



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

KELVI WILSON EVARISTO MIRANDA

EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS ECO-FRIENDLY COM NANOFIBRAS DE
CELULOSE BACTERIANA E ÓXIDO DE CARBONO AMORFO HIDRATADO:
OBTENÇÃO, PROCESSAMENTO E PROPRIEDADES DOS MATERIAIS

FORTALEZA

2025

KELVI WILSON EVARISTO MIRANDA

EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS ECO-FRIENDLY COM NANOFIBRAS DE CELULOSE
BACTERIANA E ÓXIDO DE CARBONO AMORFO HIDRATADO: OBTENÇÃO,
PROCESSAMENTO E PROPRIEDADES DOS MATERIAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal.

Orientador: Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos.

Coorientador: Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M643e Miranda, Kelvi Wilson Evaristo.

Embalagens alimentícias eco-friendly com nanofibras de celulose bacteriana e óxido de carbono amorfo hidratado : obtenção, processamento e propriedades dos materiais / Kelvi Wilson Evaristo Miranda. – 2025. 157 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos Torres.

Coorientação: Profa. Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

1. Alimentos - Embalagens. 2. Embalagens sustentáveis. 3. Nanofibrilas de celulose. 4. Biopolímeros. 5. Resíduos orgânicos. I. Título.

CDD 664

KELVI WILSON EVARISTO MIRANDA

EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS ECO-FRIENDLY COM NANOFIBRAS DE CELULOSE
BACTERIANA E ÓXIDO DE CARBONO AMORFO HIDRATADO: OBTENÇÃO,
PROCESSAMENTO E PROPRIEDADES DOS MATERIAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal.

Aprovada em: 06/10/2025.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Júlio Cesar Ugucini
Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Profa. Dra. Andrêssa Maria Medeiros Theóphilo Galvão
Universidade de Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Dr. Francisco Rogênio da Silva Mendes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Dra. Luana Guabiraba Mendes
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

À Deus.

Aos meus pais, Antonio e Margarida.

Aos meus irmãos, Kévin e Káren.

Ao meu amor e meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo, pela saúde, pela coragem e disposição que me concedera durante todo esse processo de um segundo doutorado; por ouvir minhas preces nos momentos mais angustiantes nas noites que me fiz desacreditar e, Ele sempre mostrava uma luz, uma esperança para eu continuar e nunca desistir.

À minha família, por acreditar no meu potencial, a minha mãe Margarida Evaristo (mulher forte, guerreira e cheia de fé); ao meu pai, Antonio Wilson; meus irmãos: Káren Evaristo e Kévin Wilson; e, não menos importante: meus avós e tios. Em especial, ao meu companheiro, Gilleno Ferreira, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, pois sei que seu abraço silencioso, suas “brincas”, a sua presença foram e são reconfortantes e foi de onde tirei mais força para continuar.

À Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade em realizar este doutorado junto ao Departamento de Engenharia de Alimentos (DEAL) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA).

Ao CNPq, pelo fomento do projeto no qual esta pesquisa foi realizada (processo n. 404638/2021-0).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) pela possibilidade de desenvolver este trabalho, pela contribuição para minha formação como pesquisador e pelos direcionamentos à formação de parceiros.

A Profa. Dra. Lucicléia Barros de Vasconcelos, por aceitar o desafio da orientação deste segundo doutorado, pelas compreensões e assistências dadas no LabINOVA – Laboratório de Pesquisa e Inovação em Produtos Vegetais e Embalagens – e toda a equipe que nele existem, desde o corpo técnico aos companheiros de pesquisa (pós-graduandos, bolsistas Pibic, voluntários).

A Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos, por toda atenção investida, desde 2009 à presente data, pelos conselhos e companheirismo científico na supervisão no Laboratório de Embalagem de Alimentos na EMBRAPA Agroindústria Tropical. Gratidão que se estende à Dra. Selene Daiha e Dra. Roselayne Furtado por toda a assistência dada de longas datas.

Ao Prof. Dr. Juliano Elvis de Oliveira, por ter sido a minha primeira fonte de inspiração de como entender e ser em um doutorado, através das trocas de experiências e superações de desafios e, gratificante experiência compartilhada no GIP – Grupo Interdisciplinar de Polímeros.

Ao Prof. Dr. Tiago Marcolino de Souza, por ter aceitado este desafio do doutorado junto com o pós-doutorado pela Universidade do Estado do Amapá (UEAP), onde podemos construir laços de parcerias científicas entre as regiões norte e nordeste.

A profa. Dra. Andrêssa Maria Medeiros Theóphilo Galvão pela amizade deste a graduação até agora, companheira de ciência, das motivações e “loucuras” enfrentadas juntas na forma de desafios e superações.

A Dra. Luana Guabiraba Mendes pela colaboração científica ao longo dos anos de pesquisa junto à Universidade e a EMBRAPA. Além de fonte de inspiração e de determinação, quando se trata do “correr atrás”.

Ao Dr. Francisco Rogênio da Silva Mendes, pelas muitas colaborações e parcerias na ciência e na vida, desde o mestrado. Com dedicação e paixão no que ama, sendo atencioso e dedicado à ciência.

Aos amigos da minha vida que sempre me apoiaram e entenderam, mesmo nos momentos mais difíceis aqui representados: Gabrielle Freire, Fábía Costa, Maryana Melo, Willian Araújo, Marília Guaraldo, Regivânia Gomes, Joana Alexandre, Luana Carvalho, Anderson Mendes, Glauber Batista, Vitória Marques, Victor Hugo, Joseline Martins, meu muitíssimo obrigado, pois sei que sempre tentaram tirar um sorriso e desejaram o meu retorno para casa.

À parceria entre Universidade Federal do Ceará e EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - unidade Agroindústria Tropical, Fortaleza/CE, que juntas proporcionaram a estrutura necessária para desenvolver tal pesquisa. Assim como, à Universidade Estadual do Ceará (UECE), Universidade da Madeira (UMA, Portugal) com o Centro de Pesquisa e Tecnologia em Ciências Agroambientais e Biológicas (CiTAB, Portugal), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Universidade de Ohio (EUA), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA).

Aos meus eternos amigos da minha vida, que infelizmente já não se encontram entre nós, apenas um enorme agradecimento especial: Mônica K. Freire, Rafael Ramalho, Ronald Braga e Christina Guaraldo, pois sei que eles estão muito bem onde quer que estejam. Vocês são minhas fontes de inspiração quando quero definir o significado da frase “viver e não ter a vergonha de ser feliz...” (Gonzaguinha).

A todos que direta ou indiretamente tornaram esse momento possível, meu mais sincero **OBRIGADO!**

“Viver e não ter a vergonha de ser feliz. Cantar, e cantar, e cantar a beleza de ser um eterno aprendiz.” (Gonzaguinha).

RESUMO

Esta pesquisa objetivou desenvolver uma embalagem *eco-friendly* sustentável através do uso de nanofibrilas de celulose bacteriana obtidas de resíduos de agroindustriais e óxido de carbono amorfo hidratado de origem vegetal. A pesquisa foi realizada em três etapas: (i) obtenção e caracterização de nanofibrilas de celulose bacteriana (BCN) a partir de fontes alternativas de carbono fermentável dos resíduos agroindustriais de graviola (*Annona muricata* L.) e jenipapo (*Genipa americana* L.) das regiões tropicais da Amazônia brasileira, através de rota fermentativa estática; (ii) investigação do processamento de uma suspensão óxido de carbono amorfo hidratado de origem vegetal (HSACO) via cavitação ultrassônica em meio hidroalcoólico, otimizando as condições para obtenção de dispersões nanoestruturadas estáveis, com propriedades funcionais e de segurança biológica; e (iii) desenvolvimento de uma embalagem *eco-friendly* com HSACO e BCN, através do método *casting* descontínuo, como solução viável e estratégica no âmbito das esferas econômica, ambiental e social. Foram utilizadas duas matrizes poliméricas distintas: proteica (gelatina) e sintética (poli(álcool vinílico) – PVA). Na etapa I, as fontes alternativas se mostraram viáveis na formação de BCN, sendo soluções ecológicas, sustentáveis e econômicas, devido a biodisponibilidade na produção de biomateriais. As BCN apresentaram índice de cristalinidade superior à 75%, formada por uma rede de micro, submicro e nanoestruturas de forma handômica. Na etapa II, a cavitação ultrassônica na HSACO se mostrou eficiente, formando uma suspensão estável, condutivo, polidisperso ($PDI \leq 3,0$), em 30 %W por 120 min. Organização estrutural similar ao óxido de grafeno e óxido de grafeno reduzido, com nanoestruturas isoladas <100 nm. Além disso, não houve mortalidade ou alterações anatômicas no teste de toxicidade aguda em *Danio rerio* (zebrafish). Por fim, na etapa III, a incorporação de HSACO e BCN de jenipapo nas matrizes poliméricas (gelatina e PVA), resultou em embalagens com excelentes propriedades de barreira à radiação UV, mantendo altos níveis de transparência. Adicionalmente, as propriedades mecânicas foram aprimoradas quanto à tenacidade, resistência à tração e elasticidade dos materiais com a incorporação de 5,0% (v/v) de BCN. Tais resultados demonstram que as embalagens desenvolvidas são tecnologicamente viáveis. A incorporação de HSACO e BCN, oriundos de fontes sustentáveis, como nanoaditivos de reforço confirma o significativo potencial científico, tecnológico e inovador desta abordagem para o desenvolvimento de novos materiais para a indústria de alimentos.

Palavras-chave: sustentável; filme *casting*; biopolímero; polímero sintético.

ABSTRACT

This research aimed to develop sustainable eco-friendly packaging using bacterial cellulose nanofibrils obtained from agro-industrial waste and hydrated amorphous carbon oxide of plant origin. The research was carried out in three stages: (i) obtaining and characterizing bacterial cellulose nanofibrils (BCN) from alternative sources of fermentable carbon from agro-industrial waste from soursop (*Annona muricata* L.) and genipap (*Genipa americana* L.) from the tropical regions of the Brazilian Amazon, through a static fermentation route; (ii) investigation of the processing of a hydrated amorphous carbon oxide suspension of plant origin (HSACO) via ultrasonic cavitation in a hydroalcoholic medium, optimizing the conditions for obtaining stable nanostructured dispersions with functional and biological safety properties; and (iii) development of eco-friendly packaging with HSACO and BCN, through the discontinuous casting method, as a viable and strategic solution in the economic, environmental, and social spheres. Two distinct polymer matrices were used: protein (gelatin) and synthetic (polyvinyl alcohol – PVA). In stage I, the alternative sources proved to be viable in the formation of BCN, being ecological, sustainable, and economical solutions due to their bioavailability in the production of biomaterials. The BCNs had a crystallinity index greater than 75%, formed by a network of micro, submicro, and nanostructures of random shape. In stage II, ultrasonic cavitation in HSACO proved to be efficient, forming a stable, conductive, polydisperse (PDI ≤ 3.0) suspension at 30%W for 120 min. Structural organization, such as graphene oxide and reduced graphene oxide, with isolated nanostructures <100 nm. Additionally, no mortality or anatomical changes were observed in the acute toxicity test *Danio rerio* (zebrafish). Finally, in stage III, the incorporation of HSACO and BCN from genipap into polymer matrices (gelatin and PVA) resulted in packaging with excellent UV radiation barrier properties, maintaining high levels of transparency. In addition, the mechanical properties were improved in terms of toughness, tensile strength, and elasticity of the materials with the incorporation of 5.0% (v/v) BCN. These results demonstrate that the developed packaging is technologically viable. The incorporation of HSACO and BCN, derived from sustainable sources, as reinforcing nanoadditives confirms the significant scientific, technological, and innovative potential of this approach for developing new materials for the food industry.

Keywords: sustainable; casting film; biopolymer; synthetic polymer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Apresentação das etapas do projeto em divisões por capítulos da tese	19
Figura 2 – Esquematização dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) apresentado pelas Nações Unidas	21
Figura 3 – Princípio dos 7R's proposto pela educação ambiental baseado na Lei Federal nº 12.305/2010	24
Figura 4 – Esquematização das principais fontes de obtenção de biopolímeros	28
Figura 5 – Esquematização dos principais resíduos de origem vegetal gerados pela indústria de alimentos	31
Figura 6 – Imagem da formação das fibras de celulose e o complexo para as biomembranas de celulose bacteriana	33
Figura 7 – (A) Esquematização simplificada da rota metabólica de formação das fibras de celulose utilizando a cepa <i>K. xylinus</i> e (B) fotografia da biomembranas formada no processo fermentativo	34
Figura 8 – Representação esquemática da ligação $\beta(1\rightarrow4)$ em monômeros de β -D-glucopirranose para formação da rede nanofibrilar randômica	35
Figura 9 – Evolução anual do número de publicações científicas sobre celulose bacteriana em embalagem de alimentos (2021-2025)	38
Figura 10 – Mapa de rede dos agrupamentos das palavras-chave “bacterial cellulose” e “food packaging” organizados ao longo dos anos (2021-2025)	39
Figura 11 – Distribuição quantitativa da nanotecnologia por área de concentração, produtos, empresas e países, segundo NPD – Nanotechnology Products Database	42
Figura 12 – NPD – Nanotechnology Products Database – de distribuição no setor alimentícios	44

Figura 13 – Esquema de categorização dos derivados do grafeno de acordo com as propriedades como número de camadas de grafeno, conteúdo de oxigênio (relação atômica carbono/Oxigênio – C/O) e dimensão lateral médio (nm) ... 45

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Lista de resíduos agroindustriais utilizados para produção de celulose bacteriana por rota fermentativa nos anos de 2021-2025, segundo as bases de dados Scopus e Web of Science.	36
Quadro 2 – Uso da celulose bacteriana como matriz no desenvolvimento de embalagem alimentícias	40
Quadro 3 – Tipos de selos certificadores e a quantificação de produtos e empresas que utilizam da nanotecnologia em seus produtos de mercado, segundo NPD – Nanotechnology Products Database	43
Quadro 4 – Pesquisa representativa de impacto da aplicação do grafeno (óxidos e similares/derivados) com diferentes matrizes poliméricas com aplicação em embalagem de alimentos entre os anos 2020 e 2025	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise estimada do mercado de embalagem e suas variedades durante o período de 2025-2030	22
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Tridimensional
ABRELPE	Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais
ABREMA	Associação Brasileira de Resíduos e Meio Ambiente
AIW	Resíduo Agro-Industrial
BCB	Biomembrana de Celulose Bacteriana
BCN	Nanofibra de Celulose Bacteriana
CS	Quitosana
FDA	Food and Drug Administration
GNP	Nanoplacas de grafeno
GRAS	Geralmente Reconhecido como Seguro
GRS	Geração dos Resíduos Sólidos
HSACO	Suspensão de Óxido de Carbono Amorfo Hidratado de Origem Vegetal
MWCNT	Nanotubos de Carbono de Múltiplas Camadas
NPD	Nanotechnology Products Database
ODM	Objetivos de Desenvolvimento do Milênio
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OG	Óxido de grafeno
OGr	Óxido de grafeno reduzido
ONU	Organização das Nações Unidas
PD&I	Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação
PDA	Perda e Desperdício de Alimentos
PEG	Poli(etileno glicol)
PPVC	Poli(cloreto de vinila) plastificado
PVA	Poli(álcool vinílico)
PVP	Polivinilpirrolidona
SCOPY	Consórcio Simbiótico de Bactérias e Leveduras
UV	Ultravioleta
WCED	World Commission on Environment and Development
WEF	World Economic Forum
XRD	Difração de raios X

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
©	Copyright
®	Marca Registrada
\$	Unidade monetária

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVO	18
2.1	Geral	18
2.2	Específico	18
3	ESTRUTURA DO TRABALHO	19
4	REFERENCIAL TEÓRICO	20
4.1	O papel das embalagens na segurança alimentar e no combate ao desperdício de alimentos	20
4.2	Resíduos sólidos e modernização da sociedade	22
4.3	Biopolímeros e materiais <i>eco-friendly</i> como solução sustentável	26
4.3.1	<i>Conceito e classificação dos biopolímeros</i>	26
4.3.2	<i>Resíduos agroindustriais: vantagens e desafios</i>	29
4.4	Celulose bacteriana como biopolímero de alto desempenho	32
4.4.1	<i>Biossíntese, características e propriedades</i>	32
4.4.2	<i>Utilização de resíduos agroindustriais na obtenção de BCN</i>	36
4.4.3	<i>Aplicações potenciais na indústria de alimentos e embalagens</i>	38
4.5	Nanotecnologia aplicada a embalagens	41
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE A – VALORIZATION OF TROPICAL AMAZONIAN FRUIT AGRO-INDUSTRIAL WASTES FOR SUSTAINABLE PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE NANOFIBERS	61
	APÊNDICE B – ULTRASOUND-ASSISTED PROCESSING OF AMORPHOUS HYDRATED CARBON OXIDE FROM PLANT ORIGIN: PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY AS CONDUCTIVE NANOCOMPOSITES FOR FOOD PACKAGING	90
	APÊNDICE C – EMBALAGEM ALIMENTÍCIA COM BIOCOMPÓSITOS DE ÓXIDO DE CARBONO AMORFO HIDRATADO E NANOFIBRILAS DE CELULOSE BACTERIANA: PROPRIEDADES DE BARREIRA E MECÂNICA	122

1 INTRODUÇÃO

As altas demandas da sociedade causadas por sua modernização têm se tornado um dos principais fenômenos e desafios contemporâneos, que, em conjunto com o progresso econômico, possibilita o aparecimento de alterações ambientais nos segmentos de alimentos seguros e de qualidade: produção, armazenamento e distribuição (Buss; Henkes, 2014a; Leach et al., 2020; Nicoletti; Serrone, 2017).

Mourad e Tavares (2020) relatam que as embalagens de alimentos durante o processo de evolução e modernização da sociedade, têm ganhado destaque. Os envoltórios participam de forma intrínseca tanto na segurança quanto na qualidade do alimento, tempo de prateleira (*shelf-life*), manutenção das características sensoriais e nutricional, quando relacionado à alimento fresco (*in natura*) e sob refrigeração e/ou congelamento. Em 2023, segundo dados da Associação Brasileira de Resíduos e Meio Ambiente (ABREMA, 2024), o Brasil apresentou um aumento de 2,5% na geração de resíduos sólidos em relação ao ano de 2018, gerando um total superior à 80 milhões ton. A ABREMA estima uma geração média de 382 kg/habitante/ano, o que corresponde a um descarte diário superior a 1,0 kg/habitante de resíduo sólido. Cerca de 5,0% desse montante são compostos por materiais de embalagens (ABREMA, 2024).

Análises do tamanho do mercado de embalagens no geral, em 2025, é estimado em US\$ 1,18 trilhão, devendo atingir a marca de US\$ 1,44 trilhão até 2030 (Mordor, 2025). Para a Mordor Intelligence (2025), o mercado de embalagens biopoliméricas atingirá a produção de 22,61 milhões de toneladas até 2030, um aumento de 12,44% durante o período de 2025-2030. O rápido progresso em tecnologias tem impulsionado pesquisas de novos materiais ecologicamente corretos (*eco-friendly*), os quais vêm delineando um futuro promissor no setor industrial de materiais e alimentos, chamando de “ecologia industrial sustentável” (Haghighi et al., 2019a).

A produção e utilização de materiais biopoliméricos tem demonstrado um grande potencial expansivo nos setores industriais devido sua viabilidade de obtenção, uso de tecnologias limpas e baixo custo (Landim et al., 2016). Os biopolímeros podem ser obtidos de diferentes fontes renováveis de curto ciclo de vida, o que se contrapõe ao petróleo, um recurso fóssil não renovável com ciclo de vida muito longo (Brito et al., 2011). As principais fontes de obtenção desses biopolímeros são: (i) biomassa (matrizes polímeros de recursos agrícolas): amidos (Sanches et al., 2021), produtos lignocelulósicos (Da Silva et al., 2020), pectinas, gomas, quitina/quitosana (Wang et al., 2020) e celulose bacteriana (Cazón; Vázquez, 2021a);

e, (ii) proteínas e lipídios de origem animal (caseína, soro de leite, colágeno/gelatina) e de origem vegetal (zeína, soja, glúten) (Fonseca et al., 2022). Nesse contexto, o desenvolvimento de embalagens *eco-friendly* para aplicação em embalagens alimentícias se apresenta com uma abordagem potencialmente viável e inovadora, devido às matrizes biopoliméricas apresentarem baixo valor agregado e/ou baixo custo de produção/obtenção. A busca por inovações tecnológicas emergentes no setor de embalagens, objetiva promover interações intencionais entre alimento–embalagem–ambiente, integrando, para tal, avanços que conferem propriedades e funcionalidades melhoradoras, a exemplo da nanotecnologia.

A nanotecnologia compreende a empregabilidade tecnológica dos materiais obtidos e estudados pela nanociência, a fim de criar estruturas com elevada organização, em prol do desenvolvimento de novos materiais e/ou melhorias nas propriedades e características dos já existentes (Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2022). As nanoestruturas (nanopartícula, nanofibra, nanoemulsão, *nanowhisker* etc.) precisam estar, uniformemente, dispersas na matriz polimérica, maximizando a interface nanomaterial/matriz, para que haja efetiva transferência da carga de reforço (Coleman; Khan; Gun'ko, 2006; Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2022). Nanomateriais à base de carbono (nanotubos, grafeno, grafite, óxidos de carbono, por exemplo) estão amplamente sendo utilizados em matrizes poliméricas na formação de nanocompósitos com propriedades mecânicas, ópticas, térmicas, magnéticas e/ou elétricas melhoradas (Martins et al., 2022a).

O presente estudo se concentra no desenvolvimento de embalagens sustentáveis, mediante utilização de compósitos de base biológica. Explora-se a aplicação do óxido de carbono amorfo hidrato de origem vegetal e das nanofibras de celulose bacteriana obtidas a partir de resíduos agroindustriais. Essa abordagem situa a pesquisa na interface entre tecnologia de alimentos e ciência de materiais.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Desenvolver embalagens alimentícias *eco-friendly* por meio da incorporação de (bio)nanocompósitos inovadores, verdes e sustentáveis: óxido de carbono amorfo hidratado de origem vegetal e nanofibras de celulose bacteriana, a partir de resíduos agroindustriais.

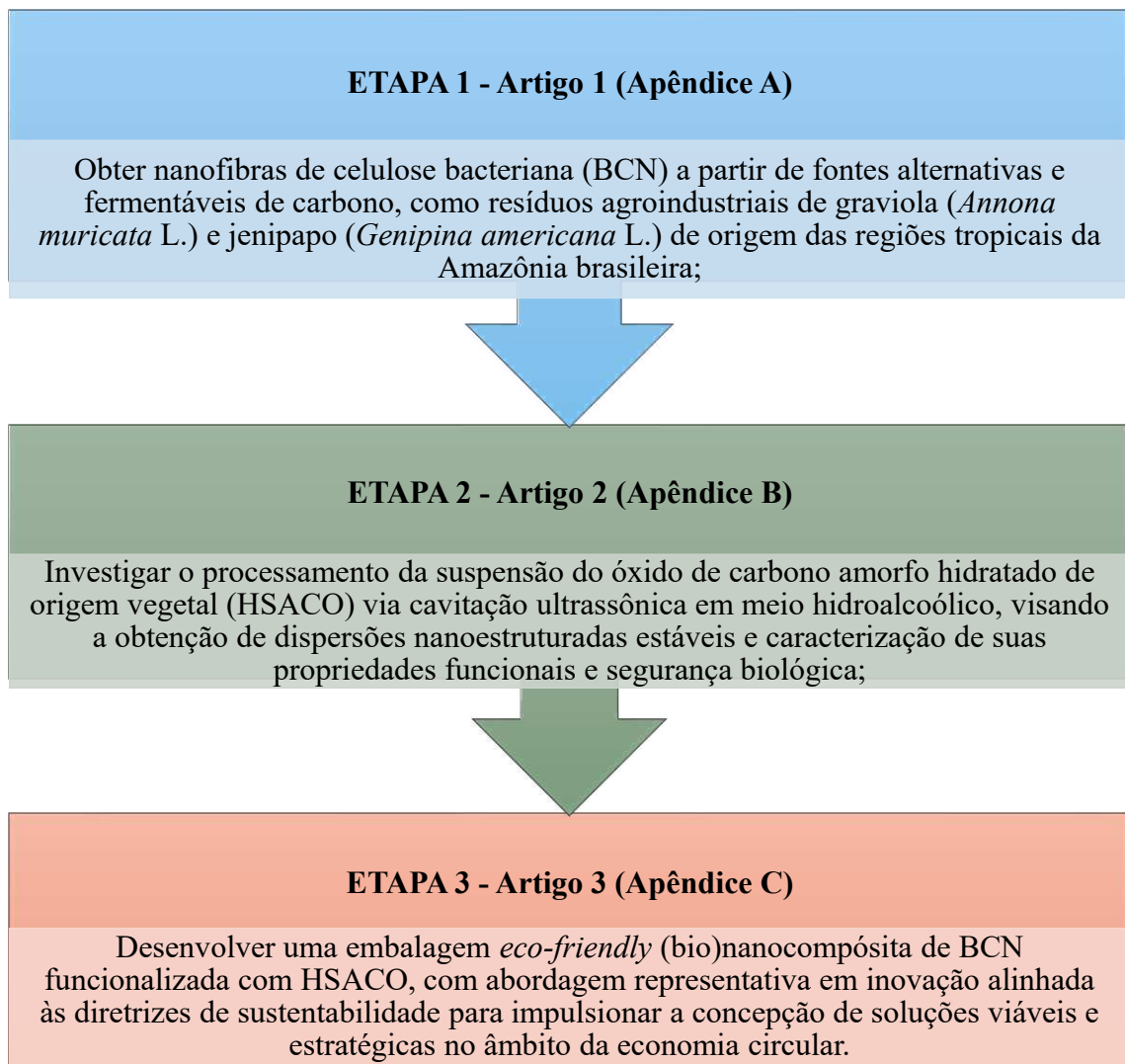
2.2 Específicos

- Obter nanofibras de celulose bacteriana (BCN) a partir de fontes alternativas e fermentáveis de carbono, como resíduos agroindustriais de graviola (*Annona muricata* L.) e jenipapo (*Genipina americana* L.) de origem das regiões tropicais da Amazônia brasileira;
- Investigar o processamento da suspensão do óxido de carbono amorfo hidratado de origem vegetal (HSACO) via cavitação ultrassônica em meio hidroalcoólico, visando a obtenção de dispersões nanoestruturadas estáveis e caracterização de suas propriedades funcionais e segurança biológica;
- Desenvolver uma embalagem *eco-friendly* (bio)nanocompósita de BCN funcionalizada com HSACO, com abordagem representativa em inovação alinhada às diretrizes de sustentabilidade para impulsionar a concepção de soluções viáveis e estratégicas no âmbito da economia circular.

3 ESTRUTURA DO TRABALHO

Esta tese foi organizada em 5 capítulos. No Capítulo 1 são apresentados: introdução, objetivos (geral e específicos), revisão bibliográfica e estrutura do trabalho (divisão das etapas e como os resultados foram organizados e divulgados). Nos Capítulos 2, 3 e 4, são apresentados os resultados experimentais referentes às Etapas 1, 2 e 3 em que a tese foi dividida. Neste caso, no formato de artigos científicos, com as informações das revistas as quais foram submetidas, como definidas na Figura XX.

Figura 1. Apresentação das etapas do projeto em divisões por capítulos da tese.



Fonte: elaborada pelo autor.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 O papel das embalagens na segurança alimentar e no combate ao desperdício de alimentos

A insegurança alimentar aguda (“*hunger hotspots*”) é uma preocupação crescente, com projeção de alcançar 222 milhões de pessoas em 53 países/territórios (FAO; WFP, 2022). Estima-se que no período de outubro/2022 a janeiro/2023, 19 países atingiram o “*hunger hotspots*”, isto é, a condição de alta vulnerabilidade (FAO; WFP, 2022). Assim, o volume de alimentos desperdiçados associado a escassez em outros países, tem apresentado um crescimento preocupante em ritmo alarmante (Ishangulyyev; Kim; Lee, 2019).

Embora a conscientização corporativa e pública sobre Perda e Desperdício de Alimentos (PDA) venha se mostrando crescente, a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) mostra que, aproximadamente, um terço dos alimentos produzidos em âmbito global são perdidos ou desperdiçados, isto é, cerca de 1,3 bilhão de toneladas de alimentos comestíveis (Baysal; Ülkü, 2022; Ishangulyyev; Kim; Lee, 2019). Segundo a Associação Brasileira das Centrais de Abastecimento – ABRACEN (2022), as perdas no Brasil correspondem a 30% dos alimentos pós-colheita, aproximadamente, colocando-o na lista dos dez países que mais desperdiçam alimentos.

Para mitigar o elevado volume de PDA, faz-se necessário compreender os motivos e as causas, seja de forma intencional ou não é preciso subsidiar medidas de redução (Flanagan; Robertson; Hanson, 2019). Nesse sentido, é preciso diferenciar perda de desperdício, como relato por Frota et al. (2022). Os autores explicam que “perda” é o alimento inerente à produção, a pós-colheita e ao processamento. Enquanto o “desperdício” é avaliado como alimentos descartados com características e parâmetros ainda próprios para consumo, tal ação é resultado, em grande parte, do comportamento subjetivo do consumidor.

Entre os anos 2000 e 2015, foram criados os oito Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (ODM) durante a Cúpula de Desenvolvimento Sustentável pela Organização das Nações Unidas (ONU), os quais fazem parte da chamada Agenda 2030. A agenda possui como eixo central os dezessete Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e 169 metas, que incluem a erradicação da fome (Figura 2). Tais ODS constituem um modelo global que visa estimular ações exequíveis até 2030 em áreas de crucial importância e impacto para a humanidade e para o planeta (FAO, 2018).

Figura 2 – Esquematisação dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) apresentado pelas Nações Unidas.



Fonte: UN, (2025).

Para atender aos ODS, é interessante buscar por políticas públicas, além do apoio e engajamento dos setores de alimentos, agricultura e indústria, a fim de identificar e implementar reformas necessárias. Embora a cadeia de suprimentos dos setores alimentícios, da agricultura/produção à embalagem e distribuição (varejo e atacado), seja considerada extremamente complexa, observa-se nas diversas sociedades e culturas, um crescente interesse por inovações tecnológicas que possam prevenir e/ou controlar a deterioração dos alimentos de forma mais consciente por parte do consumidor (Alam et al., 2021). Desta forma, as embalagens participam de forma intrinsecamente importante na segurança do alimento, na extensão da vida útil, na manutenção da qualidade e características *in natura* de alimentos frescos, refrigerados e/ou congelados.

Segundo dados da FAO a quantidade de alimentos perdidos e desperdiçados seria suficiente para aliviar a situação de vulnerabilidade nutricional de um oitavo da população mundial, contribuindo para alcançar um dos objetivos globais de promover o aumento da demanda e acessibilidade por alimentos saudáveis (Gustavsson; Cederberg; Sonesson, 2011).

A busca por inovação em novos materiais ecologicamente corretos (*eco-friendly*) tem mostrado um futuro promissor junto ao setor industrial, o qual se apresenta como um grande aliado e motivador para o fortalecimento dessas iniciativas, pautando-se nos princípios da “ecologia industrial sustentável” (Haghighi et al., 2019b; Zore; Čuček; Kravanja, 2018). Diante dos grandes impactos ambientais proporcionados pelo grande volume de resíduos orgânicos destinados aos aterros sanitários e/ou lixões, o elevado preço (processo e produto) tem motivado

o interesse por materiais alternativos (Brito et al., 2011). Análises da Mordor Intelligence, mostram o tamanho do mercado de embalagens, em 2025, estimado em US\$ 1,18 trilhão, devendo atingir a marca de US\$ 1,44 trilhão até 2030 (Mordor, 2025). No caso das embalagens biopoliméricas, a expectativa é a produção de 22,61 milhões de toneladas até 2030, um aumento de 12,44% durante o período de 2025-2030. O mercado de embalagens fica em constantes transformações, as quais são impulsionadas por fatores como: sustentabilidade, inovações tecnológicas, evolução do mercado consumidor e mudanças na dinâmica mercadológica (Tabela 1).

Tabela 1. Análise estimada do mercado de embalagem e suas variedades durante o período de 2025-2030.

Mercado	2025 (US\$ bilhão)	2030 (US\$ bilhão)	Taxa de crescimento (%) (2025-2030)
Embalagem sustentável	303,8	433,49	7,37
Embalagem plástica biodegradável	3,01	7,7	20,67
Embalagem verde	352,03	460,49	4,55
Embalagem biodegradável	111,54	149,06	5,97
Embalagem bioplástico	6,27	15,25	20,67
Embalagem com material reciclado	199,93	258,46	5,27

Fonte: Mordor (2025) com adaptações.

As embalagens alimentícias atuam como agentes de barreiras, apresentando-se como excelentes alternativas para evitar ou reduzir a susceptibilidade dos alimentos a diferentes reações de degradação química, físico-química e/ou bioquímica. Além disso, podem promover alta barreira de interação do meio interno (alimento) em relação ao meio externo (ambiente) (Kuswandi; Jumina, 2020; Wikström et al., 2019).

4.2 Resíduos sólidos e modernização da sociedade

A modernização acelerada da sociedade, atrelada ao processo da globalização mercadológica são considerados os principais fenômenos socioeconômicos contemporâneos, os quais permitiram o surgimento de mudanças ambientais com o avanço do setor industrial alimentício (Leach et al., 2020; Okikiola, 2022). O crescimento do mercado consumidor tem provocado o aumento da demanda por alimentos mais frescos e de excelência em qualidade,

com um perfil de custos reduzido (Nicoletti; Serrone, 2017). Consequentemente, são observadas influências sobre a cultura da nova sociedade, a qual se caracteriza por consumir alimentos práticos e rápido consumo (*fastfood*), seguros (*safe*) e de qualidade.

A exposição do mercado à competitividade globalizada motivou o setor industrial alimentício a desenvolver ações eficientes e eficazes, para fins de sobrevivência ou permanência ativa nos negócios. Tais estratégias estão intrinsecamente relacionadas ao sistema produtivo de alimentos seguros (*food safe*), abrangendo por exemplo o setor de embalagens para alimentos (Wissmann; Hein; Neuls, 2013). Segundo Mourad e Tavares (2020), as embalagens passavam despercebidas pelos consumidores. Contudo, com a evolução da sociedade, além do conteúdo interno (alimento) ser o foco principal no ato da compra, as embalagens passaram a desempenhar um papel igualmente importante.

As embalagens de alimentos contribuem de forma intrínseca para a segurança do alimento, inferindo diretamente no tempo de prateleira, auxiliando na manutenção da qualidade e segurança alimentar. Contudo, a administração das embalagens após o consumo é considerada ineficaz e inadequada, levando a desequilíbrios entre produção e reaproveitamento, resultando em impactos ambientais graves com o acúmulo incontrollável dos chamados resíduos sólidos (Mourad; Tavares, 2020).

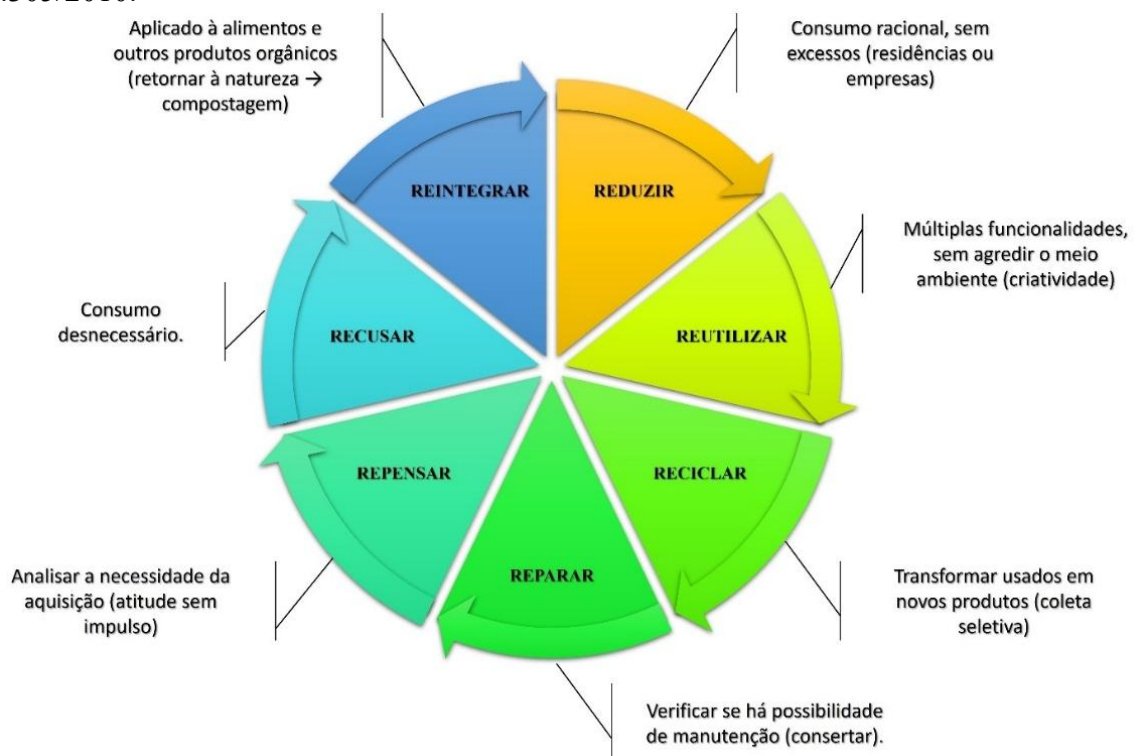
No Brasil, a Lei Federal nº 12.305, de 02 de agosto de 2010 que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) define no Cap. II, art. 3º, inc. XVI: “*Resíduos Sólidos: material, substância, objeto ou bem descartado, resultante de atividades humanas em sociedade (...)*” (Brasil, 2010). A geração dos resíduos sólidos (GRS), como as embalagens e resíduos industriais, requer uma sintonia entre o setor produtivo, a ecoeficiência, o meio ambiente, os órgãos fiscalizadores governamentais e a sociedade em geral como destacado por Wissmann, Hein e Neuls (2013). Segundo os autores, esta rede de interação complexa, deve ter por base uma verificação periódica dos efeitos e dos recursos utilizados, no que condiz à disposição final das embalagens pós-consumo. Os órgãos fiscalizadores devem promover uma política de racionalização e viabilização na GRS, através de técnicas de controle, a fim de minimizar o impacto ambiental. Assim, desencadeando uma responsabilidade socioambiental fundamentada, também, no planejamento empresarial (Buss; Henkes, 2014b).

Segundo a Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE, 2019), o Brasil registrou aumento de 1,0% na geração total de resíduos sólidos entre os anos de 2017 e 2018, atingindo mais de 79 milhões de toneladas em 2018, o equivalente à 380 kg/ano/indivíduo (mais de 1 kg de resíduo sólido gerado por dia por indivíduo), sendo cerca de 32% composto por embalagens. Em 2023, houve um aumento de 2,5% do total de

resíduos sólidos, totalizando 80.957.467 toneladas (ABREMA, 2024). Dessa forma, é sinalizada a necessidade de implementações de políticas públicas eficientes capazes de promover a redução tanto da demanda por matérias-primas, como a redução do impacto ambiental, tendo em vista a destinação final, inadequada ou não, de grande parte desses resíduos em lixões ou aterros sanitários (Mourad; Tavares, 2020). No mundo, mais de 89 bilhões de toneladas de matérias-primas são extraídas atualmente e 91% do volume de resíduos gerados são destinados inadequadamente no ambiente (Angus; Westbrook, 2020).

Para os materiais de embalagens, além da visão relacionada ao desenvolvimento sustentável e sustentabilidade, a sociedade tem buscado adotar a chamada “economia circular” (*cradle-to-cradle* – “do berço ao berço”, tradução livre). Esta ação visa à eliminação do desperdício, promovendo transformações dos resíduos em recursos valiosos (ZORE; ČUČEK; KRAVANJA, 2018), por meio da educação ambiental e da aplicação dos Princípios dos “*erres*” (R’s) (Maccari; Oliveira; Seixas, 2019; SEBRAE, 2012). A educação ambiental estruturou uma evolução pragmática desses princípios para a sociedade moderna, saindo dos 3R’s (Lei Federal nº 12.305, de 02 de agosto de 2010) para 7R’s, como mostra a Figura 3.

Figura 3 – Princípio dos 7R’s proposto pela educação ambiental baseado na Lei Federal nº 12.305/2010.



Fonte: Sebrae (2012) com adaptações.

O princípio dos 7R's está alinhado e complementa o Cap. II, art. 7º, inc. II: “*não geração, redução, reutilização, reciclagem e tratamento dos resíduos sólidos, bem como disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos*” da Lei Federal nº 12.305/2010 (Brasil, 2010). Esses princípios, visam a sustentabilidade através da redução do impacto ambiental proporcionado pelo acúmulo de materiais poliméricos sintéticos de fontes não renováveis (Heshmati, 2017). Contudo, aplicar e avaliar o desempenho dessa circularidade, tem mostrado grandes dificuldades econômicas, políticas e sociais, gerando ações complexas e descentralizadas quanto ao uso de indicadores de acompanhamento dos produtos durante todo o ciclo de vida e ao longo da cadeia de valor (Geissdoerfer et al., 2017). Segundo a ABREMA (2024), em 2023, de acordo com o panorama da logística reversa no Brasil, apenas 7,0% das embalagens encaminhadas para aterros sanitários foram recuperadas, isto é, aplicada uma nova destinação como reciclagem, distribuídas em: papel (28%), plásticos (23%), vidro (34%), metal (13%) e outros materiais (2%). Contudo, mesmo com a redução de 22%, em relação à 2022, das embalagens encaminhadas para aterros sanitários, há a necessidade de aprimoramentos nas esferas de responsabilidade compartilhada: indústria, sociedade e governo, através do fomento de políticas públicas de incentivo e fortalecimento da logística reversa e reciclagem (ABREMA, 2024).

A busca por novos materiais ecologicamente corretos (*eco-friendly*) vem indicando um futuro promissor junto ao setor industrial, o qual vem se tornando um grande aliado e agente motivador para o fortalecimento dessas ações, utilizando de argumentos da chamada “ecologia industrial sustentável” (Haghighi et al., 2019a; Zore; Čuček; Kravanja, 2018). Segundo *World Economic Forum* (WEF), em 2019, os impactos ambientais foram classificados como “riscos de investimentos” para as empresas, as quais devem incluir nos seus planos de negócio a chamada “sustentabilidade ambiental” e não só apenas a maximização dos lucros (*stakeholder capitalism*) (Abiplast, 2019). A indústria de alimentos vem sendo submetida a situações chamadas “*greenwashing*” (“mentira verde”, tradução livre), impedindo o consumidor de obter, verdadeiramente, produtos sustentáveis tanto para o consumo, como, também, para estilo de vida (BAYSAL; ÜLKÜ, 2022).

Centros e instituições de pesquisa, além de setores industriais de pesquisa, desenvolvimento e inovação (PD&I) da área das embalagens de alimentos, vêm buscando por alternativas *eco-friendly*, a fim de minimizar os impactos ambientais, no que se refere aos descartes inadequados e inconscientes dos produtos fabricados com materiais sintéticos de origem petroquímica, como os plásticos flexíveis (Abiplast, 2019; Kibria et al., 2023; Ncube et al., 2020). Os polímeros não biodegradáveis vêm, ao longo dos anos, sendo o maior precursor

do impacto ambiental devido ao elevado número de resíduos sólidos acumulados em lixões e aterros sanitários (Matavos-Aramyan, 2024; Ncube et al., 2020). Este nível de impacto promove a geração de crises nos mais diversos setores como: do meio ambiente, econômico, social e cultural. Tendo em vista os impactos ambientais causados por materiais não biodegradáveis, através de processos extrativos/destrutivos do petróleo e sua iminente escassez, o que leva a alta no preço em vista a relação processo x produto (Matavos-Aramyan, 2024). Tais pontos são motivacionais para a busca por materiais alternativos que possa substituir gradualmente os materiais convencionais por materiais sustentáveis, como os biopolímeros (Nizamuddin et al., 2024).

4.3 Biopolímeros e materiais *eco-friendly* como solução sustentável

4.3.1 Conceito e classificação dos biopolímeros

O conceito de biopolímero pode ser apresentado de forma genérica com sinônimo de polímero natural. Trata-se de materiais de base biológica compostos por monômeros (polissacarídeos, proteínas, lipídios dentre outros). O biopolímero pode ser constituído por uma ou mais unidades repetidas, assim como unidades heterogêneas, com diferentes graus de complexidade, podendo ter ou não ramificações, sendo classificado de acordo com a fonte da qual deriva (Stal, 2023, Flórez et al., 2023).

Segundo a *World Commission on Environment and Development* (WCED), os biopolímeros são enquadrados no conceito de sustentabilidade por atender às necessidades da sociedade presente e futura, sem comprometê-las (Abiplast, 2019; Thomas, 2020). Contudo, fazem-se necessárias mais pesquisas sobre questões ambientais, custos de produção, políticas favoráveis entre outros pontos, sobre como esses novos materiais podem ser inseridos no mercado e, como são enquadrados como produto de qualidade (Abiplast, 2019).

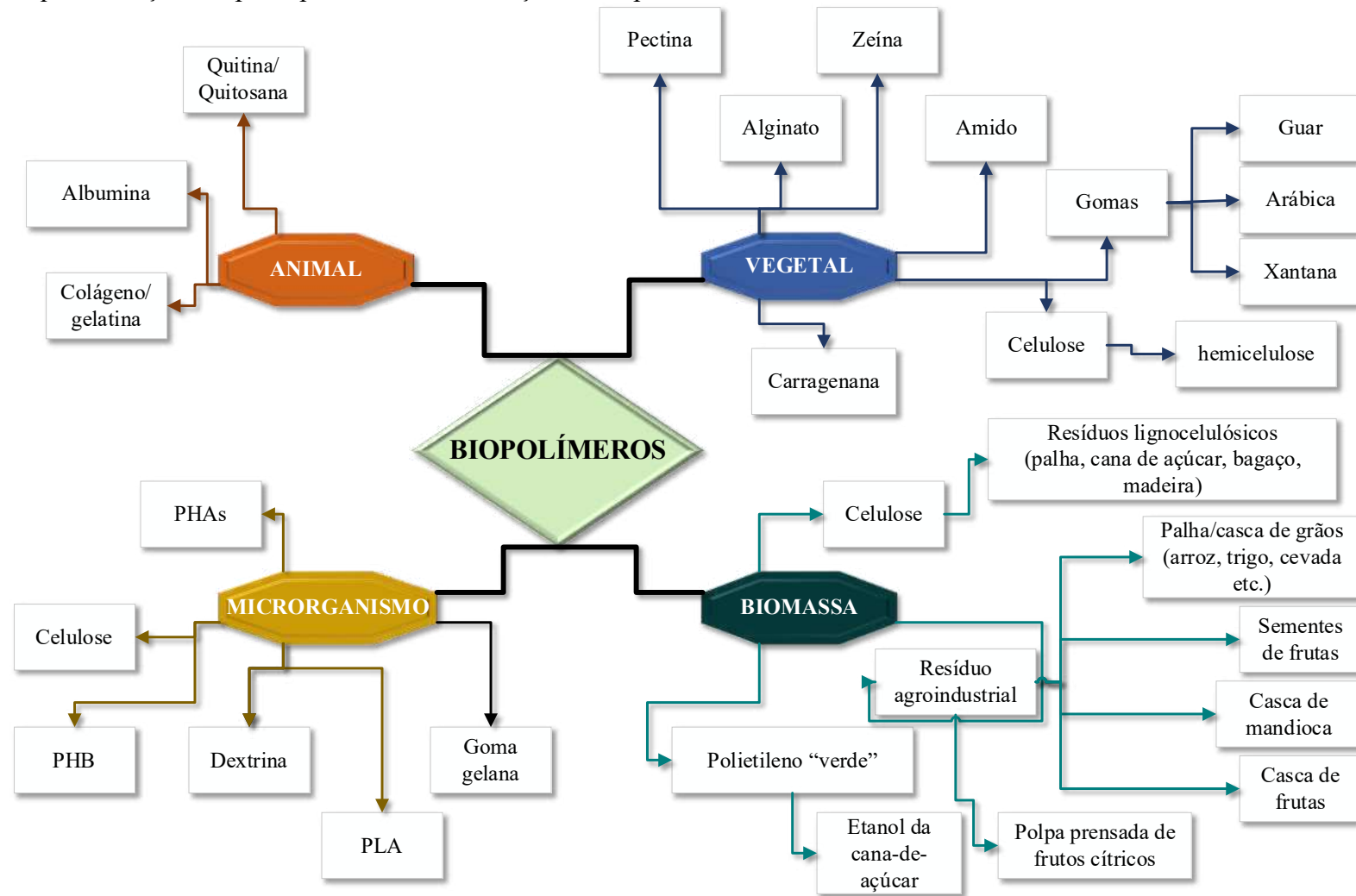
A produção e utilização de biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros “verdes” (*bio-based*) tem demonstrado um grande potencial expansivo perante os setores industriais devido à viabilidade de obtenção de fontes renováveis, uso de técnicas e tecnologias limpas, além de econômica devido ao baixo custo (Nizamuddin et al., 2024). Contudo, o mercado para esses novos materiais apresenta muitos obstáculos em relação ao mercado tradicional de materiais sintéticos de fonte fóssil. Segundo a *European Bioplastics*, apenas 1% do mercado mundial utiliza algum tipo de material *eco-friendly*, como substituto dos sintéticos (Abiplast, 2019). Além disso, o mercado de bioplásticos à base de biomassa cultivada de forma sustentável

deve crescer até 2029, 5,73 milhões de toneladas, em relação à 2024, com crescimento de 2,47 milhões (Ishimwe, 2025). Tal crescimento está associado à “biodegradabilidade” e a “componibilidade¹” desses materiais, os quais têm despertado o interesse da indústria, pesquisadores e acadêmicos (Gu, 2021).

As principais fontes para obtenção dos biopolímeros podem ser (i) biomassa (matrizes poliméricas de recursos agrícolas: “agro polímeros” de “agro recursos”): amidos (Sanches et al., 2020), produtos lignocelulósicos (Da Silva et al., 2020), pectinas, gomas, quitina/quitosana (Wang et al., 2020), celulose bacteriana (Cazón; Vázquez, 2021a); (ii) proteínas e lipídios de origem animal (caseína, soro de leite, colágeno/gelatina) e origem vegetal (zeína, soja, glúten). Além disso, os biopolímeros podem ser obtidos de resíduos agroindustriais, a fim de reduzir, significativamente, o impacto ambiental com o máximo aproveitamento dos materiais residuais orgânicos gerados pelo setor (Jha; Kumar, 2019), como esquematizado na Figura 4.

¹ Refere-se a capacidade de um material se decompor biologicamente em um sistema de compostagem, ou seja, material compostável.

Figura 4 – Esquemática das principais fontes de obtenção de biopolímeros.



