

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ISABELA ELIZA CANCI

**PRODUÇÃO E ANÁLISES MECÂNICAS DE FILMES DE
CELULOSE PRODUZIDOS A PARTIR DE
GLUCONACETOBACTER HANSENII EM MELAÇO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2015

ISABELA ELIZA CANCI

**PRODUÇÃO E ANÁLISES MECÂNICAS DE FILMES DE
CELULOSE PRODUZIDOS A PARTIR DE
GLUCONACETOBACTER HANSENI EM MELAÇO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel.

Orientador: Prof. Me. Fábio Avelino Bublitz Ferreira

Co-Orientadora: Profa. Dr^a: Carolina Castilho Garcia

MEDIANEIRA
2015

ISABELA ELIZA CANCI

**PRODUÇÃO E ANÁLISES MECÂNICAS DE FILMES DE
CELULOSE PRODUZIDOS A PARTIR DE *Gluconacetobacter hansenii* EM
MELAÇO**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como requisito parcial para obtenção de grau de Engenheiro de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Medianeira, avaliado pela banca formada pelos professores:

Fábio Avelino Bublitz Ferreira

Orientador

Carolina Castilho Garcia

Co-orientadora

Gláucia Cristina Moreira

Membro da Banca

Eliane Colla

Membro da Banca

Isabela Eliza Canci

Aluna

Medianeira, 13 de novembro de 2015.

Em memória de Carlos Eduardo, querido afilhado, que em seu pouco tempo na terra me mostrou quão preciosa é a vida e quanto é importante um sorriso sincero, levar alegria as pessoas e sempre ter força para lutar.

Dedico este trabalho a minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que deram em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

É difícil agradecer todas as pessoas que de algum modo, nos momentos serenos e ou apreensivos, fizeram ou fazem parte da minha vida, por isso primeiramente agradeço a todos de coração.

Ao professor Me. Fábio Avelino Bublitz Ferreira e professora Dra. Carolina Castilho Garcia pela orientação, pelos ensinamentos, paciência e contribuição para a minha formação profissional.

A empresa Mellaço de Cana pelo fornecimento do melaço-de-cana.

As laboratoristas pelo auxílio durante a realização de todas as análises feitas.

Aos amigos que sempre apoiaram, e dedicaram um pouco do seu tempo para me animar, ajudar a manter o foco e seguir em frente, mas principalmente, pela amizade incondicional que a mim dedicaram.

A minha família, pela compreensão, apoio e incentivo que sempre me deram.

Aos meus irmãos, Ana Eloiza e Diego, há quem muito amo e, que são exemplos de conquistas, inteligência, honestidade e caráter, mesmo longe sempre penso em vocês.

Em especial, aos meus pais, pelo amor a mim dedicado, pela compreensão, paciência, apoio incondicional, investimento durante essa jornada, pela minha formação moral e, principalmente, por sempre acreditarem em mim, sem vocês nada disso seria possível.

E principalmente a Deus, por me abençoar com paciência e sabedoria para a conclusão deste trabalho, a Ele devo tudo que sou e tenho.

RESUMO

CANCI, Isabela Eliza. **Produção e Análises Mecânicas de Filmes de Celulose Produzidos a Partir de *Gluconacetobacter hansenii* em melaço.** Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná-câmpus - Medianeira.

A celulose é o polímero natural mais abundante na terra, podendo ser obtido do processamento da madeira ou por micro organismos, como é o caso da celulose bacteriana. O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar mecanicamente as membranas de celulose bacteriana produzidas a partir de *Gluconacetobacter hansenii* em melaço de cana-de-açúcar. As membranas de celulose foram produzidas em melaço tratado com ácido, com concentração de 7% de açúcares redutores totais e, após lavados e acondicionados em dessecadores com umidades relativa de 33 e 75%, foram caracterizados quanto a espessura, atividade de água, alongação e tensão na ruptura. As espessuras dos filmes foram medidas com auxílio do micrometro manual, onde a média obtida foi de 0,2mm, a atividade de água foi medida, tendo para ambas umidades relativas valores médios de 0,32. Nos testes mecânicos, que foram realizados com o auxílio do texturômetro, foi constatado que com o aumento da umidade relativa ocorre a diminuição na tensão de ruptura e não houve variação significativa na alongação.

Palavras-chave: Celulose bacteriana, *Gluconacetobacter hansenii*, biopolímero.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 BIOPOLÍMEROS	12
3.2 CELULOSE BACTERIANA	13
3.3 <i>GLUCONACETOBACTER HASENII</i>	15
3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA	17
3.5 SUBSTRATO PARA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA	18
3.6 APLICAÇÕES	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 MATERIAL	22
4.2 REAGENTES	22
4.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	23
4.3.1 Caracterização do melão	23
4.3.2 Tratamento do melão	23
4.3.3 Ativação da Bactéria <i>Gluconacetobacter hansenii</i>	24
4.3.4 Produção das membranas de celulose bacteriana	25
4.3.5 Medida de espessuras	25
4.3.6 Propriedades mecânicas	26
4.3.7 Análise estatística	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MELAÇO	27
5.2 PRODUÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA	29

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE CELULOSE BACTERIANA.....	30
5.3.1 Espessura.....	30
5.3.2 Atividade de água (a_w).....	31
5.3.3 Caracterização mecânica – testes de tração.....	32
6 CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados de 2012 a produção de plástico no Brasil neste ano foi de 180 milhões de toneladas. O impacto ecológico causado pelos plásticos por serem derivados do petróleo e, portanto, não biodegradáveis, tem causado diversos e sérios problemas ambientais. Neste contexto, acredita-se que os biopolímeros constituem uma fonte alternativa para o desenvolvimento de embalagens devido à sua biodegradabilidade (PINHEIRO et al., 2010; Pinho, 2012).

As crescentes preocupações ambientais originadas pelo aumento da poluição causada pela utilização de derivados do petróleo, associada às oscilações de preço e provável futura extinção das suas reservas naturais, obrigam a determinadas mudanças no comportamento da sociedade atual. Uma delas consiste na transição da economia baseada em recursos fósseis, para uma economia predominantemente baseada em materiais renováveis como matérias-primas para a produção de produtos químicos e energia (HUBER; IBORRA; CORMA, 2006). Por isso, houve crescimento no investimento e investigação no uso de materiais renováveis em substituição aos materiais de origem petroquímica (EL-SAIED et al., 2008).

Polímeros provenientes de fontes naturais renováveis tem sido foco de interesse para o desenvolvimento de novas tecnologias que visam a preservação ambiental e a busca de potenciais alternativas de substituição de plásticos convencionais a partir do petróleo (PINHEIRO et al., 2010).

Nas fermentações microbianas, o meio de fermentação tem grande importância nos custos finais do processo, sendo assim, é de suma importância o desenvolvimento de substratos de baixo custo (CARREIRA, 2010). Com o uso de subprodutos industriais os custos da fermentação são reduzidos, diminui-se

o problema ambiental com o destino deste subproduto e os resíduos podem ser utilizados pelos micro-organismos como matéria-prima para produção de novos materiais, já que são ricos em nutrientes (PAIVA, 2014).

O melaço destaca-se como meio de cultivo na fermentação, em virtude do alto teor de açúcares, nitrogênio e vitaminas. Cerca de 14 milhões de toneladas de melaço de cana-de-açúcar são produzidos por ano no Brasil durante a fabricação do açúcar. Por ser rico em açúcares, ter baixo custo e alta disponibilidade no território brasileiro, o melaço de cana-de-açúcar é sugerido como substrato para melhorar e reduzir custos na produção (HAULY; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2003; EMBRAPA, 2011).

