primeiramente descritas por Muhlethaler (1949), como sendo cerca de 100 vezes menores do que as de celulose vegetal (CV) (GAYATHRI; GOPALASWAMY, 2014). E, a membrana de CB foi relatada por Brown (1988), que identificou o crescimento de uma película não ramificada com a estrutura quimicamente equivalente à celulose vegetal (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014). A rede fibrosa da CB é feita de três nanofibras dimensionais que bem arrumadas, resultam na formação da folha de hidrogel com elevada área superficial e porosidade (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014).

A biocelulose é produzida por diversos microrganismos, seja na forma de compósitos (GALDINO et al., 2020), ou sozinhos, como no caso da bactéria *Gluconacetobacter* (STASIAK-RÓŻAŃSKA; PŁOSKA, 2018), sendo esta amplamente estudada pela sua facilidade de manutenção e capacidade de processar uma grande variedade de fontes de carbono.

Pesquisas recentes apontam a CB como um biopolímero bastante promissor, como alternativa à produção tradicional de celulose vegetal. De acordo com Donini

et al. (2010), a CB se diferencia de seu semelhante vegetal principalmente pela apresentação de fibras de caráter nanométrico, contra o micrométrico da vegetal, o que lhe confere excelentes propriedades mecânicas como maior pureza, maior cristalinidade, maior poder de absorção de água, maior resistência à tração, baixo grau de polimerização e, além, melhor adaptabilidade biológica (CZAJA et al., 2006). Tais características tornam a CB um biopolímero extremamente versátil, utilizado em diferentes setores de importância econômica.

Por possuir uma estrutura superfina, as nanofibrilas da CB se comportam como um material interessante para várias aplicações como um biomaterial. Alguns estudos mostram algumas das aplicações do biopolímero, como vasos sanguíneos artificiais (UNAL; GUNDUZ; UZUN, 2020), engenharia de tecidos de cartilagem (GU et al., 2020), embalagens para alimentos (ROVERA et al., 2020), indústria têxtil (COSTA et al., 2017), filtro para tratamentos oleosos (GALDINO et al., 2020b), cosméticos (AMORIM et al., 2019b), dentre outros.

3.1.1 Estrutura da CB

Polissacarídeos são polímeros naturais formados por cadeias de monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas, sendo assim, classificados como macromoléculas. Estes podem ser: polissacarídeos intracelulares quando localizados no interior da membrana citoplasmática; polissacarídeos de parede celular, quando fazem parte da estrutura da parede; e, polissacarídeos extracelulares (exopolissacarídeos), quando estão localizados externamente à parede das células. A celulose bacteriana se encaixa no último (CHAWLA et al., 2009).

A celulose vegetal (CV), embora seja um polímero utilizado de modo amplo industrialmente, possui a desvantagem de estar associada a outros compostos, como: lignina, pectina e hemicelulose. Os mesmos prejudicam sua utilização em fins industriais. Enquanto que a CB é produzida sem a presença de tais compostos presentes na celulose vegetal (KESHK, 2014), um fator que demonstra amplo potencial econômico do mesmo.

O polímero linear da celulose é fortemente associado devido às ligações de hidrogênio. A formação das fibras do polímero ocorre devido as interações intermoleculares, que, por sua vez, garantem a rigidez da estrutura. Apesar da

estrutura química da CB ser a mesma da CV, a CB terá dimensão na escala nanométrica de suas fibras, e conseqüentemente apresentará diferentes propriedades físicas e químicas (KOUHA et al., 1996). Assim, a estrutura cristalina da CB terá um domínio mais pronunciado, possuirá macromoléculas com maiores graus de polimerização, maior força de tensão e maior capacidade de armazenamento de água (CHAWLA et al., 2009).

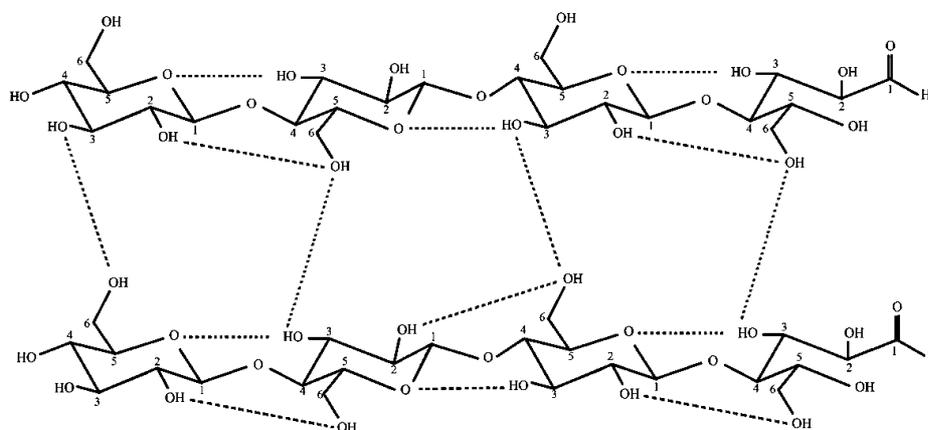
Visualmente, a diferença entre a CV e CB refere-se tanto à aparência e teor de água. A CV tem um aspecto fibroso, enquanto a CB assemelha a um gel. No entanto, os grupos funcionais que caracterizam CB são os mesmos que os de CV (HUNGUND; GUPTA, 2010).

No metabolismo celular da bactéria produtora de CB, a estrutura polimérica inicia sua formação quando duas moléculas de glicose se unem e formam a celobiose, considerada a unidade estrutural de repetição da molécula de celulose. As nanofibrilas de celulose, que são moléculas longas e rígidas, se formam por ligações de hidrogênio, responsáveis pela rigidez da cadeia e pela formação de fibras retas e estáveis que elevam a resistência mecânica e fazem com que a celulose seja insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos (BROWN et al., 1996; UL-ISLAM et al., 2012; SANTOS et al., 2015).

Em relação a sua estrutura, a CB é constituída de unidades de β -D-glicopiranosose unidas por ligações glicosídicas β -(1-4), interligadas por pontes de hidrogênio intermoleculares, idênticas à CV, com fórmula molecular ($C_6H_{10}O_5$), em que as unidades monoméricas estão dispostas de maneira em que uma molécula esteja rotacionada 180° em relação à outra (LIN et al., 2014; MOHITE; PATIL, 2014). A CB contém conjuntos de cadeias paralelas de compostos β -1, 4-unidades de D-glicopiranosose interligadas por pontes de hidrogênio intermoleculares, idênticas à celulose vegetal (LIN et al., 2014)

As cadeias de glucana são mantidas juntas por ligações de hidrogênio inter e intramoleculares (Figura 1). Tais ligações mantêm as cadeias de celulose juntas, conferindo também às fibras de CB uma baixa solubilidade e alta retenção de água, além de elevada pureza, resistência mecânica, elasticidade, flexibilidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, ausência de toxicidade, além de não ser alérgica (ESA et al. 2014), sendo pesquisada no meio científico como uma promessa potencial para utilização em várias áreas do conhecimento (KLEMM et al., 2006; PECORARO et al.; 2008; DONINI et al., 2010; WANG et al., 2011).

Figura 1 - Inter e intra ligações de hidrogênio da celulose bacteriana



Fonte: editado a partir FESTUCCI-BUSELLI et al., (2007)

A CB é o resultado da extrusão do material por bactérias aeróbicas, gram-negativas, e se apresenta como nanofibras orientadas uniaxialmente. Tais fibras, com largura de 1 a 9 nm, apresentam uma nanoestrutura singular, elevado grau de polimerização, entre 2.000 a 6.000 e propriedades mecânicas indicadas ao desenvolvimento de biomateriais e como reforço para biocompósitos quando comparada com outros materiais (Tabela 1) (KLEMM et al., 2006).

Tabela 1 - Propriedades mecânicas da celulose bacteriana em relação a outros materiais

Material	Módulo de Young (GPa)	Resistência à tração (MPa)	Deformação (%)
Celulose Bacteriana (CB)	15 – 35	200 - 300	1,5 - 2,0
Polipropileno (PP)	1 - 1,5	30 - 40	100 - 600
Poli(tetraftalato de etileno) (PET)	3 – 4	50 - 70	50 - 300
Celofane	2 -3	20 - 100	15 - 40

Fonte: KLEMM et al. (2006)

3.1.2 Produção da CB

São encontrados na literatura, diversos microrganismos produtores de celulose pertencentes aos gêneros *Glucanacetobacter* (renomeado do *Komagataeibacter*), *Acanthamoeba*, *Achromobacter*, *Zooglea*, *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Azobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, dentre outros (JUNG; PARK; CHANG, 2005; LEE et al., 2014).

Dentre todos os microrganismos produtores de celulose, o mais amplamente estudado é a espécie *Glucanacetobacter* (RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015). Este bacilo aeróbio estrito, não patogênico e gram-negativo pode ser encontrado na natureza em frutas, vegetais e em produtos fermentados junto com outros microrganismos, tais como leveduras, fungos e outras bactérias (NEERA; RAMANA; BATRA, 2015). O rendimento de produção de celulose bacteriana de algumas espécies produtoras da mesma, se encontra na Tabela 2, com comparativo de alguns parâmetros variáveis, como tipo de fonte de carbono, suplementação ao meio de cultivo, e, tempo de cultura das diferentes colônias de bactérias.

Tabela 2 - Comparativo entre diferentes fontes de carbono, suplementação e tempo de cultura e seus respectivos rendimentos da produção de celulose bacteriana.

Bactéria	Fonte de Carbono	Suplementação	Tempo de cultura (h)	Rendimento (g/L)
<i>Glucanacetobacter xylinum</i> BRC 5	Glicose	Etanol + O ₂	50	15,30
<i>G. hansenii</i>	Glicose	O ₂	48	1,72
<i>G. xylinum</i> BPR2001	Frutose	Ágar e O ₂ Ágar	72	14,10
<i>G. xylinum</i> BPR2001	Frutose	Ágar e O ₂ Ágar	56	12,00
<i>Sucrofermentans</i> BPR 2001	Frutose	O ₂	52	10,40
<i>G. xylinum</i> ssp.	Frutose	O ₂	52	10,40
<i>G. xylinum</i> K3	Manitol	Chá verde Lignosulfato Alginato de Sódio	168	3,34
<i>G. xylinum</i> IFO 13773	Glicose	Chá verde Lignosulfato	168	10,10

		Alginato de Sódio			
<i>G. xylinum</i> IFO 13773	Melaço	Chá verde		168	5,76
		Lignosulfato			
		Alginato de Sódio			
<i>Glucanacetobacter</i> sp RKY5	Glicerol	Chá verde		144	5,63
		Lignosulfato			
		Alginato de Sódio			

Fonte: Chawla et al, 2009

A formação de uma película tridimensional interconectada reticularmente foi relatada nos casos de fermentação sob condição estática, enquanto a condição agitada produz partículas de celulose irregulares de forma semelhante a esferas (TANSKUL; AMORNTHATREE; JATURONLAK, 2013a). O processo de formação de celulose sob condições estáticas é regulado por alimentação de ar na superfície do meio, e seu rendimento depende moderadamente da concentração da fonte de carbono (BUDHIONO et al., 1999). Nanoceluloses obtidas através de condições estáticas são geralmente usadas para a síntese de compósitos com aplicações biomédicas e outras aplicações industriais (MANEERUNG; TOKURA; RUJIRAVANIT, 2008).

Nos microrganismos, a celulose é sintetizada em duas etapas intermediárias: i) a formação das cadeias de 1,4- β -glicano e ii) a montagem e a cristalização das cadeias de celulose. A etapa ii é a etapa limitante do processo (BROWN; SAXENA, 2000). O processo de formação das cadeias de celulose ocorre entre as membranas externas e citoplasmáticas das células. As moléculas de CB são sintetizadas dentro da bactéria, e, são extrusadas para o meio externo por meio de componentes exportadores de celulose para formar protofibrilas (BUDHIONO et al., 1999), que, formarão microfibrilas com um formato cerca de 40 vezes maior. De acordo com Donini (2010), o processo da síntese de CB é bastante oneroso para a célula, 10% do ATP formado no metabolismo bacteriano é utilizado na síntese do biopolímero.

O aumento do tempo de crescimento irá aumentar a formação de CB juntamente com hidrogênio e ligações C-H (SHEYKHNAZARI et al., 2011). A síntese da CB atinge o seu limite quando o crescimento da película no sentido inferior do

meio aprisiona todas as bactérias, que se tornam inativas devido ao fornecimento insuficiente de oxigênio (BORZANI; DESOUZA, 1995).

De acordo com os autores Esa, Tasirin e Rahman, em seu estudo de 2014, a CB é produzida por bactérias ácido-acéticas, através da fermentação oxidativa. Várias bactérias pertencentes a diferentes gêneros como *Gluconacetobacter*, *Sarcina* e *Agrobacterium* são capazes de produzir celulose bacteriana ou biocelulose como também é conhecida (GOMES et al., 2013). A *Gluconacetobacter xylinum* e *hansenii* são bactérias amplamente estudadas pela sua alta produção de CB (EL-SAIED et al., 2004), pois conseguem assimilar vários açúcares e produzir elevados níveis de rendimentos de celulose em meio líquido (MOOSAVI-NASAB; YOUSEFI, 2011).

3.1.3 Métodos combinatórios de produção

Baseado na possibilidade de processos combinatórios para a síntese de compósitos poliméricos, há, na literatura dois métodos, o *in situ* e o *ex situ*. No método *in situ*, a aditivação à matriz polimérica é feita em conjunto, ao longo da síntese do polímero da CB, onde o polímero e o aditivo se formam de maneira única, obtendo assim, uma blenda, compósito ou matriz polimérica aditivada (Figura 2).

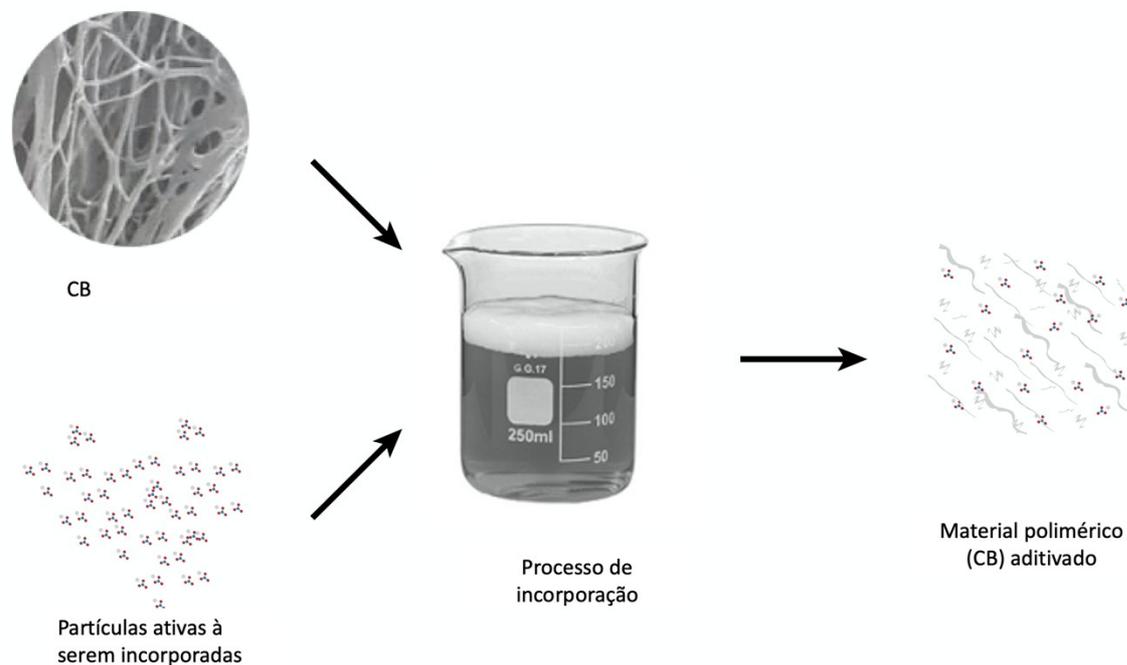
Figura 2 - Síntese *in situ* da produção de celulose bacteriana

Fonte: modificada a partir de Amorim et al. (2020)

Na tentativa de obtenção da membrana de CB com maior capacidade de reidratação, foi realizado um estudo com aditivação *in situ* de quitosana, uréia, carboximetil celulose e hidroxipropilmetilcelulose à produção de celulose. Tal modificação melhorou de maneira efetiva o índice de intumescimento do polímero, garantindo assim, resultados satisfatórios (HUANG et al., 2010).

Já no método *ex situ* (Figura 3), os aditivos são adicionados após a formação da matriz celulósica, sendo o mesmo impregnado na CB, como uma espécie de material de reforço, ou como uma forma de melhoria das suas propriedades iniciais (SERAFICA et al., 2002; SAIBUATONG; PHISALAPHONG, 2010; SHAH et al., 2013). Há a ocorrência de interação física ou química, e estas podem acontecer através da ligação ao grupo hidroxila. As pequenas partículas líquidas e sólidas das substâncias podem facilmente penetrar ou serem absorvidas fisicamente pela matriz CB porosa. Neste tipo de síntese, a estrutura do polímero é basicamente inalterada.

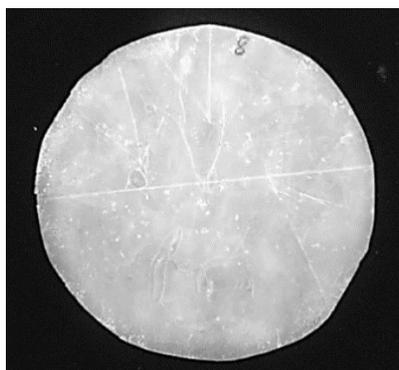
Figura 3 - Síntese *ex situ* da produção de celulose bacteriana



Fonte: modificada a partir de Amorim et al. (2020)

Albuquerque et al. (2019) reportaram a incorporação à matriz polimérica por via *ex situ* do polímero poli-3-hidroxi-butirato (PHB) e óleo essencial de cravo, resultando em uma membrana com propriedades mecânicas melhoradas e atividade antimicrobiana, com a finalidade de aplicação como embalagem inteligente para alimentos (Figura 4).

Figura 4 - Membrana polimérica celulose bacteriana + poli-3-hidroxi-butirato para uso em embalagens alimentícias



Fonte: Albuquerque et al. (2019)

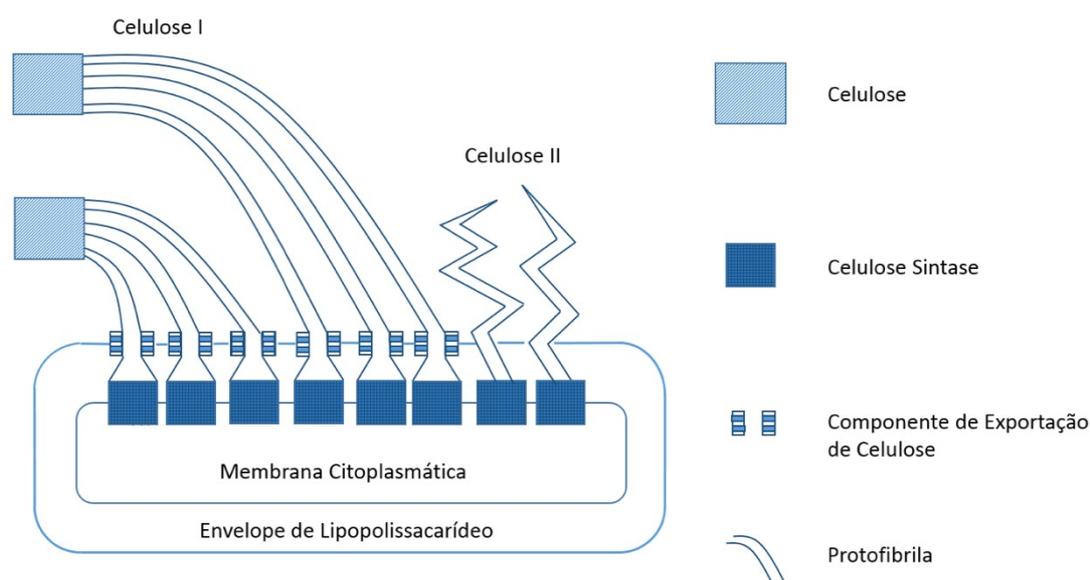
Devido a rede nanofibrilar em 3D, a celulose bacteriana apresenta elevada capacidade de absorção de água (a membrana inicial possui ~99% água) e entre 2.000 a 6.000 propriedades de alta resistência à tração. Tais propriedades

singulares, em conjunto com outras características interessantes, nomeadamente biocompatibilidade e biodegradabilidade, resultam no carácter renovável e em uma ampla gama de aplicações (WU; LIU, 2013).

3.1.4 Síntese da CB

A bactéria *Gluconacetobacter* produz dois tipos de celulose, a celulose I, e a forma termodinamicamente mais estável do polímero, a celulose II (CHAWLA et al., 2009). As diferenças no processo de formação dos dois isômeros pela bactéria na região externa à membrana citoplasmática são retratadas na Figura 5.

Figura 5 - Produção de microfibrilas de celulose por *Gluconacetobacter*



Fonte: Chawla et al. (2009)

A enzima celulase é a responsável por catalisar a reação de polimerização das moléculas de glicose, formando as cadeias 1,4- β -glicano. Segundo Lee et. al (2014), este processo de reação de polimerização ainda não é totalmente compreendido pelos pesquisadores. Uma possível hipótese, é que a polimerização 1,4- β -glicano contém um intermediário lipídico, onde a molécula da glicose é transferida primeiramente da UDPGlc para uma molécula de lipídeo na membrana plasmática, formando um intermediário gluco-lipídico por meio da glicosiltransferase (VALERA et al., 2015).

Em 1954, Hestrin e Schramm desenvolveram um meio de cultura para a produção de CB e o mesmo se tornou muito comum entre pesquisadores. Tal meio é composto por 2% de glicose, principal fonte de carbono, 0,5% de peptona, 0,5% de extrato de levedura, 0,27% de fosfato dissódico anidro e 0,15% (HESTRIN; SCHRAMM, 1954).

Considerando que o custo do meio de fermentação, representa em média 30% do custo total do processo de produção de tais produtos biotecnológicos, este desempenha um papel crítico ao longo do valor monetário total em fermentações microbianas. Assim, um dos maiores desafios dos processos de fermentação é encontrar um novo meio de cultura de baixo custo e de grande rendimento de CB.

A capacidade produtiva da CB está intimamente ligada aos parâmetros do bioprocessamento, de modo que uma quantidade cada vez maior de artigos tem sido elaborados na tentativa de explorar variáveis como fontes de carbono (COSTA et al., 2017; MOHAMMADKAZEMI; AZIN; ASHORI, 2015), agitação do meio de cultura (LEE et al., 2014), pH, temperatura e efeitos de fontes de nitrogênio e fósforo (GOMES et al., 2013).

Na maioria dos estudos, açúcares puros, incluindo glicose, sacarose, manitol, frutose e sorbitol, são utilizados como meios de fermentação. No entanto, estas fontes de carbono não são econômicas para alcançar uma produção em escala industrial de CB. Novas fontes de carbono que atendam às necessidades de alto rendimento de celulose de baixo custo devem ser encontradas para a produção da CB. O melaço, por exemplo, é um subproduto da fase final de cristalização do processo de produção de açúcar que pode ser um candidato promissor como fonte de carbono de baixo custo na indústria microbiana da celulose (ÇAKAR et al., 2014; COSTA et al., 2018).

3.1.5 Recuperação e purificação da CB

Apesar de não possuir outros compostos em sua composição, como ocorre com a CV, que precisa passar pelo processo de recuperação da celulose, por estar atrelada à lignina, pectina e hemicelulose, a CB ainda precisa passar por processos de purificação, pois, o polímero obtido contém impurezas, como células e

componentes do meio de cultivo, que devem ser retiradas para que a celulose seja obtida, e o rendimento calculado (CHAWLA et al., 2009).

Também de acordo com Chawla et al. (2009), o principal processo de purificação de CB é o tratamento com álcali (hidróxido de sódio ou potássio) (Figura 6), ácidos orgânicos (como ácido acético) e/ou lavagens repetidas com água de osmose reversa ou água quente. Tais metodologias podem ser usadas separadamente ou em conjunto. A depender da aplicação, a membrana deve ser lavada, até atingir o pH ideal para a finalidade proposta.

Figura 6 - Membrana de celulose bacteriana no processo de purificação por Hidróxido de Sódio



Fonte: Amorim et al. (2019)

Há, também, a possibilidade de esterilizar as membranas de CB através de irradiação de raios gama. Onde, a dose absorvida por radiação é o parâmetro de eliminação de microrganismos, especificado pela norma ISO 11137. Tal tecnologia é mais amplamente utilizada para esterilização de materiais e biomateriais utilizados pela área médica sendo uma das maneiras mais eficazes e economicamente atraentes de esterilização (KREMSER et al., 2020). Outra área que pode ser beneficiada com essa tecnologia de esterilização é de estética e cosmética, já que as membranas de CB estéreis por radiação gama poderá entrar em contato com a pele humana, resultando em produtos cosméticos eficazes, seguros e atraentes.

3.2 COSMÉTICOS

De acordo com a agência Americana, *Food and Drug Administration* (FDA), responsável pela regulação de fármacos e cosméticos, define o termo cosméticos

como "produtos destinados a serem aplicados ao corpo humano para limpeza, embelezamento, promoção da atratividade ou alteração da aparência sem afetar a estrutura do corpo". Tal indústria é dividida em cinco categorias principais, sendo elas: cuidado com a pele (*skincare*), cuidado com o cabelo, maquiagem, perfumes e higiene oral. O setor de *skincare* representa a maioria de seu mercado dentro de tal segmento industrial, sendo, em 2019, responsável por 60% de sua economia (AMBERG; FOGARASSY, 2019).

Devido ao crescimento de interesse da população para produtos inovadores, surgem os cosmecêuticos, termo utilizado pela primeira vez em 1984, onde o mesmo se refere a produtos aplicados de maneira tópica, com a capacidade de alterar o estado fisiológico da pele, sem ser considerado medicamento, ou seja, a junção entre cosméticos e farmacêuticos (KLIGMAN, 2005). Matérias primas vegetais e microbianas têm sido utilizadas como uma eficaz alternativa na indústria cosmética, pelo fato de apresentarem compostos naturais ativos. Tal setor tem explorado a natureza, em busca de novas matérias primas de origem natural e orgânica, a fim de garantir resultados satisfatórios ao consumidor, contribuindo para o desenvolvimento da tecnologia sustentável do setor cosmético (FREITAS SOUZA et al., 2013).

Dentre os princípios ativos mais utilizados nos cosmecêuticos, podem ser citados: vitaminas, antioxidantes, protetores ultravioleta (UV), despigmentantes, esfoliantes, hidratantes e efeito anti-idade (DUREJA et al., 2005).

3.2.1 Envelhecimento cutâneo

A teoria dos radicais livres sugere que no envelhecimento cutâneo, que ocorre ao longo da vida, há um acúmulo, no organismo, de substâncias que provocam oxidação de proteínas, DNA e lipídeos, gerados pela ação dos radicais livres. Na cadeia de transporte de elétrons, ocorre a formação de espécies intermediárias altamente energéticas chamadas espécies reativas de oxigênio (ERO's), também classificadas como radicais livres. Essas moléculas são capazes de existência independente e, devido a ter um ou mais elétrons não emparelhados, têm a capacidade de capturar elétrons de outra molécula para se estabilizar, causando a oxidação. Quando a pele entra em contato com a incidência de raios

UVA (Ultravioleta do tipo A) e UVB (Ultravioleta do tipo B), há um aumento na quantidade de radicais livres, como o ânion superóxido e radical hidroxila, causando a diminuição da quantidade de enzimas oxidantes (CORTE, 2006).

Durante o envelhecimento natural, o dano oxidativo aumenta de forma exponencial. Embora os danos aos lipídios e ao DNA sejam consequências funcionais do envelhecimento, os danos oxidativos nas proteínas podem ser o fator crucial no envelhecimento, levando à perda da atividade catalítica e da integridade estrutural das proteínas. Oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres, aceleram o fenômeno de envelhecimento cronológico cutâneo. Tal acontecimento causa modificação na estrutura do material genético por meio de enzimas e alterações proteicas. Com isso, o tecido perde elasticidade, capacidade de regular trocas aquosas e a replicação do mesmo se torna deficitária (FERREIRA, 2011).

Também de acordo com Ferreira (2011), o próprio corpo humano possui sistemas de defesa para neutralizar ou remover esse malefício, mas a detecção de tais danos em condições fisiológicas normais, mesmo em corpos saudáveis, sugere que a ação de mecanismos de reparo e antioxidantes não alcance 100% de eficiência celular, resultando em um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes do corpo e os radicais livres formados.