Legenda: PHA: poli(hidroxialcanoatos); PHB: poli(hidroxibutirato); PLA: poli(ácido láctico).
 Fonte: Jha e Kumar (2019) com modificações.

As embalagens devem ser compostas por materiais (principais e/ou coadjuvantes – compósitos) que garantam a qualidade e a segurança dos alimentos sem gerar impacto ao meio ambiente (Yin et al., 2023). Adicionalmente, devem assegurar a saúde do consumidor final, através de estudos toxicológicos dos agentes potencialmente migrantes.

A preocupação na redução do impacto ambiental causado pelas embalagens, potencializa a investigação por materiais alternativos de origem sustentável de diferente ordem bioquímica (proteína, polissacarídeos e lipídios – ceras) e origem (animal, vegetal, microbiana e biomassa) (Bhatia et al., 2022; Kasaai, 2022). Contudo, tais embalagens tendem a apresentar características mecânicas, físicas e físico-químicas limitadas, quando comparadas às tradicionais. Assim, a busca por sustentabilidade tem impulsionado o desenvolvimento de embalagens que substituam as convencionais (origem petroquímica). A produção e aplicação de biopolímeros, polímeros biodegradáveis e bioplásticos têm demonstrado um grande potencial de crescimento nos setores industriais, graças à facilidade de obtenção, tecnologias limpas e à viabilidade econômica (Jha; Kumar, 2019).

4.3.2 Resíduos agroindustriais: vantagens e desafios

Os resíduos agroindustriais são subprodutos resultantes das atividades agrícolas e do processamento de alimentos. Além disso, são recursos sustentáveis, de baixo custo, com compostos orgânicos biodegradáveis, bioativos e micro e macronutrientes. Tais características são respostas à crescente demanda por materiais e atividades sustentáveis e aplicação da economia circular (Maqsood et al., 2025; Yaashikaa; Senthil Kumar; Varjani, 2022).

A heterogeneidade dos resíduos se torna um grande obstáculo e desafio, devido a limitabilidade tecnológica e a maximização de esforços na elaboração de modelos replicáveis para fins de produtividade no complexo agroindustrial (Gómez-García et al., 2021). Dentre os compostos comumente descartados, os polissacarídeos apresentam um grande potencial tecnológico na produção de bioplásticos (Gamage et al., 2024), biocombustíveis e energia (Ruangrit et al., 2023), produtos químicos de base biológica (Tang; Huang, 2022), fermentação (Li et al., 2023), nanotecnologia (Rosales; Fabi, 2023), alimentos e embalagem para alimentos (Olawuyi; Lee, 2022; Rivas et al., 2021) e produtos farmacêuticos (Panda et al., 2024).

A indústria de alimentos é considerada a mais importante do setor de transformações em nível mundial, com foco na produção para fins de suprir as necessidades alimentares da população em aspecto quantitativo e qualitativo (Souza et al., 2021). Em contrapartida, as indústrias alimentícias junto ao setor agroindustrial são grandes geradoras de resíduos orgânicos

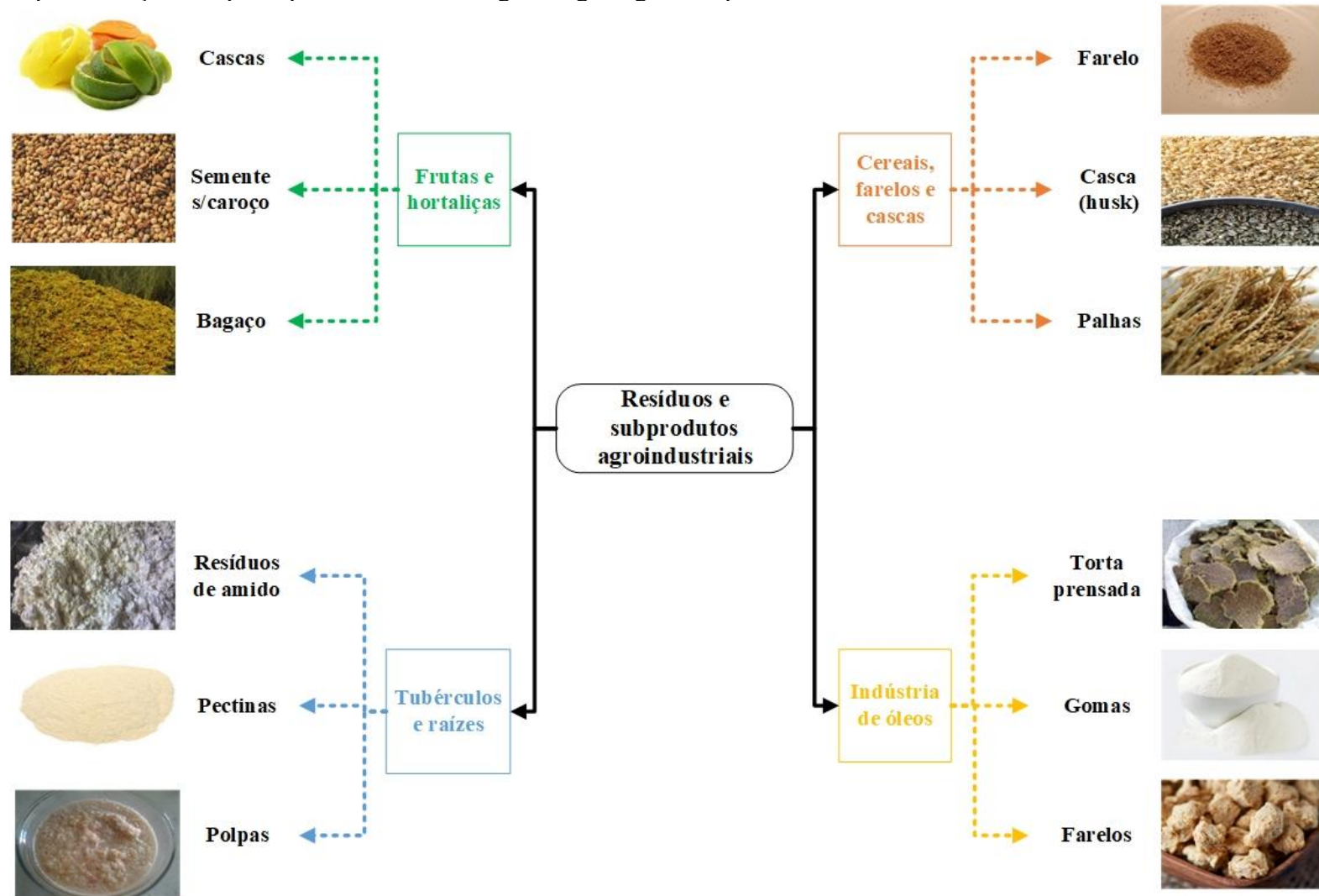
que, na maioria das vezes, são descartados no meio ambiente sem qualquer tratamento. Dessa maneira, a geração de resíduos agroindustriais representa a maior urgência e desafio ambiental do século XXI (Cano-Gómez et al., 2025).

As indústrias de processamento de frutas e derivados, principalmente na área de bebidas, apresenta uma geração de biomassa residual média de 60%, a qual é descartada, frequentemente, no ambiente (Sancho et al., 2015). Assim como os mercados atacadistas e varejistas de frutas e verduras, os quais geram centenas de toneladas diárias de resíduos. No Brasil, mais de 48,6% dos seus produtos processados são descartados. Na exposição mundial, a indústria europeia de alimentos e bebidas, produz em resíduo, mais de 37 milhões de ton./ano, o México com 76 milhões de ton./ano (Schiebel et al., 2024).

Diante disso, é de extrema prioridade encontrar estratégias e uso dessa biomassa residual como base formadora de novos materiais não só representa uma fonte em potencial para o desenvolvimento de biopolímeros, como agrega valor, gerando benefícios econômicos no setor (Cano-Gómez et al., 2025; Rivas et al., 2021; Schiebel et al., 2024). Além do que, promove menor impacto ambiental no que se refere a redução do volume de resíduo orgânico a serem dispostos nos aterros sanitários.

Os principais resíduos (subprodutos) gerados nos setores agroindustriais de processamento de frutas são o bagaço, a casca, a sementes/caroço dentre outros (Figura 5), os quais apresentam um potencial significativo como (i) fontes nutricionais em formulações de alimentos devido à presença de compostos bioativos (fenólicos, carotenóides e vitaminas), minerais, fibras e antimicrobiano (óleos essenciais) (Aguedo et al., 2012; Sancho et al., 2015; Sousa et al., 2011); e, (ii) matrizes com potenciais bases formadoras de materiais compósitos capazes de polimerizar para formar novos materiais, como produção de celulose bacteriana.

Figura 5 – Esquematização dos principais resíduos de origem vegetal gerados pela indústria de alimentos.



Fonte: Maqsood et al. (2025) com modificações.

Os resíduos de frutas são relatados na literatura como potenciais fontes de compostos energéticos (polissacarídeos, lipídios e proteínas) e compostos bioativos como fenóis e antioxidantes (Maqsood et al., 2025; Souza et al., 2021). Rojas et al. (2020), obtiveram polifenóis do resíduo da casca de manga com ações antifúngica (*Colletotrichum gloesporioides*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Mucor* sp.). Assim como de cascas de frutas cítricas na obtenção de antioxidantes, na forma de ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico e ácido erúrico (Singh et al., 2020). Resíduo do suco de mirtilo (*Vaccinium vitis-idaea* L.) ricos em diferentes polissacarídeos, com predominância de conjugados de polifenol-polissacarídeo com ação antioxidante (Olennikov; Chemposov; Chirikova, 2022). As folhas de brócolis em relação aos floretes, assim como a couve são ricas em pigmentos naturais (carotenóides e clorofilas), vitaminas lipossolúveis (E, K), proteínas e compostos fenólicos (Prade et al., 2021).

Outra estratégia para potencializar o uso dos resíduos é o processo de fermentação, para a revalorização dos subprodutos de frutas e vegetais, mantendo a abordagem sustentável, com redução das perdas e desperdícios dos alimentos (Salas-Millán; Aguayo, 2024). Tal procedimento permite a extração e utilização de compostos fitoquímicos importantes, assim como a obtenção de biopolímeros importantes como a celulose bacteriana, quando associado ao consórcio simbiótico de bactérias e leveduras (SCOBY) (Emiljanowicz; Malinowska-Pańczyk, 2020).

4.4 Celulose bacteriana como biopolímero de alto desempenho

4.4.1 Biossíntese, características e propriedades

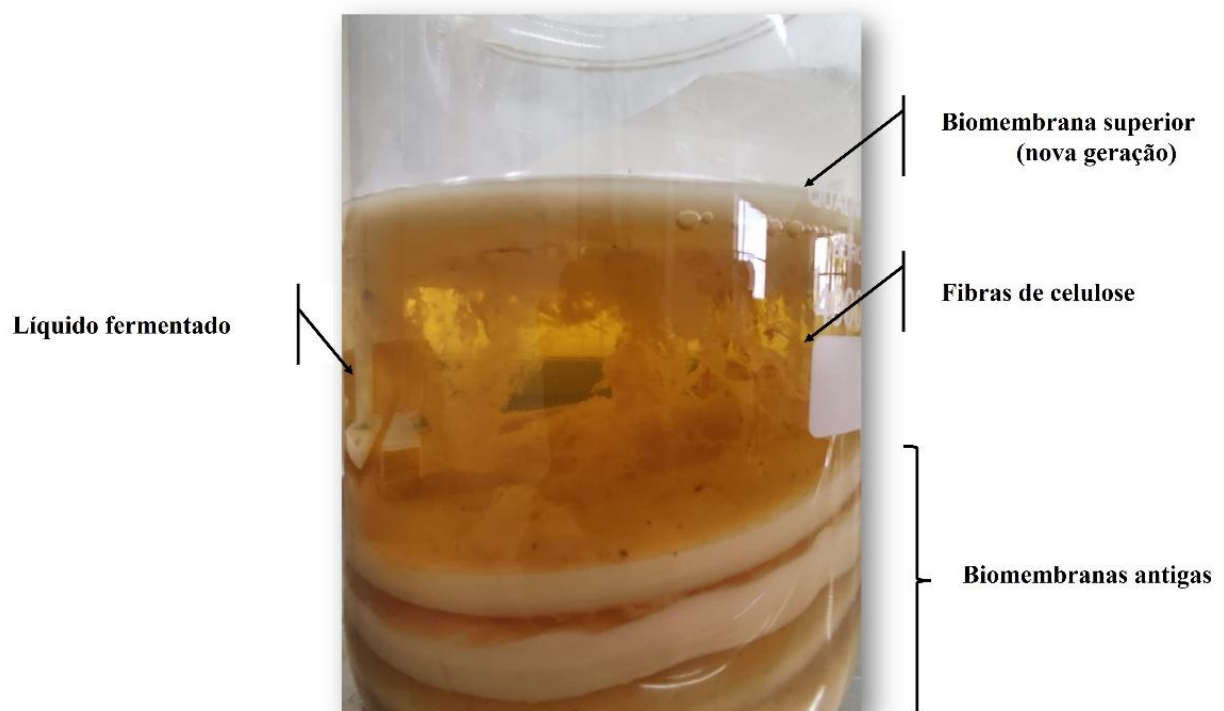
A celulose bacteriana (BC) é um metabólito extracelular obtido por meio de processos fermentativos, os quais podem ocorrer em condições estacionárias (estático) ou dinâmicas (agitação). Tal procedimento pode ser observado na elaboração da kombuchá, uma bebida fermentada rica em polifenóis e outros metabólitos secundários derivados do processo fermentativo (Emiljanowicz; Malinowska-Pańczyk, 2020).

O processo de fermentação da kombucha ocorre pela ação de um consórcio de bactérias e leveduras de associação simbiótica conhecida como SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*), o qual atua sobre um substrato nutritivo, neste caso, *Camellia sinensis* (Cazón; Vázquez, 2021a; Reiniati; Hrymak; Margaritis, 2017). Esse consórcio pode ser composto por bactérias produtoras de ácidos e espécies de leveduras osmofílicas (Amarasekara; Wang; Grady, 2020). O consórcio pode ser formado pelas bactérias *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*,

Agrobacterium, *Alcaligenes*, sendo a *Komagataeibacter xylinus* e *K. hansenii*, as principais espécies investigadas (Akhtar et al., 2023; Almiyawawi et al., 2024; Cielecka et al., 2021; Jamsheera; Pradeep, 2021; Sumini et al., 2025). Além das bactérias, o SCOBY pode conter leveduras, com destaque para os gêneros *Zygosaccharomyces* e *Saccharomyces*, comumente identificadas no sistema (Digel et al., 2023; Emiljanowicz; Malinowska-Pańczyk, 2020; Khanpanuek et al., 2022).

Durante o processo fermentativo, ocorre a formação de uma biomembrana flutuante na superfície do meio líquido de cultivo – o próprio SCOBY – constituídos por metabólitos extracelular de miofibrilas de celulose e microrganismos (Digel et al., 2023; Reiniati; Hrymak; Margaritis, 2017) (Figura 6).

Figura 6 – Imagem da formação das fibras de celulose e o complexo para as biomembranas de celulose bacteriana.

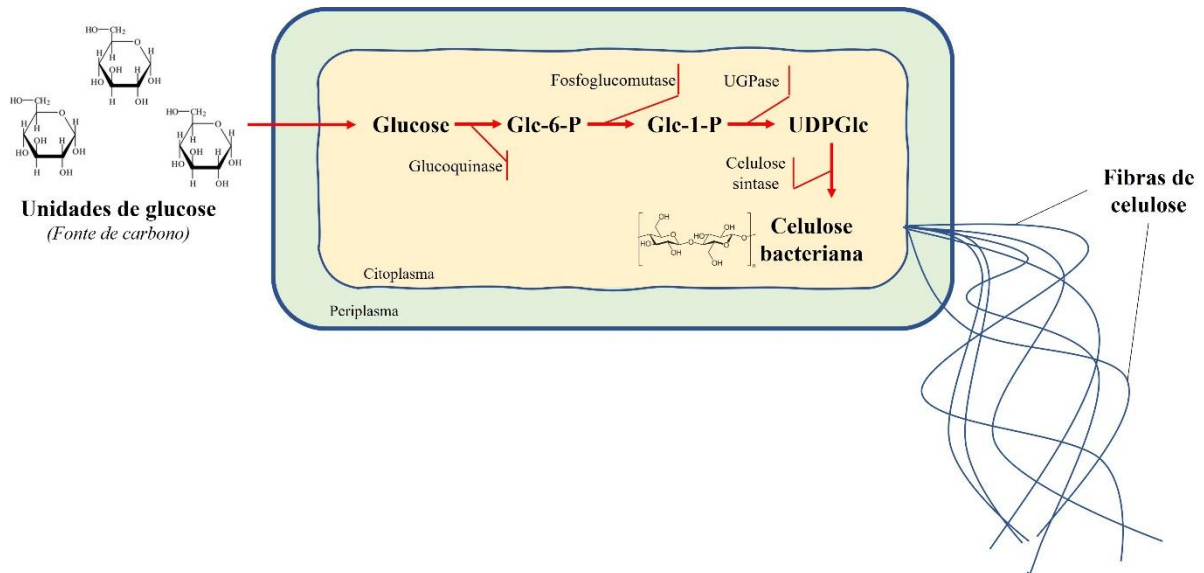


Fonte: elaborada pelo autor.

A presença do material extracelular, a biomembrana na superfície do líquido (Figura 6), pode desempenhar funções relevantes para o sistema fermentativo: (i) barreira de proteção contra a radiação ultravioleta; (ii) “ponte” de acesso à interface ar/líquido, favorecendo a captura do oxigênio atmosférico pelos microrganismos aeróbios; e, (iii) reduzir a taxa de desidratação do substrato, podendo este ter um perfil higroscópico (Amarasekara; Wang; Grady,

2020; Reiniati; Hrymak; Margaritis, 2017). A Figura 7 apresenta a esquematização de obtenção das fibras de celulose bacteriana (BCF).

Figura 7 – (A) Esquematização simplificada da rota metabólica de formação das fibras de celulose utilizando a cepa *K. xylinus* e (B) fotografia da biomembranas formada no processo fermentativo.



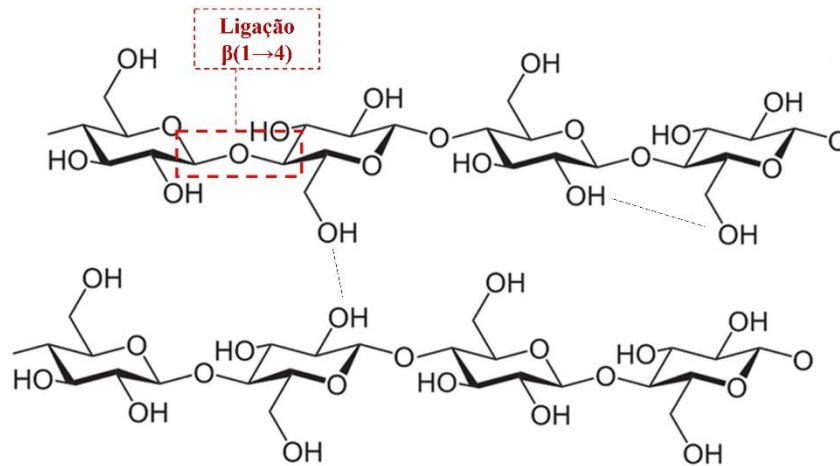
Fonte: Gottschalk et al. (2021) com modificações.

A Figura 7 apresenta, de forma simplificada, a formação das fibras de celulose, o qual se inicia com a (i) fosforilação da glicose pela enzima glucoquinase; (ii) seguida da isomerização da glicose-6-fosfato (Glc-6-P) para glicose-1-fosfato (Glc-1-P), catalisada pela ação enzimática da fosfoglucomutase; (iii) a isomerização, com a síntese de uridina-difosfato-glicose (UDPGlc), precursor direto da celulose, pela uridina difosfato pirofosforilase (UGPase); e, por fim, (iv) a polimerização da celulose, com a reação da celulose sintase a partir da UGPGlc (Gottschalk et al., 2021). Essas fibras de celulose são produzidas e excretadas pelos poros da membrana citoplasmática dos microrganismos, formando uma estrutura tridimensional (3D), as biomembranas de celulose bacteriana (BCB). Essas BCB são constituídas por uma matriz microfibrilar, formada pelo aglomeramento de nanofibras de celulose bacteriana (BCN) com diâmetro médio de 70–150 nm e largura ultrafina de 8 nm, aproximadamente (Cazón; Vázquez, 2021b; Cielecka et al., 2021; Reiniati; Hrymak; Margaritis, 2017).

A BC é formada por uma cadeia linear de polissacarídeos formada por monômeros de β -D-glucopiranosose, conectados por ligações glicosídicas do tipo de β -1,4 (Figura 8). Trata-se de um biopolímero puro, isento de impurezas (substâncias não celulósicas) comumente presentes nas celulose de origem vegetal, como lignina, hemicelulose e/ou pectina (Huang et al., 2014).

Em contraste, a celulose vegetal apresenta uma composição complexa por celulose (40–45%), hemiceluloses ($\cong 30\%$), lignina (25–30%) e extrativos ($\cong 4\%$) (Akhtar et al., 2023; Almihiyawi et al., 2024).

Figura 8 – Representação esquemática da ligação $\beta(1\rightarrow4)$ em monômeros de β -D-glucopiranosose para formação da rede randômica de nanofibras.



Fonte: Silva Júnior et al. (2021) com modificações.

A principal vantagem da BC enquanto material puro está relacionada tanto às técnicas empregadas na obtenção e extração, como a bio-conversão (Li et al., 2021) e a fermentação *in-situ* (Wu et al., 2021), quanto às etapas de purificação subsequentes, as quais dispensam a utilização de processos de custo elevado ou de reagentes químicos com elevado impacto ambiental (Cazón; Vázquez, 2021b).

As BCN estruturam uma rede 3D complexa, responsável por conferir ao biomaterial propriedades físicas, estabilidade mecânica e resistência mecânica (resistência à tração, alongamento/deformação e módulo de Young), elevada porosidade, alta capacidade de retenção de água (aproximadamente de 99%) e alto grau de cristalinidade (65-80%) (Cazón; Vázquez, 2021b; Cielecka et al., 2021; Wang; Tavakoli; Tang, 2019). Além disso, esse biopolímero tem versatilidade e biocompatibilidade em aplicações em diferentes áreas como biomédica (Fahrnisa et al., 2025), farmacológica (Shrivastav et al., 2022), engenharia de tecido (Pang et al., 2020), biossensores (Gomes et al., 2020), estabilizadores de alimentos (Choi et al., 2022), cosméticos (Bianchet et al., 2020) e embalagens (Frota et al., 2024; Miranda et al., 2025).

4.4.2 Utilização de resíduos agroindustriais na obtenção de BCN

Adaptar materiais de fontes renováveis, como a celulose bacteriana, tem se mostrado uma abordagem eficiente e versátil para diversas aplicações. O crescente interesse por novas estratégias de produção e funcionalização desse biopolímero emergente está associado ao seu elevado potencial de aplicação, sua sustentabilidade e propriedades físicas (como retenção de água, flexibilidade, porosidade), químicas (alta cristalinidade, pureza) e biológicas (biocompatibilidade, biodegradabilidade, afinidade biológica e não biotoxicidade) (Shrivastav et al., 2022). Nesse contexto, a utilização de resíduos ou subprodutos agroindustriais surge como uma alternativa promissora para a obtenção sustentável, econômica e inovadora da síntese de celulose, como mostra o Quadro 1.

Quadro 1 – Lista de resíduos agroindustriais utilizados para produção de celulose bacteriana por rota fermentativa nos anos de 2021-2025, segundo as bases de dados *Scopus* e *Web of Science*.

Resíduo/Subproduto	Referência
Casca de frutas (abacaxi, laranja, limão doce e banana)	(Khan et al., 2021)
Extrato de casca de laranja	(Padmanabhan et al., 2022)
Suco da folha da palmeira de óleo	(Abu et al., 2022)
Farelo de colza, farelo de gergelim e farelo de algodão	(Sundaram et al., 2023)
Resíduo de <i>okara</i> (grãos lavados e macerados de soja)	(Taokaew et al., 2023)
Casca de cacau, bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de abacaxi, farelo de arroz, casca de abacaxi, casca de manga e palha de milho	(Páez et al., 2024)
Soro de queijo hidrolisado	(Kolesovs et al., 2024)
Óleo de fritura com irradiação gama	(Hamed, 2025)
Jenipapo (<i>Genipa americana</i>)	(Miranda et al., 2025)

Fonte: elaborado pelo autor.

O Quadro 1 apresenta o potencial dos resíduos agroindustriais na obtenção de fibras de celulose bacteriana, de fácil cultivo e tamanhos randômicos de caráter nanométrico. Além disso, o uso de diferentes cepas de microrganismos capazes realizar o processo fermentativo, estático ou dinâmico. Khan et al. (2021) ao avaliar o potencial da cepa *Komagataeibacter xylinus* IITR DKH20 na formação de nanofibras de celulose bacteriana através de resíduo de casca de frutas

(abacaxi, laranja, limão doce e banana) como fonte de carbono, obtiveram uma variação de 2,11 a 7,69 g/L. Tais concentrações de nanofibras estão associados à composição do extrato dos resíduos das cascas de frutas, cuja composição foi identificada pelos autores com as seguintes variações das principais fontes de carbono: 18,69 a 26,31 g/L (glicose), 0,98 a 11,03 g/L (frutose) e 2,79 a 15,67 g/L (sacarose). Os resultados mostram o potencial dos resíduos agroindustriais como fontes alternativas de fontes de carbono para produção das nanofibras de celulose bacteriana.

O uso de extrato de resíduos para biossíntese de celulose bacteriana é uma rota viável, como demonstrado por Padmanabhan et al. (2022). Os autores utilizaram cepas de *Gluconacetobacter xylinus* para o processo fermentativo com extrato de casca de laranja com sacarose, a 28 °C por 21 dias. As nanofibras obtidas com diâmetro de 20-76 nm e índice de cristalinidade de 85%. Os resultados mostram que a biossíntese de nanofibras de celulose bacteriana, utilizando extratos sem qualquer hidrólise química ou enzimática é funcional, ecológica e de baixo custo. Além de promover um maior rendimento de formação das nanoestruturas.

Taokaew et al. (2023), obtiveram nanocelulose com alta cristalinidade e alto peso molecular, através da biossíntese de *G. xylinus* (BPR2001 ATCC 700178) em meio Hastrin-Schramm suplementada com resíduos de *okara* (grãos lavados e macerados de soja) como fonte de nitrogênio para o cultivo de, por 7 dias à 30 °C. A suplementação com *okara* gerou rendimento de 2,4-2,8 g/L, 95% de cristalinidade e peso molecular (M_w) entre 6,8 e $9,0 \times 10^6$ g/mol. Os autores relatam que a incorporação de proteína solúvel, menor tamanho de partícula (0,2-0,3 μ m) e capacidade tamponante, foram cruciais para a biossíntese de nanocelulose.

Resíduos agroindustriais como casca de cacau, bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de abacaxi, farelo de arroz, casca de abacaxi, casca de manga e palha de milho, utilizados como substratos lignocelulósicos em hidrólise química (H_2SO_4), foram estudados por Páez et al. (2024) Os autores avaliaram o potencial dos resíduos para obtenção de celulose bacteriana, utilizando o consórcio microbiano BA2. Os autores obtiveram excelentes resposta com os resíduos, principalmente para o farelo de arroz com 2,14 g/L (base seca) de celulose bacteriana produzida.

A busca por embalagens sustentáveis motivou Miranda et al. (2025) a desenvolverem um material ecológico, com propriedades mecânicas e de barreira melhorada, através da utilização de nanofibras de celulose bacteriana obtida de resíduo agroindustrial de graviola (*Annona muricata* L.) como bionanocompósito em matriz polimérica ternária de poli(álcool vinílico)/poli(etileno glicol)/ polivinilpirrolidona (PVA/PEG/PVP – 8:1:1). Os autores

obtiveram um material homogêneo, com redução da permeação do vapor de água em 54,5%, aumento de 59,2% na transparência do material e melhorias mecânicas.

Assim, o uso dos resíduos agroindustriais reforça o conceito de *upcycling* para as inovações em embalagens sustentáveis, isto é, utilizar e transformar resíduos em produtos com qualidade e utilidade (Melo et al., 2020; Miranda et al., 2025). Além disso, potencializa muitas pesquisas no desenvolvimento de embalagens *eco-friendly*.

4.4.3 Aplicações potenciais na indústria de alimentos e embalagens

Versáteis e multifuncionais, as nanofibras de celulose bacteriana (BCN) têm despertado crescente interesse no âmbito científico, tecnológico e industrial, principalmente no setor de embalagens alimentícias. Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), matriz de celulose bacteriana é classificada como um material GRAS (*Generally Recognized As Safe*, tradução livre, Geralmente Reconhecido como Seguro), com base em estudos toxicológicos que avaliaram seu potencial teratogênico, sua embriotoxicidade e sua toxicidade reprodutiva, conforme descrito por Lin et al. (2020).

Ao analisar os últimos cinco anos (2021-2025), é possível observar o impacto da versatilidade da celulose bacteriana no setor de embalagens. Através das bases de dados *Scopus* e *Web of Science*, utilizando as operações lógicas: “food packaging” AND “bacterial cellulose”, considerando apenas artigos de pesquisa, foi possível estruturar a Figura 9, seguida da análise bibliométrica com o software VOSviewer (Figura 10).

Figura 9 – Evolução anual do número de publicações científicas sobre celulose bacteriana em embalagem de alimentos (2021-2025).

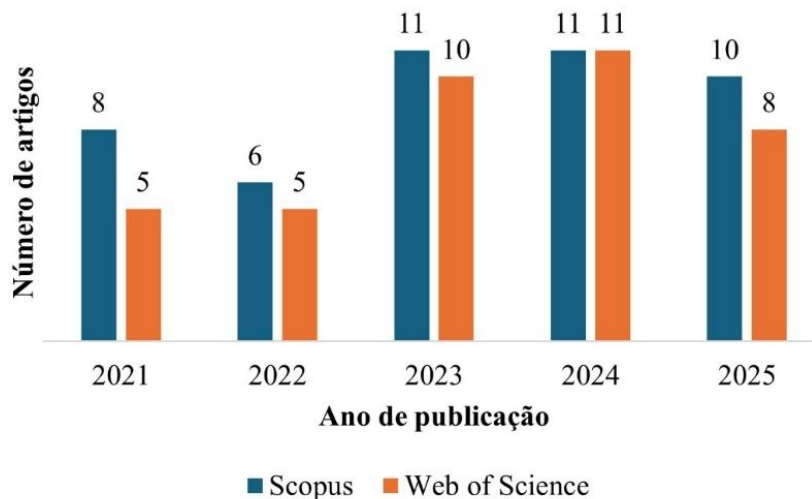
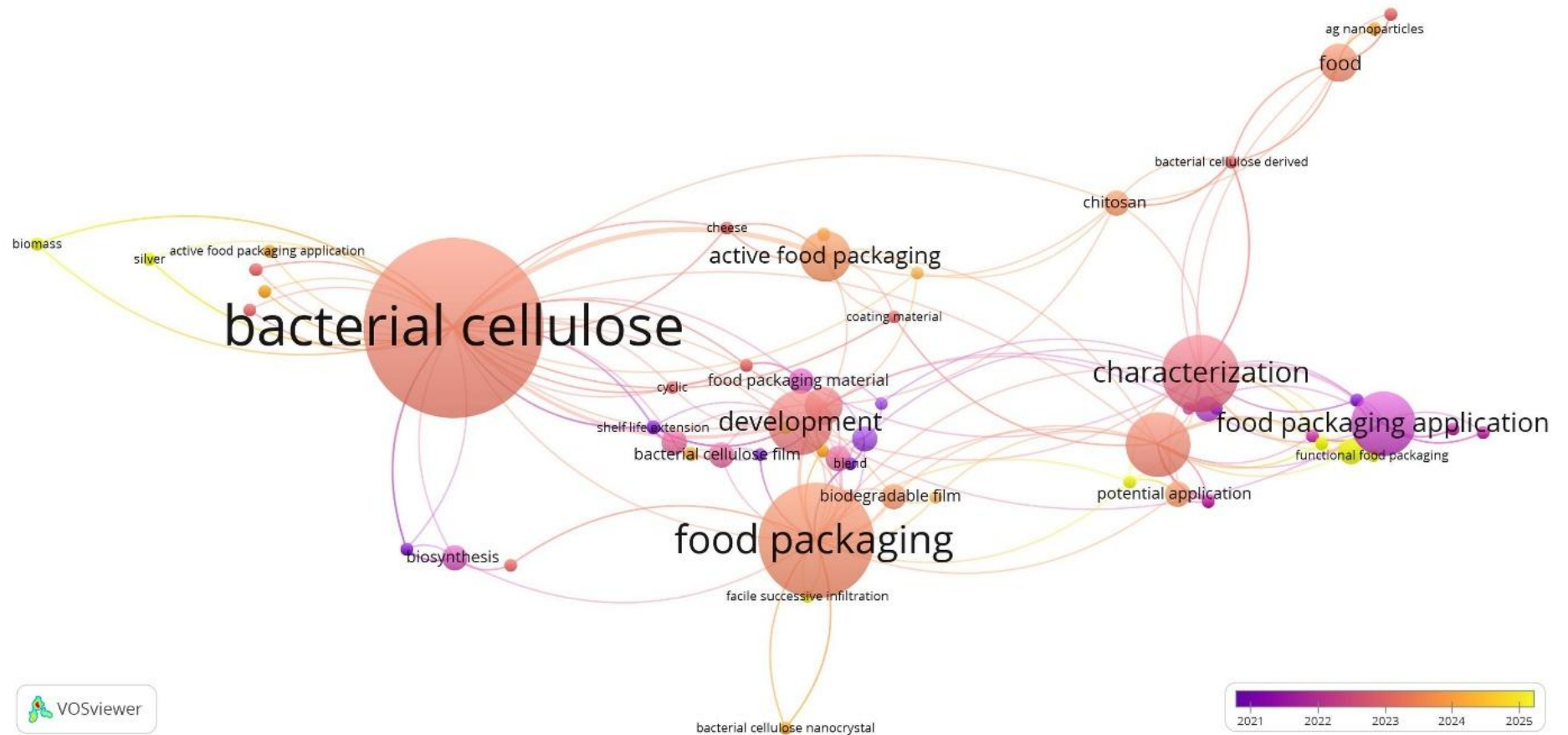


Figura 10 – Mapa de rede dos agrupamentos das palavras-chave “bacterial cellulose” e “food packaging” organizados ao longo dos anos (2021-2025).



Fonte: elaborado pelo autor.

A Figura 10 mostra a ocorrência temporal das palavras-chave associadas à aplicação e/ou potencial de aplicação em embalagem de alimentos, com base nos termos da pesquisa relacionados diretamente com título das publicações e a relação entre os grupos de pesquisas. A variação da coloração na barra de escala, indica o impacto do tema na área de pesquisa ao longo do tempo. Ao longo dos anos, é possível observar que a utilização de celulose bacteriana (BC) é versátil, transicionando na biossíntese e caracterização da matriz celulósica em diferentes matrizes poliméricas, assim como em modificações e incrementação com bioativos (antioxidantes, antimicrobianos) (Abral et al., 2021; Silva Júnior et al., 2021; Zhou et al., 2022). Além disso, inserção de melhoradores estruturais e funcionais, visando aprimorar as propriedades mecânicas, barreiras, formação de multicamadas e biodegradabilidade (Chen et al., 2024a; Jang et al., 2023). Em 2025, as pesquisas alcançam um novo patamar, isto é, a funcionalização das celulosas bacterianas e os avanços tecnológicos, com destaque para aplicação conjunta com nanopartículas funcionalizadas (Zheng et al., 2025), desenvolvimento de emulsões pickering (Chen et al., 2025) e integração em biossensores (Tohamy, 2025). Dessa forma, a Quadro 2 apresenta o potencial tecnológico das BC como matriz biopolimérica compatível à diferentes matrizes (bio)poliméricas e aditivos, o desenvolvimento de sistemas poliméricos avançados e inovadores para embalagens alimentícias.

Quadro 2 – Uso da celulose bacteriana como matriz no desenvolvimento de embalagem alimentícias.

TIPO DE EMBALAGEM	APLICAÇÃO	REFERÊNCIA
Tradicional	Nanowhiskers de celulose bacteriana incorporado com gelatina/poli álcool vinílico (PVA)	(Haghighi et al., 2021)
Sustentável	Melhorador de propriedade mecânica, óptica e permeabilidade ao vapor de água, em blenda ternária (PVA/PVP/PEG) com nanofibras de celulose bacteriana	(Miranda et al., 2025)
Inteligente e ativa	Celulose bacteriana/timol/antocianina	(Wen et al., 2021)
Ativa e biodegradável	Celulose bacteriana, cúrcuma e compósito de quitosana	(Xu et al., 2021)

(continua)

TIPO DE EMBALAGEM	APLICAÇÃO	REFERÊNCIA
Ativa e antimicrobiana	Celulose bacteriana e <i>Lactobacillus sakei</i>	(Rasouli et al., 2021)
	Filme multi-nanofibras de celulose bacteriana/quitina com nanopartículas de curcumina	(Yang et al., 2020)
Comestível	Celulose bacteriana com resíduo de sagu, carboximetilcelulose como embalagem de linguiça de carne.	(Yanti et al., 2021)
Superhidrofóbica	Celulose bacteriana, com cera de abelha, carboximetilcelulose para embalagens de alimentos líquidos (ângulo de contato > 150°)	(Frota et al., 2024)

(conclusão)

Fonte: elaborada pelo autor

O desenvolvimento de embalagens alimentícias do tipo primária é, potencialmente, viável e inovador, principalmente ao utilizar como fontes de carbono os resíduos agroindustriais de baixo custo e promoção na redução do impacto ambiental (Azeredo et al., 2019).

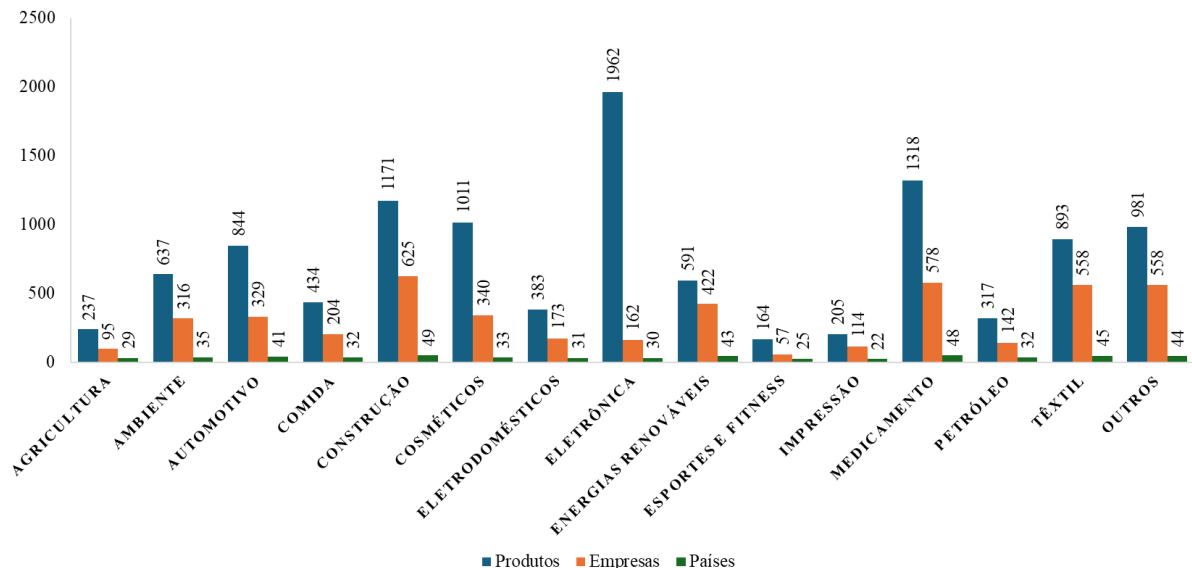
4.5 Nanotecnologia aplicada a embalagens

As embalagens para alimentos objetivam a manutenção da qualidade nutricional e sensorial, durabilidade/vida útil do alimento, proteção contra danos físicos, contaminação química e microbiológica, assim como promover a facilidade no manuseio e transporte (Alamri et al., 2021). Segundo Alamri et al. (2021) as inovações na área das embalagens alimentícias visam a incorporação no mercado competitivo, utilizando de *design* e estilo para melhorar a aceitabilidade pelo público consumidor, impulsionando as vendas e a busca por novos materiais e tecnologias. Dessa forma, o uso de tecnologias avançadas no setor de embalagens é necessário, principalmente para melhorar as características do produto, como estender a sua vida útil. Além disso, é possível facilitar e promover a comunicação e interação entre consumidor e alimento embalado (Sobhan; Muthukumarappan; Wei, 2021).

A nanotecnologia têm se destacando dentro da ciência e tecnologia como inovação tecnológica emergente multifacetada com aplicação em várias áreas de pesquisa,

principalmente no desenvolvimento de novos materiais para biomedicina (Chen et al., 2024b), construção civil (Utsev et al., 2022), agronegócio (Yadav et al., 2023), cosméticos (Raj et al., 2012), farmacologia (Kaur et al., 2021), materiais funcionais para alimentos: embalagens para alimentos, embalagens ativas e inteligentes (Cui et al., 2020; Miranda et al., 2025; Sobhan; Muthukumarappan; Wei, 2021). A aplicação da nanotecnologia é amplamente explorada por diversos setores industriais e países. Segundo o site StatNano (2025) existem mais de 11 mil produtos com nanotecnologia, distribuídos em mais de 1,4 mil tipos em 3910 empresas de 68 países diferentes, como mostra a Figura 11.

Figura 11 – Distribuição quantitativa da nanotecnologia por área de concentração, produtos, empresas e países, segundo NPD – Nanotechnology Products Database.

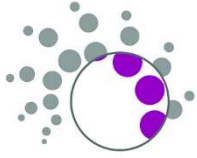







Fonte: StatNano (2025) com adaptações.

Em relação ao setor alimentício, a nanotecnologia trás fortes contribuições no maior setor manufatureiro do mundo, devido a quantidade e diversidade de matérias-primas utilizadas. Além disso, a indústria alimentícia utiliza de modificações de moléculas e interações, desde o cultivo até o consumidor final. O site StatNano (2025) apresenta as principais empresas de produtos alimentícios que utilizam produtos na nanoescala, sendo as mais ativas: Advanced Sports Nutrition, BioPharma Scientific, Dose of Nature, NanoGreens, NanoSynergy Worldwide, Purest Colloids, Inc, Nano Health Solutions, Nano Rush, Nanocor Inc, InMat In, Encapsula NanoSciences, Natural-Immunogenics Corp, IÖGO, NutriNoche, MARS, The Hershey Company, Skybright Natural Health, Revive Health LLC, NanoBioMatters Industries, Albertsons, Utopia Silver Supplements, Fair vital e Activz. Os países mais ativos na promoção da nanotecnologia no setor: EUA, Austrália, Irã, China, Rússia, Coreia do Sul, Alemanha,

Holanda, Suíça e Indonésia (StatNano, 2025). Para isso, a nanotecnologia conta com apoio legislativo, como a criação de selos certificadores de qualidade do produto e da nanotecnologia utilizada (Alfei; Zuccari, 2025) , como descrito no Quadro 3.

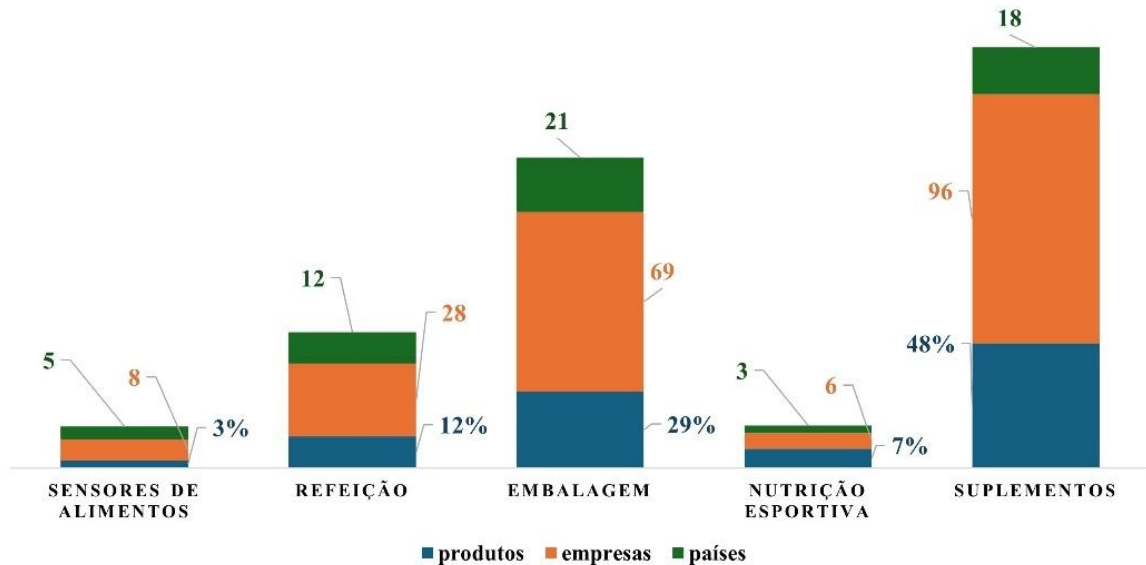
Quadro 3 - Tipos de selos certificadores e a quantificação de produtos e empresas que utilizam da nanotecnologia em seus produtos de mercado, segundo NPD – Nanotechnology Products Database.

SELO	NOMENCLATURA	PRODUTOS	EMPRESA
	NanoScale	459	213
	Nanomarca	34	15
	NanoSaúde (Standar and Safety)	33	19
	NanoCertifica	141	62
	NANOVerify	31	21
	Food and Drug Administration	399	69

Fonte: StatNano (2025) com adaptações.

Na área de alimentos, mais de 430 produtos em 204 empresas de 32 países trabalham com a nanotecnologia, desde o cultivados na agricultura até as etapas de embalagem e distribuição para o consumidor final. Neste caso, as embalagens correspondem ao segundo setor mais procurado para aplicação da nanotecnologia, como mostra a Figura 12.

Figura 12 – NPD – Nanotechnology Products Database – de distribuição no setor alimentícios.



Fonte: StatNano (2025) com modificações.

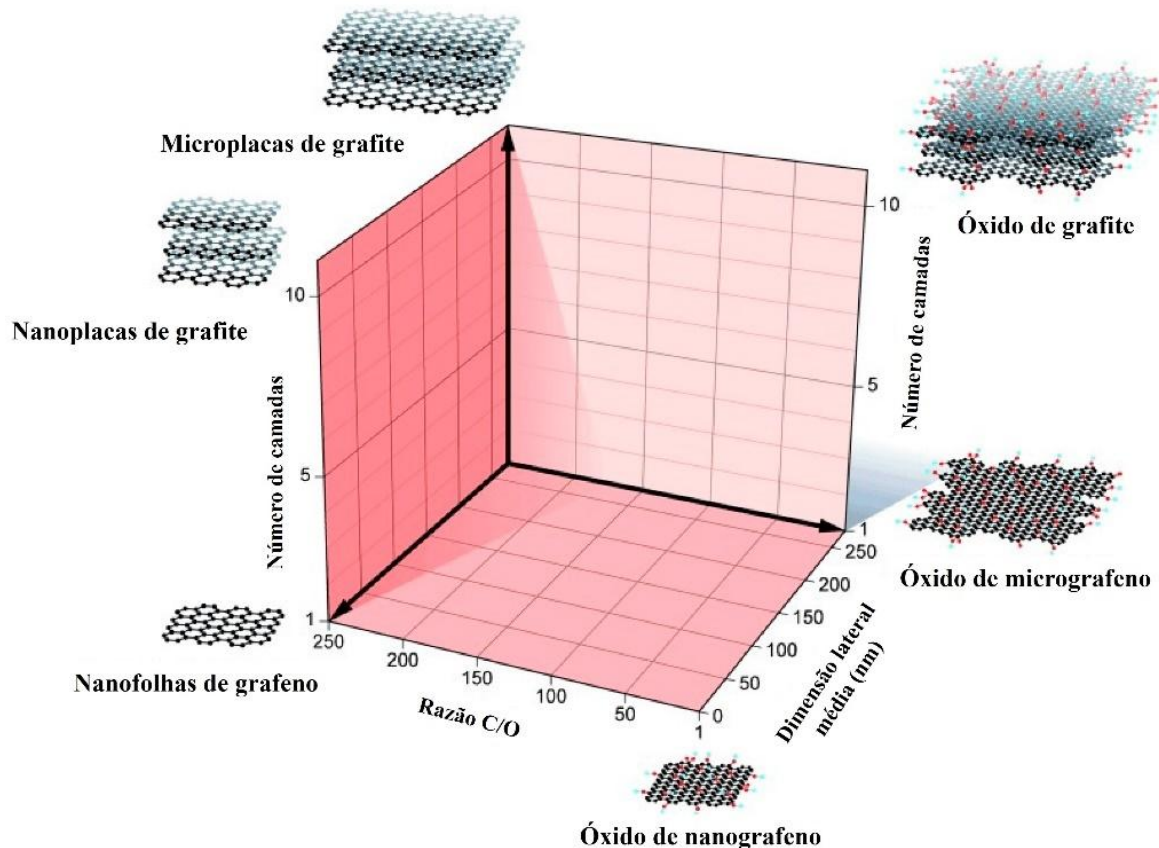
A *Comission Regulation (EU)* apresenta como definição e classificação como nanomaterial que uma ou mais dimensões do material (dimensões externas) estejam em escala nanométrica entre 1–100 nm (European Comission, 2011). Todavia, esta definição pode ser adaptada de acordo com a organização, agência e comitês para a qual se destina o produto (Cerqueira; Vicente; Pastrana, 2018a; Rasmussen et al., 2014). Segundo os autores, os nanomateriais podem ser classificados quanto à variação na nanoescala e/ou no número de dimensões relacionadas aos elementos estruturais do nanomaterial: (i) “zero-dimensional” (0D): nanopartículas e nanodispersões; (ii) unidimensional (1D): nanofibras e nanotubos; (iii) bidimensional (2D): filmes e revestimentos com espessura nanométrica; e, (iii) tridimensional (3D): formação de interfaces entre as demais dimensões.

Nanomateriais à base de carbono, como o grafeno e similares (2D e 3D), são amplamente utilizados e estudados devido sua versatilidade e aplicabilidade (Alfei; Zuccari, 2025; Martins et al., 2022b). Nesse caso, devido ao nível de complexidade e conjunto de propriedades mecânicas, ópticas, térmicas, magnéticas e/ou elétricas melhoradas (Gürünlü; Taşdelen-Yücedağ; Bayramoğlu, 2020; Martins et al., 2022a; Ye; Tour, 2019). Além da

biocompatibilidade e boa estabilidade química (Ranjha et al., 2022). Tal combinação de propriedades faz com que este material seja considerado uma inovação tecnológica emergente e com aplicações em diferentes áreas.