Segundo Madla et al. (2005), desde a década de 70 o interesse na procura de novos polímeros produzidos por micro-organismos (biopolímeros) aumentou significativamente e muitos polissacarídeos foram isolados a partir de cogumelos, fungos, algas, líquens e plantas.

A alta densidade de ligações de hidrogênio oferece uma grande resistência mecânica, força de tensão, elasticidade e elevada capacidade de absorção e retenção de água (MORMINO; GOSTOMSKI; BUNGAY, 2002). Além de ser quimicamente idêntica à celulose vegetal, a celulose bacteriana é produzida em uma forma praticamente pura, livre de hemiceluloses, pectinas e lignina (NGE; SUGIYAMA; BULONE, 2010).

Assim, a pesquisa teve como objetivo a padronização do método de produção e análises mecânicas de filmes de celulose produzidos a partir de *Gluconacetobacter hansenii* em melaço.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir e caracterizar mecanicamente as membranas de celulose produzidas a partir de *Gluconacetobacter hansenii* em melaço de cana-de-açúcar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o melaço de cana-de-açúcar quanto a quantidade de cinzas, proteínas, lipídeos, açúcares redutores totais e atividade de água;
- Avaliar o efeito de distintas concentrações de açúcares no substrato para a produção de membranas de celulose bacteriana pelo micro-organismo *Gluconacetobacter hansenii*;
- Produzir membranas de celulose bacteriana com padronização de espessura;
- Caracterizar propriedades mecânicas de tração e alongamento das membranas de celulose bacteriana.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BIOPOLÍMEROS

Os polímeros provenientes do petróleo, cujo desenvolvimento tecnológico tem sido realizado já há muitas décadas, possuem um papel relevante na sociedade moderna (PRADELLA, 2006). Como as preocupações ambientais, causadas pelo aumento da poluição pelo uso de derivados do petróleo, vem aumentando, mudanças são necessárias no comportamento da sociedade moderna (HUBER; IBORRA; CORMA, 2006).

Os biopolímeros são uma das principais alternativas aos materiais plásticos derivados do petróleo. São produzidos a partir de matérias-primas renováveis como cana-de-açúcar, milho, mandioca e batata, e óleos de girassol, soja e mamona. Com esse material, a indústria já produz sacolas, sacos para acondicionar alimentos e/ou lixo e até produtos com maior rigidez, como pratos, copos e talheres. Enquanto o plástico derivado de petróleo leva, em média, 40 anos para se decompor, os biopolímeros demoram no máximo 180 dias. (PINHO, 2012).

Os biopolímeros representam as combinações orgânicas mais abundantes na biosfera, estando presentes nos organismos vivos como componentes estruturais das células e tecidos, possuindo amplas e diferentes funções. Eles são importantes para a vida, exibindo propriedades como a conservação e expressão de informação genética, catálise de reações, armazenamento de carbono, nitrogênio, fósforo e outros nutrientes além de energia, proteção contra o ataque de outras células e/ou fatores ambientais

intrínsecos perigosos, comunicação com o ambiente e outros organismos e mediadores de adesão para superfícies (NÉRIS, 2007 *apud* KENNEDY; BANDAIPHET, 2004, KENNEDY; KOSSEVA, 2005).

A produção de biopolímeros por fermentação oferece várias vantagens, como a diversidade de micro-organismos que o produzem, a qualidade e quantidade dos filmes produzidos. Sua produção ocorre em ambiente controlado, logo, pode ser produzido durante todo o ano sem restrições (KONG et al., 2002; PINHEIRO et al., 2010).

Os biopolímeros de maior interesse são os extracelulares, devido a sua maior facilidade de extração e purificação. Em geral, os polissacarídeos extracelulares (EPS) não contêm combinações orgânicas voláteis ou substâncias químicas tóxicas, e podem ser sintetizados por fermentação de recursos renováveis que incluem produtos de desperdícios orgânicos, como subprodutos derivados da cana-de-açúcar (NÉRIS, 2007 *apud* PADILHA, DELLAGOSTIN; VENDRUSCOLO, 1998; HAAG et al., 2004).

Ao estudar biopolímeros deve-se levar em consideração os impactos ambientais causados pelos polímeros sintéticos. Os biopolímeros, ao contrário dos polímeros sintéticos, são biodegradáveis e são produzidos através de recursos renováveis, tendo infinitas aplicações, tanto na área de alimentos, como na área da saúde (PINHEIRO et al., 2010).

3.2 CELULOSE BACTERIANA

A celulose é o polímero natural mais abundante na terra, é biodegradável, não tóxica e não alergênica. É o principal componente da parede celular das plantas e é normalmente obtida industrialmente a partir do

processamento da madeira para a produção de pasta celulósica. Este tipo de celulose é designado de celulose vegetal. A celulose também pode ser produzida por micro-organismos como algas, fungos e bactérias, e neste caso designa-se por celulose bacteriana, pois esta variedade foi observada pela primeira vez em bactérias (GOMES, 2011).

A indústria de celulose geralmente utiliza madeira para produzir celulose, a utilização de matérias-primas regionais (materiais fibrosos não de madeira), por exemplo, cana-de-açúcar, bagaço, bananas, arroz, palha, entre outros, como uma fonte alternativa para a produção de derivados de celulose diminuiria consideravelmente a utilização de madeira para este propósito e diminuiria igualmente o desmatamento. Além disso, ainda há uma grande quantidade de poluição (durante a extração de componentes não celulósicos), devido os efluentes da indústria de papel, celulose e materiais fibrosos (KESHK; SAMESHIMA, 2006).

Acredita-se que a celulose bacteriana é um dos biomateriais mais prósperos para a indústria, obtido através de bactérias, com baixo custo e livre de impurezas (DONINI et al., 2010).

A maioria da produção mundial de celulose para uso comercial é obtida através de plantas e na fase final de produção deve ser separada de outros compostos como lignina e hemiceluloses, por reações que são excessivamente poluentes, produzindo compostos como os organoclorados. Comparando a obtenção da celulose vegetal com a celulose bacteriana vemos que os processos de preparação do meio de cultura, separação e purificação das células para celulose bacteriana são mais simples, não contém compostos indesejados, tornando o processo mais barato. Com isso, o produto torna-se mais atrativo para a indústria, barato e diminui os impactos ambientais (BELGACEM; GANDINI, 2008).

O polímero de celulose é associado por ligações de hidrogênio que formam as fibras de celulose. Moléculas de celulose formam ligações de

hidrogênio intra e intermoleculares, onde as intramoleculares são as responsáveis pela rigidez da cadeia e as intermoleculares pela formação da fibra vegetal (DONINI et al., 2010).

3.3 *GLUCONACETOBACTER HASENII*

Donini et al. (2010) afirmam que a celulose bacteriana pode ser produzida durante todo o ano, independente das condições climáticas ou ambientais, sua produção através do cultivo de *Gluconacetobacter hansenii* em ambiente laboratorial ou controlado, permite essa capacidade.

Gluconacetobacter hansenii é uma bactéria Gram-negativa pertencente à família Acetobacteriaceae, é aeróbia estrita e realiza a oxidação incompleta de diversos açúcares e álcoois, tendo como *habitat* natural frutos e vegetais em processo de decomposição. A produção de celulose bacteriana por *Gluconacetobacter hansenii* pode ser obtida em laboratório utilizando cultivos tanto em meios sólidos como líquidos. Para a bactéria a membrana formada auxilia na permanência na interface ar/líquido, facilitando seu crescimento, além de oferecer proteção contra radiação ultravioleta (DONINI et al., 2010 *apud* WILLIAMS; CANNON 1989).