Para reforçar a proteção natural contra esses efeitos, faz-se o uso de compostos exógenos, como enzimas, antioxidantes e compostos fenólicos, inibindo assim, as reações oxidativas. Segundo Segura (2011), vitaminas, aplicadas de maneira tópica, ajudam a combater doenças de pele, prevenir, retardar ou impedir algumas mudanças degenerativas associadas ao processo de envelhecimento cutâneo. No caso dos cosmecêuticos, os mesmos podem possuir fórmulas que conseguem o retardo ou até a minimização do envelhecimento cutâneo.

Antioxidantes são substâncias que podem proteger contra o estresse oxidativo, neutralizando os radicais livres. Os de aplicação tópica, estão disponíveis no mercado, especialmente em produtos para cuidados com a pele, com o apelo da prevenção de sinais clínicos do envelhecimento, devido sua capacidade comprovada de inibir os danos celulares. A administração tópica de antioxidantes na pele é essencial para minimizar o envelhecimento da pele e obter melhor proteção da pele contra os radicais livres nocivos. Além disso, antioxidantes são componentes

essenciais em formulações cosméticas para aumentar a vida útil do produto, reduzindo a degradação oxidativa de ingredientes sensíveis (SEGURA, 2011).

Lewis & Dinardo (2013) descrevem em sua patente uma composição e o modo de preparo de antioxidante vegetal, feito a partir de uma mistura de extratos antioxidantes botânicos, rica em taninos, vitaminas, curcuminóides, flavonoides e antocianinas. A mistura de extratos forneceu uma proteção eficaz contra processos de oxidação prejudiciais na pele e também proteção para as próprias composições contra processos de oxidação prejudiciais.

Em uma patente depositada pela empresa Natura Cosméticos S.A., descrita por Pedroso et al., em 2015, é reportada a formulação cosmética antioxidante para uso tópico, que compreende uma associação de extratos vegetais, como chá verde, óleo de uva verde, cacau e soja. Dentre os resultados, se encontram a estabilidade do produto, aumentando assim, seu tempo de prateleira, como também sua alta eficiência ao combate de ERO's da derme.

Aditivos como compostos fenólicos, antocianinas, entre outros, oriundos de fontes naturais, como própolis, uva, acerola, etc, são bastante utilizados nas fórmulas cosméticas em produtos como protetor solar (GREGORIS et al., 2011), hidratantes faciais (FIUME et al., 2014).

3.2.2 Máscara hidratante de CB

A indústria cosmética se encontra em constante busca por inovação aliada a qualidade científica de produtos com compostos bioativos atraentes aos seus consumidores. Matérias-primas vegetais e microbianas têm sido utilizadas como uma eficaz alternativa na indústria cosmética, pelo fato de apresentarem compostos naturais ativos. Tal setor tem explorado a natureza, em busca de novas matérias primas, de origem natural e orgânica, a fim de garantir resultados satisfatórios ao consumidor, contribuindo para o desenvolvimento da tecnologia sustentável do setor cosmético (FREITAS SOUZA et al., 2013).

A respeito do mercado mundial de máscaras faciais, 63% do consumo do mesmo se dá na Ásia, onde há também grande inovação de tecnologia nessa categoria de cosméticos, de acordo com a Euromonitor. No entanto, o consumo desse produto especializado vem expandindo rapidamente. Conseqüentemente, a

venda de máscaras faciais cresceu cerca de 10%, enquanto o mercado de produtos para a pele atualmente cresceu cerca de 5,2% entre 2000 e 2019 (MORGANTI, 2019).

Também segundo Morganti (2019), a máscara facial, formulada como creme, pomada, loção, soro ou tecido, serve como veículo fornecedor de ativos à pele com o intuito de melhorar rapidamente aparência e qualidade da pele. A *sheet mask* ou máscara em tecido, pode ser composta por diferentes tipos de matrizes, que incluem tecido, algodão, não tecido, hidrogel, biocelulose, dentre outros. Contudo, tal produto cosmético, de uso quase imediato, possui o desafio de desenvolvimento de novos produtos e embalagens com caráter sustentável.

Boonme et al. (2011) utilizaram a bactéria *Gluconacetobacter xylinum* para a produção de uma máscara facial de CB (Figura 7), e, apontaram os efeitos benéficos da utilização deste biomaterial na pele. Tiveram como objetivos a determinação dos efeitos *in vivo* de uma máscara de celulose obtida com características da pele e avaliar a satisfação do usuário com o produto. A produção da membrana de CB foi feita através de arroz moído (*Oryza sativa*), utilizado como um substrato alternativo. Após obtenção da biocelulose, a mesma, ainda hidratada, foi cortada em formato de rosto, com orifícios para os olhos, nariz e boca nas posições corretas. Como resultado, logo após aplicação da máscara, se obteve o aumento nos níveis de sebo da pele, de elasticidade e de umidade, em $50,57 \pm 12,09\%$ e $46,70 \pm 8,68\%$, $61,23 \pm 10,84\%$ respectivamente. Tendo como conclusão de que, após uma única aplicação da máscara de CB, houve aumento da absorção de umidade pela pele (BOONME et al., 2011).

Figura 7 - Aplicação da máscara de celulose bacteriana na pele do rosto.



Fonte: BOONME, et al., 2011.

3.3 EXTRATOS NATURAIS

A crescente demanda por aditivos naturais vem sendo incentivada por consumidores que estão buscando produtos ecologicamente amigáveis, com certa limitação de solventes sintéticos e, muitas vezes, tóxicos. Os subprodutos e extratos agroindustriais são recursos relativamente baratos, abundantes e sustentáveis, que contêm compostos com atividades antioxidantes, citotóxicas e antimicrobianas que podem ser propostos como conservantes e aditivos naturais em produtos cosméticos (AMBERG; FOGARASSY, 2019). Extratos derivados de plantas geralmente contêm uma mistura de compostos naturais que podem ter efeitos sinérgicos; portanto, podendo ter melhores efeitos e menor toxicidade (KUSUMAWATI; INDRAYANTO, 2013), e, por essa razão que vêm sendo bastante utilizados pela indústria, conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3 - Extratos naturais utilizados na indústria cosmética

Extrato natural	Composto	Referência
Aloe vera	Aloína	(SAIBUATONG)

		; PHISALAPHONG, 2010)
Frutas vermelhas e uvas roxas	Resveratrol	(FIUME et al., 2014)
Própolis	Galangina	(SHANG et al., 2020)
Acerola (<i>Malpighia emarginata</i>)	Ácido ascórbico	(KUSUMAWAT; INDRAYANTO, 2013)
Semente de girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	α -Tocopherol	(TSOUKO et al., 2015)
Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>)	p-Cumarina	(MARTINS et al., 2016)

Fonte: Autora (2020)

Extratos com propriedades antioxidantes são bastante utilizados devido à demanda dos consumidores, isto por estarem relacionados à sua capacidade de reduzir ou prevenir os efeitos nocivos dos radicais livres no corpo humano, portanto, a adição de compostos com tal ação, aos produtos cosméticos permite enriquecê-los em compostos bioativos. Ácidos fenólicos e flavonóides são protetores eficientes através da redução do estresse oxidativo da derme, inflamação e imunossupressão e podem ser componentes importantes em formulações cosméticas para cuidados com a pele (ZHANG et al., 2020).

3.3.1 Própolis

Atualmente, o uso de produtos naturais em formulações farmacêuticas e/ou cosméticas se intensificou devido à presença de compostos ativos com eficácia comprovada. Tanto na forma de extrato, quanto pelo isolamento dos compostos ativos, os produtos derivados de plantas e seus resíduos, têm demonstrado grande potencial no mercado (AMBERG; FOGARASSY, 2019).

Um dos resíduos naturais mais estudados por diversas áreas com aplicações industriais é a própolis, seu interesse na área farmacêutica e cosmeceutica na

produção de produtos “verdes” contendo própolis tem aumentado consideravelmente (BARBOSA et al., 2014). A própolis é o nome genérico para uma mistura resinosa complexa coletada pelas abelhas (*Apis mellifera*) dos brotos, secreções e exsudatos de várias plantas (Figura 8). Tais constituintes são biotransformados, acrescidos de cera e então depositados nas colmeias, onde têm papel importante para vedar frestas, imobilizar agentes invasores além de seu papel na proteção contra a proliferação de microrganismos (BARBOSA et al., 2014).

Figura 8 - Aparência da resina de própolis pura



Fonte: Barbosa et al., 2014

A composição química da própolis é formada por uma mistura de substâncias bioativas, sendo aproximadamente 30% de ceras, 55% de resinas e bálsamos, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e outros compostos. Atualmente, há mais de 300 compostos isolados, e muitos deles já foram registrados para uso medicinal e cosmético, sendo estes produtos naturais eficientes no combate aos radicais livres que causam a oxidação das células humanas (CABRAL et al. 2012). Em geral, dentre os outros compostos orgânicos, estão os flavonóides (flavonas, flavonóis e flavononas), terpenóides, polifenóis (flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres), aminoácidos, etc (ZHU et al., 2011). Além disso, a própolis contém minerais como Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn e Fe e algumas vitaminas como A, B1, B2, B6, C e E (MOHAMMAD ALI et al., 2015). Tais compostos têm ação cardioprotetora, antioxidante, antiaterosclerótica, anti-inflamatória e antiangiogênica (DALEPRANE; SAES ABDALLA, 2013). Essa substância produzida pelas abelhas vem atraindo

atenção nos últimos anos devido aos seus efeitos benéficos, ao seu potencial como agente preventivo e terapêutico, além de um aditivo útil em alimentos, medicamentos e cosméticos.

Embora muitas atividades biológicas da própolis sejam consistentemente observadas, sua composição química varia entre as zonas geográfica e climática e fonte fitológica (SFORCIN; BANKOVA, 2011). No entanto, as amostras de própolis geralmente mostram grande semelhança em sua composição geral, independentemente da fonte botânica (CABRAL et al., 2012).

A própolis apresenta atividade antibacteriana contra diversas bactérias, dentre elas *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium spp*, *Propionibacterium spp* e *Peptostreptococcus spp* (MOHAMMAD ALI et al., 2015). Também de acordo com os autores anteriores, esta atividade acontece devido à presença em alta concentração dos flavonóides, que atuam aumentando a permeabilidade da membrana bacteriana ou inibindo enzimas essenciais para a função da bactéria. Assim, formulações contendo extratos de própolis podem ser eficazes no tratamento de cáries e periodontites causadas por infecções bacterianas.

A própolis também é eficaz contra outros microrganismos, como fungos, vírus e protozoários. Em relação ao tecido da pele, estudos demonstraram a eficácia da própolis também no tratamento de queimaduras, alergias e cicatrização de feridas (POBIEGA et al., 2019).

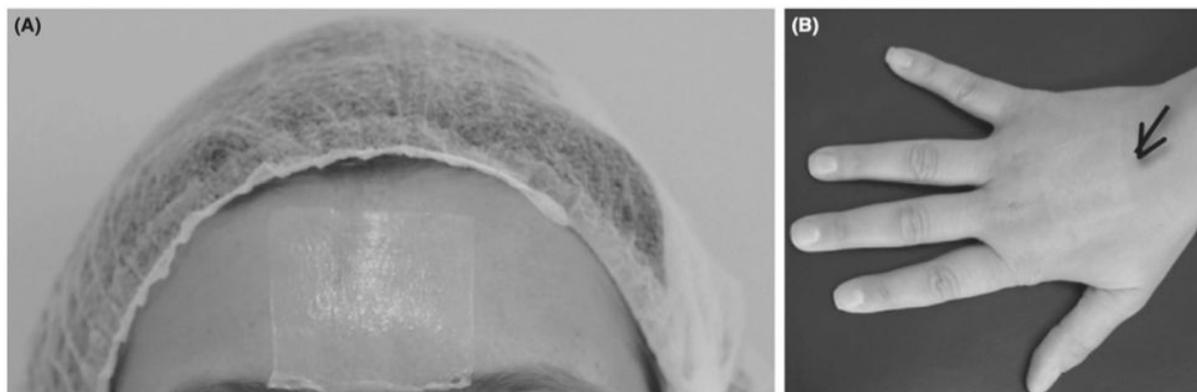
Cabrera et al. (2014), em sua patente, descreve um sistema de polietilenoglicol (PEG) aditivado com extrato de própolis para uso em formulações farmacêuticas (10-30% p/p) e cosméticas (1-3% p/p), com utilidade no tratamento e prevenção de doenças bucais, mucosas e cutâneas. Podendo a forma de apresentação do produto ser em spray, enxaguatório bucal, pasta de dente, loções, cremes e géis, entre outros. O polímero biodegradável e biocompatível, PEG, aditivado com própolis resultou num material com com a dispersão dos constituintes da própolis de maneira homogênea. Dependendo da finalidade do produto, foram adicionados agentes espessantes ou gelificantes, como goma de guar, goma xantana, carboximetilcelulose, alginato de sódio e ágar. Por fim, outros ingredientes podem ser adicionados para melhorar as formulações, como estabilizantes, surfactantes, emulsificantes, agentes tamponantes e conservantes.

Dentre as doenças de pele, a acne é a mais comum e afeta principalmente indivíduos jovens. É uma doença de etiologia multifatorial, influenciada por hiperqueratinização folicular, hiperplasia sebácea, hipercolonização bacteriana, reações imunes e processos inflamatórios (BARBOSA et al., 2014). No tratamento da acne, produtos com aplicação tópica são frequentemente utilizados, como os contendo alfa-hidroxiácidos, peróxido de benzoílo, retinóides, ácido azelaico e antibióticos. Contudo, existem efeitos advesos à tais tratamentos, com isso, atualmente existe uma tendência a buscar tratamentos alternativos, onde os princípios de produtos naturais estão sendo cada vez mais explorados (BARBOSA et al., 2014).

Estudos *in vitro* documentam a alta atividade antimicrobiana do extrato de própolis em diferentes concentrações (10%, 5%, 2,5%, 1,25% e 0,625%), essa propriedade pode ser correlacionada com os constituintes da própolis, especialmente flavonas e derivados do ácido p-cumarina. Além disso, a própolis resultou em atividades curativas e anti-inflamatórias, o que é bastante agradável no decorrer do tratamento da acne e de combate ao estresse oxidativo (MARTINS et al., 2016).

Pacheco et al. (2017) estudaram a construção de um sistema de liberação de ativos vegetais e da própolis, através da matriz polimérica de celulose bacteriana (Figura 9). Os resultados indicaram que o aumento da umidade da pele estava estritamente relacionado à eficiência das máscaras de nanofibras de CB, que serviram também como um sistema de suporte para transportar e liberar os ativos à derme. A formulação à base do extrato de própolis representou uma composição antisséptica, auxiliando assim, na cicatrização dérmica inflamatória (NAKANO et al., 2010).

Figura 9 - Imagens da adesão da máscara de celulose bacteriana à testa (A) e à mão (B), indicadas pela seta



Fonte: Pacheco et al. (2017)

A própolis mostra potencial terapêutico e pode ter aplicações nas indústrias médica e farmacêutica (DALEPRANE; SAES ABDALLA, 2013) e de processamento e de alimentos (POBIEGA; KRAŚNIEWSKA; GNIEWOSZ, 2019). A mesma possui uma série de atividades biológicas, incluindo efeitos antibacteriano (TOSI et al., 2007), fungicida (POBIEGA et al., 2019), anti-inflamatório (SHANG et al., 2020), cicatrizante (DALEPRANE; SAES ABDALLA, 2013), analgésico (SHABBIR et al., 2020) entre outras.

Com isso, pode-se dizer que a utilização do extrato de própolis para a incorporação das mesmas em cosméticos com propriedades antioxidantes garante enriquecimento do produto, de maneira sustentável. A aditivção do extrato de própolis a membrana de CB e o estudo do sistema polimérico ainda é pouco reportado na literatura.

3.4 ESTERILIZAÇÃO GAMA EM POLÍMEROS

A radiação gama tem se apresentado como um agente de esterilização bastante promissor e eficiente para diversos produtos farmacêuticos, cosméticos, biomateriais e polímeros sensíveis ao calor e incompatíveis com certas substâncias esterilizantes (GOPAL, 1978).

As radiações gama são emitidas por vários isótopos radioativos, dos quais o cobalto-60 e o céscio-137 são os mais amplamente utilizados, onde o Co_{60} é

produzido por irradiação de nêutrons de cobalto metálico, já o Cs_{137} é obtido como um produto da fissão do urânio. Contudo, a fonte de cobalto é mais amplamente utilizada pois a irradiação com os fótons gama do Co_{60} não induz radioatividade no produto, diferente da Cs_{137} (GOPAL, 1978).

Também de acordo com Gopal (1978), sua eficiência pode ser afetada a depender da densidade do produto, o grau de hidratação dos organismos, a presença de O_2 e/ou microrganismos, e componentes radiosensibilizadores e rádio-protetores, sendo assim, necessário cautela na escolha da dose de radiação.

Há uma variedade de polímeros empregados na fabricação de produtos, embalagens, dispositivos e equipamentos médicos estéreis e descartáveis. Porém, apenas alguns deles são adequados para esterilização por calor úmido, sendo a radiação um método alternativo eficiente. Vale a pena ressaltar que a irradiação de polímeros pode resultar em *cross-linking* e reticulação dos mesmos, a depender de suas estruturas químicas. Também a depender da dose, podem haver mudanças nas propriedades mecânicas dos polímeros, podendo tal modificação ser benéfica para a aplicação desejada (KRUPA; LUYT, 2001).

A influência da irradiação gama nas propriedades térmicas e mecânicas de polímeros vem sido bastante investigada. Vinhas, Souto-Maior e Almeida (2005) reportaram um estudo a respeito da flexibilidade e estabilidade à radiação gama de policloreto de vinila (PVC) quimicamente modificado, onde os PVCs modificados apresentam maior estabilidade à radiação gama do que o polímero original Krupa e Luyt (2001) investigaram a influência da irradiação gama nas propriedades do polietileno linear de baixa densidade (PELBD), como resultado, foi reportada a reticulação do polímero, melhorando assim, a estabilidade térmica e mecânica do mesmo. Fato também evidenciado por Ghobashy e Abdeen (2016), com o polímero poliuretano (PU).

A esterilização é uma técnica que permite eliminar a vida microbiana, e aplicações de materiais destinados para alimentos, medicamentos, utensílios médico-hospitalares e cosméticos devem estar totalmente isentos de microrganismo. Nesse contexto, as membranas de CB, possuem uma atenção especial, pois durante sua produção, células das bactérias produtora da celulose ficam aprisionadas nas redes das nanofibras, impedindo sua remoção ou morte durante o processo convencional de purificação.

A esterilização por raios gama possuem grande poder de penetração nos materiais e pode interagir com os microrganismos por meio de dois processos: direto e indireto. No processo direto, o alvo principal é a cadeia de DNA do microrganismo, impedindo sua duplicação e ocasionando a morte. Já no processo indireto, tem-se o efeito dos radicais livres e compostos oxidantes gerados como produtos da radiólise da água que interagem com constituintes químicos das células também o levando a morte (GOPAL, 1978).

Até o momento, não há estudos reportados com os comparativos das propriedades físico-químicas do polímero de CB antes e após esterilização, sendo, assim, uma característica inovadora do presente trabalho.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MICRORGANISMO

Gluconacetobacter hansenii UCP1619 depositada no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco foi utilizada como produtora da celulose bacteriana.

4.2 MEIO DE MANUTENÇÃO

A metodologia utilizada para manter a viabilidade do microrganismo se baseou em estudos realizados por Hestrin e Schramm (HS) (1954) e adaptada por Hungund e Gupta (2010) e Gomes et al. (2013). O meio HS é composto por 20 g/L de glicose, 5 g/L de peptona, 5 g/L de extrato de levedura, 2,7 g/L de Na₂HPO₄, 1,15 g/L de ácido cítrico, 15 g/L de ágar, pH 5. Para a manutenção da bactéria, há um acréscimo de 15 g/L de ágar ao meio HS anteriormente citado. Os meios foram esterilizados a 121°C por 15 minutos.

4.3 PREPATO DO PRÉ-INÓCULO E INÓCULO

O pré-inóculo foi preparado a partir do crescimento do microrganismo à 30 °C durante 48 h, em condições estáticas, em 100 mL de meio líquido HS, pH 6,0, contidos em frascos Erlenmeyer de 500 mL. O inóculo foi preparado através da transferência de 3% pré-inóculo em meio HS modificado e estaticamente cultivado à 30°C durante 48 h. A suspensão celular foi inoculada à 3% em meio HS modificado em frascos Schott de 500 mL contendo 100 mL do meio de produção e, em seguida, incubada estaticamente à 30 °C durante 7 dias. Todos os experimentos foram realizados em quintuplicata.

4.4 PREPARO DO EXTRATO NATURAL

Foram preparados os extratos para aditivação *in situ* e *ex situ* do biopolímero. O método empregado no processo de obtenção foi o de diluição em água.

Para o extrato de própolis, sua produção foi realizada a partir da diluição de uma solução aquosa comercial, da marca Needs, produzida pela Bee Própolis Brasil LTDA, lote número 27919, na concentração de 30% (m/v). A concentração obtida após o processo de diluição com água destilada foi de 2% (v/v). Tal concentração é considerada satisfatória e ideal para adição em membranas de CB com aplicações cosméticas. (PACHECO et al., 2018).

4.5 MEIOS MODIFICADOS DE PRODUÇÃO E ADITIVAÇÃO *IN SITU*

Para a produção da CB foram realizados experimentos com o meio HS padrão, com os extratos obtidos, e, com modificações levando em consideração o meio HS, a partir de diferentes proporções dos extratos. Na Tabela 4 a seguir, é mostrado a composição de cada um dos meios de produção utilizados para a obtenção da CB.

Tabela 4 - Composição de meio alternativo com extrato de própolis

	Extrato (% v/v)	Meio HS padrão (% v/v)	Denominação
	100	0	P100
Própolis	50	50	P50
	25	75	P25

Fonte: Autora (2020)

Conforme descrito na Tabela 4, os extratos aquosos de própolis foram empregados como meio alternativos, modificados a partir do meio HS padrão, para obtenção da CB. Estes, quando utilizados na aditivação *in situ*, serviram como um inibidor do crescimento da bactéria *G. hansenii*, isso acontece porque o mesmo possui alta propriedade antibacteriana, bastante reportada na literatura (LETULLIER et al., 2020), dificultando o processo fermentativo de formação da membrana da CB, portanto, as análises de caracterização foram focadas nas membranas aditivadas por própolis de maneira *ex situ*.

Além das composições descritas na Tabela 4, o meio HS padrão puro também foi usado como meio de produção. A CB obtida a partir desse meio tradicional, serviu como parâmetro comparativo em relação as propriedades

daquelas oriundas do sistema polimérico aditivado. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

4.6 PURIFICAÇÃO E LAVAGEM DAS MEMBRANAS

Após o processo de crescimento, as membranas de CB obtidas foram coletadas, lavadas em água destilada, até a obtenção de pH 7. Com o intuito de eliminação as células bacterianas retidas nas membranas, as mesmas foram também purificadas em uma solução de 0,1M de NaOH em 90°C durante 20 minutos.

4.7 ADITIVAÇÃO *EX SITU* DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS NAS MEMBRANAS

O processo de aditivação *ex situ* dos antioxidantes naturais obtidos foi realizado seguindo a metodologia de Pacheco et al. (2018), de forma adaptada. As membranas de CB obtidas pelo meio HS padrão, ainda úmidas, foram pesadas e 50% de sua massa total foi removida por pressão. Com isso, houve a eliminação de parte da água retida na membrana. Em seguida, cada membrana foi colocada em uma bandeja e recebeu a adição superficial e de forma homogênea, do extrato. As bandejas foram agitadas em equipamentos *shaker* por 35 min, a 150 rpm e 30 °C. Durante a agitação, as membranas foram reviradas a cada 5 min com o intuito de promover uma incorporação mais homogênea possível do extrato.

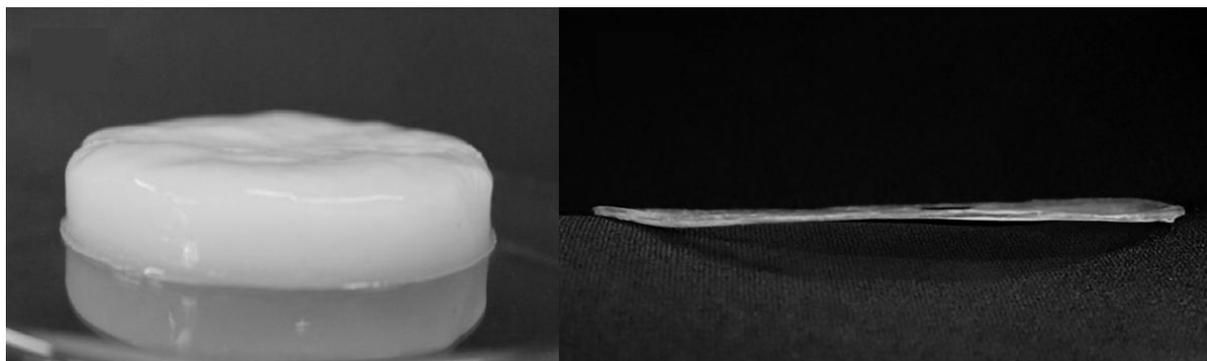
Após o processo de aditivação com o extrato, as membranas obtidas foram acondicionadas em sacos herméticos de plástico polietileno de alta densidade (PEAD) e submetidas a esterilização por irradiação gama com fonte de ^{60}Co .

4.8 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CB

4.8.1 Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Membranas úmidas de CB obtidas após 7 dias de cultivo foram pesadas e secas na estufa a 30 °C a fim de remover completamente a água, até peso constante (Figura 10).

Figura 10 - Comparação da membrana de celulose bacteriana úmida e seca



Fonte: Adaptada a partir de Galdino et al. (2020)

Em seguida, a CRA foi obtida usando a equação 1:

$$CRA (\%) = \left(\frac{\text{Média dos pesos úmidos} - \text{Média dos pesos secos}}{\text{Média dos pesos úmidos}} \right) \times 100\% \quad \text{Eq. 1}$$

4.8.2 Porosidade

O cálculo da porosidade das membranas de CB de 7 dias foi realizado segundo a equação 2 (DING et al., 2016), onde W_w (g) e W_d (g) são o peso úmido e o peso seco das membranas, respectivamente, d é a densidade da água (1 g/ cm^3), D é a espessura (cm) e A é a área da membrana (cm^2).

$$\text{Porosidade} = \left(\frac{W_w - W_d}{(d \times A \times D)} \right) \times 100\% \quad \text{Eq. 2}$$

4.8.3 Difractometria de Raios-X (DRX)

O Índice de Cristalinidade (IC) da celulose é utilizado para explicar mudanças na estrutura da celulose após tratamentos biológicos e físico-químicos (PARK et al., 2010). O X'pert MPD difratômetro (Phillips) com $\text{CuK}\alpha$ radiação foi usada para medir os padrões de difratometria de raios X das membranas de CB. A cristalinidade foi medida de acordo com a Equação 3, em que I_{\max} é a altura do pico em $2\theta = 22.5^\circ$ e I_{\min} é o vale entre os picos $2\theta = 22.5^\circ$ e $\theta = 16.3^\circ$ (GOMES et al., 2013).

$$IC = \left(\frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max}} \right) \times 100\%$$

Eq.

3

4.8.4 Refletância total atenuada e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR/FTIR)

Para obter membranas com umidade mínima, as amostras foram colocadas em um dessecador com sílica gel em temperatura ambiente por duas semanas. As amostras foram digitalizadas com um espectrômetro Bruker FTIR (Equinox 55 Model, Bruker Co., Ettlingen, Alemanha) e medidas em um dispositivo ATR horizontal através de uma placa de célula cristalina (45° ZnSe; 80 x 10 mm; Espessura: 4 mm) (PIKE Technology Inc., Madison, WI, EUA). Grupos funcionais nas membranas de CB foram identificados no espectrofotômetro entre 4000 e 400 cm^{-1} . Todos os espectros foram registrados após 32 digitalizações com uma resolução de 4 cm^{-1} (LIMPAN et al., 2012).

Através dos resultados do FTIR, foi feita a PCA (Análise dos Componentes Principais), afim de representar convenientemente a localização das amostras em um sistema de coordenadas reduzido onde, em vez de eixos m (correspondendo a variáveis m), apenas p ($p < m$) são usados para descrever o conjunto de dados com o máximo de informação possível (GUO et al., 2017).

