
PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA UTILIZANDO SUCO DE SISAL COMO SUBSTRATO

H. S. L. LIMA¹, E. NASCIMENTO¹, A. I. BRÍGIDA², F. K. ANDRADE³, M. F. ROSA³, M. F. BORGES³

¹ Universidade Federal do Ceará – eligenessampaio@hotmail.com

² Embrapa Agroindústria de Alimentos – ana.iraidy@embrapa.br

³ Embrapa Agroindústria Tropical – fatima.borges@embrapa.br; morsyleide.rosa@embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** PA2

Resumo

No presente trabalho avaliou-se a produção de celulose bacteriana (CB) pela bactéria *Gluconacetobacter hansenii* CCT 1431 através de fermentação submersa estática utilizando o líquido do sisal como meio de cultivo alternativo. Efeito da concentração de substrato, pH do meio e suplementação na produção de CB foram investigados. Maior produção (3,38 g/L) foi obtida nas condições de 15 g/L de açúcar, pH 5 e 7,5g de extrato de levedo.

Palavras-chave: suco de sisal, fermentação submersa, *Gluconacetobacter*, celulose bacteriana

Publicações relacionadas

LIMA, H. S. L.; NASCIMENTO, E.; BRÍGIDA, A. I. S.; ANDRADE, F. K.; ROSA, M. F.; BORGES, M. F. Aproveitamento do líquido do sisal como substrato para produção de celulose bacteriana. In: XIX Simpósio Nacional de Bioprocessos. 2013.

Introdução

A celulose bacteriana (CB) é um polissacarídeo extracelular produzido principalmente por bactéria do gênero *Gluconacetobacter*. Quando obtida por processo fermentativo submerso estático, a CB se apresenta na forma de um filme com propriedades especiais que possibilitam a aplicação em diversas áreas de pesquisa (Chawla et al., 2009). Algumas pesquisas apontam para o uso de coprodutos e resíduos da agroindústria na produção de CB (Kurosumi et al., 2009). O uso de fontes de carbono alternativas em processos fermentativos são de grande interesse, uma vez que possibilitam a redução de custos do produto final e permitem o aproveitamento de resíduos ou produtos da agroindústria, diminuindo assim o impacto ambiental causado por eles.

Dentre os resíduos da agroindústria brasileira pouco explorados, tem-se o líquido de sisal ou suco

de sisal. O sisal é uma planta de origem mexicana que têm o seu plantio direcionado para a produção de fibra dura. O Brasil é o principal produtor desse tipo de fibra cuja cadeia produtiva gera em torno de 80 milhões em divisas e meio milhão de empregos.

Poucos trabalhos têm sido desenvolvidos no âmbito de agregar valor a este resíduo que atualmente tem sido abandonado nos campos de produção saturando o solo com matéria orgânica (ANDRADE et al., 2013). Nesse contexto, insere-se o objetivo do presente trabalho que consiste em avaliar a produção de celulose bacteriana utilizando o líquido do sisal como fonte alternativa de carbono.

Materiais e métodos

Caracterização do suco

O suco do sisal foi cedido pela Embrapa Algodão e foi armazenado á -18°C até a execução do trabalho. O mesmo foi caracterizado quanto sua

composição de açúcares por HPLC, teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, pH e sólidos solúveis totais expresso em °brix (BRASIL, 2005).

Estudo da influência das condições de cultivo na produção de CB

Utilizando-se a linhagem *G. Hansenii* CCT 1431, avaliou-se o efeito da concentração inicial de açúcares (2,5 a 15 g/L), do pH inicial de fermentação (3 a 8) e da concentração inicial de nitrogênio no meio (0,62 a 4,07 g/L) na produção de CB (g/L) e no rendimento do processo (%). Para o estudo de nitrogênio, a influência da suplementação do meio com extrato de levedura e/ou sulfato de amônio foi avaliada através de um planejamento experimental 2² completo com ponto central e axial. A faixa estudada foi de 0 a 15 g/L de extrato de levedura e 0 a 10 g/L de sulfato de amônio, e a produção de CB (g/L) e rendimento (%) foram definidos como variáveis resposta.

Inóculo e incubação

Estabeleceu-se um inóculo de 3% (v/v) preparado após ativação da cultura em caldo HS descrito em Hestrin e Schramm (2000). Após esterilização dos meios (121 °C por 15 minutos), formulados conforme cada caso, procedeu-se a inoculação e distribuição de 100 mL de meio em placa de petri de 14,5 cm de diâmetro. A fermentação submersa ocorreu sob condições estáticas à 30°C por 5 dias.

Determinações analíticas

Após a fermentação, as películas de celulose formadas foram recolhidas e, os meio fermentados, filtrados e separados para análise. As membranas foram purificadas através de tratamento alcalino. Para tal as películas foram lavadas individualmente com água e submetidas á tratamento térmico à 100°C imersas em solução de NaOH 4% (m/v) por 1 hora e posteriormente á 55°C por 1 hora em solução composta por H₂O₂ 1% (v/v) e NaOH 4% (m/v). Depois, as películas foram lavadas em água destilada até a neutralização. A massa de celulose foi determinada através de secagem e pesagem da película a 170 °C em balança de infra-vermelho. Determinou-se os açúcares totais pelo método de DNS descrito em Miller (1959) após hidrólise ácida das amostras.

