

## PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA A PARTIR DE MELAÇO DE SOJA HIDROLISADO

(Bruna S. Chagas<sup>1</sup>, Helder L. S. Lima<sup>2</sup>, Francisca A. E. de Brito<sup>3</sup>, Érika P. C. Gomes<sup>4</sup>, Mateus C. Leal<sup>5</sup>, Maria F. F. Silva<sup>6</sup>, Maria de F. Borges<sup>7</sup>, Morsyleide de F. Rosa<sup>8</sup>)

(<sup>1, 2, 4</sup> Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química, <sup>7, 8</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, <sup>3, 5, 6</sup> Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Alimentos) E-mail: brunasantana\_chagas@hotmail.com

**Classificação:** Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

### Resumo

Neste trabalho avaliou-se o potencial de produção de celulose bacteriana (CB) em meio de fermentação a base de melaço de soja hidrolisado. Foram estudadas condições de pré-tratamento tais como a concentração de ácido sulfúrico (0,0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 mol/L) adicionada e a concentração de melaço (75, 150, 250, 350, 450 e 550 g/L) para aumentar o teor de açúcares redutores. A hidrólise melhorou o desempenho do melaço como meio fermentação para a produção de CB, pois converteu parte dos oligossacarídeos em açúcares fermentescíveis. A solução aquosa de melaço 75 g/L hidrolisada (0,05 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) apresentou a melhor produção de CB (2,69 g/L). É possível utilizar melaço de soja na síntese de CB e o tratamento com ácido aumenta a produção do biopolímero.

**Palavras-chave:** Biopolímero; Fermentação; *Komagataeibacter*; Hidrólise ácida.

### PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE FROM HYDROLYSED SOY MOLASSES Abstract

This work evaluated the potential of bacterial cellulose (BC) production in a fermentation medium based on hydrolysed soy molasses. Pretreatment conditions such as the sulfuric acid concentration (0.0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mol / L) added and the concentration of molasses (75, 150, 250, 350, 450 and 550 g / L) to increase the content of reducing sugars. Hydrolysis improved the performance of molasses as a fermentation medium for the production of BC because it converted part of the oligosaccharides into fermentable sugars. The aqueous solution of hydrolysed 75 g/L molasses (0.05 mol / L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) showed the best BC production (2.69 g / L). Soy molasses can be used in the synthesis of BC and the treatment with acid increases the production of the biopolymer.

**Keywords:** Biopolymer; Fermentation; *Komagataeibacter*; Acid hydrolysis.

Publicações relacionadas:

CHAGAS, B. S. et al. Hydrolysed soy molasses as nutrient source for bacterial cellulose production. In: 3<sup>rd</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NATURAL FIBERS, p. 187-188, 2017.

## 1 INTRODUÇÃO

Celulose bacteriana (CB) é um biopolímero sintetizado por diversos gêneros de microrganismos, sendo o gênero *Komagataeibacter*, anteriormente *Gluconacetobacter* (YAMADA, et al., 2012), o mais estudado. A espécie *K. xylinus* destaca-se entre as demais devido sua capacidade superior de produção de CB a partir de diferentes fontes de carbono (glicose, frutose, melaço, glicerol ou outros substratos orgânicos) e nitrogênio sendo, portando, interessante para aplicação industrial.

A CB apresenta alta porosidade, excelente poder de absorção, boa resistência mecânica, elevado grau de pureza e cristalinidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade (SHAH et al., 2013). Essas características a torna promissora para ser utilizada em diferentes aplicações na indústria biomédica, alimentícia, cosmética, têxtil e eletrônica (GALLEGOS, 2016). No entanto, o meio de cultivo sintético pode representar até 30% do custo total de sua produção (RIVAS, 2004). Vários estudos têm sido realizados para a identificação de meios alternativos de fermentação visando reduzir os custos do processo de síntese desse biopolímero (CAMPANO et al., 2016; DUARTE et al., 2015).

O melaço de soja (MS), um subproduto da agroindústria da soja, apresenta em sua composição química entre 50-70% de carboidratos, 6-10% de proteínas, 7-21% de lipídeos, 4-6% de fibras e 6-8% de cinzas (SIQUEIRA et al., 2008; SILVA et al., 2012; GOMES, 2017). Devido ao seu teor de carboidratos e proteínas o MS pode ser considerado um meio de fermentação potencialmente promissor para a produção de CB. Contudo, o MS apresenta alta viscosidade e parte dos carboidratos presentes são oligossacarídeos não metabolizáveis pelas bactérias produtoras do biopolímero, sendo necessário proceder diluição e hidrólise para aumentar o teor de açúcares redutores. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial do melaço de soja hidrolisado como meio de fermentação para obtenção de CB.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O teor de açúcares redutores (AR) do MS foi quantificado pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959) e o teor de nitrogênio total determinado em Analisador de Carbono Orgânico Total Elementar (Shimadzu, modelo TOC – V CPN), utilizando o oxigênio como gás de arraste a uma velocidade de 150 mL/min.