O grafeno, um alótropo de carbono, é considerado um material de notável atuação tecnológica em multiáreas, formado por uma rede 2D do tipo hexagonal, cujos átomos de carbonos sp^2 hibridizados, formando uma estrutura de “favo de mel” (Singh; Haskin; Dastgheib, 2023; Vivaldi et al., 2021). Segundo a literatura, esta disposição é adquirida devido cada átomo de carbono compartilhar, no plano, três ligações σ e uma ligação π fora do plano, podendo formar folha de espessura monoatômica ou de multicamadas (Claro et al., 2022; Mehl et al., 2014). A Figura 13 esquematiza a categorização dos diferentes tipos de derivados do grafeno.

Figura 13 – Esquema de categorização dos derivados do grafeno de acordo com as propriedades como número de camadas de grafeno, conteúdo de oxigênio (relação atômica carbono/Oxigênio – C/O) e dimensão lateral médio (nm).



Fonte: Barra et al. (2020) com adaptações.

O termo “grafeno” é utilizado de forma genérica, logo errônea, para descrever cada uma das estruturas mostradas na Figura 13. Segundo Barra et al. (2020), o uso de derivados de grafeno como compósitos em matrizes biopoliméricas apresenta pouca exploração científica.

Dessa forma, o uso dos derivados de grafeno em embalagens é uma área em expansão e pouco estudada, com grande impacto no futuro das embalagens à base de biopolímeros, assim como na área de alimentos. Nesse contexto de atribuições multifuncionais (bioatividade e inteligência) às embalagens de alimentos, os derivados de carbono nanoestruturados apresentam ampla atuação como agente de reforço em matrizes poliméricas, impactando sobre as propriedades mecânicas, térmicas, elétricas, ópticas e condutivas dos nanocompósitos (Barra et al., 2020). Segundo a literatura, auxilia na liberação controlada de determinadas substâncias que venham a maximizar e garantir a segurança do produto interno (Alizadeh-Sani; Khezerlou; Ehsani, 2018; Cerqueira; Vicente; Pastrana, 2018b; Cui et al., 2020). No Quadro 4 são referenciadas pesquisas que atestam a versatilidade e aplicabilidade de materiais nanoestruturados de carbono (grafeno e derivados/similares) em embalagem de alimentos.

Quadro 4 – Pesquisa representativa de impacto da aplicação do grafeno (óxidos e similares/derivados) com diferentes matrizes poliméricas com aplicação em embalagem de alimentos entre os anos 2020 e 2025.

Principais materiais	Finalidade	Descrição	Referência
Nanoplasmas de grafeno, MWCNT com quitosana	Embalagem ecológica e biodegradável	A informação de grafeno reforçou as propriedades elétricas, como condutividade de $4,7 \times 10^{-13}$ S (CS) para $1,1 \times 10^{-6}$ S (GNP) e $2,1 \times 10^{-4}$ S (MWCNT), ópticas com intensidade luminosa reduzida de 40% para 7,0% e, propriedades mecânicas com aumento no módulo de tração de 109% (GNP) e 115% (MWCNT), resistência à tração de 48,7% (GNP) e 64,3% (MWCNT)	(Mergen; Arda; Evingür, 2020)
Nanoplaquetas de OG/PPVC	Sensor de umidade	Nanoplaquetas dispersas na matriz, promovendo melhorias nas propriedades mecânicas e estabilidade do material. A ação sensora foi de 1 kHz com aumentos nas respostas de forma crescente à umidade. Com tempos de resposta e recuperação de 4/6 s.	(Moustafa et al., 2021)
Nano-híbrido de OG/PEG/PVA/Quitosana	Biocompatibilidade e biodegradabilidade	Material com alta interação, presença de superfície irregular com nanoplasmas de 118,9 nm, com altas propriedades térmicas, mecânicas e bioatividade antimicrobiana potencializada contra <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> .	(Mohammadi; Babaei, 2022)
Amido de batata/Quitosana/OGr	Bioplástico	Embalagem bioativa com ação antioxidante e condutividade elétrica, com perfil hidrofóbico ($>100^\circ$) e selagem.	(Alves et al., 2022)

(continua)

Quadro 4 – Pesquisa representativa de impacto da aplicação do grafeno (óxidos e similares/derivados) com diferentes matrizes poliméricas com aplicação em embalagem de alimentos entre os anos 2020 e 2025.

Principais materiais	Finalidade	Descrição	Referência
Soro de leite/gelatina com nanocompósito de OG	Hidrogel	Hidrogel proteico reticulado com OG, promoveu rigidez e opacidade ao material. Uma embalagem com potencial absorvedor ecológico para utilização em alimentos com alto teor de umidade.	(Purcea Lopes et al., 2023)
Microesferas de aerogel OGr/nanopartículas de TiO ₂ em gelatina	Embalagem ativa	Embalagens propriedades mecânicas, de barreira à radiação UV, de barreira ao vapor de água, de estabilidade térmica, de hidrofobicidade e antimicrobianas (<i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>).	(Wang et al., 2024)
Quitosana/Antocianinas e OGc	Embalagem camada-por-camada sustentável ativa	As embalagens apresentaram excelente barreira à radiação UV (região UV-B), estabilidade térmica e resistência à água, com comportamento hidrofóbico (>10 ⁹) e ação antioxidante.	(Shen et al., 2025)

Legenda: OG: óxido de grafeno; OGr: OG reduzido; OGc: OG carboxilado; MWCNT: nanotubos de carbono de paredes múltiplas; PEG: poli(etileno glicol); PVA: poli(álcool vinílico); PVC: poli(cloreto de vinila); PPVC: PVC plastificado.

(conclusão)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa se mostrou de grande contribuição para a área de materiais e embalagem de alimentos, além de contribuir para o meio acadêmico-científico ao que tange a inovação tecnológica. As etapas para alcançar o objetivo proposto foram aplicadas de forma eficiente e coesa. Os resultados alcançados foram eficazes na (i) utilização dos resíduos agroindustriais como fontes alternativas de carbono, caracterização; (ii) investigação de novos materiais de carbono, similares ao grafeno, como potenciais compósitos; e (iii) desenvolvimento de uma embalagem ecológica e sustentável para área de alimentos.

Os resultados obtidos nas etapas de execução da pesquisa, servirão de conhecimento e inspiração para pesquisas futuras, como o uso em embalagens ativas e inteligentes. Na literatura, não há relato do uso do produto NHKBIO®, principalmente, no que se refere à aplicação em embalagem para alimentos, seja de forma direta ou indireta.

Assim, mais pesquisas são necessárias sobre o impacto desses materiais no meio ambiente, no que tange a biodegradabilidade e ações das intempéries ambientais no processo de degradação desses materiais, através da análise do ciclo de vida. Assim, promover uma maior viabilidade e aumento no nicho de produtos com nanotecnologia no mercado nacional e mundial na área das embalagens.

REFERÊNCIAS

- ABIPLAST. **Perfil 2019**. 2019. Disponível em: http://www.abiplast.org.br/wp-content/uploads/2020/09/Perfil_2019_web_abiplast.pdf. Acesso em: 6 nov. 2020
- ABRACEN. **FAO quer reduzir a perda e o desperdício de alimentos no Brasil**. Brasília, DF: Abracen, 12 out. 2022. Disponível em: <https://abracen.org.br/noticias/fao-quer-reduzir-a-perda-e-o-desperdicio-de-alimentos-no-brasil/>. Acesso em: 12 out. 2022
- ABRELPE. Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil - 2018/2019. **Abrelpe**, v. 1, n. 1, p. 1–74, nov. 2019. Disponível em: https://abrelpe.org.br/pdfs/panorama/panorama_abrelpe_2017.pdf. Acesso em: 22 nov. 2023.
- ABREMA. **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil**. São Paulo: ABREMA, 2024. Disponível em: <https://www.abrema.org.br/panorama/>. Acesso em: 24 jun. 2025
- ALAM, Arif U. *et al.* Fruit Quality Monitoring with Smart Packaging. **Sensors**, v. 21, n. 4, p. 1509, jan. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8220/21/4/1509>. Acesso em: 12 out. 2022.
- ALAMRI, M. S. *et al.* Food packaging's materials: A food safety perspective. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 8, p. 4490–4499, 1 ago. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X21003090>. Acesso em: 27 out. 2021.
- ALFEI, Silvana; ZUCCARI, Guendalina. Last Fifteen Years of Nanotechnology Application with Our Contribute. **Nanomaterials**, v. 15, n. 4, p. 265, jan. 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/15/4/265>. Acesso em: 26 jun. 2025.
- ALIZADEH-SANI, Mahmood; KHEZERLOU, Arezou; EHSANI, Ali. Fabrication and characterization of the bionanocomposite film based on whey protein biopolymer loaded with TiO₂ nanoparticles, cellulose nanofibers and rosemary essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 300–315, 15 nov. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018306964>. Acesso em: 28 out. 2021.
- ALMEIDA, Denise M. *et al.* Physical, chemical and barrier properties in films made with bacterial cellulose and potato starch blend. **Polímeros**, v. 23, p. 538–546, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/po/a/8dqxwzBHcSt8JtX8L66sdLw/?lang=pt>. Acesso em: 31 out. 2021.
- ALVES, Zélia *et al.* Design of heat sealable starch-chitosan bioplastics reinforced with reduced graphene oxide for active food packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 291, p. 119517, 1 set. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861722004222>. Acesso em: 26 jun. 2025.
- ANGUS, Alison; WESTBROOK, Gina. **10 Tendências Globais de Consumo 2020 | Euromonitor**. Disponível em: <https://go.euromonitor.com/white-paper-EC-2020-Top-10->

Global-Consumer-Trends-PG.html. Acesso em: 20 out. 2021.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 15. ed. Washington DC: AOAC Intl, 1990.

ASTM. **ASTM E96-00**: standard test methods for water vapor transmission of materials. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2000.

ASTM. **ASTM G160-03**: standard practice for evaluating microbial susceptibility of nonmetallic materials by laboratory soil burial. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2009.

ASTM, International. **Designation D882–12 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. 3. ed. West Conshohocken, PA: ASTM, 2012.

AZEVEDO, Nagilla Huerb de; GLEIZE, Philippe J. P. Effect of silicon carbide nanowhiskers on hydration and mechanical properties of a Portland cement paste. **Construction and Building Materials**, v. 169, p. 388–395, 30 abr. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950061818304380>. Acesso em: 28 out. 2021.

BARRA, Ana *et al.* Graphene Derivatives in Biopolymer-Based Composites for Food Packaging Applications. **Nanomaterials**, v. 10, n. 10, p. 2077, out. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/10/10/2077>. Acesso em: 28 out. 2021.

BAYSAL, S. Su; ÜLKÜ, M. Ali. **Food Loss and Waste: A Sustainable Supply Chain Perspective**. chapter. Disponível em: <https://www.igi-global.com/chapter/food-loss-and-waste/www.igi-global.com/chapter/food-loss-and-waste/286439>. Acesso em: 12 out. 2022.

BHATIA, Saurabh *et al.* Gallic Acid Crosslinked Gelatin and Casein Based Composite Films for Food Packaging Applications. **Polymers**, v. 14, n. 19, p. 4065, jan. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/19/4065>. Acesso em: 29 abr. 2025.

BOURTOOM, T. Edible protein films: properties enhancement. **International Food Research Journal**, v. 16, n. 1, p. 1–9, 2009.

BRASIL. **Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010**. Brasília, DF: Presidência da República, 2010.

BRITO, Gustavo de Figueiredo *et al.* Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127–139, 2011. Disponível em: <http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/viewFile/222/204>. Acesso em: 22 nov. 2023.

BUSS, Dilnei Antunes; HENKES, Jairo Afonso. Estudo dos impactos ambientais causados por laticínios com foco no reaproveitamento dos resíduos gerados. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 3, n. 2, p. 384–395, 11 nov. 2014a. Disponível em: http://www.portaldeperiodicos.unisul.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/2535. Acesso em: 26 jun. 2020.

CAMPAGNER, Marina Rodrigues *et al.* Polymeric films based on starch and lignosulfonates: preparation, properties and evaluation of biodegradation. **Polímeros**, v. 24, p. 740–751, dez. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/po/a/zDXFCjjmzN8vp964jryrwrD/?lang=pt>. Acesso em: 20 out. 2021.

CAZÓN, Patricia; VÁZQUEZ, Manuel. Bacterial cellulose as a biodegradable food packaging material: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106530, 1 abr. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X20329040>. Acesso em: 20 out. 2021.

CERQUEIRA, Miguel A.; VICENTE, António A.; PASTRANA, Lorenzo M. Chapter 1 - Nanotechnology in Food Packaging: Opportunities and Challenges. *In*: CERQUEIRA, Miguel Ângelo Parente Ribeiro *et al.* (Orgs.). **Nanomaterials for Food Packaging**. Micro and Nano Technologies. [S.l.]: Elsevier, 2018. p. 1–11. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323512718000012>. Acesso em: 28 out. 2021.

CLARO, Pedro I. C. *et al.* Sustainable carbon sources for green laser-induced graphene: A perspective on fundamental principles, applications, and challenges. **Applied Physics Reviews**, v. 9, n. 4, p. 041305, 10 nov. 2022. Disponível em: <https://pubs.aip.org/aip/apr/article/9/4/041305/2835381/Sustainable-carbon-sources-for-green-laser-induced>. Acesso em: 21 jan. 2025.

COLEMAN, J. N.; KHAN, U.; GUN'KO, Y. K. Mechanical Reinforcement of Polymers Using Carbon Nanotubes. **Advanced Materials**, v. 18, n. 6, p. 689–706, 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.200501851>. Acesso em: 08 nov. 2022.

CUI, Haiying *et al.* Biodegradable zein active film containing chitosan nanoparticle encapsulated with pomegranate peel extract for food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 24, p. 100511, 1 jun. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221428942030051X>. Acesso em: 20 out. 2021.

DA SILVA, Alessandra Oliveira *et al.* Development and characterization of biopolymer films based on bocaiuva (*Acromonia aculeata*) flour. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, p. 1157–1168, 15 jul. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019336451>. Acesso em: 20 out. 2021.

DE MOURA, Catarina Motta *et al.* Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto. **VETOR - Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 16, n. 1, p. 37–45, 2006. Disponível em: <https://www.seer.furg.br/vetor/article/view/294>. Acesso em: 20 out. 2021.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EU) n.º 10 of 14 January 2011. **On plastic materials and articles intended to come into contact with food**. 2011.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Recommendation Document 32011H0696.

Commission Recommendation Document n° 32011H0696 On the definition of nanomaterial (text with EEA relevance). 20 out. 2011.

FAN, Gongjian *et al.* Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 155–160, 1 jan. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643807000722>. Acesso em: 18 set. 2021.

FAO. **Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação:** Contribuições para a redução da fome e desnutrição na América Latina | FAO no Brasil | Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1147646/>. Acesso em: 12 out. 2022.

FAO; WFP. **Hunger Hotspots:** FAO-WFP early warnings on acute food insecurity: October 2022 to January 2023 Outlook. União Europeia: Global Network Against Food Crises, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cc2134en/cc2134en.pdf>.

FLANAGAN, Katie; ROBERTSON, Kai; HANSON, Craig. **Reducing Food Loss and Waste:** Setting a Global Action Agenda. Washington: Word Resources Institute, 2019.

FROTA, Maryana Melo *et al.* Superhydrophobic systems in food science and technology: Concepts, trends, challenges, and technological innovations. **Applied Food Research**, v. 2, n. 2, p. 100213, 1 dez. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772502222001688>. Acesso em: 12 out. 2022.

GEISSDOERFER, Martin *et al.* The Circular Economy – A new sustainability paradigm? **Journal of Cleaner Production**, v. 143, p. 757–768, 1 fev. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652616321023>. Acesso em: 20 out. 2021.

GÜRÜNLÜ, Betül; TAŞDELEN-YÜCEDAĞ, Çiğdem; BAYRAMOĞLU, Mahmut. Graphene Synthesis by Ultrasound Energy-Assisted Exfoliation of Graphite in Various Solvents. **Crystals**, v. 10, n. 11, p. 1037, nov. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4352/10/11/1037>. Acesso em: 02 maio 2025.

GUSTAVSSON, Jenny; CEDERBERG, Christel; SONESSON, Ulf. Global food losses and food waste. SAVE FOOD CONGRESS. **Anais...** . Düsseldorf, 16 maio 2011. Disponível em: https://www.madr.ro/docs/ind-alimentara/risipa_alimentara/presentation_food_waste.pdf. Acesso em: 12 out. 2022

HAGHIGHI, Hossein *et al.* Comparative analysis of blend and bilayer films based on chitosan and gelatin enriched with LAE (lauroyl arginate ethyl) with antimicrobial activity for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 31–39, 1 mar. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289418303132>. Acesso em: 20 maio 2021.

HAQUE, Farzin *et al.* RNA versatility, flexibility, and thermostability for practice in RNA

nanotechnology and biomedical applications. **Wiley interdisciplinary reviews. RNA**, v. 9, n. 1, jan. 2018. Disponível em: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wrna.1452>. Acesso em: 22 nov. 2023.

HESHMATI, Almas. A review of the circular economy and its implementation. **International Journal of Green Economics**, v. 11, n. 3–4, p. 251–288, 1 jan. 2017. Disponível em: <https://www.inderscienceonline.com/doi/abs/10.1504/IJGE.2017.089856>. Acesso em: 22 nov. 2023.

HILSON, G.; MURCK, B. Sustainable development in the mining industry: clarifying the corporate perspective. **Resources Policy**, v. 26, n. 4, p. 227–238, 1 dez. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301420700000416>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ISHANGULYYEV, Rovshen; KIM, Sanghyo; LEE, Sang Hyeon. Understanding Food Loss and Waste—Why Are We Losing and Wasting Food? **Foods**, v. 8, n. 8, p. 297, ago. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/8/297>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ISHIMWE, Sandrine. Industrial use of agricultural materials as feedstock for biobased plastics. **European Bioplastics e.V.**, p. 1–6, 17 jun. 2025. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/industrial-use-of-agricultural-materials-as-feedstock-for-biobased-plastics/>. Acesso em: 24 jun. 2025.

JOB, A. E. *et al.* Conductive composites of natural rubber and carbon black for pressure sensors. **Synthetic Metals**, Proceedings of the International Conference on Science and Technology of Synthetic Metals. v. 135–136, p. 99–100, 4 abr. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379677902008664>. Acesso em: 22 nov. 2023.

KASAAI, Mohammad Reza. Bio-nano-composites containing at least two components, chitosan and zein, for food packaging applications: A review of the nano-composites in comparison with the conventional counterparts. **Carbohydrate Polymers**, v. 280, p. 119027, 15 mar. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861721014144>. Acesso em: 29 abr. 2025.

KUMAR, Nishant *et al.* Enhancement of storage life and quality maintenance of litchi (*Litchi Chinensis* Sonn.) fruit using chitosan:pullulan blend antimicrobial edible coating. **International Journal of Fruit Science**, v. 0, n. 0, p. 1–19, 11 out. 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15538362.2020.1828224>. Acesso em: 22 nov. 2023.

KUSWANDI, Bambang; JUMINA. 12 - Active and intelligent packaging, safety, and quality controls. *In*: SIDDIQUI, Mohammed Wasim (Org.). **Fresh-Cut Fruits and Vegetables**. [S.l.]: Academic Press, 2020. p. 243–294. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128161845000124>. Acesso em: 22 nov. 2023.

LANDIM, Ana Paula Miguel *et al.* Sustainability concerning food packaging in Brazil.

Polímeros, v. 26, n. SPE, p. 82–92, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/po/a/Mnh695j5cVys99xsSSx54WM/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 22 nov. 2023.

LI, Hua-Bin *et al.* Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 771–776, 1 jan. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606004821>. Acesso em: 22 nov. 2023.

LOREVICE, Marcos Vinicius *et al.* Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 732–740, 1 jan. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X15300485>. Acesso em: 22 nov. 2023.

MA, Xiaofei; YU, Jiugao. The plasticizers containing amide groups for thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 2, p. 197–203, 30 ago. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861704001237>. Acesso em: 22 nov. 2023.

MACCARI, Giovanna Ramos; OLIVEIRA, Jaqueline Silva de; SEIXAS, Ana Claudia Mendes de. **Conceito dos 5Rs**: Como introduzir a mudança de pensamento no ensino básico a partir da educação ambiental. *In*: Campinas, SP: Unicamp, 2019. Disponível em: <https://www.lcv.fee.unicamp.br/index.php/brazilian-technology-symposium/brazil/brazilian-technology-symposium-btsym-19>

MARTINS, D. *et al.* Nanocompósitos poliméricos. *In*: SANFELINE, Rafaela Cristina; PAVINATTO, Adriana; CORRÊA, Daniel Souza (org.). **Nanocompósitos poliméricos**. São Paulo, Brasil: Edgard Blücher, 2022. v. 1 p. 133–168.

MEHL, Hiany *et al.* The effect of variation of reactional parameters in the preparation of graphene by oxidation and reduction of graphite. **Química Nova**, v. 37, p. 1639–1645, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/cR7bCKQZtwkQ3QkgqDxvBgN/>. Acesso em: 21 jan. 2025.

MERGEN, Ömer Bahadır; ARDA, Ertan; EVINGÜR, Gülşen Akın. Electrical, optical and mechanical properties of chitosan biocomposites. **Journal of Composite Materials**, v. 54, n. 11, p. 1497–1510, 1 maio 2020. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0021998319883916>. Acesso em: 22 nov. 2023.

MIRANDA, Kelvi W. E. *et al.* Polystyrene bioactive nanofibers using orange oil as an *eco-friendly* solvent. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 15, p. 47337, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.47337>. Acesso em: 22 nov. 2023.

MIRANDA, Kelvi W. E. *et al.* Halochromic Polystyrene Nanofibers Obtained by Solution Blow Spinning for Wine pH Sensing. **Sensors**, v. 20, n. 2, p. 417, jan. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/2/417>. Acesso em: 22 nov. 2023.

MIRANDA, Kelvi W. E. *et al.* *Eco-friendly* bionanocomposite based on a ternary blend reinforced with bacterial cellulose for application in packaging materials. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 48, p. 101442, 1 mar. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289425000122>. Acesso em: 25 mar. 2025.

MOHAMMADI, Saeid; BABAEI, Amir. Poly (vinyl alcohol)/chitosan/polyethylene glycol-assembled graphene oxide bio-nanocomposites as a prosperous candidate for biomedical applications and drug/food packaging industry. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 201, p. 528–538, 15 mar. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813022001003>. Acesso em: 26 jun. 2025.

MORDOR. **Packaging Market Size & Share Analysis - Growth Trends & Forecasts (2025 - 2030)**. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-packaging-market>. Acesso em: 29 abr. 2025.

MOURAD, Anna Lúcia; TAVARES, Maria Paula de Figueiredo. A responsabilidade compartilhada das embalagens pós-consumo. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 32, n. 1, p. 1–4, mar. 2020. Disponível em: <https://ital.agricultura.sp.gov.br/arquivos/cetea/informativo/v32n1/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

MOUSTAFA, Hesham *et al.* Ultrafast response humidity sensors based on polyvinyl chloride/graphene oxide nanocomposites for intelligent food packaging. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 331, p. 112918, 1 nov. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924424721003836>. Acesso em: 17 maio 2025.

NICOLETTI, Marcello; SERRONE, Paola Del. **Intelligent and Smart Packaging**. [S.l.]: IntechOpen, 2017.

OMER, Abdeen Mustafa. Energy, environment and sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 12, n. 9, p. 2265–2300, 1 dez. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032107000834>. Acesso em: 22 nov. 2023.

PRASAD, Ram; BHATTACHARYYA, Atanu; NGUYEN, Quang D. Nanotechnology in Sustainable Agriculture: Recent Developments, Challenges, and Perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1014, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01014>. Acesso em: 22 nov. 2023.

PURCEA LOPES, Pompilia Mioara *et al.* Characterization of a Graphene Oxide-Reinforced Whey Hydrogel as an *Eco-friendly* Absorbent for Food Packaging. **Gels**, v. 9, n. 4, p. 298, abr. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2310-2861/9/4/298>. Acesso em: 26 jun. 2025.

RAJ, Silpa *et al.* Nanotechnology in cosmetics: Opportunities and challenges. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 4, n. 3, p. 186–193, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3425166/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

RASMUSSEN, Kirsten *et al.* **Towards a review of the EC Recommendation for a definition of the term “nanomaterial”.Part 1, Compilation of information concerning the experience with the definition.** LU: Publications Office of the European Union, 2014.

ROESLER, Roberta *et al.* Antioxidant activity of cerrado fruits. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 53–60, mar. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/cta/a/JL5qH3Jtr4NNnXRJkphMVNG/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 22 nov. 2023.

RUIZ-MARTÍNEZ, Judith *et al.* Candelilla wax edible coating with *Flourensia cernua* bioactives to prolong the quality of tomato fruits. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1303, set. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/9/1303>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SANCHES, Marcio Augusto Ribeiro *et al.* Development, characterization and optimization of biopolymers films based on starch and flour from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel. **Food Chemistry**, p. 128430, 20 out. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620322925?via%3Dihub>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SANFELICE, R. C.; PAVINATTO, A.; CORRÊA, D. S. **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. 1. ed. São Paulo, Brasil: Edgard Blücher, 2022. v. 1

SEBRAE. **Gestão de resíduos sólidos: uma oportunidade para o desenvolvimento municipal e para as micro e pequenas empresas**. 1. ed. São Paulo, SP: Instituto Envolverde : Ruschel & Associados, 2012.

SHAIKH, Hamid M. *et al.* Utilization of sugarcane bagasse cellulose for producing cellulose acetates: Novel use of residual hemicellulose as plasticizer. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 1, p. 23–29, 2 mar. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861708004384>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SHEN, Jiaming *et al.* Sustainable Layer-by-Layer Films Using Chitosan Decorated With Anthocyanins and Carboxylated Graphene Oxide for Food Packaging Applications. **Journal of Polymer Science**, v. 63, n. 5, p. 1170–1183, 2025. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pol.20240921>. Acesso em: 26 jun. 2025.

SINGH, Sohan Bir; HASKIN, Noah; DASTGHEIB, Seyed A. Coal-based graphene oxide-like materials: A comprehensive review. **Carbon**, v. 215, p. 118447, 1 nov. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008622323006929>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In: Methods in Enzymology*. Oxidants and Antioxidants Part A. [S.l.]: Academic Press, 1999. v. 299 p. 152–178. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SOBHAN, Abdus; MUTHUKUMARAPPAN, Kasiviswanathan; WEI, Lin. Biosensors and biopolymer-based nanocomposites for smart food packaging: Challenges and opportunities. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 30, p. 100745, 1 dez. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289421001137>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SPADOTTO, C. A.; RIBEIRO, W. C. **Gestão de resíduos na agricultura e agroindústria**. 1. ed. Botucatu, SP: FEPAF, 2006.

STATNANO. **STATNANO**: Nano Science, Technology and Industry Information. Science, Technology, and Innovation (STI) Indicators' Database. Disponível em: <https://statnano.com>. Acesso em: 26 jun. 2025.

SUYATMA, Nugraha E. *et al.* Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3950–3957, 1 maio 2005. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf048790%2B>. Acesso em: 22 nov. 2023.

THAIPONG, Kriengsak *et al.* Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, Biodiversity and nutrition: a common path. v. 19, n. 6, p. 669–675, 1 set. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157506000081>. Acesso em: 22 nov. 2023.

UN, United Nations. **Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development** | Department of Economic and Social Affairs. Disponível em: <https://sdgs.un.org/2030agenda>. Acesso em: 29 abr. 2025.

VALENCIANO, G. R.; JOB, A. E.; MATTOSO, L. H. C. Improved conductivity of films of ultra high molecular weight polyethylene and polyaniline blends prepared from an m-cresol/decaline mixture. **Polymer**, v. 41, n. 12, p. 4757–4760, 1 jun. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386199007296>. Acesso em: 22 nov. 2023.

VIVALDI, Federico Maria *et al.* Three-Dimensional (3D) Laser-Induced Graphene: Structure, Properties, and Application to Chemical Sensing. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 26, p. 30245–30260, 7 jul. 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.1c05614>. Acesso em: 21 jan. 2025.

WANG, Fangcheng *et al.* Laser-induced graphene: preparation, functionalization and applications. **Materials Technology**, v. 33, n. 5, p. 340–356, 16 abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10667857.2018.1447265>. Acesso em: 21 jan. 2025.

WANG, Jian *et al.* Enhanced properties of gelatin films incorporated with TiO₂-loaded reduced graphene oxide aerogel microspheres for active food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 261, p. 129772, 1 mar. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813024005750>. Acesso em: 26 jun. 2025.

WANG, Zi *et al.* Multi-Functional Edible Film with Excellent UV Barrier Performance and Accurate Instant Ion Printing Capability. **Advanced Sustainable Systems**, v. n/a, n. n/a, p. 2000043, 27 jun. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adsu.202000043>. Acesso em: 22 nov. 2023.

WICHCHUKIT, Sukanya; O'MAHONY, Michael. The 9-point hedonic scale and hedonic ranking in food science: some reappraisals and alternatives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2167–2178, 30 ago. 2015. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.6993>. Acesso em: 22 nov. 2023.

WIKSTRÖM, Fredrik *et al.* The Importance of Packaging Functions for Food Waste of Different Products in Households. **Sustainability**, v. 11, n. 9, p. 2641, jan. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/11/9/2641>. Acesso em: 29 abr. 2025

WISSMANN, Martin Airton; HEIN, André Fernando; NEULS, Hélio. Geração de resíduos: uma análise da ecoeficiência nas linhas de produção em uma indústria de laticínios e a influência sobre os custos ambientais. **Custos e Agronegócio on-line**, v. 9, n. 4, p. 83–103, dez. 2013. Disponível em: <http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero4v9/residuos.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2023.

YE, Ruquan; TOUR, James M. Graphene at Fifteen. **ACS Nano**, v. 13, n. 10, p. 10872–10878, 22 out. 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.9b06778>. Acesso em: 21 jan. 2025.

ZHANG, Rui Xue *et al.* Importance of integrating nanotechnology with pharmacology and physiology for innovative drug delivery and therapy - an illustration with firsthand examples. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 39, n. 5, p. 825–844, maio 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/aps201833>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ZIELINSKI, Acácio Antonio Ferreira *et al.* A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, Authenticity, Typicality, Traceability and Intrinsic Quality of Food Products. v. 60, p. 246–254, 1 jun. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913004973>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ZORE, Žan; ČUČEK, Lidija; KRAVANJA, Zdravko. Synthesis of sustainable production systems using an upgraded concept of sustainability profit and circularity. **Journal of Cleaner Production**, v. 201, p. 1138–1154, 10 nov. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652618321395>. Acesso em: 22 nov. 2023.

APÊNDICE A² – VALORIZATION OF TROPICAL AMAZONIAN FRUIT AGRO-INDUSTRIAL WASTES FOR SUSTAINABLE PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE NANOFIBERS

Kelvi W.E. Miranda^{1*} • Gabriel V. Sá¹ • Maryana M. Frota¹ • João P.S. Neto² • Miguel Ângelo Almeida Pinheiro de Carvalho^{2,3} • Nuno Miguel Velosa Nunes^{2,3} • Mariana Teixeira da Costa Machado⁴ • Tiago M. Souza⁵ • Maria do Socorro R. Bastos⁶ • Lucicléia B. Vasconcelos¹

¹ *Laboratory of Research and Innovation in Plant Products and Packaging, Food Engineering Department, Federal University of Ceará, Fortaleza 60356-000, Brazil.*

² *ISOPlexis - Centre of Sustainable Agriculture and Food Technology, Campus da Penteada, University of Madeira, Funchal 9020-105, Portugal.*

³ *Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, CiTAB, Inov4Agro, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta de Prados, Vila Real 5000-801, Portugal.*

⁴ *Department of Food Technology, Institute of Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica 23890-000, Brazil.,*

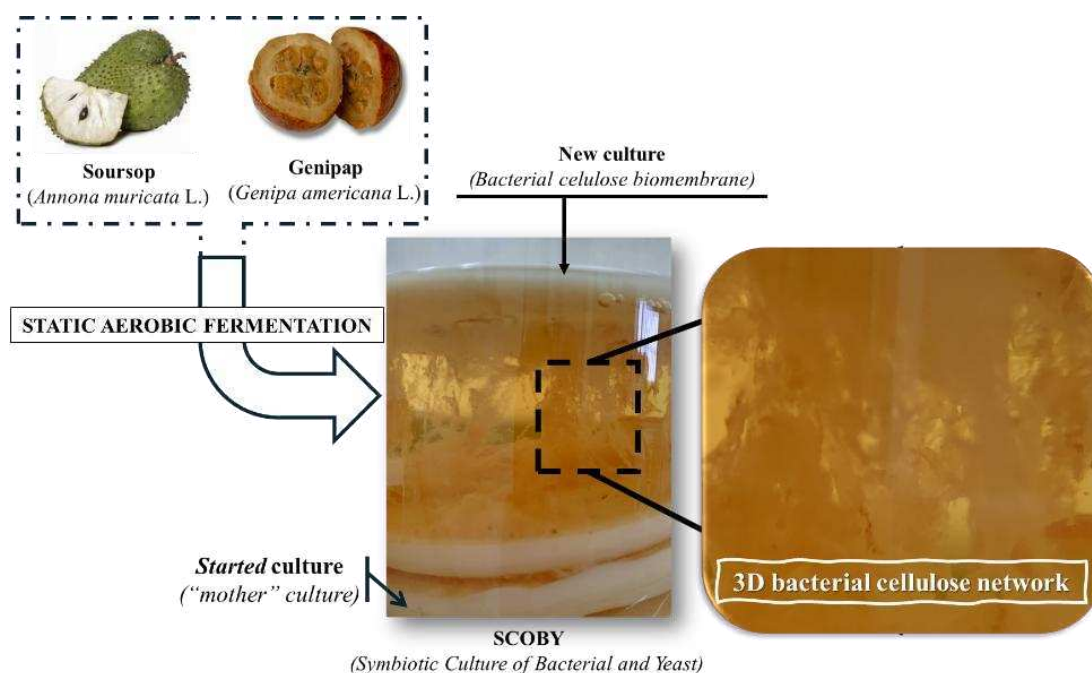
⁵ *Institutional Postdoctoral Program, State University of Amapá, Macapá 68900-070, Brazil.*

⁶ *Packaging Laboratory, Embrapa Tropical Agroindustry, Fortaleza 60511-110, Brazil.*

* *Corresponding authors: kelviwilmiranda@gmail.com (Kelvi W.E. Miranda) - Laboratory of Research and Innovation in Plant Products and Packaging Federal University of Ceara - Zip code: 60356-000, CE, BRA.*

² O presente manuscrito, até a presente data, foi submetido à revista Polymer Bulletin (1566-2543) (A2, Percentil 80%, fator de impacto de 4.0) no mês de setembro de 2025. O artigo foi escrito em inglês, conforme exigência da revista. Para compor esta tese, ele está sendo apresentado na sua versão integral.

GRAPHICAL ABSTRACT



HIGHLIGHT

- Valorization of Amazonian waste into high-value cellulose for packaging.
- Cellulose optimization from genipap residue, achieving 75.2% crystallinity.
- Sustainability cellulose promotes a circular economy in industry.

ABSTRACT

The growth of the agro-industrial sector has led to an abundance of organic waste (AIW), which, though often improperly disposed of, is rich in carbon sources. This makes it a sustainable alternative for producing bacterial cellulose nanofibers (BCN). This study successfully produced and characterized BCN from Amazonian soursop and genipap waste, comparing it with standard sucrose control. Integrating XRD and DSC analyses was crucial for understanding how the carbon source influences the material's physicochemical properties. The cellulose from genipap waste (BCN-G) stood out, exhibiting a crystallinity index of 75.2% and a crystallite size of 163.1 nm. These characteristics are highly relevant for the packaging sector, as they enhance mechanical strength, barrier properties, and biocompatibility. While the control BCN had a higher fusion enthalpy, suggesting greater crystalline purity, the DSC analysis indicated that impurities in the AIW-derived samples might compromise thermodynamic stability. This work validates the use of renewable sources, aligning with the circular economy and SDG 12 (Responsible Consumption and Production). The research establishes a foundation for potential industrial-scale application. Future research should focus on optimizing BCN synthesis, functionalizing it through microbial community analysis, and conducting further robust analyses, such as nuclear magnetic resonance. The BCN from genipap residue represents a promising and biodegradable material that can replace conventional polymers, contributing significantly to sustainable solutions in the food industry.

KEYWORDS: Nanocellulose; Fermentation; Sustainability; Biomaterials; Waste valorization.

1 INTRODUCTION

The expansion of the food industry to meet the demands of a growing global population has resulted in substantial volumes of organic waste in post-processing environments [1]. The juice production chain has been found to contribute significantly to organic waste generation, with the citrus sector alone responsible for approximately 25 million tons of waste annually [2]. The necessity of effective control of post-harvest losses is paramount, and a range of factors must be given full consideration. These include the ripening stage of the fruit [3], given that the transportation chain for fresh produce is characterized by a high degree of fragility. Moreover, the physiological damage caused by diseases within the production chain can result in losses of up to 30%, which increases the volume of waste by up to 80% of the fruit's total weight [4].

In this context, research efforts have increasingly focused on the valorization of these residues, investigating their properties and potential applications across diverse sectors. Recent studies have emphasized the potential of this waste as a raw material for various products, including pharmaceuticals [5], animal feed [6], bioplastics [7], bioenergy [8], and printable materials [9]. Furthermore, this waste can be utilized as a low-cost carbon source to produce bacterial cellulose [10], signifying a promising approach to valorize these agro-industrial by-products.

The ensuing essay aims to provide the reader with a comprehensive overview of the existing literature on the subject. The utilization of agro-industrial waste (AIW) in the development of high-value-added products has emerged as a pivotal area of interest for both the commercial and environmental sectors. This approach has been demonstrated to reduce waste disposal and promote the implementation of sustainable practices in industrial processes [4]. Furthermore, AIWs are advantageous for BC production, as many of these by-products have high concentrations of soluble sugars and compositions that favor greater cellulose development. Examples of such research include the utilization of acerola [11], mango [12], potato juice [13], and apple waste [14]. The present study focuses on genipap (*Genipa americana* L.), which has been found to contain high soluble sugar contents of 422.72 mg.g^{-1} , of which approximately 170.83 mg.g^{-1} is sucrose. In this instance, the by-product is rendered energetically viable for BCN production. Furthermore, research on BCN obtained from soursop (*Annona muricata* L.) residues is low, despite its recent identification as a promising source for obtaining BC [15]. The existing literature on this subject is somewhat superficial and lacks comprehensive comparative analysis with other AIWs. There is significant potential to explore the application of BCN in other polymer matrices, to develop advanced and sustainable

composites for food packaging.

The AIWs utilized in this study are widely accepted in the Brazilian market, originating from tropical regions of the Brazilian Amazon, with unique characteristics that can impact the morphological and crystallographic variations of BCN [16, 17]. The by-products of these raw materials can function not only as sources of fermentable carbon (monosaccharide and disaccharide), but also as sources of bioactive and phenolic compounds that can confer functional properties to BCN (antioxidant, antimicrobial, or improved matrix/reinforcement interaction). Consequently, the company has committed to promoting circular values within the BC production chain, with a particular focus on packaging and other sustainable materials.

Bacterial cellulose is characterized by its high purity and is composed of fibrils up to 100 nm in width. Chemically, it consists of β -D-glucopyranose units connected by β -1,4 glycosidic bonds. Its properties include high crystallinity, flexibility, and tensile strength [18, 19]. The production of bacterial cellulose can occur via an aerobic fermentation route (both static and dynamic), through extracellular and intracellular polymerization in bacteria utilizing carbon sources such as glucose [20]. Among the known bacterial groups, *Gluconacetobacter xylinus* is the most extensively studied, particularly under controlled temperature and humidity conditions [21].

Bacterial cellulose is a commercially valuable product with applications in various areas due to its physical and mechanical properties. However, one of the challenges in producing this material is the high manufacturing cost, where more than half of the total expense is attributed to the cost of the culture medium, posing a significant barrier to industrial-scale production [10]. In this context, developing bacterial cellulose using agro-industrial waste as a culture medium offers a cost-reducing alternative with technological potential for packaging applications [10].

This study aimed to produce bacterial cellulose nanofibers (BCN) using new fermentable carbon (glucose, fructose, and sucrose) sources from agro-industrial waste from *Annona muricata* L. (soursop) and *Genipa americana* L. (genipap) originating from the Brazilian Amazon region. In addition to exploring the potential of waste as an alternative source for sustainable production, the BCN formed were characterized in terms of their morphological and crystallographic properties.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

Agro-industrial waste from soursop (*Annona muricata* L.) (AIW-S) and genipap (*Genipa americana* L.) (AIW-G), including peel, seeds, and portions of discarded pulp due to physical damage, was used as an alternative source of fermentable carbon. This waste was obtained from COOPAAGRO – Cooperativa Agropecuária e de Serviços Nossa Senhora de Aparecida (Caucaia-CE, Brazil) (3°48'59"S, 38°39'48"W). The starter culture, SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), was provided by the Nutrition Laboratory of the Federal University of Ceará (Fortaleza-CE, Brazil), its characteristics are described by da Silva et al. [22]. Low-density sodium carboxymethyl cellulose – CMC (Sigma-Aldrich, CAS 9004-32-4, D.S. 0.65-0.90) was also used.

2.2 Methods

2.2.1 Preparation of substrates for fermentation

Kombucha (BC-control) was obtained from green tea (*Camellia sinensis* K.) leaves and stems, purchased from Chá da Amazônia e Ervas (Amazônia, Brazil), and was prepared with a concentration of 2.5% (m.v⁻¹), at 70 ± 5 °C for 15 min by infusion. The solution was cooled (room temperature), and its pH was adjusted to 3.5-3.7 using *starter* culture liquid. Thereafter, 7.0% (m.v⁻¹) of refined sugar (99.5-99.8% of sucrose) was added and, 10% (w.v⁻¹) of the starter culture (SCOBY) was inoculated into the medium. The AIW of soursop (AIW-S) and genipap (AIW-G), followed the same preparation procedure as the control BC, but without the incorporation of sucrose and green tea. The concentrations of fermentable soluble sugars (fructose, sucrose, and glucose) were recorded, maintaining a concentration of 7.0% (m.v⁻¹) (Table 1). At the end of the soluble sugar extraction process the extracts were adjusted to a pH of 3.5–3.7 at room temperature with the starter culture liquid.

Table 1. Fermentable carbon sources from raw materials that were considered for bacterial cellulose biomembrane preparation by static fermentation.

Raw Material	Fermentable carbon	Code
Commercial sugar ¹	Sucrose ³	BC-control
Soursop ²	Sucrose ⁴ , fructose, and glucose	BC-S
Genipap ²	Sucrose ⁴ , fructose, and glucose	BC-G

(¹) Average granule size of sugar crystals between 10 and 20 μm ; (²) Agro-industrial waste of soursop (*Annona muricata* L.) and genipap (*Genipa americana* L.): pulp, peel, seeds, and 30% fibrous part discarded due to industrial non-conformity; (³) This term is used to denote the sucrose content of commercial sugar; and (⁴) corresponds to the sucrose content of AIW-S and AIW-G. It is important to note that sucrose is not added during the fermentation process.

2.2.2 Characterization of AIW and substrates

Fermentable sugars (sucrose, fructose, and glucose) were determined through high-performance liquid chromatography (HPLC) [23]. Calibration of the chromatograph employed external standards, including D(+) anhydrous glucose P.A. (Vetec, Brazil), sucrose P.A. (CAAL, Brazil), and D(-) fructose (Dinâmica, Brazil), prepared by dissolving 100 mg of the respective standard in 10 mL of Milli-Q water. Extracts were injected in triplicate into a Shimadzu liquid chromatograph (US). The analytical column was a Kromasil 100 Å, NH₂ (150 x 4.6 mm, packed with 5 μm particles). The mobile phase flow rate was 1.0 mL.min⁻¹ with a column temperature of 40 °C. The mobile phase comprised 87% acetonitrile (Carlo Erba, Brazil) and 13% Milli-Q grade water. The injection loop was set to 20 μL with a retention time of 20 min. The chromatographies of soursop and genipap extracts are presented in the supplementary material (Fig. S1). The results were based on the retention times of commercial standards (fructose, glucose, and sucrose). The quantification followed the methodology proposed by Lima et al. [23], which achieved recovery greater than 95% and detection limits lower than 0.1 mg.mL⁻¹.

Ground samples of AIW-S and AIW-G were used to prepare an extract at a 1:10 waste/water ratio, according to the method adapted from Assis et al. [24]. The extracts were centrifuged (15,303 xg) and filtered through the qualitative filter. An aliquot of 1 mL of the material was diluted in 10 mL of the extraction solution (acetonitrile/water Milli-Q®) and then filtered through a 0.22 μm filter. The quantification of fermentable sugars in the samples was expressed as mg per 100 g of waste. The same procedure was applied to quantify sugars in the fermentation liquid at four different times: 0, 4, 7, and 15 days of fermentation. The results were

then presented in units of $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

2.2.3 Production, purification, neutralization, and suspension of BC

The SCOBYs formed at the air-water interface of the extracts (control, AIW-S, and AIW-G) were removed and carefully washed with distilled water at $80\text{ }^{\circ}\text{C}/1\text{ h}$ (three repetitions) to eliminate residues from the fermentation process (Fig. 1B). Subsequently, the samples were purified in 2% NaOH solution ($\text{w}\cdot\text{v}^{-1}$) at $80\text{ }^{\circ}\text{C}/1\text{ h}$ (two repetitions) (Fig.1C). At this stage, cellulose bleaching occurs to remove the dark coloration derived from the carbon source. After purification, the bacterial cellulose (BC) membrane was neutralized by washing with distilled water at $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until a pH close to 7.0 was achieved [25].

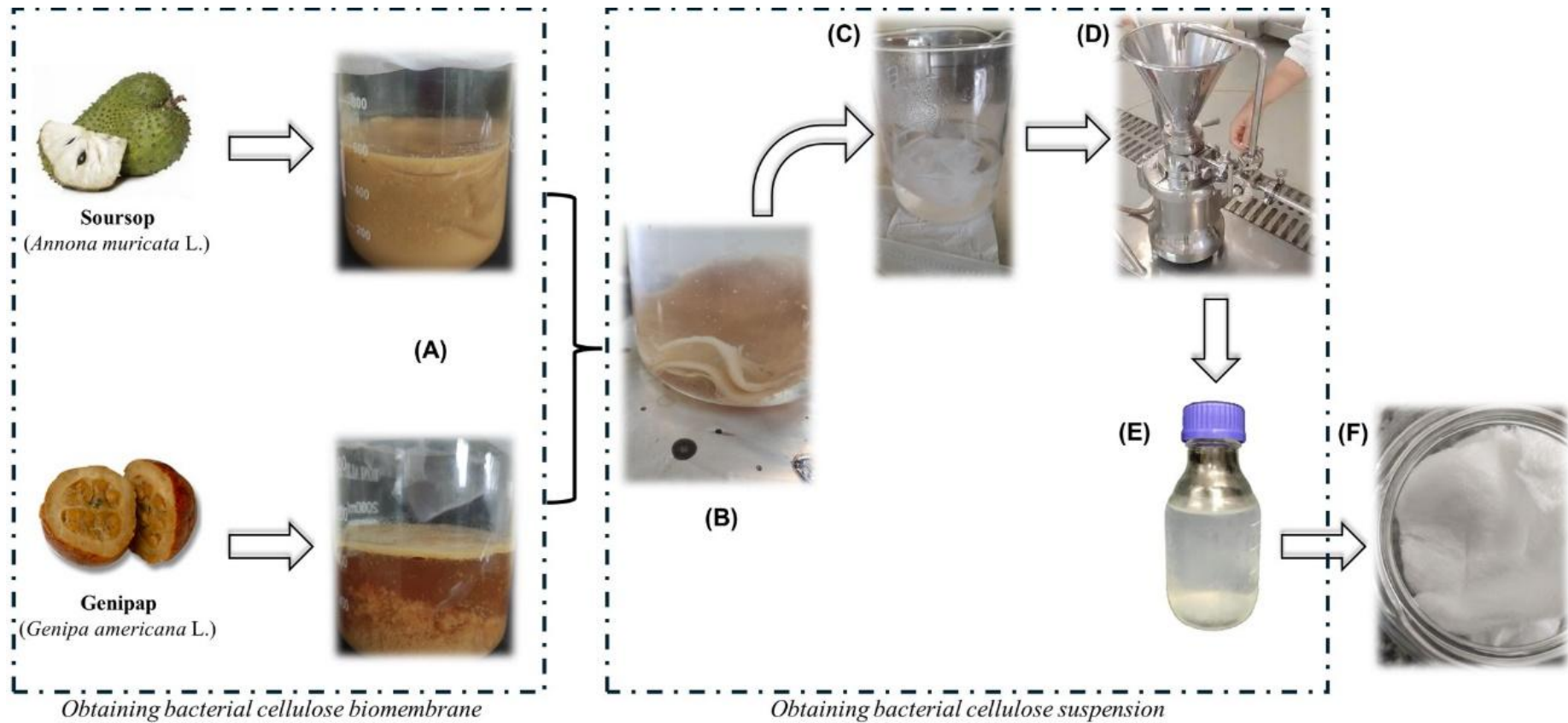


Fig. 1. Process for obtaining bacterial cellulose suspension from AIW-S and AIW-G: (A) waste extracts with pH adjustment to 3.5–3.7; (B) purification in distilled water (80 °C for 60 min); (C) neutralization in 2% NaOH (80 °C for 120 min), followed by washing with distilled water until reaching a neutral pH; (D) use of a colloidal mill, with bacterial cellulose suspension stabilized with 0.1% CMC (w.w⁻¹); (E) bacterial cellulose suspension at 2% (m.v⁻¹); and (F) fibrous mat of freeze-dried bacterial cellulose.

The bacterial cellulose suspension (Fig. 1E) was prepared following the methodology proposed by Andrade et al. [26], with adaptations. Defibrillation of the neutralized BC membrane was conducted in stages (Fig. 1D): (i) increasing the membrane's surface area through cutting and grinding; (ii) obtaining a concentrated BC suspension at 2% (w.v⁻¹) with 0.1% (w.w⁻¹) carboxymethylcellulose (CMC) as a stabilizing agent, using a colloidal mill (Meteor Rex Inox I-V-N) with recirculation for 10 min. The suspension was stored under refrigeration for later use. The cellulose suspension was frozen in an ultrafreezer model MDF-U33 V (SANYO, Moriguchi, Japan) at -80 °C and freeze-dried (1000-2000 µmHg) in a pilot freeze-dryer model LP 510 (Liobrás, SP, Brazil) for 48 h, initially at the -100 to -30 °C, increasing up to 30 °C (Fig. 1F) [27].

