
PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA PELA CEPA *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 1431 COM DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO

L.M.F. GOTTSCHALK, A.I.S. BRÍGIDA, E.M. PENHA, J.P.L. SILVA, E.F. SOUZA, S.C. TERZI,
L.A.N. VIANA e E.M.M. OLIVEIRA

Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470, Rio de Janeiro, Brasil, leda.fortes@embrapa.br

Projeto Componente: 04 Plano de Ação: 02

Resumo

O presente trabalho avaliou as diferentes fontes de nitrogênio na produção de celulose pela cepa *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 1431. As diferentes fontes de nitrogênio (extrato de levedura, milhocina, peptona, sulfato de amônio, nitrato de sódio e ureia) foram adicionadas ao meio sintético mantendo uma relação C/N fixa de 15,5. Os experimentos foram conduzidos por 7 dias em fermentação estática a 28°C. Os resultados obtidos mostraram que o meio contendo o extrato de levedura com sulfato de amônio resultou na maior produção de celulose (0,44 g/L).

Palavras-chave: Celulose, *gluconacetobacter*, fonte de nitrogênio

Publicações relacionada

GOTTSCHALK, L.M.F.; PENHA, E.M.; SOUZA, E.F.; TERZI, S.C.; VIANA, L.A.N.; SILVA, J.P.L.; OLIVEIRA, E.M.M. Cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in a medium containing agave juice. Proceedings 16th IUFoST

Introdução

A celulose sintetizada por microrganismos, conhecida como celulose bacteriana (CB), é um biopolímero obtido a partir da fermentação de meios de cultura ricos em sacarídeos. O fato de ser quimicamente pura a distingue favoravelmente da celulose obtida a partir da biomassa vegetal, associada geralmente à lignina e à hemicelulose.

Além dessa característica, a CB vem atraindo a atenção do meio científico e tecnológico pelo fato de não promover reações tóxicas ou imunológicas quando inseridas ou em contato com tecidos vivos, apresentar alta porosidade, elevado grau de polimerização, baixa densidade e alta capacidade de absorção e retenção de água. Devido às suas características e peculiaridades, a CB pode ser aplicada na indústria alimentícia como espessante; na medicina, como substituto temporário da pele humana e no desenvolvimento de novos materiais

poliméricos (Ross et al., 1991). A espécie *Gluconacetobacter hansenii* identificada como uma espécie estritamente aeróbica, gram-negativa, tem sido considerada um organismo modelo para o estudo da síntese de celulose (Lyer et al., 2010).

Dependendo da forma do processo (estático ou agitado), existe uma variação nas propriedades da celulose obtida (Galas et al., 1999). Nas condições de cultura estacionária, uma membrana espessa e gelatinosa de CB é acumulada na superfície de um meio de cultura, ao passo que em condições de cultura agitada, a celulose pode ser produzida na forma de uma suspensão fibrosa, pellets ou esferas (Krystynowicz et al., 2002).

Embora a celulose bacteriana esteja entre os biopolímeros de maior interesse, aspectos como o tipo de substrato e condições de cultivo podem também influenciar o curso da biossíntese e consequentemente as propriedades do biopolímero obtido (Klemm et al., 2009). Desde a descoberta da

produção da celulose bacteriana, o meio sintético mais utilizado, meio HS (Hestrin e Schramm, 1954), possui glicose como fonte de carbono e extrato de levedura e peptona como fontes de nitrogênio. O presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes fontes de nitrogênio na produção da celulose pela cepa *G. hansenii* ATCC1431 em meio sintético.

Materiais e métodos

Produção da celulose

A cepa *G. hansenii* ATCC 1431, foi mantida em ágar manitol sob refrigeração. O pré-inóculo foi preparado com caldo manitol e incubado a 28°C por 48-72 horas. O inóculo de 5% (v/v) da suspensão de células de *G. hansenii* foi adicionado ao meio sintético HS (20 g/L de glicose, 1,15 g/L de ácido cítrico e 2,7 de fosfato de sódio) com as diferentes fontes de nitrogênio separadas ou combinadas (extrato de levedura, milhocina, peptona, sulfato de amônio, nitrato de sódio e ureia) mantendo uma relação C/N fixa de 15,5. A fermentação foi realizada em Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio, com pH inicial ajustado em 6,0, a 28°C por 7 dias.

