#### ISSN 1679-6527 / e-ISSN 1679-6535

# Comunicado Técnico

Fortaleza, CE / Abril, 2025



### Nanocelulose bacteriana: inovações nos processos de obtenção e sua aplicação em emulsões Pickering

Morsyleide de Freitas Rosa<sup>(1)</sup>, Raimundo Marcelino da Silva Neto<sup>(2)</sup>, André Luís Sousa Pereira<sup>(3)</sup>, Náyra de Oliveira Frederico Pinto<sup>(4)</sup>, Fábia Karine Andrade<sup>(5)</sup> e Celli Rodrigues Muniz<sup>(6)</sup>

<sup>(1)</sup> Engenheira Química, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.
<sup>(2)</sup> Engenheiro de Alimentos, doutor em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.
<sup>(3)</sup> Engenheiro Químico, doutor em Química pela Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>(4)</sup> Engenheira de Alimentos, mestra em Engenharia Química Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.
<sup>(6)</sup> Bióloga, doutora em Biotecnologia, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, PT.
<sup>(6)</sup> Bióloga, doutora em Biotecnologia, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

### Introdução

A celulose bacteriana (CB) é resultado da capacidade de algumas bactérias, particularmente as do gênero *Acetobacter*, de sintetizar celulose durante seu processo metabólico. Em comparação com a celulose de origem vegetal, a CB se destaca por sua maior área superficial específica, alta estabilidade térmica e notável resistência mecânica, além de apresentar fibrilas mais finas e uniformes. Essas características, juntamente com sua natureza anfifílica, alta estabilidade coloidal e biocompatibilidade, despertam interesse em uma variedade de indústrias, especialmente à medida que a demanda por soluções sustentáveis aumenta (Choi et al., 2022; Girard et al., 2024).

Um campo promissor de aplicação é a utilização de nanocelulose bacteriana, material derivado da CB com dimensões na escala nanométrica (com pelo menos uma de suas dimensões abaixo de 100 nanômetros), em emulsões Pickering. Este material tem ganhado cada vez mais destaque como um possível ingrediente GRAS (*Generally Recognized as Safe*), principalmente devido ao seu uso tradicional em alimentos em países asiáticos. No entanto, por ser categorizada como um "ingrediente novo", sua incorporação em alimentos ainda necessita de regulamentações específicas e pesquisas meticulosas para garantir a sua segurança e adequação aos padrões alimentares.

Devido à sua facilidade de funcionalização, a nanocelulose bacteriana pode ter suas propriedades ajustadas para atender às necessidades de diferentes aplicações. Ademais, a sua habilidade de criar redes tridimensionais na interface entre óleo e água auxilia na estabilização eficiente das emulsões, prevenindo a coalescência das gotas dispersas. Diferentemente das emulsões convencionais estabilizadas por surfactantes, as emulsões Pickering empregam partículas sólidas, o que resulta em produtos mais estáveis no longo prazo.

A nanocelulose pode ser obtida em duas formas principais: nanocristais, que são pequenas partículas rígidas com estrutura altamente cristalina, e nanofibrilas, que são estruturas extremamente finas, com um formato alongado e fibrilar.

Para a obtenção de nanocristais, a celulose é tratada com um ácido forte, geralmente ácido sulfúrico, durante a hidrólise ácida. Esse processo degrada preferencialmente as regiões amorfas da celulose,



preservando as áreas cristalinas, que são mais estáveis. Como resultado, formam-se nanocristais de celulose com uma estrutura altamente ordenada e cristalina. No caso da utilização de ácido sulfúrico, há incorporação de grupos sulfato na superfície dos nanocristais, aumentando a repulsão eletrostática e facilitando sua individualização. Após a hidrólise ácida, é comum que a maioria dos processos inclua uma etapa de diálise para a purificação do material (Huang; Dufresne, 2019). No entanto, reconhece-se que a diálise é uma técnica mais apropriada ao ambiente de laboratório e não é prática em um contexto industrial.