The total BC yield and the productivity of the biosynthesis of the different substrates under fermentation were calculated according to the method proposed by Volova et al. [28] (Eqs.1 and 2).

$$Y = \frac{m_{BC}}{V_{cultive}} \quad (\text{Equation 1})$$

$$P = \frac{Y}{t} \quad (\text{Equation 2})$$

Where Y corresponds to the yield (g.L⁻¹); m_{BC} the dry mass of cellulose (g); V, the volume of the culture medium used (L). Therefore, productivity (P) will be the ratio of the yield divided by the time (t) in days.

2.2.4 Characterization of Bacterial Cellulose Nanofibers

The morphologies of the cellulose nanofibers were analyzed using a Quanta FEG microscope. Samples were mounted on aluminum stubs using double-sided carbon adhesive tape and then coated with a 20 nm layer of gold at an acceleration voltage of 20 kV [27]. The mean fiber diameters were calculated using ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA), analyzing the morphology of 55 randomly selected fibers.

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy was performed using a PerkinElmer spectrophotometer (Spectrum Two LiTa, Liantrisant, UK) equipped with an attenuated total reflectance (ATR) sampling accessory. The analysis was conducted in the range of 4,000 to 500 cm⁻¹ with a resolution of 4 cm⁻¹ over 64 scans.

X-ray diffraction (XRD) analysis was conducted using an Ultima IV diffractometer (Rigaku, Japan). The crystallographic patterns of the dried samples (Fig. 1F) were examined

using Cu-K α radiation ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$), operating at 40 kV and 20 mA, with a scanning rate of $5^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ and a step size of 0.02 s^{-1} . The samples were prepared according to Fig.1. Thus, the lyophilized samples (Fig.1F) were evaluated over a 2θ range from 5° to 44° . The crystallinity index was calculated using the DIFFRACT.EVA software (Bruker), based on the total area under the diffractograms between 5° and 44° [15]. The interplanar spacing (d-spacing), as per Bragg's Law (Eq. 3), and the cellulose crystallite size were determined using the Scherrer method (Eq. 4), as proposed by Pal et al. [29].

$$d = \frac{n\lambda}{2 \sin(\theta)} \quad (\text{Equation 3})$$

$$\langle D_{av} \rangle = \frac{k\lambda}{\beta \cos(\theta)} \quad (\text{Equation 4})$$

where $\langle D_{av} \rangle$ is the average crystallite size; n is reflection order (considered for the main peak); k is the shape factor (0.9), λ is the X-ray wavelength (1.54056 \AA), θ is the Bragg angle corresponding to the diffraction plane (002), and Full Width at Half Maximum (FWHM) (β) converted to radians.

Differential Scanning Calorimetry (DSC) analysis was conducted using a Q20 V24.9 Build 121 (TA Instruments, New Castle, DE) under an N_2 atmosphere with a constant gas flow of $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The temperature range applied was from -50°C to 210°C , with a heating rate of $10^\circ \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, aiming to determine the glass transition temperature (T_g) and melting temperature (T_m) during the heating scan (Miranda et al., 2025).

2.3 Statistical Analysis

Statistical data analysis was conducted using Statistica software, version 12 (StatSoft. Inc., USA, 2011). One-way analysis of variance (ANOVA) was conducted, followed by Tukey's test, with a significance level of 5%.

3 RESULTS AND DISCUSSIONS

3.1 Quantification of fermentable sugars by HPLC

The total sugar concentration in the fresh residues was found to be elevated. For AIW-S, the total was $24.90 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$ (fresh weight), with fermentable sugars composed of fructose ($10.72 \pm 0.35 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$), glucose ($13.08 \pm 0.29 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$), and sucrose ($1.11 \pm 0.00 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$). It was determined that AIW-G was the most abundant sample, with a total of $41.99 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$, comprising fructose ($8.88 \pm 0.15 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$), glucose ($16.91 \pm 0.39 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$) and sucrose ($16.20 \pm 0.06 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{fw}$). However, when preparing the extracts by the infusion method, the highest concentrations of fermentable carbon at the initial moment (t_0) were observed over 360 h (15 days), as shown in Table 2.

Table 2. The evolution of the concentration of fermentable sugars (sucrose – S, glucose – G, and fructose – F) over a period of 360 h of static aerobic fermentation with SCOBY in different agro-industrial wastes is presented: commercial sugar (control), soursop (AIW-S), and genipap (AIW-G).

1

Time (h)	Control			AIW-S			AIW-G		
	S	G	F	S	G	F	S	G	F
0	84.47 ± 0.06	<LOQ*	<LOQ	29.80 ± 0.03	28.03 ± 0.08	15.43 ± 0.01	27.64 ± 0.04	50.66 ± 0.00	31.63 ± 0.01
96	77.46 ± 0.01	<LOQ	<LOQ	23.68 ± 0.09	28.92 ± 0.03	17.36 ± 0.02	27.71 ± 0.02	50.19 ± 0.02	22.86 ± 0.01
120	59.27 ± 0.02	2.03 ± 0.02	2.92 ± 0.07	28.02 ± 0.03	27.85 ± 0.05	16.73 ± 0.07	19.11 ± 0.07	69.30 ± 0.01	32.69 ± 0.02
192	63.16 ± 0.09	2.35 ± 0.07	3.80 ± 0.03	33.74 ± 0.05	36.06 ± 0.05	18.45 ± 0.03	18.24 ± 0.01	64.34 ± 0.09	37.30 ± 0.00
264	74.32 ± 0.01	3.43 ± 0.07	5.45 ± 0.09	20.23 ± 0.09	50.08 ± 0.03	12.33 ± 0.06	41.33 ± 0.07	58.64 ± 0.02	32.61 ± 0.01
360	10.68 ± 0.002	2.94 ± 0.01	4.21 ± 0.07	11.13 ± 0.03	31.80 ± 0.04	9.09 ± 0.01	11.22 ± 0.02	40.06 ± 0.07	26.12 ± 0.05
\sum sugars	396.49 ± 0.63			438.73 ± 0.78			661.65 ± 0.72		
(G + F/S) ratio	0.07			1.99			3.56		

2

(*) <LOQ, below the limit of quantification.

As demonstrated in Table 2, the three substrates: control, AIW-S, and AIW-G, exhibit different carbohydrate availability and transformation profiles, which are reflected in the initial substrate composition and the functional activity of the symbiotic consortium of microorganisms. In BC control, glucose and fructose concentrations were not detected until 96 h, which can be attributed to the activity of invertase derived from yeasts present in the symbiotic consortium. Studies demonstrate that action of the symbiotic consortium is facilitated by the action of yeast invertases [30, 31]. Additionally, the (G+F)/S ratio is 0.07, indicating that sucrose is the predominant fermentable sugar during the early stages of fermentation, providing insight into the metabolic dynamics of the process. Conversely, genipap (AIW-G) exhibited the highest total sugar concentration of 661.65 mg.mL⁻¹ and a substantially elevated transformation into monosaccharides (G+F)/S = 3.56. The maximum glucose concentration was observed at a time point between 120 and 192 h, indicating that the carbon-rich medium was conducive to the efficient synthesis of bacterial cellulose. This condition also contributed to the increase in SCOBY wet mass observed in this treatment.

Soursop (AIW-S) exhibited an intermediate total sugar content of 438.73 mg.mL⁻¹ and a (G+F)/S ratio of 1.99. This finding indicates a significant degree of sucrose hydrolysis, suggesting a fructophilic nature of the microbial consortium [32], which means that fructose is absorbed more rapidly. The validity of this hypothesis is substantiated by the relatively rapid disappearance of fructose, the occurrence of glucose maxima, and the concomitant decline in sucrose levels. In addition, it can be hypothesized that these behaviors may be related to two factors. The symbiotic consortium exhibits a marked preference for sucrose and glucose as energy sources [31, 33]. Furthermore, changes in sugar consumption during fermentation may be influenced by the composition of the symbiotic culture used [34, 35].

Leandro et al. [33] analyzed the kinetic effects of fructose and glucose absorption in *Zygosaccharomyces rouxii*. The authors observed that *Z. rouxii* presents a fructophilic behavior. Neffe-Skocińska et al. [36] observed in their experiments that, in kombucha culture (unspecified), yeasts consumed fructose more rapidly than glucose. A similar pattern was reported in previous studies [37]. Although the glucose/fructose ratio suggests a contradiction to common behavior in biochemistry, such behavior can be attributed to the complex interactions of sugars with the phenolic compounds in the extracts. [38].

In all treatments, the marked decrease in total sugars at 360 h indicates extensive microbial utilization, with carbohydrates being metabolized into organic acids and ethanol, as well as incorporated into the bacterial cellulose matrix. These results are consistent with the findings of Fonteles et al. [39], who observed a marked decrease in sucrose concentrations in

all samples during fermentation, accompanied by increases in glucose and fructose levels. It can be concluded that the preferential utilization of fructose as a carbon source by the kombucha microbiota is indicated by the persistently lower fructose concentrations observed here, given that sucrose hydrolysis produces equimolar amounts of both monosaccharides [40, 41].

3.2 Yield and productivity of BC

Cellulose yield and productivity depend on the composition of the substrate used for fermentation, as well as the type of fermentation method (static or dynamic), the area of the medium, the volume ratio, and the pH used [20, 28]. Table 3 shows the yield and productivity of bacterial cellulose after 360 hours of static aerobic fermentation.

Table 3. Data on bacterial cellulose yield and productivity after 360 h (15 days) of static fermentation under ambient conditions (temperature, 25 °C, and relative humidity, 50–65%).

	Control	AIW-S	AIW-G
Yield (g.L ⁻¹)	31.51	9.49	14.04
Productivity (g.L ⁻¹ .day ⁻¹)	1.5	0.63	0.94

Table 3 shows that the control treatment exhibited higher yield (31.51 g.L⁻¹) and productivity (1.5 g.L⁻¹.day⁻¹) compared to the residues. Therefore, the sequence is as follows: $Y_{\text{control}} > Y_{\text{genipap}} > Y_{\text{soursop}}$, and consequently, productivity is $P_{\text{control}} > P_{\text{genipap}} > P_{\text{soursop}}$. Consequently, this discrepancy in residues, with respect to the control, may be associated with the predominance of sucrose (Table 2) during the fermentation period, accompanied by a gradual and sustained release of monosaccharides to the symbiotic consortium of microorganisms. However, the high initial availability of monosaccharides (as in AIW-G) does not invariably result in high BC yields. It can thus be concluded that the timing of the release and the chemical composition of the medium (including inhibitory or modulatory compounds) can be of fundamental importance in the production of cellulosic material [28, 42].

3.3 Characterization of bacterial cellulose

Changes in the fermentable carbon source and cultivation method can induce modifications in the three-dimensional morphology of the cellulose film, as well as in the size and shape of the fibers [43, 44]. Indeed, the bacterial cellulose nanofibers (BCN) derived from

alternative carbon sources exhibited morphological and structural variations in the fibril network (Fig. 2).

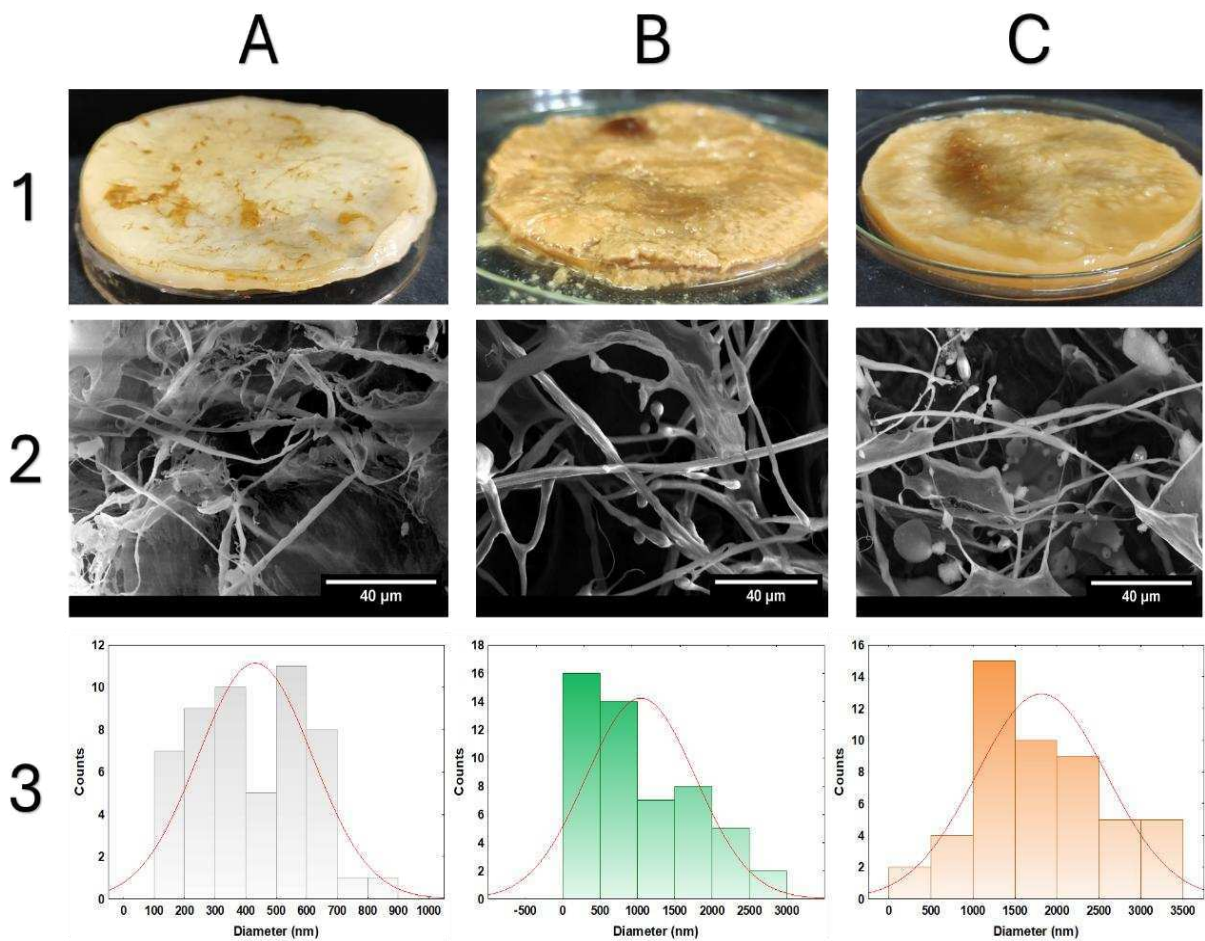


Figure 2. SCOBY of BC *in natura* (unwashed) cultivated in *Camellia sinensis* tea (green tea) + sucrose (A1), soursop AIW (B1), and genipap AIW (C1), followed by micrographs of the nanofibers networks (A2), (B2), and (C2), and diameter histograms (n = 55) (A3), (B3), and (C3) for each respective fermentable carbon sources.

Fig.2A (line 1) shows macroscopic images of the SCOBY formed using the conventional static fermentation method. Fig.2A1 shows the SCOBY formed using *Camellia sinensis* K. and sugar (sucrose). Fig.2B1 and 2B3 show the SCOBYs formed using the alternative carbon sources of soursop (*Annona muricata* L.) agro-industrial waste (AIW-S) and genipap (*Genipa americana* L.) agro-industrial waste, respectively. The color difference in the SCOBYs can be observed and may be associated with the influence of the culture medium on pigmentation, phenolic compound wastes, and/or protein content [45].

Variations in the nanofibrous network can also be observed in the micrographs (Fig.2, line 2), with differences in organization and density that may indicate varying degrees of crystallinity. The diameter distribution of the nanofibers (Fig.2, line 3) shows more uniform

fibers (Fig. 2A3) and more random fibers (Fig. 2B3 and Fig. 2C3 with the formation of microfibrils ($>1000\ \mu\text{m}$) and nanofibers ($<500\ \text{nm}$) evident in the micrographs. However, it is challenging to estimate the diameter/size of cellulose fibers due to their fibrillated form [46]. Furthermore, microparticles attached to the nanofibers can be observed, which may indicate an improvement in the bleaching and/or neutralization protocols of the biomembrane.

Ioelovich and Leykin [47] propose that the average diameter of bacterial cellulose nanofibers is approximately $100\ \text{nm}$, with a length of up to $100\ \mu\text{m}$. Additionally, the literature suggests that the morphology and chemical composition of the cellulose surface can be influenced by the carbon source materials, as well as by the treatment processes used to obtain the biomaterial, including factors such as microbial strain type, temperature, incubation conditions, and incubation time [4, 43, 48–50]. Vinogradov et al. [46] propose that the formation and structuring of these fibrils arise from the process by which microorganisms (bacteria and/or yeasts) synthesize these long macromolecules. The authors also highlight the challenges in controlling or predicting potential fibril entanglements.

FTIR analysis was conducted to investigate the vibrational frequencies of the materials, providing insights into the material's molecular structure and physicochemical properties [51]. The infrared (IR) spectra of bacterial cellulose nanofibers (BCN) obtained from different fermentable carbon sources are presented in Fig.3. The results revealed that, although the characteristic bands of bacterial cellulose remained consistent among the samples, variations were observed among the spectra (Fig.3). Table 4 summarizes the leading bands identified and their respective assignments.

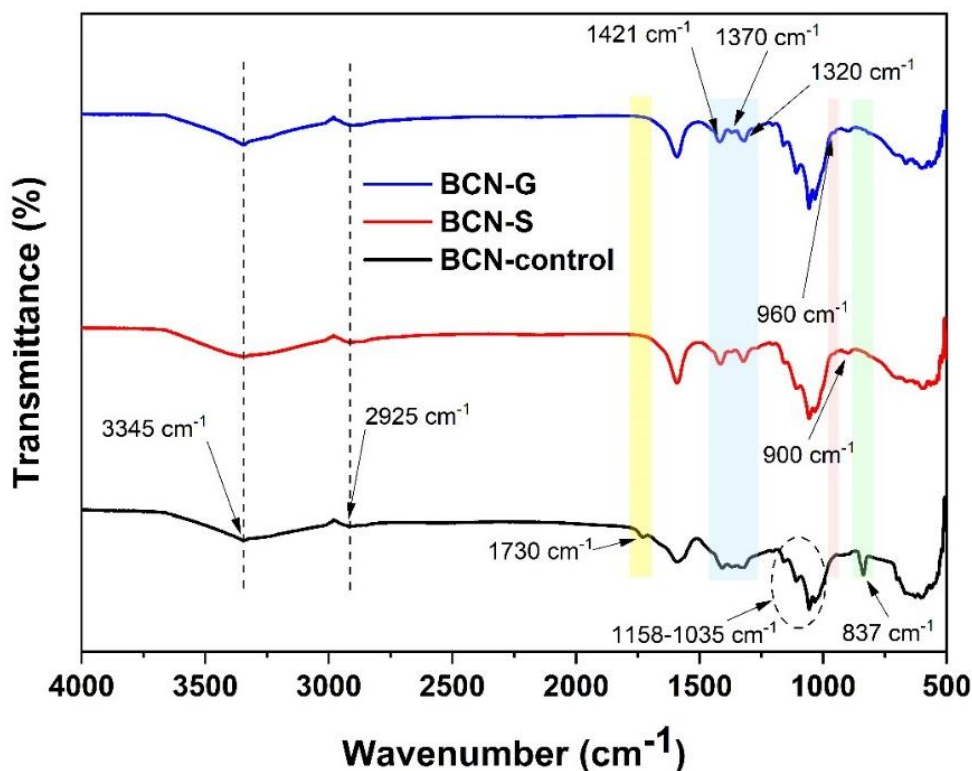


Figure 3. Infrared (IR) spectra of the bacterial cellulose nanofibers (BCN) films obtained from kombucha (control) and soursop (S) and genipap (G) agro-industrial wastes.

Table 4. Main bands and their respective functional groups identified and assigned for bacterial cellulose (BC) obtained from different fermentable carbon sources.

Wavenumber (cm^{-1})	Functional groups	References
3345	$\nu(\text{O-H})$ cellulose I	[52, 53]
2925	$\nu_a(\text{CH}_2)$	[54, 55]
	$\nu(\text{C=O})$ form proteins and lipids or attributed to the carbonyl	[55, 56]
1730	(C=O) stretching vibration of esters, carboxylic acids or aldehydes	
1421	$\delta(\text{HCH, OCH})$ in the plane	[54]
1370	$w(\text{CH})$	[54]
1320	Benzene ring mixed with $\delta(\text{CH})$ in the plane (cellulose)	[55]
1158	$\nu_a(\text{C-O-C})$, CH deformation	[56, 57]
1111	Ring $\nu(\text{C-C})$ for polysaccharides, cellulose	[55]
1063	$\nu(\text{C-O})$	[57]
1035	$\delta(\text{C-O})$	[58]

900	Out-of-plane $\delta(\text{CH})$ vibrations	[59]
960	ν (β -glycosidic bond) out-of-plane	[60]
837	$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ with β -1,4 linkage at the anomeric carbon	[61, 62]

ν (stretching); ν_a (asymmetric stretching); δ (bending).

Analysis of the IR spectra revealed that the stretching band at 3345 cm^{-1} , which is characteristic of type I cellulose, showed no significant variation between different carbon sources (Fig. 4). This behavior is consistent with the importance of hydrogen bonds in maintaining the structure and organization of cellulose [63]. Previous studies have shown that the purification process using an alkaline solution containing NaOH can lead to changes in the OH stretching vibrations [54]. Furthermore, this band may be associated with the cellulose purification step due to the reduced intensity of the $\nu(\text{NH})$ stretching peak (Gea et al., 2011). However, no component was incorporated during the fermentation process for the visualization of the 1730 cm^{-1} band, which indicates a possible failure in the purification protocol and suggests that the contamination originated from the substrate.

In the infrared spectra of BCN-S and BCN-G, the 1730 cm^{-1} band is highlighted. This corresponds to C=O stretching in proteins and lipids [55, 56], as well as the oxidation of sugars in the formation of carbonyl compounds by SCOBY microorganisms; 960 cm^{-1} , which corresponds to out-of-phase stretching of the β -glycosidic bonds between glucose units [64] and may be associated with glucose content in the carbon source (Fig.2B–C); and 900 cm^{-1} , which is attributed to β -glycosidic bonds out of the ring plane. Additionally, the band at 1160 cm^{-1} is associated with the presence of OH groups of phenolic components and asymmetric stretching of C–O–H bonds in 1,4- β -glycosides. At 1035 cm^{-1} , the band corresponds to asymmetric stretching associated with cellulose crystallinity [60–62, 65, 66]

This study revealed that the symbiotic consortium used in the fermentation process involving alternative carbon sources produced primarily type I cellulose (3345 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} and 900 cm^{-1}), with only trace amounts of type II cellulose (1421 cm^{-1} and 1320 cm^{-1}) detected. This pattern of behavior was like that observed in the BC culture using *Komagataeibacter* sp. W1 [58, 67]. Subtle variations in the intensities of the IR spectra, as well as the presence of secondary bands, suggest that although the fundamental chemical structure of BC is maintained, the different compositions of the fermentation substrates may have influenced the molecular characteristics of the BCN network, as can be seen in Fig. 2.

The X-ray diffraction patterns of BCN obtained from different carbon sources are presented in Fig. 4. The diffractograms revealed significant differences among the samples,

allowing a comparative evaluation of the crystalline structure.

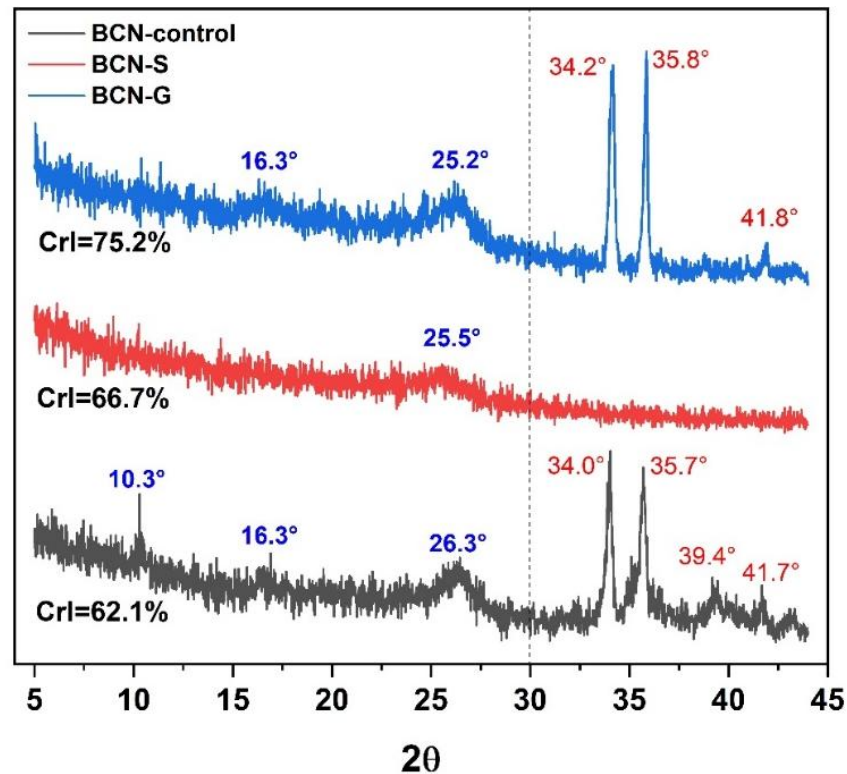


Figure 4. X-ray diffraction of BCN obtained from different fermentable carbon sources: BCN-control (sucrose), BCN-S (AIW- soursop), and BCN-G (AIW-genipap).

The XRD analysis reveals the presence of diffractograms in which the predominant diffraction peaks are situated at 2θ angles of 16° , $22\text{--}26^\circ$, $34\text{--}35^\circ$ and $41\text{--}42^\circ$ (Fig. 4). The predominance of type I cellulose is confirmed in all samples due to the characteristic peaks at approximately 16° and 25° (2θ), which correspond to the (1-10) and (110) crystal planes, respectively [68]. The diffraction pattern observed in this study is consistent with the findings reported in the extant literature concerning bacterial cellulose. Zhu et al. [69] evaluated the biosynthesis of native bacterial cellulose and observed diffraction peaks at 14.4° , 16.6° , 22.6° , 27.8° , and 29.3° thus providing a valuable addition to the existing body of knowledge in this field. As French [70] demonstrated, models have been presented that associate the crystallinity of cellulose I with peaks at 16.3° , 22.5° , and 34° . As demonstrated in Figure 1, the peaks under consideration were found to be associated with the following diffraction planes: (101), (111), (002), (130), and (122), respectively. Similarly, when studying the synthesis of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter xylinus* with aqueous orange peel extract, Padmanabhan et al. [71] observed the predominance of the diffraction planes (101), (111), and (002), which

correspond to the 2Θ peaks at 14.4° , 16.6° and 22.6° , respectively.

Furthermore, Figure 4 showed the presence of diffraction peaks that exceed 30° , specifically between 34 and 35° and between 41 and 42° , which may be associated with the following: The factors to be considered are as follows: (i) impurities; (ii) degradation products; (iii) structural rearrangements resulting from the heat treatment and pH applied to the fermentation extracts; and (iv) interactions and complexation with bioactive phenolic compounds and/or minerals, as well as the crystallographic organization of bacterial cellulose [72–75]. Evidence of these possible impurities was also observed in the IR spectra (Fig. 3) and micrographs (Fig. 2).

Ciolacu and Popa [73] established a hierarchical classification system for CrI cellulose polymorphs, wherein $\text{CrI}_{\text{cellulose I}} > \text{CrI}_{\text{cellulose II}} > \text{CrI}_{\text{cellulose III}}$. The BCN-control sample (Fig. 4) exhibited a diffraction peak at 10.3° , which may be associated with: (i) the presence of cellulose II or cellulose III [73] and (ii) disordered (amorphous) cellulose phases due to interactions and complexation with bioactive (phenolic) compounds and/or minerals [72, 74].

The variations observed in the diffraction peaks suggest that the carbon source used in the fermentation process may influence the structural organization and degree of crystallinity of the resulting bacterial nanocellulose (Tab.5).

Table 5. Physical parameters determined by X-ray diffraction (XRD) analysis of the BCN samples are as follows, where BCN-control (sucrose), BCN-S (AIW- soursop), and BCN-G (AIW-genipap).

Samples	CrI (%) ¹	2Θ ($^\circ$)	FWHM ²	$\langle D_{av} \rangle$ (nm) ³	d-spacing (nm) ⁴
BCN-control	62.1	26.3	0.9984	81.7	0.339
BCN-S	66.7	25.5	0.9984	81.6	0.349
BCN-G	75.2	25.2	0.4992	163.1	0.353

(¹) Crystallinity index; (²) Full width at half maximum of the XRD diffraction peak; (³) Average crystallite size using the Scherrer equation; and (⁴) Calculated using Bragg's law: $n\lambda = 2d\sin(\Theta)$.

The crystallinity index (CrI) exhibited divergent values in relation to the substrates: control (CrI = 62.1%), AIW-S (CrI = 66.7%), and AIW-G (CrI = 75.2%). The findings indicate that utilizing AIW as a carbon source promoted the molecular organization and compaction of the crystal lattice, particularly in the AIW-G substrate. However, according to French [76], minor variations in diffraction and crystallinity angles may be indicative of changes in the

structural organization of cellulose, potentially associated with carbon sources and variations in process conditions. In the present study, it was observed that the substrates derived from agro-industrial residues (AIW-S and AIW-G) resulted in higher crystallinity indices than the control (Table 5). This was likely due to the predominance of glucose and fructose in the substrates (Table 2), which did not receive additional sucrose. Consequently, the elevated (G+F)/S ratio observed in these culture media, compared to the control, indicates that the bioavailability of assimilable monosaccharides may have promoted enhanced cellulose synthesis, characterized by ordered microfibril packing, thereby facilitating an increase in the crystalline fraction, which substantiates the observations presented in Table 2.

The relative peak intensities of the samples demonstrated significant variations, with BCN-G exhibiting higher crystallinity and notably narrower peaks (FWHM = 0.4992). In contrast, the broader peaks observed in BCN-control and BCN-S (FWHM = 0.9984) may indicate structural heterogeneity, potentially stemming from a lower crystalline fraction and the presence of defects or amorphous regions [77, 78].

Therefore, BCN-control and BCN-S demonstrated similar crystallite sizes of approximately 82 nm. In contrast, BCN-G presented a larger crystallite size, approximately 163 nm. However, although the average crystallite sizes vary, BCN-control and BCN-S had smaller crystallites (81.7 and 81.6 nm, respectively) and interplanar spacing of 0.339 nm and 0.349 nm, respectively. For BCN-S, the increase in interplanar spacing, relative to BCN-control, can be attributed to the presence of impurities in the substrate, which may have caused variations in the crystal lattice [79].

Fig. 5 illustrates the thermal behavior of the BCN obtained from different carbon sources obtained by differential scanning calorimetry (DSC). No glass transition temperatures (T_g) were identified; however, a slight inflection was observed in the curves between 60-90 °C (Fig. 5 inset). The temperature applied during the analysis may have induced polymer chain relaxation, resulting in an inflection in the DSC curve without necessarily causing a phase change [75].

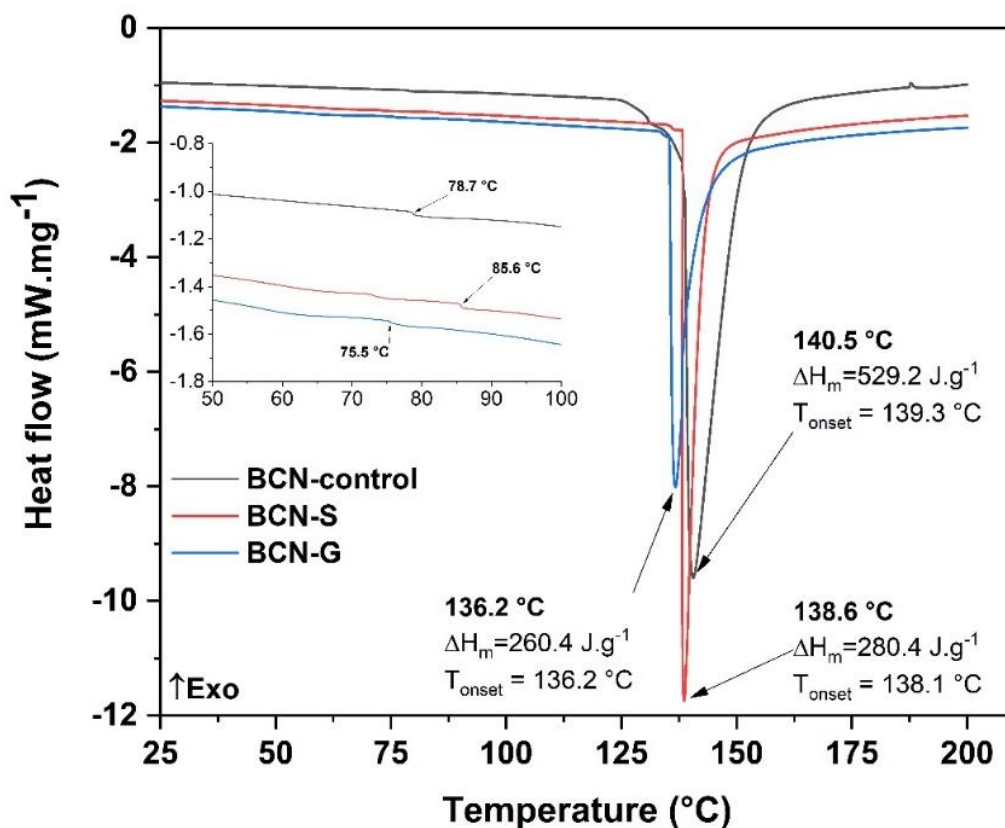


Figure 5. DSC spectra of BCN produced from different carbon sources: sucrose (traditional – control), soursop AIW (BCN-S), and genipap AIW (BCN-G).

The analysis of the DSC thermograms (Fig. 5) reveals an endothermic peak characteristic of organic compounds, such as cellulose, corresponding to the crystalline melting temperature (T_m). The thermograms display narrow peaks with significant amplitudes. The analysis of the DSC thermograms (Fig. 5) reveals that fusion enthalpy (ΔH_m) exhibits a decreasing trend: BCN-control (529.2 J.g^{-1}) > BCN-G (280.4 J.g^{-1}) > BCN-S (260.4 J.g^{-1}). This thermal behavior suggests that while BCN-control possesses a lower crystallinity index (CrI) of 62.1% (Table 5), its crystalline domains likely possess a higher degree of perfection and purity, thus demanding more energy for their fusion. Conversely, BCN-G, despite exhibiting a significantly higher CrI of 75.2% (Table 5), shows a comparatively lower ΔH_m . This phenomenon may be attributed to the presence of impurities such as residual protein material, culture medium components, or bioactive compounds that were not eliminated during the purification process [75]. These impurities can act as defects within the ordered crystalline domains, thereby influencing the overall thermal stability and reducing the energy required for melting. Such defects can indeed compromise the material's thermodynamic phase diagram [80]. Furthermore, the broader peaks observed in the DSC thermograms of BCN-control and

BCN-S (when correlated with Table 5) could also reflect these impurities or structural heterogeneities. It's worth noting the seemingly paradoxical observation that more organized structures, such as BCN-G with its higher CrI, may experience accelerated thermal degradation, while less crystalline samples, such as BCN-control with its lower CrI, could exhibit greater thermal stability. This hypothesis aligns with observations presented in previous studies [73].

4 CONCLUSION

The use of agro-industrial waste (AIW) as an alternative fermentable carbon source, particularly from Amazonian tropical fruits like soursop (*Annona muricata* L.) and genipap (*Genipa americana* L.), has demonstrated its feasibility, sustainability, and efficacy in producing bacterial cellulose nanofibers (BCN). Integrating X-ray diffraction (XRD) and differential scanning calorimetry (DSC) analyses was crucial for a deeper understanding of how the carbon source influences the material's physicochemical properties. Notably, the cellulose produced from genipap waste (BCN-G) stood out, exhibiting a crystallinity index (CrI) of 75.2% and a crystallite size (D_{av}) of 163.1 nm. These structural characteristics are highly relevant to the packaging sector, as they confer improved material properties, including mechanical strength, gas barrier capabilities, optical clarity, water retention capacity, and biocompatibility, particularly bioactive compounds. Although the control BCN exhibited a higher fusion enthalpy ($\Delta H_m = 529.2 \text{ J.g}^{-1}$), indicating greater stability in its crystalline domains, this study reinforces the potential of AIW.

This work validates the strategy of utilizing renewable sources, aligning with the principles of the circular economy and Sustainable Development Goal (SDG) 12: Responsible Consumption and Production. Beyond confirming the viability of AIW for BCN production, this research lays the groundwork for potential industrial-scale applications. Future advances should encompass optimizing BCN synthesis and functionalization through the isolation and next-generation sequencing (NGS) of microbial communities, evaluating its incorporation into diverse polymer matrices (natural, synthetic, or hybrid), and conducting more comprehensive analyses such as Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Atomic Force Microscopy (AFM). Such steps will further expand its potential for high-value-added applications. The BCN, primarily derived from genipap residue, represents a promising, versatile, and biodegradable material capable of replacing conventional polymers, thereby significantly contributing to the sustainability of the food industry and reducing environmental impact.

Author contributions

Credit authorship contribution statement

Kelvi Wilson Evaristo Miranda: Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, and Writing - original draft. Maryana Melo Frota: Data curation and Methodology. Gabriel Viana Sá: Data curation, Formal analysis, Investigation, and Writing - original draft. João Paixão dos Santos Neto: Investigation and Writing - original draft. Tiago Marcolino de Souza: Formal analysis and Writing – review and editing. Maria do Socorro Rocha Bastos: Project administration, Supervision, and Writing – review and editing. Lucicléia Barros de Vasconcelos: Funding acquisition, Project administration, Resources, Supervision, and Writing – review and editing. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Acknowledgments

The authors are grateful to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Federal University of Ceara (UFC), EMBRAPA Agroindustry Tropical, and State University of Amapá (UEAP). We also thank the Central Analítica-UFC/CT-INFRA/MCTI-SIS-NANO/CAPES for using their facilities for the SEM analyses and Laboratório de Raios X (MCT/CNPq, processo: 402561/2007-4).

Funding

This work was financially supported by CNPq/MCTI/FNDCT n.18/2021 Universal (404638/2021-0).

Declarations

Conflict interest

No conflict of interest exists in the submission of the manuscript.

Ethical approval

Not applicable.

REFERENCES

1. Sharma S, Singh AA, Majumdar A, Butola BS (2019) Tailoring the mechanical and thermal properties of polylactic acid-based bionanocomposite films using halloysite nanotubes and polyethylene glycol by solvent casting process. *J Mater Sci* 54:8971–8983. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03521-9>

2. Pacheco MT, Moreno FJ, Villamiel M (2019) Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99:868–876. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9257>
3. Santos Neto JP, Assis MWD, Casagrande IP, et al (2017) Determination of ‘Palmer’ mango maturity indices using portable near infrared (VIS-NIR) spectrometer. *Postharvest Biology and Technology* 130:75–80. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.009>
4. Abol-Fotouh D, Hassan MA, Shokry H, et al (2020) Bacterial nanocellulose from agro-industrial wastes: low-cost and enhanced production by *Komagataeibacter saccharivorans* MD1. *Sci Rep* 10:3491. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60315-9>
5. Saleem M, Tanvir M, Akhtar MF, et al (2019) Antidiabetic Potential of *Mangifera indica* L. cv. Anwar Ratol Leaves: Medicinal Application of Food Wastes. *Medicina* 55:353. <https://doi.org/10.3390/medicina55070353>
6. Georganas A, Giamouri E, Pappas AC, et al (2020) Bioactive Compounds in Food Waste: A Review on the Transformation of Food Waste to Animal Feed. *Foods* 9:291. <https://doi.org/10.3390/foods9030291>
7. Ramadhan MO, Handayani MN (2020) The potential of food waste as bioplastic material to promote environmental sustainability: A review. *IOP Conf Ser: Mater Sci Eng* 980:012082. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/980/1/012082>
8. Negri C, Ricci M, Zilio M, et al (2020) Anaerobic digestion of food waste for bio-energy production in China and Southeast Asia: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 133:110138. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110138>
9. Hospodiuk-Karwowski M, Bokhari SMQ, Chi K, et al (2022) Dual-charge bacterial cellulose as a potential 3D printable material for soft tissue engineering. *Composites Part B: Engineering* 231:109598. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109598>
10. Hussain Z, Sajjad W, Khan T, Wahid F (2019) Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *Cellulose* 26:2895–2911. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02307-1>
11. Leonarski E, Cesca K, Zanella E, et al (2021) Production of kombucha-like beverage and bacterial cellulose by acerola byproduct as raw material. *LWT* 135:110075. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110075>
12. García-Sánchez ME, Robledo-Ortiz JR, Jiménez-Palomar I, et al (2019) Production of bacterial cellulose by *Komagataeibacter xylinus* using mango waste as alternative culture medium. *RevMexIngQuim* 19:851–865. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio743>
13. Ciecholewska-Juśko D, Broda M, Żywicka A, et al (2021) Potato Juice, a Starch Industry Waste, as a Cost-Effective Medium for the Biosynthesis of Bacterial Cellulose. *International Journal of Molecular Sciences* 22:10807. <https://doi.org/10.3390/ijms221910807>
14. Amorim LFA, Li L, Gomes AP, et al (2023) Sustainable bacterial cellulose production by low cost feedstock: evaluation of apple and tea by-products as alternative sources of nutrients. *Cellulose* 30:5589–5606. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05238-0>
15. Miranda KWE, Frota MM, Mattos ALA, et al (2025) *Eco-friendly* bionanocomposite based on a ternary blend reinforced with bacterial cellulose for application in packaging materials. *Food Packaging and Shelf Life* 48:101442. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2025.101442>
16. Santos Neto JP, Fusco DOD, Pinto PM, Teixeira GH de A (2019) Amazon Fruit. In: *Postharvest Physiological Disorders in Fruits and Vegetables*, 1st ed. CRC Press, Boca Raton, FL
17. Skiba EA, Gladysheva EK, Budaeva VV, et al (2022) Yield and quality of bacterial cellulose from agricultural waste. *Cellulose* 29:1543–1555. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04372-x>
18. Gorgieva S, Trček J (2019) Bacterial Cellulose: Production, Modification and

Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials* 9:1352.

<https://doi.org/10.3390/nano9101352>

19. Lahiri D, Nag M, Dutta B, et al (2021) Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. *Int J Mol Sci* 22:12984. <https://doi.org/10.3390/ijms222312984>
20. Zhong C (2020) Industrial-Scale Production and Applications of Bacterial Cellulose. *Front Bioeng Biotechnol* 8:. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.605374>
21. Ahmed J, Gultekinoglu M, Edirisinghe M (2020) Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications. *Biotechnology Advances* 41:107549. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107549>
22. da Silva SF, Cavalcante MP, Sengsheng Y, et al (2024) Physicochemical Properties, Antioxidant Activity, and Sensory Profiles of Kombucha and Kombucha-Like Beverages Prepared Using Passion Fruit (*Passiflora edulis*) and Apple (*Malus pumila*). *ACS Agric Sci Technol* 4:938–946. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.4c00372>
23. Lima TM de FG, Silva LMR da, de Sousa PHM, et al (2024) Bioactive jambu extract (*Acmella ciliata*) as source of spilanthol for the development of a functional vegetable gelatin. *Food Bioscience* 61:104706. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104706>
24. Assis R, Valentim A, Barbosa I, et al (2024) Development of Fruit-Based Carbohydrate Gel for Endurance Athletes. *Processes* 12:2304. <https://doi.org/10.3390/pr12102304>
25. Pereira ALS, Feitosa JPA, Morais JPS, Rosa M de F (2020) Bacterial cellulose aerogels: Influence of oxidation and silanization on mechanical and absorption properties. *Carbohydrate Polymers* 250:116927. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116927>
26. Andrade FK, Morais JPS, Muniz CR, et al (2019) Stable microfluidized bacterial cellulose suspension. *Cellulose* 26:5851–5864. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02512-y>
27. Frota MM, Miranda KWE, Marques VS, et al (2024) Modified bacterial nanofibril for application in superhydrophobic coating of food packaging. *Surfaces and Interfaces* 46:103991. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2024.103991>
28. Volova TG, Prudnikova SV, Kiselev EG, et al (2022) Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties. *Nanomaterials (Basel)* 12:192. <https://doi.org/10.3390/nano12020192>
29. Pal S, Nisi R, Stoppa M, Licciulli A (2017) Silver-Functionalized Bacterial Cellulose as Antibacterial Membrane for Wound-Healing Applications. *ACS Omega* 2:3632–3639. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00442>
30. Villarreal-Soto SA, Beaufort S, Bouajila J, et al (2019) Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry* 83:44–54. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.004>
31. Tran T, Grandvalet C, Verdier F, et al (2020) Microbial Dynamics between Yeasts and Acetic Acid Bacteria in Kombucha: Impacts on the Chemical Composition of the Beverage. *Foods* 9:963. <https://doi.org/10.3390/foods9070963>
32. Eder MLR, Rosa AL (2021) Genetic, Physiological, and Industrial Aspects of the Fructophilic Non-Saccharomyces Yeast Species, *Starmerella bacillaris*. *Fermentation* 7:87. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020087>
33. Leandro MJ, Cabral S, Prista C, et al (2014) The High-Capacity Specific Fructose Facilitator ZrFfz1 Is Essential for the Fructophilic Behavior of *Zygosaccharomyces rouxii* CBS 732T. *Eukaryotic Cell* 13:1371–1379. <https://doi.org/10.1128/ec.00137-14>
34. Martínez R, Torres P, Meneses MA, et al (2012) Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry* 135:1520–1526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.057>

35. Tan WC, Muhiaddin BJ, Meor Hussin AS (2020) Influence of Storage Conditions on the Quality, Metabolites, and Biological Activity of Soursop (*Annona muricata*. L.) Kombucha. *Front Microbiol* 11:603481. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603481>
36. Neffe-Skocińska K, Sionek B, Ścibisz I, Kołożyn-Krajewska D (2017) Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - Journal of Food* 15:601–607. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>
37. Sievers M, Lanini C, Weber A, et al (1995) Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation. *Systematic and Applied Microbiology* 18:590–594. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80420-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80420-0)
38. Alberto MR, Fariás ME, Manca de Nadra MC (2001) Effect of Gallic Acid and Catechin on *Lactobacillus hilgardii* 5w Growth and Metabolism of Organic Compounds. *J Agric Food Chem* 49:4359–4363. <https://doi.org/10.1021/jf0101915>
39. Fonteles TV, dos Santos AYS, Linhares M de FD, et al (2024) Metabolic responses of kombucha consortium fermentation upon ultrasound-processing. *Food Chemistry Advances* 4:100646. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100646>
40. Sancheti A, Thompson ER, Ju L-K (2023) Factors influencing the enzymatic hydrolysis of soy molasses into fermentation feedstock. *Enzyme and Microbial Technology* 170:110302. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2023.110302>
41. Daval C, Tran T, Verdier F, et al (2024) Identification of Key Parameters Inducing Microbial Modulation during Backslopped Kombucha Fermentation. *Foods* 13:1181. <https://doi.org/10.3390/foods13081181>
42. Girard V-D, Chaussé J, Vermette P (2024) Bacterial cellulose: A comprehensive review. *Journal of Applied Polymer Science* 141:e55163. <https://doi.org/10.1002/app.55163>
43. Hubbe MA, Tayeb P, Joyce M, et al (2017) Rheology of nanocellulose-rich aqueous suspensions: A Review. *BioRes* 12:9556–9661. <https://doi.org/10.15376/biores.12.4.Hubbe>
44. Kołodziejczyk A (2021) Bacterial Cellulose: Multipurpose Biodegradable Robust Nanomaterial. In: *Cellulose Science and Derivatives*. IntechOpen
45. Feng X, Ge Z, Wang Y, et al (2024) Production and characterization of bacterial cellulose from kombucha-fermented soy whey. *Food Production, Processing and Nutrition* 6:20. <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00188-3>
46. Vinogradov MI, Makarov IS, Golova LK, et al (2020) Rheological Properties of Aqueous Dispersions of Bacterial Cellulose. *Processes* 8:423. <https://doi.org/10.3390/pr8040423>
47. Ioelovich M, Leykin A (2006) Structural characteristics and rheological properties of microcrystalline cellulose. *Cellulose Chemistry and Technology* 40:699–703
48. Aytekin AÖ, Demirbağ DD, Bayrakdar T (2016) The statistical optimization of bacterial cellulose production via semi-continuous operation mode. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 37:243–250. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.030>
49. Bilgi E, Bayir E, Sendemir-Urkmez A, Hames EE (2016) Optimization of bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* using carob and haricot bean. *International Journal of Biological Macromolecules* 90:2–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.052>
50. Costa AFS, Almeida FCG, Vinhas GM, Sarubbo LA (2017) Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* Using Corn Steep Liquor As Nutrient Sources. *Front Microbiol* 8:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02027>
51. Dima S-O, Panaitescu D-M, Orban C, et al (2017) Bacterial Nanocellulose from Side-Streams of Kombucha Beverages Production: Preparation and Physical-Chemical Properties. *Polymers* 9:374. <https://doi.org/10.3390/polym9080374>
52. Moharram MA, Mahmoud OM (2008) FTIR spectroscopic study of the effect of

microwave heating on the transformation of cellulose I into cellulose II during mercerization. *Journal of Applied Polymer Science* 107:30–36. <https://doi.org/10.1002/app.26748>

53. Avcioglu NH, Birben M, Seyis Bilkay I (2021) Optimization and physicochemical characterization of enhanced microbial cellulose production with a new Kombucha consortium. *Process Biochemistry* 108:60–68. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.06.005>
54. Oh SY, Yoo DI, Shin Y, et al (2005) Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research* 340:2376–2391. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.08.007>
55. Movasaghi Z, Rehman S, ur Rehman DrI (2008) Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews* 43:134–179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
56. Gea S, Reynolds CT, Roohpour N, et al (2011) Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. *Bioresource Technology* 102:9105–9110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.077>
57. Kačuráková M, Smith AC, Gidley MJ, Wilson RH (2002) Molecular interactions in bacterial cellulose composites studied by 1D FT-IR and dynamic 2D FT-IR spectroscopy. *Carbohydrate Research* 337:1145–1153. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(02\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(02)00102-7)
58. Wang S-S, Han Y-H, Chen J-L, et al (2018) Insights into Bacterial Cellulose Biosynthesis from Different Carbon Sources and the Associated Biochemical Transformation Pathways in *Komagataeibacter* sp. W1. *Polymers* 10:963. <https://doi.org/10.3390/polym10090963>
59. Dinand E, Vignon M, Chanzy H, Heux L (2002) Mercerization of primary wall cellulose and its implication for the conversion of cellulose I→cellulose II. *Cellulose* 9:7–18. <https://doi.org/10.1023/A:1015877021688>
60. Li Z, Hu W, Dong J, et al (2023) The use of bacterial cellulose from kombucha to produce curcumin loaded Pickering emulsion with improved stability and antioxidant properties. *Food Science and Human Wellness* 12:669–679. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.07.069>
61. Thorat MN, Dastager SG (2018) High yield production of cellulose by a *Komagataeibacter rhaeticus* PG2 strain isolated from pomegranate as a new host. *RSC Adv* 8:29797–29805. <https://doi.org/10.1039/C8RA05295F>
62. Ramírez Tapias YA, Di Monte MV, Peltzer MA, Salvay AG (2022) Bacterial cellulose films production by Kombucha symbiotic community cultured on different herbal infusions. *Food Chemistry* 372:131346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131346>
63. Hijri HA, Fatriansyah JF, Sofyan N, Dhaneswara D (2022) Potential Use of Corn Cob Waste as the Base Material of Silica Thin Films for Anti-Reflective Coatings. *Evergreen* 9:102–108. <https://doi.org/10.5109/4774221>
64. Li Z-Y, Azi F, Ge Z-W, et al (2021) Bio-conversion of kitchen waste into bacterial cellulose using a new multiple carbon utilizing *Komagataeibacter rhaeticus*: Fermentation profiles and genome-wide analysis. *International Journal of Biological Macromolecules* 191:211–221. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.077>
65. Pogorelova N, Rogachev E, Digel I, et al (2020) Bacterial Cellulose Nanocomposites: Morphology and Mechanical Properties. *Materials* 13:2849. <https://doi.org/10.3390/ma13122849>
66. Sknepnek A, Tomić S, Miletić D, et al (2021) Fermentation characteristics of novel *Coriolus versicolor* and *Lentinus edodes* kombucha beverages and immunomodulatory potential of their polysaccharide extracts. *Food Chemistry* 342:128344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128344>

67. Wang S-S, Han Y-H, Ye Y-X, et al (2017) Physicochemical characterization of high-quality bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter* sp. strain W1 and identification of the associated genes in bacterial cellulose production. *RSC Advances* 7:45145–45155. <https://doi.org/10.1039/C7RA08391B>
68. Nishiyama Y, Langan P, Chanzy H (2002) Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I β from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Journal of the American Chemical Society* 124:9074–9082. <https://doi.org/10.1021/ja0257319>
69. Zhu C, Li F, Zhou X, et al (2014) Kombucha-synthesized bacterial cellulose: Preparation, characterization, and biocompatibility evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 102:1548–1557. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34796>
70. French AD (2014) Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose* 21:885–896. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0030-4>
71. Padmanabhan SK, Lionetto F, Nisi R, et al (2022) Sustainable Production of Stiff and Crystalline Bacterial Cellulose from Orange Peel Extract. *Sustainability* 14:2247. <https://doi.org/10.3390/su14042247>
72. Tormo J, Lamed R, Chirino AJ, et al (1996) Crystal structure of a bacterial family-III cellulose-binding domain: a general mechanism for attachment to cellulose. *The EMBO Journal* 15:5739–5751. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00960.x>
73. Ciolacu D, Popa VI (2006) On the thermal degradation of cellulose allomorphs. *Cellulose Chemistry and Technology* 40:445–449
74. Tolmachev DA, Lukashva NV (2012) Interactions Binding Mineral and Organic Phases in Nanocomposites Based on Bacterial Cellulose and Calcium Phosphates. *Langmuir* 28:13473–13484. <https://doi.org/10.1021/la302418x>
75. Vasconcelos NF, Andrade FK, Vieira L de AP, et al (2020) Oxidized bacterial cellulose membrane as support for enzyme immobilization: properties and morphological features. *Cellulose* 27:3055–3083. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-02966-5>
76. French AD (2020) Increment in evolution of cellulose crystallinity analysis. *Cellulose* 27:5445–5448. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03172-z>
77. Agarwal UP, Ralph SA, Reiner RS, Baez C (2016) Probing crystallinity of never-dried wood cellulose with Raman spectroscopy. *Cellulose* 23:125–144. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0788-7>
78. Hindi SSZ (2017) Some Crystallographic Properties of Cellulose I as Affected by Cellulosic Resource, Smoothing, and Computation Methods. *IJRSET* 6:732–752. <https://doi.org/10.15680/IJRSET.2017.061127>
79. Uvarov V, Popov I (2013) Metrological characterization of X-ray diffraction methods at different acquisition geometries for determination of crystallite size in nano-scale materials. *Materials Characterization* 85:111–123. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2013.09.002>
80. Fan X, Gao Y, He W, et al (2016) Produção de nanocelulose bacteriana a partir de resíduos industriais de bebidas de casca e bagaço de frutas cítricas usando *Komagataeibacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers* 151:1068–1072. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.062>

**APÊNDICE B³ – ULTRASOUND-ASSISTED PROCESSING OF AMORPHOUS
HYDRATED CARBON OXIDE FROM PLANT ORIGIN: PROPERTIES AND
BIOCOMPATIBILITY OF CONDUCTIVE NANOCOMPOSITES AS A PROPOSAL
FOR FOOD PACKAGING**

Kelvi W.E. Miranda¹ • Francislei Santa Anna Santos² • Francisco Carlos Carneiro Soares Salomão³ • Gabrielle Albuquerque Freire³ • Maria Kueirislene Amâncio Ferreira³ • Jane Eire Silva Alencar de Menezes³ • Antonio G. Souza Filho⁴ • Melvin Pascall⁵ • Maria do Socorro R. Bastos⁶ • Lucicléia B. Vasconcelos¹

¹ *Laboratory of Research and Innovation in Plant Products and Packaging, Department of Food Engineering, Federal University of Ceara, 60356-000, Brazil.*

² *Department of Industrial Processes and Chemical Engineering, Federal Institute of Bahia, campus Salvador, 40110-150 Bahia, Brazil.*

³ *Science and Technology Center, State University of Ceará, 62930-000 Fortaleza, CE, Brazil.*

⁴ *Department of Physics, Federal University of Ceará, 60455-900 Fortaleza, CE, Brazil.*

⁵ *Department of Food Science and Technology, The Ohio State University, 43210 Ohio, USA.*

⁶ *Packaging Laboratory, Embrapa Tropical Agroindustry, Fortaleza 60511-110, Brazil.*

* Corresponding authors: *Laboratory of Research and Innovation in Plant Products and Packaging, Department of Food Engineering, Federal University of Ceara, 60356-000, Brazil.*

kelviwilmiranda@gmail.com (Kelvi W.E. Miranda)

³ O presente manuscrito, até a presente data, foi submetido à revista Journal of Cleaner Production (A1, Percentil 98%, fator de impacto de 10.0) no mês de agosto de 2025. O artigo foi escrito em inglês, conforme exigência da revista. Para compor esta tese, ele está sendo apresentado na sua versão integral.