4.8.5 Análise da Atividade Antioxidante

A análise das membranas de CB e do extrato bruto foi feita através da metodologia de sequestro dos radicais livres, com o uso do DPPH (BONDET; BRAND-WILLIAMS; BERSET, 1997). O radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH*) tem sido amplamente utilizado para avaliar a capacidade de antioxidantes naturais em sequestrar radicais livres. A solução de DPPH* possui uma coloração roxa intensa e a ação antioxidante de um extrato pode ser visualizada pelo progressivo descoloramento da solução, ao final do qual a mesma torna-se

amarelada. O procedimento deste ensaio foi descrito por Mensor e colaboradores em que cada solução amostra (2,5 mL) foi acondicionada com 1 mL de solução de DPPH (0,03 mM) nas diferentes concentrações (250-5 µg/mL) (MENSOR et al., 2001). A solução de DPPH* foi preparada no dia da análise e estocada em frascos cobertos com folhas de alumínio, mantida no escuro a 4 °C até o momento das determinações.

Após a adição de DPPH às amostras, as mesmas foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente no escuro. Foi feita a leitura em um espectrofotômetro de Ultravioleta UV-vis Edutec, com o comprimento de onda de 515nm. Todas as leituras foram realizadas em triplicata, a capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada com base no decréscimo da absorbância observada, de acordo com a Equação 4.

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{(A_{DPPH} - A_{amostra})}{A_{DPPH}} \times 100 \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH e $A_{amostra}$ é a absorbância da amostra em solução. $A_{amostra}$ foi calculado com base na diferença da absorbância da solução de amostra em teste com seu branco. O resultado se dá em % de inibição da atividade antioxidante.

4.8.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Amostras de CB obtidas após 7 dias de cultivo, previamente secas, foram metalizadas com ouro (SANYU ELECTRON). A Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies das amostras foi realizada utilizando um instrumento JEOL, JSM-5600 operando a 27 KV.

4.8.7 Análise Termogravimétrica (TGA)

O analisador Mettler Toledo foi utilizado para a análise termogravimétrica de amostras pesando aproximadamente 8 mg. Cada amostra foi digitalizada da temperatura ambiente (30 °C) até 600 °C, sob uma atmosfera de nitrogênio com uma taxa de fluxo de 20 mL/min para evitar a degradação termo oxidativa das amostras (taxa de aquecimento: 10 °C/min) (ERBAS et al., 2015).

4.9 ESTERILIZAÇÃO DA MEMBRANA POR IRRADIAÇÃO

Uma etapa crucial na produção de qualquer produto derivado da celulose é sua purificação. Para a CB, este processo tradicional com NaOH, descrita no item 4.6, destina-se à remoção de compostos orgânicos (como ácidos nucleicos e proteínas) e células da bactéria residual, que ocorrem durante o processamento. Contudo, este processamento químico muitas vezes não é feito de maneira efetiva, resultando em membranas ainda com bactérias ativas em seu interior (SASKA et al., 2012), onde, dependendo da aplicação, em especial para uso em biomateriais, cosméticos e alimentos, a CB ainda deve passar por uma etapa de esterilização, garantindo, assim, a sua biossegurança.

Com isso, posteriormente ao processo de aditivação, as membranas de CB foram irradiadas à temperatura ambiente, na dose de 25 kGy (VINHAS; SOUTO-MAIOR; ALMEIDA, 2005), com a taxa de dose utilizada de 1,604 kGy/h, por um período de 15h e 35 min. A irradiação foi realizada com os raios gama provenientes de uma fonte de ^{60}Co em equipamento Gammacell, modelo GC 220 Excel MDS Nordion, localizado no Laboratório de Metrologia das Radiações Ionizantes do Departamento de Energia Nuclear da UFPE (LMRI-DEN/UFPE).

Posteriormente, as membranas que foram esterilizadas por radiação gama e as que não foram submetidas à irradiação, foram inoculadas em meio padrão HS, em condições estáticas, à 30°C pelo período de 7 dias para avaliar a viabilidade celular e a eficiência da radiação ionizante como método de esterilização.

Por motivos de comparação de suas propriedades, foram feitas análises de caracterização físico-químicas, como FTIR (de acordo com o item 4.8.4) e, TGA (seguindo a metodologia descrita em 4.8.7) das membranas irradiadas.

4.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados de cada teste foram analisados estatisticamente. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar a significância na diferença entre fatores e níveis. A comparação das médias foi feita empregando um teste de Tukey para identificar quais grupos foram significativamente diferentes de outros grupos ($p <$

0,05). Todos os dados são apresentados como média \pm DP. Uma Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada para verificar as correlações entre as membranas CB, CB – P e as mesmas esterilizadas, CB est e CB- P est, por irradiação gama.

4.11 CONFECÇÃO DO PROTÓTIPO DE BIOMÁSCARA DE CB

Após o cultivo pelo período de 7 dias, as películas de CB foram recolhidas, lavadas em água corrente e purificadas em uma solução de 0,1M de NaOH em 90°C durante 20 minutos para eliminação das células retidas na mesma. As membranas de CB foram lavadas com água deionizada até atingir o pH neutro e posteriormente esterilizadas por irradiação gama. Em seguida, as películas foram deixadas em temperatura ambiente por 6 horas para que parte de sua água residual fosse evaporada. As películas foram moldadas e cortadas no formato do rosto, com buracos para os olhos, nariz e boca, seguindo máscaras já existentes no mercado, resultando no protótipo da biomáscara.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PRODUÇÃO E ADITIVAÇÃO *IN SITU* DAS MEMBRANAS DE CB

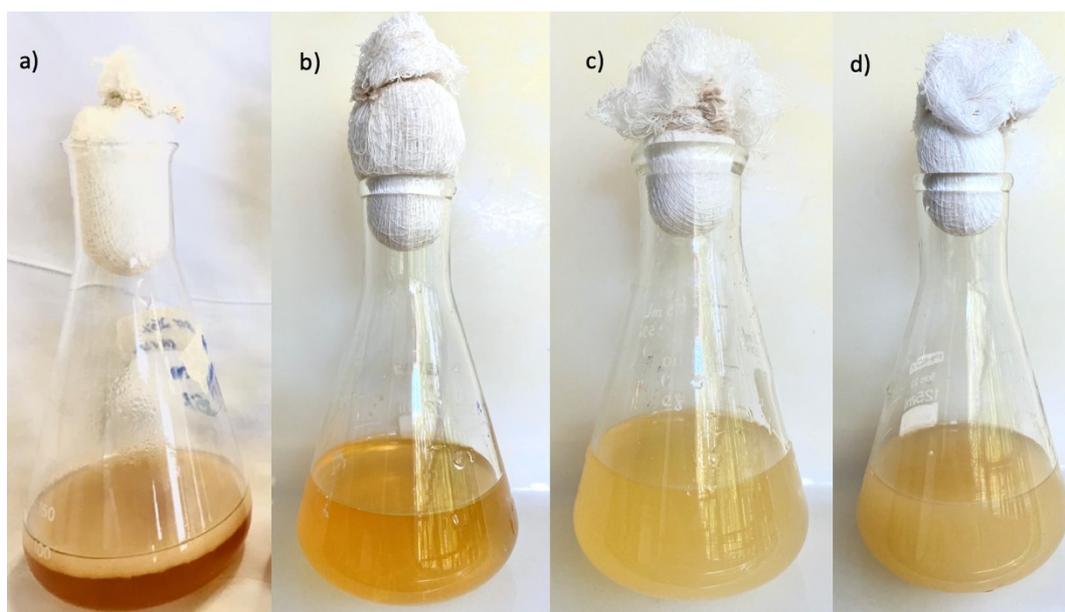
Os rendimentos médios da celulose produzida em meio padrão HS e por meio alternativo com aditivação *in situ*, em termos do peso de membranas úmidas e secas, após 7 dias de cultivos estão expressos na Tabela 5 e Figura 11.

Tabela 5 - Rendimento de produção de celulose por meio utilizado, sendo o meio P25 formulado com 75% do meio Hestrim-Schramm (HS) padrão e 25% do extrato de própolis, o meio P50 formulado com 50% do meio HS padrão e 50% do extrato de própolis e o meio P100 formulado com 100% do extrato de própolis

Meio utilizado	Peso CB úmida (g/L)	Peso CB seca (g/L)
HS padrão	120,55 ± 2,4	1,90 ± 0,27
P25	0	0
P50	0	0
P100	0	0

Fonte: Autora (2020)

Figura 11 - Meios de cultivo após processo de produção a) Hestrim-Schramm (HS) padrão; b) P25 (75% do meio HS padrão e 25% do extrato de própolis); c) P50 (50% do meio HS padrão e 50% do extrato de própolis) e d) P100 (100% do extrato de própolis)



Fonte: Autora (2020)

Com base nos rendimentos apresentados na Tabela 5, é possível observar que para a produção feita com própolis, independente da concentração dessa substância (P25, P50 e P100), que a bactéria não foi capaz de produzir a membrana celulósica, conforme também mostra a Figura 10.

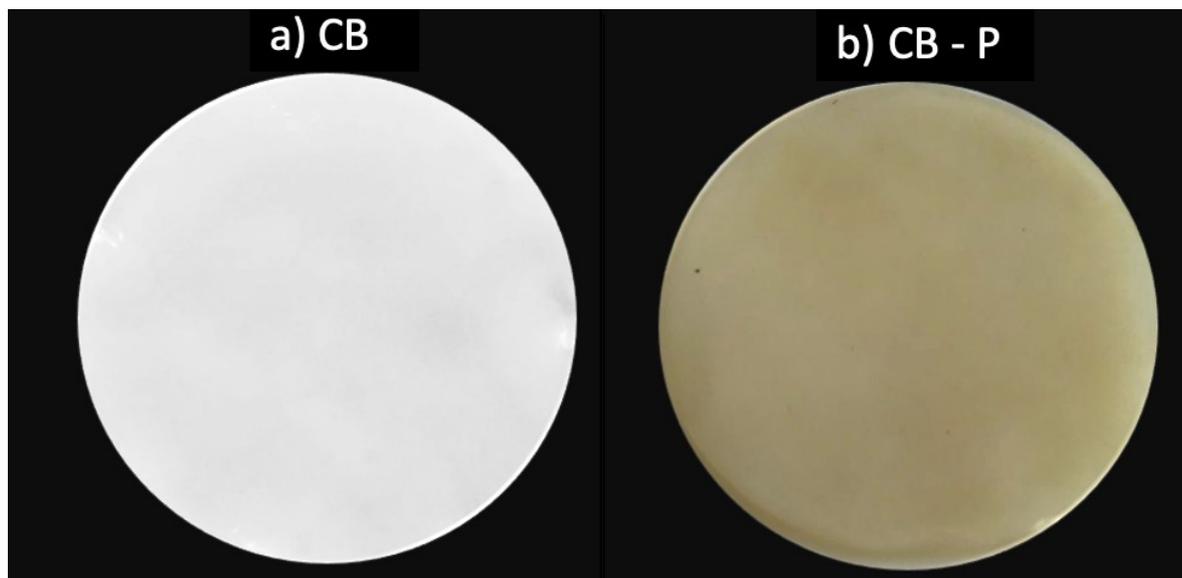
Foi observado que a presença de própolis no meio de cultura pode ter sido responsável pela inativação celular, ocasionando a inibição e/ou morte bacteriana, provavelmente devido às suas elevadas propriedades antioxidantes e antibacterianas, de acordo com estudos reportados (BARBOSA et al., 2014; KUMAZAWA; HAMASAKA; NAKAYAMA, 2004), como também pelo baixo percentual de carboidratos (WICZKOWSKI; SZAWARA-NOWAK; TOPOLSKA, 2013), demonstrando que a produção de CB com própolis em processos de produção *in situ*, nas condições realizadas nesta pesquisa, parece ser inviável.

A presença de compostos específicos em elevadas concentrações é capaz de diminuir a concentração do ácido glucônico, que é produzido pela bactéria durante o processo de formação da película (KESHK, 2014), servindo assim, como um inibidor da reação de formação da celulose (LIN et al., 2014).

5.2 ADITIVAÇÃO *EX SITU* DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS NAS MEMBRANAS

As Figuras 12(a) e 12 (b) mostram as macrografias dos filmes que foram obtidos após produção no meio HS padrão (CB), e o que foi aditivado pelo extrato de própolis (CB-P), respectivamente. Observa-se, pelas imagens macroscópicas, que após o processo de aditivação *ex situ*, a película de CB adquiriu a coloração do respectivo extrato, ou seja, um tom de bege.

Figura 12 - Aspectos das membranas de celulose bacteriana úmidas antes (a) e após da aditivação *ex situ* do extrato de própolis (b).



Fonte: Autora (2020)

Como não foi possível a produção da membrana em meio contendo o extrato de própolis, as caracterizações foram realizadas a partir da película obtida em meio HS padrão aditivada com 2% (v/v) de própolis.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CB

5.3.1 Capacidade de Retenção de Água (CRA) *in situ*

A CRA foi determinada após as membranas serem completamente secas até atingirem um peso constante (Figura 11). Os valores da CRA são exibidos na Tabela 6. Os resultados confirmam que as membranas de CB têm uma alta porcentagem de água, em torno de 98%, conforme descrito por Costa et al., (2018) e também observado por Amorim et al. (2019) e Galdino et al. (2020).

Figura 13 - Membrana de celulose bacteriana aditivada com própolis (CB – P), de maneira *ex situ*, após secagem



Fonte: Autora (2020)

O alto conteúdo de água da CB e sua capacidade de absorção se deve por sua elevada porosidade, bem como pela presença de muitos grupos hidroxilas em sua estrutura, demonstrando, assim, a capacidade elevada de retenção de água por meio de ligações de pontes de hidrogênio (LUO et al., 2019). Esse alto conteúdo de água fornece características ideais para a aplicação da CB como máscaras de hidratação de maneira oclusiva, comportamento também reportado por Boonme et al. (2011), onde foram feitos testes cosméticos com máscara de CB pura, obtida pelo meio HS padrão, sem qualquer aditivo, demonstrando que houve aumento nos níveis de sebo, de elasticidade e de umidade da derme.

Tabela 6 - Capacidade de Retenção de Água (CRA) das membranas obtidas com meio HS padrão (CB), e da aditivada *ex situ* com extrato de própolis (CB – P)

Membrana	CRA (%)
CB	98,42 ± 0,3
CB - P	98,01 ± 0,2

Fonte: Autora (2020)

5.3.2 Porosidade

Os valores das porosidades das membranas após 7 dias de cultivo, obtida a partir do meio padrão HS (membrana CB) e aditivada *ex situ* com própolis (CB – P) estão exibidos na Tabela 7. Estudos reportam modificação na porosidade da matriz polimérica através da aditivação *in situ* (GALDINO et al., 2020), ou através da utilização de diferentes microrganismos produtores de celulose (TANSKUL; AMORNTHATREE; JATURONLAK, 2013b), fato que não pôde ser observado, devido à incapacidade da bactéria em produzir membrana na aditivação *in situ* com própolis. Já para a aditivação *ex situ*, o resultado foi bastante similar ao do polímero não aditivado.

Tabela 7 - Porosidade das membranas obtidas com meio HS padrão (CB), e da aditivada *ex situ* com extrato de própolis (CB – P)

Membrana	Porosidade (%)
CB	76,7 ± 0,5
CB - P	71,9 ± 0,4

Fonte: Autora (2020)

5.3.3 Difractometria de Raio-X (DRX)

O índice de cristalinidade (IC) foi calculado com base na intensidade dos picos dos difratogramas obtidos através do DRX. Os resultados obtidos dos ICs estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8 - Índice de Cristalinidade (IC) das membranas obtidas com meio HS padrão (CB), e da aditivada *ex situ* com extrato de própolis (CB – P)

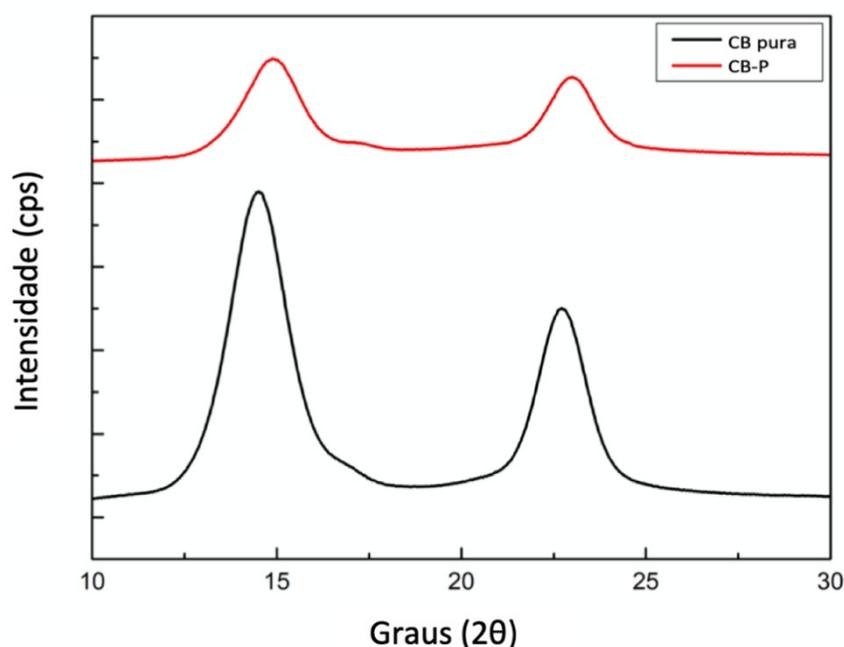
Amostra	IC (%)
CB	66,7 ± 0,1
CB - P	46,3 ± 0,2

Fonte: Autora (2020)

Três picos característicos da celulose I são observados para a amostra de CB pura, obtida com meio HS padrão, em $2\theta=14,2, 16,7^\circ$ do plano (110) e $22,8^\circ$. O pico $2\theta = 22,8^\circ$ do plano (200) da CB se mostrou relativamente mais intenso.

Os picos característicos da celulose I também são observados para as amostras aditivadas com extrato de própolis, sendo CB-P em $2\theta = 14,9^\circ, 16,6^\circ$ e $23,3^\circ$ (Figura 14).

Figura 14 - Difratoograma obtido das membranas obtidas com meio Hestrim-Scramm padrão (CB pura), e da aditivada *ex situ* com extrato de própolis (CB – P)

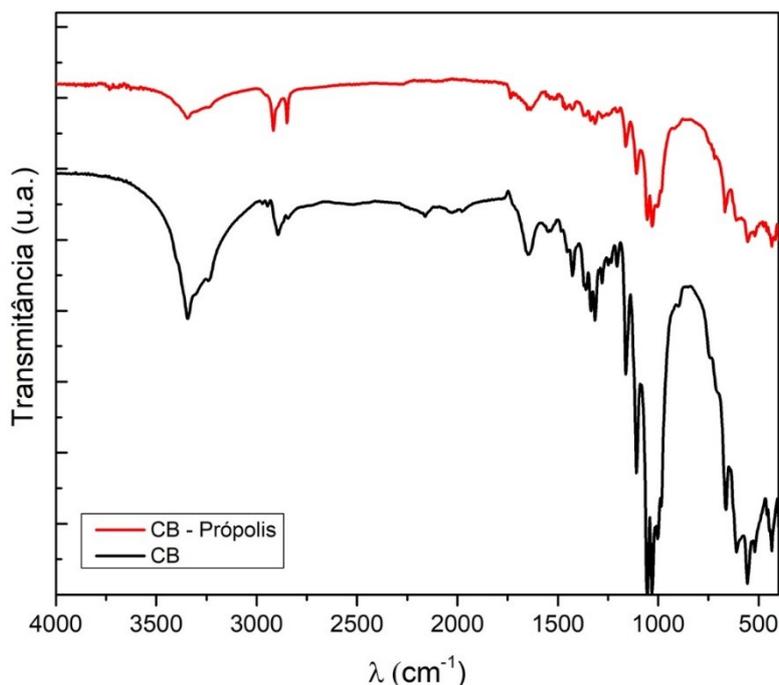


Fonte: Autora (2020)

5.3.4 Refletâncias total atenuada e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR/FTIR)

Foram feitas as análises nas membranas após 7 dias de cultivo, mostrando as regiões relevantes dos espectros de FTIR. Bandas principais observadas para a CB obtida através do meio HS padrão podem ser atribuídas a estiramento do grupo OH (3273 cm^{-1}), estiramento CH de alcanos e estiramento assimétrico CH_2 2914 cm^{-1}), deformação C-OH e CH (1387 cm^{-1}), sendo essas as principais atribuições que caracterizam a celulose pura, o que pode ser observado na Figura 15.

Figura 15 - Espectroscopia ATR/FITR das membranas CB e CB aditivada *ex situ* com extrato de própolis



Fonte: Autora (2020)

Pacheco et al. (2017) mostram resultados semelhantes, tanto para a análise da CB pura, quanto para a CB com aditivação *ex situ* por extrato de própolis. As bandas típicas de celulose foram encontradas em 1051 e 1154 cm^{-1} , correspondentes ao alongamento simétrico C-O do álcool primário e ao alongamento antissimétrico da ponte C-O-C, respectivamente, e a cerca de 3323 cm^{-1} (banda larga) correspondente a alongamento OH. Também foi observada a banda de 1315 cm^{-1} , correspondente à deformação C-H (CH_3 ou O-H na flexão do plano), a banda 951 cm^{-1} , correspondente ao anel aromático dos flavonoides presentes na própolis (OLIVEIRA et al., 2016). Outras bandas relacionadas à flexão de O-H da água adsorvida, à 1645 cm^{-1} , alongamento de CH dos grupos CH_2 e CH_3 à 2900 cm^{-1} e 1669 cm^{-1} , correspondente a C=O e C=C dos flavonoides e aminoácidos da própolis também foram reportadas, para a membrana CB - P.

Tal comportamento das bandas se mantém para a membrana aditivada com o extrato de própolis, comprovando, assim, que os resultados obtidos a partir da espectroscopia são característicos da celulose pura.

5.3.5 Análise da Atividade Antioxidante

Os valores da inibição da atividade oxidante das amostras se encontram na Tabela 9. Diante dos resultados obtidos, percebe-se que o teor de inibição da atividade oxidante na película foi menor quando comparado com o extrato puro. Mas, levando em consideração a baixa concentração do extrato (1% v/v) na CB, e, além desse aditivo estar no interior da película, dificuldade associada à sua migração, o resultado da atividade antioxidante foi muito promissor.

Tabela 9 - Determinação da capacidade de sequestro de radicais livres (DPPH*), sua inibição da atividade oxidante, do extrato aquoso de própolis e da membrana aditivada com o extrato de própolis

Amostra	Inibição da Atividade Oxidante (%)
Extrato de própolis (30 % v/v)	23,9 ± 0,3
CB - P <i>ex situ</i> (1%v/v)	15,2 ± 0,6

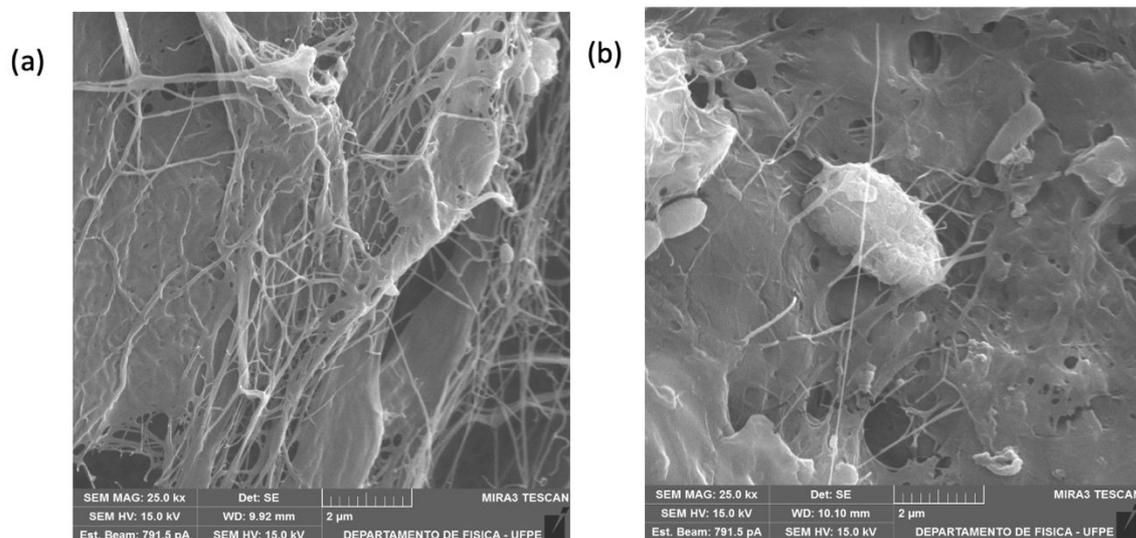
Fonte: Autora (2020)

Estudos reportam a inibição de atividade antioxidante da própolis pura oriunda do Brasil, de 35,8% (KUMAZAWA; HAMASAKA; NAKAYAMA, 2004); com isso, o resultado obtido através do extrato comercial a 30% m/v apresenta valores bastante satisfatórios, pois pode ser observado que a inibição à atividade oxidante foi diminuída através da diluição do extrato no filme com alto teor de água (de 30 %v/v passou para 1 %v/v), porém não de forma drástica. O mesmo podendo ser dito para o resultado obtido através do sistema polimérico aditivado *ex situ* a 1% (membrana CB – P).

5.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na Figura 16 estão representadas as morfologias das nanofibrilas de celulose bacteriana e do arranjo do sistema modificado através da incorporação do extrato de própolis de maneira *ex situ*.

Figura 16 - Microscopias eletrônicas com aumento de 25k x para a membrana de celulose bacteriana produzida em meio HS (a) e produzida em meio Hestrim-Schramm e aditivada com extrato de própolis (b)



Fonte: Autora (2020)

Os filmes de CB apresentaram distribuição irregular das fibras de celulose, de forma tridimensional, confirmando as áreas porosas das membranas, conforme dados da literatura (EL MRABATE et al., 2020). Na microscopia das membranas de CB aditivadas com própolis (Figura 16 (b)), podem ser observadas partículas do extrato de própolis, presentes de forma “enlaçada” pelas nanofibras de celulose. Tal comportamento comprova a incorporação de forma eficiente do extrato, fornecendo evidências que a aditivação não alterou a morfologia das nanofibras, mantendo sua rede 3D, acontecimento também evidenciado por Pacheco et al. (2017).

Ao lado esquerdo também na Figura 16 (b), pode-se observar a presença de células bacterianas, em formato de bacilo, indicando que a película de CB após o processo de purificação, ainda foi capaz de manter a bactéria em forma encapsulada na sua rede nanofibrilar, comprovando assim, que a depender da aplicação proposta, o biopolímero deve passar por outros processos complementares de esterilização.

5.3.7 Análise Termogravimétrica (TGA)

A temperatura máxima de deposição de um produto é um critério de estabilidade térmica. A degradação térmica é afetada por fatores estruturais

variáveis, como massa molecular, cristalinidade e disposição das fibras (VAZQUEZ et al., 2013).

Para as curvas obtidas com a amostra de CB pura, ocorre a eliminação de água da amostra, observada no primeiro estágio; já no segundo estágio para a celulose pura, nas temperaturas mais altas, em torno de 280 °C à 350 °C, há uma outra perda de massa, característica da decomposição térmica da celulose. Nesta fase ocorre o processo de despolimerização, desidratação e decomposição das unidades de monossacarídeos, seguida da formação de resíduos de carbono, característico da celulose bacteriana (BARUD et al., 2007).