A espécie *Gluconacetobacter hansenii* apresenta morfologia de bastonetes retos ou ligeiramente curvos, alongados, com um tamanho que varia entre $0,6-0,8 \cdot 10^{-4,0}$ μm , podendo ser ou não móveis. Estes micro-organismos são tolerantes a condições ácidas, não fotossintéticos, com uma temperatura ótima para crescimento entre os 15 e os 34 °C, ocorrendo a sua morte térmica entre os 65 e os 70 °C (KLEMM et al., 2005).

Keshk e Sameshima (2006) afirmam que para a produção de celulose a partir de *Gluconacetobacter hansenii*, substratos de carbono de baixo custo como glicose, sacarose e frutose são os mais adequados para a obtenção de níveis ótimos. Estudos feitos por Ramana, Tomar e Singh (2000) mostraram que substratos a base de glicose e sacarose foram os que apresentaram melhores resultados na produção da membrana de celulose bacteriana.

A membrana de celulose bacteriana obtida por *Gluconacetobacter hansenii* é encontrada na forma de hidrogel, toma a forma do recipiente que a contém e tem características como a alta cristalinidade (60-80%), resistência a tração (200-300 MPa), elasticidade (1,5-2%), durabilidade, elevada capacidade de absorção e retenção de água, sendo que a principal diferença em relação aos outros tipos de celulose é o tamanho da fibra produzida (PICCHI, 2010). Na celulose bacteriana a largura da fibra é de 0,07 – 0,13 μm , já na celulose vegetal é de 30 – 75 μm (CARREIRA, 2010).

De acordo com Picchi (2010) a síntese de celulose por *Gluconacetobacter hansenii* dá-se a partir da glicose que é transportada para o citoplasma da bactéria, sendo convertida por enzimas em celulose. Suas moléculas agregam-se na forma de microfibrilas, onde há a presença de regiões altamente ordenadas que se alternam com regiões menos ordenadas. A reunião destas microfibrilas (10-30 nm) formam as fibrilas e estas se agrupam formando as fibras celulósicas (100 nm) (CANNON; SKINNER, 2000). A bactéria excreta entre 50-80 microfibrilas de celulose que possuem 3,0 a 3,5 nm de largura (RECOUVREUX, 2004).

3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA

Conforme Pinheiro et al. (2010), testes de resistência a tração, alongação, módulo elástico e compressão podem ser aplicados a biopolímeros. Ainda, os autores afirmam que as propriedades mecânicas e térmicas dos biofilmes são caracterizadas e relacionadas com sua estrutura, concentração de plastificante, condições de armazenamento e incorporação de compostos.

A norma D 882-91 da ASTM (1996) diz que as propriedades de tração podem variar conforme a espessura da amostra, método de preparação, velocidade de ensaio, tipo de aperto usado e forma de medir extensão, portanto, devem ser controlados, pois é um modo de controlar a qualidade da membrana.

De acordo com Wittaya (2012), a capacidade de associação das moléculas é que determina as propriedades mecânicas dos filmes. Se um filme possuir alta capacidade de associação, diminuirá sua flexibilidade e permeabilidade. Esta capacidade vai depender da presença de plastificantes e espessura do filme. Ainda afirma que filmes biodegradáveis fornecem boa barreira contra oxigênio em baixa umidade e possuem boas propriedades mecânicas, mas sua barreira contra vapor é pobre por sua natureza hidrofílica.

Conforme Pinheiro et al. (2010), a opacidade de um filme é a quantidade de luz que o atravessa. Quanto mais opaco, menor é a quantidade de luz que atravessa o filme, sendo, assim, uma importante barreira no controle da incidência da luz em alimentos.

3.5 SUBSTRATO PARA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

Cada micro-organismo necessita de nutrientes específicos para seu desenvolvimento, por isso a importância do substrato. Este deve ter as características nutricionais necessárias e ser economicamente viável. O melaço de cana-de-açúcar possui grandes quantidades de açúcares, tem baixo custo por ser um subproduto da produção do açúcar e tem muitas aplicações na indústria (LIMA, 1987).

De acordo com a EMBRAPA (2011) o melaço (ou mel final) constitui-se no principal subproduto da indústria do açúcar, sendo produzido na proporção de 40 a 60 quilos por tonelada de cana processada. No Brasil, devido ao elevado teor de açúcares totais e demais componentes, o melaço é utilizado, principalmente, na fabricação de álcool etílico, sendo aproveitado, também, em outros processos biotecnológicos como matéria-prima para a produção de proteína, rações, levedura prensada para panificação, antibióticos, entre outros. O melaço de cana-de-açúcar, resíduo da cristalização durante o processo de fabricação do açúcar, tem sido utilizado historicamente como componente na alimentação animal, para obtenção de leveduras via propagação de células, e quase toda a sua produção vem sendo destinada à produção de álcool, principalmente etanol (MELO, 2003).

Segundo os Padrões de Identidade e Qualidade para Alimentos e Bebidas da Resolução CNNPA nº12 de 1978, o melaço é o líquido obtido como resíduo de fabricação do açúcar cristalizado, do melado ou da refinação do açúcar bruto. Deve ser fabricado com matéria prima não fermentada, isenta de matéria terrosa, parasitos e detritos animais e vegetais. É vedada a adição de essências, corantes naturais ou artificiais, conservadores e edulcorantes.

O melaço é um material agroindustrial abundante produzido no Brasil e em outros países tropicais. Seu baixo custo, é um fator importante para a viabilidade econômica de substâncias produzidas por fermentação. A sua composição é rica em sais orgânicos como o azoto, fosfatos, cálcio e magnésio, bem como de micronutrientes como zinco, manganês, cobre e ferro, além de muitos aminoácidos (WALISZEWSKI; ROMERO; PARDIO,1997).

Segundo Roukas (1998), altas concentrações de metais pesados no meio causam problemas críticos como a inibição do crescimento microbiano, influenciam o pH do substrato e estão envolvidos na inativação das enzimas associadas com a biossíntese do produto. O autor verificou que, como a frutose é a melhor fonte para *Gluconobacter xylinus*, o tratamento com ácido seguido pelo tratamento térmico fez com que praticamente toda a sacarose presente fosse hidrolisada em glicose e frutose, para um melhor desenvolvimento da celulose bacteriana.

O melaço bruto sem pré-tratamento apresenta altos níveis de metais, principalmente de potássio, cálcio, sódio, nitrogênio, magnésio e ferro, assim, o tratamento com ácido é necessário para auxiliar na diminuição desses níveis e ainda contribuir com a clarificação dos substratos agroindustriais (VALDUGA et al., 2007).

Roukas (1998) empregou resinas catiônicas, tratamento com ácido sulfúrico, tratamento com fosfato de cálcio, ferrocianeto de potássio e EDTA no pré-tratamento de melaço de beterraba e os resultados mostraram que o tratamento com ácido sulfúrico foi o que gerou as máximas concentrações do melaço de beterraba.

Bae e Shoda (2005) pesquisaram a produção de celulose por *Gluconobacter xylinus* BPR-2001, usando melaço pré-tratado com ácido sulfúrico como fonte de carbono, obtendo-se aumento na produção do biopolímero de 76% quando comparado com o melaço não tratado, refletindo o consumo mais rápido do açúcar. Em seu trabalho, os autores compararam a

produção de polissacarídeos e de celulose bacteriana constatando que a solução de melaço pode conter compostos que estimulam a síntese de polissacarídeos e algumas substâncias que inibem o crescimento celular e a produção de celulose bacteriana. Assim, o tratamento do melaço é necessário para a produção de celulose bacteriana, pois hidrolisa a sacarose em glicose e frutose, esta última sendo a melhor fonte de carbono para *Gluconobacter xylinus*. Seus estudos mostraram ainda que a taxa de consumo de açúcar não é proporcional à sua concentração, sendo que elevada concentração de açúcares totais foi inibitória para a produção de celulose bacteriana.