GRAPHICAL ABSTRACT



HIGHLIGHTS

- Stable amorphous carbon oxide nanostructures (<150 nm, PDI <0.3).
- Amorphous carbon nanomaterial with good electrical conductivity.
- Amorphous carbon oxide with biocompatibility of the material, without acute toxicity.

ABSTRACT

Carbon-based nanostructured materials (graphene and similar 2D and 3D materials) are widely studied in their production and application. This study investigates and characterizes the influence of ultrasonication on the sustainable plant-based material hydrated amorphous carbon oxide (HACO), exploring its potential for conductive nanocomposites in food packaging. By using a full factorial design (FFD), the impacts of sonic cavitation on the stability of NHKBIO hydroalcoholic dispersions (particle size and polydispersity index – PDI) were studied in association with ultrasonic processing parameters (acoustic power, specific energy and ultrasound intensity) and structural, morphological, electrochemical and toxicological characterization. Cavitation sonication generated stable nanostructured dispersions (<150 nm) for at least 24 h when ethanol was used as a stabilizing agent. The time/amplitude interaction was crucial for obtaining nanoscale materials with PDI <0.3. Structural characterization by Raman spectroscopy indicated amorphous carbon (I_D/I_G rate of 0.91). Morphological analysis via atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM-FEG) confirmed nanostructures and aggregates. Electrochemical measurements showed good electrical conductivity (peaks >30 μA). Acute toxicity tests on zebrafish (*Danio rerio*) revealed no significant toxic effects (up to 3.00% v.v⁻¹) in 96 h, indicating biocompatibility. These findings demonstrate that ultrasonication produces nanostructured and stable hydrated carbon oxide from a sustainable source, with conductive properties and a favorable toxicological profile. The material is promising for safe conductive and/or structuring nanocomposites in food packaging.

Keywords: *Nanomaterials; Ultrasonic; Conductive nanocomposite; Toxicity; Sustainable; Vegetable carbon.*

1. INTRODUCTION

Nanotechnology encompasses the technological use of nanomaterials and systems assembled and studied by nanoscience. It also develops highly organized nanostructures for new materials and/or improvements in their properties and characteristics (Sanfelice et al., 2022). With this, research has been intensified in the search for sustainable, ecofriendly materials (in the production route and finished product) and biocompatible with other materials (Gürünlü et al., 2020; Lemarchand et al., 2003; Wang et al., 2018).

Carbon-based nanomaterials, such as graphene and similar 2D materials, are widely used and studied in polymeric matrices as nanocomposites, and considered a nanomaterial of great versatility and applicability, due to its complexity and a set of improved mechanical, optical, thermal, magnetic and/or electrical properties (Gürünlü et al., 2020; Martins et al., 2022; Ye and Tour, 2019). In addition, their biocompatibility under certain circumstances and good chemical stability make them promising for many applications (Wang et al., 2018). This combination of properties makes carbon-based material an emerging technological innovation with applications in various areas of knowledge: biomedicine (Haque et al., 2018), construction (Azevedo and Gleize, 2018), agribusiness (Prasad et al., 2017), cosmetics (Raj et al., 2012), pharmacology (Zhang et al., 2018), and functional food materials (Miranda et al., 2021). Graphene, in particular, is noted for its exceptional electrical, thermal, and mechanical properties, associated with its highly ordered two-dimensional structure (Singh et al., 2023; Vivaldi et al., 2021).

With technological advances in the field of nanotechnology, there is an excellent opportunity to obtain materials such as graphene, with good sustainable profile (no generation of processing waste), low cost, and high quality (Claro et al., 2022; Wang et al., 2018). The traditional chemical and physical routes for obtaining graphene involve: (i) mechanical peeling of graphite (adhesive tape) and/or anodic bonding (Novoselov et al., 2004; Shukla et al., 2009); (ii) thermal deposition; (iii) chemical and thermal reduction of graphene oxide (Schniepp et al., 2006; Zhang et al., 2010); (iv) chemical exfoliation from graphite (Hummers method) (Zaaba et al., 2017); and (v) chemical vapor deposition (CVD), which uses metallic substrates of gaseous hydrocarbon precursors (Coraux et al., 2008).

In this context, these methods are economically unfeasible on an industrial scale, as they use expensive resources and conditions such as high temperatures, a large number of synthesis steps and/or the use of high-cost reaction precursors (Claro et al., 2022). Therefore, searching for low-cost commercial methods, and/or materials that allow standardization and scalable

production is necessary and has a positive economic and environmental impact (Huet et al., 2020).

Despite advances in obtaining carbon nanomaterials, searching for sustainable, scalable, and economical methods from renewable sources remains challenging. In this context, hydrated amorphous carbon oxide (HACO) from the plant *Eucalyptus grandis* has emerged as a promising material. This study aimed to investigate the processing of HACO via ultrasonic cavitation in a hydroalcoholic medium, optimizing the conditions for obtaining stable nanostructured dispersions and characterizing their functional properties and biological safety. To this end, a full factorial design (FFD) was used to statistically evaluate the influence of sonication amplitude and time on the dispersion stability (particle size and PDI). The optimized material was subjected to structural (Raman), morphological (AFM, SEM), and electrochemical (cyclic voltammetry) characterization. In addition, acute toxicity was assessed by using *in vivo* zebrafish (*Danio rerio*) model. Finally, this work can provide fundamental insights into the processing and properties of HACO, proposing it as an emerging, viable, and safe material for developing conductive nanocomposites, with particular interest in food packaging applications.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Carbonaceous material

Hydrated amorphous carbon oxide (HACO), commercially known as NHKBIO[®], was kindly supplied by AdpCLEAN Ltda (Bahia, Brazil). This material is synthesized using the "U" photoelectrochemical route, based on the NHK (*Nano-Hope-Key*) process, from *Eucalyptus grandis* extract, under Normal Temperature and Pressure (NTP). NHKBIO[®] has a density of between 1.25-1.35 g.cm⁻³ and a heterogeneous composition.

The "U" photoelectrochemical route used in the NHK process consists of a synthesis method under mild environmental conditions, which combines light excitation and controlled electric current to promote the transformation of *Eucalyptus grandis* extract into HACO. The developed product is the subject of patent application n. BR102024023159-7, which is still under review. Technical details are described in the corresponding patent application, held by AdpCLEAN Ltda. (Brazil).

2.2 Materials

Absolute ethyl alcohol P.A. 99.8% pure ($M_w = 46.07 \text{ g.mol}^{-1}$, CAS 64-17-5, density $0.7890\text{-}0.7915 \text{ g.cm}^{-3}$), Exodus Scientific, Brazil. Ultrapure water (Milli-Q®). Zebrafish (*Danio rerio*) 90-120 days old (age), $3.5 \pm 0.5 \text{ cm}$ (length) and $0.4 \pm 0.1 \text{ g}$ (weight), both sexes and wild-caught, acquired in Fortaleza, CE, were kept in glass aquariums at $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ on 24 h light-dark cycles.

2.3 Behavior of NHKBIO® suspension in hydroalcoholic medium

The samples were prepared with $18.16 \mu\text{L}$ of NHKBIO® suspension, 0.4 mg.mL^{-1} , was added to 50 mL of ultrapure water (MilliQ), 0.4 mg.mL^{-1} of NHKBIO® and a stabilizing agent for the carbon oxide suspension, absolute ethyl alcohol in different concentrations: 1.0, 3.0, 5.0, and 7.0% (v.v⁻¹), according to a methodology adapted from Wang et al. (2014). The suspensions were subjected to low-frequency ultrasonic cavitation (24 kHz) in an ultrasonic cleaner (model UP400S, Hielscher, GER) coupled to a circulating thermostatic bath (model F- 25, Julabo, GER) at $15 \text{ }^\circ\text{C}$, to maintain the internal temperature of the hydrated amorphous carbon oxide hydroalcoholic suspension (HSACO) at $24 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. A 22 mm diameter probe was standardized at a height of 15 mm (in relation to the base of the jacketed beaker) in the liquid medium (Fig.1). The behavior of the stabilizing agent in the suspension was analyzed over 120 h using dynamic light scattering (DLS) and polydispersity index (PDI) analysis on the Zetasizer Nano ZS equipment (Malvern Panalytical, Malvern, UK).

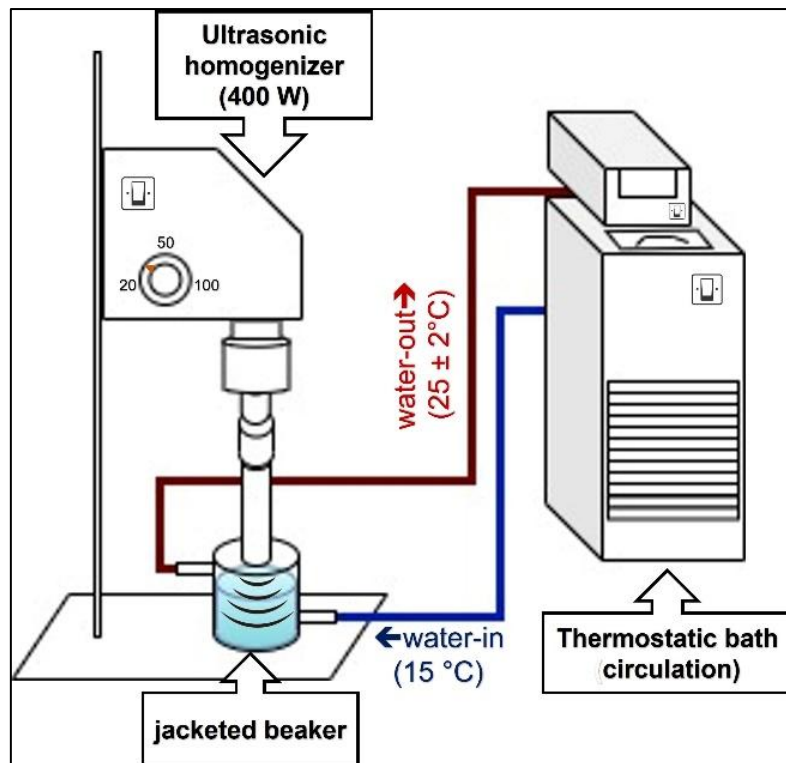


Figure 1. Schematic of the ultrasonic cavitation system with tip ultrasound coupled to the circulating thermostatic bath.

2.4 Acute toxicity and novel tank test

The studies were carried out according to an analysis protocol described by Romão et al. (2024). Acute toxicological analysis (96 h) was carried out with a total of 36 fish divided into 6 groups. These were treated orally with 20 μL of hydroalcoholic carbon solution at concentrations of: 0.75%, 1.50%, and 3.00% (v.v^{-1}), NHKBIO (pure carbon, commercial) and controls (MilliQ water and 3.0% hydroalcoholic solution, v.v^{-1}). The fishes were tested for analysis of their mortality rate over a 96 h period. At 24 h intervals, the numbers of fishes killed in each group were recorded (OECD, 2019). The LC_{50} (lethal concentration capable of killing 50% of the fishes) was determined using the probit mathematical method with at 95% confidence interval. The fish were normally fed twice a day with Spirulina® (flakes). The study was approved by the Animal Use Ethics Committee of the State University of Ceará (CEUA-UECE; n° 04983945/2021), in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation.

After 60 min of oral ingestion of the treatments, the fishes were subjected to the novel tank test to study locomotion and anxiety-like behavior (novel tank) (Moreira and Luchiani,

2022; Pinheiro-da-Silva et al., 2017a). The fishes were transferred to individual tanks, divided into three equal horizontal areas (lower, middle and upper) 4 cm high and recorded on video (5 min). Behavior was recorded using an 8.0 MP camera (Samsung), and the videos were analyzed using the ZebTrack-UFRN software (version 2021) (Pinheiro-da-Silva et al., 2017b). The following parameters were considered: total distance traveled, average speed in motion, total immobility time, time and distance traveled in the upper area, and latency to enter the upper area (Moreira and Luchiari, 2022). All analyses were carried out using GraphPad Prism v8.0 software, with a statistical significance level of 5%.

2.5 Factorial design in ultrasound processing

The nanometric particles of HSACO at 1% (v.v⁻¹) ethanol were obtained using a full factorial design 2³. The influence of the main parameters of the sonication optimization process (amplitude and time) was studied using 11 randomized experimental combinations (Table 1 and 2).

Table 1. 2³ full factorial design for evaluating the main parameters of sonication on HSACO.

Factors	Unit	Level		
		-1	0	1
Amplitude	%W	30	50	70
Time	min	60	120	180

Table 2. Distribution of the factorial statistical design for the coded variables: amplitude (%W) and time (min).

Treatment	Coded variables		Real variables	
	X ₁	X ₂	Amplitude (%W)	Time (min)
1	-1	-1	30	60
2	1	1	70	180
3*	0	0	50	120
4	-1	1	30	180
5	1	-1	70	60
6*	0	0	50	120

7	0	1	50	180
8	-1	0	30	120
9	1	0	70	120
10	0	-1	50	60
11*	0	0	50	120

(*) Corresponds to the central component of the experimental design.

The effects and interactions of the parameters were studied using Pareto diagrams and contour surface plots, respectively. To determine the hydrodynamic size distribution of the particles in the HSACO, dynamic light scattering (DLS), polydispersity index (PI) and zeta potential (ζ) in Zetasizer Nano ZS equipment (Malvern Panalytical, Malvern, UK. Suspended samples were collected under resting conditions after 24 h (P24).

Ultrasonic cavitation was carried out as described in section 2.3 (Fig.1). The samples were prepared in 50 mL of ultrapure water (MilliQ) with 18.16 μL of NHKBIO[®]. The experiments were carried out in duplicates and characterized in terms of acoustic power, specific energy and ultrasound intensity (Martins Strieder et al., 2020), using Eq.1-3, respectively,

$$\text{Acoustic power (W)} = mC_p \left(\frac{dT}{dt} \right) \quad (\text{Equation 1})$$

$$\text{Specific energy} \left(\frac{\text{kJ}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Acoustic power} \times \text{processing time}}{\text{mass}} \quad (\text{Equation 2})$$

$$\text{Ultrasound intensity} \left(\frac{\text{W}}{\text{cm}^2} \right) = \frac{4 \times \text{Acoustic power}}{\pi D^2} \quad (\text{Equation 3})$$

where, *mass* corresponds to the mass of the sample (g); C_p , specific heat ($\text{J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$); $\frac{dT}{dt}$ the temperature rate ($^\circ\text{C} \cdot \text{s}^{-1}$); and D , the diameter of the probe (cm). Table 3 shows the characteristics of the ultrasonic process through acoustic power, specific energy, and ultrasonic intensity determined for each nominal power applied in the treatments.

Table 3. Values of acoustic power, specific energy, ultrasonic intensity, and particle size applied in the experimental design to the HSACO sonic cavitation process.

Amplitude (%W)	Time (min)	AP ¹ (W)	SE ² (kJ.g ⁻¹)	UI ³ (W.cm ⁻²)
30	60	0.025 ± 0.007	1.05 ± 0.30	0.006 ± 0.001
70	180	0.062 ± 0.002	8.58 ± 0.30	0.016 ± 0.000
50	120	0.047 ± 0.009	4.39 ± 0.89	0.012 ± 0.002
30	180	0.013 ± 0.006	1.88 ± 0.89	0.004 ± 0.002
70	60	0.144 ± 0.013	6.69 ± 0.59	0.038 ± 0.003
50	120	0.047 ± 0.009	4.39 ± 0.89	0.012 ± 0.002
50	180	0.033 ± 0.004	4.60 ± 0.59	0.009 ± 0.001
30	120	0.013 ± 0.006	1.25 ± 0.59	0.004 ± 0.002
70	120	0.079 ± 0.003	7.32 ± 0.29	0.021 ± 0.000
50	60	0.113 ± 0.045	5.23 ± 2.07	0.030 ± 0.012
50	120	0.047 ± 0.009	4.39 ± 0.88	0.012 ± 0.002

(¹) Acoustic power; (²) Specific energy; (³) Ultrasound intensity, where mean values ± standard deviation (n = 2).

2.6 Characterization of HSACO-8

2.6.1 Atomic Force Microscopy

Morphological and topographical evaluation of the HSACOs was determined by atomic force microscopy (AFM) on Asylum MFP-3D BIO equipment (Oxford Instruments, CA, USA), in air, in intermittent contact mode, using NCHR-W tips (Nano World innovative Technologies) with a typical AFM tip radius of curvature of less than 8 nm. The results were analyzed using Gwyddion 2.65, the software in the instrument.

2.6.2 Raman spectroscopy

For the Raman spectroscopy analysis, we used an Alpha 300 system from Oxford Instruments, equipped with an ultra-high-performance spectrometer (UHTS) with a final spectral resolution of less than 1 cm⁻¹. The Raman response was obtained using the 532 nm line of an Nd:YAG laser, focused on the sample with a 10x magnification objective, a working

distance of 6.7 mm, and a numerical aperture of 0.25. The laser power on the sample surface was kept below 0.6 mW, and the accumulation time was 2 s.

2.6.3 Scanning electron microscopy

The micrographs were taken using a Quanta FEG microscope using an electron acceleration voltage of 20 kV. The samples were placed in drop-shaped aluminum stubs (approx. 32 μL) and subjected to red light for complete evaporation of the solvent (water:ethanol). Gold coating was unnecessary due to the conductive nature of the carbonaceous material.

2.6.4 Cyclic voltammetry

The electrochemical properties of the samples were studied using an Autolab PGSTAT 12 potentiostat/galvanostat (Ecochemie, Netherlands) with Nova 2.1 software (Metrohm®) (Freire et al., 2022; Gonzaga et al., 2024). A Faraday cage and an electrochemical cell with three electrodes were used for the measurements: a glassy carbon disk electrode (GCE) as the working electrode ($A = 0.07069 \text{ cm}^2$ for $\text{Ø} = 3.0 \text{ mm}$), and a helical platinum auxiliary electrode, and $\text{Ag}/\text{AgCl} \mid \text{KCl } 3 \text{ mol.L}^{-1}$ as the reference electrode. The current density (j) was obtained from the cyclic voltammetry (CV) data, by normalizing the measured current (I) by the surface area of the working electrode. Aqueous electrolyte medium of potassium ferricyanide ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) 4.0 mmol.L^{-1} and $\text{KCl } 1.0 \text{ mol.L}^{-1}$ in a potential window of -0.30 to 0.80 V at 50 mV.s^{-1} was also used. The GCE was prepared and cleaned according to Gonzaga et al. (2024) with adaptations. The samples were placed on the GCE electrode using the *drop casting* technique. Three reading cycles were carried out.

2.7 Statistical analysis

The data were statistically analyzed using a Statistica Software Version 12 (StatSoft, Inc., USA, 2011). The data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's method at a 5% significance level.

3. RESULTS AND DISCUSSION

By using surfactant solutions (ionic or non-ionic) in suspensions it can ensure that the suspended materials do not agglomerate (Wang et al., 2014). Fig.2 shows the influence of ethyl alcohol on the particle size and polydispersity index characteristics of the cavitated carbonaceous material.

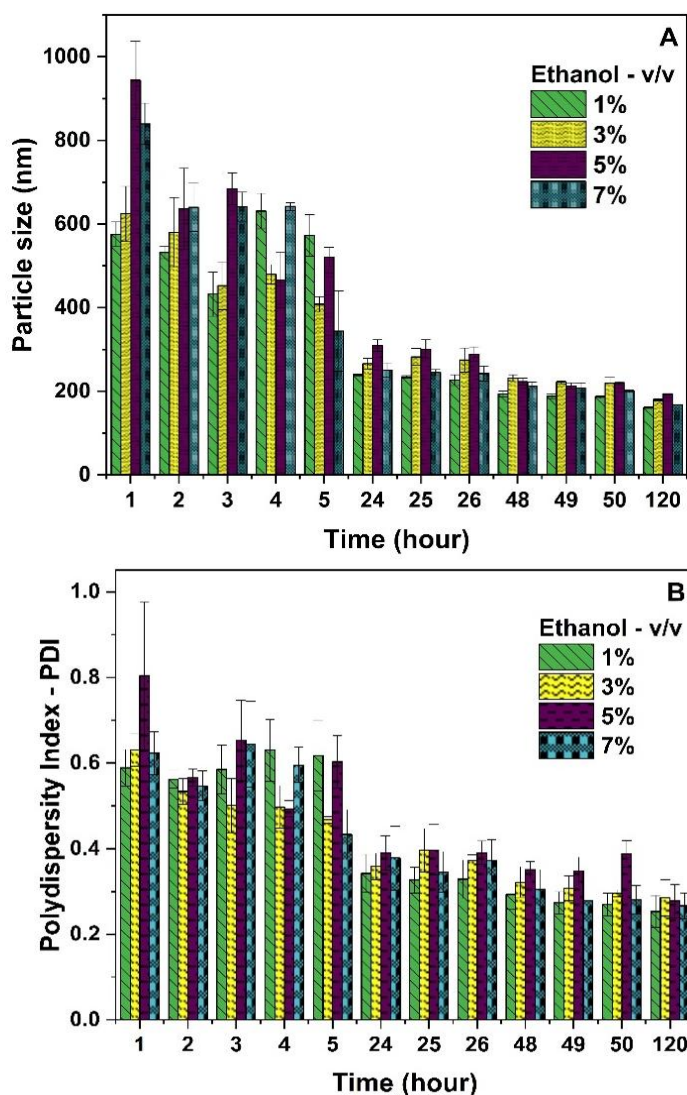


Figure 2. Behavior of HSACO over 120 h in relation to different concentrations of the dispersing agent, ethanol, for (A) particle size and (B) polydispersity index (PDI) (n=3).

Over time, the particle size and PDI decreased, as shown in Fig.2. However, from 24 h onwards, after the ultrasonic cavitation process, no statistical differences were observed in particle size in the suspensions ($P > 0.05$). However, the PDI of the samples varied ($P < 0.05$), with only 1.0% having a PDI < 0.30 . Also, there was no significant difference between the 1.0% and 3.0% treatments ($P > 0.05$). The literature reports that PDI ≤ 0.30 of particle suspensions shows a homogeneous distribution of sizes (Lemarchand et al., 2003).

By varying the water-ethanol ratio may have made it easier to maintain the dispersion of the HSACO nanostructures. Therefore, conditions lower than 7.0% showed better particle size distribution and PDI performance. The non-agglomeration of the carbon oxides was attributed to the osmotic repulsion force being greater than the van der Waals forces (de Gennes, 1987). Wang et al. (2014) observed similar behavior when using ethanol in solutions with non-ionic or ionic surfactants and graphene. These authors reported an increase in the stability and yield of the exfoliation process. This occurred because of the interaction between surfactant-graphene-surfactant, where the solvent (ethanol) filled the voids in the material, thus reducing the enthalpy of the mixture [24].

3.1 Acute toxicity and novel tank test

The biological safety assessment of HSACO and the pure material (NHKBIO) was conducted by means of the acute toxicity tests (96 h) and the novel tank test using adult zebrafish (*Danio rerio*). The choice of this *in vivo* model was particularly relevant due to its sensitivity and widely used validation for toxicological and neurobehavioral studies, allowing a robust analysis of the effects of the suspension (Carneiro Romão et al., 2024; Hill et al., 2005). The acute toxicity results, detailed in Table 4, indicate that the HSACO dispersions at the concentrations tested (0.75%, 1.50%, 3.00% v.v⁻¹), pure NHKBIO and the controls did not induce significant mortality or apparent anatomical changes in the fishes over the 96 h time (P >0.05). This initial finding demonstrated that under the conditions evaluated, the carbon material had a low acute toxicity profile, a fundamental requirement for applications involving contact with biological systems.

Table 4. Acute toxicity tests on adult zebrafish up to 96 h with different concentrations of HSACO (v.v⁻¹): 0.75% (D1), 1.50% (D2) and 3.00% (D3) (n= 6 fish/group).

	HSACO			NHKBIO	H ₂ O _{MilliQ} [*]	H ₂ O:C ₂ H ₅ OH ^{**}	96 h
	(% v.v ⁻¹)						CL ₅₀ (%) /
	D1	D2	D3				IV ^{***}
Mortality	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	–

(*) Control: MilliQ water; (**) 7.0% (v.v⁻¹) hydroalcoholic solution; (***) LC₅₀ – lethal concentration to kill 50% of adult Zebrafish; IV - confidence interval; Probit (Log)*.

According to the literature, when zebrafish is introduced to a new environment, there is a likelihood of behavioral changes, such as anxiety, prolonged stay in selected parts of the tank, freezing behavior, and impaired locomotor actions (Carneiro Romão et al., 2024; Tran et al., 2016a). The novel tank test was used in this study to assess patterns of anxiety and locomotor activity in the adult zebrafish treated with carbon at different concentrations (Fig.3).

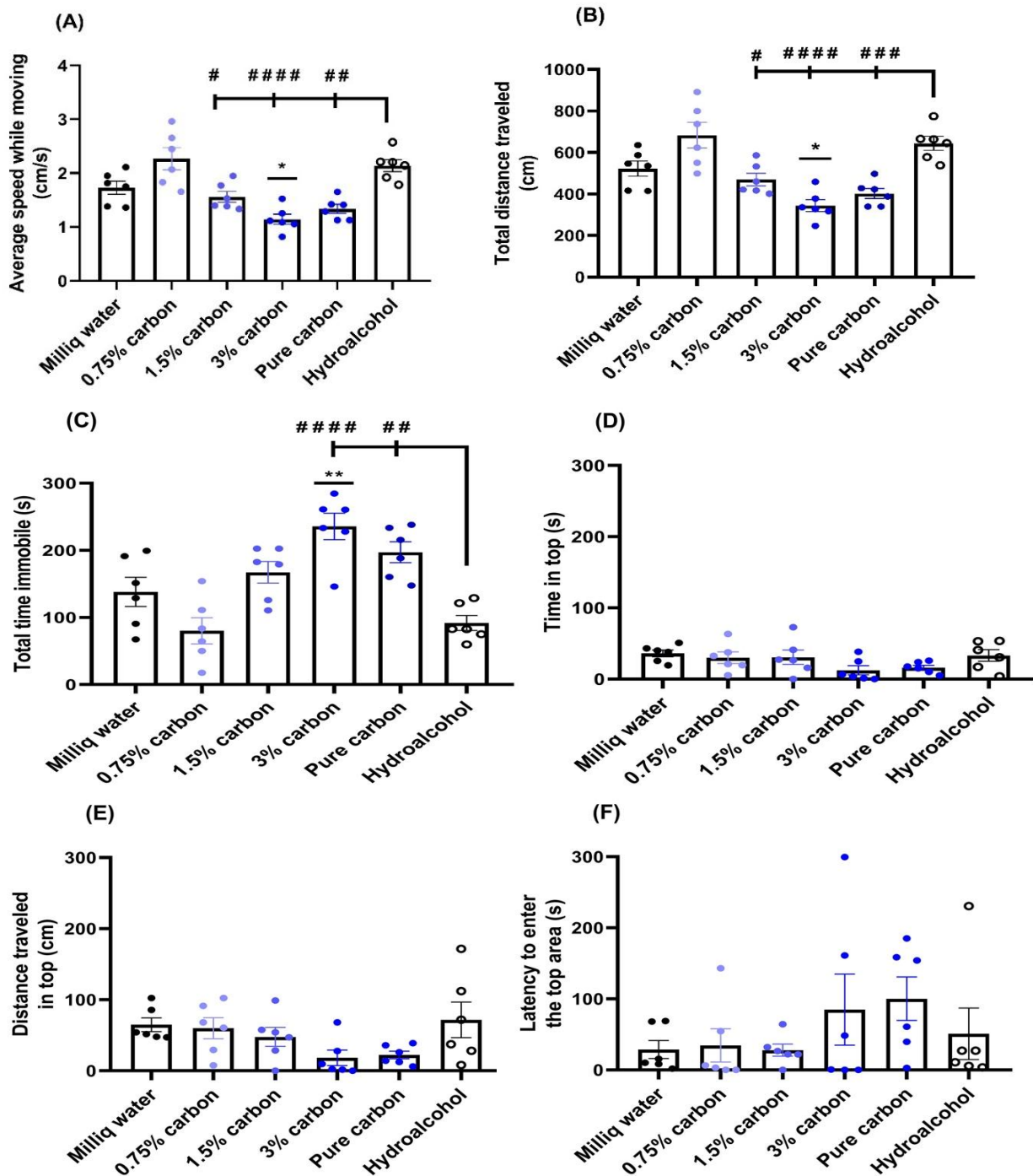


Figure 3. Effect of carbon on zebrafish locomotor activity and anxiety-like behavior in the Novel Tank test for 5 min ($n=6$ fish/group). (A) average speed in motion ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$), (B) total distance traveled (cm), (C) total time immobile (s), (D) time at the top (s), (E) distance traveled at the top (cm), (F) latency to enter the top area (s). Data are expressed as mean \pm S.E.M. Each circle indicates individuals used in each treatment and the asterisk above the bars indicates significance in comparison with the control group - MilliQ water (* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$) and icicle indicates significance in comparison with the control group – hydroalcoholic solution (# $P \leq 0.05$; ## $P \leq 0.01$; ### $P \leq 0.001$; #### $P \leq 0.0001$).

Fig.3 shows that the One-Way ANOVA statistical test with significance for average speed (Fig.3A), total distance traveled (Fig.3B), and immobility time (Fig.3C). The test indicated that the highest carbon concentrations, NHKBIO (pure carbon) and 3.00% (v.v⁻¹), caused motor impairment and immobility in adult Zebrafish. In the new tank test paradigm, behavioral phenotypes are quantified by measuring the distance traveled, average speed, frequency of immobility episodes and location/depth preferences (Moreira and Luchiari, 2022).

HSACO at 3.00% affected the fishes' locomotion, reducing average speed, total distance travel, and increasing the fishes' immobility (*P <0.05 and **P <0.01, Fig.3A, B, and C, respectively) when compared to the control group (MilliQ water). In addition, there was a statistical significance between the groups treated with the highest carbon concentrations (> 3.00%) and the group treated with the hydroalcoholic solution. The carbon concentrations, NHKBIO and HSACO \geq 1.50%, significantly reduced the average speed and total distance covered by the fishes when compared to the hydroalcoholic solution group (#P <0.05; ##P <0.01; ###P <0.001; ####P <0.0001, Fig.3A and 3B).

NHKBIO and HSACO at 3.00 % (v.v⁻¹) significantly increased the fishes' immobile time when compared to the hydroalcoholic solution group (##P <0.01; #####P <0.0001, Fig.3C). The carbon concentrations did not alter the fishes' time at the top, distance traveled at the top and latency (P >0.05) (Fig.3D-F). Although quantifying behavioral responses to various challenges is useful in Zebrafish, behavioral responses represent only one of the multiple levels and dimensions of biological responses (Yoshida, 2022).

In adult Zebrafish, signs of increased in activity duration (immobility) and/or reduced general activity measured as slower speed or shorter distance traveled are characterized as anxiety stimulated by the new environment (Pannia et al., 2014; Tran et al., 2016b). The anxiolytic effect of compounds causes increased time in the upper region of the aquarium (Khan et al., 2017). However, it was observed that the highest concentrations of HSACO, 3.00% (v.v⁻¹), and NHKBIO, caused inactivity and motor impairment, i.e., increased the anxiety of the fish. In contrast, the lowest concentrations of carbon did not cause these behaviors. In addition, at the concentrations that were examined, no mortality or discernible anatomical alterations were evident within 96 hours. However, elevated carbon concentrations (3.00% v/v and pure NHKBIO) elicited consistent behavioral modifications, characterized by motor impairment and heightened anxiety-like responses. Consequently, these findings may suggest a low acute toxicity profile; however, further investigation is necessary to ascertain whether sublethal and long-term effects, particularly under prolonged exposure conditions, are present.

3.2 Characterization of HSACO

Reducing particle size can enhance material characteristics such as physicochemical properties, optics, viscosity, sedimentation speed and bioactivities (Kang et al., 2025). The ultrasonic cavitation mechanism using tip ultrasound (Fig. 1) provides stable material dispersion when associated with stabilizing agents such as organic solvents, ethanol (Gürünlü et al., 2020; Wang et al., 2014). In addition, the shear stress applied, combined with time and sonic power, can promote changes to the structural characteristics of the material (Gürünlü et al., 2020), as shown in the response surfaces in Fig.4.

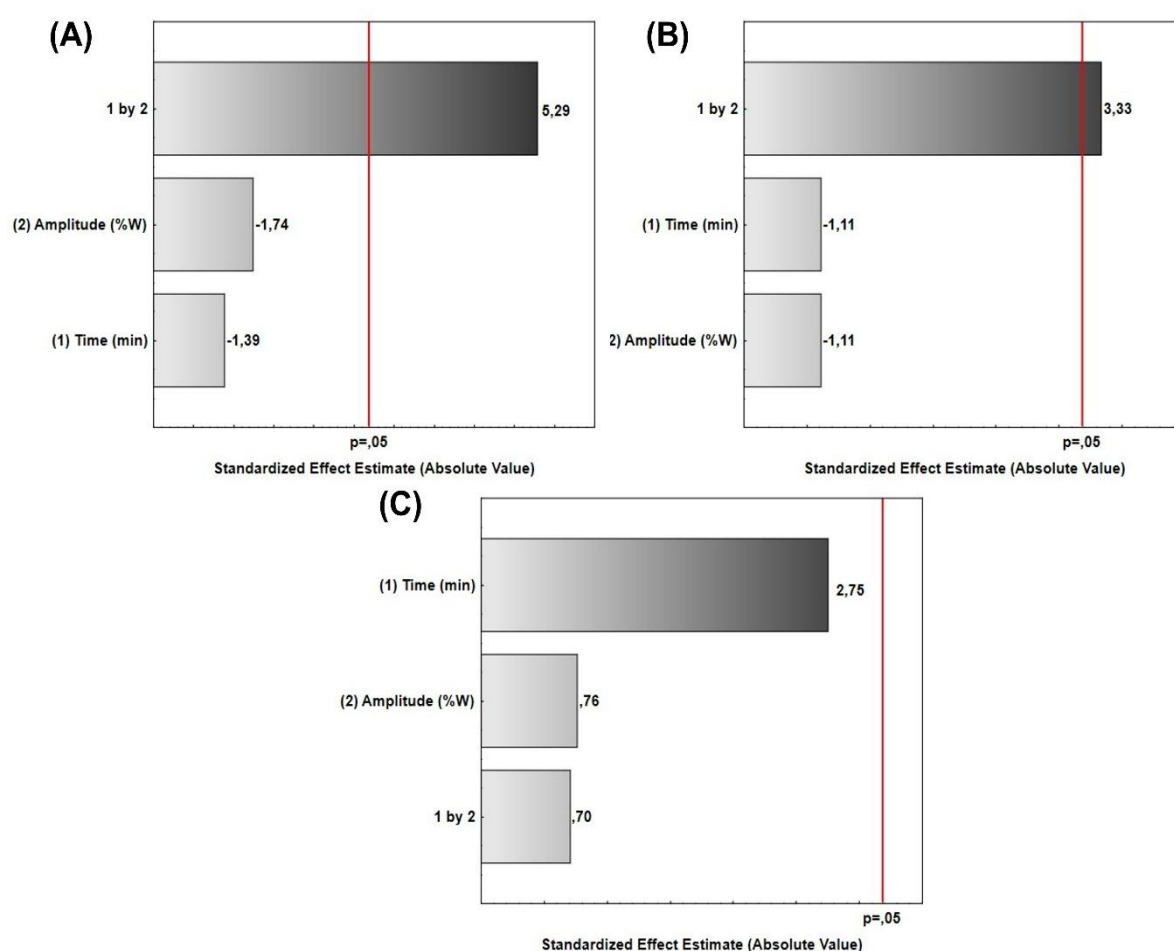


Figure 4. Standardized effects of time and amplitude factors in ultrasonic cavitation on (A) particle size, (B) polydispersity (PDI) and (C) zeta potential (ζ).

Fig.4 shows the standardized effects in the Pareto chart for the ultrasonic cavitation process under particle size, PDI, and ζ . Therefore, time and amplitude combined are the most significant factors influencing the particle size and PDI of HSACO ($P < 0.05$). In contrast, ζ was not affected by the individual or combined factors. In this case, the physical behavior of the

particles depended on the electrical state of the material's interphases; the larger the surface area, the greater the charge, and the better the relationship between the hydroalcoholic solution (Hunter, 2013). Similar behavior was found in the literature when graphene dispersions in organic and aqueous media were analyzed (Johnson et al., 2015). Table 5 shows the particle size obtained through the experimental design (Tab.2).

Table 5. Particle size obtained through HSACO acoustic cavitation.

Treatment	Amplitude (%W)	Time (min)	Particle size (nm)
1	30	60	294.0 ± 19.5 ^a
2	70	180	239.1 ± 3.4 ^b
3*	50	120	198.7 ± 4.2 ^{ce}
4	30	180	176.8 ± 2.0 ^{df}
5	70	60	170.6 ± 3.2 ^f
6*	50	120	200.1 ± 2.0 ^{ce}
7	50	180	170.9 ± 3.1 ^f
8	30	120	183.9 ± 0.9 ^{def}
9	70	120	187.8 ± 4.5 ^{def}
10	50	60	191.1 ± 4.9 ^{cde}
11*	50	120	208.1 ± 1.8 ^c

(*) Corresponds to the central component of the experimental design.

Table 5 shows the dispersibility of HSACO after 24 h rest following the sonication process. The data show stability in the supernatant fraction. However, sedimentation of aggregate material, including semi- and micro-structured components, was observed. This behavior suggests that the stability of the dispersion is associated with the maintenance in suspension of the nanostructured fraction, whose characteristics are influenced by the ultrasonic cavitation parameters (Fig.5).

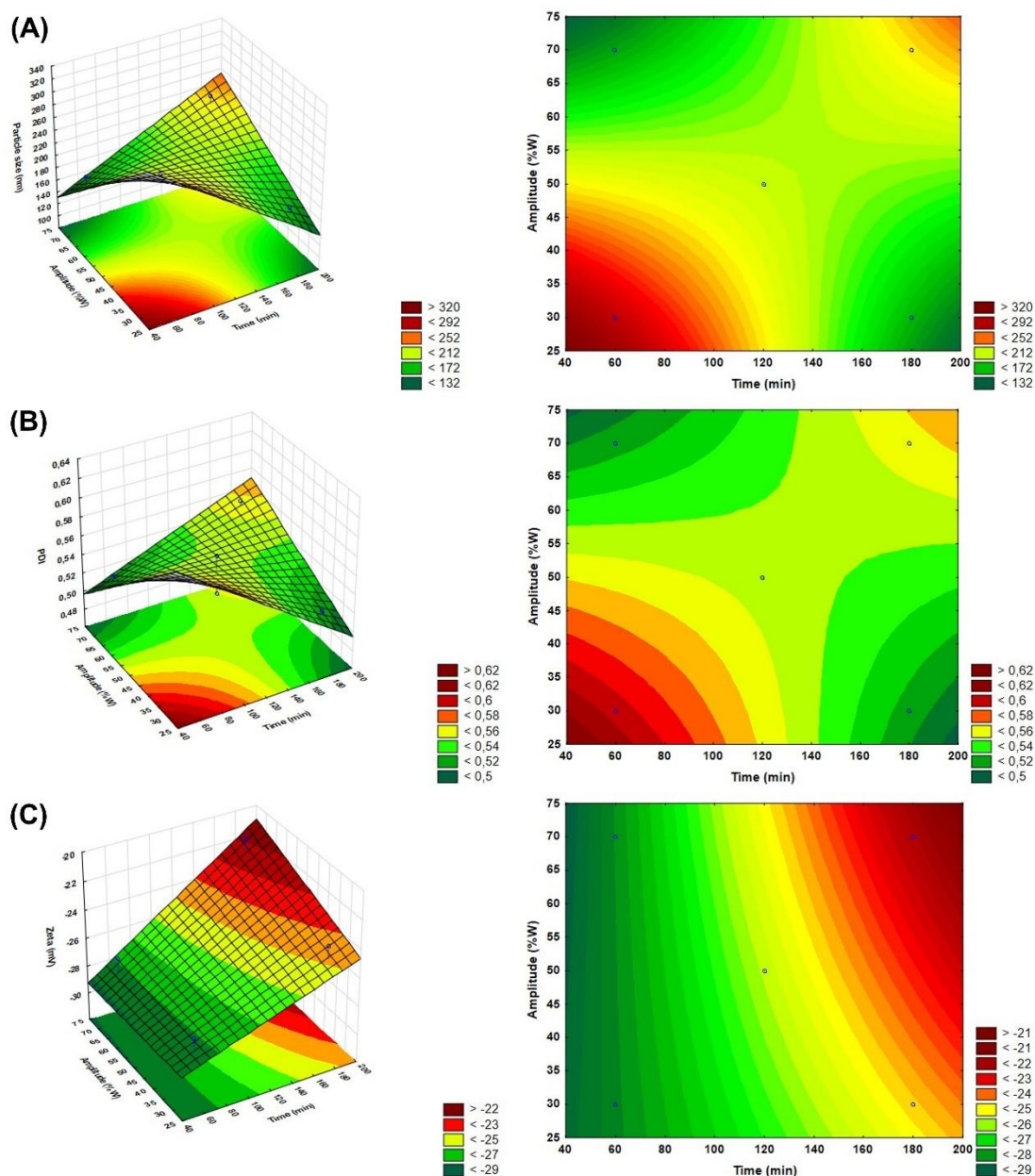


Figure 5. Response surfaces fitted with (A) particle size, (B) polydispersity (PDI), and (C) zeta potential (ζ) as a function of ultrasonic cavitation parameters, time and amplitude.

Fig.5 shows the response surfaces illustrating the influence of the ultrasonication parameters (time and amplitude) on particle size, polydispersity index (PDI), and zeta potential (ζ). Analysis of these results, corroborated by the Pareto diagrams (Fig.4), indicates that the combined effects of time and amplitude significantly influenced ($P < 0.05$) both the particle size employed (Fig.4A and Fig.5A) and the PDI (Fig.4B and Fig.5B). However, in the zeta potential (ζ) there were no significant variations in intensity by the individual or combined parameters ($P > 0.05$), as shown in Fig.4C and Fig.5C. However, Fig.4C shows a predisposition of the time parameter to influence the intensity of ζ . The effects of the sonication parameters on the

formation of hydrated carbon oxide nanostructures were subjected to second-order multiple regression analysis. The assumptions of the model were checked using the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests. The significance of the regression model was assessed using one-way ANOVA. The resulting model equation for particle size (Y_{PS}) (Fig. 5A) is shown in Eq.4.

$$Y_{PS} = 594,47 - 2,76(Time) - 8,70(Amplitude) + 0,0026(Time^2) + 0,0358(Amplitude^2) + 0,0387(Time \times Amplitude) \quad (\text{Equation 4})$$

The accuracy of the mathematical model can be seen from the significance of the regression of the variable $R^2 = 0.8268$. In this case, it is possible to obtain the response surfaces for particle size in HSACO (Fig.5). Eq.4 shows that the variables (time and amplitude) negatively influence the response linearly. However, the quadratic and interaction effects show non-linear and combined (and/or conditional) behavior. Although Eq.4 shows that the individual effects are significant, the existence of an interaction element suggests that the response depends on the interaction of these factors. This makes it difficult to analyze the parameters in isolation. Therefore, the evaluation must consider the combined effects to understand the system's behavior. This behavior corroborates the results presented in the Pareto diagram (Fig.4).

The time/amplitude interaction during ultrasonic cavitation has been shown to be effective in obtaining nanostructured materials with diameters predominantly less 200 nm (Tab.5 and Fig.5). However, it is important to consider that the application of high power and long sonication times can induce sintering processes and re-agglomeration of the material (Cheng et al., 2010). Strieder et al. (2020) indicated that the mechanism of action caused by acoustic cavitation proved to be capable of reducing the particle size of suspensions and/or emulsions to obtain nanostructures. As a result, the particle size distribution in HSACO after the sonication process ensures better polydispersity of the material, guaranteeing the permanence of nanometric structures, as shown in Fig.6.