Nossa pesquisa concentrou-se na possibilidade de obter nanocristais utilizando-se uma etapa de neutralização após a hidrólise, como uma alternativa à diálise. Além de ser mais facilmente adaptada para a escala industrial, essa abordagem reduz os impactos ambientais associados ao uso excessivo de água na etapa de diálise (Morais et al., 2023).

A obtenção de nanofibrilas envolve a aplicação de processos mecânicos, como homogeneização ou moagem, frequentemente após um pré-tratamento químico. Esse processo reduz a celulose a fibrilas individuais ou em pequenos feixes, que apresentam uma organização parcialmente cristalina e amorfa. O tratamento químico prévio geralmente adotado envolve a oxidação com hipoclorito de sódio (NaClO) mediada por 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-óxido (TEMPO), que introduz grupos carboxilato na superfície das fibrilas, aumentando a repulsão eletrostática e facilitando a individualização das fibrilas durante a desfibrilação mecânica, o que contribui para a estabilização da suspensão de nanofibrilas (Isogai, Saito; Isogai, 2011). Contudo, o emprego do catalisador TEMPO é controverso devido à sua toxicidade, mesmo com o processo envolvendo uma etapa posterior de lavagem exaustiva. Diante dessa preocupação, avaliamos a viabilidade de suprimir a oxidação por TEMPO, substituindo-a pela adição de carboximetilcelulose (CMC) para estabilização das nanofibrilas, oferecendo uma alternativa mais segura. Um estudo realizado por Andrade et al. (2020) mostrou que a adição de CMC foi eficaz na estabilização de suspensões de nanofibrilas de celulose bacteriana, sem necessidade de modificação química prévia.

Apresentamos aqui avanços nos processos de obtenção de nanocristais e nanofibrilas de celulose bacteriana, objetivando não apenas a eficácia na estabilização de emulsões, mas também no desenvolvimento de processos viáveis e mais sustentáveis.

### Rotas de obtenção de nanocelulose bacteriana

A matéria-prima utilizada para obtenção dos nanocristais de CB (NCCB) e das nanofibrilas de CB (NFCB) foi um produto comercial constituído por mantas secas de celulose bacteriana produzidas comercialmente. As mantas foram trituradas em um liquidificador de alta velocidade de 2 L (37.000 rpm, 5 min) para se obter um material particulado na forma de flocos.

A caracterização das nanoceluloses incluiu microscopia eletrônica de transmissão (TEM) para observação de características como tamanho, forma e dispersão das partículas de nanocelulose, e potencial Zeta para avaliar a estabilidade das suspensões. Também foi realizada a análise de citotoxicidade de acordo com as normas internacionais ISO 10993-5 (2009) e ISO 10993-12 (2021).

## NCCB obtidos com processo que inclui etapa de diálise (NCCB1)

Os NCCB1 foram obtidos por hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60% m/m a 45 °C por 60 minutos, na proporção de 1:20 (m/v) (CB:solução ácida), sob agitação (Figura 1A). Ao final do processo, a reação foi interrompida pela adição de água deionizada fria (~4 °C), na proporção de 1:5 em volume (suspensão:água). As suspensões foram centrifugadas três vezes a 26.400 *g* por 15 minutos, submetidas a ultrassom (60 W) em três ciclos de 2 minutos intercalados com 1 minuto de descanso para evitar aglomeração de partículas. Por fim, as suspenções foram dialisadas com água destilada por 48 horas para alcançar a neutralidade.

### NCCB obtidos com processo que inclui etapa de neutralização (NCCB2)

Similarmente ao processo anterior, foi conduzida a hidrólise ácida. Contudo, a reação foi interrompida por adição de solução alcalina fria (NaOH 4,5 M, 4 °C) até a neutralidade (pH 7). A suspensão de nanocristais foi centrifugada (26.400 g, 15 min) e o sobrenadante descartado. Água destilada foi adicionada até um volume suficiente para completar a dispersão, e a suspensão agitada por 5 min a 500 rpm. A operação (centrifugação + agitação) foi realizada duas vezes. Uma terceira centrifugação foi realizada, nas mesmas condições, e NCCB2 foram obtidos com o mínimo de água destilada possível.