Purificação da celulose bacteriana

As películas obtidas na superfície dos meios de cultivos foram purificadas por imersão com solução aquosa de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 2% por 2 horas (em 3 lavagens) para remoção dos resíduos de célula bacteriana. Em seguida, aquecidas numa solução aquosa de NaOH 1M a 80°C por 30min, e então lavadas com água deionizada várias vezes. Por fim, as películas foram lavadas para remoção do álcali residual e secas em estufa a 65-70°C até peso constante.

Determinação do açúcar redutor

A concentração de açúcares redutores foi determinada pelo método do DNS (Miller, 1959), utilizando glicose como padrão.

Resultados e discussão

Inicialmente, as fontes de nitrogênio foram avaliadas isoladamente e o extrato de levedura resultou numa maior produção da celulose bacteriana (0,405 ± 0,057 g/L) seguido da milhocina (0,148 ± 0,059 g/L). Quando as fontes de fácil assimilação como a peptona, o sulfato de amônio, o nitrato de sódio e a ureia foram utilizados como única fonte de nitrogênio, não foi observada produção de celulose e nem consumo de glicose (Tab. 1).

Como o meio HS tem uma fonte não repressora (YE) com uma fonte de fácil assimilação (peptona), foi avaliada a influência da ureia, sulfato de amônio e nitrato de sódio com YE, mantendo a mesma relação C/N do meio HS. O resultado obtido com o sulfato de amônio foi praticamente igual ao obtido com o meio HS, mas o rendimento por substrato consumido foi levemente superior (3,29%) quando comparado ao meio HS (2,42%), indicando que o metabolismo da bactéria nesse meio favoreceu a produção da celulose.

Tab. 1 – Comparação dos resultados nos diferentes meios avaliados

	Açúcar redutor (g/L)	celulose (g/L)	pH	Açúcar consumido (g/L)	YP/S
YE	2,65	0,405	4,71	17,35	2,34
Milhocina	4,18	0,148	3,33	15,82	0,93
Peptona	19,94	0,000	5,88	0,06	0,00
(NH ₄) ₂ SO ₄	20,38	0,000	5,80	0,00	0,00
NaNO ₃	20,18	0,000	5,90	0,00	0,00
Ureia	20,13	0,000	5,92	0,00	0,00
YE + Peptona (HS)	1,94	0,436	5,05	18,06	2,42
YE + Ureia	4,81	0,391	4,00	15,19	2,57
YE + (NH ₄) ₂ SO ₄	6,64	0,440	4,32	13,36	3,29
YE + NaNO ₃	8,77	0,064	3,41	11,23	0,57

Conclusões

O extrato de levedura demonstrou ser a melhor fonte de nitrogênio para a produção da celulose. E o rendimento do produto por substrato consumido do meio contendo extrato de levedura e sulfato de amônio foi superior ao obtido com o meio sintético HS.

Agradecimentos

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

Referências

ALVES-MIS 'KIEWICZ, M TURKIEWICZ AND S BIELECKI. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v. 29, p. 189-195, 2002.

GALAS, E; KRYSZYNOWICZ, A.; TARABASZ-SZYMANSKA, L.; PANKIEWICZ, T.; RZYSKA, M. Optimization of the production of bacterial cellulose using multivariable linear regression analysis. *Acta Biotechnol*, v. 19, p. 251-260, 1999.

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; KRAMER, F.; HESSLER, N.; KOTH, D.; SULTANOVA, B. Nanocellulose Materials - Different Cellulose, Different Functionality. *Macromolecular Symposia*, v. 280, p. 60-71, 2009.

LYER, P.R.; GEIB, S.M.; CATCHMARK, J.; KAO, T.; TIEN, M. Genome sequence of a cellulose-producing bacterium, *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769. *J. of Bacteriol.*, v. 192(16), p. 4256-4257, 2010.

KRYSZYNOWICZ, A.; CZAJA, W.; WIKTOROWSKA-JEZIERSKA, A.; M GONC MILLER G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, v. 31, p. 426-428, 1959.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol Rev*, v. 55, n. 1, p. 35–58, 1991.