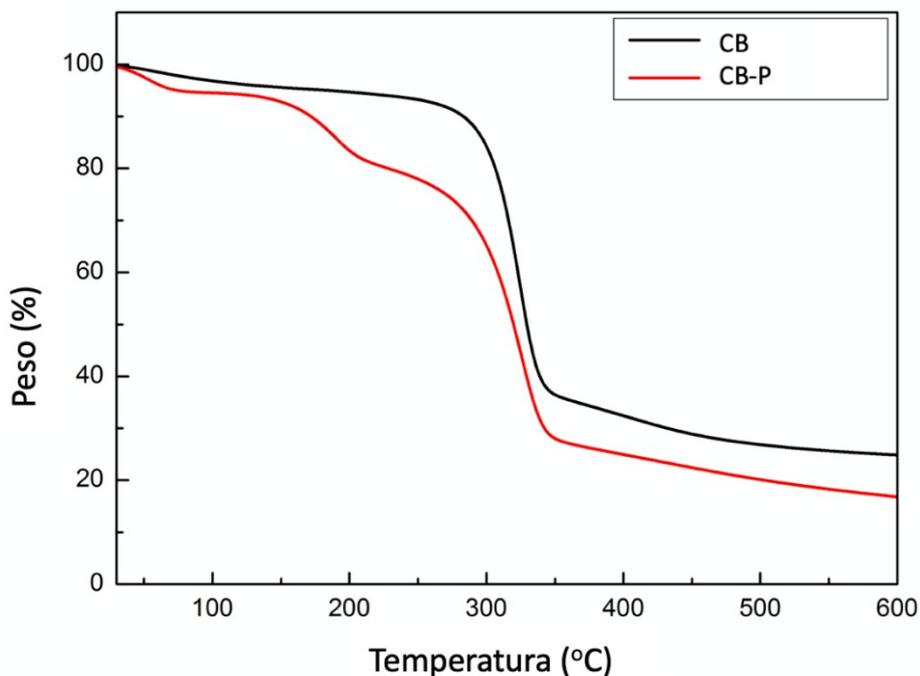
Para a amostra com própolis, CB - P, a análise da TG mostrou algumas particularidades em função da presença do extrato de própolis, como pode ser visto na Figura 17, pelo aparecimento de um novo estágio. O primeiro estágio é atribuído à evaporação da água residual das amostras, mas, o segundo estágio, na temperatura 149 °C, pode ser remetido à degradação dos constituintes, em especial os flavonóides presentes no extrato de própolis, também evidenciado na literatura (MATSUDA; MACHADO; DEL MASTRO, 2002). E por fim, o terceiro estágio, característico da degradação da celulose. Observa-se também que o resíduo obtido é 9%, menor quando comparado ao da CB pura.

Tabela 10 - Decomposição térmica das amostras (dados obtidos através das curvas da Análise Termogravimétrica de celulose bacteriana produzida em meio Hestrim-Schramm (CB) e produzida em meio HS com posterior aditivção com extrato de própolis (CB - P)

Amostras	1º estágio (°C)			2º estágio (°C)			3º estágio (°C)		
	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}
CB	25	69	55	-	-	-	294	341	324
CB-P	25	129	54	149	205	191	284	344	324

Fonte: Autora (2020)

Figura 17 - Curvas de variação de peso durante degradação térmica das membranas de celulose bacteriana produzida em meio Hestrim-Schramm (CB) e produzida em meio HS com posterior aditivação com extrato de própolis (CB - P)



Fonte: Autora (2020)

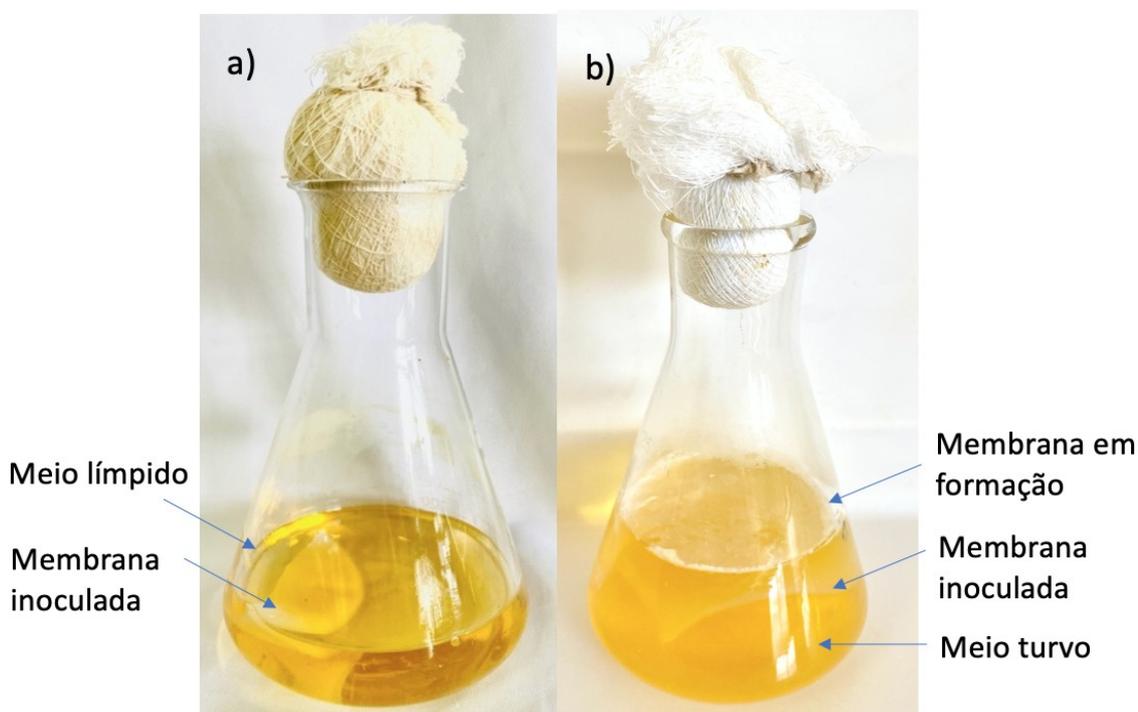
5.4 ESTERILIZAÇÃO VIA IRRADIAÇÃO GAMA

Como a produção da membrana envolve a excreção desse polissacarídeo pelas células bacterianas, essas podem ficar aprisionadas e protegidas entre as redes de nanofibras, conforme demonstrado na Microscopia Eletrônica de Varredura; logo, o método padrão de recuperação com efeito combinado da temperatura e NaOH pode não ser eficiente para garantir a esterilização adequada para a aplicação na área de cosmético.

Desta forma, foram feitos testes com as películas não esterilizadas e as esterilizadas por radiação, onde amostras das membranas foram inoculadas ao meio HS padrão, à 30°C, pelo período de 7 dias.

Após os testes, nenhuma das amostras esterilizadas mostraram crescimento da *G. hansenii*, ou da membrana de CB (Fig 18a), enquanto as membranas não esterilizadas, que passaram apenas pelo processo de purificação por hidróxido de sódio, mostraram crescimento bacteriano, característico de meio turvo (Fig 18b).

Figura 18 - Teste de crescimento microbiológico com a) membrana esterilizada b) membrana não esterilizada, apenas purificada.



Fonte: Autora (2020)

A Tabela 11 resume a eficiência da esterilização da radiação gama nas películas de celulose bacteriana, mostrando ausência de crescimento celular e a ausência de nova película de CB na superfície do meio HS.

Tabela 11 - Eficiência da esterilização da radiação gama

Película CB	Contagem de células (UFC)	Características de atividade celular
CB esterilizada por radiação gama	0	Ausência de células Não houve produção de nova membrana de CB na superfície do meio
CB não esterilizada por radiação gama	$3,7 \pm 0,2 \times 10^4$	Presença de células Produção de nova membrana de CB na superfície do meio

Fonte: Autora (2020)

Para as amostras de CB que não passaram pelo processo de esterilização, foi quantificada uma média de $3,7 \pm 0,2 \times 10^4$ unidades formadoras de colônia, todas com o mesmo aspecto da *Gluconacetobacter*, comprovando, assim, que mesmo após o processo de purificação tradicional com NaOH, as células bacterianas se mantiveram viáveis no interior da película de celulose, tendo condições em retornar seu crescimento. Desta forma, fica evidente a necessidade de esterilizar as membranas de CB para aplicações na área de cosméticos para garantir a total qualidade de segurança do produto.

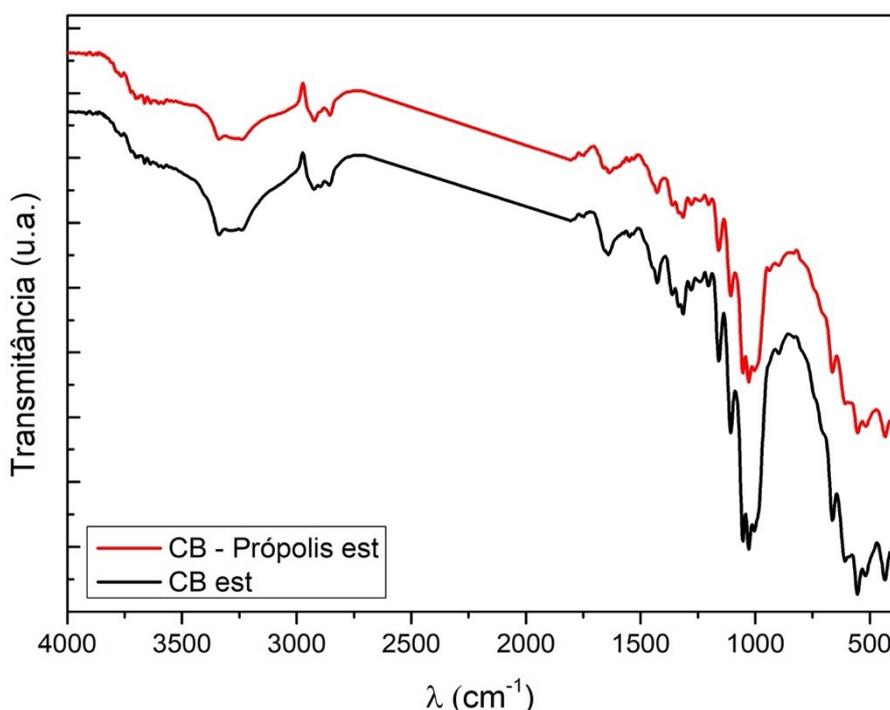
5.4.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (ATR/FTIR) da CB Esterilizadas por Radiação Gama

Foram feitas as análises das membranas após 7 dias de cultivo, após processo de esterilização via irradiação, mostrando as regiões relevantes dos espectros de FTIR. Bandas principais observadas para a CB obtida através do meio HS padrão, esterilizada, (CB est), podem ser atribuídas ao estiramento do grupo simétrico C-O e da ponte C-O-C, respectivamente (1048 e 1152 cm^{-1}), ao estiramento OH (3280 cm^{-1}), estiramento CH de alcanos e estiramento assimétrico CH_2 (2921 cm^{-1}), deformação C-OH e CH (1371 cm^{-1}). Outras bandas relacionadas à flexão de O-H da água adsorvida, à 1651 cm^{-1} , sendo essas as principais atribuições que caracterizam a celulose pura, o que pode ser observado na Figura 19.

A amostra CB - P est mostra resultados semelhantes aos da amostra CB-P, que não foi esterilizada. Foi encontrada a banda 957 cm^{-1} , correspondente ao anel aromático dos flavóides presentes na própolis (OLIVEIRA et al., 2016), as bandas típicas de celulose foram encontradas em 1049 e 1153 cm^{-1} , correspondentes ao alongamento simétrico C-O do álcool primário e ao alongamento antissimétrico da ponte C-O-C, respectivamente, e a cerca de 3274 cm^{-1} (banda larga) correspondente ao alongamento OH. Também foi observado a banda de 1311 cm^{-1} , correspondente à deformação C-H (CH_3 ou O-H na flexão do plano). Outras bandas relacionadas à flexão de O-H da água adsorvida, à 1653 cm^{-1} , alongamento de CH dos grupos CH_2 e CH_3 à 2918 cm^{-1} e 1657 cm^{-1} , correspondente a C=O e C=C dos flavonoides e aminoácidos da própolis, também foram reportadas, conforme Figura 19.

Tal comportamento das bandas se mantém para as membranas sem esterilização e as esterilizadas, comprovando, assim, que o processo de radiação não alterou as propriedades principais do polímero.

Figura 19 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da celulose bacteriana esterilizada (CB est) da CB aditivada com própolis esterilizada (CB-P est)



Fonte: Autora (2020)

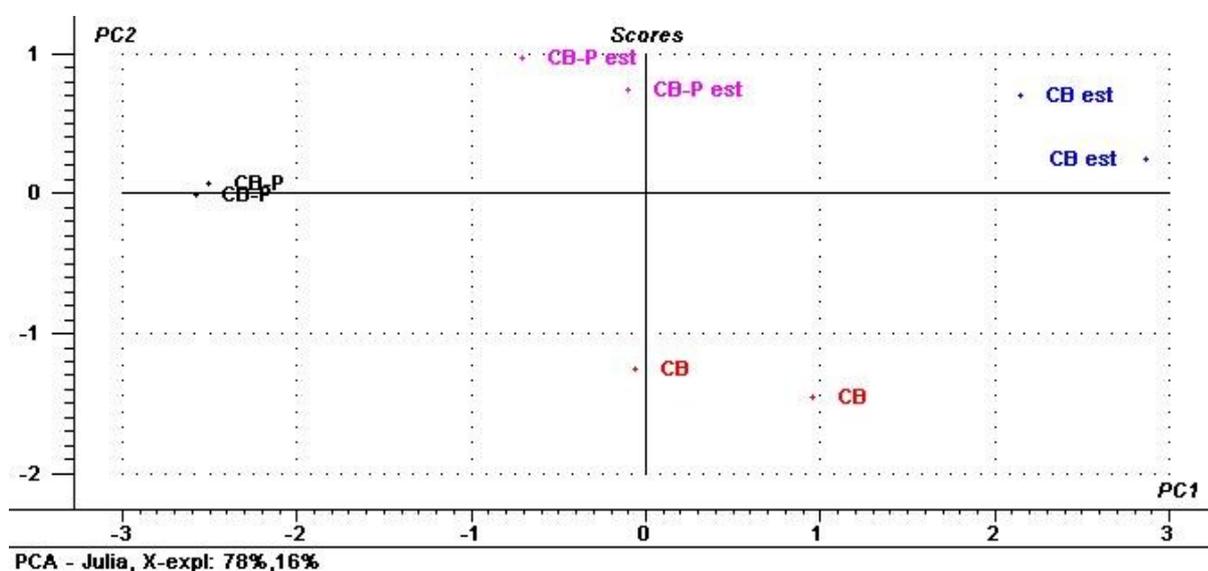
5.4.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada como uma ferramenta para complementar os resultados dos espectros de infravermelho, cujo objetivo foi evidenciar a diferença sutil das vibrações das ligações químicas das membranas antes e após o processo de esterilização gama. A região escolhida foi de 3500 a 400 cm^{-1} , com uma correção de linha de base e derivada (Savitzky-Golay), com janelas de suavização de 25 pontos e polinômio de 2ª ordem, resultando em dois componentes principais (PC's) (GUO et al., 2017). Através do gráfico das scores (Figura 20), que mostra como as amostras são distribuídas nos PC's calculadas, foi observado que a primeira componente principal (PC1) teve uma taxa de contribuição bastante predominante, de 78 % das informações espectrais, e, a segunda (PC2),

teve uma taxa de 16 %. Pode-se observar a formação de agrupamentos em função da formulação das membranas não irradiadas, e as esterilizadas por irradiação.

Pode-se constatar a partir desta análise, que houve a diferenciação química da matriz das membranas puras de CB, da membrana aditivada com própolis (CB – P), e das membranas esterilizadas (CB est e CB – P est). Portanto, é possível afirmar que as alterações nas vibrações químicas das membranas foram alteradas após a esterilização gama.

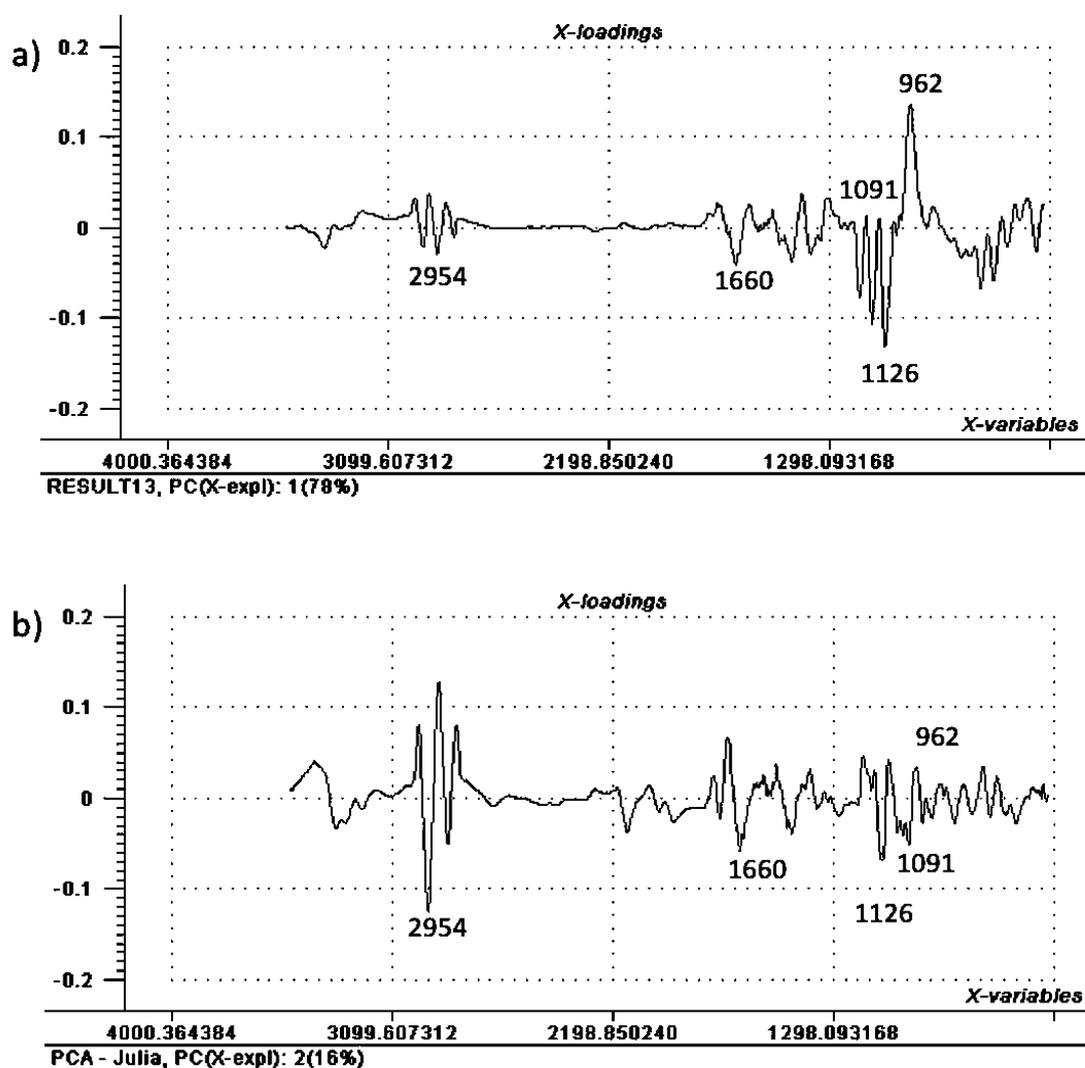
Figura 20 - Representação gráfica da Análise de Componentes Principais das membranas obtida com meio Hestrim-Schramm (CB), aditivada com extrato de própolis (CB – P), e das membranas esterilizadas por radiação, as CB est e CB – P est.



Fonte: Autora (2020)

A Figura 21 apresenta o gráfico de *loadings* para a primeira e segunda componente principal das membranas. A partir deste gráfico é possível identificar as bandas vibracionais responsáveis pela formação dos diferentes agrupamentos observados no gráfico de *scores*. Analisando-se a figura, verifica-se que o sinal mais positivo e negativo observados nas PC1 (Figura 21 (a)) e PC2 (Figura 21 (b)) ocorre em 962 cm^{-1} , região de vibração do anel aromático dos flavonoides presentes na própolis e 1660 cm^{-1} , correspondente a C=O e C=C dos flavonoides e aminoácidos da própolis, (OLIVEIRA et al., 2016), e, com relação a cadeia polimérica da celulose, sinais em 1091 cm^{-1} , região da ligação C-O, 1126 cm^{-1} , da vibração da C-O-C, e, por fim, 2954 cm^{-1} , das vibrações da CH_2 e CH_3 .

Figura 21 - Gráfico dos *loadings* das membranas de celulose bacteriana para a primeira componente principal – PC1 (a) e segunda componente principal – PC2 (b)



Fonte: Autora (2020)

5.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA) da CB Esterilizada por Irradiação Gama

Durante a análise, as membranas exibiram uma perda inicial de massa até uma temperatura de 110 °C devido à perda de água retida nas membranas. Ocorreu uma segunda perda significativa em torno de 300 °C, que é atribuída à decomposição das membranas celulósicas, sendo o estágio final da membrana CB est. Para as curvas obtidas no terceiro estágio, nas temperaturas mais altas, em torno de 400 °C à 600 °C, há uma outra perda de massa da amostra CB-P est, podendo ser atribuída à própolis (Tabela 12). As amostras esterilizadas mostraram

perfis de degradação térmica similares, como visto na Figura 22. Observa-se também que o resíduo obtido é 13% menor quando comparado ao da CB pura.

Tabela 12 Decomposição térmica das amostras esterilizadas (dados obtidos através das curvas da Análise Termogravimétrica)

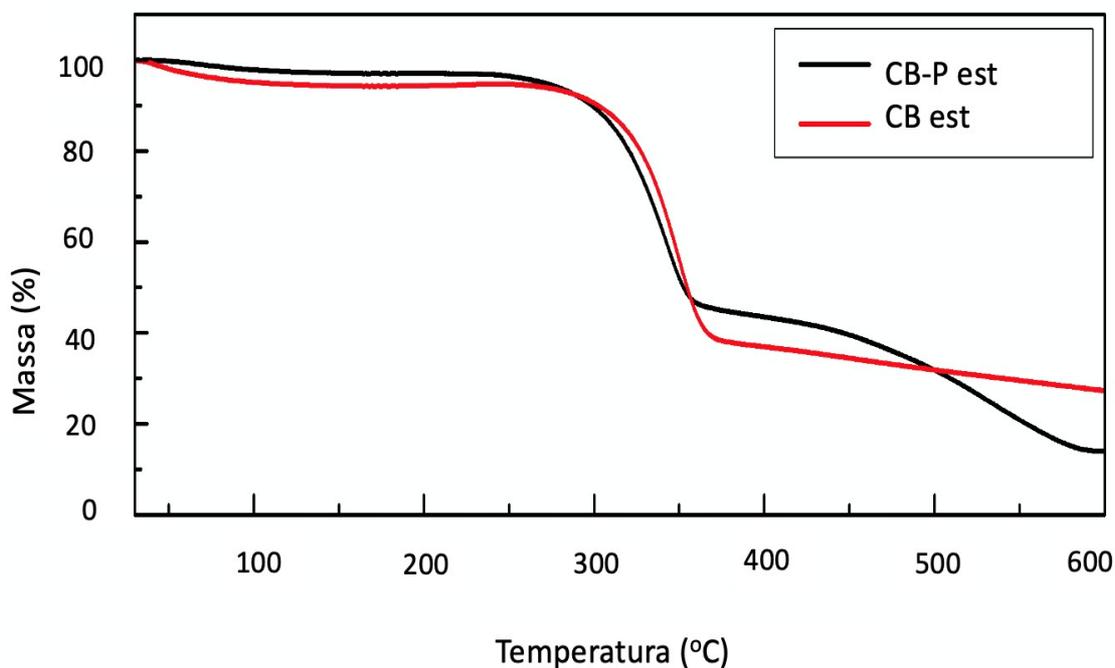
Amostras	1º estágio (°C)			2º estágio (°C)			3º estágio (°C)		
	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}
CB est	36	96	87	306	364	348	-	-	-
CB – P est	52	110	98	301	355	342	460	583	540

Fonte: Autora (2020)

Através dos dados obtidos, foi observado que a influência da irradiação gama em sistemas poliméricos resultaram em uma maior estabilidade térmica, fator também reportado em estudos com radiação gama e polímeros como o PELBD (polietileno linear de baixa densidade) (KRUPA; LUYT, 2001) e com PU (poliuretano) (GHOBASHY; ABDEEN, 2016).

Esses resultados da esterilização gama em celulose bacteriana ainda não foram reportados na literatura. Esse atributo do retardo da degradação térmica mostra uma característica bastante promissora para esse biomaterial, uma vez que a esterilização pode ser usada sem comprometer as propriedades finais do produto. Ademais, a CB esterilizada por raios gamas possui um potencial inovador, tanto em pesquisas quanto em aplicações que garanta a biossegurança do consumidor.

Figura 22 - Curvas de variação de massa durante degradação térmica da celulose bacteriana esterilizada (CB est) e a membrana aditivada com própolis esterilizada (CB-P est)



Fonte: Autora (2020)

5.5 CONFECÇÃO DO PROTÓTIPO DE BIOMÁSCARA DE CB

Segundo Johnson (2005), muitas pessoas sofrem com a pele seca, e, com isso, inúmeros tratamentos podem ser utilizados, como a aplicação de um creme hidratante, o qual faz com que a camada da epiderme fique mais macia, ou, utilização de uma máscara oclusiva, que pode ser utilizada como um meio de cosmético natural, para o aumento da absorção de água na pele, e, conseqüentemente, diminuição da evaporação da água na mesma.

Máscaras de celulose obtidas de fontes naturais, como bactérias não patogênicas, são de extrema importância, devido sua toxicidade reduzida, alta biocompatibilidade e biodegradabilidade.

A biomáscara de CB de efeito oclusivo, foi idealizada em um formato que coubesse ao rosto (Figura 23). A capacidade de retenção de água e permeação dos ativos na formulação é de extrema importância, por possuir uma maior inibição da atividade oxidante. Desta forma, a obtenção do protótipo da máscara de CB mostra

um potencial desse material para aplicação na derme da face, podendo ser usado para hidratação, tratamento de acne e ação antioxidante, dentre outras aplicações, a depender do princípio ativo formulado na película de CB.

Figura 23 - Protótipo de máscara de celulose bacteriana



Fonte: Autora (2020)

Como outros hidratantes por umectação, máscaras de celulose podem absorver umidade do ambiente. Com a utilização da máscara, a pele absorve a umidade devido à alta concentração de água no seu gradiente entre a máscara e a pele (KLIGMAN, 2005). A aplicação de uma máscara oclusiva com alto conteúdo de água, melhora na hidratação da pele e a protege de perda de umidade natural (FLYNN, et al., 2001).

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi avaliada a capacidade da bactéria *Glucanacetobacter hansenii* crescer em meios de cultivos modificados, com fim de baratear seus custos de produção e, também, de adicionar no próprio meio de cultivo, de maneira *in situ* e *ex situ*, componentes com propriedades benéficas à película de CB para sua posterior aplicação na indústria de cosméticos.

Uma profunda análise da literatura foi efetuada para o conhecimento de quais fontes vegetais ricas em nutrientes poderiam ser adicionadas para se obter o resultado desejado para a possível compatibilidade em máscaras de hidratação e com potencial antioxidante.

Os experimentos revelaram que a utilização da própolis no meio de cultivo da bactéria fez com que a película de CB não fosse produzida, tornando inviável a sua aditivação por via *in situ*. Contudo, sua aditivação *ex situ* apresentou resultados bastante satisfatórios para a aplicação na finalidade proposta, principalmente pela sua atividade antioxidante. A alta porosidade, em conjunto com sua estrutura nanofibrilar, a alta absorção de água e biocompatibilidade com a pele, fazem, das membranas de CB ótimas candidatas como suporte de ativos para uso cosmeceútico, de maneira sustentável.

A esterilização da membrana de CB foi feita de maneira eficiente, garantindo a biossegurança da mesma como utilização de um produto cosmético seguro ao consumidor. Também houve o atributo do retardo da degradação térmica do biopolímero, mostrando assim, uma característica bastante promissora, sem o comprometimento das propriedades finais do produto.

A confecção de uma máscara de CB, derivada da *Glucanacetobacter hansenii*, aditivada *ex situ* com própolis, foi realizada para posterior aplicação do biopolímero como um novo produto cosmético.

7 SUGESTÕES FUTURAS

Como perspectivas para o estudo de celulose bacteriana aditivada com própolis podemos realizar estudos de continuidade ao novo material desenvolvido como:

- 1) Testar concentrações menores de extrato de própolis para aditivação *in situ*.
- 2) Testar concentrações maiores de extrato de própolis para aditivação *ex situ*.
- 3) Realizar estudos de permeação e testes de liberação dos ativos antioxidantes das membranas.
- 4) Testar diferentes doses de radiação gama para esterilização, avaliando as características físico-químicas do sistema polimérico obtido.
- 5) Fazer testes de biodegradabilidade e citotoxicidade do sistema obtido.
- 6) Avaliar outras propriedades das membranas antes e após a esterilização a radiação gama como: Ensaio mecânico e atividade antimicrobiana.