3.6 APLICAÇÕES

Uma das mais antigas e principais aplicações da celulose bacteriana é na alimentação por meio de fibra dietética, com a designação de nata de coco, que é uma sobremesa indígena. Esta celulose bacteriana é produzida a partir da água ou leite de coco no sudeste asiático, onde camadas espessas de celulose formada são cortadas em cubos, lavadas e fervidas, antes de serem cozidas em xarope de açúcar, podendo ser utilizadas, inclusive, em bebidas com menor teor de calorias (CHAWLA et al., 2009).

A celulose bacteriana também tem sido utilizada como aditivo alimentar, como agente dispersante em inúmeros alimentos. Quando dispersa em meio aquoso a celulose bacteriana apresenta caráter pseudoplástico, e esse comportamento é devido, principalmente, a sua insolubilidade em água, e sua estrutura que é estável a tratamentos físicos e químicos (BARUD, 2010).

Os biopolímeros apresentam potencial de aplicação promissor, principalmente na área de alimentos, portanto, esta pesquisa tem o intuito de produzir e caracterizar membranas de celulose bacteriana a partir de *Gluconacetobacter hansenii* em melaço, visando contribuir para a otimização e aplicabilidade destes biofilmes na área de alimentos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Algodão, aparelho extrator de Soxhlet, autoclave, balança analítica, balões volumétricos, banho-maria, béquer, bureta, capsula de porcelana, cartucho de soxhlet, chapa elétrica, centrífuga de bancada, dessecador, espátula, estufa, erlenmeyer, frascos Kjeldahl, funil de vidro, *Gluconacetobacter hansenii* (ATCC 23769), melão (dado pela empresa Mellaço de Cana), micrometro, mufla, papel filtro, phmetro, pinça, pipetas, proveta, texturômetro e vidros de conserva.

4.2 REAGENTES

Acetato de zinco, ácido sulfúrico, água destilada, caldo alaban, carbonato de sódio anidro, cloreto de magnésio, cloreto de sódio, éter, ferrocianeto de potássio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, solução fenolftaleína, soluções de fehling A e B, sulfato de cobre, sulfato de potássio, sulfato de sódio anidro, vermelho de metila e zinco em pó. Todos os reagentes utilizados caracterizavam-se como de pureza analítica.

4.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.3.1 Caracterização do melaço

O melaço foi caracterizado pelas determinações de resíduos por incineração – cinzas, proteínas – método de Kjeldahl clássico, análise de açúcares redutores em glicose (ART) e análise de lipídeo – extração direta em Soxhlet, seguindo as metodologias do Instituto Adolfo Lutz (2008) e também, análise da atividade de água, feita com auxílio do equipamento AquaLab. Para a retirada da amostra de melaço para a realização das análises, este foi homogeneizado e as análises foram realizadas em triplicata.

4.3.2 Tratamento do melaço

Para a hidrólise ácida dos polissacarídeos presentes no melaço foi utilizada a metodologia adaptada descrita por ROUKAS (1998). O melaço foi diluído com água destilada em Erlenmeyer de 1 L até a obtenção de solução com concentração total de açúcar de 7% e 25%. Foi preparada solução 1 N de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) e, com auxílio de uma pipeta, a solução ácida foi adicionado à solução de melaço, ajustando o pH do melaço para 3,0. A solução foi deixada em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período a solução

foi centrifugada a 5.000 rpm por 15 minutos a 5 °C, coletando o sobrenadante. Foi ajustado o pH do sobrenadante para 5,5 com solução de NaOH 10 N. O sobrenadante coletado foi esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos.

4.3.3 Ativação da Bactéria *Gluconacetobacter hansenii*

A cepa de bactérias *Gluconacetobacter hansenii* (ATCC 23769) foi fornecida pela Fundação André Tosselo, na forma liofilizada em ampola de vidro. Para a abertura da ampola, esta foi desinfetada utilizando algodão embebido em álcool 70 %, em seguida, a ampola foi riscada com uma lima, previamente desinfetada, e então, a ampola foi quebrada próxima ao bico de Bunsen, com uma pinça foi retirado o tampão de algodão de dentro da ampola. Foi adicionado lentamente 0,2 mL de água destilada com o auxílio de uma pipeta, fazendo voltar a formar uma suspensão de células, deixando reidratar por 15 minutos, sendo transferido, em seguida, todo o conteúdo da ampola para um tubo de ensaio contendo 5,0 mL de caldo Alaban (100 g.L⁻¹ de sacarose, 5 g.L⁻¹ de fosfato ácido de potássio monobásico, 2,5 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 0,6 g.L⁻¹ de sulfato de amônio e 0,2 g.L⁻¹ de sulfato de magnésio heptahidratado) e incubado a 28 °C por 24 horas. Após este período, o conteúdo do tubo de ensaio foi transferido para um erlenmeyer contendo 50 mL de caldo alaban, o qual foi incubado nas mesmas condições e, após 24 horas 10 mL foram transferidos para um segundo erlenmeyer contendo 100 mL de caldo Alaban e incubados. A partir deste segundo erlenmeyer foram feitas as primeiras inoculações em melão.

4.3.4 Produção das membranas de celulose bacteriana

Para produção das membranas de celulose bacteriana foi adaptada a metodologia descrita por George et al. (2005). Foram utilizadas duas diluições do substrato, a primeira com 25% de açúcares e a segunda com 7%. O melaço tratado com ácido foi adicionado em vidros de conserva em volume de 100 mL. Foi inoculado 10 mL do inóculo produzido em caldo Alaban (*Gluconacetobacter hansenii*) no meio de cultura (melaço tratado com H₂SO₄). Os vidros de conserva foram incubados a 28 °C durante 7 dias. Após este período, foram retirados os filmes formados e lavados por imersão em solução de KOH 5% durante 60 minutos a 100 °C. Após, foram lavados de 4 a 5 vezes em água destilada, até que o pH da água drenada estivesse neutro. As membranas lavadas foram secas em estufa a 40 °C por 48 horas. Em seguida, colocadas em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de sódio e cloreto de magnésio, para que atingissem umidade relativa de 33 e 75 % respectivamente.

4.3.5 Medida de espessuras

Foram realizadas análises em dez membranas de celulose bacteriana, onde as espessuras foram medidas com o auxílio de um micrometro manual, sendo feitas três leituras, duas nas laterais e uma no centro.

4.3.6 Propriedades mecânicas

Os testes de tração foram realizados em analisador de textura (Texturômetro Universal TA.HD Plus), e os resultados foram obtidos com o auxílio do programa *Texture Exponent Lite* versão 4.0.

As propriedades de tração foram determinadas seguindo metodologia baseada na norma ASTM D-882-91 (1996). As dez amostras foram cortadas nas dimensões de 70 mm de comprimento e 30 mm de largura e ajustadas às garras pneumáticas do equipamento. A distância inicial entre as garras foi de 60 mm e a velocidade de tração de 50 mm/min. As propriedades de tração determinadas foram: resistência máxima a tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo elástico (MPa).

4.3.7 Análise estatística

Os resultados para atividade de água e para os testes de tração foram analisados estatisticamente e expressos como média e erro padrão da média. Para tal análise foi utilizado o software Minitab 17. As médias de todos os dos resultados observados foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MELAÇO

A caracterização do substrato utilizado foi necessária para garantir a qualidade do substrato e, conseqüentemente, a qualidade do biopolímero produzido.