Para determinar a concentração adequada de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) para hidrolisar o MS, soluções aquosas de 150 g/L de melaço foram adicionadas de diferentes alíquotas de ácido até as soluções atingirem as concentrações de 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 e 0,25 mol/L. Solução sem adição de  $H_2SO_4$  foi utilizada como controle. As soluções foram aquecidas a 90 °C durante 10 minutos. Em seguida, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de MS (75, 150, 250, 350, 450 e 550 g/L) sobre o incremento no teor de AR após hidrólise (0,05 mol/L de  $H_2SO_4$ ) seguida de tratamento térmico (90 °C/10 min).

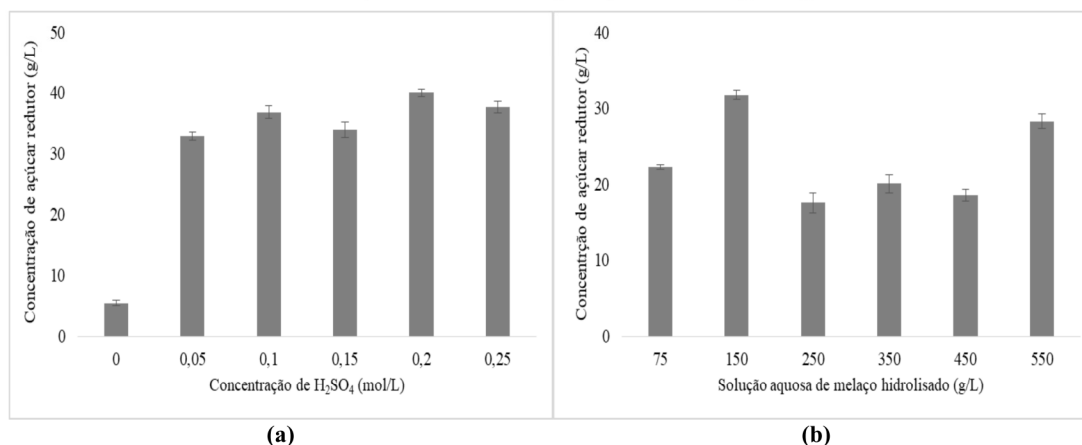
O potencial do MS como meio de fermentação na biossíntese de CB foi avaliado em meios formulados com 75 (MSH75) e 150 g/L (MSH150) de MS hidrolisado e não hidrolisado (MS75 e MS150) (pH 6.0). O meio de referência HS (HESTRIN; SCHRAMM, 1954) foi utilizado como controle. Para fermentação os meios foram distribuídos (70 mL) e esterilizados em frascos de cultura, inoculados com 10 % (v/v) de cultura de *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53582 e incubados a 30 °C/10 dias sob condição estática. Após a fermentação as películas de CB foram submetidas à lavagem, purificação (solução alcalina de NaOH (2 %) a 90 °C / 1 h) e neutralização. A produção de CB (g/L) foi determinada após secagem da película em estufa (100 °C) e pesagem em balança analítica.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O MS apresentou teores de açúcares redutores e de nitrogênio de 3,23 e 1,08 % m/m (base úmida), respectivamente. Esse resultado indica que o MS contém baixo teor de açúcares fermentáveis. Gomes (2017) constatou que 67 % dos carboidratos presente nesse melaço são oligossacarídeos como sacarose (30,5%), estaquiose (19%), rafinose (14%), xilose (2,9 %) e apenas 3,8 % são monossacarídeos (glicose, frutose e galactose). Portanto, tornou-se necessário realizar um pré-tratamento com ácido para obter um hidrolisado com maior teor de açúcares simples que possam ser facilmente metabolizados pela bactéria *K. xylinus*.

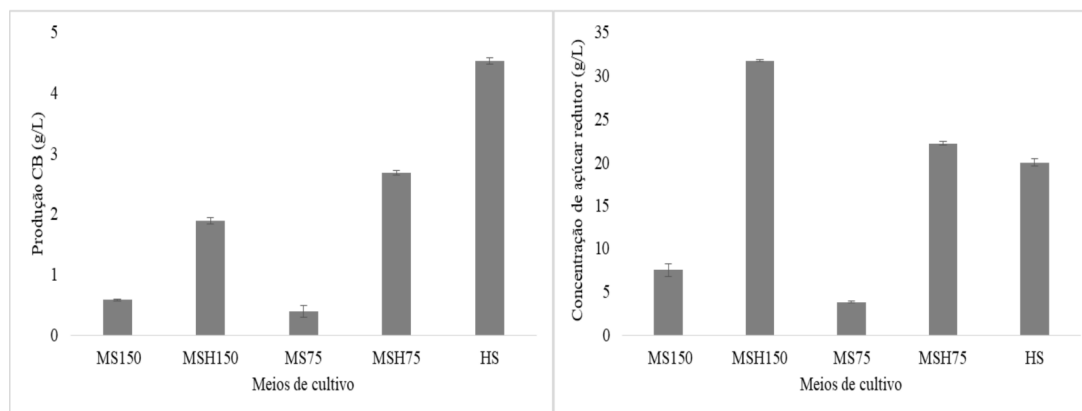
A adição de diferentes concentrações de  $H_2SO_4$  na solução aquosa de MS (150 g/L) aumentou a disponibilidade de AR. O teor de AR variou de 32,8 a 39,9 g/L (Fig. 1a). Observou-se um aumento de AR de aproximadamente 6 vezes quando o MS foi hidrolisado com 0,05 mol/L de  $H_2SO_4$ . Portanto, essa concentração de ácido foi selecionada para a hidrólise, pois proporcionou aumento satisfatório no teor de açúcares fermentescíveis (32,8 g/L), considerando que o meio de referência contém 20 g/L de AR (glicose). As demais concentrações avaliadas (0,1 a 0,25 mol/L de  $H_2SO_4$ ) não apresentaram incremento de AR proporcional a adição de ácido.