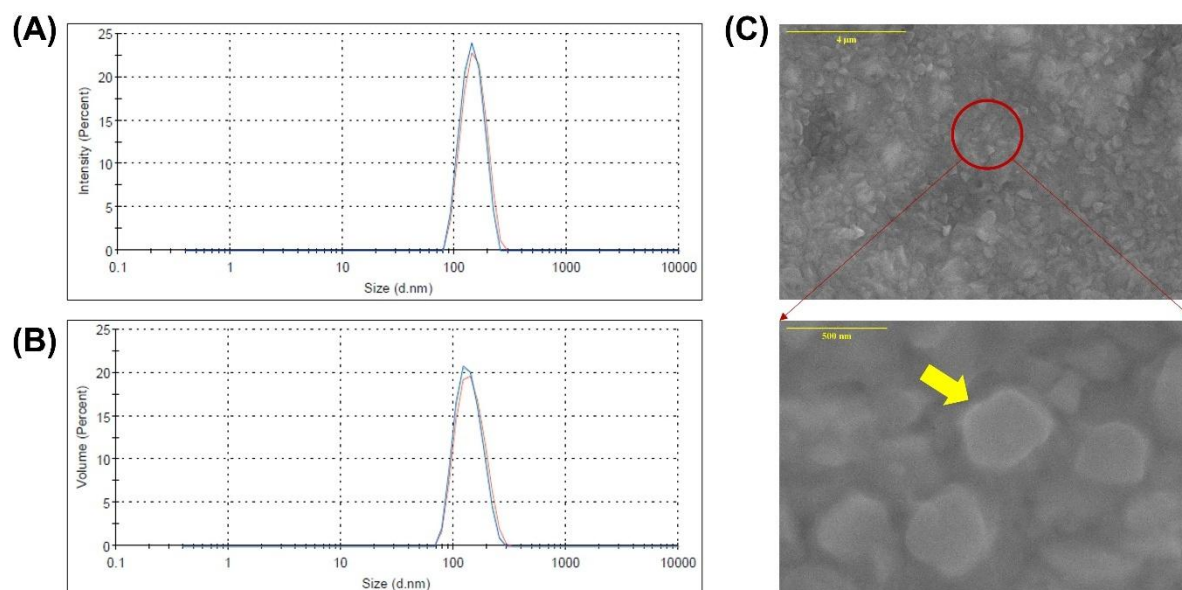


Figure 6. Particle size distribution by DLS in (A) intensity and (B) volume of HSACO-8. In (C) the micrograph of HSACO-8.

The particle size distributions obtained by DLS, shown in Fig.6A and Fig.6B, exhibited an apparent monomodality profile, suggesting a main population of particles (close to 100 nm). However, when comparing the two distributions, the intensity distribution (Fig.6A) is more sensitive to the presence of larger particles due to their greater light scattering capacity, indicating the existence of a minority fraction of particles with sizes greater than 100 nm. However, it predominates below 1000 nm, contributing significantly to the signal. In contrast, the volume distribution (Fig.6B) tends to underestimate the contribution of these larger particles. This behavior, which suggests the coexistence of nanostructures with some larger aggregates, is visually corroborated by the micrograph shown in Fig.6C, which shows the existence of aggregated and overlapping materials.

The data observed in the sonic cavitation process corroborates the effectiveness of the method in obtaining nanostructures, as shown in Fig.5 and Fig.6C. Previous research reported that DLS analysis is insufficient due to its limitations in obtaining conclusive results, as it is a comparative method with models of individual spherical particles with Brownian movement (F. et al., 2021). F. et al. (2021) observed similar behavior when applying sonication to graphene oxide (GO) in their studies. These authors reported that GO nanosheets grouped were considered particles and that the carbon atoms, with an sp^2 structure, may have been considered uncharged Lennard-Jones spheres. Thus, the behavior of the DLS analysis can be regarded as inconclusive in relation to the determination of particle sizes reported in the literature (F. et al.,

2021). To overcome the limitations of DLS analysis in assessing carbon particle size, atomic force microscopy (AFM) analysis was considered Fig.7. The choice of treatment 8 (30%W and 120 min) for this specific analysis was based on the results of the experimental design (Fig.5), which indicated that these sonication conditions were the most effective in obtaining particles with the smallest average size and a homogeneous PDI ($PDI < 0.3$).

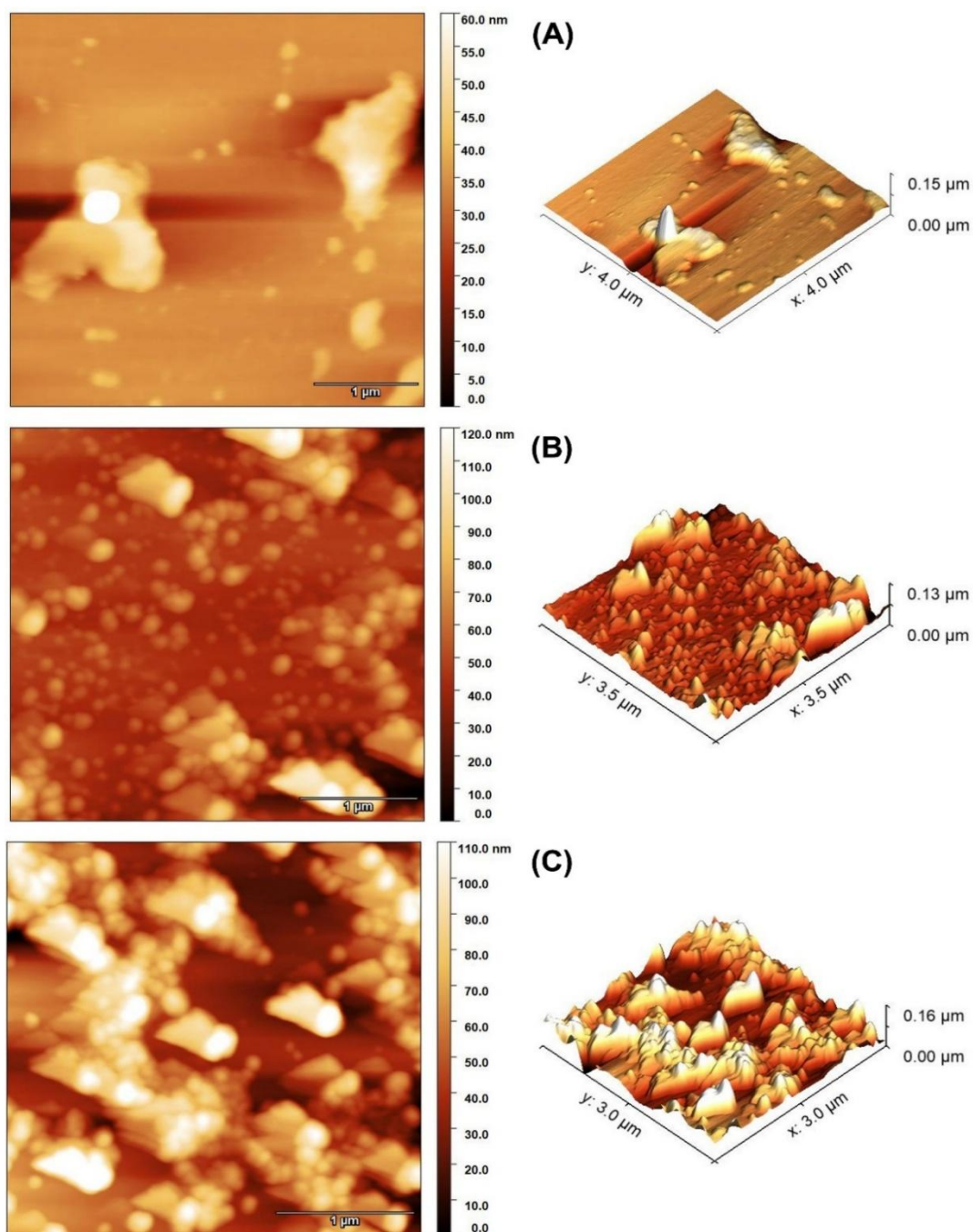


Figure 7. AFM micrographs of the 2D and 3D particle size distributions for (A) NHKBIO[®], (B) HSACO-8 treatment after sonication (30%W for 120 min) and (C) HSACO-8 after 24 h in stand-by of the sonic cavitation process in a tip ultrasound.

Fig.7 shows the presence of nanostructured materials, and agglomerations of the material (Fig.7 in 3D), considering that HSACO has polydisperse behavior. During the sonic cavitation process, the hydrated amorphous carbon oxide (NHKBIO[®]) particulates fragmented, which may have been caused by the force of the micro-jets on its surface, causing a puncture effect (F. et al., 2021; Liang et al., 2014). In addition, the literature indicates that prolonged sonication can promote material aggregation (Hadi et al., 2018; 2024). This phenomenon is attributed to the increase in the concentration of fragments generated over the processing time, which leads to an increase in the frequency of interparticle collisions and, consequently, detachments, increasing the rate of re-agglomeration.

Raman spectroscopy was used to assess the structural changes and degree of defects in the carbon material resulting from the sonic cavitation process. Recognized as a non-destructive technique, Raman spectroscopy is very powerful for characterizing carbonaceous materials, which is suitable for analyzing the defect levels and crystallinity based on the inelastic light scattering response (Krishnamoorthy et al., 2013; Liu et al., 2024). The Raman spectrum of the HSACO-8 sample, obtained after sonication and 24 h of rest, is shown on Fig.8.

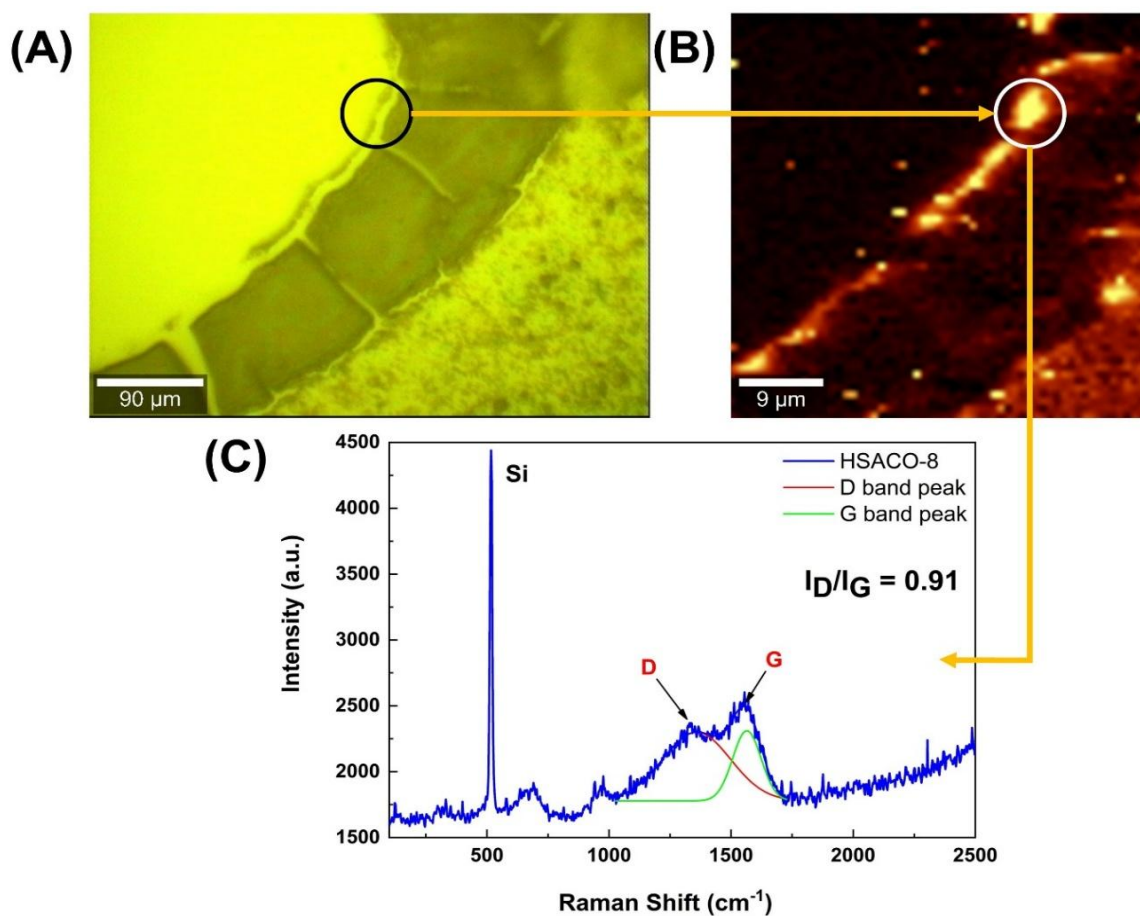


Figure 8. Optical micrograph with transmitted light (A), Raman image (B) and Raman spectrum (C) of the hydrated carbon oxide nanostructured material, HSACO-8 (after 24 h of rest). Raman spectra were acquired using a 532 nm Nd:YAG laser line.

Fig.8 shows the characteristic bands of carbon-based material, with a D and G band observed at 1358 cm^{-1} and 1564 cm^{-1} , respectively. The bands show a broadening profile in the spectrum, thus indicating possible oxidation of the material (Aksoy and Anakli, 2019; Ghanem and Rehim, 2018). It is essential to note that the D band position is dependent on the excitation laser wavelength, unlike most Raman-active modes, due to the double-resonance Raman scattering process (Ferrari and Robertson, 2000). In this study, Raman spectra were obtained using a 532 nm laser, and the literature data used for comparison were selected based on the same excitation wavelength to ensure consistency. Liu et al. (2024) obtained Raman spectra with the D and G bands centered at 1340 cm^{-1} and 1590 cm^{-1} in nanoporous carbons. Similar behaviors were also reported by Aksoy and Anakli (2019) when they analyzed the Raman spectra of graphene oxide, graphite rods and Hummers graphene oxide enhanced with an electrolyte. These authors identified the D and G bands at 1354 cm^{-1} and 1590 cm^{-1} , respectively. However, Krishnamoorthy et al. (2013) employed a 514 nm laser, which partially explains the higher shift observed in the G band position (1595 cm^{-1}) reported by these authors. They also attribute this shift to the oxygenation degree of the graphite structure. Thus, both the laser wavelength and the oxidation level influence the Raman band positions.

The D band, 1358 cm^{-1} in Fig 8, indicates the presence of defects or oxidation in the carbon structure. These seem to be associated with the sonic cavitation process, which caused symmetry breaks, and generated a certain amount of moderate-level disorder (Krishnamoorthy et al., 2013). Therefore, this behavior can generate a process of agglomeration of the materials, forming an irregular topography with particles of different sizes, as shown in Fig.7. Liu et al. (2024) also observed a wide dispersion of different sizes in their research. These authors observed this behavior based on the broader D band. The G band, 1560 cm^{-1} in Fig. 8, seems to indicate the presence of a graphitic structure with vibrations in the plane of carbon atoms, a hybridized sp^2 C-C stretching mode (Ghanem and Rehim, 2018; Hadi et al., 2018; Thapliyal et al., 2022).

The I_D/I_G ratio of the HSACO-8 material [0.91 (Fig.8)] corroborates the formation of defects in the NHKBIO[®] particles during cavitation, through the process of agglomeration by friction or the presence of carbon structures that were not drastically broken down during the 120 min period of sonic cavitation. In addition, the literature associated HSACO-8 with other materials having an amorphous profile, i.e., a high degree of disorder. Ghanem and Rehim (2018) studied the synthesis of dispersed graphene nanoplatelets (DGP) in solution using sodium dodecylbenzene sulfonate as a stabilizer, and employed a chemical reduction route to convert graphene oxide (GO) into reduced graphene oxide (rGO). The I_D/I_G ratios obtained

for DGP, GO, and rGO were 0.39, 1.17, and 1.08, respectively, indicating the structural changes induced by the reduction process.

Electrochemical testing of carbon materials, such as graphite, graphene, and their oxides, can be used to provide information on the kinetic and thermodynamic properties of these materials. This can be done by the injection or withdrawal of electrons in a controlled manner using an applied electromotive force by cyclic voltammetry (Ghanem and Rehim, 2018; Pilz and Kielb, 2023). Fig. 9 shows the cyclic voltammograms of ($K_3[Fe(CN)_6]$) in an electrolytic medium, with a characteristic “duck”-shaped profile.

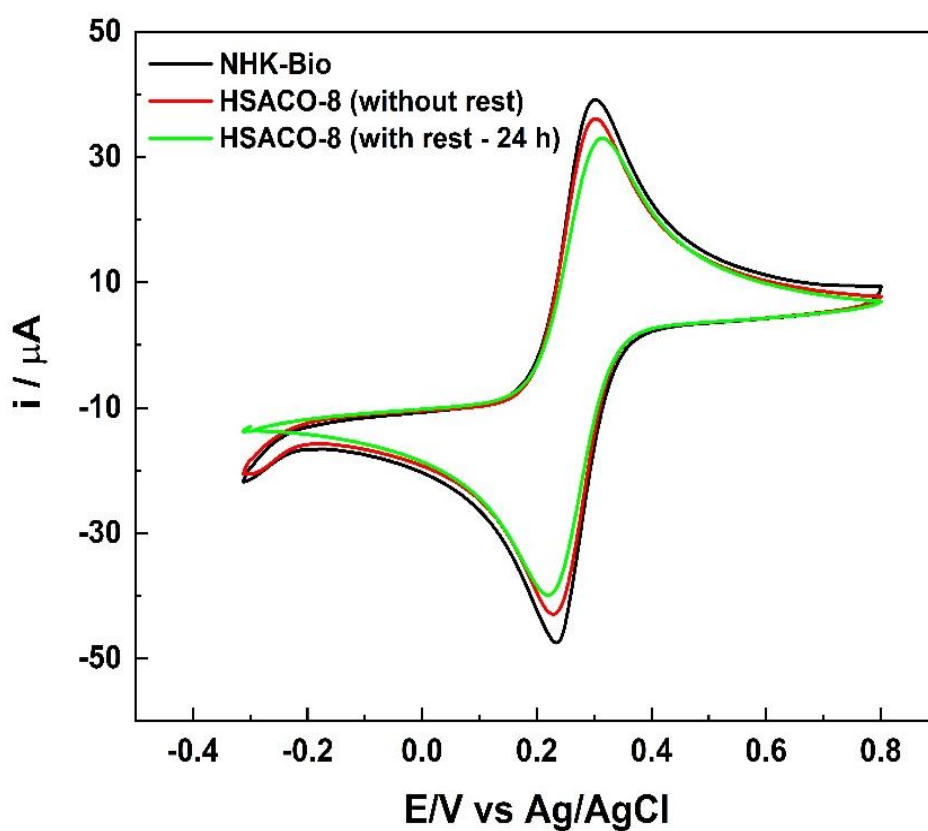


Figure 9. Cyclic voltammograms of NHKBIO[®] (commercial product), HSACO-8 (after sonic cavitation, without resting) and HSACO-8 (after resting for 24 h) in a solution of $K_4Fe(CN)_6$ (4 mmol.L^{-1}) e KCl (1.0 mol.L^{-1}) in the potential window from -0.3 to 0.8 V at 50 mV.s^{-1} .

Figure 9 illustrates the conductive profiles of the materials above $30 \mu\text{A}$, with $39.14 \mu\text{A}$, $36.09 \mu\text{A}$, and $33.03 \mu\text{A}$ observed for NHKBIO[®], HSACO-8 (without rest), and HSACO-8 (after 24 h of rest), respectively, indicating favorable conductivity and electrochemical responses. The cyclic voltammogram of the HSACO-8 sample after 24 h of rest (Fig. 9) demonstrated a shift of the oxidation peak to a more positive potential (315 mV), accompanied by a reduction in the peak current. This behavior suggests an increase in the energy barrier of

the redox process, with a possible association with the morphological changes observed in the material (Ghanem and Rehim, 2018). The data presented in Fig. 6 and 7, obtained using DLS and AFM, respectively, lend support to the hypothesis of non-uniformity and particle aggregation. Consequently, the electrochemical changes observed due to sonic cavitation after a 24 h rest period likely promoted morphological changes, thereby reducing the deposited electroactive area and the charge transfer efficiency of the samples during the redox process. In contrast, Ghanem and Rehim (2018) reported improved electrical conductivity in carbonaceous materials. The authors observed greater electron mobility in monolayer and multilayer graphene structures (lamellar morphology), demonstrating that structural differences and surface organization can influence the electrochemical behavior of the material. As illustrated in Table 6, the anodic (I_{pa}) and cathodic (I_{pc}) peak currents, along with the potential difference (ΔE_p), are presented.

Table 6. I_{pa} , I_{pc} and ΔE_p values of the samples in the presence of ($K_3[Fe(CN)_6]$) (4 mmol.L⁻¹) and KCl (1.0 mol.L⁻¹) solutions.

Sample	I_{pa} (μA)	I_{pc} (μA)	j_{pa} ($\mu A.cm^{-2}$) [*]	j_{pc} ($\mu A.cm^{-2}$) [*]	ΔE_p (mV)
NHKBIO	39.14	-47.50	553.7	-671.9	68.36
HSACO-8 (without rest)	36.09	-42.93	510.6	-607.3	70.80
HSACO-8 (after 24 h)	33.03	-39.89	467.3	-564.3	95.22

(*) Normalization by electrode area, GCE of \varnothing 3.0 mm has area \approx 0.07069 cm².

As demonstrated in Table 6, the conductivity of NHKBIO[®] > HSACO-8 (without rest) > HSACO-8 (after 24 h) is shown. Consequently, the observed increase in peak-to-peak separation (ΔE_p) for HSACO-8 (after 24 h), from 70.8 mV to 95.22 mV, contradicts the anodic and cathodic peak currents, suggesting a slowdown in heterogeneous electron transfer kinetics or a reduction in the electroactive area (Elgrishi et al., 2018; Pasakon et al., 2019). According to extant literature, the presence of ΔE_p values greater than the theoretical 59 mV, when considering a reversible process, may be indicative of quasi-reversible or kinetically limited electron transfer. This behavior may result from a few factors, including (i) a reduction in the electroactive area; (ii) the formation of thicker films; or (iii) non-uniformity and particle aggregation resulting from the *drop-casting* technique (He, 2018). It is evident from the observations concerning the interfacial kinetics and inherent electrical conductivity exhibited

by the materials (commercial NHKBIO[®] and nanostructured HSACO-8, with and without rest) that the results were positive. This is primarily due to the substantial conductive capacity, as evidenced by peak currents above 30 μA (see Table 6). Consequently, the observed changes are more indicative of alterations in morphology than of a loss of conductive properties.

The combination of these properties (intrinsic electrical conductivity, morphological stability, and renewable origin) renders HSACO-8 a promising candidate for application in polymer matrices, forming conductive composites with potential applications in emerging packaging (smart and active) (Song et al., 2022). In this instance, the incorporation of conductive carbon fillers can result in the formation of percolating networks, thereby conferring an electrical response to the films (Huang et al., 2019). In addition to the integration of emerging food preservation technologies, such as Pulsed Electric Field Processing (PEF) (2020; Roodenburg et al., 2013, 2010). Furthermore, EVA (ethylene vinyl acetate) films, in conjunction with 30 wt% by weight of tobacco smoke particles, exhibited an electrical conductivity of $0.75 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$, accompanied by bacterial inactivation of $2.1 \log_{10}$ (Roodenburg et al., 2010). The same authors previously used PEF in-pack as a food packaging bag and obtained a microbial inactivation of $5.9 \log_{10}$, reaching the pasteurization level (Roodenburg et al., 2013). Thus, functionalization of food packaging with bioactive materials that combine barrier characteristics, biodegradability, sustainability, and multifunctionality has the potential to result in innovations within the food packaging sector (Huang et al., 2019).

4. CONCLUSION

The ultrasonic cavitation process employed by NHKBIO[®] has been demonstrated to be an efficient method for the formation of nanostructured materials, characterized by an amorphous, conductive, polydisperse, and stable carbon oxide profile, with a polydispersity index (PDI) of ≤ 0.30 . Among the conditions tested, Treatment 8 (30% W for 120 min), designated HSACO-8, produced a material profile with strong similarity to graphene oxide and reduced graphene oxide, exhibiting D and G bands with an amorphous profile (ratio of 0.91) and a stable dispersion with isolated ($<100 \text{ nm}$) and aggregated (irregular) ($<200 \text{ nm}$) nanostructures after 24 h of rest. This finding underscores the impact and technological implications of state-of-the-art ultrasound in the synthesis of carbon nanostructures from a renewable source, and the versatility of the characteristics of this novel commercial product, NHKBIO[®], which presents a more environmentally friendly alternative when compared to

other carbon nanomaterials. As demonstrated by acute toxicity tests on the *Danio rerio* model, no mortality or apparent anatomical changes were observed at the concentrations that were tested for up to 96 hours of exposure. However, higher concentrations have been demonstrated to induce behavioral changes, such as increased anxiety. The study of the electrochemical properties demonstrated that both NHKBIO[®] and HSACO-8 (with and without rest, respectively) exhibited electrical conductivity. The results of this study demonstrate the potential of plant-based hydrated carbon oxide, processed using an energy-efficient ultrasonic method, as a sustainable and cost-effective source of functional carbon nanomaterials.

Future research should concentrate on enhancing the sonication process to reduce aggregation and enhance the physical and chemical properties of the resulting materials. In addition, the performance of these materials in relevant polymer matrices should be explored, and sublethal and long-term toxicity studies conducted to ensure their safety in specific applications.

Author contributions

Data curation, **KWEM** and **GAF**; Formal analysis, **KWEM** and **GAF**; Funding acquisition, **LBV**; Investigation, **KWEM**, **GAF**, **MKAF**, **JESAM**, and **FCCSS**; Methodology, **KWEM**, **GAF**, **FSAS**, **JESAM**, and **MRSB**; Project administration, **KWEM**, **MRSB**, and **LBV**; Resources, **MSRB** and **LBV**; Supervision, **MSRB** and **LBV**; Validation, **FSAS**, **MSRB**, and **LBV**; Writing—original draft, **KWEM**, **GAF**, **MKAF**, and **JESAM**; Writing—review & editing, **MP**, **AGSF**, **LBV**, and **MSRB**. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Acknowledgments

The authors thank the National Council for Scientific and Technological Development. This work was carried out with the collaboration of the State University of Ceara (UECE) in the Natural Products Chemistry Laboratory (LQPN-S), Physics Laboratory (UFC), AdpCLEAN (Santos Cruz Soluções Ambientais Ltda.) for the donation of NHKBIO, and EMBRAPA Tropical Agroindustry. We also thank the Central Analítica-UFC/CT-INFRA/MCTI-SIS-NANO/CAPES for using their facilities for the SEM analyses.

Funding

This work was financially supported by CNPq/MCTI/FNDCT n.18/2021 Universal (404638/2021-0).

Declarations

Conflict interest

No conflict of interest exists in the submission of the manuscript.

Ethical approval

This paper reports studies involving adult zebrafish (*Danio rerio*), conducted with prior approval from the Animal Use Ethics Committee of the State University of Ceará (protocol n° 04983945/2021).

REFERENCES

- Aksoy, C., Anakli, D., 2019. Synthesis of Graphene Oxide Through Ultrasonic Assisted Electrochemical Exfoliation. *Open Chemistry* 17, 581–586. <https://doi.org/10.1515/chem-2019-0062>
- Azevedo, N.H. de, Gleize, P.J.P., 2018. Effect of silicon carbide nanowhiskers on hydration and mechanical properties of a Portland cement paste. *Construction and Building Materials* 169, 388–395. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.02.185>
- Barra, A., Santos, J.D.C., Silva, M.R.F., Nunes, C., Ruiz-Hitzky, E., Gonçalves, I., Yildirim, S., Ferreira, P., Marques, P.A.A.P., 2020. Graphene Derivatives in Biopolymer-Based Composites for Food Packaging Applications. *Nanomaterials* 10, 2077. <https://doi.org/10.3390/nano10102077>
- Carneiro Romão, I., Costa Siqueira, S.M., Amâncio Ferreira, M.K., Wlisses da Silva, A., Machado Marinho, M., Ferreira Ribeiro, W.H., de Castro Gomes, A.F., Alencar de Menezes, J.E.S., dos Santos, H.S., 2024. Effect of Cinnamaldehyde Chalcone on Behavior in Adult Zebrafish (*Danio rerio*): In Silico Approach. *Chemistry & Biodiversity* 21, e202400935. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400935>
- Cheng, Q., Debnath, S., Gregan, E., Byrne, H.J., 2010. Ultrasound-Assisted SWNTs Dispersion: Effects of Sonication Parameters and Solvent Properties. *J. Phys. Chem. C* 114, 8821–8827. <https://doi.org/10.1021/jp101431h>
- Claro, P.I.C., Pinheiro, T., Silvestre, S.L., Marques, A.C., Coelho, J., Marconcini, J.M., Fortunato, E., C. Mattoso, L.H., Martins, R., 2022. Sustainable carbon sources for green laser-induced graphene: A perspective on fundamental principles, applications, and challenges. *Applied Physics Reviews* 9, 041305. <https://doi.org/10.1063/5.0100785>
- Coraux, J., N'Diaye, A.T., Busse, C., Michely, T., 2008. Structural Coherency of Graphene on Ir(111). *Nano Lett.* 8, 565–570. <https://doi.org/10.1021/nl0728874>
- de Gennes, P.G., 1987. Polymers at an interface; a simplified view. *Advances in Colloid and Interface Science* 27, 189–209. [https://doi.org/10.1016/0001-8686\(87\)85003-0](https://doi.org/10.1016/0001-8686(87)85003-0)
- Elgrishi, N., Rountree, K.J., McCarthy, B.D., Rountree, E.S., Eisenhart, T.T., Dempsey, J.L., 2018. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* 95, 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- F., H.L., Tan, C.P., R.m., Z., Z.a., N.H., 2021. Effect of sonication time and heat treatment on the structural and physical properties of chitosan/graphene oxide nanocomposite films. *Food Packaging and Shelf Life* 28, 100663. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100663>
- Ferrari, A.C., Robertson, J., 2000. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. *Phys. Rev. B* 61, 14095–14107.

- <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.61.14095>
- Freire, G.A., Miranda, K.W.E., Gonzaga, M.L. da C., Oliveira, M.R.F., Castelo, R.M., Silva, L.C. da, Oliveira, M. de A., Alves, C.R., Furtado, R.F., 2022. Electro-synthesized composite of polyaniline and gum Arabic for colorimetric ammonia vapor detection. *Research, Society and Development* 11, e15911931469–e15911931469. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31469>
- Ghanem, A.F., Rehim, M.H.A., 2018. Assisted Tip Sonication Approach for Graphene Synthesis in Aqueous Dispersion. *Biomedicines* 6, 63. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6020063>
- Gonzaga, M.L. da C., de Albuquerque Oliveira, M., Furtado, R.F., Alves, C.R., 2024. Synthesis and application of poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate) as molecularly imprinted polymer in electrochemical sensor for atrazine detection. *J Solid State Electrochem.* <https://doi.org/10.1007/s10008-024-05876-9>
- Gürünlü, B., Taşdelen-Yücedağ, Ç., Bayramoğlu, M., 2020. Graphene Synthesis by Ultrasound Energy-Assisted Exfoliation of Graphite in Various Solvents. *Crystals* 10, 1037. <https://doi.org/10.3390/cryst10111037>
- Hadi, A., Zahirifar, J., Karimi-Sabet, J., Dastbaz, A., 2018. Graphene nanosheets preparation using magnetic nanoparticle assisted liquid phase exfoliation of graphite: The coupled effect of ultrasound and wedging nanoparticles. *Ultrasonics Sonochemistry* 44, 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.028>
- Haque, F., Pi, F., Zhao, Z., Gu, S., Hu, H., Yu, H., Guo, P., 2018. RNA versatility, flexibility, and thermostability for practice in RNA nanotechnology and biomedical applications. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 9. <https://doi.org/10.1002/wrna.1452>
- He, Y.-T., 2018. Capacitive Mechanism of Oxygen Functional Groups on Carbon Surface in Supercapacitors. *Electrochimica Acta* 282, 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.06.103>
- Hill, A.J., Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R.E., 2005. Zebrafish as a Model Vertebrate for Investigating Chemical Toxicity. *Toxicological Sciences* 86, 6–19. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi110>
- Huang, Y., Kormakov, S., He, X., Gao, X., Zheng, X., Liu, Y., Sun, J., Wu, D., 2019. Conductive Polymer Composites from Renewable Resources: An Overview of Preparation, Properties, and Applications. *Polymers* 11, 187. <https://doi.org/10.3390/polym11020187>
- Huet, B., Raskin, J.-P., Snyder, D.W., Redwing, J.M., 2020. Fundamental limitations in transferred CVD graphene caused by Cu catalyst surface morphology. *Carbon* 163, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2020.02.074>
- Hunter, R.J., 2013. *Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications*. Academic Press.
- Johnson, D.W., Dobson, B.P., Coleman, K.S., 2015. A manufacturing perspective on graphene dispersions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 20, 367–382. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2015.11.004>
- Kang, H.-Y., Yeh, A.-I., Pan, M.-H., 2025. Enhancing the Physicochemical Properties, Bioactivity, and Functional Applications of Fresh Jujube Juice Using Media Milling. *ACS Omega* 10, 12603–12614. <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c00475>
- Khan, K.M., Collier, A.D., Meshalkina, D.A., Kysil, E. V., Khatsko, S.L., Kolesnikova, T., Morzherin, Y.Y., Warnick, J.E., Kalueff, A. V., Echevarria, D.J., 2017. Zebrafish models in neuropsychopharmacology and CNS drug discovery. *British Journal of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1111/bph.13754>
- Krishnamoorthy, K., Kim, G.-S., Kim, S.J., 2013. Graphene nanosheets: Ultrasound assisted synthesis and characterization. *Ultrasonics Sonochemistry* 20, 644–649. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.09.007>

- Lemarchand, C., Couvreur, P., Vauthier, C., Costantini, D., Gref, R., 2003. Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan. *International Journal of Pharmaceutics, Particulate Systems: Papers from the Fourth European Symposium on Particulate Systems* 254, 77–82. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00687-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00687-7)
- Liang, S., Yi, M., Shen, Z., Liu, L., Zhang, X., Ma, S., 2014. One-step green synthesis of graphene nanomesh by fluid-based method. *RSC Adv.* 4, 16127–16131. <https://doi.org/10.1039/C4RA01250J>
- Liu, X., Choi, J., Xu, Z., Grey, C.P., Fleischmann, S., Forse, A.C., 2024. Raman Spectroscopy Measurements Support Disorder-Driven Capacitance in Nanoporous Carbons. *J. Am. Chem. Soc.* 146, 30748–30752. <https://doi.org/10.1021/jacs.4c10214>
- Martins, D., Migliorini, F.L., Teodoro, K.B.R., Facure, M.H.M., Corrêa, D.S., 2022. Nanocompósitos poliméricos, in: *Nanocompósitos poliméricos*, 1. Edgard Blücher, São Paulo, Brasil, pp. 133–168.
- Martins Strieder, M., Neves, M.I.L., Silva, E.K., Meireles, M.A.A., 2020. Low-frequency and high-power ultrasound-assisted production of natural blue colorant from the milk and unripe *Genipa americana* L. *Ultrasonics Sonochemistry* 66, 105068. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105068>
- Miranda, K.W.E., Bresolin, J.D., Natarelli, C.V.L., Benevides, S.D., Bastos, M. do S.R., Mattoso, L.H.C., de Oliveira, J.E., 2021. Potential use of poly(lactic acid) nanofibers mats as Nano-sachets in postharvest of climacteric fruits and vegetables. *Journal of Applied Polymer Science* 138, 50735. <https://doi.org/10.1002/app.50735>
- Moreira, A.L.P., Luchiari, A.C., 2022. Effects of oxybenzone on zebrafish behavior and cognition. *Science of The Total Environment* 808, 152101. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152101>
- Novoselov, K.S., Geim, A.K., Morozov, S.V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S.V., Grigorieva, I.V., Firsov, A.A., 2004. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science* 306, 666–669. <https://doi.org/10.1126/science.1102896>
- OECD, 2019. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Testing, Section 2: Effects on Biotic Systems. *Guidelines for the Testing of Chemicals* 10.
- Pannia, E., Tran, S., Rampersad, M., Gerlai, R., 2014. Acute ethanol exposure induces behavioural differences in two zebrafish (*Danio rerio*) strains: A time course analysis. *Behavioural Brain Research* 259, 174–185. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.11.006>
- Pasakon, P., Mensing, J.P., Phokaratkul, D., Karuwan, C., Lomas, T., Wisitsoraat, A., Tuantranont, A., 2019. A high-performance, disposable screen-printed carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes/graphene for ultratrace level electrochemical sensors. *J Appl Electrochem* 49, 217–227. <https://doi.org/10.1007/s10800-018-1268-1>
- Pilz, F.H., Kielb, P., 2023. Cyclic voltammetry, square wave voltammetry or electrochemical impedance spectroscopy? Interrogating electrochemical approaches for the determination of electron transfer rates of immobilized redox proteins. *BBA Adv* 4, 100095. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2023.100095>
- Pinheiro-da-Silva, J., Silva, P.F., Nogueira, M.B., Luchiari, A.C., 2017a. Sleep deprivation effects on object discrimination task in zebrafish (*Danio rerio*). *Anim Cogn* 20, 159–169. <https://doi.org/10.1007/s10071-016-1034-x>
- Pinheiro-da-Silva, J., Silva, P.F., Nogueira, M.B., Luchiari, A.C., 2017b. Sleep deprivation effects on object discrimination task in zebrafish (*Danio rerio*). *Animal Cognition* 20, 159–169. <https://doi.org/10.1007/s10071-016-1034-x>
- Prasad, R., Bhattacharyya, A., Nguyen, Q.D., 2017. Nanotechnology in Sustainable Agriculture: Recent Developments, Challenges, and Perspectives. *Frontiers in Microbiology* 8, 1014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
- Raj, S., Jose, S., Sumod, U.S., Sabitha, M., 2012. Nanotechnology in cosmetics:

- Opportunities and challenges. *J Pharm Bioallied Sci* 4, 186–193.
<https://doi.org/10.4103/0975-7406.99016>
- Roodenburg, B., De Haan, S.W.H., Ferreira, J.A., Coronel, P., Wouters, P.C., Hatt, V., 2013. TOWARD 6 log₁₀ PULSED ELECTRIC FIELD INACTIVATION WITH CONDUCTIVE PLASTIC PACKAGING MATERIAL. *Journal of Food Process Engineering* 36, 77–86.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2011.00655.x>
- Roodenburg, B., de Haan, S.W.H., van Boxtel, L.B.J., Hatt, V., Wouters, P.C., Coronel, P., Ferreira, J.A., 2010. Conductive plastic film electrodes for Pulsed Electric Field (PEF) treatment—A proof of principle. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 11, 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.01.005>
- Sanfelice, R.C., Pavinatto, A., Corrêa, D.S., 2022. *Nanotecnologia aplicada a polímeros*, 1st ed. Edgard Blücher, São Paulo, Brasil.
- Schniepp, H.C., Li, J.-L., McAllister, M.J., Sai, H., Herrera-Alonso, M., Adamson, D.H., Prud'homme, R.K., Car, R., Saville, D.A., Aksay, I.A., 2006. Functionalized Single Graphene Sheets Derived from Splitting Graphite Oxide. *J. Phys. Chem. B* 110, 8535–8539.
<https://doi.org/10.1021/jp060936f>
- Shukla, A., Kumar, R., Mazher, J., Balan, A., 2009. Graphene made easy: High quality, large-area samples. *Solid State Communications* 149, 718–721.
<https://doi.org/10.1016/j.ssc.2009.02.007>
- Singh, S.B., Haskin, N., Dastgheib, S.A., 2023. Coal-based graphene oxide-like materials: A comprehensive review. *Carbon* 215, 118447. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2023.118447>
- Song, T., Qian, S., Lan, T., Wu, Y., Liu, J., Zhang, H., 2022. Recent Advances in Bio-Based Smart Active Packaging Materials. *Foods* 11, 2228. <https://doi.org/10.3390/foods11152228>
- Thapliyal, V., Alabdulkarim, M.E., Whelan, D.R., Mainali, B., Maxwell, J.L., 2022. A concise review of the Raman spectra of carbon allotropes. *Diamond and Related Materials* 127, 109180. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2022.109180>
- Tran, S., Facciol, A., Gerlai, R., 2016a. Alcohol-induced behavioral changes in zebrafish: The role of dopamine D2-like receptors. *Psychopharmacology* 233, 2119–2128.
<https://doi.org/10.1007/s00213-016-4264-3>
- Tran, S., Facciol, A., Gerlai, R., 2016b. Alcohol-induced behavioral changes in zebrafish: The role of dopamine D2-like receptors. *Psychopharmacology* 233, 2119–2128.
<https://doi.org/10.1007/s00213-016-4264-3>
- Vivaldi, F.M., Dallinger, A., Bonini, A., Poma, N., Sembranti, L., Biagini, D., Salvo, P., Greco, F., Di Francesco, F., 2021. Three-Dimensional (3D) Laser-Induced Graphene: Structure, Properties, and Application to Chemical Sensing. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 13, 30245–30260. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c05614>
- Wang, F., Wang, K., Zheng, B., Dong, X., Mei, X., Lv, J., Duan, W., Wang, W., 2018. Laser-induced graphene: preparation, functionalization and applications. *Materials Technology* 33, 340–356. <https://doi.org/10.1080/10667857.2018.1447265>
- Wang, S., Yi, M., Shen, Z., Zhang, X., Ma, S., 2014. Adding ethanol can effectively enhance the graphene concentration in water–surfactant solutions. *RSC Adv.* 4, 25374–25378.
<https://doi.org/10.1039/C4RA03345K>
- Ye, R., Tour, J.M., 2019. Graphene at Fifteen. *ACS Nano* 13, 10872–10878.
<https://doi.org/10.1021/acsnano.9b06778>
- Yi, J., Gu, B., Kan, C., Lv, X., Wang, Z., Yang, P., Zhao, H., 2024. Mathematical Model of Graphene Yield in Ultrasonic Preparation. *Processes* 12, 674.
<https://doi.org/10.3390/pr12040674>
- Yoshida, M., 2022. Incorporating ventilatory activity into a novel tank test for evaluating drug effects on zebrafish. *Physiology and Behavior* 257, 16–27.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2022.113978>

- Zaaba, N.I., Foo, K.L., Hashim, U., Tan, S.J., Liu, W.-W., Voon, C.H., 2017. Synthesis of Graphene Oxide using Modified Hummers Method: Solvent Influence. *Procedia Engineering, Advances in Material & Processing Technologies Conference* 184, 469–477. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.04.118>
- Zhang, L., Li, X., Huang, Y., Ma, Y., Wan, X., Chen, Y., 2010. Controlled synthesis of few-layered graphene sheets on a large scale using chemical exfoliation. *Carbon* 48, 2367–2371. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2010.02.035>
- Zhang, R.X., Li, J., Zhang, T., Amini, M.A., He, C., Lu, B., Ahmed, T., Lip, H., Rauth, A.M., Wu, X.Y., 2018. Importance of integrating nanotechnology with pharmacology and physiology for innovative drug delivery and therapy - an illustration with firsthand examples. *Acta Pharmacol Sin* 39, 825–844. <https://doi.org/10.1038/aps.2018.33>

**APÊNDICE C⁴ – FILMES BIONANOCOMPÓSITOS SUSTENTÁVEIS
REFORÇADOS COM ÓXIDO DE CARBONO AMORFO HIDRATADO E
NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA PARA USO COMO BIO-
PACKAGING**

Kelvi W.E. Miranda¹ • Karllyhellen Lourenço Araújo¹ • Maryana M. Frota¹ • Celso P. Araújo Junior² •
Maria do Socorro R. Bastos² • Lucicléia B. Vasconcelos¹

*¹Laboratory of Research and Innovation in Plant Products and Packaging, Food Engineering
Department, Federal University of Ceará, Fortaleza 60356-000, Brazil.*

²Ceara State Department of Education, Fortaleza, 60830-215, Brazil.

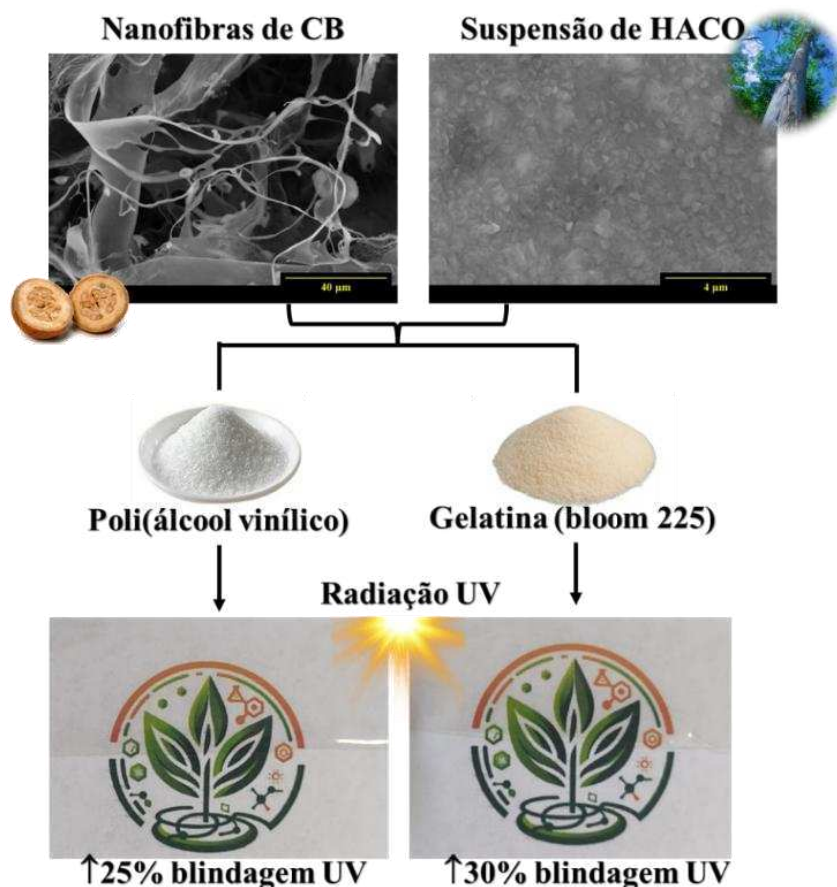
³Embrapa Tropical Agroindustry, Fortaleza 60511-110, Brazil.

* Corresponding authors:

E-mail address: kelviwilmiranda@gmail.com (Kelvi W.E. Miranda)

⁴ O presente manuscrito será submetido à revista com A1, Percentil >87,5% no período pós-defesa da tese. O artigo foi escrito em português. Para compor esta tese, ele está sendo apresentado na sua versão integral.

RESUMO GRÁFICO



HIGHLIGHTS

- Nanocelulose bacteriana reforçou a rede polimérica, elevando tenacidade dos filmes.
- HSACO reduziu a transmitância UV, conferindo forte efeito de blindagem óptica.
- FTIR e DRX confirmaram interações moleculares e alterações na cristalinidade do compósito.

RESUMO

A conscientização da sociedade, em prol da sustentabilidade e por produtos *eco-friendly*, tem impulsionado pesquisas por materiais ecológicos. Nesse contexto, o presente estudo objetivou desenvolver filmes flexíveis bionanocompósitos com duas matrizes poliméricas, gelatina – GEL – e poli(álcool vinílico) – PVA, reforçados com nanofibras de celulose bacteriana (BCN) obtida a partir de resíduo agroindustriais de jenipapo (*Genipa americana*). Em seguida, funcionalizada com suspensão de óxido de carbono hidratado de origem vegetal (HSACO). Neste estudo, foram utilizadas duas matrizes poliméricas (orgânica – 7% (m/v) gelatina (G) e sintética – 5% (m/v) poli(álcool vinílico) (PVA)). A incorporação de HSACO e BCN às matrizes resultou em filmes com melhorias na cristalinidade, blindagem à radiação UV e aumento da transparência, principalmente nos filmes de PVA. Em relação à propriedade mecânica, os filmes de gelatina se mostraram mais resistente e de baixa elasticidade em relação aos filmes PVA. Logo, a carga de HSACO e BCN modulou a resistência e a extensibilidade. Em termos de barreira à umidade, filmes de PVA < GEL, oscilando entre 1,285-2,286 g.mm/kPa.h.m² e 2,649-3,911 g.mm/kPa.h.m², respectivamente. Os resultados mostram o impacto de materiais

compósitos em diferentes matrizes polimérica, maximizando a rede de aplicação alimentício, desde alimentos com baixo teor de umidade e atividade de água a valores intermediários. Além disso, uma abordagem representativa de inovação alinhada às diretrizes de sustentabilidade, que agrega valor às matérias-primas subutilizadas (coprodutos) e impulsiona a economia circular do setor de embalagem de alimentos.

Palavras-chave: gelatina; poli(álcool vinílico); óxido de carbono; embalagem de alimento; sustentabilidade.

1. INTRODUÇÃO

A preocupação social com a sustentabilidade tem impulsionado a busca por alternativas que reduzam, significativamente, o impacto ambiental das embalagens sintética (de fonte petroquímica não biodegradável). Em 2020, a produção global de plásticos atingiu a marca de 435 milhões de toneladas, com projeções de aumento de 70% até 2040, isto é, 736 milhões de toneladas (OECD, 2024). Além disso, cerca de 40% dos resíduos plásticos globais provinham de embalagens (OECD, 2022). Esses resíduos carecem de manejo adequado, agravando significativamente os índices de poluição ambiental. China, Estados Unidos e Índia se destacam como as maiores economias do mundo e as principais geradoras de resíduos de embalagens não biodegradáveis, evidenciando uma demanda urgente por soluções ambientalmente responsáveis (Rani et al., 2024). Logo, observa-se uma crescente conscientização da sociedade, em favor de produtos *eco-friendly*, que promovam menor impacto ecológico, tem impulsionado pesquisas focadas em embalagens biodegradáveis e de baixo impacto ambiental (Infante-Neta et al., 2024).

Nesse cenário a celulose bacteriana (BC) emerge como um biopolímero promissor para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis. Produzida principalmente por bactérias do gênero *Komagataeibacter*, embora também possa ser sintetizada por outros gêneros, como *Gluconacetobacter* e *Acetobacter*, além de consórcios simbióticos de bactérias e leveduras (Chaussé et al., 2024; Miranda et al., 2025). Este biopolímero apresenta elevada pureza, cristalinidade e estrutura nanofibrilar organizada, superando a celulose vegetal, que exige processos complexos de purificação e alto volume de resíduo químico (Martirani-VonAbercron & Pacheco-Sánchez, 2023). Tais características tornam a BC promissora e versátil em aplicações como em embalagens biodegradáveis (Ramírez Tapias et al., 2022), engenharia de tecidos (Mehrotra et al., 2023), produtos cosméticos, dermatológicos (Perugini et al., 2020) e entre outras possibilidades em desenvolvimento. Seu cultivo a partir de substratos agroindustriais, como cascas de frutas e melaço, representa uma alternativa sustentável e de baixo custo (Albanez et al., 2024). Nesse contexto, incorporar nanofibras de celulose bacteriana

(BCN) em matrizes poliméricas diversas, surge como uma estratégia eficaz para reforçar a rede polimérica, tendo em vista sua organização estrutural cristalográfica e grupamento hidroxilas (–OH), os quais favorecem uma maior interação através da formação de ligações de hidrogênio, promovendo melhorias nas propriedades mecânicas e barreiras (Martirani-VonAbercron & Pacheco-Sánchez, 2023; Miranda et al., 2025; X.-J. Shen et al., 2019).