REFERÊNCIAS

- ABIHPEC. Panorama do setor. 2019. Disponível em: <<https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-2019-2/>>. Acesso em: 13 abril 2020
- ABDELRAOF, M.; HASANIN, M. S.; EL-SAIED, H. Ecofriendly green conversion of potato peel wastes to high productivity bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 211, p. 75–83, 1 maio 2019.
- ALBUQUERQUE, R. M. et al. Production of a bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate) blend activated with clove essential oil for food packaging. **Polymers and Polymer Composites**, p. 096739112091209, 20 mar. 2020.
- AMBERG, N.; FOGARASSY, C. Green Consumer Behavior in the Cosmetics Market. **Resources**, v. 8, n. 3, p. 137, 30 jul. 2019.
- AMORIM, J. et al. Bacterial Cellulose Production Using Industrial Fruit Residues as Substrate to Industrial Application. **Chemical Engineering Transactions**, v. 74, p. 1165–1170, 31 maio 2019a.
- AMORIM, J. D. P. et al. Avaliação do potencial da celulose bacteriana para aplicação em cosméticos. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 18457–18462, 2019b.
- BARBOSA, V. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. E tintura de própolis frente à bactéria causadora da acne *Propionibacterium acnes*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 169–173, 2014.
- BARUD, H. S. et al. **Thermal characterization of bacterial cellulose-phosphate composite membranes**. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **Anais...Springer**, 7 mar. 2007
- BEKATOROU, A. et al. Bacterial Cellulose Production Using the Corinthian Currant Finishing Side-Stream and Cheese Whey: Process Optimization and Textural Characterization. **Foods**, v. 8, n. 6, p. 193, 4 jun. 2019.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. **LWT - Food Science and Technology**, v. 30, n. 6, p. 609–615, set. 1997.
- BOONME, P. et al. Effects of a cellulose mask synthesized by a bacterium on facial skin characteristics and user satisfaction. **Medical Devices: Evidence and Research**, v. 4, p. 77, 23 jun. 2011.
- BROWN, R. M.; SAXENA, I. M. **Plant physiology and biochemistry**. [s.l.] Elsevier Masson SAS, 2000. v. 1–2

BUDHIONO, A. et al. Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, n. 2, p. 137–143, out. 1999.

CABRAL, I. S. R. et al. The correlation between the phenolic composition and biological activities of two varieties of Brazilian propolis (G6 and G12). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 557–564, jul. 2012.

ÇAKAR, F. et al. Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 7–13, 15 jun. 2014.

CAVKA, A. et al. Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. **Biotechnology for Biofuels**, v. 6, n. 1, p. 25, 2013.

CHAWLA, P. R. et al. Microbial cellulose: Fermentative production and applications (Review). **Food Technology and Biotechnology**, v. 47, n. 2, p. 107–124, 2009.

COSTA, A.F.S.; ALMEIDA, F.C.G.; VINHAS, G.M.; SARUBBO, L. A. Bacterial Cellulose: an Ecofriendly biotextile. **International Journal of Textile and Fashion Technology**, v. 7, n. March, p. 11–26, 2017.

COSTA, A. et al. Residue From the Production of Sugar Cane: an Alternative Nutrient Used in Biocellulose Production by *Gluconacetobacter Hansenii*. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 7–12, 1 maio 2018.

COSTA, A. F. S. et al. Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* Using Corn Steep Liquor As Nutrient Sources. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2027, 17 out. 2017.

CZAJA, W. et al. Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, n. 2, p. 145–151, jan. 2006.

DALEPRANE, J. B.; SAES ABDALLA, D. Emerging Roles of Propolis: Antioxidant, Cardioprotective, and Antiangiogenic Actions. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

DE COSTA, A. F. S. et al. Residue From the production of sugar cane: an alternative nutrient used in biocellulose production by *gluconacetobacter hansenii*. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 7–12, 2018.

DING, Z. et al. Enhancing the compatibility, hydrophilicity and mechanical properties of polysulfone ultrafiltration membranes with lignocellulose nanofibrils. **Polymers**, v. 8, n. 10, 14 out. 2016.

DUREJA, H. et al. Cosmeceuticals: An emerging concept. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 155, 2005.

EL MRABATE, B. et al. Development of bacterial cellulose–ZnO–MWCNT hybrid membranes: a study of structural and mechanical properties. **Royal Society Open Science**, v. 7, n. 6, p. 200592, 24 jun. 2020.

ERBAS KIZILTAS, E.; KIZILTAS, A.; GARDNER, D. J. Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 131–138, 2015.

ESA, F.; TASIRIN, S. M.; RAHMAN, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 113–119, 2014.

FIUME, M. M. et al. **Safety assessment of vitis vinifera (grape)-derived ingredients as used in cosmetics** *International Journal of Toxicology* SAGE Publications Inc., , 13 set. 2014. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1091581814545247>>. Acesso em: 19 jul. 2020

FLETCHER, K. Systems change for sustainability in textiles. In: **Sustainable Textiles**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 369–380.

FREITAS SOUZA, N. et al. **OBTENÇÃO DE NANOCELULOSE EXTRAÍDA DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DA PRENSAGEM DO MESOCARPO DO DENDÊ**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/88516/1/2013-056.pdf>>. Acesso em: 3 set. 2019.

G., S.; R., M.; H., B. Inclusion of solid particles in bacterial cellulose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 58, n. 6, p. 756–760, 1 maio 2002.

GALDINO, C. J. S. et al. Use of a bacterial cellulose filter for the removal of oil from wastewater. **Process Biochemistry**, v. 91, 2020.

GELIN, K. et al. Characterization of water in bacterial cellulose using dielectric spectroscopy and electron microscopy. **Polymer**, v. 48, n. 26, p. 7623–7631, dez. 2007.

GHOBASHY, M. M.; ABDEEN, Z. I. Radiation Crosslinking of Polyurethanes: Characterization by FTIR, TGA, SEM, XRD, and Raman Spectroscopy. **Journal of Polymers**, v. 2016, p. 1–9, 2016.

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

GOPAL, N. G. S. Radiation sterilization of pharmaceuticals and polymers. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 12, n. 1–2, p. 35–50, jan. 1978.

GREGORIS, E. et al. Propolis as potential cosmeceutical sunscreen agent for its combined photoprotective and antioxidant properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n. 1–2, p. 97–101, 28 fev. 2011.

GU, L. et al. Preparation and characterization of methacrylated gelatin/bacterial cellulose composite hydrogels for cartilage tissue engineering. **Regenerative Biomaterials**, v. 7, n. 2, p. 195–202, 1 mar. 2020.

GUO, Y. et al. An enhanced PCA method with Savitzky-Golay method for VRF system sensor fault detection and diagnosis. **Energy and Buildings**, v. 142, p. 167–178, 1 maio 2017.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **The Biochemical journal**, v. 58, n. 2, p. 345–52, 1 out. 1954.

HUANG, H. C. et al. In situ modification of bacterial cellulose network structure by adding interfering substances during fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 6084–6091, 1 ago. 2010.

HUNGUND, B. S.; GUPTA, S. G. Improved Production of Bacterial Cellulose From *Gluconacetobacter Persimmonis* GH-2. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 02, n. 05, p. 127–133, 2010.

JUNG, J. Y.; PARK, J. K.; CHANG, H. N. Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n. 3, p. 347–354, ago. 2005.

KESHK, S. M. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 04, n. 02, 2014.

KLEMM, D. et al. Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application. In: **Polysaccharides II**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, [s.d.]. p. 49–96.

KLIGMAN, A. The future of cosmeceuticals: an interview with Albert Kligman, MD, PhD. Interview by Zoe Diana Draelos. **Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]**, v. 31, n. 7 Pt 2, p. 890–891, jul. 2005.

KOUDA, T. et al. Characterization of non-newtonian behavior during mixing of bacterial cellulose in a bioreactor. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 82, n. 4, p. 382–386, jan. 1996.

KREMSER, T. et al. Degradation studies of a commercial radiation-resistant polypropylene sterilized by gamma and electron beam technology before and after subsequent accelerated aging cycles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 10, p. 48436, 10 mar. 2020.

KRUPA, I.; LUYT, A. S. Thermal and mechanical properties of LLDPE cross-linked with gamma radiation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 71, n. 3, p. 361–366, 1 jan. 2001.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, v. 84, n. 3, p. 329–339, fev. 2004.

KUSUMAWATI, I.; INDRAYANTO, G. Natural antioxidants in cosmetics. In: **Studies in Natural Products Chemistry**. [s.l.] Elsevier B.V., 2013. v. 40p. 485–505.

LEE, K.-Y. et al. More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 1, p. 10–32, jan. 2014.

LETULLIER, C. et al. Comparison of the antibacterial efficiency of propolis samples from different botanical and geographic origins with and without standardization. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 1, p. 19–24, 1 jan. 2020.

LIMPAN, N. et al. Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly(vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 1, p. 226–233, 1 out. 2012.

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

LUO, M. T. et al. Bacterial cellulose based superabsorbent production: A promising example for high value-added utilization of clay and biology resources. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, p. 421–430, 15 mar. 2019.

MANEERUNG, T.; TOKURA, S.; RUJIRAVANIT, R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 1, p. 43–51, 3 abr. 2008.

MARTINS, E. et al. **Abordagem terapêutica da acne na clínica farmacêutica Therapeutic approach of acne in pharmaceutical clinic** **Boletim Informativo Geum**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ojs.ufpi.br/index.php/geum/>>. Acesso em: 19 jul. 2020.

MATSUDA, A. H.; MACHADO, L. B.; DEL MASTRO, N. L. Thermal analysis applied to irradiated propolis. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, n. 3–6, p. 353–355, mar. 2002.

MENSOR, L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 127–130, 1 mar. 2001.

MOHAMMAD ALI, B. et al. Significance of topical propolis in the treatment of facial acne vulgaris. **Egyptian Journal of Dermatology and Venerology**, v. 35, n. 1, p. 29, 2015.

MOHAMMADKAZEMI, F.; AZIN, M.; ASHORI, A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 518–523, 2015.

MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. Physical, structural, mechanical and thermal characterization of bacterial cellulose by *G. hansenii* NCIM 2529. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 132–141, 15 jun. 2014.

MOOSAVI-NASAB, M.; YOUSEFI, A. Biotechnological production of cellulose by

Gluconacetobacter xylinus from agricultural waste. **Iran J Biotechnol**, v. 9, n. 2, p. 94–101, 2011.

MORGANTI, P. Journal of Clinical and Cosmetic Dermatology Beauty Mask: Market and Environment. 2019.

N DONINI, Í. A. et al. BLOSSÍNTESE E RECENTES AVANÇOS NA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA. **Ecl. Quím**, v. 35, n. 4, p. 35–4, 2010.

NAKANO, K. et al. A neural network approach to predict tactile comfort of applying cosmetic foundation. **Tribology International**, v. 43, n. 11, p. 1978–1990, nov. 2010.

NEERA; RAMANA, K. V.; BATRA, H. V. Occurrence of Cellulose-Producing *Gluconacetobacter* spp. in Fruit Samples and Kombucha Tea, and Production of the Biopolymer. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 176, n. 4, p. 1162–1173, 1 jun. 2015.

OLIVEIRA, R. N. et al. Análise por FTIR e quantificação de fenóis e flavonóides de cinco produtos naturais disponíveis comercialmente utilizados no tratamento de feridas. **Revista Materia**, v. 21, n. 3, p. 767–779, 1 jul. 2016.

PACHECO, G. et al. Bacterial cellulose skin masks-Properties and sensory tests. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 17, n. 5, p. 840–847, 1 out. 2018.

PARK, S. et al. Cellulose crystallinity index: Measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, n. 1, p. 10, 24 maio 2010.

POBIEGA, K. et al. Comparison of the antimicrobial activity of propolis extracts obtained by means of various extraction methods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 12, p. 5386–5395, 1 dez. 2019.

POBIEGA, K.; KRAŚNIEWSKA, K.; GNIEWOSZ, M. **Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review** **Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 1 jan. 2019.

RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 6, p. 2491–2511, 11 mar. 2015.

RAMBO, C. R. et al. Template assisted synthesis of porous nanofibrous cellulose membranes for tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 28, n. 4, p. 549–554, maio 2008.

ROVERA, C. et al. Enzymatic Hydrolysis of Bacterial Cellulose for the Production of Nanocrystals for the Food Packaging Industry. **Nanomaterials**, v. 10, n. 4, p. 735, 11 abr. 2020.

SAIBUATONG, O.; PHISALAPHONG, M. Novo aloe vera–bacterial cellulose composite film from biosynthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 455–460,

jan. 2010.

SASKA, S. et al. Bacterial cellulose-collagen nanocomposite for bone tissue engineering. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 41, p. 22102–22112, 7 nov. 2012.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. **Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?** **Journal of Ethnopharmacology** Elsevier Ireland Ltd, , 27 jan. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20970490>>. Acesso em: 10 mar. 2020

SHABBIR, J. et al. Effect of Chinese Propolis as an Intracanal Medicament on Post-Operative Endodontic Pain: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 2, p. 445, 9 jan. 2020.

SHAH, N. et al. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1585–1598, nov. 2013.

SHANG, H. et al. Effect of propolis supplementation on C-reactive protein levels and other inflammatory factors: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of King Saud University - Science**, v. 32, n. 2, p. 1694–1701, 1 mar. 2020.

SHARMA, A. et al. **Commercial application of cellulose nano-composites – A review** **Biotechnology Reports** Elsevier B.V., , 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2215017X19300359>>. Acesso em: 18 fev. 2020

SHEYKHNAZARI, S. et al. Bacterial synthesized cellulose nanofibers; Effects of growth times and culture mediums on the structural characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1187–1191, 2011.

STASIAK-RÓŻAŃSKA, L.; PŁOSKA, J. Study on the Use of Microbial Cellulose as a Biocarrier for 1,3-Dihydroxy-2-Propanone and Its Potential Application in Industry. **Polymers**, v. 10, n. 4, p. 438, 14 abr. 2018.

TANSKUL, S.; AMORNTHATREE, K.; JATURONLAK, N. A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 421–428, 30 jan. 2013a.

TANSKUL, S.; AMORNTHATREE, K.; JATURONLAK, N. A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 421–428, 30 jan. 2013b.

TOSI, E. A. et al. Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1025–1029, 1 jan. 2007.

TRILOKCHANDRAN, B.; VIJAYAKUMAR, G.; THIPPAREDDY, K. S. Formulation

and evaluation of cosmetic cream from cabbage extract. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 12, n. 8, p. 3589–3594, 1 ago. 2019.

TSAI, Y. H. et al. Drug release and antioxidant/antibacterial activities of silymarin-zein nanoparticle/bacterial cellulose nanofiber composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, p. 286–296, 15 jan. 2018.

TSOUKO, E. et al. Bacterial Cellulose Production from Industrial Waste and by-Product Streams. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 7, p. 14832–14849, 1 jul. 2015.

UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; PARK, J. K. Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p. 596–603, abr. 2012.

UNAL, S.; GUNDUZ, O.; UZUN, M. Tissue engineering applications of bacterial cellulose based nanofibers. In: **Advanced Structured Materials**. [s.l.] Springer, 2020. v. 126p. 319–346.

VALERA, M. J. et al. Cellulose production and cellulose synthase gene detection in acetic acid bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 3, p. 1349–1361, 11 fev. 2015.

VAZQUEZ, A. et al. Bacterial Cellulose from Simple and Low Cost Production Media by *Gluconacetobacter xylinus*. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 21, n. 2, p. 545–554, 7 jun. 2013.

VERVERIS, C. et al. Fiber dimensions, lignin and cellulose content of various plant materials and their suitability for paper production. **Industrial Crops and Products**, v. 19, n. 3, p. 245–254, maio 2004.

VINHAS, G. M.; SOUTO-MAIOR, R. M.; ALMEIDA, Y. M. B. DE. Estudo de propriedades de PVC modificado com grupos alquila e benzila. **Polímeros**, v. 15, n. 3, p. 207–211, jul. 2005.

WEYELL, P. et al. Tailor-made material characteristics of bacterial cellulose for drug delivery applications in dentistry. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 1–10, mar. 2019.

WICZKOWSKI, W.; SZAWARA-NOWAK, D.; TOPOLSKA, J. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 303–309, abr. 2013.

WU, J. M.; LIU, R. H. Cost-effective production of bacterial cellulose in static cultures using distillery wastewater. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 115, n. 3, p. 284–290, 2013.

ZHANG, H. et al. Anthocyanin supplementation improves anti-oxidative and anti-inflammatory capacity in a dose–response manner in subjects with dyslipidemia. **Redox Biology**, p. 101474, 26 fev. 2020.

ZHU, W. et al. Biological Activities of Chinese Propolis and Brazilian Propolis on Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes Mellitus in Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 11 abr. 2011.

ZIMMERMANN, K. A. et al. Biomimetic design of a bacterial cellulose/hydroxyapatite nanocomposite for bone healing applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 31, n. 1, p. 43–49, 1 jan. 2011.

APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA ENVIRONMENTAL CHEMISTRY LETTERS

Fator de Impacto A2

Environmental Chemistry Letters
<https://doi.org/10.1007/s10311-020-00989-9>

REVIEW



Plant and bacterial nanocellulose: production, properties and applications in medicine, food, cosmetics, electronics and engineering. A review

Julia Didier Pedrosa de Amorim¹ · Karina Carvalho de Souza¹ · Cybelle Rodrigues Duarte¹ · Izabelle da Silva Duarte¹ · Francisco de Assis Sales Ribeiro¹ · Girlaine Santos Silva¹ · Patrícia Maria Albuquerque de Farias¹ · Andreas Stingl¹ · Andrea Fernanda Santana Costa^{2,3} · Glória Maria Vinhas¹ · Leonie Asfora Sarubbo^{3,4}

Received: 16 January 2020 / Accepted: 10 March 2020
 © Springer Nature Switzerland AG 2020

Abstract

Cellulose is the main structural component of plant cell walls. Cellulose is a fibrous, water-insoluble substance and is considered to be the most abundant bio-derived polymer on earth. From an industrial perspective, plant cellulose has been the mainstay of the wood industries for the past 100 years. The hierarchical organization and semicrystalline nature of cellulose found in plant fibers allows the extraction of nanofibers and nanocrystals using mechanical and chemical top-down de-structuring strategies. Bacterial cellulose has also been increasingly investigated. Bacterial cellulose is composed of cellulose nanofibers secreted extracellularly by some bacteria; bacterial cellulose is therefore obtained using bottom-up synthesis. The unique nanofibrillar structure of bacterial cellulose confers excellent physical and mechanical properties such as high porosity, high elastic modulus and high crystallinity. Research on nanocellulose is accelerating due actual fossil fuel issues such as CO₂ emissions, plastic pollution and lack of renewable energy. Nanocellulose materials are non-toxic, biodegradable and recyclable, with no adverse effects on health and the environment. Here, we review cellulose production methods, properties and applications, focusing on the food industry, biomedical materials and electronic devices. We compare vegetal nanocellulose and bacterial cellulose. The increase in the number of publications on nanocellulose is also discussed.

Keywords Nanocellulose · Plant nanocellulose · Bacterial cellulose · Nanomaterials · Biotechnology · Nanotechnology

Introduction

Plants and wood are natural biocomposites consisting of microfibril cellulose. Along with pectin, lignin and hemicellulose, cellulose accounts for 35–50% of the biomass of plants (Rinaldi and Schuth 2009). It is the most abundant polymer on Earth and is non-toxic, making it the strongest candidate for feedstock in the production of natural polymeric materials that can replace petroleum-based polymers, offering the advantages of renewability and biocompatibility (Gama et al. 2012). Cellulose can be used for the production of chemicals and monomers through catalytic processes (Rose and Palkovits 2011), and these monomers can be employed in the production of biopolymers with usefulness in different industries, like oral delivery systems (Javanbakht and Shaabani 2019), food packaging application (Ebrahimi et al. 2019) and photoelectrochemical cells production (Suresh et al. 2019). Indeed, significant progress has been made in the production of

✉ Leonie Asfora Sarubbo
 leonie.sarubbo@unicap.br

¹ Centro de Ciências Exatas e Naturais, Departamento de Ciência dos Materiais, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Prof. Moraes Rêgo, n. 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco CEP: 50670-901, Brazil

² Centro de Comunicação e Design, Centro Acadêmico da Região Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, BR 104, Km 59, s/n - Nova Caruaru, Caruaru, Pernambuco CEP: 50670-90, Brazil

³ Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação (IATI), Rua Joaquim de Brito, n. 216, Boa Vista, Recife, Pernambuco CEP: 50070-280, Brazil

⁴ Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, Recife, Pernambuco CEP: 50050-900, Brazil

cellulose-based biopolymers over the last 10 years (Souza et al. 2013). Also, the search for new uses for cellulosic waste has been sought by many researchers, such as up-conversion into a novel catalyst (Mikheenko et al. 2019).

The current global goal for the development of sustainable eco-friendly processes has led to research involving cellulose-based composites in an attempt to reduce the dependence on fossil resources (Shaghaleh et al. 2018). The growing interest in cellulose as well as cellulose derivatives and nanoparticles is due to their wide availability, excellent mechanical properties, low weight, reinforcing capabilities and biodegradability, with no adverse effects on health and environment. These materials can also be used as fillers or matrices in biocomposites (Shaghaleh et al. 2018). The chemical purification of plant-based cellulose involves alkaline extraction and bleaching. Due to its semicrystalline, hierarchical structure, a top-down chemical or mechanical deconstructing strategy can be used to extract nanoparticles from this naturally occurring polymer. However, plants are not the only producers of cellulose.

Bacterial cellulose is produced by many species of the genera *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Gluconacetobacter* and *Sarcina* (Hu et al. 2014). Bacterial cellulose has a similar chemical structure as that found in plant-based cellulose and is also biodegradable and non-toxic. However, bacterial cellulose has distinctive features, such as high purity and the absence of hemicellulose, pectin and lignin, as well as an ultrafine, well-organized nanofibrillar network structure capable of holding a considerable amount of water. The production and purification processes are simple and bacterial cellulose can be molded into different shapes during and after biosynthesis, making it a very attractive biopolymer (Shezad et al. 2010).

With expanding concerns regarding natural and environmental issues, the combination of utilitarian materials from natural resources and sustainable chemicals is of extraordinary open worth. Nonetheless, knowledge on the advantages and disadvantages on the usage and comparison of plant nanocellulose and bacterial cellulose is of great importance. Despite the application of petroleum products in several industrial sectors at a low cost, petroderivatives reduce the availability of fossil fuel and are not biodegradable. In this sense, it is important to address the perspectives for the use of renewable polymers, which are environmentally compatible and which can serve the industries in a promising way. Nanocellulose is one of the most promising green materials of modern times due to its intrinsic properties, renewability and abundance. Thus, this article describes the trends and perspectives for nanocellulose, so that it can be used, in the near future, as a green material to manufacture new types of food, structural components, self-healing materials and implants and new nanopills for delivery of medicines.

Nanocellulose

Cellulose has an annual production estimated at 1014 tons, the majority of which is from a plant source (Gomes et al. 2013; Donini et al. 2010a, b). The linear polymer of cellulose is strongly associated due to hydrogen bonds. The formation of the polymer fibers occurs by intermolecular interactions, which, in turn, guarantee the rigidity of the structure. The molecular formula of bacterial cellulose is the same as that of plant cellulose; however, they have different physical and chemical properties (Kouda et al. 1996). Plant cellulose fibers have diameters of approximately 13–22 μm , and their crystallinity is around 44–65% (Ververis et al. 2004), while bacterial cellulose fibrils are naturally in nanoscale, having a diameter of 10–100 nm and a crystallinity of 90%, and are highly hydrophilic, due to their high number of hydroxy groups on their surface. In addition, BC has a high tensile strength, such as > 2 GPa, and a high surface area (Gelin et al. 2007), thus conferring characteristics of high interest to various industries. Nanocellulose refers to cellulose particles with at least one dimension less than 100 nm, which can be extracted from natural cellulose fibers. This has been subjected to a wide range toward many fields of interest because of its increasing potential.

Nanotechnology, including cellulosic substrates, has created tremendous consideration during the previous decades. Chemical, biochemical and mechanical techniques give approaches to adjusting nanocellulose and even yielding improved properties (Bejoy et al. 2018). According to the previous cited authors, nanocellulose's surface and chemical modification techniques are utilized to introduce either charged or hydrophobic moieties, by sourcing and isolation methods such as polymerization, esterification, etherification, among others. Significant properties are found in nanocellulose, being ideal to be used for preparation of various polymer composites, such as their low density, non-abrasiveness, combustibility, nontoxicity and inexpensiveness when compared to other synthetic polymers (Sharma et al. 2019). In any case, it has some significant downsides on some specific applications like poor interfacial attachment and high water retention, and because of these reasons, cellulose-fiber-strengthened composites have been less appealing for industrial production processes. With that being said, there are various extraction and modification procedures in order to modify native cellulose and nanocellulose biopolymers to be used as reinforcing material for the development of polymers composites with enhanced properties and applications (Sharma et al. 2019).

Different kinds of nanocellulose have been isolated from the cellulosic feedstock. In contrast to traditional plastic

processing, nanocellulose is commonly segregated and handled in watery conditions. Therefore, dewatering and drying are basic unit activities for nanocellulose preparation. Designing nanocellulose materials from a subatomic level and afterward amassing at the nanoscale, microscale and macroscale levels in controlled ways would incredibly tailor the structure and improve the properties of nanocellulose composites. Hence, the strategy for assembling nanocellulose into bulk materials in a controlled manner is fundamental for the properties of the manufactured nanocellulose composites (Wang et al. 2019).

Modifications, either regulated on the chemistry of the nanocellulose itself or regulated by the introduction of certain functional groups onto its surface, are able to transform simple molecules into more complex polymer blends or composites. Surface modification of nanocellulose through its hydroxyl groups has significantly increased its potential to a wide range of applications. Among numerous modifiers and linkers, aliphatic and aromatic isocyanates have attracted an expanding consideration in the recent years for nanocellulose modification even though they have already been used for a century with cellulose. The main aim is to improve the mechanical properties of the composites (Abushammala and Mao 2019). The potential future for nanocellulose is far beyond existing applications, especially for the production of large quantities from low-cost raw materials (Cavka et al. 2013; Miyashiro et al. 2020). The next sections will bring information and discussion on two types of nanocellulose materials, i.e., plant nanocellulose and bacterial cellulose.

Plant nanocellulose

Plant nanocellulose is the generic term used to refer to cellulosic materials, isolated from plant fibers, with at least one dimension in the nanorange (Islam et al. 2014). The versatile and attractive characteristics of these nanomaterials paved the way for introducing them into more advanced applications (Yassin et al. 2019). Plant nanocellulose is typically divided into two main categories: (1) cellulose nanofibers and (2) cellulose nanocrystals (Kargarzadeh et al. 2017). Different raw materials can be used to obtain cellulose nanofibers and cellulose nanocrystals. As reported by Ventura-Cruz and Tecante (2019), these nanomaterials have already been obtained and characterized by many sources, among them: coconut husk fiber, mengkuang leaves (*Pandanus tectorius*), raw cotton linter, *Agave tequilana* and barley wastes, tomato peels, garlic straw residues, forest residues, corncob residue, *Gigantochloa scortechinni* bamboo culms, industrial waste cotton, cassava root bagasse and peelings, sugar palm fibers (*Arenga pinnata*), corn straw and sago seed shells. Among the potential sources for obtaining these nanomaterials, the agroindustrial residues stand out and show themselves as a very promising source. According to Ventura-Cruz and

Tecante (Ventura-Cruz and Tecante 2019), the large quantities and annual renewability worldwide are the factors responsible for the interest in obtaining nanocellulose from plant waste.

Production methods

In the plant fibers, the intense network of hydrogen bonds between the hydroxyl groups of adjacent chains causes the cellulose to organize itself in a hierarchical way: The cellulose chains are arranged in the form of microfibrils that aggregate forming structures, or macrofibrils, and these are in turn held together by amorphous matrix of lignin and hemicellulose to construct the fibers (Gibson 2012). The microfibrils, despite their name, present nanometric dimensions (Taipina 2012). In general, they have a diameter of about 3–4 nm and are composed of highly ordered crystalline regions and amorphous, disordered regions as illustrated in Fig. 1 (Gibson 2012; Silva and D'Almeida 2009).

In view of the hierarchical organization of cellulose in plant fibers, the release of nanocellulose from plants involves processing to disaggregate various constitutive materials and architectures (Postek et al. 2011), i.e., nanofibers and cellulose nanocrystals can be extracted from the plants by means of a top-down mechanically or chemically assisted deconstructing strategy (Mariano et al. 2014). The most commonly reported process in the literature to obtain cellulose nanocrystals is acid hydrolysis using strong acids such as sulfuric acid (H_2SO_4) and hydrochloric acid, which presents as a result highly crystalline nanoparticles as shown in Fig. 2 (Klemm et al. 2018; Taipina 2012).