O teor de AR nas diferentes concentrações de MS hidrolisado foi bastante variável. Nas concentrações de 75 e 150 g/L MS observou-se um aumento na concentração de AR, entretanto, a partir da concentração de 250 g/L MS a hidrólise não foi efetiva (Fig. 1b). Vale ressaltar que os teores de AR (20 e 30 g/L) presentes nas soluções de 75 e 150 g/L de MS, respectivamente, são apropriados para fermentação.



**Figura 1.** (a) Efeito da concentração do ácido sulfúrico na hidrólise da solução aquosa de melão (150 g/L) e (b) Influência da concentração da solução de melão hidrolisado (0,05 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) no incremento no teor de açúcares redutores.

A biossíntese de CB variou em função da concentração de AR no meio de fermentação utilizado. A maior produção de CB foi observada no meio HS, seguida dos meios MSH75, MSH150, MS150 e MS75 (Fig. 2 a e b). A hidrólise elevou, em média, 4 vezes a produção de CB nos meios de melão, quando comparado com os meios não hidrolisados. Considerando os meios a base de MS, a melhor produção da CB (2,7 g/L) foi observada no meio MSH75 ( $\cong$  20 g/L AR). Bae e Shoda (2005) formularam meios a base de melão de cana-de-açúcar hidrolisado com diferentes concentrações de açúcar (20 a 70 g/L) e a maior produção (5,3 g/L) também foi observada no meio com 20 g/l de AR. É possível utilizar MS para síntese de CB, contudo, adequação do meio de melão, como suplementação e ajuste de pH, poderá contribuir para elevar a produção de CB.



**Figura 2.** (a) Produção CB nos diferentes meios formulados a base de melão de soja e HS; (b) Concentração de açúcar redutor nos meios de cultivo.

#### 4 CONCLUSÃO

O melão de soja hidrolisado é promissor como meio de fermentação para produção de CB e o tratamento com ácido aumenta a produção do biopolímero.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Agroindústria Tropical, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- BAE, S.; SHODA, M. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* BPR2001 using molasses medium in a jar fermentor. *Biotechnological Products and Process Engineering*, v. 67, p. 45-51, 2005.
- CAMPANO, C. et al. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. *Cellulose*, v. 23, p. 57-91, 2016.
- DUARTE, E. B. et al. Production of hydroxyapatite–bacterial cellulose nanocomposites from agroindustrial wastes. *Cellulose*, Houten, v. 22, n. 5, p. 3177-3187, 2015.
- GALLEGOS, A. M. A. et al. Bacterial Cellulose: A Sustainable Source to Develop Value-Added Products—A Review. *BioResources*, v. 11, p. 5641–5655, 2016.
- GOMES, R. J. Produção de celulose bacteriana e ácido acético, por bactérias do ácido acético – BAA isoladas de indústria vinagres, a partir de melaço de soja. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, 2017.
- HESTRIN S, SCHRAMM M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, v. 58, p. 345–352, 1954.
- MILLER G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, p. 426, 1959.
- RIVAS, B. et al. Development of culture media containing spent yeast cells of *Debaryomyces hansenii* and corn steep liquor for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 93-98, 2004.
- SHAH, N. et al. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. *Carbohydrate Polymers*, v. 98, n. 2, p.1585–1598, 2013.
- SILVA, F. B. et al. Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed soybean molasses. *Biochemical Engineering Journal*, v. 69, p. 61–68, 2012.
- SIQUEIRA, P. F. et al. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces Cerevisiae* at laboratory, Pilot and Industrial Scales. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 17, p. 8156–8163, 2008.
- YAMADA, Y. et al. Subdivision of the genus *Gluconacetobacter* Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998: The proposal of *Komagatabacter* gen. nov., for strains accommodated to the *Gluconacetobacter xylinus* group in the  $\alpha$ -Proteobacteria. *Annals Microbiology*, v. 62, p. 849-859, 2012.