Para potencializar as vantagens oferecidas pela celulose bacteriana, a nanotecnologia tem sido incorporada aos biopolímeros, permitindo melhorias significativas nas propriedades mecânica, controle na liberação de ativos e barreira a gases (O₂, CO₂ e vapor de água) (Fahmy et al., 2020; Hou et al., 2021; J. Li et al., 2022; Xu et al., 2024). Tais melhorias podem ser viabilizadas por nanoestruturas aplicadas com sucesso em materiais de embalagem. Para isso, materiais carbonáceos como o óxido de carbono amorfo hidratado (HACO), estruturalmente relacionado ao óxido de grafeno e derivados são considerados promissores, tendo em vista a densidade de grupos oxigenados e folhas lamelares (Gürler & Torğut, 2021; Guzman-Puyol et al., 2022; Nor Adilah et al., 2021). Utilizados como reforço em polímeros para melhorar a condutividade elétrica, a sensibilidade ambiental e a resistência mecânica (Gürünlü et al., 2020; Martins et al., 2022; Moustafa et al., 2021). Ao atuar como nanocompósitos com biopolímeros: celulose bacteriana (Infante-Neta et al., 2024), quitosana (Y. Wang et al., 2022), amido (Gürler & Torğut, 2021), polilactídeo (Cheong et al., 2024) e polihidroxialcanoatos – PHA (Cataldi et al., 2020) esses nanomateriais apresentam compatibilidade polimérica, ambiental e desempenho funcional aprimorado (Xu et al., 2024).

Diante disso, a busca por materiais sustentáveis para aplicação no setor de embalagens alimentícias tem se apresentado como solução viável e estratégica no âmbito das esferas econômicas, ambiental e social. Neste sentido, o presente estudo objetivou desenvolver uma embalagem *eco-friendly*, bionanocompósita de nanofibras de celulose bacteriana obtido da fermentação estática do resíduo agroindustriais de jenipapo (*Genipa americana*). Além disso, funcionalizada com óxido de carbono hidratado de origem vegetal. Essa abordagem representa uma inovação alinhada às diretrizes de sustentabilidade, que agrega valor às matérias-primas subutilizadas (co-produtos) e impulsiona a economia circular.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os filmes flexíveis foram obtidos com matrizes poliméricas: gelatina (GEL) tipo B (extraída de couro bovino), com *bloom* 225 (força de gelificação) com partículas de 30 *mesh* adquirido da Rousselout®; e poli(álcool vinílico) (PVA) adquirido da Neon (Brazil), sendo 87-89% hidrolisado, $M_w = 104,500$ g/mol, and CAS 9002-89-5. O resíduo agroindustrial de jenipapo (*Genipa americana* L.) (AIW-G) – casca, sementes e volumes de polpa descartada por danos mecânicos – como fonte alternativa de carbono fermentescível. Estes resíduos foram doados pela Cooperativa Agropecuária e de Serviços Nossa Senhora de Aparecida – COOPAAGRO – da cidade de Caucaia-CE (Brazil). Carboximetilcelulose de baixa densidade – CMC (CAS 9004-32-4, D.S. 0.65-0.90) obtido da Sigma-Aldrich (Brazil).

NHKBIO® – óxido de carbono amorfo hidratado (HACO) de origem vegetal (*Eucalyptus grandis*) (densidade 1,25-1,35 g/cm³) gentilmente doado pela empresa AdpCLEAN Ltda. (Brasil), a qual detêm o produto objeto de pedido de patente n° BR102024023159-7. Álcool etílico absoluto P.A. 99,8% de pureza ($M_w = 46,07$ g/mol, densidade 0,7890-0,7915 g/cm³ e CAS 64-17-5) adquirido na Êxodo Científica (Brasil). Glicerol P.A. (densidade 1,26 g/cm³, $M_w = 92,10$ g/mol¹ e CAS 56-81-5) da Dinâmica (Brasil).

2.2 Métodos

2.2.1 Produção da suspensão de nanofibras de celulose bacteriana (BCNs)

A produção das BCNs utilizando o AIW-G seguiu metodologia proposta por Miranda et al. (2025). Para a extração dos açúcares e materiais solúveis, foi utilizado 7,0% (m/v) da biomassa de AIW-G, seguida de aquecimento à 70 ± 5 °C por 25 min. Em seguida, o extrato foi resfriado e ajustado o pH em 3,7 para adicionar a cultura start (10%, m/v). Após a inoculação, o novo meio de cultivo com a cultura foi deixado em condições ambientais de umidade e temperatura ($60 \pm 5\%$ UR, 25 ± 2 °C), com boa iluminação e circulação de ar, durante 15 dias. O processo foi avaliado através do rendimento da celulose bacteriana em razão da massa seca obtida e a massa inicial de cultivo, resultando em aproximadamente 14% (m/m).

As etapas posteriores de purificação e neutralização foram realizadas conforme descrito por Miranda et al. (2025). A suspensão de BCN de jenipapo (BCN-G) seguiu metodologia

adaptada de Andrade et al. (2019). As fibrilas de celulose foram obtidas após aumento da área superficial da biomassa de celulose formada durante os 15 dias de fermentação, através de trituração em liquidificador doméstico. Em seguida, a suspensão com concentração de 2,0% (m/v) foi adicionada 0,1% (m/m) de CMC como agente estabilizante do processo, seguida de moinho coloidal (Meteor Rex Inox I-V-N) com recirculação por 15 min. A suspensão foi mantida sobre refrigeração à 10 ± 2 °C.

2.2.2 Produção da suspensão dos óxidos de carbono amorfo hidratado (HSACO)

As condições específicas para o preparo da suspensão de NHKBIO[®] foram obtidas em estudos anteriores (dados não divulgados), onde 18,16 µL de NHKBIO[®] em 50 mL de água ultrapura (Milli-Q[®]), correspondendo à concentração de 0,4 mg/mL de NHKBIO[®], foi submetida à cavitação sônica de baixa frequência, 24 kHz, em ultrassom de ponteira (modelo UP400-S, Hielscher, Germany) com sonda de 22 mm de diâmetro e 400 W de potência. O processo de cavitação com 30%W (amplitude) durante 120 min. Devido a ocorrência de alto aquecimento, foi acoplado ao sistema, banho termostático com circulação (modelo F-25, Julabo, Germany) à 15 °C, a fim de manter a temperatura interna durante o processo de cavitação do NHKBIO[®] em 24 ± 2 °C. Por fim, 1,0% (v/v) de álcool etílico P.A. foi adicionado à suspensão para reduzir a incidência de aglomerações da HSACO durante o período de 24 h em descanso.

2.2.3 Preparação dos filmes

Os filmes flexíveis de poli(álcool vinílico) – PVA, foram obtidos através de solução filmogênica à 5,0% (m/v), aquecida à 90 °C por 120 min, sob agitação constante. Já para os filmes de gelatina – GEL, 7,0% (m/v), foram hidratadas previamente durante 10 min. Em seguida, aquecidas à 85 °C por 30 min. As soluções filmogênicas foram resfriadas, aproximadamente 40 °C. Foi incorporada às soluções, um agente plastificante, glicerol, 0,25 g/g de matéria seca e misturadas em ultra-turrax (modelo T-25, IKA[®], Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany) à 4.000 rpm por 5 min. Em seguida, a incorporação das suspensões de HACO (1,0% v/v), BCN (1, 5 e 10,0% v/v) e plastificante. Os filmes foram formados através do método casting descontínuo com espessura úmida de 1,0 mm. Em seguida, os filmes foram deixados durante *overnight* sob condições ambientes de temperatura e umidade relativa ($25 \pm$

2 °C e $65 \pm 5\%$, respectivamente). Todas as soluções poliméricas foram preparadas com água destilada. A Tabela 1 apresenta as variações de incorporação das suspensões de BCN e HSACO.

Tabela 1. Descrição experimental da incorporação das suspensões de nanofibras de celulose bacteriana (BCN) e óxido de carbono vegetal hidratado (HSACO) nas soluções filmogênicas de PVA e GEL para formação dos filmes flexíveis.

Matriz polimérica	Matriz (%, m/v)	HSACO (%, v/v)	BCN (%, v/v)	Codificação
Poli(álcool vinílico)	5,0	-	-	P-ctl*
	5,0	1,0	-	P-C-ctl**
	5,0	1,0	1,0	P-C-BC-1
	5,0	1,0	5,0	P-C-BC-5
	5,0	1,0	10,0	P-C-BC-10
Gelatina	7,0	-	-	G-ctl*
	7,0	1,0	-	G-C-ctl**
	7,0	1,0	1,0	G-C-BC-1
	7,0	1,0	5,0	G-C-BC-5
	7,0	1,0	10,0	G-C-BC-10

(*) Tratamentos controle polimérico, sem incorporação de HSACO e BCN; (**) Tratamento controle, apenas com HSACO, sem BCN.

2.2.4 Caracterização dos filmes

As morfologias dos filmes flexíveis foram analisadas através de microscópio eletrônico de varredura Inspect (modelo S50) acoplado ao software básico de controle do microscópio (FEI®). As amostras foram colocadas sobre *stubs* de alumínio, utilizando fita adesiva dupla-face de carbono. Em seguida, revestidas com uma camada de 20 nm de prata, com uma a voltagem de aceleração de 20 kV.

Os espectros de infravermelho (IR) foram obtidos por espectroscopia com transformada de Fourier (FT-IR) através do equipamento espectrofotômetro PerkinElmer (Spectrum Two LiTa, Liantrisant, UK), através do modo de Reflectância Total Atenuada (ATR). Varredura de 4.000 a 500 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} em 32 scans.

A difração de raios X (DRX) foi realizada em difratômetro Panalytical X-Pert PRO

MPD (Malvern), com radiação Co-K α ($\lambda= 1,78896 \text{ \AA}$), operando com tensão de 40 kV e 40 mA. Taxa de varredura de 5 °/min e passo de 0,013 s⁻¹. As amostras foram avaliadas com 2 θ variando entre 3° e 35°. O índice cristalino (X_c) foi calculado usando o software DIFFRACT.EVA (Bruker), segundo a Eq. 1 (Lopes et al., 2025; van Soest et al., 1996):

$$X_c = \frac{A_c}{A_T} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde, A_c corresponde a área dos picos cristalinos e A_T , a soma da área total, i.e, área do halo amorfo com a área do pico cristalino, deconvoluída da curva de DRX.

A espessuras dos filmes foram determinadas com micrômetro digital, com resolução 0,001mm (modelo Digimatic Micrometer, Mitutoyo). Foram realizadas dez leituras de forma aleatória sobre a área do filme, em quintuplicata.

A propriedade de barreira ao vapor de água foi analisada de acordo com a ASTM E96/E96M-16 (ASTM, 2016). O método propõe o estudo da permeabilidade ao vapor de água (WVP) (Eq. 2) e taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) (Braga et al., 2021). As análises foram realizadas à temperatura controlada de $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ em quintuplicata. As células de permeação (área analítica: $\varnothing 24 \text{ mm}$ e 10 mm altura) foram preparadas com 2,0 mL de água destilada (correspondendo à condição com 100% RH). Segundo a ASTM, foi utilizado o método dissecante, onde no Dry-Box dissecador vertical (Nalgon, SP, BRA), foi utilizada sílica gel para controle da umidade (30% RH). As amostras foram deixadas por 1 h no dessecador, para fins de equilíbrio de sorção e difusão do permeante, segundo a 1ª lei de Fick e Lei de Henry. Foram realizadas leituras durante o período de 24 h, totalizando oito leituras.

$$WVP = \frac{g \times e}{A \times t \times \Delta P} \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo WVP (g.mm/kPa.h.m²) a permeabilidade; g, o ganho de massa (g); e, a espessura média (mm); A, a área de permeação (m²); t, o tempo total (h); ΔP , a diferença de pressão de vapor ambiente (kPa, 25 °C); e g/t calculado pela regressão linear do ganho de peso em relação à curva de tempo (regime permanente). O WVTR (g/h.m²) corresponde à relação $\frac{g}{A \times t}$. Foram realizadas cinco repetições para cada amostra.

Os perfis de tração, deformação e alongação dos filmes foram determinados segundo método ASTM D882-12 (I. ASTM, 2012). Os filmes foram preparados com dimensões de 100 mm x 10 mm, mínimo de dez amostras por tratamento. As análises foram conduzidas em

máquina de ensaio universal (EMIC DL-3000, Instron, MA, US), utilizando célula de carga de 100 N, com abertura inicial de 80 mm e velocidade transversal de 12.5 mm/min. A resistência à tração (σ_s), o alongamento na ruptura (ε_f), o módulo de Young (E) e o módulo de tenacidade (U_t) foram calculados de acordo com as equações 3-6, respectivamente.

$$\sigma_s = \frac{F_{max}}{A} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\varepsilon_f = \left(\frac{L_i - L_0}{L_0} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

$$E = \text{valor do coeficiente de inclinação da curva } \sigma \times \varepsilon \quad (\text{Equação 5})$$

$$U_t = \text{área sob a curva } \sigma \times \varepsilon \quad (\text{Equação 6})$$

Onde F_{max} é a força máxima (N); A é a área inicial da amostra (mm^2); L_0 e L_i correspondem à deformação inicial e final (mm), respectivamente. E , o Módulo de Young (MPa) determinado através do coeficiente de inclinação da curva tensão-deformação, com valor mínimo de $R > 0,98$; U_t foi determinado a partir da área da curva $\sigma \times \varepsilon$ (J/m^3) (Dolores et al., 2014).

O perfil óptico dos filmes foram estudados conforme proposto por Haghghi et al. (2019) e Gusman-Puyol et al. (Guzman-Puyol et al., 2022), para transparência e opacidade dos materiais. A análise foi realizada em espectrofotômetro UV-vis (model Varian Cary 50 UV-vis, Agilent Technologies, CA, USA). Os filmes foram dimensionados com 1 cm x 5 cm, colocados de forma perpendicular em cubetas de vidro para serem incididos pelo feixe de luz. A transparência foi determinada com base na transmitância a 600 nm (Eq. 7) (Guzman-Puyol et al., 2022) e a opacidade de acordo com a absorbância a 500 nm (Eq. 9) (Gulati et al., 2023).

$$\text{Transparency} = \frac{-(\log \%T_{600})}{b} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde $\%T_{600}$ representa a transmitância percentual em um comprimento de onda de 600 nm e b , a espessura do filme em milímetros (mm).

$$\text{Abs}_{500} = -\log \frac{1}{T} \quad (\text{Equação 8})$$

$$Opacidade = Abs_{500} \times b \quad (\text{Equação 9})$$

Onde T é o valor de transmitância a 500 nm, Abs₅₀₀ é a absorvância obtida a 500 nm e b é a espessura do filme (mm).

A propriedade de barreira à radiação ultravioleta (blindagem-UV) foi determinada através de metodologia proposta por Lyu et al. (Lyu et al., 2020). Foram analisadas as radiações nas regiões de 200 a 400 nm, sendo S_{UV-C}, S_{UV-B} e S_{UV-A} integrais de transmitância das regiões UV-C (200-280 nm), UV-B (280-320 nm) e UV-A (320-400 nm), respectivamente. Os resultados obtidos foram analisados nas equações Eq. 10-12 (Lyu et al., 2020):

$$S_{UVA} = 1 - T_{UV-A} = 1 - \frac{\sum_{320}^{400} T_{\lambda} \times \Delta\lambda}{\sum_{320}^{400} \Delta\lambda} \times 100\% \quad (\text{Equação 10})$$

$$S_{UVB} = 1 - T_{UV-B} = 1 - \frac{\sum_{280}^{320} T_{\lambda} \times \Delta\lambda}{\sum_{280}^{320} \Delta\lambda} \times 100\% \quad (\text{Equação 11})$$

$$S_{UVC} = 1 - T_{UV-C} = 1 - \frac{\sum_{200}^{280} T_{\lambda} \times \Delta\lambda}{\sum_{200}^{280} \Delta\lambda} \times 100\% \quad (\text{Equação 12})$$

Onde, T_{UV-A}, T_{UV-B} e T_{UV-C} são a transmitância média (%) em regiões UV específicas, λ e $\Delta\lambda$, comprimento de onda e dispersão de comprimento de onda, respectivamente, e T λ é a transmitância espectral.

A análise da cor dos filmes foi realizada de acordo com Zhang & Han (2006) no sistema CIE-L* a* b* utilizando um colorímetro digital modelo CR-400 (Konica MINOLTA, Osaka, Japão). O colorímetro foi calibrado usando um padrão branco (L* = 95,61, a* = -0,16 e b* = 2,38), onde L* indica brilho, a* representa a coordenada cromática em verde (-a*) a vermelho (+a*) e b* é a coordenada cromática em azul (-b*) a amarelo (+b*). Além disso, foi determinada a diferença total de cor (ΔE) de grau absoluto (ΔE_{ABS}) e relativo (ΔE_{REL}). Todos os valores foram adquiridos em triplicata, de acordo com a Eq. 13:

$$\Delta E_{ABS} \text{ ou } \Delta E_{REL} = [(L^* - L_i^*)^2 + (a^* - a_i^*)^2 + (b^* - b_i^*)^2]^{0.5} \quad (\text{Equação 13})$$

Para a determinação ΔE_{ABS} , foi utilizado os parâmetros colorimétricos do branco da padronização. Já para o ΔE_{REL} , os valores de L*, a* e b* foram das amostras controles, sem HSACO e BCN, i.e, G-ctl e P-ctl.

2.3 Análise estatística

O estudo estatístico da pesquisa foi realizado através do software Statistica v.12 (StatSoft, Inc., US, 2011) e software Origin® v. 95E (2018) para elaboração gráfica. Foi aplicada a ANOVA unidirecional para fins de determinação de análises post-hoc de diferenças significativas entre os tratamentos honesto de Tukey. Além disso, o teste de análise de variância unidirecional (HSD), para fins de comparativos dos grupos e nível de significância estabelecido de 5% ($p < 0,05$). Logo, foi possível comparar médias de múltiplos grupos e o teste de Tukey, sendo relevante devido à alta rigorosidade na manutenção da probabilidade de erro Tipo I em comparações pareadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Propriedade morfológica

A morfologia dos filmes flexíveis de PVA e gelatina (GEL), foram estudadas na sua transversalidade por microscopia eletrônica de varredura (Figura 1). Os filmes de PVA e GEL se mostraram distintos, com presença de irregularidades, microdefeitos, rachaduras e zonas de permeação. Além disso, a presença de irregularidades na zona fraturada dos filmes, pode ter sido ocasionada pela ruptura mecânica no nitrogênio líquido. Além de não ser possível observar as BCN e as nanopartículas de HSACO, devido à sobreposição da matriz e limitação da técnica (Material suplementar n.1).

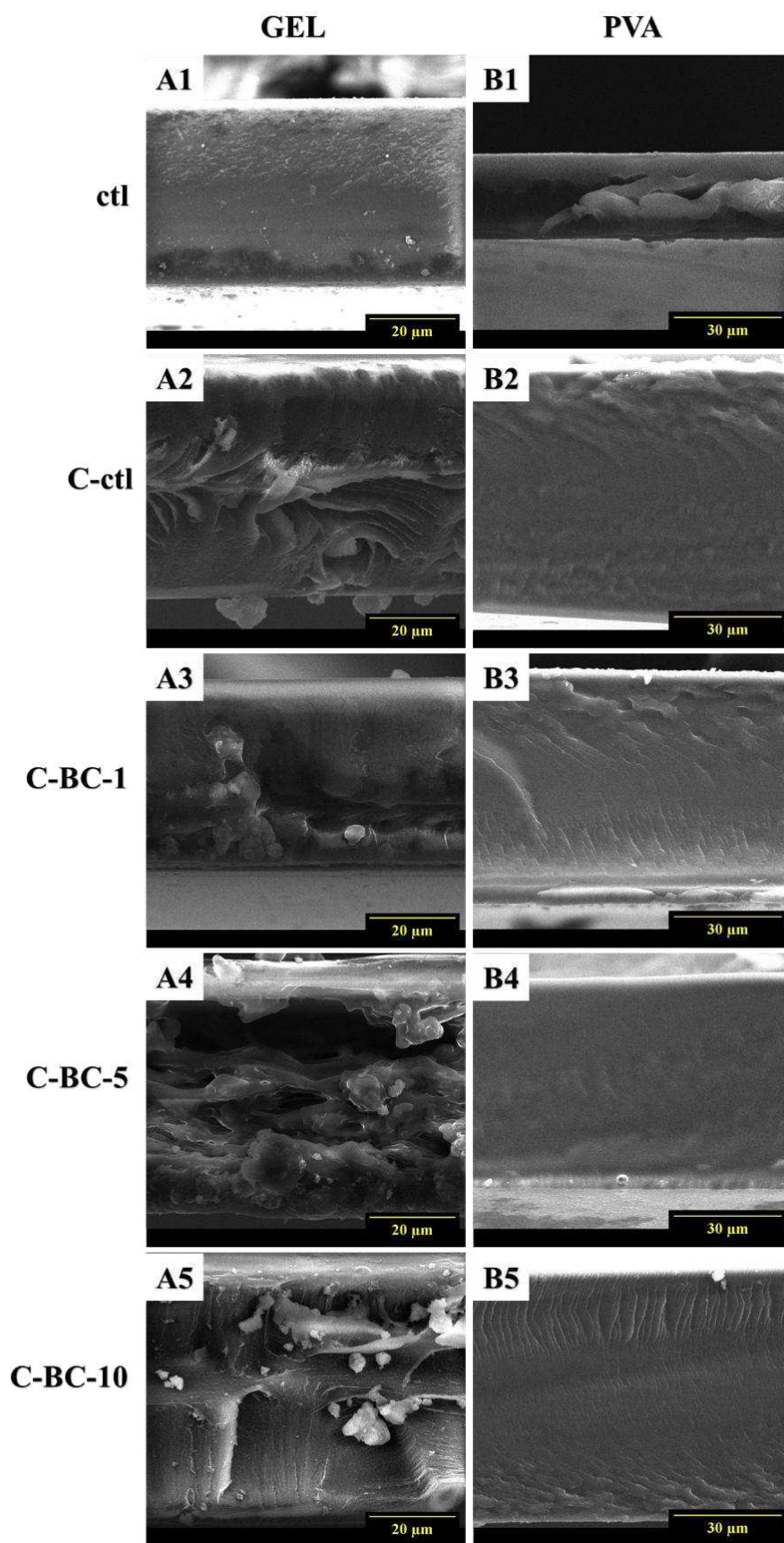


Figura 1. Micrografia dos filmes flexíveis com HSACO e diferentes concentrações de BCN em matriz polimérica de gelatina (coluna da esquerda) e PVA (coluna da direita).

A incorporação de HSACO nas matrizes dos filmes trouxe irregularidades visíveis na região de corte, com aspecto mais “irregular” em relação aos controles (Figura 1 A1-B1). Isso indica a incompatibilidade do nanocompósito com a matriz, principalmente GEL. Em contrapartida, nos filmes de PVA apresenta interações favoráveis dos bionanocompósitos com a matriz polimérica. Contudo, na matriz de gelatina, é possível observar a formação de aglomerados, vacúolos e irregularidades na matriz. Tal comportamento pode estar associado à interações intramoleculares das BCN dos grupamentos hidroxilas (-OH) e forças de ordem eletrostática fracas (Qian et al., 2023). Logo, podendo promover alterações em propriedades de barreiras, como óptica e vapor de água.

Rao et al. (Rao et al., 2021) observaram em seus estudos com carboximetilxilano/quitosana com 1% (p/p) de óxido de grafeno (GO), a formação de espaços em branco na matriz polimérica, resultando em aumentos de permeações. O contrário é apresentado pela literatura, onde a distribuição homogênea de GO pode melhorar a capacidade de transmissão dos materiais de embalagem (Rao et al., 2021; X.-J. Shen et al., 2019).

3.2 Propriedades químicas e estruturais

A Figura 2 mostra o comportamento das bandas nos espectrogramas IR dos filmes flexíveis, quando aplicados materiais compósitos como óxido de carbono amorfo hidratado (HSACO) e nanofibras de celulose bacteriana (BCN). É possível observar pequenas alterações nas bandas existentes e o surgimento de novas bandas, principalmente nas regiões de baixa energia, indicando interações intra e intermoleculares. Além disso, é possível observar redução leve da intensidade conforme aumenta a concentração de BCN (espectro IV no material suplementar).

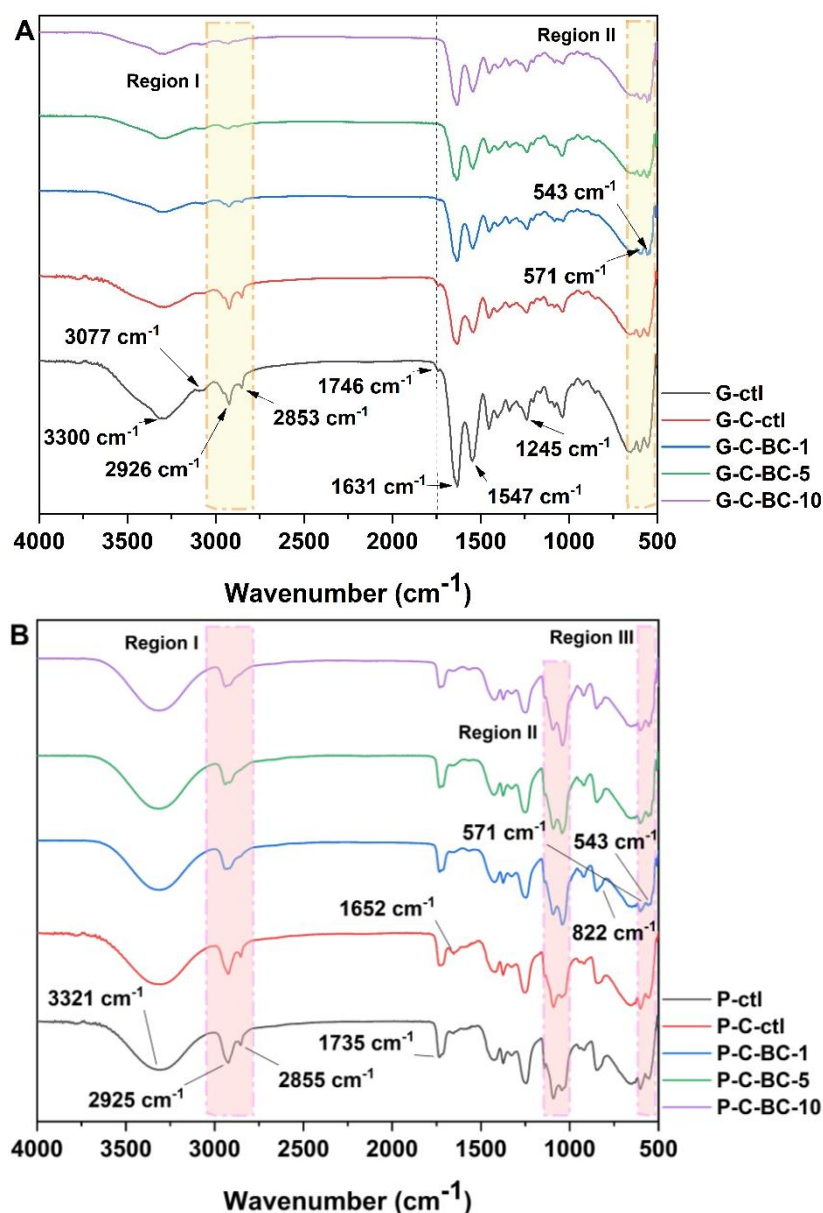


Figura 2. Espectros no IR dos filmes flexíveis de gelatina – G (A) e poli(álcool vinílico) – PVA (B) com HSACO e diferentes concentrações de BNC.

Na Figura 2 não é possível observar bandas características do óxido de carbono amorfo hidratado (HSACO) e nanofibras de celulose bacteriana (BCN) devido a quantidade utilizada e o tamanho da matriz polimérica se sobrepondo. As bandas características dos filmes de gelatina (Figura 2A): 3300 cm⁻¹, corresponde à região do grupo Amida A, atribuída ao alongamento livre do grupamento $\nu(\text{N-H})$, acoplado à ligação H, com grupo $\nu(\text{O-H})$ (Ashrafi et al., 2023); 3077 cm⁻¹, ligações de amida (Mutlu, 2023); 2926 cm⁻¹ e 2853 cm⁻¹, região I, são atribuídas à banda Amida B, correspondendo ao estiramento antissimétrico e simétrico de $\nu_{\text{as}}(\text{CH})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{CH})$ (alifática) (Ashrafi et al., 2023; Halim et al., 2018; Muyonga et al., 2004); 1746 cm⁻¹,

estiramento da carbonila, ligação $\nu(\text{C}=\text{O})$, da Amida I é considerada sensível à mudanças conformacionais da proteína, podendo ser utilizada como indicador de interações com polímeros ou nanopreenchedores (Castro et al., 2022; Kong & Yu, 2007), visível apenas em G-ctl e G-C-ctl. Já em 1631 cm^{-1} , 1547 cm^{-1} e 1245 cm^{-1} , correspondem as regiões identificadas Amida I, Amida II e Amida III, respectivamente (Ashrafi et al., 2023; Kong & Yu, 2007). Na qual a Amida II corresponde às vibrações de flexão N–H e estiramento C–N, complementando às análises de ligações de hidrogênio inter e intramolecular (Kong & Yu, 2007).

O desaparecimento da banda 1746 cm^{-1} e o surgimento de bandas de baixa energia (571 e 543 cm^{-1}) nos tratamentos com BCN pode ter sido ocasionado pelas interações com HSACO. Tais comportamento estão associados à variações sutis atribuídas à interações H com grupos oxigenados (Luo et al., 2019). Segundo a literatura, as interações entre celulose bacteriana e óxido de grafeno (GO) pode ocorrer através de redes de ligações de hidrogênio (grupo –OH reativo) com grupos contendo oxigênio do GO (Luo et al., 2019; Urbina et al., 2020; Zhu et al., 2015). Estudos obtiveram o mesmo comportamento de interação entre os compósitos (BC e GO) em regiões próximas à 1730 cm^{-1} (Urbina et al., 2020).

Modificações sutis na intensidade podem indicar alterações na conformação secundária da gelatina (Doyle et al., 1975). Assim como, os modos vibracionais da Amida II, considerada a mais sensível à modificações com água, a variação de intensidade e localização podem indicar mudanças na estrutura secundária da gelatina (Benjakul et al., 2009). Na região I (Figura 2A) é possível observar a constância do perfil da matriz de gelatina nos diferentes filmes flexíveis, mas com pequenas reduções na intensidade, quando aumenta a concentração de BCN.

Para os filmes flexíveis de PVA, Figura 2B, as bandas características em 3321 cm^{-1} , vibração de estiramento das ligações de hidroxila $\nu(-\text{OH})$ inter e intramolecular (Farak & Abdel-Fattah, 2023; Rajesha Shetty & Lakshmeesha Rao, 2022; J. Zhang et al., 2022); 2925 cm^{-1} e 2855 cm^{-1} , vibração de estiramento assimétrico e simétrico dos grupos $\nu_{\text{as}}(-\text{CH}_2-)$ e $\nu_{\text{s}}(-\text{CH}_2-)$ e $\nu(-\text{CH})$, respectivamente (Annu et al., 2021); 1735 cm^{-1} , associado a vibração de estiramento $\nu(\text{C}=\text{O})$ na estrutura do PVA, devido a grupos acetado de vinila remanescentes do polímero, parcialmente, hidrolisado (de Souza Costa-Júnior et al., 2009; Haghghi et al., 2020; J. Zhang et al., 2022). Já em 1652 cm^{-1} é observada em P-C-ctl e fica mais evidente com a incorporação de BCN, a qual é atribuída à combinação de COO^- (forma não protonado do carboxilado) e grupos $-\text{C}=\text{C}-$ presentes no GO com BCN (Assaad & Mateescu, 2010; Urbina et al., 2020); 822 cm^{-1} , corresponde ao estiramento $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ com ligação β 1-4 no carbono anomérico, característico de celulose bacterina (Ramírez Tapias et al., 2022; Thorat & Dastager, 2018). Segundo Choo et al. (2016), a intensidade da banda 1735 cm^{-1} está associado como

indicador indireto da semicristalinidade da matriz polimérica de PVA. Logo, as variações observadas nessa região sugerem que a incorporação de BCN e HSACO podem ter colaborado com o empacotamento das cadeias poliméricas, promovendo ajustes na organização semicristalina do PVA.

A região I (Figura 2B) mostra modificações no *doblete* das bandas 2925 cm^{-1} e 2855 cm^{-1} , $\nu_{\text{as}}(-\text{CH}_2-)$ / $(-\text{CH}_2-)$, com a incorporação de BCN. Neste caso, essas mudanças podem estar associadas a reorganização conformacional das cadeias polimérica com BCN (Haghighi et al., 2020; Liu et al., 2018). A região II, 1097 cm^{-1} e 1040 cm^{-1} , apresenta inversão relativa as intensidades à medida que a concentração de BCN aumenta. Isto ocorre devido a maior presença de ligações $\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$ e $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ de 1,4- β -glicosídeo, características da BC semicristalina, logo, ocorreu modificação nas vibrações simétricas e assimétricas (Kačuráková et al., 2002; Thorat & Dastager, 2018; S.-S. Wang et al., 2018). Já na região III (Figura 1B), consideradas de baixa frequência, surgem duas novas bandas, 571 cm^{-1} e 543 cm^{-1} , nos tratamentos com BCN. As bandas podem corresponder à vibrações de flexão do grupo metil $\delta(\text{CH})$, característicos de grupos funcionais do GO, respectivamente (Moggio et al., 2023). Essas bandas podem estar associadas a deformações angulares fora do plano, ligações de H ou forças intermoleculares proporcionadas pela interação dos compósitos HSACO e BCN.

A Figura 3 mostra os padrões de difração de raios X dos filmes flexíveis. Neste caso, são observadas variações quanto ao grau de cristalinidade dos materiais com a incorporação dos diferentes compósitos (HSACO e BCN).

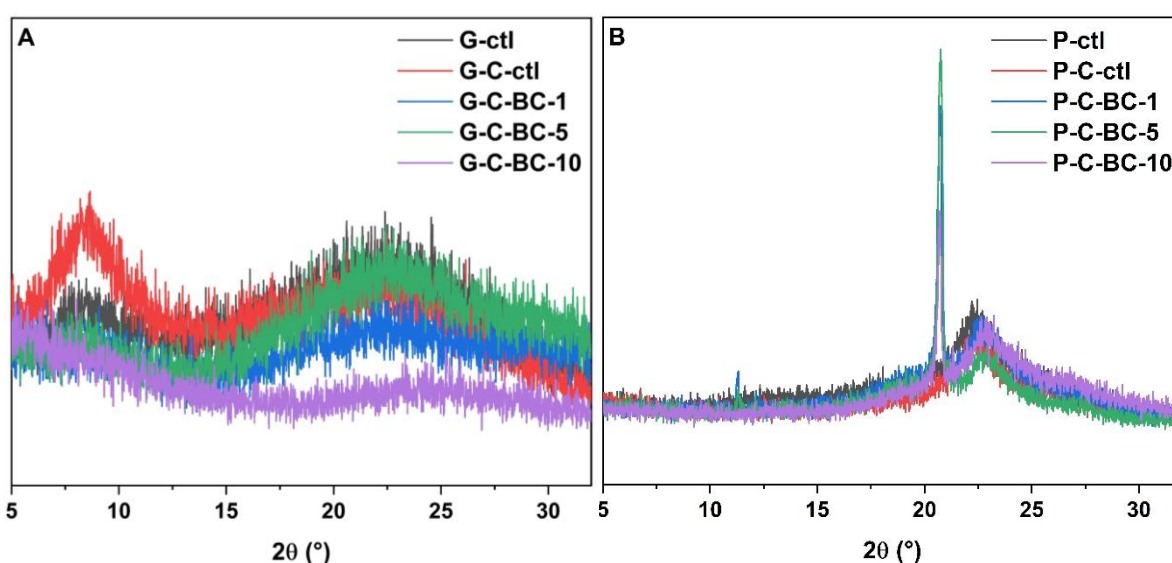


Figura 3. Difratogramas de raios X dos filmes em matriz polimérica de gelatina (A) e PVA (B) com bionanocompósitos com HSACO e diferentes concentrações de BCN.

Os difratogramas raios X revelam comportamentos distintos quanto ao grau de cristalinidade dos filmes (Figura 3A-B). A celulose bacteriana obtida do jenipapo, apresenta um conjunto de picos evidentes de difração em valores de 2θ de $16,4^\circ$ e $26,3^\circ$, os quais evidenciam que o material apresenta celulose cristalina (material suplementar n.3). A Tabela 2 mostra a distribuição do grau de cristalinidade e quantificação da região amorfa dos filmes.

Tabela 2. Grau de cristalinidade (%) e grau de amorfização (%) dos filmes bionanocompósitos de HSACO com diferentes concentrações de BCN.

Amostras	% cristalinidade	% amorfo
BCN	75,2	24,8
G-ctl	23,4	76,6
G-C-ctl	31,0	69,0
G-C-BC-1	33,4	66,6
G-C-BC-5	22,3	77,7
G-C-BC-10	58,9	41,1
P-ctl	30,5	69,5
P-C-ctl	34,8	65,2
P-C-BC-1	37,4	62,6
P-C-BC-5	42,6	57,4
P-C-BC-10	39,1	60,9

A Tabela 2 apresenta um aumento do grau de cristalinidade nos filmes com compósitos HSACO e BCN. Contudo, o comportamento é distinto à matriz polimérica aplicada. Nos filmes de gelatina, a incorporação de HSACO promoveu uma leve reorganização molecular observado no aumento da cristalinidade do material. Tal comportamento ocasionou modificações sutis na matriz de gelatina com HSACO, no que se refere as modificações na conformação estrutural secundária dela, conforme analisado no espectro do IV (Figura 2). Esse comportamento pode ter sido ocasionado pelas interações do HSACO com BCN, conforme observado na Figura 2. A literatura relata que as interações entre celulose bacteriana e OG ocorrem através das redes reativas de ligações de hidrogênio com grupos contendo oxigênio (Luo et al., 2019; Urbina et al., 2020; Zhu et al., 2015). A incorporação de 10% de BCN à formulação, promoveu um aumento expressivo da cristalinidade (58,9%). Tal organização estrutural está associada à concentração de BCN utilizada, com alto grau de cristalinidade, associada a não dispersão das nanofibras na matriz de forma homogênea. O que não é observado no tratamento G-C-BC-5.

Nos filmes de PVA, apresentam uma leve influência do HSACO. O PVA tem uma

organização estrutural semicristalina, caracterizado no pico entre 19-20° (Choo et al., 2016). Outras pesquisas identificaram picos em regiões próximas (French, 2014; Nishiyama et al., 2003). Com a incorporação de BCN, surge o pico em 20,7°. A incorporação de BCN à matriz com HSACO, por ter ocasionado reorganizações conformacionais das cadeias da matriz (Haghighi et al., 2020; Liu et al., 2018). A Figura 2 mostra esse comportamento ao identificar na região II, 1097 cm^{-1} e 1040 cm^{-1} , a inversão relativa das intensidades à medida que a concentração de BCN aumenta. Além disso, podem estar associadas a deformações angulares fora do plano, ligações de H ou forças intermoleculares proporcionadas pela interação dos compósitos HSACO e BCN. Li et al. (2025) observaram em seus estudos com celulose bacteriana, PVA e TiO_2 na formação de embalagens ativas, o aumento da cristalinidade do material. Os autores sugerem que a incorporação de BC à matriz, promove um melhor alinhamento e empacotamento das cadeias de PVA.

A literatura mostra que fatores intrínsecos extrínsecos dos materiais podem influenciar na difração dos raios X (Venkatram et al., 2023). Venkatram et al. (2023) discutem que o perfil cristalográfico dos materiais, no caso das embalagens, pode sofrer influências com os (i) fatores intrínsecos (dispersividade do material e peso molecular); (ii) natureza química (presença de cadeias laterais e sua densidade, perfil linear vs. ramificação, comprimento das cadeias); e, (iii) fatores extrínsecos (formato do produto final: filmes, fibras etc.). Neste caso, é importante observar que a depender da interpretação da análise, é necessário considerar qualidade cristalina do que grau de cristalinidade (Venkatram et al., 2023). O tamanho dos materiais dispersos e sua heterogeneidade, pode promover espalhamento/difração de determinação do grau de cristalinidade em cristalitos grandes e ordenados, os quais difratarão de forma diversificada (X. Shen et al., 2016; Venkatram et al., 2023).

3.2 Propriedade óptica

A Tabela 3 mostra a transmitância óptica (OT) e a blindagem à radiação UV nas regiões de 200 a 400 nm dos filmes de gelatina e PVA com HSACO e BCN. Todos os filmes apresentaram excelentes propriedades de blindagem UV nas regiões UV-B e UV-C, sendo superiores à 90%, através da integração das transmitâncias nas regiões UV.

Tabela 3. Transmissão óptica (OT) (%) e barreira à radiação UV (%) dos filmes bionanocompósitos de HSACO com diferentes concentrações de BCN.

Amostras	Transmitância (%)			Blindagem UV (%)		
	UV-C*	UV-B**	UV-A***	UV-C	UV-B	UV-A
G-ctl	0,03 ± 0,01 ^a	6,6 ± 0,1 ^a	65,2 ± 0,6 ^b	99,97 ± 0,01 ^a	93,4 ± 0,1 ^b	34,8 ± 0,6 ^b
G-C-ctl	0,03 ± 0,01 ^a	5,7 ± 0,3 ^b	61,1 ± 0,8 ^a	99,97 ± 0,01 ^a	94,3 ± 0,3 ^a	38,9 ± 0,8 ^a
G-C-BC-1	0,03 ± 0,01 ^a	8,3 ± 0,4 ^c	69,8 ± 1,8 ^c	99,97 ± 0,01 ^a	91,7 ± 0,4 ^c	30,2 ± 1,8 ^c
G-C-BC-5	0,03 ± 0,01 ^a	7,9 ± 0,3 ^c	68,1 ± 1,2 ^{bc}	99,97 ± 0,01 ^a	92,1 ± 0,3 ^c	31,9 ± 1,2 ^{bc}
G-C-BC-10	0,03 ± 0,01 ^a	8,3 ± 0,1 ^c	69,9 ± 1,0 ^c	99,97 ± 0,01 ^a	91,7 ± 0,1 ^c	30,1 ± 1,0 ^c
P-ctl	0,03 ± 0,01 ^A	8,7 ± 0,1 ^A	73,4 ± 0,9 ^A	99,97 ± 0,01 ^A	91,3 ± 0,1 ^A	26,6 ± 0,9 ^A
P-C-ctl	0,03 ± 0,01 ^A	8,6 ± 0,1 ^A	73,2 ± 0,8 ^A	99,97 ± 0,01 ^A	91,3 ± 0,1 ^A	26,8 ± 0,8 ^A
P-C-BC-1	0,03 ± 0,01 ^A	9,5 ± 0,0 ^B	74,5 ± 0,2 ^A	99,97 ± 0,01 ^A	90,5 ± 0,0 ^B	25,5 ± 0,2 ^A
P-C-BC-5	0,03 ± 0,01 ^A	9,6 ± 0,2 ^B	75,3 ± 1,2 ^A	99,97 ± 0,01 ^A	90,4 ± 0,2 ^B	24,7 ± 1,2 ^A
P-C-BC-10	0,03 ± 0,01 ^A	9,5 ± 0,1 ^B	74,1 ± 1,0 ^A	99,97 ± 0,01 ^A	90,5 ± 0,1 ^B	25,9 ± 1,0 ^A

(*) Região UV-C: 200 – 280 nm; (**) Região UV-B: 280 – 315 nm; (***) Região UV-A: 315 – 400 nm. Valores expressos como média ± desvio padrão. Para cada propriedade analisada, médias seguidas pela mesma letra **minúscula** na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$; teste de Tukey) dentro da matriz biopolimérica de gelatina, enquanto médias seguidas pela mesma letra **maiúscula** não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$; teste de Tukey) dentro da matriz polimérica sintética de PVA.

Tabela 3 apresenta variações significativas na OT e blindagem UV ($P < 0,05$) nas regiões de UV-B e UV-A, i.e., redução OT e aumento na blindagem UV com incorporação de HSACO na matriz proteica. No entanto, em PVA não foram observadas diferenças estatísticas ($P > 0,05$). O aumento da blindagem-UV na matriz proteica pode ter sido ocasionada pelas partículas da HSACO, as quais interromperam a passagem das radiações UV (Arfat et al., 2018). Nesse caso, ocorre uma interação matriz:HSACO, entre os grupos amina (NH_2) com os íons oxigênio dos grupos funcionais presentes na HSACO. Essas interações foram anteriormente apresentadas na Figura 1. Comportamento similar fora observado por Kamanina et al. (2024), ao estudarem o impacto de nanopartículas de grafeno em matriz de PVA. Os autores observaram que os materiais carbonáceos de óxido de grafeno otimizaram as características espectrais e transmitância da matriz PVA. Dogan et al. (2022) obtiveram comportamento similar, com redução da OT, ao incorporar óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido (rGO) em matriz de PVA. Logo, os autores observaram redução na transparência e alteração na coloração (marrom-escuro) dos filmes.

Com a incorporação de BCN nas matrizes, GEL e PVA, em relação aos tratamentos controle (com e sem HSACO), houve alterações significativas na estatística ($P < 0,05$) com redução da blindagem-UV nas regiões UV-B (280-315 nm) (Tabela 3). Além disso, apenas na matriz proteica, ocorreu aumento nos valores de OT e, conseqüentemente, redução da blindagem-UV na região UV-A (315-400 nm), considerada a menos energética. Em contrapartida, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos valores de OT e blindagem-UV, na região do UV-C nas matrizes, sendo abaixo de 0,03% e acima de 99,9%, respectivamente. Entre os tratamentos com diferentes concentrações de BCN, não diferiram estatisticamente entre si ($P > 0,05$). O aumento da OT na região UV-B dos filmes pode estar relacionada à formação de vacúolos, favorecendo a permeação da luz UV (Miranda et al., 2025). A literatura propõe interações intra/intermoleculares das fibrilas de celulose, favorecendo dobramentos estruturais, além de ligações de hidrogênio originando regiões organizadas (Abral et al., 2020; Miranda et al., 2025). Tais interações da celulose:matriz polimérica através de grupos hidrofílicos promovem maior compatibilidade entre os materiais, resultando em um aumento do nível de transparência (Miranda et al., 2025), como mostra a Tabela 4.

Tabela 4. Transparência e opacidade dos filmes bionanocompósitos de HSACO com diferentes concentrações de BCN.

Amostras	%T₆₀₀¹	Transparência* (%T.mm⁻¹)	Abs₅₀₀²	Opacidade* (Abs.mm)
G-ctl	87,45	34,1 ± 1,2 ^c	0,069	0,004 ± 0,000 ^a
G-C-ctl	87,45	33,7 ± 0,9 ^c	0,069	0,004 ± 0,000 ^a
G-C-BC-1	87,68	53,5 ± 2,3 ^b	0,051	0,002 ± 0,001 ^b
G-C-BC-5	87,28	51,1 ± 1,2 ^b	0,067	0,003 ± 0,000 ^b
G-C-BC-10	87,17	58,2 ± 1,1 ^a	0,067	0,003 ± 0,000 ^b
P-ctl	87,68	50,3 ± 2,7 ^A	0,062	0,002 ± 0,000 ^A
P-C-ctl	88,02	77,9 ± 3,2 ^{BC}	0,062	0,001 ± 0,000 ^{BC}
P-C-BC-1	88,48	84,7 ± 3,6 ^B	0,058	0,001 ± 0,000 ^C
P-C-BC-5	89,23	71,5 ± 3,8 ^{CD}	0,055	0,001 ± 0,000 ^{BC}
P-C-BC-10	87,79	67,1 ± 2,2 ^D	0,062	0,002 ± 0,000 ^B

(¹) %T₆₀₀ corresponde a porcentagem da transmitância em 600 nm; (²) Abs₅₀₀, absorvância em 500 nm; (*) Valores ajustados em relação à espessura dos filmes. Valores expressos como média ± desvio padrão. Para cada propriedade analisada, médias seguidas pela mesma letra **minúscula** na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p <0,05; teste de Tukey) dentro da matriz biopolimérica de gelatina, enquanto médias seguidas pela mesma letra **maiúscula** não diferem estatisticamente entre si (p <0,05; teste de Tukey) dentro da matriz polimérica sintética de PVA.

A Tabela 4 mostra que a incorporação de BCN promoveu o aumento na transparência dos filmes flexíveis, com níveis de transmissão de luz superiores à 51% (gelatina) e 67% (PVA), em relação aos tratamentos controle, G-ctl e P-ctl, respectivamente. A variação está sendo influenciada diretamente pela espessura do material, quanto mais os filmes forem finos, mais aparentam ser transparentes. Estudos anteriores relatam a influência da espessura no grau de transparência óptica de filmes (Guzman-Puyol et al., 2022). Além disso, há uma interação entre matriz polimérica e compósitos, inter e intramolecular, como mostrado nos espectros IR, como mostra a Figura 2.

Nos filmes de gelatina, a incorporação de HSACO não comprometeu a transparência/opacidade do material. Tal comportamento pode estar associado a não interação entre matriz:compósito, assim como uma dispersão heterogênea do compósito na matriz, com formação de aglomerados não dispersos (Figura 1). A Figura 4 mostra o nível de transparência dos filmes flexíveis de forma qualitativa.

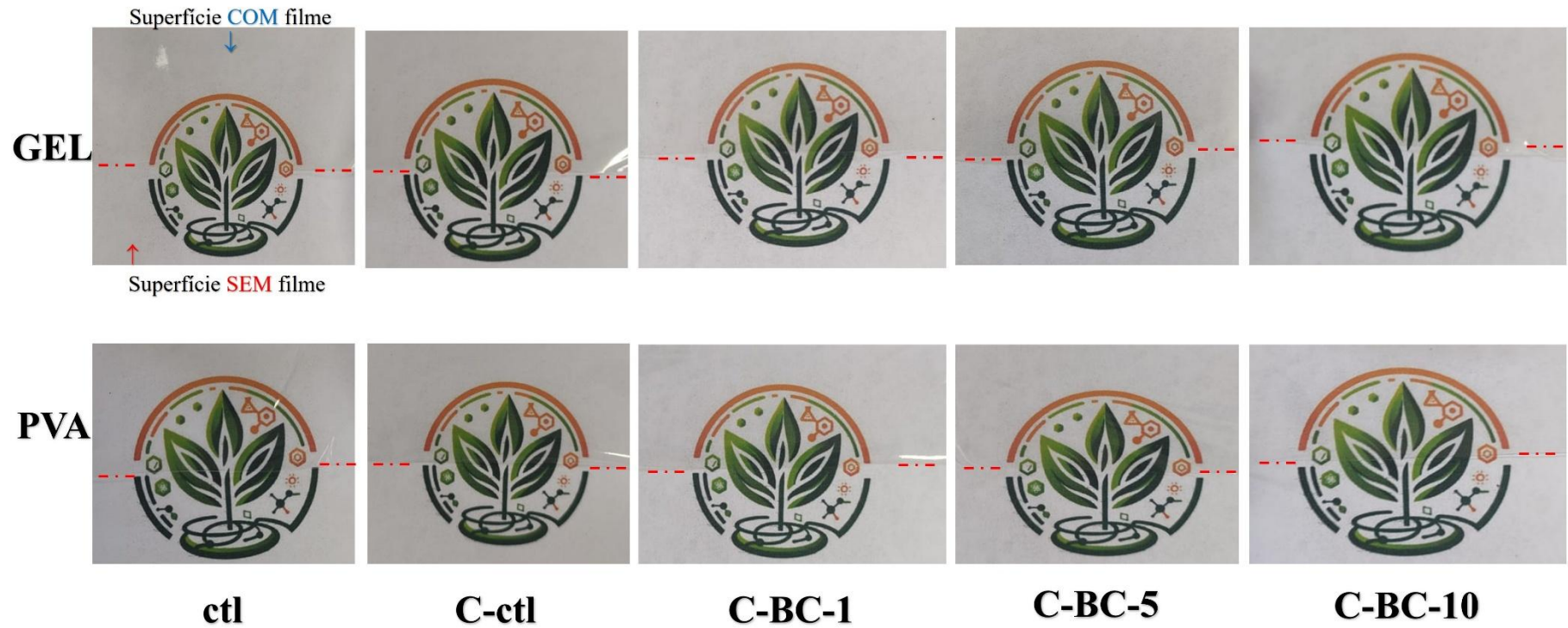


Figura 4. Perfil de transparência e opacidade os filmes flexíveis de gelatina (GEL) e poli(álcool vinílico) (PVA) com HSACO e diferentes concentrações de BCN.