Os resultados para as análises de cinzas, proteínas, carboidratos e lipídeos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de cinzas, proteínas, açúcares redutores totais , lipídeos e a_w nas amostras de melaço

	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Açúcares Redutores (%)	Lipídeos (g/Kg)	a_w
Média e ED	7,91 ± 1,18	0,67 ± 0,03	49,92 ± 1,31	4,43 ± 0,64	0,68 ± 0,03

*ED: erro padrão

No trabalho de Melo (2003), o qual estudou a produção de polissacarídeos extracelulares em cana de açúcar, a concentração de cinzas foi de 9,69%. Keshk e Sameshima (2006), avaliaram diferentes fontes de carbono para a produção de celulose bacteriana, e no melaço de cana obtiveram 12% de cinzas. Ainda, Feltrin et al. (2000), estudaram a composição do melaço de cana, obtendo 9,98% de cinzas na amostra analisada. Assim, é possível verificar a semelhança dos resultados encontrados na literatura com os dados obtidos no presente trabalho, no qual o teor de cinzas foi de 7,91% (Tabela 1).

Segundo estudo feito por Miranda, Sant'Anna e Porto (1999), que utilizaram o melaço de cana como substrato para a produção de *Micrococcus varians*, a concentração de proteínas presentes no melaço foi de 0,52%, próximo ao encontrado por Feltrin et al. (2000), que foi de 0,58% e também aos resultados obtidos no presente trabalho, o qual foi de 0,67% (Tabela 1).

Gutierrez e Silva (1993), estudando a composição de ácidos graxos de melaço de cana e leveduras, mostraram que a concentração de lipídeos no melaço foi de 1,02-3,13 g.Kg⁻¹. Na Tabela 1 verifica-se que a média de lipídeos encontrado nas análises do presente trabalho foi de 4,43 g.Kg⁻¹ de melaço. É possível afirmar que os resultados estão próximos e são condizentes.

As diferenças encontradas nos trabalhos citados e os resultados aqui apresentados, para a concentração de cinzas, proteínas e lipídeos, pode ser justificado, pois a composição do melaço de cana-de-açúcar depende de fatores agrícolas, como a variedade da cana-de-açúcar, o grau de maturação, o clima, as condições de cultura, tipo de corte e a eficiência industrial (SILVA, 2008).

Estudos feitos por Bae e Shoda (2005), que produziram celulose bacteriana por *Acetobacter xylinum* usando meio de melaço em um fermentador, mostraram que o melaço por eles utilizado continha cerca de 44% de açúcares totais. O estudo de Keshk e Sameshima (2006), mostrou um teor de açúcares de 51%. Feltrin et al. (2000), ao avaliar a composição físico-química do melaço de cana-de-açúcar bruto encontrou 48,5% de açúcares redutores totais. Segundo os Padrões de Identidade e Qualidade para Alimentos e Bebidas da Resolução CNNPA nº12 de 1978 o melaço deve conter aproximadamente 50% de açúcares redutores totais. Nas análises realizadas no presente trabalho verificou-se 49,92% de açúcares redutores totais (Tabela 1), valores próximos aos dos trabalhos relatados por Bae e Shoda (2005), por Keshk e Sameshima (2006) e também por Feltrin et al. (2000) e em conformidade com a legislação.

Park e Antonio (2006), que analisaram diferentes materiais biológicos, mostraram que a atividade de água do melaço fica entre 0,65 e 0,75, valores próximos aos resultados encontrados (0,68 – Tabela 1).

5.2 PRODUÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA

Na diluição com 25% de açúcares não foi observado o crescimento da membrana de celulose bacteriana. Alguns trabalhos relatam que quando a quantidade de açúcares redutores totais inicial, é superior a 20 %, há interferência na produção e rendimento de celulose bacteriana, diminuindo-os, pois há diminuição nos níveis de nitrogênio (BAE; SHODA, 2005; KESHK; SAMESHIMA, 2006; JUNG et al., 2010). As membranas formadas na diluição de 7% estão apresentadas nas Figuras 1 e 2.



Figura 1: Filmes lavados antes da secagem



Figura 2: Filme após a secagem

Após a lavagem os filmes apresentaram-se mais claros e assemelhavam-se a um gel, eram maleáveis e escorregadios. Quando secos

tornaram-se mais opacos e quebradiços, mas podiam ser manuseados sem que ocorresse ruptura.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE CELULOSE BACTERIANA

5.3.1 Espessura

A espessura é um dos parâmetros que influencia nas propriedades dos filmes, é importante para avaliar sua homogeneidade, para definir a uniformidade dos materiais, para a repetibilidade das medidas das propriedades e validade das comparações entre as propriedades dos filmes (RIGO, 2006 *apud* MAHMOUD; SAVELLO, 1992; GENNADIOS et al., 1993; OLIVEIRA et al., 1996; CUQ et al., 1996).

As espessuras médias dos filmes para as umidades relativas de 33 e 75% foi de $0,02 \pm 0,01$ mm. Almeida, Woiciechowski, Wosiacki, (2013) analisaram as propriedades físicas, químicas e de barreira em filmes formados por misturas de celulose bacteriana e fécula de batata, e obtiveram para filmes de celulose bacteriana pura uma espessura de 0,02 mm, semelhante aos resultados obtidos no presente trabalho. Rigo (2006), que desenvolveu e caracterizou filmes comestíveis a base de amido e alginato de sódio, obteve variação de 0,059 à 0,148 mm, valores próximos aos encontrados por Oliveira (2013), que estudou o desenvolvimento de filmes biodegradáveis a base de proteína da torta de mamona reforçado com fibras de celulose, encontrando valores médios de espessura de $0,127 \pm 0,004$ mm.

5.3.2 Atividade de água (a_w)

A atividade de água está correlacionada com a água livre de um produto, e, portanto, produtos com alta atividade de água trocam água com o ambiente mais facilmente, acelerando sua perda de água e diminuindo sua vida útil. Quando conhecida a relação entre a atividade de água de um produto e a umidade relativa do ambiente é possível prever o comportamento do produto quando exposto a um ambiente com umidade relativa conhecida, assim é possível conhecer a estabilidade deste produto durante sua estocagem (ALMEIDA, 2010).

Para as umidades relativas de 33 e 75% foi obtida média de $0,3279 \pm 0,0074$ e $0,3213 \pm 0,0020$ respectivamente. Observando os resultados encontrados, verificou-se que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) na atividade de água dos filmes obtidos com o aumento da umidade relativa. Os resultados encontrados comprovam a estabilidade dos filmes com o aumento da umidade relativa. Este fato influencia diretamente nas propriedades mecânicas dos mesmos, já que a quantidade de água livre não é alterada, mantendo a estrutura das fibras e, conseqüentemente, não ocasionando grandes variações com a mudança de umidade relativa. No trabalho realizado por Barbosa, Silva e Ascheri (2009), no qual foram estudados biofilmes de amido de caroço de jaca, verificou-se que as variações na hidrofiliabilidade das amostras foram dependentes da atividade de água dos filmes e que a umidade de equilíbrio das amostras aumentou a medida em que se aumentava a atividade de água dos filmes.

5.3.3 Caracterização mecânica – testes de tração

As propriedades mecânicas mais importantes decorrem de processos nos quais há grandes relaxações moleculares, que são dependentes da temperatura e umidade relativa. São úteis para identificação e caracterização de filmes flexíveis e podem ser medidas através de testes de perfuração, tração e relaxação. A caracterização mecânica expressa a resistência do material ao alongamento e ao rompimento, quando submetido à tração e é a propriedade mais relatadas na literatura (HENRIQUE, 2002; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; MARTINS, 2012).

A figura 1 apresenta a variação do alongamento (*strain*) com a variação da umidade relativa e a figura 2 apresenta a variação da tensão na ruptura (*stress*) com a variação da umidade relativa.