Em ambos os processos, o produto resultou em uma dispersão coloidal estável, homogênea e turva (Figura 1A), contendo nanocristais de celulose bacteriana com comprimentos variando de 133 a 870 nm e diâmetros de 20 a 60 nm, apresentando alta carga superficial ( $\zeta$ ) (Zeta > |-45| mV). A similaridade entre os nanocristais pode ser observada pelas imagens de TEM apresentadas nas Figuras 1B e 1C.



**Figura 1.** Suspensão de nanocristais de CB (A); micrografias TEM de NCCB1 (B); e NCCB2 (C). A barra de escala é de 2 µm.

### NFCB obtidos com processo que inclui uso do TEMPO (NFCB)

Em 100 mL de água destilada, dissolveram-se 0,016 g de radical TEMPO, 0,1 g de NaBr e 1 g de celulose bacteriana (CB). Após homogeneização, adicionaram-se lentamente 5,0 mmol de NaCIO sob agitação intensa, sob temperatura ambiente. O pH foi ajustado para 10,0-10,5 utilizando-se uma solução de NaOH 4% m/v e um pHmetro. O tempo de reação foi de 2 horas, até que o NaClO fosse completamente consumido (a mudança de cor da solução de amarelo para branco indica o fim da reação). A mistura foi neutralizada para pH 7,0 com ácido clorídrico. A CB oxidada foi centrifugada a 20 °C, 12.500 rpm por 15 minutos e redispersa em água destilada, repetindo-se o processo duas vezes. O material oxidado foi então disperso em 1 L de água destilada para se obter uma concentração final de 1% m/m. Para a nanofibrilação, utilizou-se um moinho coloidal em regime contínuo com circulação por 10 minutos, ajustando-se a distância entre os dentes para um quarto de volta.

### NFCB obtidos com processo que inclui o CMC (NFCB-CMC)

Para cada quatro gramas de celulose bacteriana (CB), adicionou-se 1 grama de CMC na proporção

4:1. O conteúdo (CB + CMC) foi dissolvido em água destilada para alcançar uma concentração final de 1% em massa. A CMC foi previamente dissolvida em água a 60 °C. Em seguida, utilizou-se um moinho coloidal em regime contínuo com circulação por 120 minutos, ajustando-se a distância entre os dentes para um quarto de volta. Para finalizar a nanofibrilação, a polpa obtida foi submetida a microfluidização de alta pressão, aplicando-se uma pressão de 20.000 psi e câmaras Z de 200 + 100 μm, por 10 ciclos de homogeneização.

A CMC ofereceu uma solução eficaz para a dispersão e estabilização das nanofibrilas em suspensão aquosa. O produto resultou em uma dispersão coloidal estável e homogênea com aspecto turvo (Figura 2A), contendo nanofibrilas com comprimento variável em micrômetros e diâmetro aproximado de 43 nm, além de apresentar alta carga superficial (Zeta > |-46| mV). A similaridade entre as nanofibrilas pode ser observada pelas imagens de TEM apresentadas nas Figuras 2B e 2C.

### Citotoxicidade das nanoceluloses obtidas por abordagens alternativas

Tanto NCCB2 quanto NFCB-CMC foram avaliadas sob uma perspectiva de segurança, levando-se em consideração sua exposição, seu destino e seus efeitos biológicos, a fim de estimar com maior precisão seus potenciais riscos (Cañas-Gutiérrez et al., 2024). Nesse contexto, a citotoxicidade das nanoceluloses foi avaliada conforme a norma internacional ISO 10993-5 e ISO 10993-12, que se referem aos efeitos adversos de uma substância em induzir alterações metabólicas nas células em cultura, podendo ou não resultar em morte celular (Gruber; Nickel, 2023). A classificação da citotoxicidade é determinada por meio da medição da viabilidade celular, geralmente expressa como o percentual de células viáveis em relação a um controle.