Acid hydrolysis is based on the fact that the kinetics of hydrolysis in the amorphous regions is faster than the crystalline regions (Azizi et al. 2005). That is, since the cellulose chains present in the amorphous regions are randomly oriented, leading to a low density in these regions, the hydronium ions can more easily penetrate the cellulose chains of these amorphous domains and promote the hydrolytic cleavage of glycosidic bonds, which makes these regions more susceptible to acid attack. In contrast, the crystalline regions which, because of their high organization of the cellulose molecules, are inaccessible and remain intact after the process. Briefly, the hydrolysis process destroys the amorphous domains by releasing the individual nanocrystals in the form of a needle (Taipina 2012).

For the production of cellulose nanofibers and cellulose nanocrystals, the raw material used must be pre-treated to remove the non-cellulosic components, such as lignin and hemicellulose (Taipina 2012). The most common pre-treatment steps are milling, pulping and bleaching (Nascimento 2018a, b). In addition, the production of cellulose nanocrystals also requires post-hydrolysis steps that are used to remove the residual acid; they are centrifugation

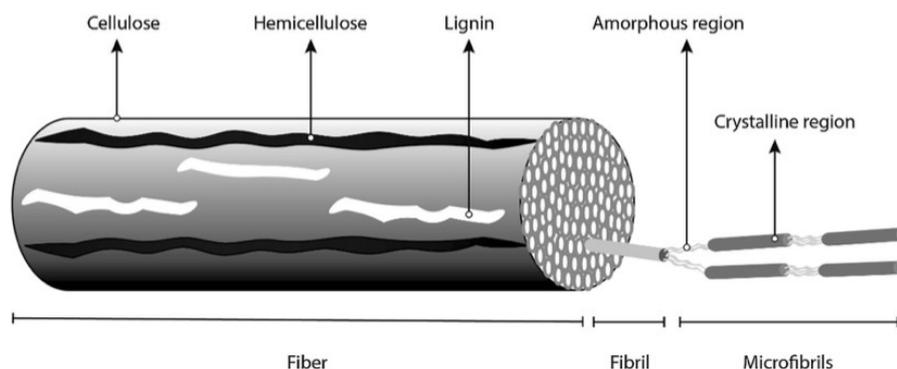
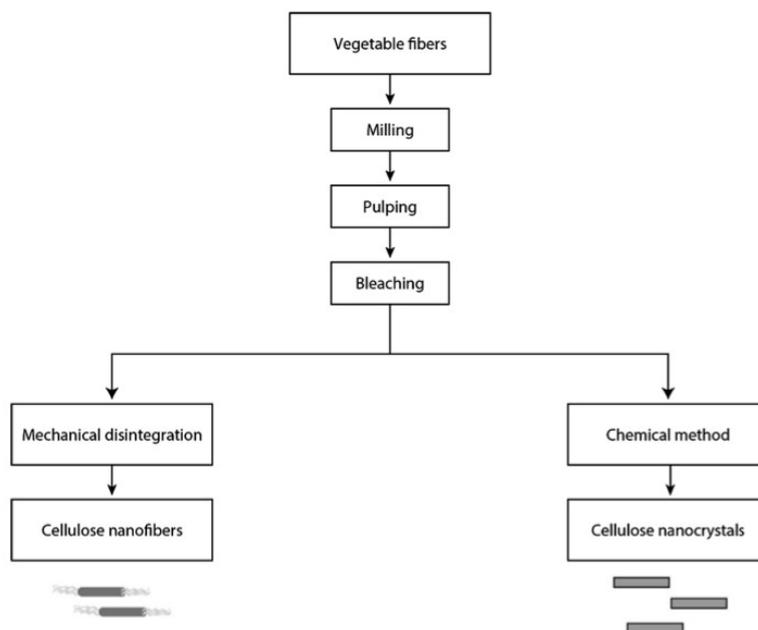


Fig. 1 Hierarchical structure of plant fibers. Note that cellulose chains are arranged in the form of microfibrils that aggregate, forming structures that are in turn held together by amorphous matrix of lignin and

hemicellulose to construct the fibers. Microfibrils are composed of highly ordered crystalline regions and amorphous, disordered regions

Fig. 2 Plant nanocellulose preparation methods. The raw material must be pre-treated to remove lignin and hemicellulose by milling, pulping and bleaching. Cellulose nanocrystals are commonly obtained by acid hydrolysis, while cellulose nanofibers are obtained by mechanical disintegration



and dialysis (Lavoine et al. 2012; Taipina 2012). Normally, the procedures used to obtain both the cellulose nanofibers and the cellulose nanocrystals result in aqueous suspensions (Favero 2014; Silva 2013). Cellulose nanofibers and cellulose nanocrystals have recently attracted great interest as reinforcing agents for the development of nanocomposites with polymer matrices (Bharimalia et al. 2017; Xu et al. 2013).

As in all nanocomposite materials, the final properties depend on the interaction between the matrix and nanocarbons. In this sense, the hydrophilic character of cellulose is the contributing factor for the wide use of water-soluble matrices in the production of nanocomposites based on nanocarbons (Azizi et al. 2005). On the other hand, the use of the cellulose nanofibers and cellulose nanocrystals in composites with hydrophobic matrices can lead to some problems

resulting from weak load–matrix interactions (Vianna et al. 2016). However, hydrophobic matrices can also be used, by dispersing nanocharges in a suitable organic medium. For this, the usage of dispersing agents or the chemical modification of the surface of cellulose nanocrystals is required (Vianna et al. 2016). The preparation of nanocomposites based on cellulose nanocharges can occur from the mixture of the suspension of the nanocharges with the dispersion of the polymer matrix or from mixture of the dry matrix with the suspension of the nanocharges (Vianna et al. 2016). The processing technique used to obtain the nanocomposites from the dry matrix is by extrusion, by using an extruder that has a gravimetric feed system for the dry material and a peristaltic pump for cellulose suspension (Kamal 2007). For the preparation of nanocomposites from the mixture of the suspension of the nanocharges with the dispersion of the polymer matrix, the following methods can be employed: (1) casting, (2) freeze-drying and hot-pressing, and (3) freeze-drying, extruding and hot-pressing the mixture (Azizi et al. 2005).

Properties

Plant nanocellulose is the most abundant biopolymer in the soil and has advantageous properties such as good mechanical strength and less impact on the environment. And because it is a polymer extracted from plants, it has a high-performance, low-cost process, with inherent safety, biocompatibility and biodegradability advantages (Valentim 2018). Plant nanocellulose has a low degree of crystallization when compared to other celluloses obtained from different sources, but when it has a relatively high degree of polymerization, it tends to show an increase in crystallinity and in its mechanical resistance (Henriksson et al. 2008). In relation to their size properties, they may depend on several factors such as fiber source, method of preparation, nature, time, temperature and acid concentration used in the extraction technique (Vieira 2015).

As for nanoscale size, plant nanocellulose exhibits brittle relative properties compared to cellulose fibers (Balea et al. 2019). Also, due to its relatively low fiber length and low crystallinity, it has lower mechanical properties compared to cellulose obtained from different sources (Lavoine et al. 2012). It is reported that one of the main disadvantages related to degradation is its limited durability, which is related to the sensitivity of its fibers to water, strong alkalis and carbonation (Dufresne and Vignon 1998; Onuaguluchi and Banthia 2016). In this context, authors have reported that plant-based nanocellulose vibrations can be incorporated into some composite bearing high temperatures, without undergoing degradation, since nanocellulose-based composites are the focus of a current trend (Souza et al. 2013).

With respect to optical properties, in the case of plant nanocellulose, it is possible to form large fiber fragments and aggregates that reduce film transparency (Souza et al. 2013). If cellulose nanofibers exhibit low yields from the homogenization process, this may lead to low light transmittance values due to the possibility of other compounds causing high absorbance, which reduces the transmittance value (Balea et al. 2019; Spence et al. 2010). It is because of this occurrence that the transmission is generally related to the value of the process yield. Furthermore, plant nanocellulose has important properties for food industry, such as rheological behavior and water absorption, which in this case are useful properties to be used as stabilizing agents in foods (Henriksson et al. 2008).

Applications

The nanocellulose can be both in the fibrillar and in the spherical forms, and it combines important properties of the cellulose with the characteristics presented by nanomaterials, such as morphology, high specific surface area, among others (Lin and Dufresne 2014; Liu et al. 2018). By exhibiting such properties, the plant nanocellulose has a wide range of applications in various fields of industry, such as pharmaceutical, cosmeceutical, food, composites (Klemm et al. 2018), civil construction, electronic devices and biomedical materials (Colombro 2018; Cunha 2017).

Biomedical materials Nanocellulose-based biomaterials exhibit properties similar to natural tissue, thus providing an appropriate environment to cell attachment and growth, for which purpose nanocrystalline suspensions can be used as a culture environment (Lin and Dufresne 2014). Clift et al. (2011) evaluated the toxicological effect of cellulose nanocrystals isolated from cotton using a three-dimensional model of co-culture of human lung cells. According to the results, the samples presented toxicity and inflammatory response; however, the reactions triggered by exposure to nanocellulose were significantly lower when compared to exposure to carbon nanotubes and asbestos fibers crocidolite. According to Bhattacharya et al. (2012), aqueous suspensions on controlled concentrations of nanocrystals may form hydrogels, which can be used as support to obtain an appropriate environment, with favorable mechanical properties for cell differentiation and growth. Nanocellulose-based hydrogels can also be used as drug carriers, regulating the rate of release and subsequent levels of drugs in the body (Mishra et al. 2018). Cellulose nanofibers have also been studied in the development of membranes, containing healing and bacteriostatic agents, for application in the treatment and recovery of skin burns. According to the authors, the cellulose nanocrystals membrane can be applied as a

barrier because its translucency favors the healing of the cell without its removal (Claro 2017).

Food industry One of the first uses for nanocellulose was food additive; however, the cost to obtain it was very high, which made it infeasible to commercialize it. However, studies carried out over the years have been able to optimize the production processes of this material, reducing costs and making it possible in this area (Gómez et al. 2016). Another application of nanocellulose in the food sector is in packaging, wrappings capable of providing sufficient protection to ensure food safety and quality, aiming to improve the barrier properties, permeability and shelf life of perishable foods (Kuswandi 2017). Bideau et al. (2018) evaluated the usage of a coating based on nanofibers of oxidized cellulose (2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-yl)oxyl and polypyrrole in cardboard packages. It was observed that the presence of the coating resulted in the improvement in the mechanical and gas permeability properties of the coated package. The authors attributed this improvement to the dense network formed by the oxidized cellulose (2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-yl)oxyl and polypyrrole particles.

Studies have also been developed using nanocellulose in bioactive packages. Adel et al. (2019) obtained bioactive packages from the tertiary biocomposite of chitosan, β -cyclodextrin citrate and oxidized nanocellulose biopolymer. The authors evaluated different ratios of β -cyclodextrin citrate, aiming to obtain information about the mechanism of interaction between chitosan, β -cyclodextrin citrate and oxidized nanocellulose on the physical–mechanical properties of the packages. In this study, the use of clove essential oil was also evaluated for the improvement in antimicrobial and antioxidant activities of biocomposite films. The results indicated that the addition of clove essential oil to the chitosan biocomposite accompanied by β -cyclodextrin citrate with and without oxidized nanocellulose biopolymers shows a relatively higher activity on gram-negative bacteria than its activity on gram-positive bacteria when compared to pure chitosan films. Due to these selective antimicrobial properties, the film developed on the basis of the clove essential oil/chitosan biocomposite inclusion complex can be used as a sustained release tool in food packaging applications.

Sarwar et al. (2018) investigated the effect between nanocellulose and silver nanoparticles on their physical, mechanical and thermal properties of polyvinyl alcohol-based nanocomposite films. According to the results, the polyvinyl alcohol/nanocellulose/Ag films exhibited intense antimicrobial activity, improved physical properties and did not present cytotoxicity. The authors concluded that such films can be applied as packaging for fresh fruits and vegetables.

Electronic devices For many years, an optically transparent, strong and flexible material was sought to replace the

glass in electronic devices. Studies have reported that cellulose nanofibers can be used in the production of optically clear paper suitable for substrates used in the production of electronic devices such as solar cells, flexible displays, organic light-emitting diodes (OLED), thin film transistors and antennas (Nogi et al. 2009; Zhu et al. 2014). Organic light-emitting diodes made from recyclable and biodegradable substrates are steps toward achieving sustainable OLED technology. Organic light-emitting diodes formulated on cellulose nanocrystals substrates showed analogue current efficiencies, such as 42.7 ± 9.8 cd/A at 100 cd/m², when compared to substrates made of glass, which show 45.5 ± 10.0 at 100 cd/m², in addition to providing an additional bonus of this substrate, the fact that it is dispersible in water, allowing the device to be recycled (Grishkewich et al. 2017).

The nanocellulose has also been used in the development of a triboelectric nanogenerator, a device capable of converting mechanical energy into electric energy through the friction loading process (Fan et al. 2012; Seol et al. 2018). Kim et al. (2018) studied triboelectric nanogenerator based on cellulose nanofibers used as a stand-alone paper film to act as a substrate and dielectric layer, and silver nanowires used as the electrode material and for the triboelectric layer. The authors evaluated the interaction of different cellulose nanofiber morphologies with distinct concentrations of silver nanowires in the filtration process. As a result, it was obtained a flexible, biodegradable and light triboelectric nanowire with potential for application in electronic paper or other sensors.

Civil engineering Due to the growth on the concern with the environment and the pollution awareness, studies are being conducted for eco-friendly materials that are reliable innovators and that can replace conventional synthetic fibers as a reinforcement of structural materials has been greatly explored (Wei and Meyer 2015). Hisseine et al. (2019) studied the mechanical performance, through the incorporation of cellulose filament to cement systems. The results indicated an improvement in the performance of the properties such as compressive strength, modulus of elasticity and toughness, of what appears to be a promising material, presenting a ductile and more resistant behavior. High-performance insulation materials obtained from renewable resources have been investigated to improve the energy efficiency of buildings. Wicklein et al. (2015) studied suspensions of cellulose nanofibers, graphene oxide and sepiolite nanostick to produce super-isolating and flame-retardant anisotropic foams instead of traditional polymer-based insulation materials. The results were satisfactory and showed that nanoscale engineering is a promising strategy to produce excellent foams with good properties using cellulose and other renewable nanofibrous materials.

Bacterial cellulose

As bacteria that produce bacterial cellulose can only unite fibrils on a nanoscale, all bacterial cellulose is necessarily nanocellulose. Bacterial cellulose is environmentally friendly for numerous reasons, especially because of its high purity, requiring less energy for purification when compared to plant cellulose (Klemm et al. 2005). During the fermentation process, the microorganisms either move freely in the media or are attached to cellulose fibers (Dufresne et al. 1997), producing a highly swollen gel structure. Purification involves the death of the microorganisms as well as the removal of cell waste and culture medium from the cellulose matrix. This is a crucial step to ensuring the quality of bacterial cellulose and can be performed through repeated washing using a hot sodium hydroxide solution, followed by water until reaching a neutral pH (Bae et al. 2004) or by other methods, such as gamma radiation (Pacheco et al. 2018).

The synthesis of bacterial cellulose from species of the genus *Gluconacetobacter* is a complex process involving the polymerization of glucose monomers and the secretion of cellulose to the external environment, which creates a three-dimensional microfibril and nanofibril network (Klemm et al. 2005). This structure enables high degrees of mechanical strength, water-holding capacity and crystallinity (Klemm et al. 2005). Moreover, the microfibril–nanofibril structure gives the wet BC membrane the appearance of a highly swollen gel. The membrane forms on the surface of the culture medium, the mass of which is 0.5–1% pure cellulose and 99+% water (Klemm et al. 2006).

Production methods

In 1954, Hestrin and Schramm developed a culture medium for the production of bacterial cellulose and this became very common among researchers and producers. This medium is composed of 2% glucose, which is the main carbon source, 0.5% peptone, 0.5% yeast extract, 0.27% anhydrous disodium phosphate and 0.15% (Hestrin and Schramm 1954). However, in recent years, in order to minimize the production costs of this biopolymer, several fermentation parameters, such as pH control and carbon sources (sugarcane, molasses, sucrose and rotten fruits), have been studied (Costa et al. 2018; Huang et al. 2016; Tyagi and Suresh 2016). Vazquez et al. (2013) used the microorganism *K. xylinus*, and as the main source of carbon glycerol from biodiesel in a static culture for 14 days, they obtained a polymer yield of 10 g L⁻¹. An alternative used by Kurosumi et al. (2009) was the use of orange juice for polymeric production, obtaining 5.9 g L⁻¹ of bacterial cellulose in 14 days of incubation. Other researchers used tropical fruit residue as a carbon source in a static culture for 10 days and obtained 6.98 g L⁻¹ of cellulose (Amorim et al. 2019).

According to Hubbe et al. (2008), cellulose-containing composites can be prepared by a mixture of compatible materials with water or by extrusion with water-immiscible plastic matrix material. In general, the obtaining of these composites can follow the following categories: composition, mixing, immersion and pulverization. Each approach is an intrinsic challenge (Lu et al. 2000). Other challenges may be related to the absorption of moisture by most cellulosic materials and their tendency to swell when wet (Bledzki et al. 1998). However, the hydrophilic nature of cellulose may point to a higher probability of success in developing environmentally correct composites (Yu et al. 2006).

A number of researchers have used bacterial cellulose as a base material for the development of composites (Nakagaito et al. 2005; Nakagaito and Yano 2005; Orts et al. 2005; Nogi et al. 2006; Roman and Winter 2006). It is known that part of the bacterial cellulose has widths already in the nanometric range, even before processing (Sun et al. 2007). Based on the nature of the combination agents and the approach to composite development, authors synthesized polymer compounds in two basic forms: in situ and ex situ. The in situ method uses the addition of material during its synthesis, which then becomes part of the polymer. In the ex situ method, the polymer matrix is impregnated with reinforcing materials to produce the composites (Serafica et al. 2002; Saibuatong and Phisalaphong 2010; Shah et al. 2013).

During this process, bacterial cellulose microfibrils grow and become denser forming a kind of “web” (Horii et al. 1997; Tang et al. 2010) that can capture various materials added to the culture medium (U1-Islam et al. 2012). The encapsulated materials will be part of the bacterial cellulose networks, resulting in composites of bacterial cellulose (Fig. 3). In their experiments, Saibuatong and Phisalaphong (2010), exemplify in situ synthesis. They synthesized bacterial cellulose–aloe vera composite films by adding various amounts of aloe vera to bacterial cellulose synthetic medium grown under static conditions. The aloe vera components were trapped in the bacterial cellulose fibrils, and the resulting compound had superior physical–mechanical properties.

Some studies have used carbon nanotubes for addition to synthetic media. They were incubated for 2 weeks, and structural analysis revealed that carbon nanotubes were enveloped by bacterial cellulose fibrils (Yan et al. 2008). Ruka et al. (2013) used in situ poly-3-hydroxybutyrate as a strategy of composite synthesis, altering the morphology and crystallinity of bacterial cellulose. Serafica et al. (2002) produced bacterial cellulose composites, for example by adding aluminum and iron in shake cultures. The density of penetrating particles was dependent on particle size, spin speed and suspension concentration.

In ex situ synthesis (Fig. 4), physical or chemical interaction occurs, and these can occur through OH-binding. Liquid and tiny substances solid particles can easily penetrate or be

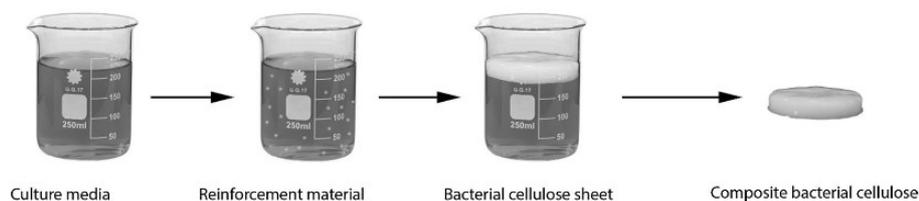


Fig. 3 In situ synthesis of bacterial cellulose composites. The in situ method uses the addition of material during synthesis, which then becomes part of the polymer. The encapsulated materials will be part of the bacterial cellulose networks, resulting in composites of bacterial cellulose

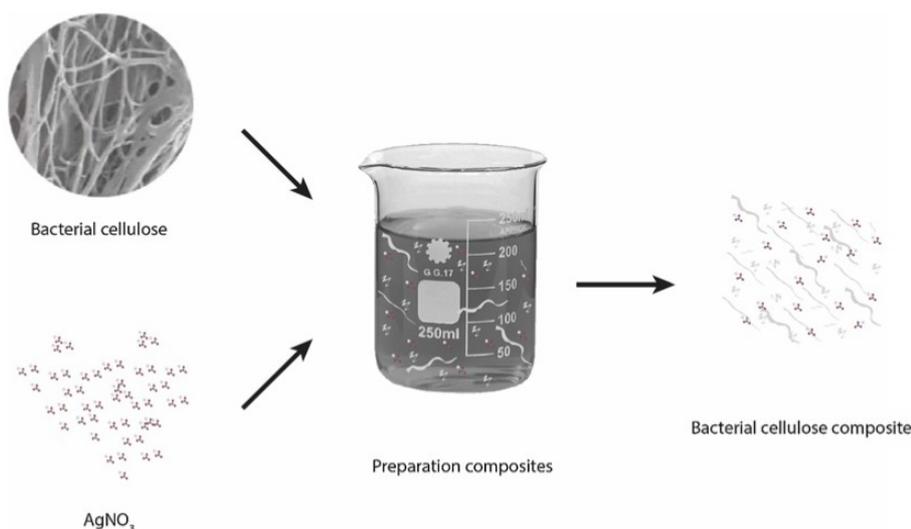


Fig. 4 Ex situ synthesis of bacterial cellulose composites. In the ex situ method, physical or chemical interaction occurs. Liquid and tiny solid particles can easily penetrate or be absorbed physically by the porous bacterial cellulose matrix

absorbed physically by the porous bacterial cellulose matrix. In this type of synthesis, the polymer structure is basically unchanged. Nanocelluloses obtained through static cultures are generally used for the synthesis of composites with biomedical applications and other industrial applications (Maneering et al. 2008). In addition, many researchers have been involved in the development of various compounds formed from polymers, inorganic materials, metals, metal oxides, and bacterial cellulose (Evans et al. 2003; Nakayama et al. 2004; Yoon et al. 2006).

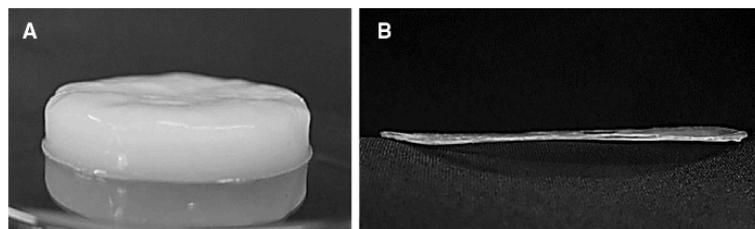
Properties

Cellulose is composed of D-glucose monomers connected by β -1,4 glycosidic bonds (Ross et al. 1991). The high degrees of mechanical strength, purity, crystallinity and

water content are the most important properties of bacterial cellulose (Klemm et al. 2005). Bacterial cellulose microfibrils are arranged in a three-dimensional nanofibrillar network, enabling the retention of water in the thin, highly hydrophilic, porous structure. The wet or dry nanobacterial cellulose structure has numerous pores, enabling its use in different applications (Fig. 5).

The supramolecular organization of cellulose molecules, in which the glucan chains are stabilized by interchain and intrachain hydrogen bonds, makes bacterial cellulose insoluble in both water and common organic solvents as well as resistant to enzymatic and chemical hydrolysis (Koolman and Rohm 2005; Romling 2002). Moreover, the considerable mechanical strength of bacterial cellulose is due to the linear chains of cellulose and strong cohesion between macromolecules (Klemm et al. 2006). Young's modulus of a single

Fig. 5 Bacterial cellulose film obtained after fermentation time of 10 days: **a** before drying process, **b** after 24 h drying, at 30 °C. Note that bacterial cellulose microfibrils are arranged in a three-dimensional nanofibrillar network, enabling the retention of water in the thin, highly hydrophilic, porous structure



bacterial cellulose fiber ranges from 78 GPa, when determined by atomic force microscopy (Ganesh et al. 2005), to 114 GPa, when determined by Raman spectroscopy (Hsieh et al. 2008). Mechanically, bacterial cellulose fibers constitute a homogeneous material with no dependence on diameter (Ganesh et al. 2005). Young's modulus for dried bacterial cellulose membranes is around 9.7 GPa, with a stress and strain at break of around 240 MPa and 2.6%, respectively (Hsieh et al. 2008). Rheological analyses of nanobacterial cellulose fibers exhibit reversible stress-softening behavior due to the destruction of physical cross-links and buckling of fibers, followed by rearrangement of the network through the formation of new cross-links. Moreover, the loss modulus decreases after a certain stress level is reached (Torres et al. 2009). The degree of crystallinity of bacterial cellulose is around 80%, depending on the culture conditions (composition of the medium and static or agitated production process) (Jung et al. 2010; Trovatti et al. 2011).

Applications

The production of environmentally friendly products is becoming increasingly important; in this context, the production of nanocellulose through microbial pathways is advantageous (Varghese et al. 2019). Bacterial cellulose has unique physical and mechanical properties that other biomaterials do not exhibit, which has been previously mentioned. It also has ultrafine fiber networks with variable geometry pores, ability to mold in different structures and wide capacity chemistry and physics to be modified (Stumpf et al. 2018). Due to these properties, since its discovery bacterial cellulose has been shown to be a biopolymer with wide possibilities of applications (Silva 2019a, b). In recent years, several studies have demonstrated the breadth of bacterial cellulose application in several areas, such as food (Azeredo 2018), biomedical (Hobzova et al. 2018) and cosmetic industries (Stasiak-Rozanska and Ploska 2018). Besides the importance that the pure bacterial cellulose presents, it also excels in the area of nanocomposites (Rai et al. 2019). The interest in using bacterial cellulose for nanocomposite applications is due to the high crystallinity and mechanical

resistance conferred by its naturally nanosized three-dimensional network (Nascimento 2018a, b).

Food industry Bacterial cellulose is used in the food industry as a thickening, stabilizing and gelling agent, suggesting its use in processed foods to improve its quality. Due to its water retention capacity, it is being used to elaborate a dietary fiber, known as cream (Silva 2019b). Coconut cream, native to the Philippines, has become one of the first bacterial pulp food products available, gaining notable popularity in other Asian countries (Duarte et al. 2019). Azeredo (2018) presented in his article a brief overview of the actual and potential applications of bacterial cellulose in the food industry. The author studied bacterial cellulose as a raw material for the manufacture of cream, for the formation of edible leaves or films, as fat substitute, texture modifier, emulsion stabilizer Pickering and immobilizer for probiotics and enzymes. According to the same author, although the bacterial cellulose is a GRAS polysaccharide that presents unique properties, such as high retention capacity and water resistance, it has not yet been adequately explored in possible applications in the food area. The cream is basically the only product that has been used in the food market with the use of bacterial cellulose, but a great variety of other promising applications need to be considered.

Nascimento (2018a, b) made nanocomposite films of cellulose through physical and chemical disintegration routes to obtain nanofibrils and nanocrystals, respectively. A route was established to obtain nanofibrillated bacterial cellulose from the combination of time-mediated oxidation and high-rotation homogenizer. It was also evaluated the use of ultrasound in the dispersion of the nanocrystals in the filmogenic suspension and made a characterization of the films and an evaluation of the cytotoxicity. It was observed the production of nanofibrillated cellulose with high yield and with exceptional characteristics such as high crystallinity and stability, and it can be concluded that the oxidized and nanofibrillated matrix is a material with a great potential to be inserted in the production of nanocomposites for the application of food packaging.

Silva (2019a, b) developed and characterized composite films produced by cashew gum and nanofibrillated bacterial

cellulose, from the disintegration of bacterial cellulose, and observed that it is advantageous to incorporate the two matrices, since the films presented good thermal stability and homogeneous. It was observed that by increasing the proportion of nanofibrillated bacterial cellulose, a significant improvement in the properties of tensile strength, solubility, decreased permeability of films and modulus of elasticity occurred. The results showed that these films have the potential to be applied in the future in the elaboration of food packaging.

Albuquerque et al. (2020) developed a polymer blend containing bacterial cellulose and poly(3-hydroxybutyrate) activated with clove essential oil for the use in active food packaging (Fig. 6). The bacterial cellulose and poly(3-hydroxybutyrate) polymers demonstrated compatible interaction for the formation of a stable blend under the conditions evaluated in this work. The results indicated that the bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate) film with clove essential oil is a promising antimicrobial additive. An important aspect for an active packaging material is to favor the migration of the active ingredient so that it can interact with the food product, minimizing or impeding microbial proliferation (Adriano Brandelli et al. 2017). The formed blend presented favorable mechanical and thermal characteristics for use in food packaging.