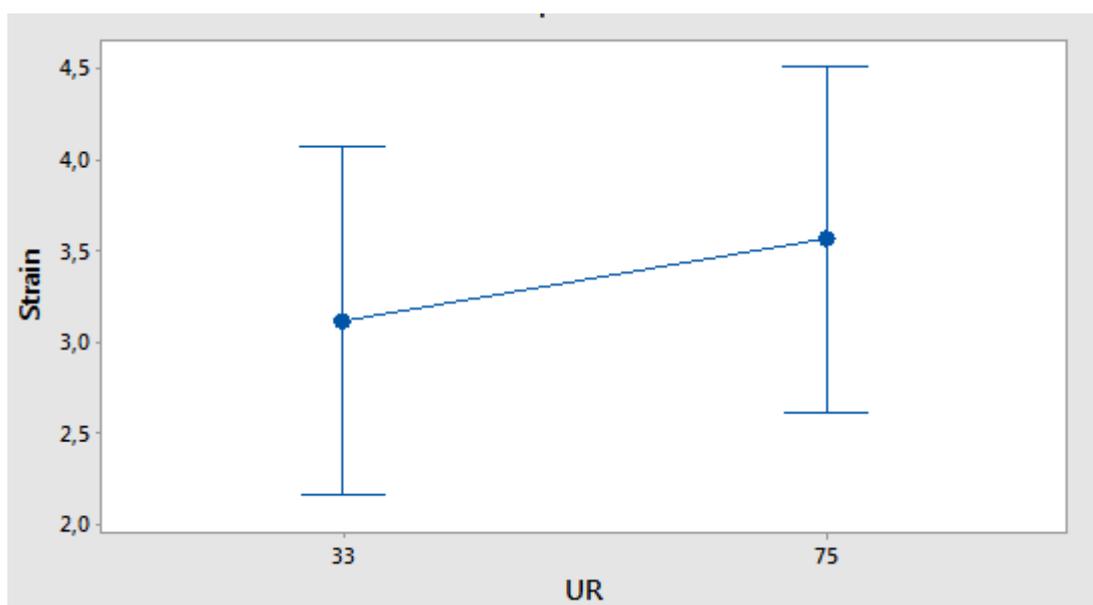


Figura 1: Gráfico de intervalos *Strain* (%) versus Umidade Relativa de condicionamento de filmes de celulose bacteriana.

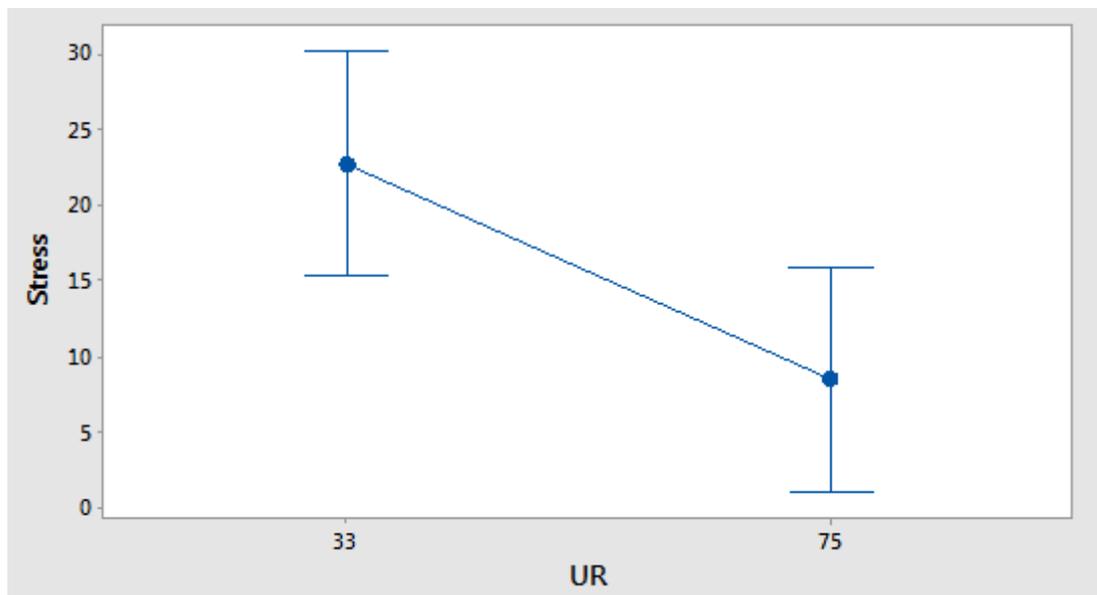


Figura 2: Gráfico de intervalos Stress (MPa) versus Umidade Relativa de condicionamento de filmes de celulose bacteriana.

Barud (2010) que estudou novos materiais baseados em celulose bacteriana, apontou que esta tem alongamento entre 1,5 - 2,0%, valores inferiores aos encontrados no presente trabalho, que foram de 3,12% para umidade relativa de 33% e 3,56% para umidade relativa de 75% (Figura 1). Oliveira (2009), estudando biofilmes obtidos a partir de carboximetilcelulose em diferentes umidades relativas encontrou para carboximetilcelulose pura com umidade relativa de 43%, 75% e 98% alongação de 8,95%, 11,16% e 21,03% respectivamente. Ferreira et al. (2009) estudaram os efeitos da umidade relativa sobre as propriedades mecânicas em filmes de amido e obtiveram para umidade relativa de 33% cerca de 3% de alongação e para umidade relativa de 75% cerca de 12% de alongação.

Oliveira (2009) encontrou ainda, para carboximetilcelulose pura, tensão na ruptura para as umidades relativas de 22,12 MPa, 20,38 MPa e 1,25 Mpa para 43%, 75% e 98% de umidade relativa respectivamente. Nas umidades relativas de 43 e 75% os valores se aproximam aos encontrados nesta pesquisa na

umidade relativa de 33% que teve média de 22,79 MPa. Ferreira et al. (2009) encontraram para umidade relativa de 33% e 75% cerca de 10 MPa, valores estes que se aproximam aos encontrados no presente trabalho para as membranas de celulose bacteriana com umidade relativa de 75% (Figura 2).

Para o alongamento, não foi encontrada variação significativa com o aumento da umidade relativa ($p > 0,05$). Para a resistência à tração, foi verificada diminuição significativa da resistência à tração com o aumento de umidade relativa de armazenamento ($p < 0,05$). Essas mudanças foram relacionadas com a variação do teor de água nestes materiais hidrofílicos e foram relatados previamente (FERREIRA et al., 2009 *apud* CUQ et al., 1995; PARRIS et al., 1995; MONTERREY; SOBRAL, 1999, MALI et al., 2004). A atividade de água dos filmes produzidos no presente trabalho não aumentou significativamente com o aumento da umidade relativa de armazenamento, mostrando que estes são estáveis à absorção de umidade do meio, o que pode ser relacionado à pouca absorção de água pelos filmes a ponto de não influenciar na sua atividade de água.

Segundo Barud (2010) os resultados encontrados são justificados devido a estrutura das fibras de celulose bacteriana e ao seu elevado desempenho. Com o aumento da umidade relativa há aumento da saturação das moléculas de água aumentando o volume livre entre as cadeias poliméricas o que causa a diminuição na tensão de ruptura e aumento na elongação dos filmes (OLIVEIRA, 2009; FERREIRA et al., 2009). Isto deveria causar o aumento da elongação dos filmes pela modificação da sua estrutura, no entanto esse efeito não foi observado devido à baixa atividade de água dos filmes de celulose bacteriana, a qual não aumentou com o aumento da umidade relativa, fazendo com que a quantidade de água livre não aumentasse mantendo a flexibilidade dos filmes semelhantes.