**Figura 2.** Suspensão de nanofibrilas de CB (A); micrografias TEM de NFCB (B); e NFCB-CMC (C). A barra de escala é de 2 µm.

Para o teste, foram utilizados fibroblastos murinos (ATCC L929), uma linhagem celular amplamente empregada em estudos de citotoxicidade, fornecendo uma primeira visão sobre a biocompatibilidade de diversos materiais. Essa linhagem celular é altamente sensível a mudanças no seu ambiente, permitindo a detecção de efeitos tóxicos sutis causados por nanomateriais, que podem interagir com as células de maneira diferenciada, dependendo de sua composição, estrutura e carga (Srikanth et al., 2020).

No caso da NFCB-CMC, os resultados indicaram uma leve citotoxicidade nas primeiras 24 horas, embora todos os valores tenham se mantido acima de 80%. Após 48 horas de exposição, todas as amostras apresentaram viabilidade celular estatisticamente semelhante ao controle. Por outro lado, a NCCB2 parece apresentar uma tendência inversa, com uma leve redução na viabilidade após 48 horas de contato, embora, assim como para NFCB-CMC, todas as viabilidades permaneçam acima de 80%. Estudos semelhantes com nanofibrilas de celulose e seus derivados demonstram que a citotoxicidade geralmente depende da dose, do tamanho e da funcionalização superficial (Aimonen et al., 2022).

De maneira geral, ambas as nanoceluloses demonstraram ser não citotóxicas nas doses testadas, uma vez que mantiveram a viabilidade celular acima de 80%, indicando um potencial promissor para seu uso como estabilizadores de emulsões Pickering, desde que estudos adicionais de biocompatibilidade in vivo validem sua segurança.

## Prototipagem – Modelagem e simulação de processos

Os dados obtidos em escala de laboratório foram usados para modelar o aumento de escala e determinar a viabilidade técnica e econômica, por meio de um software de simulação de processos industriais. Este software apresenta-se como o mais apropriado para a concepção de um estudo de viabilidade técnica e econômica, visto que possui um número considerável de operações unitárias para tal, como reatores, filtros, centrífugas, secadores, entre outros. Além do mais, permite que o usuário simultaneamente projete e realize a avaliação econômica, visto que é capaz de fornecer o custo dos equipamentos utilizados, entre outras informações importantes para o alcance do resultado.

As Figuras 3 e 4 apresentam os fluxos dos processos de produção da elevação da escala de produção nanocristais obtidos com neutralização (NCCB2) e de nanofibrilas com CMC (NFCB-CMC), respectivamente. As duas plantas foram escalonadas a um mesmo patamar de produção para possibilitar a análise dos seus índices de viabilidade econômica em termos quantitativos de produção. A produção foi estabelecida em 67 caixas contendo 100 unidades de 250 g de produto final por batelada. Os dois processos requerem tempos diferentes para produzir uma batelada: enquanto o processo para NCCB2 demanda 142,44 horas, o processo para NFCB-CMC requer somente 16,33 horas. Como consequência, o primeiro produz 11,75 kg/h de nanocristais de celulose bacteriana neutralizada, e o segundo 102,6 kg/h de nanofibrila de celulose bacteriana com CMC.

### Prototipagem do processo – Nanocristais de CB neutralizados (NCCB2)

A simulação considerou uma produção de 11,75 kg/h de NCCB2 durante 330 dias/ano. O investimento total de capital foi estimado em US\$ 12,37 milhões, enquanto o custo operacional anual foi projetado em US\$ 13,8 milhões. O custo unitário de produção foi calculado em aproximadamente US\$ 62,30 por quilograma.