Biomedical materials Bacterial cellulose stands out in several segments in biomedical applications. The possibility of directly controlling the biosynthesis process, its biocompatibility, high humidity and toxicity makes it possible to use

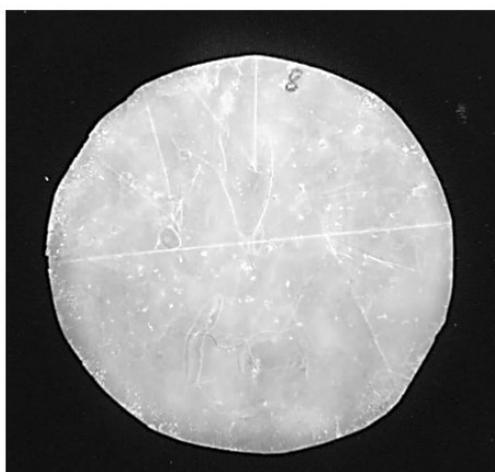


Fig. 6 Color and appearance of bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate)/clove essential oil blend for the use in active food packaging

the membranes in the processes of chronic wound healing and burns. In addition to dressings, bacterial cellulose is studied as a great potential for use in artificial blood vessels, cartilage, heart valves and tissue engineering (Nascimento 2018a, b). Hobzova et al. (2018) aimed to prepare mechanically improved bacterial cellulose methacrylate composites, in which the fine properties would be adjusted mainly by the degree of reinforcement, that is, by the content of bacterial cellulose in composites. 2-hydroxyethyl methacrylate, being a suitable monomer for hydrogel matrix, was chosen because 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels are non-toxic and have biocompatibility, with widespread and long-term use in biomedical applications. Thus, combined with bacterial cellulose, the high attraction in the field of biomaterials is ensured and the composites produced are promising for tissue engineering, particularly in wound healing and tissue replacement.

Zmejkoski et al. (2018) produced in their work a composite hydrogel of bacterial cellulose–lignin as a promising agent in the healing of chronic wounds. This composite showed an inhibitory effect against clinically isolated biofilm-forming bacteria *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *Serratia* sp. and laboratory strains *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *S. typhimurium*. The composite also showed high capacity for prolonged release and dilation of antibacterial compounds, which could be beneficial for patients, preventing infection and maintaining an antimicrobial capacity. Chu et al. (2018) prepared a suspension of C60 water by a solvent exchange method. The rehydration–dehydration method was used to load the C60 into the bacterial cellulose. The main objective of this work was to evaluate the cytotoxicity and antibacterial abilities in relation to human epidermoid carcinoma cells of the formed composites. A characterization sequence was performed which showed that the C60 particles were uniformly distributed in the hyper-dimensional network of bacterial cellulose and that the particle diameter was less than 100 nm. The composites presented excellent antibacterial properties and a high rate of cell death when exposed to light, showing that it has potential in multifunctional dressings for applications in photodynamic therapy.

Cosmetics The pursuit of aesthetics has been bringing cosmetics to a growing market and a wide variety of products. Cosmetic actives are the substances responsible for the improvement in beauty and are incorporated in vehicles that transport them to the skin, causing the penetration. Natural polymers such as cellulose pulp, hydrogels and cellulose nanofibers have been used as essential materials to make these cosmetic assets. Bacterial cellulose has already been studied as support for drug release, and the results have identified its efficiency for the rapid release of hydrophobic and hydrophilic drugs. However, there are some studies that can be found in the literature regarding the use of bac-

terial cellulose for support in cosmetic use (Pacheco et al. 2018). Amorim et al. (2020) reported the incorporation of a propolis extract into a bacterial cellulose film produced in a modified medium, in order to be used as a hydrating and anti-inflammatory sheet mask to skin prone to acne and inflammations (Fig. 7). The formed polymer blend presented beneficial characteristics for the usage as a BioMask in the cosmeceutical industry. The propolis extract was favorable as an autoinflammatory agent for a future application, and its incorporation did not bind the polymer's initial properties. The obtained results showed bacterial cellulose usage as an ideal occlusive cosmeceutical product. Recent trends are moving toward combination of both active substances and natural vehicles in order to develop new sustainable cosmeceutical products.

Stasiak-Rozanska and Ploska (2018) aimed to examine the possibility of using microbial cellulose as a biomaterial to transfer 1,3-dihydroxy-2-propanone in the corneum extract and induce changes in skin color. The results obtained in this study clearly indicate the viability of this use, causing skin pigmentation. The application of microbial cellulose adhesives with 1,3-dihydroxy-2-propanone at a concentration of 50 g L^{-1} for 30 min guaranteed skin color, which was considered to be the closest to the desired natural tan effect. The use of 1,3-dihydroxy-2-propanone as microbial cellulose adhesives may be an alternative for patients who present vitiligo, as there are chances that this biomaterial will not cause allergies to the skin. 1,3-dihydroxy-2-propanone



Fig. 7 Bacterial cellulose incorporated with propolis extract to be used as a hydrating and anti-inflammatory sheet mask to skin prone to acne and inflammations

applied to the skin through bacterial cellulose also does not cause specific and unpleasant odor, typical of commercial cosmetics containing 1,3-dihydroxy-2-propanone (Stasiak-Rozanska and Ploska 2018).

Electronic devices The demand for devices that have the function of storing energy, being manufactured in an accessible and compact way, without reducing performance, has been growing due to advances in electronic technologies. With the depletion of non-renewable resources, the application of biodegradable polymers has been gaining considerable attention (Kotatha et al. 2018). A new gel electrolyte was produced using bacterial cellulose coated with chitosan and alginate layers, containing 1-ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate and a separator in solid-state EDLCs. These gel electrolytes were produced via bacterial cellulose inoculation, oxidation in a KIO_4 solution and coating with chitosan layers alternating with layers of alginate. The gel electrolyte was optimized for use in double-layered, solvent-free electric capacitors (Kotatha et al. 2018).

Wan et al. (2018) reported a simultaneous deposition of polyaniline on the surface of bacterial cellulose nanofibers and graphene nanosheets, such that a ternary composite was obtained with improved electrical conductivity on the bacterial cellulose/graphene nanosheets nanocomposite. The dependence of the morphology, electrical conductivity and mechanical properties of bacterial cellulose/graphene nanosheets/polyaniline on the processing parameters as reaction time and temperature was investigated. The results suggested that the deposition of polyaniline in the bacterial cellulose/graphene nanosheets nanocomposite may be a promising method to prepare the bacterial cellulose/graphene nanosheets/polyaniline electrically conductive nanocomposite for electromagnetic shielding and flexible electrode materials. Xie et al. (2018) produced a biocompatible composite of bacterial cellulose and flexible and conductive polydopamine with bi-conductive electron and ionic capacity. This was prepared by in situ autopolymerization of dopamine in bacterial cellulose under neutral pH condition, presenting great performance to be used in biological electrodes and flexible biosensors for wearable medical devices.

Comparison of bacterial cellulose and plant nanocellulose

This section describes several data regarding the different types of nanocellulose. Both bacterial cellulose and plant nanocellulose have specific properties that will determine the choice of cellulose type for a given application. As it can be seen in Table 1, the number of publications, both about plant nanocellulose and bacterial cellulose, has been growing each year, according to information collected from

Table 1 Number of articles published worldwide on bacterial cellulose and plant nanocellulose

Year	Number of publications	
	Plant nanocellulose	Bacterial cellulose
2015	346	1300
2016	426	1790
2017	705	2440
2018	820	3270
2019	575	5888

Note that bacterial cellulose has been taken more interest among the researchers

Science Direct Web site, which provides subscription-based access to a large database of scientific research. It is also shown that bacterial cellulose has been taken more interest among the researchers. This can be said because of its unique properties and high purity, as discussed previously.

Production methods

While plant nanocellulose is derived from the top-down mechanical and/or chemical procedure of plant fibers, the bacterial cellulose is obtained via a bottom-up synthesis approach, by means of from the direct action of particular bacterial strains (Mishra et al. 2018; Phanthong et al. 2018). Regarding the environmental impact of the production method, bacterial cellulose has an advantage over plant nanocellulose. The reason for this is that, in order to obtain plant nanocellulose, it is necessary to separate the cellulose from other compounds such as hemicellulose and lignin, and this process of separation occurs through extremely polluting reactions with the production of compounds harmful to the environment. On the other hand, obtaining bacterial cellulose has simple upstream and downstream processes, containing no undesired compounds (Donini et al. 2010a, b).

The large-scale production of bacterial cellulose is still quite limited due to the lack of efficient fermentation systems (Azeredo et al. 2019; Da Gama and Dourado 2018). Bacterial cellulose production still involves high operating costs due to the high cost of the Hestrin–Schramm culture medium that is traditionally used. However, several researches have focused on the use of cheap alternative means, proposing the reduction in production costs through the use of economical

fermentation media to replace the expensive conventional method (Azeredo et al. 2019).

Despite the many efforts that are dedicated to the design of an economic process for bacterial cellulose production, the increase in the scale of cultivation continues to be a challenge and its commercialization is still very incipient systems (Azeredo et al. 2019; Da Gama and Dourado 2018). In contrast, plant nanocellulose demonstrates a greater potential for large-scale production, since there are companies already producing kilogram to ton per day quantities (Reid et al. 2017). Still according to reports produced by Miller, by 2015 there will exist four commercial entities producing nanocellulose at capacities beyond pilot plant scale: CelluForce, American Process, Paperlogic and Borregaard (Miller 2015). However, production costs are also high because of the following factors: the high cost of chemicals, maintenance of equipment operated in acidic environments, difficult treatment of acidic wastewater for processes such as acid hydrolysis, and high energy consumption for the treatment (Phanthong et al. 2018).

Table 2 presents, in summary, the comparison between the methods of production of plant nanocellulose and bacterial cellulose.

As regards composite production, a significant difference between plant cellulose and bacterial cellulose is verified, whereas plant nanocellulose, i.e., cellulose nanofibers and cellulose nanocrystals, has been typically investigated as a reinforcing agent in polymer matrices (Bharimalia et al. 2017; Xu et al. 2013), and bacterial cellulose has been indicated as a matrix for the deposition of particles of the most varied reinforcement materials (Duarte et al. 2019).

Properties

This section presents a comparison of the properties from different forms of nanocellulose: cellulose nanofibers, cellulose nanocrystals and bacterial cellulose. The cellulose obtained through the bacteria has the same chemical structure as the plant cellulose, but its morphology differs, as it was previously reported. In addition, bacterial cellulose has greater purity, greater flexibility and better hydrophilicity when compared to nanocellulose from plant sources (Mishra et al. 2018; Sacui et al. 2014).

As for the structural properties, bacterial cellulose has a porous structure, which allows the usage of doping with

Table 2 Comparison of production methods of plant nanocellulose and bacterial cellulose

Cellulose type	Type of process	Environmental impact	Industrial scale production	Operational costs
Plant nanocellulose	Top-down	Production of toxic effluents	Limited	High
Bacterial cellulose	Bottom-up	Ecologically sustainable	Very limited	High

carbon-conducting materials such as carbon nanotubes, graphene oxides or also metal nanoparticles (Zhang et al. 2013). Moreover, in all types of celluloses, bacterial cellulose has a higher amount of hydroxyl groups on the surface than plant fibers, which further favors doping with carbon-conductive materials (Ma et al. 2016). It can be said that plant nanocellulose has a different structure than bacterial cellulose, which is, in the absence of pores, less hydroxyl groups and low mechanical resistance, making it impossible to incorporate nanocharges (Balea et al. 2019; Ma et al. 2016).

With regard to plant nanocellulose, the cellulose nanocrystals have the shape of a stem and have a larger crystalline portion compared to the cellulose nanofibers that have a fibrillar character (Liu et al. 2014). Cellulose nanocrystals exhibit a comparatively high level of crystallinity than to other nanostructured celluloses. This indicates that all dimensions of the nanocrystalline cellulose are in the nanosized range (Mishra et al. 2018). In addition, the cellulose nanocrystals are considered as the most resistant and rigid natural nanocellulose available, with significant properties, including high hardness, high strength and large surface area (Lam et al. 2012). However, a disadvantage of cellulose nanocrystals is its thermal property, where there is a limitation of its thermoplasticity, conferred when around 200–300 °C undergoes degradation (Brinchi et al. 2013).

Regarding toxicity, *in vitro* tests were carried out, measuring bacterial cellulose's toxic levels, and there were no side effects either on the culture of human umbilical vein endothelial cells, fibroblasts as well as chondrocytes. And as for cellulose nanofibers, the obtained results were the same (Jeong et al. 2010; Mishra et al. 2018). Also, based on ecotoxicological assessments with a number of aquatic breeds, such as *Daphnia*, rainbow trout as well as flathead fish, cellulose nanocrystals carry lower levels of toxins as well as minimal environmental risk (Habibi et al. 2008).

Table 3 shows the comparison between some properties of the different types of nanostructured cellulose.

Applications

Plant nanocellulose and bacterial cellulose can be used for numerous applications due to their properties. As previously mentioned, bacterial cellulose studies have been growing every day because of their peculiar properties and greater simplicity in production than plant nanocellulose. In Table 4, we can observe some important applications of the two types of materials. The choice of usage regarding the merits and demerits on the nanocellulose's type will depend on the desired characteristics of the final product and production conditions.

Conclusion

In this era of growing environmental concern, sustainability and renewability are taken into account in the early stages of scientific research. Thus, this article demonstrates that nanocellulosic materials are likely to replace conventional materials at an industrial level in the near future. As demonstrated in the present review, nanocellulose can be used in a broad range of applications, due to its versatility and sustainable production. Nanocellulose is a sustainable, non-toxic and biodegradable polymer. It has a number of excellent properties and thus can be incorporated into a variety of materials. Until this day, some studies have discussed the comparison between the production, properties and its highly demanding usage of plant or bacterial nanocellulose. In contrast, aspects of each have been described in separate ways in the literature. Despite the sustainable characteristics, its production can still be expensive, so further research is still necessary to make possible a wide range production, by using alternative media and optimizing its production.

Table 3 Properties comparison between plant nanocellulose and bacterial cellulose

Properties	Plant nanocellulose		Bacterial cellulose	References
	Cellulose nanocrystals	Cellulose nanofibers		
Crystallinity degree	54–88%	59–64%	65–79%	Mishra et al. (2018)
Degree of polymerization	500–15,000	≥ 500	800–10,000	Klemm et al. (2005)
Length of fibers	150–300 nm	85–225 nm	70–80 nm	
Young's module	50–100 GPa	39–78 GPa	15–30 GPa	
Density	1.6 g cm ⁻³	1.566 g cm ⁻³	1.5 g cm ⁻³	Vieira (2015)
Purity	Low	Low	High	Pecoraro et al. (2008)
<i>Particle size</i>				
Length	0.05–0.5 μm	0.5–2 μm	> 1 μm	Moon et al. (2011)
Width	3–10 nm	4–20 nm	30–50 nm	
Height	3–10 nm	4–20 nm	6–10 nm	

Table 4 Applications of plant nanocellulose and bacterial cellulose in different industrial sectors

Fields of application	Plant nanocellulose	Bacterial cellulose
Biomedical materials	Nanocellulose-based hydrogels as drug carriers (Bhattacharya et al. 2012) Membranes with healing and bacteriostatic agents for treatment and recovery of skin burns (Mishra et al. 2018)	Composite hydrogel of bacterial cellulose–lignin as a promising agent in the healing of chronic wounds (Zmejowski et al. 2018) Functionalization of composite bacterial cellulose with C60 nanoparticles for wound dressing and cancer therapy (Chu et al. 2018)
Civil engineering	Improvement in the mechanical performance of cement composites through the incorporation of cellulose filaments to cement systems (Hissaine et al. 2019) Suspensions of cellulose nanofibers in the production of anisotropic super-insulating and flame-retardant foams (Wicklein et al. 2015)	–
Electronic devices	OLEDs formulated on cellulose nanocrystal substrates (Grishkewich et al. 2017) Nanocellulose employed in the development of triboelectric nanogenerator (Kim et al. 2018)	The gel electrolyte of bacterial cellulose coated with layers of chitosan and alginate for use in double-layer electric capacitors without solvent (Kotatha et al. 2018) Bacterial cellulose and flexible and conductive polydopamine biocompatible composite for use on biological electrodes and flexible biosensors for wearable medical devices (Xie et al. 2018)
Food industry	Coating based on cellulose nanofibers in cardboard packaging (Bideau et al. 2018) Nanocellulose composites for bioactive packaging (Sarwar et al. 2018)	Bacterial cellulose study as raw material for the manufacture of cream (Azeredo 2018) Composite films produced through cashew gum and nanofibrillated bacterial cellulose for application in food packaging (Silva 2019a, b)
Cosmetic industry	–	Use of bacterial cellulose as a biomaterial for induction of changes in skin color (Stasiak-Rozanska and Ploska 2018)

Acknowledgements This study was funded by the following Brazilian fostering agencies: Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco (FACEPE), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Coordination for the Improvement of Higher Level Education Personnel (CAPES).

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Abushammala H, Mao J (2019) A review of the surface Modification of cellulose and nanocellulose using aliphatic and aromatic mono- and di-isocyanates. *Molecules* 24:2782. <https://doi.org/10.3390/molecules24152782>
- Adel AM, Ibrahim A, El-Shafei A, Al-Shemy M (2019) Inclusion complex of clove oil with chitosan/ β -cyclodextrin citrate/oxidized nanocellulose biocomposite for active food packaging. *Food Packag Shelf Life* 20:100307. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100307>
- Adriano Brandelli A, Brum LFW, Santos JHZ (2017) Nanostructured bioactive compounds for ecological food packaging. *Environ Chem Lett* 15:193–204. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0621-7>
- Albuquerque RM, Meira HM, Silva IDL, Galdino CJS, Almeida FCG, Amorim JDP, Vinhas GM, Costa AFS, Sarubbo LA (2020) Production of a bacterial cellulose/poly(3-hydroxybutyrate) blend activated with Clove essential oil for food packaging. *Polym Polym Compos.* in press
- Amorim JDP, Costa AFS, Galdino CJS, Vinhas GM, Santos EMS, Sarubbo LA (2019) Bacterial cellulose production using industrial fruit residues as substrate to industrial application. *Chem Eng Trans* 74:1165–1170. <https://doi.org/10.3303/cet1974195>
- Amorim JDP, Galdino CJS, Costa AFS, Almeida H, Vinhas GM, Sarubbo LA (2020) BioMask, a polymer blend for treatment and healing of skin prone to acne. *Chem Eng Trans*, vol79. in press
- Azeredo HM (2018) Bacterial cellulose for food applications. *Int J Adv Med Biotechnol—IJAMB* 1(2):2. <https://doi.org/10.25061/2595-3931/ijamb/2018.v1i2.17>
- Azeredo HMC, Barud H, Farinas CS, Vasconcelos VM, Claro AM (2019) Bacterial cellulose as a raw material for food and food packaging applications. *Front Sustain Food Syst* 3:7. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00007>
- Azizi S, Alloin F, Dufresne A (2005) Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromol* 6(2):612–626. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04058>
- Bae S, Shoda M, Sugano Y (2004) Improvement of bacterial cellulose production by addition of agar in a jar fermentor. *J Biosci Bioeng* 97(1):33–38. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(04\)70162-0](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(04)70162-0)
- Balea A, Fuente E, Blanco A, Negro C (2019) Nanocelluloses: natural-based materials for fiber-reinforced cement composites. A critical review. *Polymers* 11(3):518. <https://doi.org/10.3390/polym11030518>
- Bejoy T, Midhun CR, Athira KB, Rubiyah MH, Jithin JA, Moores-Glenna LD, Clément S (2018) Nanocellulose, a versatile green platform: from biosources to materials and their applications. *Chem Rev* 118:11575–11625. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00627>
- Bharimalia AK, Deshmukh SP, Vigneshwaran N, Patil PG, Prasad V (2017) Nanocellulose-polymer composites for applications in food packaging: current status, future prospects and challenges. *Polym-Plast Technol Eng* 56(8):805–823. <https://doi.org/10.1080/03602559.2016.1233281>
- Bhattacharya M, Malinen MM, Lauren P, Lou YR, Kuisma SW, Kanninen L, Lille M, Corlu A, GuGuen-Guillouzo C, Ikkala O, Laukkanen A, Urtti A, Yliperttula M (2012) Nanofibrillar cellulose hydrogel promotes three-dimensional liver cell culture. *J Control Release* 164(3):291–298. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.039>
- Bideau B, Loranger E, Daneault C (2018) Nanocellulose-polypropylene-coated paperboard for food packaging application. *Prog Org Coat* 123:128–133. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.07.003>
- Bledzki AK, Reihmane S, Gassan J (1998) Thermoplastics reinforced with wood fillers: a literature review. *Polym-Plast Technol Eng* 37(4):451–468. <https://doi.org/10.1080/03602559808001373>
- Brinchi L, Cotana F, Fortunati E, Kenny J (2013) Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. *Carbohydr Polym* 94(1):154–169. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.033>
- Cavka A, Guo X, Tang S, Winstrand S, Jönsson LJ, Hong F (2013) Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. *Biotechnol Biofuels* 6(1):25. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-25>
- Chu M, Gao H, Liu S, Wang L, Jia Y, Gao M, Wan M, Xu C, Ren L (2018) Functionalization of composite bacterial cellulose with C60 nanoparticles for wound dressing and cancer therapy. *RSC Adv* 8(33):18197–18203
- Claro FC (2017) Elaboração e caracterização de filmes a partir de nanofibrilas de celulose vegetal. <https://doi.org/10.1039/c8ra03965h>
- Clift MJD, Foster EJ, Vanhecke D, Studer D, Wick P, Gehr P, Rutishauser BR, Weder C (2011) Investigating the interaction of cellulose nanofibers derived from cotton with a sophisticated 3D human lung cell coculture. *Biomacromol* 12(10):3666–3673. <https://doi.org/10.1021/bm200865j>
- Colombo S (2018) Com propriedades exclusivas, nanocelulose revoluciona materiais. *J USP*. <https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-exatas-e-da-terra/com-propriedades-exclusivas-nanocelulose-revoluciona-materiais/>
- Costa A, Amorim JDP, Nascimento V, Gomes E, Araújo L, Sarubbo LA (2018) Residue from the production of sugar cane: an alternative nutrient used in biocellulose production by *Gluconacetobacter hansenii*. *Chem Eng Trans* 64:7–12. <https://doi.org/10.3303/cet1864002>
- Cunha R. (2017) Nanocelulose é um inovador material extraído de plantas que revolucionará a ciência e a tecnologia—Stylo Urbano. <http://www.stylourbano.com.br/nanocelulose-e-um-inovador-material-extraido-de-plantas-que-revolucionara-a-ciencia-e-a-tecnologia/>
- Da Gama FMP, Dourado F (2018) Bacterial nanocellulose: what future? *BioImpacts: BI* 8(1):1–3. <https://doi.org/10.15171/bi.2018.01>
- Donini IA, De Salvi D, Fukumoto F, Lustrì W, Barud H, Marchetto R, Messaddeq Y, Ribeiro SJL (2010a) Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. *Eclét Quím* 35(4):165–178. <https://doi.org/10.1590/s0100-46702010000400021>
- Donini IAN, Salvi DTB, Fukumoto FK, Lustrì WR, Barud HS, Marchetto R, Messaddeq Y, Ribeiro SJL (2010b) Biosynthesis and recent advances in bacterial cellulose production. *Eclét Quím* 4:165–178. <https://doi.org/10.1590/s0100-46702010000400021>
- Duarte EB, Andrade FK, Lima HLS, Do Nascimento ES, Carneiro MJM, De Fátima BM, Luz EPCG, Das Chagas BS, De Freitas RM. (2019) Celulose bacteriana propriedades, Meios Fermentativos e Aplicações. *Embrapa Agroindústria Tropical*

APÊNDICE B – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

Fator de Impacto B3

1165



CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

VOL. 74, 2019

Guest Editors: Sauro Pierucci, Jiří Jaromír Klemeš, Laura Piazza
Copyright © 2019, AIDIC Servizi S.r.l.
ISBN 978-88-95608-71-6; ISSN 2283-9216



A publication of
The Italian Association
of Chemical Engineering
Online at www.cetjournal.it
DOI: 10.3303/CET1974195

Bacterial Cellulose Production Using Fruit Residues as Substrat to Industrial Application

Julia D. P. Amorim^{a,b}, Andréa F. S. Costa^{b,c}, Cláudio J. S. Galdino Jr. ^{b,d}, Glória, M. Vinhas^a, Emília M. S. Santos^d, Leonie A. Sarubbo^{b,d*}

^aCenter of Exact Sciences and Nature, Federal University of Pernambuco, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brazil
^bAdvanced Institute of Technology and Innovation (IATI), Joaquim de Brito Street, 216, Boa Vista, Recife, Brazil

^cAgreste Region Academic Centre, Federal University of Pernambuco, Campina Grande Avenue, s/n, Nova Caruaru Caruaru, Pernambuco, Brazil

^dCatholic University of Pernambuco. Príncipe Street, 526, Boa Vista, Zip Code: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil
leonie@unicap.br

The term cosmeceutical comes from the combination of cosmetics and pharmaceuticals, which has been emerged due to the CPC's market's (Cosmetics and Personal Care) necessity of combining body and skin care with products that has the usage of bioactive ingredients, ensuring a more sustainable development with a new kind of biotechnology. Regarding this idea, this project consisted on studying the usage of a bacterial cellulose (BC) producing bacteria, *Glucanacetobacter hansenii*, which has been cultivated in a media made out of juice from tropical fruit residue, used as a plant alternative for the production of a BC with beneficial characteristics for the skincare. The tropical fruit, with its enzymatic and non-enzymatic sites and its high nutrient and minerals content, contributes for the prevention of free radicals of the skin. Besides from serving as a support for incorporation of the active principles of tropical fruit, BC has high water activity when applied to the skin, helping to retain its natural moisture. For the experiments, the microorganism was cultivated on eleven different cultivation media, which were modified from the standard media HS (Hestrim-Schramm). The working media was selected according to its cost benefit and BC's growth yield. The experiments were performed after 10 days of the bacteria's cultivation on the media cited previously. With the obtained BC pellicle, both its water activity and ascorbic acid were quantified, and its mechanical properties were determined. A BC face mask was also constructed. It can be concluded that the addition of tropical fruit residue in the bacteria's cultivation media, grants ideal skin hydration characteristics to the BC pellicle, enabling the development of a new biotechnological product for the pharmaceutical and cosmetics industries.

1. Introduction

Cellulose is the most abundant biopolymer on the surface of earth with 1.5×10^{12} tons annual world production (Klemm *et al.*, 2005; Czaja *et al.*, 2006), and it is most commonly obtained from plants. In addition to plant cellulose (PC), cellulose can also be obtained through various aerobic non-pathogenic bacteria such as *Agrobacterium*, *Sarcina*, *Glucanacetobacter* and others.

Bacterial cellulose (BC) is a biopolymeric material, made out of renewable natural sources, with unique properties, such as biocompatibility, biodegradability, high crystalline degree and porosity, great water retention and non-toxicity. BC has a high degree of purity, since it is not tied to other components such as lignin and hemicellulose, like vegetal cellulose (Gomes *et al.*, 2013). Regarding these excellent properties, the BC becomes attractive for various biotechnological applications, including biomedical, cosmetics, food, and even electronic devices (Iguchi *et al.*, 2010). Applications in cosmetics include facial mask, facial scrub, personal cleansing formulations and contact lenses. BC can even also be used for controlled drug delivery (Weyell *et al.*, 2019).

Paper Received: 2 May 2018; Revised: 25 August 2018; Accepted: 25 December 2018

Please cite this article as: Amorim J., Costa A., Galdino C., Vinhas G., Santos E., Sarubbo L., 2019, Bacterial Cellulose Production Using Industrial Fruit Residues as Substrat to Industrial Application, Chemical Engineering Transactions, 74, 1165-1170 DOI:10.3303/CET1974195

2.4 Percentage of Water Retention (PWR)

All eleven wet membranes of BC were weighed and dried in the oven in order to completely remove the water to constant weight. Then the PWR was obtained using Eq. (1):

$$\text{PWR (\%)} = \left(\frac{\text{Mean of the wet weights} - \text{Mean of the dry weights}}{\text{Mean of the wet weights}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

2.5 Characterization Analyses

The characterization was done with both standard HS media pellicle and modified HS media pellicle. The determination of water activity was done by using an Aqualab 4TE equipment, being measured at 24,9°C. The soluble solids quantity was found with the help of a bench refractometer, Reichert, model r²i300. The determination of total acidity was done by titratable acidity method. The Tillmans method was used to quantify the concentration of ascorbic acid.