Resultados e discussão

Através da análise de HPLC pôde-se observar que o suco de sisal possui, em média, 12,39 g/L de glicose, 1,49 de sacarose e 1,17 g/L de frutose. Uma vez que o líquido do sisal utilizado no presente estudo possui razoável teor de açúcar, sendo em maior parte constituído por glicose (82,4%), este é passível de ser um meio alternativo para processos fermentativos, em especial, para produção de CB.

A Tab. 1 apresenta os resultados para a etapa inicial do estudo onde avaliou-se o efeito da concentração de açúcares na produção de CB. Observa-se que a linhagem *G. hansenii* CCT 1431 mostrou capacidade de sintetizar CB no intervalo estudado com destaque para a condição de 15 g/L de açúcares onde se obteve a maior produção (2,6 g/L). E, apesar de ter-se observado um aumento gradativo na produção de celulose, na faixa estudada, o rendimento permaneceu constante. Não houve variação significativa no pH final do extrato fermentativo entre os experimentos, ficando em torno de 8,6.

Tab. 1 – Efeito da concentração açúcar na produção de CB por *G. hansenii*, utilizando suco de sisal como fonte alternativa de carbono.

Açúcares (g/L)	Celulose (g/L)	Rend. (%)	Açúcar consumido (% _g , g/g)
2,5	0,66a	29,54a	85,93a
5	0,97a	25,48a	74,75ac
7,5	1,42b	27,29a	67,42bd
10	1,99c	26,76a	59,34b
15	2,60d	25,45a	64,77bc

* Letras iguais (a, b, c, d, e, f) na mesma coluna não apresentam diferenças significativas ($\alpha=0,05$).

A Tab. 2 apresenta os resultados do estudo do efeito do pH na produção de CB. A maior produção foi observada nas condições de pH 5 e 6 e o melhor rendimento foi observado em pH 5. Não houve formação de CB nas condições de pH 3 e 8. Tem sido reportado que, em valores de pH muito ácidos, há inibição de crescimento e produção de CB (Chawla et al., 2009). Meios com pH mais elevados

devem induzir a outra rota metabólica já que, embora não tenha produzido CB em pH 8, a bactéria consumiu mais de 90% do açúcar presente.

Tab. 2 – Efeito do pH inicial da fermentação na produção de CB por *G. hansenii* utilizando suco de sisal como fonte alternativa de carbono.

pH inicial	Celulose (g/L)	Rendimento (%)
3	0,00a	0,00a
4	1,32b	10,54b
5	2,60c	23,29c
6	2,62c	19,07d
7	1,92d	17,44d
8	0,00a	0,00a

* Letras iguais (a, b, c, d, e, f) na mesma coluna não apresentam diferenças significativas ($\alpha=0,05$).

Os efeitos da concentração de nitrogênio, bem como da fonte de suplementação, na produção de celulose bacteriana foram avaliados através de um planejamento fatorial 2^2 com ponto central e axial. A análise dos dados foi feita no intervalo de confiança de 95%. Para a variável resposta celulose (g/L) foi observado efeito significativo apenas para a concentração de sulfato de amônio, sendo observado um decréscimo na produção de CB com o aumento da mesma. Contudo, no intervalo de confiança de 90%, a concentração de extrato de levedo também é significativa, observando-se uma maior produção de CB com o aumento desta. Ao nível de 95%, nenhuma variável estudada apresentou efeito significativo para a variável resposta rendimento (%). Çoban e Biyik (2011) também observaram maior produção e melhores rendimentos com o uso de extrato de levedura quando comparados com sulfato de amônio.

Conclusões

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que, maior produção de CB por *G. Hansenii* CCT 1431 utilizando sisal como fonte de carbono é obtida utilizando-se 15 g/L de açúcar total, pH 5 e 7,5 g/L de extrato de levedo. Quanto ao efeito da suplementação, este apresenta uma faixa ótima para extrato de levedo de 4 a 15 g/L, sendo observada uma redução na produção de CB em cultivos suplementados com sulfato de amônio.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

Referências

- ANDRADE, R.; ORNELAS, J.; BRANDÃO, W. Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. Comunicação. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/pdf/3_comunicacao01v9n1.pdf>. Acesso em: 28 jan, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Edição IV. Instituto Adolfo Lutz. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
- CHAWLA P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. - Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications - Fermentative Production of Microbial Cellulose, Food Technol. Biotechnol. v. 47, n. 2, p. 107-124, 2009.
- ÇOBAN, E. P.; BIYIK, H. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter lovaniensis* HBB5. African Journal of Biotechnol. v. 1, n. 27, p. 5346-5354, 2011.
- KUROSUMI, A.; SASAKI, C.; YAMASHITA, Y.; NAKAMURA, Y. Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. Carbohydrate Polymers. v. 76, n 2, p. 333-335, 2009.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analyt. Chem., v. 31, p. 426, 1959.