Considerando-se as estimativas de preços futuros, os produtos formulados com NCCB2 deverão ter preços semelhantes aos dos produtos da área de cosméticos e cuidados pessoais, que utilizam agentes espessantes e emulsificantes em cremes e loções. Esses produtos são conhecidos por suas propriedades funcionais e pelo uso de ingredientes inovadores, refletindo a complexidade do processo de produção e o emprego de biopolímeros naturais. Estima-se que o preço mínimo de venda no atacado seja de US\$ 40 por quilograma, o que representa, em média, 60% dos preços praticados no varejo para essa categoria de produtos.

O elevado tempo de produção (batelada) exigido pelo processo estabelecido, aliado ao custo da matéria-prima – que representa cerca de 50% dos custos operacionais – indica que a produção de NCCB não é economicamente viável. A simulação econômica revelou índices negativos, com uma margem bruta de -55% e um retorno sobre o investimento (ROI) de -32,3%. Além disso, tanto o *payback* quanto a taxa interna de retorno foram classificados como não aplicáveis (N/A), e o valor presente líquido (VPL) apresentou um resultado negativo de US\$ -33,8 milhões (a taxa de desconto utilizada foi de 7%). A Figura 3 ilustra o processo de produção em escala de NCCB neutralizado, conforme gerado pelo software.



#### Processo de NCCB por Neutralização com NaOH

Figura 3. Processo de produção escalonado de NCCB neutralizado.

### Prototipagem do processo – Nanofibrilas e CMC (NFCB-CMC)

A simulação considerou uma produção de 102,6 kg/h de NFCB-CMC ao longo de 330 dias/ ano. O investimento total de capital foi estimado em US\$ 31,2 milhões, enquanto o custo operacional anual foi projetado em US\$ 55,7 milhões. O custo unitário de produção foi calculado em aproximadamente US\$ 29,30 por quilograma do produto final<sup>1</sup>.

Considerando-se estimativas de preços futuros, produtos formulados com NFCB-CMC, como molhos e maioneses, provavelmente terão preços equivalentes aos de itens veganos e funcionais que utilizam ingredientes inovadores. Essa expectativa se deve à complexidade do processo de produção e ao uso de polímeros naturais. Estima-se que o preço mínimo de venda no atacado seja de US\$ 29,40 por quilograma, o que corresponde, em média, a 60% dos preços praticados no varejo para produtos dessa categoria. Esses produtos, formulados com NF-CB-CMC, visam consumidores que buscam alternativas com menor teor de gordura, ingredientes mais naturais e um compromisso com a sustentabilidade, atraindo um público cada vez mais consciente das questões relacionadas à saúde e ao meio ambiente.

Entretanto, o elevado custo da matéria-prima, que representa aproximadamente 80,3% dos custos operacionais, sugere que a produção de NFCB--CMC não é viável economicamente. A simulação econômica revelou uma margem bruta de apenas 0,35%, um retorno sobre o investimento (ROI) de 22,55% e um *payback* estimado em 13,85 anos, com uma taxa interna de retorno de 0,11%. O valor presente líquido (VPL) foi calculado como negativo, totalizando US\$ -33,8 milhões. A Figura 4 ilustra o processo de produção em escala de NFCB-CMC, conforme gerado pelo software.

<sup>1</sup> Cotação de outubro de 2024 (1 US\$ = R\$ 5,44).



### Processo de Nanofibrilas CB e CMC

Figura 4. Processo de produção escalonado de NFCB-CMC.

### Emulsões Pickering

Uma emulsão Pickering óleo em água estabilizada com nanocelulose envolve diferentes mecanismos de estabilização. Os nanocristais tendem a se adsorver na interface óleo-água, formando uma barreira estérica ao redor das gotículas de óleo, o que ajuda a prevenir a coalescência e contribui para a estabilidade da emulsão. Além disso, interações eletrostáticas entre as partículas e a fase contínua podem desempenhar um papel importante, ajudando a manter as gotículas dispersas. Quando nanofibrilas estão presentes, elas podem formar uma rede tridimensional na fase contínua, o que tende a aumentar a viscosidade da emulsão. Essa rede tridimensional pode melhorar a estrutura do sistema, reduzir a tendência de aglomeração das gotículas e favorecer uma maior estabilidade global da emulsão (Pinto et al., 2024).