2.6 Mechanical Properties Testing

The mechanical properties of the pellicles were characterized by its tensile strength (N/m²), tensile strength at peak load (MPa) and elongation at break (%) by a method described by Rethwisch and William (2016) with the usage of a universal testing machine (EMIC DL-500MF, Brazil). Samples were cut into rectangular strips (2 x 7 cm). The tensile test was performed at room temperature at a speed of 5 m/min and a static load of 0.5 N following ASTM Method D882. The Bluehill Lite™ software program was used to calculate the stress-strain ratio and modulus of elasticity.

2.7 Prototype BC Face Mask Confection

A face mask was done so that it could work by skin occlusion effect. After being obtained on the modified media, the pellicle was washed on tap water and were purified in a 0,1 M solution of NaOH, at 90°C for 20 minutes, in order to eliminate all retained bacterial cells, as shown on Figure 1.



Figure 1: BC membrane being purified on NaOH.



Figure 2: Prototype of the face mask made out of BC

1168

The pellicle was washed in deionized water until neutral pH was achieved and were sterilized in an autoclave at 121°C for 15 minutes. Afterwards, the pellicles were dried out at room temperature for 48h while slightly covered on coconut oil. The mask confection consisted on cutting the pellicle as the shape of other face masks on the market, as it can be seen on Figure 2.

3. Results and discussion

3.1 Selection of the modified media

According to the experiments results, as shown on table 2, the best BC producing media was the number four. Its BC production yield was of 165,24 g of cellulose (wet weight) /L of medium and 6,98 g (dry weight) of cellulose/L of medium. It was observed that the carbon and nitrogen sources from the standard HS media could be eliminated, resulting in a major impact on the cost reduction. The media number 4 had a production yield 31,4% lower of wet BC mass and 27,8% lower of dry mass when compared with the standard HS media (number 1). Although, still its cost was considerably lower, resulting in a reduction of 87,89%.

With that being said, the selected media takes a step further to a large-scale production and cost reduction of the biopolymer.

Table 2 - Yields expressed both in wet and dry weight of the modified media

Media	Yield (g wet BC mass /L medium)	Yield (g dry BC mass /L medium)
1	240,83	9,67
2	276,43	13,2
3	11,31	0,62
4	165,24	6,98
5	125,32	4,67
6	73,88	3,56
7	93,31	3,36
8	43,35	2,79
9	122,99	5,42
10	49,47	3,11
11	34,22	1,52

3.2 Percentage of Water Retention (PWR)

As mentioned previously, the wet BC membranes were weighed and dried in the oven in order to completely remove the water to constant weight, the mass values were obtained and then the PWR was obtained as described in Table 3.

Table 3 – Water retention percentage of BC membranes obtained with the modified media

Experiments	PWR (%)
1	96,01
2	95,22
3	94,52
4	95,77
5	96,27
6	95,18
7	96,39
8	93,56
9	95,60
10	93,71
11	95,55

The results confirm that the BC membranes present a high-water activity, as described by Costa et al. (2017), being this property of extreme important characteristic for its usage as a material for a hydration face mask.

3.3 Production of the BC

The antioxidizing capacity of the vegetable tissue can be associated to its high quantity of non-enzymatic antioxidants, such as ascorbic acid. The tropical fruit residue possesses a considerable amount of vitamins

and minerals, being considered as an attractive substrate not only for the BC production, but also as a raw material of added value to the cosmetics industry. The selected working media content is made out of 86,58% of water, 13% of tropical fruit residue, 0,27% of disodium phosphate and 0,15% of citric acid. The obtained biofilm is shown on Figure 3.

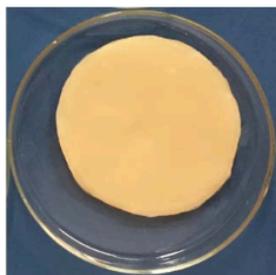


Figure 3 – BC membrane obtained from the selected modified media

The productive capacity of BC is closely linked to the parameters of the bioprocess, so that different variables must be attempted to be explored. It was noted that due its high ascorbic acid content, the acid enabled a higher production of the BC membrane. This can be said because vitamin C lowers the production of gluconic acid, which is produced by the bacteria during the formation of the pellicle (Keshk, 2014). According to the study made by Lin et al. (2014), gluconic acid can serve as an inhibitor of the cellulose formation. Taking this into consideration, the ascorbic acid retained in the tropical fruit residue, when added in an indirect way, it served as a potentiator for BC production.

3.4 Characterization of the BC

The experiments were performed after 10 days of the bacteria's cultivation on the medium cited previously. The results showed a BC pellicle containing $99,13 \pm 0,09\%$ of water activity, $2,0 \pm 0,1\%$ °Bx of sugar content (whereas the pellicle obtained from the standard HS media was found of $4 \pm 0,3\%$ °Bx), $13 \pm 1\text{g}$ of citric acid/100g cellulose and $24,4 \pm 1,10\text{mg}$ of ascorbic acid/100g cellulose. The tensile strength of the pellicle was found to be of 247 MPa, with its elastic modulus of 1940 MPa and its specific deformation of 20%.

4. Conclusions

Plant and microbial raw materials have been used as an effective alternative in the cosmetic industry, because they present active natural compounds. This sector has explored nature in search of new raw materials of natural and organic origin in order to guarantee satisfactory results to the consumer, contributing to the development of sustainable technology in the cosmetic sector.

Due to its high-water content and activity, the biofilm can be considered a great material for the construction of a hydrating face mask. The tropical fruit, with its enzymatic and non-enzymatic sites and its high nutrient and minerals content, contributes for the prevention of free radicals of the skin. Besides from serving as a support for incorporation of the active principles of tropical fruit, BC has high water activity when applied to the skin, helping to retain its natural moisture. Cellulose masks made out of natural sources, such as bacteria, are of high importance on the cosmetics industry, because of its low toxicity and high biodegradability.

In this work it was shown the capacity of the bacteria *Gluconacetobacter hansenii* to grow on alternative media, as a sustainable design, making the production process cheaper. The production of the biodegradable biomaterial is connected with the reduction of environmental impacts. Also, it can be concluded that the components on the tropical fruit residue were still found on the final BC pellicle, granting an excellent characteristic to posterior use as the proposed purpose of this work, a biotechnological cosmeceutical product.

Acknowledgments

This study was funded by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Coordination for the Improvement of Higher-Level Education Personnel (CAPES) and the Advanced Institute of Technology and Innovation (IATI).

1170

References

- Costa, A. *et al.* (2017) 'Bacterial cellulose: an ecofriendly biotextile'. *International Journal of Textile and Fashion Technology*, v. 7, p. 11-26, 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.02027
- Costa A. *et al.* (2018), 'Residue From the Production of Sugar Cane: an Alternative Nutrient Used in Biocellulose Production by *Gluconacetobacter Hansenii*', *Chemical Engineering Transactions*, 64, 7-12. doi: 10.3303/CET1864002
- CZAJA, W. *et al.* (2006) 'Microbial cellulose—the natural power to heal wounds', *Biomaterials*, 27(2), pp. 145–151. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.035.
- Gomes, F. P. *et al.* (2013) 'Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue', *Biomass and Bioenergy*. Pergamon, 55, pp. 205–211. doi: 10.1016/J.BIOMBIOE.2013.02.004.
- Hestrin, S.; Schramm, M. (1954) 'Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose'. *Biochemistry Journal*, v. 58, n. 2, p. 345-352. pmid: 13208601
- Iguchi M., Yamanaka S., Budhiono A. (2000) 'Bacterial Cellulose - A Masterpiece of Nature's Arts' *Journal of Materials Science*, 35(2), 261-270. doi: 10.1023/A:1004775229149
- Keshk, S. M. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, v. 4, n. 2, 2014. doi: 10.4172/2155-9821.1000150
- Klemm, D. *et al.* (no date) 'Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application', in *Polysaccharides II*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 49–96. doi: 10.1007/12_097. doi: 10.3303/CET1864025
- Lin, D. *et al.* (2014) Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. *Bioresource Technology*, v. 151, p. 113–119. doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.052
- Rethwisch, D. G. Jr.; William, D. C. (2016). *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 9th Ed. Rio de Janeiro.
- Tsouko, E. *et al.* (2015) Bacterial Cellulose Production from Industrial Waste and by-Product Streams. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 16, n. 7, p. 14832–14849. doi: 10.3390/ijms160714832.
- Vasconcellos, V. M., Farinas, C. S., (2018) 'The Effect of the Drying Process on the Properties of Bacterial Cellulose Films from *Gluconacetobacter hansenii*', *Chemical Engineering Transactions*, vol. 64.
- Weyell, P. *et al.* (2019) 'Tailor-made material characteristics of bacterial cellulose for drug delivery applications in dentistry', *Carbohydrate Polymers*, 207, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.11.061.

APÊNDICE C – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

Fator de Impacto B3

205



CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

VOL. 79, 2020

Guest Editors: Enrico Bardone, Antonio Marzocchella, Marco Bravi
Copyright © 2020, AIDIC Servizi S.r.l.
ISBN 978-88-95608-77-8; ISSN 2283-9216



DOI: 10.3303/CET2079035

BioMask, a Polymer Blend for Treatment and Healing of Skin Prone to Acne

Julia D. P. Amorim^{a,b*}, Cláudio J. G. S. Junior^c, Andréa F. S. Costa^{b,d}, Helenise A. Nascimento^e, Glória M. Vinhas^a; Leonie A. Sarubbo^{b,c}

^aCenter of Exact Sciences and Nature, Federal University of Pernambuco, Cidade Universitária, s/n, Zip Code: 50740-540, Recife, Brazil

^bAdvanced Institute of Technology and Innovations, R. Joaquim de Brito, 216 - Boa Vista, Recife - PE, 50070-280, Recife, Brazil

^cCatholic University of Pernambuco, Príncipe Street, 526, Boa Vista, Zip Code: 50050-900, Recife, Brazil

^dAgreste Region Academic Centre, Federal University of Pernambuco, Campina Grande Avenue, s/n, Nova Caruaru, Zip Code: 50670-90, Caruaru, Brazil

^eCenter of Technology and Geosciences, Federal University of Pernambuco, Cidade Universitária, s/n, Zip Code: 50740-540, Recife, Brazil

juliadidier@hotmail.com

The biomaterial entitled BioMask presents itself as an ideal film to be used in skin that present inflammations in their hair follicles, which can affect various body regions. Intrinsic characteristics of bacterial cellulose (BC) are important and can aid with the aesthetic treatment in the dermocosmetic area. BC's film is hypoallergenic, nontoxic, has high water retention, high purity, flexibility, biocompatibility and biodegradability. When BC is produced in a sustainable way, it can become a fundamental rich raw material for cosmeceuticals. The BioMask is enriched with bioactive compounds of high efficacy to help the healing process of the skin. Natural extracts are incorporated into dermo cosmetic products for the purpose of moisturizing, perfuming, and aggregating medicinal properties. Propolis extract is a natural waxy substance, produced by bees from the resin of several plants. Chemically, it has the presence of polyphenols and many flavonoids and innumerable biological activities. Thus, medicinal products containing propolis in the composition are used in medical treatments, and satisfactory results can be observed in the healing process and the reduction of symptoms of inflammation. The BC film was produced in Hestrin-Schramm (HS) medium and then a 2 % propolis extract was incorporated in the obtained film. The film was characterized by XRD and TGA spectroscopy. The pellicles were sterilized and a prototype of the BioMask was done. The objective of this study was to develop a BioMask that helps in the healing of inflammations caused by acne. Due to BC's high-water content, its usage as an occlusive mask can also aid in skin hydration and enable the improvement of the texture of the treated skin. BioMask is considered a dermatological and cosmetic product for immediate consumption and disposal. Being used as a possibility of treatment for acne patients, it is expected a minimization of pain, improved skin hydration and acceleration in the healing process of the skin without much aesthetic damages and improving the self-esteem and quality of life of people who have acne.

1. Introduction

Functional and advanced materials comprise a very dynamic research area in which all aspects of materials science are included, such as chemistry, physics, engineering, design, biology, and nanotechnology (Gao et al., 2019). Various types of utilitarian materials have been produced for different purposes, for example, food industry (Azeredo et al., 2019), drug delivery (Weyell et al., 2018), cosmetics (Amorim et al., 2019), treatment of oily water (Galdino et al., 2019) and others.

Such materials can be made out of bacterial cellulose (BC), which has been increasingly explored in view of its amazing chemical and physical properties, including low cost, ease, high adaptability and versatility, hydrophilicity, biocompatibility and biodegradability and non-toxicity (Campano et al., 2015).

Paper Received: 18 July 2019; Revised: 14 December 2019; Accepted: 23 February 2020

Please cite this article as: Didier Pedrosa De Amorim J., Galdino Junior C.J., De Santana Costa A.F., Nascimento H., Vinhas G.M., Asfora Sarubbo L., 2020, Biomask, a Polymer Blend for Treatment and Healing of Skin Prone to Acne, Chemical Engineering Transactions, 79, 205-210 DOI:10.3303/CET2079035

206

Active substances used in beauty care products are incorporated into excipients, which are responsible for the transportation to the skin, by permeation or penetration. Finding new natural vehicles is very important in order to make the production process less expensive and also sustainable.

Recently, BC has been deeply investigated as a support for drug release, like in applications in dental therapies with BC impregnated with the antibiotic doxycycline (Weyell et al., 2018). Or even to be used as a stabilizer for Pickering emulsions droplets in alginate beads for hydrophobic drug delivery (Yan et al., 2019). Results show its efficacy for fast release of both hydrophobic and hydrophilic drugs in a deeply satisfactory way. Propolis is a combination of resinous substances used by bees in order to defend their hive (Kedzia, 2008).

Although, raw propolis cannot be used directly in analysis or treatment. In the first place, it must be extracted so as to break down and discharge the most active ingredients. The accompanying solvents are utilized as the extractants: water, ethanol, acetone, methanol, hexane, and others (Gómez-Caravaca et al., 2006). Depending on the used solvent, different biological activity can be found (Przybyłek et al., 2019).

Propolis can have a combination of more than 300 chemical constituents such as phenolic acids, flavonoids, and caffeic acids. Also, it can contain micro and macroelements (Ca, Fe, Mn, and others) and vitamins B1, B2, B6, C and E (Pasupuleti et al., 2017) altogether, such components are known for excellent wound healing properties within anti-microbial, anti-inflammatory and regenerative activities (Altıparmak et al., 2019). In terms of antibacterial activity, the content of substances such as flavonoids and phenolic compounds is of importance (Inui et al., 2014).

Recent trends are moving toward combination of both active substances and natural vehicles in order to develop new sustainable cosmeceutical products. Regarding this idea, this work consists on the usage of a BC film, as a support for the propolis extract occlusive release, with the application as a BioMask to be used on skin prone to acne and inflammations.

2. Materials and Methods

2.1 Microorganism and Cultivation Condition

For BC production, a strain from the bacteria *Gluconacetobacter hansenii*, (ATCC 53582) obtained from the culture collection of Nucleus of Resource in Environmental Sciences, from the Catholic University of Pernambuco, Brazil, was used. The methodology for the synthesis of BC was divided into four steps: activation, pre-inoculum, inoculum and cultivation in the modified medium. The strain was maintained in the HS liquid medium described by Hestrin and Schramm (1954) which contained 2.0 % glucose (w/v), 0.5 % yeast extract (w/v), 0.5 % peptone, 0.27 % Na₂HPO₄ (w/v), and 0.15 % citric acid (v/v). BC was then produced in the modified HS medium, which has in its composition juice from the tropical fruit residue, Na₂HPO₄, and citric acid, which was adjusted to pH 6.

2.2 Activation, Pre-inoculum and Inoculum

In the activation phase, the bacteria was inoculated into HS-agar medium and incubated at 30 °C until growth, for 48 h. Afterwards, the grown cells were transferred from the activation to the pre-inoculum, which was prepared in liquid HS medium, in static conditions for 48 h, at 30 °C, then, 3 % of the pre-inoculum was transferred to the inoculum in the HS media, under the same conditions, and further experiments were done after 7 days.

2.3 Purification

After being obtained, the pellicle was washed under tap water. Then, it was purified in a 0,1 M solution of NaOH, at 90 °C for 20 minutes, in order to eliminate all retained bacterial cells, as shown. The pellicle was washed in deionized water until neutral pH was achieved.

2.4 Characterization Analysis

The films were sterilized in an autoclave at 121 °C for 15 min. Subsequently, the purified cellulose was dried at 30 °C for 30h until the reach of a constant mass as demonstrated in Figure 1. Characterization from both films, pure BC and BC and propolis extract (BC-P) was done.



Figure 1 Dried BC - P film

2.4.1 X-ray Diffractometry (XRD)

X-ray diffraction of all BC films were measured using a diffractometer (Rigaku) with Cu K α radiation. The crystallinity index was measured by equation of Segal given below.

$$CI = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \cdot 100 \quad (1)$$

In this equation, the CI expresses the relative degree of crystallinity, I_{002} is the maximum intensity (in arbitrary units) of the 002 lattice diffraction, and I_{am} is the intensity of amorphous part diffraction in the same units at $2\theta = 18^\circ$.

2.4.1 Thermogravimetric Analysis (TGA)

Thermogravimetric analysis (TGA) was performed using a Mettler Toledo analyzer on samples weighing approximately 8 mg. Each sample was scanned along a temperature range from 30 °C to 600 °C, under a nitrogen atmosphere with a heating rate of 10 °C/min and a flow rate of 20 mL/min to avoid thermoxidative degradation of the sample.

2.5 Preparation of the BioMask

The hydrated BC membranes were weighted, and half of its total mass was removed by pressure. This procedure resulted in the release of trapped water in the membrane. The membranes were immersed in a tray, and the 2 % propolis extract (distillated water was used as the solvent) was distributed at their surface. The trays were shaken for 35 minutes at 150 rpm and 30 °C. During this procedure, the membranes were turned around every 5 min in order to provide a homogenous distribution on the substance. Figure 2 shows the film before impregnation of the propolis extract (figure 2A), where it can be seen in a white coloration and in a thinner form. And figure 2B shows after total propolis extract incorporation, with a light brown coloration and a thicker pellicle.

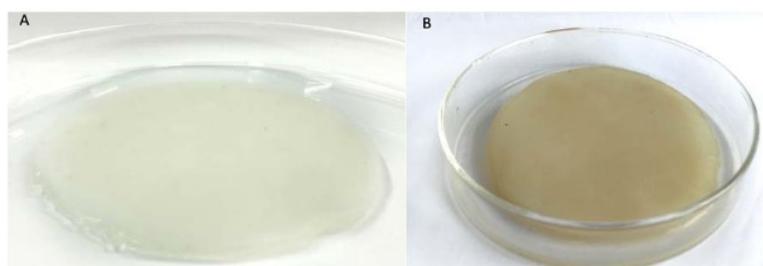


Figure 2 Pellicle before and after propolis impregnation

Afterwards, the obtained pellicles were dried at 30 °C for 20h until slightly humid (consisting on 80% of mass reduction due to water loss). The BioMask confection consisted on cutting the pellicle as the shape of other existing sheet face masks (height of 18 cm x length of 21 cm) on the market, as it can be seen on figure 3.

208



Figure 3 Prototype of the BioMask made out of BC with propolis extract

3 Results and discussion

3.1 X-ray Diffractometry (XRD)

X-ray diffraction (XRD) was used to evaluate the crystalline structure as well as the change in crystallinity of the BC with the addition of the propolis extract. An analysis obtained from BC – P diffractogram (Figure 4) shows the typical peaks of bacterial cellulose, 2θ diffraction peaks at 15.2° , 16.8° and 23.6° , which are usually attributed to the distance between the crystallographic characteristic planes, indicative of the $I\alpha$ and $I\beta$ phases of the crystalline structure (Sarma et al., 2011). As expected, both films exhibited characteristics of semi-crystalline polymers. The crystallinity index (CI) for the pure BC was of 66.7 % and for BC - P was of 46,3%. These results show that the incorporation of the propolis extract to the cellulose matrix exerted an effect on the property of the cellulose, diminishing its crystallinity.

CI has a ratio inversely proportional to the porosity of the cellulose surface (Galdino et al., 2019). Greater porosity increases the permeability of the material. So, it can be said that the decrease in the CI due to the addition of the propolis extract indicates consequently results in a higher fluid flow.

This change in crystallinity can directly affect in the mechanical properties of the membrane, reducing the tension and generating a more elastic material in comparison to pure BC. In this case, results show that BC – P has a larger amorphous region, resulting in a more flexible polymer. This malleable property enables a better application of the BioMask, because it can better adhere to the face's format.

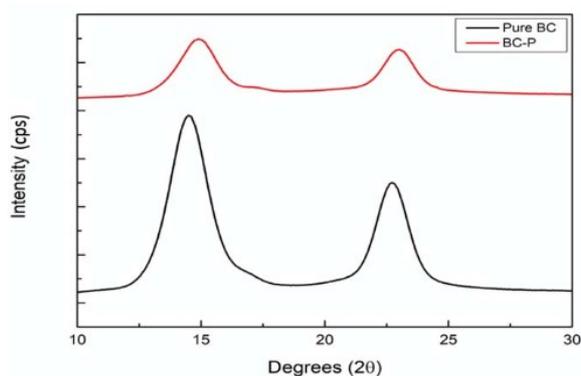


Figure 4 Diffractograms of BC obtained from pure BC and BC-P

3.2 Thermogravimetric Analysis (TGA)

The thermal stability of the BC and BC – P dry pellicles was investigated. All thermal decomposition according to its temperature stages are described in Table 1.

Table 1 Thermal decomposition of samples of pure BC and BC - P (data obtained from TGA curves)

Samples	Stage 1 (°C)			Stage 2 (°C)			Stage 3 (°C)		
	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}	T _{onset}	T _{endset}	T _{max}
BC	25	69	55	-	-	-	294	341	324
BC - Propolis	25	129	54	149	205	191	284	344	324

The curves of the variation of mass percentage as a function of temperature are shown in Figure 5. The TGA analysis shows that the two films showed similar degradation profiles. As the temperature increased, the mass decreased and in the BC's degradation range. The first stage is due to the evaporation of remaining water from the samples. The second stage can be attributed to the oxidative reaction of the propolis extract. As a comparison to pure BC, this additional stage can confirm the incorporation of the propolis extract on the surface of the cellulose. At higher temperatures, around 280 °C to 350 °C, there is another mass loss, characteristic of the thermal decomposition of the cellulose, which presents the processes of depolymerization, dehydration and decomposition of the monosaccharide units, followed by formation of carbon residues. This is the main characteristic of BC in the analysis of TGA (Barud et al., 2007).

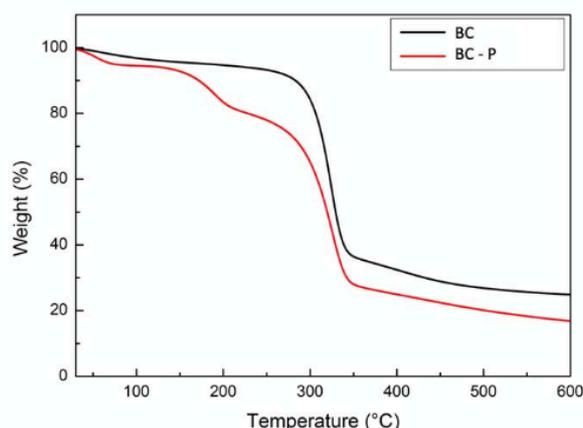


Figure 5 TG curves of both pure BC and BC - P films.

3. Conclusions

Plant and microbial natural raw materials have been used as an effective alternative in the cosmeceutical industry, because of their active natural compounds. In this study, the produced BC film was loaded with natural propolis extract to be used as a system for cosmetic skincare. The formed polymer blend presents beneficial characteristics for the usage as a BioMask in the cosmeceutical industry. The propolis extract was favourable as an autoinflammatory agent for a future application and its incorporation did not compromise the polymer's properties. This work showed satisfactory results. The incorporation of the membranes with the active did not change its nanofibrillar network structure in a critical way. It enabled better mechanical properties so that it can be used as a vehicle for releasing actives in a more efficient way. This paper describes an inexpensive and quick production process, contributing to the development of sustainable technology in the cosmetic sector. In the near future, the combination of natural biodegradable polymers, with natural active extracts can furnish new biotechnological products that meet the needs of the world market, which seeks safe and environmentally friendly options.

210

Acknowledgments

This study was funded by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Coordination for the Improvement of Higher-Level Education Personnel (CAPES) and the Advanced Institute of Technology and Innovation (IATI).

References

- Altıparmak M., Kule M., Öztürk Y., Çelik S.Y., Öztürk M., Duru M.E., Koçer U., 2019, Skin wound healing properties of *Hypericum perforatum*, *Liquidambar orientalis*, and propolis mixtures. *European Journal of Plastic Surgery*. doi:10.1007/s00238-019-01538-6
- Amorim J.D.P., Costa A.F.S., Galdino C.J.S.J., Vinhas G.M., Santos E., Sarubbo L.A., 2019, Bacterial Cellulose Production Using Industrial Fruit Residues as Substrate for Industrial Application, *Chemical Engineering Transactions*, 74, 1165-1170, 10.3303/CET1974195.
- Azeredo H.M.C., Barud H., Farinas C.S., Vasconcellos V.M., Claro, A.M., 2019, Bacterial Cellulose as a Raw Material for Food and Food Packaging Applications. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3. doi:10.3389/fsufs.2019.00007
- Barud H.S., Ribeiro C.A., Crespi M.S., Martines M.A.U., Dexpertghys J., Marques R.F.C., Messadeq Y., Ribeiro S.J L., 2007, Thermal characterization of bacterial cellulose-phosphate composite membranes. *Journal of Thermal Analysis Calorimetry*, 87, 815-818. doi: 10.1007/s10973-006-8170-5
- Campano C., Balea A., Blanco A., Negro C., 2015, Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. *Cellulose*, 23(1), 57-91. doi:10.1007/s10570-015-0802-0
- Galdino C.J.S.J., Meira H.M., Souza T.C., Amorim J.D.P., Almeida C.G., Costa A.F.S., Sarubbo L.A., 2019, Evaluation of the Potential of Bacterial Cellulose in the Treatment of Oily Waters, *Chemical Engineering Transactions*, 74, 313-318, doi: 10.3303/CET1974053
- Gao M., Li J., Bao Z., Hu M., Nian R., Feng D., Zhang H., 2019, A natural in situ fabrication method of functional bacterial cellulose using a microorganism, *Nature Communications*, 10, 1. doi:10.1038/s41467-018-07879-3
- Gómez-Caravaca A.M., Gómez-Romero M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., 2006, Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1220-1234. doi: 10.1016/j.jpba.2006.03.002
- Hestrin, S.; Schramm, M. (1954) 'Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose'. *Biochemistry Journal*, v. 58, n. 2, p. 345-352. pmid: 13208601
- Inui S., Hatano A., Yoshino M., Hosoya T., Shimamura Y., Masuda S., Ahn M.R., Tazawa S., Araki Y., Kumazawa S., 2014, Identification of the phenolic compounds contributing to antibacterial activity in ethanolextracts of Brazilian red propolis. *Nat. Prod. Res.*, 28, 1293-1296 doi: 10.1080/14786419.2014.898146
- Kedzia B., 2008, Pochodzenie propolisu w 'swietle teorii i bada'n naukowych. The origin of propolis in the theories and scientific research. *Herba Pol.* 54, 179-186.
- Pasupuleti V.R., Sammugam L., Ramesh N., Gan S.H., 2017, Honey, propolis and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxid. Med. Cell Longev.* 1259510. doi: 10.1155/2017/1259510
- Przybyłek I., Karpinski T. M., 2019, Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*, 24, 2047; doi:10.3390/molecules24112047
- Sama S.J., Brar S.K., Sydney E.B., Le Bihan Y., Buelna G., Soccol C.R., 2011, Microbial hydrogen production by bioconversion of crude glycerol: a review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37, 6473-6490, doi: 10.1016/j.ijhydene.2012.01.050
- Senel, E.; Demir, E., 2018, Bibliometric analysis of apitherapy in complementary medicine literature between 1980 and 2016. *Complement. Ther. Clin. Pract.* 2018, 31, 47-52. doi: 10.1016/j.ctcp.2018.02.003
- Weyell P., Beekmann U., Küpper C., Dederichs M., Thamm J., Fischer D., Kralisch D., 2018, Tailor-made material characteristics of bacterial cellulose for drug delivery applications in dentistry. *Carbohydrate Polymers*. doi:10.1016/j.carbpol.2018.11.061
- Yan H., Chen X., Feng M., Shi Z., Zhang W., Wang Y., Lin Q., 2019, Entrapment of bacterial cellulose nanocrystals stabilized Pickering emulsions droplets in alginate beads for hydrophobic drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. doi:10.1016/j.colsurfb.2019.01.057