Com a incorporação de BCN (Tabela 3) ocorreu um aumento significativo ($P < 0,05$) da transparência, principalmente em G-C-BC-10. A incorporação de grupos hidroxilas da celulose bacteriana, promoveu o aumento das ligações de hidrogênio entre matriz:compósitos. Neste caso, pode ter ocorrido uma reorganização das nanofibras, como discutido na Figura 2 e Tabela 2, com o aumento do grau de cristalinidade do material. No entanto, não há evidências concretas quanto ao alinhamento das fibrilas. A literatura relata de interações interno-fibrilares dos sistemas de materiais de nanofibras naturais (Ren et al., 2019). Assim, ocorre uma distribuição heterogênea dos materiais compósitos, criando zonas ou vacúolos favoráveis à transmissão de luz, como discutido na Figura 1.

Já nos filmes com matriz PVA (Tabela 4), houve um aumento de 75% no nível de transparência dos filmes com a incorporação materiais compósitos de óxido de carbono amorfo (P-C-ctl), em relação a P-ctl. O aumento sugere uma boa dispersão e interação do óxido de carbono amorfo com a matriz (Goh et al., 2016). Goh et al. (2016) relatam em seus estudos com PLA-GO e PLA-rGO, que a transparência dos filmes compostos pode potencialmente limitar a aplicação como filmes para embalagem de alimentos. Os autores observaram maior translucidez em PLA-GO, enquanto PLA-rGO foram mais opacos.

Ao incorporar BCN (Tabela 3), houve manutenção do nível de transparência dos filmes. Contudo, um aumento significativo ($P < 0,05$), principalmente em P-C-BC-1. Contudo, P-C-BC-10, houve uma redução na transparência, mesmo alta concentração de BCN. Neste caso, é possível que tenha ocorrido um envelhecimento/dobramento de fibrilas, favorecendo o espalhamento da luz, reduzindo o nível de transparência do material (Miranda et al., 2025). Miranda et al. (2025), estudaram blendas ternárias (poli(álcool vinílico)/poli(etilenoglicol)/polivinilpirrolidona) com BCN (à base de resíduo de graviola, *Annona muricata* L.). Os autores observaram uma distribuição heterogênea no material, a qual promoveu o surgimento de vacúolos favoráveis à permeação da luz. Os elevados níveis de transparência e blindagem-UV sugerem que o material tenha um grande potencial como agente de proteção contra deterioração por radiação, sem que haja o comprometimento da visibilidade do interior da embalagem, quando pensamos em alimentos fotossensíveis.

O parâmetro de luminosidade (L^*) não diferiu em nenhuma das amostras analisadas ($P > 0,05$). As variações mais significativas ($P < 0,05$) ocorreu nas coordenadas colorimétricas (a^* e b^*) dos filmes com compósitos (HSACO e BCN) em relação aos controles, como mostra a Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros de coloração dos filmes flexíveis de gelatina e PVA, com coordenadas colorimétricas de luminosidade (L^*), vermelho/verde (a^*) e amarelo/azul (b^*), com bionanocompósitos de HSACO e diferentes concentrações de BCN.

Amostras	L^*	a^*	b^*	ΔE_{abs}^1	ΔE_{rel}^2
G-ctl	94,66 ± 0,25 ^a	-0,49 ± 0,03 ^c	4,32 ± 0,10 ^b	4,65	-
G-C-ctl	94,21 ± 0,52 ^a	-0,72 ± 0,03 ^a	5,11 ± 0,31 ^a	9,7	0,44 ± 0,23 ^a
G-C-BC-1	94,33 ± 0,34 ^a	-0,46 ± 0,03 ^c	4,13 ± 0,16 ^b	4,74	0,24 ± 0,16 ^{ab}
G-C-BC-5	94,45 ± 0,09 ^a	-0,52 ± 0,01 ^{bc}	4,34 ± 0,13 ^b	5,13	0,06 ± 0,04 ^b
G-C-BC-10	94,46 ± 0,12 ^a	-0,56 ± 0,01 ^b	4,32 ± 0,18 ^b	5,07	0,07 ± 0,04 ^{ab}
P-ctl	94,56 ± 0,43 ^A	-0,18 ± 0,04 ^B	2,51 ± 0,12 ^A	1,25	-
P-C-ctl	94,36 ± 0,15 ^A	-0,20 ± 0,01 ^B	2,96 ± 0,11 ^C	1,88	0,27 ± 0,18 ^A
P-C-BC-1	94,28 ± 0,47 ^A	-0,32 ± 0,03 ^A	3,09 ± 0,06 ^{BC}	2,38	0,58 ± 0,44 ^A
P-C-BC-5	94,17 ± 0,44 ^A	-0,40 ± 0,02 ^C	3,26 ± 0,12 ^B	2,96	0,90 ± 0,26 ^A
P-C-BC-10	94,55 ± 0,04 ^A	-0,41 ± 0,01 ^C	3,04 ± 0,03 ^{BC}	1,56	0,33 ± 0,04 ^A

(¹) Diferença total de cor em relação ao padrão branco (absoluto) ($L^*=95,61$, $a^*=-0,175$, $b^*=2,425$); (²) Diferença total de cor em relação ao tratamento controle (relativo): G-ctl e P-ctl. Valores expressos como média ± desvio padrão. Para cada propriedade analisada, médias seguidas pela mesma letra **minúscula** na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$; teste de Tukey) dentro da matriz biopolimérica de gelatina, enquanto médias seguidas pela mesma letra **maiúscula** não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$; teste de Tukey) dentro da matriz polimérica sintética de PVA.

A Tabela 5 mostra que há diferença de coloração nos filmes, ΔE_{abs} , em relação ao tratamento com óxido de carbono amorfo (C-ctl) ($P < 0,05$). As variações observadas estão associadas à coordenada b^* (amarelo), principalmente na matriz de gelatina. Esse comportamento pode estar relacionado às interações intermoleculares matriz:compósitos, principalmente, óxido de carbono amorfo à matriz polimérica. Segundo a literatura, a informação de óxidos de carbono, como grafeno, afetam a transmitância dos filmes em vários comprimentos de onda (Ding et al., 2025). Ding et al. (2025), observaram em seus estudos com filmes compósitos de gelatina-quitosana com óxido de grafeno animado, um aumento acentuado nas taxas de transmissão em todos os comprimentos de onda da luz.

Nos filmes de gelatina, $\Delta E_{abs} > 4,1$, indica diferença colorimétrica visível ao olho humano (Miranda et al., 2020; Tassanawat et al., 2007). Já para filmes PVA, $\Delta E_{abs} < 3,0$, i.e., não há diferença colorimétrica dos filmes de forma visível a olho nu, sendo possível analisar através de equipamentos sensíveis ou olhos humanos treinados e experientes (Macedo et al.,

2021; Mastromatteo et al., 2011; S.-S. Wang et al., 2018). Já no ΔE_{rel} , não houve variação significativa ($P > 0,05$). Além disso, todos os valores foram inferiores a 1,0, i.e., não visível a olho nu. Logo, não foi possível identificar diferenças cromáticas significativa ($P > 0,05$) induzidas pelos materiais compósitos, HSACO e BCN, utilizados nos filmes. As variações nos desvios padrões, ΔE_{rel} , estão relacionados à distribuição heterogênea, i.e, a não interação entre matriz:compósitos, neste caso a matriz de gelatina, com baixa dispersão e possível formação de aglomerados não dispersos.

3.3 Propriedade mecânica

A Tabela 6 mostra o comportamento mecânico dos filmes flexíveis quanto à resistência à tração (σ_s), alongação na ruptura (ϵ_f), módulo de Young (E) e tenacidade (U_t). É possível observar que, independentemente da matriz polimérica, a adição de HSACO promoveu reduções significativas ($P < 0,05$) em todos os parâmetros mecânicos, exceto no E do PVA que ocorreu um aumento. Em contrapartida, a incorporação de BCN promove aumentos significativos destes parâmetros. Ao adicionar agentes de reforço, como HSACO e BCN, é possível que haja modificações organizacionais e estruturais nos materiais (Miranda et al., 2025).

Tabela 6. Propriedade mecânica dos filmes bionanocompósitos, HSACO, com diferentes concentração de BNC: resistência à tração (σ_s), alongação na ruptura (ϵ_f), módulo de Young (E) e tenacidade (U_t) em 50% de umidade relativa.

Samples	σ_s (MPa)	ϵ_f (%)	E (MPa)	U_t (J.m ⁻³)
G-ctl	90,12 ± 8,71 ^a	3,63 ± 0,21 ^{ab}	72,34 ± 6,06 ^a	231,18 ± 37,95 ^a
G-C-ctl	53,46 ± 2,61 ^c	2,51 ± 0,05 ^c	46,85 ± 3,31 ^d	72,19 ± 14,25 ^c
G-C-BC-1	56,15 ± 3,32 ^c	3,35 ± 0,41 ^b	49,05 ± 2,44 ^{cd}	126,85 ± 3,91 ^{bc}
G-C-BC-5	74,82 ± 6,16 ^{ab}	4,36 ± 0,44 ^a	64,04 ± 3,34 ^{ab}	200,31 ± 53,39 ^{ab}
G-C-BC-10	66,70 ± 6,10 ^{bc}	1,90 ± 0,08 ^c	58,79 ± 2,79 ^{bc}	63,10 ± 13,10 ^c
P-ctl	24,61 ± 9,58 ^A	78,24 ± 8,41 ^C	3,75 ± 0,71 ^A	1289,52 ± 611,97 ^A
P-C-ctl	9,66 ± 3,09 ^C	14,58 ± 0,53 ^B	8,74 ± 2,24 ^{BC}	89,83 ± 23,78 ^C
P-C-BC-1	11,69 ± 0,33 ^C	48,89 ± 0,75 ^A	5,38 ± 0,80 ^B	407,94 ± 58,98 ^C
P-C-BC-5	12,41 ± 1,63 ^{AB}	87,03 ± 6,29 ^C	1,70 ± 0,26 ^C	662,90 ± 166,36 ^{AB}
P-C-BC-10	14,80 ± 2,26 ^{AB}	82,93 ± 9,89 ^C	2,18 ± 0,73 ^C	701,02 ± 58,21 ^{AB}

Valores expressos como média \pm desvio padrão. Para cada propriedade analisada, médias seguidas pela mesma letra **minúscula** na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$; teste de Tukey) dentro da matriz biopolimérica de gelatina, enquanto médias seguidas pela mesma letra **maiúscula** não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$; teste de Tukey) dentro da matriz polimérica sintética de PVA.

A Tabela 6 mostra que nos filmes de gelatina houve um aumento na resistência à tração (σ_s) e do módulo elástico (E), acompanhado pela redução do alongamento na ruptura (ϵ_f) em relação ao G-C-ctl. Tal comportamento é típico de compósitos reforçados com nanocelulose, devido à incorporação de material cristalino e com densidade elevada de grupos hidroxila da BCN, os quais favorecem a formação de interações fortes como ligações de hidrogênio com a matriz polimérica (Azeredo et al., 2017). Em contrapartida, os filmes de PVA apresentaram comportamento contrário, i.e., $\sigma_{s \text{ GEL}} > \sigma_{s \text{ PVA}}$ e $U_{t \text{ GEL}} < U_{t \text{ PVA}}$. Já os filmes de PVA são mais flexíveis e elásticos, podendo suportar grandes deformações: $U_{t \text{ GEL}} < U_{t \text{ PVA}}$, $E_{\text{GEL}} > E_{\text{PVA}}$ e $\epsilon_{f \text{ GEL}} < \epsilon_{f \text{ PVA}}$.

Por outro lado, a incorporação de HSACO às matrizes poliméricas indica uma interação do compósito com a matriz, através de *cross-link* (Lunar et al., 2025). Tal comportamento pode ser observado no espectro do IV (Figura 2) onde é possível observar a formação de uma rede de ligações de hidrogênio através de grupamentos hidroxila ($-OH$ reativo) e oxigênio do material carbonáceo. Pesquisas anteriores sugerem que a natureza lamelar e parcialmente agregada desse tipo de compósito carbonáceo, promove a formação de pontos de descontinuidade na matriz polimérica (Ma et al., 2013). Essa descontinuidade é observada nos filmes de PVA, onde o reforço com HSACO aumenta a rigidez do material, mas compromete a ductilidade.

Lunar et al. (2025) constataram que a adição de óxido de grafeno em filmes de gelatina reduziu significativamente a resistência à tração (σ_s), alongação na ruptura (ϵ_f), produzindo assim filmes mais rígidos e quebradiços. Diante disso, essa tendencia pode ser atribuída ao fator do óxido de carbono atuar na formação de *cross-link*. Grande et al. (2017) reporta comportamento semelhante em filmes de quitosana. Cardoso et al. (2025) reportaram que óxido de grafeno (GO) aplicado em filmes de polibutileno adipato-co-tereftalato (PBAT) também reduziram a resistência à tração (σ_s). A literatura mostra que a formação de aglomerados de OG pode concentrar, de forma heterogênea, na matriz polimérica, gerando defeitos de microestrutura, o que acarreta falhas prematura nos materiais (Bandyopadhyay et al., 2019).

Por outro lado, a adição de nanofibras de celulose bacteriana (BCN) a matriz gelatina com HSACO (G-C-ctl), favoreceu as propriedades mecânicas, em especial a tenacidade

(Tabela3). A incorporação de material compósito com concentração de grupos –OH, promoveram a formação de ligações de hidrogênio de ordem inter- e intramolecular. Tais interações são observadas na Figura 1, com variação de intensidade e mudanças estruturais sutis na matriz de gelatina. Esse comportamento pode impactar na organização cristalográfica do material (Supanakorn et al., 2021). Neste caso, principalmente, em G-C-BC-10, onde os parâmetros mecânicos reduziram, mesmo não diferindo estatisticamente ($P > 0,05$), o grau organizacional do material se manteve elevado. Comportamento observado na Figura 2 e Tabela 2. Logo, uma possível formação de uma rede tridimensional de múltiplas interações: fibra-fibra, fibra-polímero, além de ligações de hidrogênio polímero-polímero, de ordem inter- e intramolecular (Miranda et al., 2025; Thongsrikhem et al., 2022).

Já as formulações com PVA, aumentaram o módulo de Young em mais de 2,0x, com redução proporcional a resistência à tração após a adição do componente HSACO (Tabela 3). Tal comportamento pode estar associado a organização semicristalina da matriz polimérica. O aumento da concentração de BCN acarretou a melhoria da resistência à tração (σ_s), alongação na ruptura (ϵ_f), tenacidade (UT) e, conseqüente, redução do módulo de Young. Logo, uma reorganização conformacional das cadeias da matriz à medida que a concentração de BCN aumenta. A Figura 2B discute este comportamento através da existência de deformações angulares, ligações de hidrogênio ou forças intermoleculares que favorecem a interação HSACO e BCN. Com isso, é possível observar a correlação do difratograma (Figura 3B), referente ao aumento da cristalinidade do material. As formulações P-C-BC-5 e P-C-BC-10 observa-se que a partir da adição de 5% de BC não apresentou diferença significativa nas propriedades mecânicas e que o aumento da tenacidade quando comparado as demais formulações para Vega-Cázarez et al. (2018) pode ser atribuído ao aumento de ligações de hidrogênio entre as fibras e a matriz de PVA.

Os resultados observados na Tabela 2, corroboram com as observações quanto à resistência do material associado ao seu grau de cristalinidade. Logo, todas as descobertas vêm a ressaltar a importância da otimização das técnicas de processamento de concentração e grau de dispersão para os materiais compósitos de reforços à base de celulose e óxido de carbono amorfo.

3.4 Propriedade de barreira à umidade

As espessuras dos filmes flexíveis apresentam variações significativas sutis ($P < 0,05$) como mostra a Tabela 7. A modificação está associada à distribuição heterogênea dos

compósitos. Além disso, o aumento da espessura nos filmes com BCN podem ter sofrido modificações pelo processo de secagem em condições ambientais, considerado mais lento na evaporação do solvente (água) (Taokaew et al., 2014; Thongsrikhem et al., 2022). Tal comportamento, pode ter provocado o empacotamento das fibrilas de celulose na Figura 1. Segundo a literatura, o empacotamento das fibras de celulose pode levar a formação de regiões de cavidade/poros/alvéolos facilitadores de transmissões e permeações (Thongsrikhem et al., 2022).

Tabela 7. Espessura, permeabilidade ao vapor de água (WVP) e taxa de permeabilidade ao vapor de água (WVPr) dos filmes bionanocompósitos, HSACO, com diferentes concentração de BNC à 25 °C e UR <50%.

Amostras	Espessura (mm)	WVPr (g.m ⁻² .h ⁻¹)	WVP (g.mm.m ⁻² .kPa ⁻¹ .h ⁻¹)
G-ctl	0,035 ± 0,002 ^a	80,50 ± 4,03 ^a	1,113 ± 0,009 ^a
G-C-ctl	0,079 ± 0,008 ^b	83,40 ± 3,30 ^a	2,649 ± 0,276 ^c
G-C-BC-1	0,055 ± 0,003 ^d	117,76 ± 8,59 ^b	2,884 ± 0,169 ^c
G-C-BC-5	0,064 ± 0,003 ^{cd}	127,77 ± 8,17 ^b	3,817 ± 0,535 ^b
G-C-BC-10	0,075 ± 0,002 ^{bc}	116,29 ± 2,83 ^b	3,911 ± 0,121 ^b
P-ctl	0,044 ± 0,004 ^{AB}	86,47 ± 8,15 ^A	1,551 ± 0,306 ^{BC}
P-C-ctl	0,048 ± 0,004 ^B	70,34 ± 1,70 ^B	1,285 ± 0,121 ^C
P-C-BC-1	0,033 ± 0,006 ^A	101,40 ± 0,55 ^C	1,425 ± 0,251 ^{BC}
P-C-BC-5	0,042 ± 0,006 ^{AB}	104,80 ± 4,76 ^C	1,862 ± 0,142 ^{AB}
P-C-BC-10	0,053 ± 0,004 ^B	102,65 ± 3,83 ^C	2,286 ± 0,095 ^A

Valores expressos como média ± desvio padrão. Para cada propriedade analisada, médias seguidas pela mesma letra **minúscula** na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p <0,05; teste de Tukey) dentro da matriz biopolimérica de gelatina, enquanto médias seguidas pela mesma letra **maiúscula** não diferem estatisticamente entre si (p <0,05; teste de Tukey) dentro da matriz polimérica sintética de PVA.

WVP e WVPR dos filmes à base de gelatina apresentaram diferença significativa (P <0,05) entre as amostras com BCN/HSACO e os controles (Tabela 7). O aumento da WVP no G-C-ctl, pode ter sido ocasionado por alguns fatores, como (i) a não interação da matriz com o compósito e/ou (ii) dispersão heterogênea do óxido de carbono na matriz, com formação de aglomerados não dispersos (Figura 1). No entanto, a literatura mostra um comportamento contrário (Nor Adilah et al., 2021). Adilah et al. (2021) em seus estudos com filmes de gelatina e óxido de grafeno (GO), observaram uma redução na solubilidade e na WVP dos materiais. Os

autores explicam que as partículas GO “preencheram” as lacunas da rede proteica. Logo, criando um “caminho tortuoso” devido à redução do volume livre na matriz e aumento no percurso de difusão das moléculas do permeante.

A não formação de uma rede interconectada entre matriz:compósitos (HSACO e BCN) promoveu um aumento da permeabilidade do material, principalmente com a incorporação de BCN. O aumento foi de 2,5 a 3,5 vezes maior em relação ao controle. A incorporação de grupos hidroxilas somou ao perfil hidrofílico da matriz, permitiu o aumento das ligações de hidrogênio (celulose tipo I, grupamentos –OH) (Material Suplementar 1), facilitando a permeação do permeante, promovendo um aumento da WVPR e redução da barreira à água (Y. Li et al., 2025). Contudo, a literatura mostra que a WVP de filmes de gelatina apresentam alta permeabilidade, mesmo em diferentes concentrações e agentes plastificantes distintos: 481,5 a 26.438,5 g.mm.m⁻².d⁻¹.atm⁻¹ (Carvalho et al., 2008; Kanmani & Rhim, 2014; Nur Hanani et al., 2013; Tyuftin & Kerry, 2021) em relação à 263,1 g.mm.m⁻².d⁻¹.atm⁻¹ desta pesquisa (valor convertido da Tabela 7 apenas para comparação).

Nos filmes de PVA, a incorporação de HSACO diferiu estatisticamente do controle (P <0,05) na WVPr, apresentando uma redução numérica sutil na WVP (P >0,05). Tal comportamento pode estar associado a morfologia das partículas de carbono do material e sua distribuição homogênea na matriz polimérica (Adilah et al., 2021). Assim, criando um caminho de difusão mais longo, com aumento da eficiência de barreira e maior resistência à transferência de massa através dos filmes de PVA (Adilah et al., 2021; Goh et al., 2016). Contudo, ocorre um sutil aumento da permeabilidade ao incorporar BCN nos filmes, um aumento sutil de 0,9-1,5 vezes em relação ao controle. Comportamento inferior ao observado na matriz de gelatina. O controle no aumento da permeabilidade, pode ter sido ocasionado pela interação das partículas com a matriz, reduzindo o volume livre, tornando o filme mais denso, limitando a rápida permeação do vapor de água entre o filme (Y. Li et al., 2025; Zeng et al., 2024).

4. CONCLUSÃO

O uso de compósitos como suspensão óxido de carbono amorfo hidratado (HSACO) e nanofibras de celulose bacteriana (BCN) à base de resíduo agroindustrial de jenipapo (*Genipa americana* L.), dependendo da matriz e da dispersão, demonstraram melhorias nas propriedades de barreira à umidade, óptica e mecânica, com potencial utilização como embalagem de alimentos. Os filmes apresentaram resultados positivos e satisfatórios em termos de barreira à radiação UV-C e UV-B, com baixas transmissões e altos níveis de transparência, principalmente

na matriz de PVA. A incorporação dos compósitos não promoveu modificações na cor característica das matrizes poliméricas. Contudo, na estrutura cristalográfica do material e mecânica, foi possível observar a melhoria nas propriedades estruturais, o que favorece à aplicação em material para embalagens flexíveis, com durabilidade e resistência ao manuseio, tendo em vista as melhorias observadas em termos de organização, alongamento e resistência mecânica.

O estudo de diferentes matrizes polimérica amplia a rede de aplicação alimentício, desde alimentos com baixo teor de umidade e atividade de água a valores intermediários. As embalagens propostas são capazes de atender à diferentes especificidades. A incorporação de HSACO e BCN, ambos de fontes alternativas e sustentáveis, como compósitos de materiais de embalagem mostra o potencial científico, tecnológico e inovador no setor de desenvolvimento de novos materiais para a indústria de alimentos. Este material apresenta versatilidade da visibilidade da área interna da embalagem, assim como blindagem à deterioração por radiação. Estudos voltados ao perfil sustentável, como biodegradação, em diferentes ambientes e situações de contato direto/indireto com o alimento são prerrogativas para futura aplicabilidade comercial do material.

Author contributions

Data curation, **KWEM**, **MMF**, and **KLA**; Formal analysis, **KWEM** and **KLA**; Funding acquisition, **LBV**; Investigation, **KWEM**, **MMF**, **KLA**, and **CPAJ**; Methodology, **KWEM**, **MMF**, and **CPAJ**; Project administration, **KWEM**, **MRSB**, and **LBV**; Resources, **MSRB** and **LBV**; Supervision, **MSRB** and **LBV**; Validation, **MSRB**, and **LBV**; Writing—original draft, **KWEM**, **KLA**, and **CPAJ**; Writing—review & editing, **LBV**, and **MSRB**. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Acknowledgments

The authors thank the National Council for Scientific and Technological Development. This work was carried out with the Raio-X Laboratory (UFC/RXL), AdpCLEAN (Santos Cruz Soluções Ambientais Ltda.) for the donation of NHKBIO®, and EMBRAPA Tropical Agroindustry. We also thank the Central Analítica-UFC/CT-INFRA/MCTI-SIS-NANO/CAPES for using their facilities for the SEM analyses.

Funding

This work was financially supported by CNPq/MCTI/FNDCT n.18/2021 Universal

(404638/2021-0).

Declarations

Conflict interest

No conflict of interest exists in the submission of the manuscript.

Ethical approval

This paper does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

REFERENCES

- Abral, H., Arikxa, J., Mahardika, M., Handayani, D., Aminah, I., Sandrawati, N., Pratama, A. B., Fajri, N., Sapuan, S. M., & Ilyas, R. A. (2020). Transparent and antimicrobial cellulose film from ginger nanofiber. *Food Hydrocolloids*, *98*, 105266. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105266>
- Adilah, A. N., Hean, C. G., & Hanani, Z. A. N. (2021). Incorporation of graphene oxide to enhance fish gelatin as bio-packaging material. *Food Packaging and Shelf Life*, *28*, 100679. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100679>
- Albanez, R., Paulinetti, A. P., Augusto, I. M. G., Lovato, G., Rodrigues, J. A. D., & Ratusznei, S. M. (2024). Integrated production of bacterial cellulose and biogas from agro-industrial wastewater: Technical feasibility of implementing a biorefinery concept. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. <https://doi.org/10.1007/s43153-024-00464-w>
- Andrade, F. K., Morais, J. P. S., Muniz, C. R., Nascimento, J. H. O., Vieira, R. S., Gama, F. M. P., & Rosa, M. F. (2019). Stable microfluidized bacterial cellulose suspension. *Cellulose*, *26*(10), 5851–5864. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02512-y>
- Annu, Ali, A., & Ahmed, S. (2021). *Eco-friendly* natural extract loaded antioxidative chitosan/polyvinyl alcohol based active films for food packaging. *Heliyon*, *7*(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06550>
- Arfat, Y. A., Ahmed, J., Ejaz, M., & Mullah, M. (2018). Polylactide/graphene oxide nanosheets/clove essential oil composite films for potential food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *107*, 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.156>
- Ashrafi, A., Babapour, H., Johari, S., Alimohammadi, F., Teymori, F., Nafchi, A. M., Shahrai, N. N., Huda, N., & Abedinia, A. (2023). Application of Poultry Gelatin to Enhance the Physicochemical, Mechanical, and Rheological Properties of Fish Gelatin as Alternative Mammalian Gelatin Films for Food Packaging. *Foods*, *12*(3), Artigo 3. <https://doi.org/10.3390/foods12030670>
- Assaad, E., & Mateescu, M. A. (2010). The influence of protonation ratio on properties of carboxymethyl starch excipient at various substitution degrees: Structural insights and drug release kinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, *394*(1), 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.037>
- ASTM, A. (2016). E96/E96M-16. Standard test methods for water vapor transmission of materials. *Annual Book of American Standard Testing Methods; American Society for Testing and Materials: West Conshohocken, PA, USA*, 719–725.
- ASTM, I. (2012). *Designation D882–12 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin*

Plastic Sheet (3^o ed). ASTM.

Azeredo, H. M. C., Rosa, M. F., & Mattoso, L. H. C. (2017). Nanocellulose in bio-based food packaging applications. *Industrial Crops and Products*, 97, 664–671.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.013>

Bandyopadhyay, S., Saha, N., Brodnjak, U. V., & Sáha, P. (2019). Bacterial cellulose and guar gum based modified PVP-CMC hydrogel films: Characterized for packaging fresh berries.

Food Packaging and Shelf Life, 22, 100402. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100402>

Benjakul, S., Oungbho, K., Visessanguan, W., Thiansilakul, Y., & Roytrakul, S. (2009).

Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and

Priacanthus macracanthus. *Food Chemistry*, 116(2), 445–451.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.063>

Braga, D. G., Abreu, J. L. L. de, Silva, M. G. da, Souza, T. M. de, Dias, M. C., Tonoli, G. H.

D., Oliveira Neto, C. F. de, Claro, P. I. C., Gomes, L. G., & Bufalino, L. (2021). Cellulose

nanostructured films from pretreated açai mesocarp fibers: Physical, barrier, and tensile

performance. *CERNE*, 27, e. <https://doi.org/10.1590/01047760202127012783>

Carvalho, R. A., Grosso, C. R. F., & Sobral, P. J. A. (2008). Effect of chemical treatment on the mechanical properties, water vapour permeability and sorption isotherms of gelatin-based films. *Packaging Technology and Science*, 21(3), 165–169. <https://doi.org/10.1002/pts.792>

Castro, J. I., Navia-Porras, D. P., Arbeláez Cortés, J. A., Mina Hernández, J. H., & Grande-Tovar, C. D. (2022). Synthesis, Characterization, and Optimization Studies of Starch/Chicken Gelatin Composites for Food-Packaging Applications. *Molecules*, 27(7), Artigo 7.

<https://doi.org/10.3390/molecules27072264>

Cataldi, P., Steiner, P., Raine, T., Lin, K., Kocabas, C., Young, R. J., Bissett, M., Kinloch, I.

A., & Papageorgiou, D. G. (2020). Multifunctional Biocomposites Based on

Polyhydroxyalkanoate and Graphene/Carbon Nanofiber Hybrids for Electrical and Thermal

Applications. *ACS Applied Polymer Materials*, 2(8), 3525–3534.

<https://doi.org/10.1021/acsapm.0c00539>

Chaussé, J., Girard, V.-D., Perron, T., Challut, T., & Vermette, P. (2024). Characterization of

bacterial cellulose produced by the KomEt strain isolated from a kombucha SCOBY.

Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 58, 103172.

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103172>

Cheong, K. L., Pang, M. M., Low, J. H., Tshai, K. Y., Koay, S. C., Wong, W. Y., Ch'ng, S. Y.,

& Buys, Y. F. (2024). Graphene Nanoplatelets/Poly(lactic Acid) Conductive Polymer

Composites: Tensile, Thermal and Electrical Properties. *Chemical Engineering & Technology*,

47(11), e202300592. <https://doi.org/10.1002/ceat.202300592>

Choo, K., Ching, Y. C., Chuah, C. H., Julai, S., & Liou, N.-S. (2016). Preparation and

Characterization of Poly(vinyl Alcohol)-Chitosan Composite Films Reinforced with Cellulose

Nanofiber. *Materials*, 9(8), 644. <https://doi.org/10.3390/ma9080644>

de Souza Costa-Júnior, E., Pereira, M. M., & Mansur, H. S. (2009). Properties and

biocompatibility of chitosan films modified by blending with PVA and chemically

crosslinked. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(2), 553–561.

<https://doi.org/10.1007/s10856-008-3627-7>

Ding, W., Guo, S., Wang, K., Pang, X., Asres, B. S., & Ding, Z. (2025). Aminated graphene

oxide reinforced gelatin-chitosan composite films toward biopackaging: Preparation and

properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 284, 138104.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138104>

Dolores, S. M., Marina Patricia, A., Santiago, F., & Juan, L. (2014). Influence of

biodegradable materials in the recycled polystyrene. *Journal of Applied Polymer Science*,

131(23). <https://doi.org/10.1002/app.41161>

Doyle, B. B., Bendit, E. G., & Blout, E. R. (1975). Infrared spectroscopy of collagen and

- collagen-like polypeptides. *Biopolymers*, *14*(5), 937–957.
<https://doi.org/10.1002/bip.1975.360140505>
- Fahmy, H. M., Eldin, R. E. S., Serea, E. S. A., Gomaa, N. M., AboElmagd, G. M., Salem, S. A., Elsayed, Z. A., Edrees, A., Shams-Eldin, E., & Shalan, A. E. (2020). Advances in nanotechnology and antibacterial properties of biodegradable food packaging materials. *RSC Advances*, *10*(35), 20467–20484. <https://doi.org/10.1039/D0RA02922J>
- Farag, O. F., & Abdel-Fattah, E. (2023). Synthesis and characterization PVA/plasma-functionalized MWCNTs nanocomposites films. *Journal of Polymer Research*, *30*(5), 183. <https://doi.org/10.1007/s10965-023-03550-8>
- French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, *21*(2), 885–896. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0030-4>
- Goh, K., Heising, J. K., Yuan, Y., Karahan, H. E., Wei, L., Zhai, S., Koh, J.-X., Htin, N. M., Zhang, F., Wang, R., Fane, A. G., Dekker, M., Dehghani, F., & Chen, Y. (2016). Sandwich-Architected Poly(lactic acid)–Graphene Composite Food Packaging Films. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *8*(15), 9994–10004. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b02498>
- Grande, C. D., Mangadlao, J., Fan, J., De Leon, A., Delgado-Ospina, J., Rojas, J. G., Rodrigues, D. F., & Advincula, R. (2017). Chitosan Cross-Linked Graphene Oxide Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity for Application in Food Industry. *Macromolecular Symposia*, *374*(1), 1600114. <https://doi.org/10.1002/masy.201600114>
- Gulati, M., P.S, K. M., & Reddy, J. P. (2023). Effect of Onion Peel Extract on Structural, Mechanical, Thermal, and Antioxidant Properties of Methylcellulose Films. *Food and Bioprocess Technology*, *16*(10), 2328–2342. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03054-9>
- Gürler, N., & Torğut, G. (2021). Graphene-reinforced potato starch composite films: Improvement of mechanical, barrier and electrical properties. *Polymer Composites*, *42*(1), 173–180. <https://doi.org/10.1002/pc.25816>
- Gürünlü, B., Taşdelen-Yücedağ, Ç., & Bayramoğlu, M. (2020). Graphene Synthesis by Ultrasound Energy-Assisted Exfoliation of Graphite in Various Solvents. *Crystals*, *10*(11), Artigo 11. <https://doi.org/10.3390/cryst10111037>
- Guzman-Puyol, S., Benítez, J. J., & Heredia-Guerrero, J. A. (2022). Transparency of polymeric food packaging materials. *Food Research International*, *161*, 111792. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111792>
- Haghighi, H., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., Siesler, H. W., & Pulvirenti, A. (2019). Comparative analysis of blend and bilayer films based on chitosan and gelatin enriched with LAE (lauroyl arginate ethyl) with antimicrobial activity for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, *19*, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.015>
- Haghighi, H., Leugoue, S. K., Pfeifer, F., Siesler, H. W., Licciardello, F., Fava, P., & Pulvirenti, A. (2020). Development of antimicrobial films based on chitosan-polyvinyl alcohol blend enriched with ethyl lauroyl arginate (LAE) for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, *100*, 105419. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105419>
- Halim, A. L. A., Kamari, A., & Phillip, E. (2018). Chitosan, gelatin and methylcellulose films incorporated with tannic acid for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, *120*, 1119–1126. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.169>
- Hou, C., Fu, L., Wang, Y., Chen, W., Chen, F., Zhang, S., & Wang, J. (2021). Co-MOF-74 based Co₃O₄/cellulose derivative membrane as dual-functional catalyst for colorimetric detection and degradation of phenol. *Carbohydrate Polymers*, *273*, 118548. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118548>
- Infante-Neta, A. A., D’Almeida, A. P., & Albuquerque, T. L. de. (2024). Bacterial Cellulose in Food Packaging: A Bibliometric Analysis and Review of Sustainable Innovations and Prospects. *Processes*, *12*(9), Artigo 9. <https://doi.org/10.3390/pr12091975>
- Kačuráková, M., Smith, A. C., Gidley, M. J., & Wilson, R. H. (2002). Molecular interactions

- in bacterial cellulose composites studied by 1D FT-IR and dynamic 2D FT-IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 337(12), 1145–1153. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(02\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(02)00102-7)
- Kamanina, N., Fedorova, L., Likhomanova, S., Zubtcova, Y., & Kuzhakov, P. (2024). Impact of Carbon-Based Nanoparticles on Polyvinyl Alcohol Polarizer Features: Photonics Applications. *Nanomaterials*, 14(9), Artigo 9. <https://doi.org/10.3390/nano14090737>
- Kanmani, P., & Rhim, J.-W. (2014). Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films. *Food Chemistry*, 148, 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.047>
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica*, 39(8), 549–559. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>
- Li, J., Zhang, F., Zhong, Y., Zhao, Y., Gao, P., Tian, F., Zhang, X., Zhou, R., & Cullen, P. J. (2022). Emerging Food Packaging Applications of Cellulose Nanocomposites: A Review. *Polymers*, 14(19), Artigo 19. <https://doi.org/10.3390/polym14194025>
- Li, Y., Han, W., Ding, Q., Yang, D., Li, X., Liu, Z., & Wu, Q. (2025). High-barrier bacterial cellulose/polyvinyl alcohol based active packaging material for food preservation. *Carbohydrate Polymers*, 363, 123603. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123603>
- Liu, Y., Wang, S., & Lan, W. (2018). Fabrication of antibacterial chitosan-PVA blended film using electrospray technique for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 848–854. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.044>
- Lopes, H. S. M., da Costa, F. A. T., Komatsu, D., Dufresne, A., & de Menezes, A. J. (2025). Gelatinized Cassava Starch Obtained via Low Molar Ratio Hydroxypropylation Reaction. *ACS Omega*, 10(12), 12543–12552. <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c00246>
- Lunar, M. F. C., Ordoñez, R., Florido, H. F., Hernández-Fernández, J., & Ortega-Toro, R. (2025). Graphene Oxide and *Moringa oleifera* Seed Oil Incorporated into Gelatin-Based Films: A Novel Active Food Packaging Material. *Journal of Renewable Materials*, 13(2), 311–327. <https://doi.org/10.32604/jrm.2024.056639>
- Luo, H., Ao, H., Peng, M., Yao, F., Yang, Z., & Wan, Y. (2019). Effect of highly dispersed graphene and graphene oxide in 3D nanofibrous bacterial cellulose scaffold on cell responses: A comparative study. *Materials Chemistry and Physics*, 235, 121774. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.121774>
- Lyu, Y., Gu, X., & Mao, Y. (2020). Green Composite of Instant Coffee and Poly(vinyl alcohol): An Excellent Transparent UV-Shielding Material with Superior Thermal-Oxidative Stability. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 59(18), 8640–8648. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c00413>
- Ma, H.-L., Zhang, Y., Hu, Q.-H., He, S., Li, X., Zhai, M., & Yu, Z.-Z. (2013). Enhanced mechanical properties of poly(vinyl alcohol) nanocomposites with glucose-reduced graphene oxide. *Materials Letters*, 102–103, 15–18. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.03.094>
- Macedo, L. L., Vimercati, W. C., Araújo, C. da S., Maradini Filho, A. M., Saraiva, S. H., & Teixeira, L. J. Q. (2021). Banana liqueur made with yacon syrup: Evaluation of stability during maturation. *Brazilian Journal of Food Technology*, 24, e2020031. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.03120>
- Martins, V. G., Palezi, S. C., Alves-Silva, G. F., & Santos, L. G. (2022). Biodegradable Packaging Materials and Techniques to Improve Their Performance. Em A. K. Shukla (Org.), *Food Packaging: The Smarter Way* (p. 61–105). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7196-8_4
- Martirani-VonAbercron, S.-M., & Pacheco-Sánchez, D. (2023). Bacterial cellulose: A highly versatile nanomaterial. *Microbial Biotechnology*, 16(6), 1174–1178. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14243>

- Mastromatteo, M., Incoronato, A. L., Conte, A., & Del Nobile, M. A. (2011). Shelf life of reduced pork back-fat content sausages as affected by antimicrobial compounds and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology*, *150*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.009>
- Mehrotra, R., Sharma, S., Shree, N., & Kaur, K. (2023). Bacterial Cellulose: An Ecological Alternative as a Biotextile – Biosciences Biotechnology Research Asia. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, *20*(2). <https://doi.org/10.13005/bbra/3101>
- Miranda, K. W. E., Frota, M. M., Mattos, A. L. A., Araújo, A. W. O., Alves Júnior, F. T., Vasconcelos, L. B., Bastos, M. do S. R., & Souza, T. M. (2025). *Eco-friendly* bionanocomposite based on a ternary blend reinforced with bacterial cellulose for application in packaging materials. *Food Packaging and Shelf Life*, *48*, 101442. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2025.101442>
- Miranda, K. W. E., Natarelli, C. V. L., Thomazi, A. C., Ferreira, G. M. D., Frota, M. M., Bastos, M. do S. R., Mattoso, L. H. C., & Oliveira, J. E. (2020). Halochromic Polystyrene Nanofibers Obtained by Solution Blow Spinning for Wine pH Sensing. *Sensors*, *20*(2), Artigo 2. <https://doi.org/10.3390/s20020417>
- Moggio, B. C., Bergamasco, R., Andrade, C. M. G., & Aylon, L. B. R. (2023). On the Analysis of Cryogels and Xerogels Using Cellulose Nanofibers and Graphene Oxide. *Polymers*, *15*(18), 3833. <https://doi.org/10.3390/polym15183833>
- Moustafa, H., Morsy, M., Ateia, M. A., & Abdel-Haleem, F. M. (2021). Ultrafast response humidity sensors based on polyvinyl chloride/graphene oxide nanocomposites for intelligent food packaging. *Sensors and Actuators A: Physical*, *331*, 112918. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2021.112918>
- Mutlu, N. (2023). Effects of grape seed oil nanoemulsion on physicochemical and antibacterial properties of gelatin-sodium alginate film blends. *International Journal of Biological Macromolecules*, *237*, 124207. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124207>
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, *86*(3), 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.038>
- Nishiyama, Y., Sugiyama, J., Chanzy, H., & Langan, P. (2003). Crystal Structure and Hydrogen Bonding System in Cellulose Ia from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction. *Journal of the American Chemical Society*, *125*(47), 14300–14306. <https://doi.org/10.1021/ja037055w>
- Nor Adilah, A., Gun Hean, C., & Nur Hanani, Z. A. (2021). Incorporation of graphene oxide to enhance fish gelatin as bio-packaging material. *Food Packaging and Shelf Life*, *28*, 100679. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100679>
- Nur Hanani, Z. A., McNamara, J., Roos, Y. H., & Kerry, J. P. (2013). Effect of plasticizer content on the functional properties of extruded gelatin-based composite films. *Food Hydrocolloids*, *31*(2), 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.009>
- OECD. (2022, fevereiro 22). *Global Plastics Outlook: Economic Drivers, Environmental Impacts and Policy Options*. OECD. https://www.oecd.org/en/publications/global-plastics-outlook_de747aef-en.html
- OECD. (2024, outubro 2). *Policy Scenarios for Eliminating Plastic Pollution by 2040*. OECD. https://www.oecd.org/en/publications/policy-scenarios-for-eliminating-plastic-pollution-by-2040_76400890-en.html
- Perugini, P., Bleve, M., Redondi, R., Cortinovis, F., & Colpani, A. (2020). *In vivo* evaluation of the effectiveness of biocellulose facial masks as active delivery systems to skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *19*(3), Artigo 3. <https://doi.org/10.1111/jocd.13051>
- Qian, L., Chen, C., Huang, Y., Ren, H., Cao, X., He, B., & Li, J. (2023). Nanocellulose-based

- electroactive actuators and their performance with various ions. *Cellulose*, 30(7), Artigo 7. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05143-6>
- Rajesh Shetty, G., & Lakshmeesha Rao, B. (2022). Preparation and characterization of silk fibroin-polyvinyl alcohol (PVA) blend films for food packaging materials. *Materials Today: Proceedings*, 55, 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.02.034>
- Ramírez Tapias, Y. A., Di Monte, M. V., Peltzer, M. A., & Salvay, A. G. (2022). Bacterial cellulose films production by Kombucha symbiotic community cultured on different herbal infusions. *Food Chemistry*, 372, 131346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131346>
- Rani, A., Negi, S., Fan, C., Lam, S. S., Kim, H., & Pan, S.-Y. (2024). Revitalizing plastic wastes employing bio-circular-green economy principles for carbon neutrality. *Journal of Hazardous Materials*, 472, 134394. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.134394>
- Rao, J., Lv, Z., Chen, G., Hao, X., Guan, Y., & Peng, F. (2021). Fabrication of flexible composite film based on xylan from pulping process for packaging application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, 285–292. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.128>
- Ren, J., Wang, Y., Yao, Y., Wang, Y., Fei, X., Qi, P., Lin, S., Kaplan, D. L., Buehler, M. J., & Ling, S. (2019). Biological Material Interfaces as Inspiration for Mechanical and Optical Material Designs. *Chemical Reviews*, 119(24), 12279–12336. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00416>
- Shen, X., Hu, W., & Russell, T. P. (2016). Measuring the Degree of Crystallinity in Semicrystalline Regioregular Poly(3-hexylthiophene). *Macromolecules*, 49(12), 4501–4509. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b00799>
- Shen, X.-J., Yang, S., Shen, J.-X., Ma, J.-L., Wu, Y.-Q., Zeng, X.-L., & Fu, S.-Y. (2019). Improved mechanical and antibacterial properties of silver-graphene oxide hybrid/poly(lactid acid) composites by in-situ polymerization. *Industrial Crops and Products*, 130, 571–579. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.018>
- Supanakorn, G., Taokaew, S., & Phisalaphong, M. (2021). Ternary composite films of natural rubber, cellulose microfibril, and carboxymethyl cellulose for excellent mechanical properties, biodegradability and chemical resistance. *Cellulose*, 28(13), Artigo 13. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04082-4>
- Taokaew, S., Phisalaphong, M., & Zhang Newby, B. (2014). In vitro behaviors of rat mesenchymal stem cells on bacterial celluloses with different moduli. *Materials Science and Engineering: C*, 38, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.02.005>
- Tassanawat, S., Phandee, A., Magaraphan, R., Nithitanakul, M., & Manuspiya, H. (2007). pH-Sensitive PP/Clay Nanocomposites for Beverage Smart Packaging. *2007 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems*, 478–482. <https://doi.org/10.1109/NEMS.2007.352062>
- Thongsrihem, N., Taokaew, S., Sriariyanun, M., & Kirdponpattara, S. (2022). Antibacterial activity in gelatin-bacterial cellulose composite film by thermally crosslinking with cinnamaldehyde towards food packaging application. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, 100766. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100766>
- Thorat, M. N., & Dastager, S. G. (2018). High yield production of cellulose by a *Komagataeibacter rhaeticus* PG2 strain isolated from pomegranate as a new host. *RSC Advances*, 8(52), 29797–29805. <https://doi.org/10.1039/C8RA05295F>
- Tyufin, A. A., & Kerry, J. P. (2021). Gelatin films: Study review of barrier properties and implications for future studies employing biopolymer films. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100688. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100688>
- Urbina, L., Eceiza, A., Gabilondo, N., Corcuera, M. Á., & Retegi, A. (2020). Adaptação da conformação *in situ* de nanocarreadores esféricos de celulose bacteriana-óxido de grafeno. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1249–1260.

- <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.077>
- van Soest, J. J. G., Hulleman, S. H. D., de Wit, D., & Vliegthart, J. F. G. (1996). Crystallinity in starch bioplastics. *Industrial Crops and Products*, 5(1), 11–22. [https://doi.org/10.1016/0926-6690\(95\)00048-8](https://doi.org/10.1016/0926-6690(95)00048-8)
- Vega-Cázarez, C. A., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Madera-Santana, T. J., Soto-Cota, A., & Ramírez-Wong, B. (2018). Preparation and Properties of Chitosan–PVA Fibers Produced by Wet Spinning. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(3), 946–958. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-1003-8>
- Venkatram, S., McCollum, J., Stingelin, N., & Brettmann, B. (2023). A close look at polymer degree of crystallinity versus polymer crystalline quality. *Polymer International*, 72(10), 855–860. <https://doi.org/10.1002/pi.6508>
- Wang, S.-S., Han, Y.-H., Chen, J.-L., Zhang, D.-C., Shi, X.-X., Ye, Y.-X., Chen, D.-L., & Li, M. (2018). Insights into Bacterial Cellulose Biosynthesis from Different Carbon Sources and the Associated Biochemical Transformation Pathways in *Komagataeibacter* sp. W1. *Polymers*, 10(9), Artículo 9. <https://doi.org/10.3390/polym10090963>
- Wang, Y., Fu, S., Lu, Y., Lai, R., Liu, Z., Luo, W., & Xu, Y. (2022). Chitosan/hyaluronan nanogels co-delivering methotrexate and 5-aminolevulinic acid: A combined chemophotodynamic therapy for psoriasis. *Carbohydrate Polymers*, 277, 118819. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118819>
- Xu, Y., Wu, Z., Li, A., Chen, N., Rao, J., & Zeng, Q. (2024). Nanocellulose Composite Films in Food Packaging Materials: A Review. *Polymers*, 16(3), Artículo 3. <https://doi.org/10.3390/polym16030423>
- Yilmaz Dogan, H., Altin, Y., & Bedeloğlu, A. Ç. (2022). Fabrication and properties of graphene oxide and reduced graphene oxide reinforced Poly(Vinyl alcohol) nanocomposite films for packaging applications. *Polymers and Polymer Composites*, 30, 09673911221113328. <https://doi.org/10.1177/09673911221113328>
- Zeng, J., Ma, Y., Li, P., Zhang, X., Gao, W., Wang, B., Xu, J., & Chen, K. (2024). Development of high-barrier composite films for sustainable reduction of non-biodegradable materials in food packaging application. *Carbohydrate Polymers*, 330, 121824. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.121824>
- Zhang, J., Chen, J., Zhang, C., Yi, H., Liu, D., & Liu, D. (2022). Characterization and antibacterial properties of chitosan–polyvinyl alcohol–3-phenyllactic acid as a biodegradable active food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100963. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100963>
- Zhang, Y., & Han, J. H. (2006). Plasticization of Pea Starch Films with Monosaccharides and Polyols. *Journal of Food Science*, 71(6), E253–E261. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00075.x>
- Zhu, W., Li, W., He, Y., & Duan, T. (2015). In-situ biopreparation of biocompatible bacterial cellulose/graphene oxide composites pellets. *Applied Surface Science*, 338, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.02.030>