Ao explorarmos a aplicação da nanocelulose em emulsões Pickering, deparamo-nos com uma série de desafios e considerações importantes. Primeiramente, a escolha entre diferentes tipos de nanocelulose, como nanocristais (NC) ou nanofibrilas (NF), é um ponto de partida fundamental, pois cada tipo possui propriedades distintas, que influenciam diretamente na estabilidade e no desempenho das emulsões. Além disso, a concentração de nanocelulose é um aspecto crítico a ser considerado, já que concentrações muito altas podem resultar em aglomeração das partículas, levando à perda de estabilidade das emulsões.

A carga das nanopartículas também desempenha um papel importante, influenciando sua capacidade de adsorção e estabilização na interface óleo--água. Nesse sentido, estratégias como a adição de sal podem ser úteis para melhorar a estabilidade, modificando as interações entre as partículas e as gotículas dispersas.

### Emulsões Pickering estabilizadas com nanocelulose bacteriana

Emulsões de óleo de girassol (10% v/v) foram preparadas, combinando NCCB ou NFCB (1% m/m) com NaCl 50 mM. A mistura foi imediatamente emulsificada utilizando-se um misturador de alta intensidade de cisalhamento a 8.000 rpm por 5 minutos. No caso das emulsões contendo nanocristais, a mistura foi submetida a um processo de sonificação em um equipamento de 450 W, realizado em quatro ciclos de 1 minuto, com 30 segundos de tempo ligado/desligado e 60% de amplitude. Para as emulsões com nanofibrilas, utilizou-se um microfluidizador (câmaras de 200 µm + 100 µm, 20.000 psi, com quatro a oito passagens). A estabilidade das emulsões foi avaliada por microscopia óptica, utilizando-se um microscópio óptico com câmera acoplada e por medidas de Potencial Zeta, que analisaram o tamanho das gotículas e a estabilidade ao longo do tempo.

As emulsões mantiveram sua integridade estrutural e não apresentaram sinais de coalescência ou floculação. Isso reflete a adequação das nanopartículas, independentemente de suas variações de tamanho, carga e morfologia, para atuarem como agentes estabilizantes de emulsões Pickering.

Esse comportamento está claramente evidenciado nos resultados apresentados na Tabela 1, que mostra o aspecto macroscópico das emulsões Pickering estabilizadas com nanocristais (NCCB1 e NCCB2) e nanofibrilas (NFCB1 e NFCB2), o diâmetro médio das gotas (D<sub>32</sub>) e o potencial Zeta ( $\zeta$ ). A formulação mais estável foi a emulsão óleo/emulsão (O/A) com proporção 10/90, utilizando-se uma fase aquosa com 1,0% de nanocelulose.

Ao analisar os dados de diâmetro médio (D<sub>32</sub>), nota-se que as emulsões contendo nanofibrilas (NFCB1 e NFCB2) apresentaram gotas maiores em comparação às emulsões formuladas com nanocristais (NCCB1 e NCCB2). Isso era esperado, dado que as nanofibrilas possuem maior tamanho em relação aos nanocristais, o que influencia diretamente na estabilização das interfaces óleo-água e, consequentemente, no tamanho final das gotas. A maior superfície das nanofibrilas limita sua capacidade de formar gotas menores, resultando em diâmetros mais elevados nas emulsões.



**Tabela 1.** Aspecto macroscópico, diâmetro médio ( $D_{32}$ ) das gotas e potencial Zeta ( $\zeta$ ) das emulsões Pickering estabilizadas com NCCB1, NCCB2, NFCB1 e NFCB2 após 20 dias.