Apesar da igualdade estatística dos resultados de atividade de água para os filmes armazenados em diferentes umidades relativas, o comportamento mecânico foi característico, aumentando para os valores de alongamento (não

apresentando diferença estatística) e diminuindo para os valores de tensão na ruptura.

6 CONCLUSÃO

O melaço caracterizado apresentou características semelhantes as encontradas na literatura e também na legislação, atestando a sua qualidade nutricional, importante para o crescimento do micro-organismo.

Foi possível observar, que com concentração de 25 % de açúcares redutores totais no substrato não houve crescimento das membranas de celulose bacteriana, as quais só se desenvolveram na concentração de 7 % de açúcares redutores totais.

Não foi possível a padronização das espessuras das membranas de celulose bacteriana, mas estas apresentaram o comportamento esperado nos testes mecânicos, diminuindo os valores de tensão na ruptura e aumento da alongação com o aumento da umidade relativa de armazenamento.

REFERÊNCIAS

Agência Embrapa de Informações Tecnológicas – AGEITEC, EMBRAPA. 2011 Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_108_22122006154841.html. Acesso em: agosto de 2014.

ALMEIDA, Crislene Barbosa de. **Características estruturais e funcionais de biofilmes produzidos com zeína e óleos vegetais comestíveis**. 2010. 91 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/100894>. Acesso em 01 de outubro de 2015.

ALMEIDA, Denise M., WOICIECHOWSKI, Adenise L., WOSIACKI, Gilvan. Polímeros Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros**, Ponta Grossa, vol. 23, n. 4, p. 538-546, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/po/v23n4/aop_1002.pdf>. Acesso em 01 de outubro de 2015.

ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882-91. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: **American Society for Testing and Materials**. 1996.

BARBOSA, Héllen Rodrigues, SILVA, Annelise Pinheiro, ASCHERI, Diego Palmiro Ramirez. **Elaboração de Biofilme de Amido de Caroço de Jaca (*Artocarpus heterophyllus*) e sua Aplicação em Embalagens de Medicamentos**. Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2009. Disponível em: <http://www.prp2.ueg.br/sic2010/fronteira/arquivos/trabalhos_2009/ciencias_agrarias/sic/elaboracao_de_biofilme.pdf> Acesso em outubro de 2015.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 24 de julho de 1978. Normas técnicas especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/resol/12_78.pdf> Acesso em agosto de 2014.

BAE, Sang e SHODA, Makoto. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* BPR2001 using molasses medium in a jar fermentor. **Biotechnological Products and Process Engineering**. Tokyo, v.67, p. 45-51, 2005.

BARUD, Hernane da Silva. **Materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana**. 2010. 172 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/105766>> Acesso em 09 de setembro de 2014.

BELGACEM, Mohamed. N.; GANDINI, Alessandro. Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources. 1ª edição, Elsevier, 2008.

CANNON, Robert; SKINNER O'Neill Peggy. *Acetobacter xylinum*: an inquiry into cellulose biosynthesis. **The American Biology Teacher**, v. 62, n. 6, p. 442-444, 2000.

CARREIRA, Pedro M. da C. **Produção de Celulose Bacteriana a Partir de Resíduos Industriais**. 150 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Aveiro – Departamento de Química, Portugal, 2010. Disponível em: <<https://ria.ua.pt/bitstream/10773/3981/1/tese%20final.pdf>> Acesso em novembro de 2014.

CHAWLA, Prashant R., BAJAJ Ishwar B., SURVASE, Shrikant A. e SINGHAL, Rekha S. Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 47 n. 2, 2009. Disponível em: <file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/2058_Chawla_1.pdf> Acesso em junho de 2014.

DONINI, Ígor A. N.; SALVI, Denise T. B. de; FUKUMOTO, Fabiana K.; LUSTRI, Wilton R.; BARUD, Hernane da S.; MARCHETTO, Reinaldo; MESSADDEQ, Younes; RIBEIRO, Sidney J. L. Biossíntese e Recentes Avanços na Produção de Celulose Bacteriana. **Eclética Química**, v. 35, n.4, São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-46702010000400021> Acesso em abril de 2014.

EL-SAIED, Houssini, EL-DIWANY, Ahmed I., BASTA, Altaf H., ATWA, Nagwa A. e EL-GHWAS, Dina E. Production and Characterization of Economical Bacterial Cellulose. **Bioresources**, v.3, n.4, p. 1196-1217, 2008. Disponível em: <https://www.ncsu.edu/bioresources/BioRes_03/BioRes_03_4_1196_EISaied_EBAE_Prod_Char_Econ_Bacterial_Cellulose.pdf> Acesso em: maio de 2014.

FELTRIN, Valdemar P., SANT'ANNA, Ernani S., PORTO, Anna C. S. e TORRES, Regina C. O. Produção de *Lactobacillus plantarum* em melaço de cana-de-açúcar. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 43, n. 1, Curitiba, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-89132000000100015&script=sci_arttext> Acesso em maio de 2015.

FERREIRA, Fábio A.B., GROSSMANN, Maria V.E, MALI, Suzana, YAMASHITA, Fábio, CARDOSO, Lisandro P. Effect of Relative Humidities on Microstructural, Barrier and Mechanical Properties of Yam Starch-Monoglyceride Films. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**. v.52, n.6, p. 1505-1512, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-89132009000600022&script=sci_arttext> Acesso em: outubro de 2015.

GEORGE, Johnsy; RAMANA, K.V.; SABAPATHY, S.N.; BAWA, A.S. Physico-mechanical properties of chemically treated bacterial (*Acetobacter xylinum*) cellulose membrane. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, p.1323–1327, 2005. Disponível em: <<http://rd.springer.com/article/10.1007/s11274-005-3574-0>> Acesso em: setembro de 2015.

GOMES, Fábio P. A. **Biossíntese de Celulose Bacteriana a partir de Resíduos Industriais**. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Aveiro, Departamento de Química, Portugal, 2011. Disponível em: <<https://ria.ua.pt/bitstream/10773/8054/1/246712.pdf>> Acesso em: junho de 2014.

GUTIERREZ, L. E. e SILVA, R. C. M. da. Fatty Acid Composition of Cane Molasses and Yeasts. **Scientia Agricola**. v. 50, n. 3, p. 473-477, Piracicaba, 1993. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90161993000300022&script=sci_arttext> Acesso em: maio de 2015.

HAULY, Maria C.de O.; OLIVEIRA, Andréa R. e OLIVEIRA, Antonio S. Produção de Ácido Lático por *Lactobacillus curvatus* em Melaço de Cana-de-açúcar. **Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 133-142. Londrina, janeiro/junho 2003. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2136>> Acesso em: abril de 2014.

HENRIQUE, Celina Maria. **Caracterização de filmes de féculas modificadas de mandioca como subsídios para aplicação em pós-colheita de hortícolas**. 2002, 142 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2002. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103283>> Acesso em outubro de 2015.

HUBER, George W., IBORRA, Sara e CORMA, Avelino. Synthesis of transportation fuels from biomass: Chemistry, catalysts, and engineering. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 9, 2006. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.167.985&rep=rep1&type=pdf>> Acesso em: outubro de 2015.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglia -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf> Acesso em abril de 2014.

JUNG, Ho Il, LEE, O-Mi, JEONG, Jin-Ha, JEON, Young-Dong, PARK, Ki-Hyun, KIM, Hong-Sung, An, Won-Gun e SON, Hong-Joo. Production and Characterization of Cellulose by *Acetobacter* sp V6 Using a Cost-Effective Molasses-Corn Steep Liquor Medium. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 486-497, 2010. Disponível em: <<http://rd.springer.com/article/10.1007%2Fs12010-009-8759-9#/page-1>> Acesso em: outubro de 2015.