Outro fator de destaque é o efeito do microfluidizador utilizado na formulação NFCB2, que se mostrou determinante para a uniformização e redução do tamanho das gotas em relação à NFCB1. A microfluidização não só resultou em uma distribuição mais homogênea das gotas, como também reduziu significativamente o diâmetro médio de 8,34 µm (NFCB1) para 3,5 µm (NFCB2). Essa técnica promove uma dispersão mais eficiente das partículas e uma ruptura mais controlada das gotas, contribuindo para a produção de emulsões mais estáveis.

Ao analisar o potencial Zeta ( $\zeta$ ), observa-se que ambas as emulsões apresentaram gotículas com potencial negativo. A carboximetilcelulose (CMC) é geralmente negativamente carregada devido aos grupos carboxila que se ionizam em pH neutro ou levemente ácido, liberando íons H<sup>+</sup> e resultando em um excesso de carga negativa na superfície das partículas de CMC. Quando a CMC interage com as nanofibras de celulose, ela confere uma carga negativa à partícula CMC-NF (neste caso, a NFCB2), resultando em um potencial Zeta negativo para as gotículas da emulsão.

Por outro lado, a NFCB1 foi submetida à oxidação mediada por TEMPO, um processo que introduz grupos carboxila nas próprias nanofibrilas de celulose, e que, por fim, quando solvatam a gotícula de óleo, também conferem a estas cargas superficiais negativas. Além disso, embora a NFCB2 tenha apresentado uma diminuição no valor do potencial Zeta (ζ), em comparação com NFCB1, essa redução não comprometeu a estabilidade da emulsão, pois os valores permaneceram elevados, acima do valor de ±30 mV. Esse valor é considerado o limite mínimo para garantir a repulsão eletrostática necessária e, portanto, a estabilidade de dispersões coloidais, como as emulsões (Hunter, 2013). Essa repulsão eletrostática evita a coalescência das gotas, garantindo a estabilidade ao longo do tempo.

Os resultados demonstram que tanto os nanocristais quanto as nanofibrilas de celulose bacteriana foram eficazes na estabilização de emulsões Pickering. A microfluidização se mostrou uma ferramenta valiosa para otimizar a distribuição e reduzir o tamanho das gotas nas emulsões estabilizadas por nanofibrilas, sem comprometer a estabilidade eletrostática das formulações.

### **Considerações finais**

Este trabalho apresenta novas estratégias para otimizar a produção de nanocelulose produzida por fermentação bacteriana, com ênfase na simplificação e eficiência dos processos, objetivando um futuro escalonamento industrial. As soluções propostas oferecem alternativas ecologicamente mais adequadas e seguras, particularmente para aplicações em emulsões Pickering, utilizando-se nanomateriais de origem biológica e alinhados às exigências de rotulagem limpa (*clean label*). No entanto, sua aplicação ainda enfrenta desafios relacionados ao custo de produção da matéria-prima (celulose bacteriana) e ao atendimento de aspectos regulatórios, configurando-se em uma lacuna relevante.

A colaboração entre a indústria, os órgãos reguladores e a comunidade científica é essencial para conduzir estudos aprofundados e desenvolver processos eficazes e políticas regulatórias, garantindo a segurança e a viabilidade da nanocelulose bacteriana em produtos alimentícios.

### Referências

AIMONEN, K.; IMANI, M.; HARTIKAINEN, M.; SUHONEN, S.; VANHALA, E.; MORENO, C.; CATALÁN, J. Surface functionalization and size modulate the formation of reactive oxygen species and genotoxic effects of cellulose nanofibrils. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 19, n. 1, 2022.

ANDRADE, F. K.; MORAIS, J. P. S.; MUNIZ, C. R.; NASCIMENTO, J. H. O.; VIEIRA, R. S.; GAMA, F. M. P.; ROSA, M. F. Stable microfluidized bacterial cellulose suspension. **Cellulose**, v. 26, p. 5851-5864, 2019.

CAÑAS-GUTIÉRREZ, A.; HOYOS, C. G.; VELÁSQUEZ-COCK, J.; GAÑÁN, P.; TRIANA, O.; COGOLLO-FLÓREZ, J.; ZULUAGA, R. Health and toxicological effects of nanocellulose when used as a food ingredient: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 323, e121382, 2024.

CHOI, S. M.; RAO, K. M.; ZO, S. M.; SHIN, E. J.; HAN, S. S. Bacterial cellulose and its applications. **Polymers**, v. 14, n. 6, 1080, 2022.

GIRARD, V. D.; CHAUSSÉ, J.; VERMETTE, P. Bacterial cellulose: A comprehensive review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 141, n. 15, e55163, 2024.

GRUBER, S.; NICKEL, A. Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity assessment of an identical medical device. **Frontiers in Medical Technology**, v. 5, e1195529, 2023.

GRAS. **Notice for Fibrillated Cellulose**. Disponível em: <u>https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/</u> <u>gras-notice-inventory</u>. HUNTER, R. J. **Zeta potential in colloid science**: principles and applications. New York: Academic press, 2013. v. 2.

HUANG, J.; DUFRESNE, A.; LIN, N. (ed.). **Nanocellulose**: from fundamentals to advanced materials. New Jersey: John Wiley & Sons, 2019.

ISOGAI, T.; SAITO, T.; ISOGAI, A. Wood cellulose nanofibrils prepared by TEMPO electro-mediated oxidation. **Cellulose**, v. 18, p. 421-431, 2011.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5:2009. **Biological evaluation of medical devices** – Part 5: tests for in vitro cytotoxicity. Geneva, 2009.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-12:2021. **Biological evaluation of medical devices** – Part 12: sample preparation and reference materials. Geneva, 2021. MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. D. F.; BRITO, E. S. D.; AZEREDO, H. M. C. D.; FIGUEIRÊDO, M. C. B. D. Sustainable Pickering emulsions with nanocellulose: Innovations and challenges. **Foods**, v. 12, n. 19, e3599, 2023.

PINTO, N. O.; BOURBON, A. I.; MARTINS, D.; PEREIRA, A.; CERQUEIRA, M. A.; PASTRANA, L.; GONÇALVES, C. Bacterial cellulose nanocrystals or nanofibrils as Pickering stabilizers in low-oil emulsions: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 157, e110427, 2024.

SRIKANTH, M.; KHAN, W. S.; ASMATULU, R.; MISAK, H. E.; YANG, S. Y.; ASMATULU, E. In vitro cytotoxicity studies of industrially used common nanomaterials on L929 and 3T3 fibroblast cells. **Journal of the International Society of Sport Nutrition**, v. 1, n. 5, p. 192-200, 2020.

Embrapa Agroindústria Tropical Rua Pernambuco, 2.270, Pici 60511-110 Fortaleza, CE www.embrapa.br/agroindustria-tropical www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações Presidente: *José Roberto Vieira Junior* 

Secretária-executiva: Celli Rodrigues Muniz

Membros: Afrânio Arley Teles Montenegro, Aline Saraiva Teixeira, Eveline de Castro Menezes, Francisco Nelsieudes Sombra Oliveira, Helenira Ellery Marinho Vasconcelos, Kirley Marques Canuto, Laura Maria Bruno, Marlon Vagner Valentim Martins, Pablo Busatto Figueiredo, Roselayne Ferro Furtado e Sandra Maria Morais Rodrigues **Comunicado Técnico 290** ISSN 1679-6535 Abril, 2025

Edição executiva: *Celli Rodrigues Muniz* Revisão de texto: *José Cesamildo Cruz Magalhães* Normalização bibliográfica: *Rita de Cassia Costa* 

Cid (CRB-3/624)

Projeto gráfico: *Leandro Sousa Fazio* Diagramação: *José Cesamildo Cruz Magalhães* Publicação digital: PDF



Ministério da Agricultura e Pecuária

Todos os direitos reservados à Embrapa.