KESHK, Salam, SAMESHIMA, Kazuhiko. The utilization of sugar cane molasses with/without the presence of lignosulfonate for the production of bacterial cellulose. **Biotechnological Products and Process Engineering**. p. 291-296, 2006. Disponível em: <<http://rd.springer.com/article/10.1007%2Fs00253-005-0265-6#/page-1>> Acesso em abril de 2014.

KLEMM, D.; SCHUMANN D.; UDHARDT U.; MARSCH S. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 44, n. 22, p. 3358- 3393, 2005.

KONG, Jai-Yul, JANG, Jae-Hyuk, BAE, Seung-Kwon, LIM, Dong-Jung e KIM, Bong-Jo. Rheological properties of polisaccharides produced by *Zoogloea* sp. **Biotechnology letters**, v.24, p. 297-301, 2002. Disponível em: <<http://rd.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1014093405826#page-1>> Acesso em maio de 2014.

LIMA, U. A. **Tecnologia das fermentações**, v. 1. São Paulo: E. Blucher, 285 p., 1987.

MADLA, Siribhoen, METHACANON, Pawadee, PRASITSIL, Maline e KIRTIKARA, Kanyawim. Characterization of biocompatible fungi-derived polymers that induce IL-8 production. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 275-280, 2005. Disponível em: <<file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/00b4953c9acd984c40000000.pdf>> Acesso em: abril de 2014.

MALI, Suzana; GROSSMANN, Maria Victória Eiras; YAMASHITA, Fábio. Filmes de Amido: produção, propriedades e potencial de utilização. Londrina, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010. Disponível em: <[file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/4898-17443-1-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/4898-17443-1-PB%20(2).pdf)> Acesso em setembro de 2015.

MARTINS, Anna Paula Carminatti. **Preparação e caracterização de Filmes Biodegradáveis para Aplicação em Embalagens de Alimentos**. Relatório de Estágio Supervisionado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 32 f, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/96652/Anna_Paula_Carminatti_Martins.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em 20 de outubro de 2015.

MELO, Francisco A. D. **Contribuição ao Estudo Cinético da Produção de Polissacarídeos Extracelulares por *Zoogloea* sp em Melaço de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 100 f, 2003. Disponível em: <http://www.repositorio.ufpe.br/bitstream/handle/123456789/6828/arquivo8009_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em junho de 2014.

MIRANDA, Luís A. S., SANT'ANNA, Ernani S. e PORTO, Anna C. S. The Growth of *Micrococcus varians* by Utilizing Sugar Cane Blackstrap Molasses as Substrate. **Revista de Microbiologia**, v. 30, n. 2, p. 125-129, 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0001-37141999000200007&script=sci_arttext Acesso em maio de 2015.

MORMINO, Richard; GOSTOMSKI, Peter; BUNGAY, Henry. "**Plate and disk bioreactors for making bacterial cellulose**" in Biological Systems Engineering M. R. Marten, T. H. Park and T. Nagamune ACS Symposium Series 830, 2002.

NÉRIS, Mozart de Araújo. **Desenvolvimento e Caracterização de Gel de Biopolímero Produzido pela Fermentação de Melaço de Cana-de-açúcar pelo Micro Organismo *Zoogloea sp.* Contendo Ácido Úsnico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 89 f, 2007. Disponível em: http://repositorio.ufpe.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3586/arquivo6388_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em outubro de 2015.

NGE, Thi Thi; SUGIYAMA, Junji e BULONE Vincent. **Bacterial Cellulose-based Biomimetic Composites**, Magdy Elnashar (Ed.), 2010, ISBN: 978-953-307-109-1, InTech, disponível em: <http://www.intechopen.com/books/biopolymers/bacterial-cellulose-based-biomimetic-composites>. Acessado em: outubro de 2014.

OLIVEIRA, Aline Fernandes. **Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Biofilmes e Esferas Obtidos a Partir de Carboximetilcelulose e Alginato de Sódio em Processos de Liberação Controlada de Nutrientes**. 2009. 150 f, Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009. Disponível em: [file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/270193%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/270193%20(2).pdf) Acesso em outubro de 2015.

OLIVEIRA, Tiara Gomes de. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona (*Ricinus communis L.*) modificada com glioxal e reforçados com fibras de celulose**. 2013. 85 f, Tese (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013. Disponível em: [file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/ME4977651COR%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/ME4977651COR%20(2).pdf) Acesso em setembro de 2015.

PAIVA, Vanessa Moreira Nunes. **Resíduos Agroindustriais para Produção de Goma Xantana**. Monografia - UFJF, Faculdade de Farmácia, Juiz de Fora, 48 f, 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/Vanessa%20EBAH.pdf> Acesso em abril de 2014.

PARK, Kil J. e ANTONIO, Graziella C. **Análises de Materiais Biológicos**. Universidade Estadual de Campinas e Faculdade de Engenharia Agrícola, 2006. Disponível em: <http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf> Acesso em outubro de 2015.

PICCHI, Juliano B. **Preparo e Caracterização Físico-Química e Biológica de um Biocompósito a Base de Celulose Associada a Própolis**. Dissertação (Mestrado em Química) USP – São Carlos, 71 f, 2010. Disponível em: <file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/TDE_JulianoBoturaPicchi%20(1).pdf> Acesso em maio de 2015.

PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, B.W.S.; MARTINS, J.T; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.A. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal, 2010.

PINHO, Eduardo. Biopolímeros: “plásticos” de grãos e tubérculos. **A Lavoura, Sociedade Nacional de Agricultura**, Rio de Janeiro, n.690, p. 22-23, 2012.

PRADELLA, José G. da C., **Biopolímeros e Intermediários Químicos**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos – Ciência, Tecnologia e Inovação, São Paulo, 119 f, 2006. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.redetec.org.br/wp-content/uploads/2015/02/tr06_biopolimeros.pdf&gws_rd=cr&ei=9E86Vu3FCcSxwASQ54SoBQ> Acesso em setembro de 2015.

RAMANA K.V., TOMAR A., e SINGH Lokendra. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, p.245-248, 2000. Disponível em: <http://rd.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1008958014270#page-1> Acesso em junho de 2014.

RIGO, Lisandra Naiara. **Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis**. 2006. 130 f. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechin – SC, 2006.

ROUKAS, Triantafyllos. Pretreatment of beet molasses to increase pullulan production. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 8, 1998.

SILVA, Carlos E. **Produção Enzimática de Frutooligossacarídeo (FOS) por Leveduras a partir de Melaço de Cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 52 f, 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/Isabela%20Canci/Downloads/Carlos_Silva%20(1).pdf> Acesso em maio de 2014.

VALDUGA, Eunice; VALÉRIO, Alexsandra; TREICHEL, Helen; LUCCIO, Marcio Di; JACQUES, Rosângela Assis e JÚNIOR, Agenor Fúrigo. **Pré-tratamento de Melaço de Cana-de-Açúcar e Água de Maceração de Milho para a Bioprodução de Carotenóides**. Universidade Regional Integrada, Erechin – RS, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000800012> Acesso em maio de 2014.

WALISZEWSKI, K.N.; ROMERO, A.; PARDIO, V.T. Use of cane condensed molasses in feeding broilers. **Animal Feed Science Technology**, v. 67, p. 253-258, 1997.

WITTAYA, Thawien. Rice Starch-Based Biodegradable Films: Properties Enhancement. **Structure and Function of Food Engineering**. p. 953-978, n. 51. Prince of Songkla University, Thailand (2012). Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/38357.pdf> Acesso em maio de 2014.