

Congresso
Internacional da
Agroindústria
10 e 11 de junho



Inovação,
Gestão e
Sustentabilidade
na Agroindústria

AVALIAÇÃO DO CUSTO DE PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA USANDO SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

EVALUACIÓN DEL COSTE DE PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA UTILIZANDO SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

EVALUATION OF BACTERIAL CELLULOSE COST PRODUCTION USING AGRO-INDUSTRIAL BY-PRODUCTS

Pires, M.C. S¹; Souza, E.F.²; Gottschalk, L.M.F²

INTRODUÇÃO

Os biopolímeros exibem alto potencial de uso em substituição a plásticos e polímeros sintéticos, por serem materiais biodegradáveis e renováveis. Dentre estes, a celulose bacteriana (CB) tem sido usada em aplicações farmacêuticas, biomédicas, membranas condutoras, cosméticos e embalagens comestíveis/ inteligentes mas seu potencial pode ser muito maior se a produção ocorrer em larga escala. No entanto, a produção em escala industrial esbarra em limitações como o alto custo dos meios de cultivo e baixo rendimento. A solução para reduzir o custo pode estar no uso de subprodutos da agroindústria como meio de cultivo, por serem boas fontes nutricionais, ao passo que minimizam os impactos ambientais causados pela deposição do subproduto no ambiente. O objetivo do presente trabalho foi comparar o rendimento de produção da CB nos métodos agitado e estático, usando o meio padrão HS e meios alternativos com suco de caju e melão de soja. Além disso, o custo de produção dos meios utilizados foi avaliado economicamente.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A CB se destaca por sua estrutura reticulada ultrafina, alta cristalinidade, resistência à tração, hidrofilicidade e biocompatibilidade (LIN et al., 2013; ROUABHIA et al., 2014).

Vários microrganismos podem produzir celulose bacteriana. *Komagataeibacter xylinus*

¹ Graduanda em farmácia, Universidade Estadual da Zona Oeste moniqueserpi@gmail.com

² Embrapa Agroindústria de Alimentos, erika.fraga@embrapa.br

² Embrapa Agroindústria de Alimentos, leda.fortes@embrapa.br

AVALIAÇÃO DO CUSTO DE PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

se destaca pela capacidade de produzir CB com diferentes fontes de carbono e nitrogênio (HUANG et al, 2014). O método de produção pode ser estático, bem elucidado, entretanto, inviável para escala industrial devido longo tempo de biossíntese ou agitado, que exibe alto rendimento e grande potencial para uso em escala comercial, mas o produto formado tem qualidade inferior e pode levar a formação de células mutantes negativas que crescem, turvam o meio e não produzem celulose (RECOUVREUX et al., 2011; WANG et al., 2016).

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do Brasil e o nordeste brasileiro é um grande produtor de caju, cujo produto de maior importância é a castanha (FONTES et al., 2013, EMBRAPA, 2019). O suco de caju (SC) é rico em carboidratos e pobre em nitrogênio, necessitando de suplementação, que pode ser feita com o melaço de soja, rica fonte desse nutriente. Estudos realizados por Duarte et al., (2015), Pinheiro (2016) e Souza et al., (2020) têm mostrado o uso desses subprodutos na produção de celulose bacteriana.

METODOLOGIA

Substratos

Os reagentes utilizados na elaboração dos meios foram adquiridos na empresa Merck®. O suco de caju foi coletado em Pacajus (Ceará, Brasil), o melaço de soja foi gentilmente doado pela Selecta® soybean(Araguari, Minas Gerais, Brasil), armazenados em recipientes a 4 ° C até a sua utilização.

Caracterização de substratos

O teor de proteínas foi determinado pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951), os lipídios foram determinados com extração com éter usando um sistema automático (Ankom XT15, EUA). Os açúcares redutores totais (glicose e frutose) foram determinados pelo método DNS (MILLER, 1959). Os resultados serão apresentados com a média da triplicata.

Microrganismo e meios de cultura

A cepa *K. xylinus* ATCC 53582 foi utilizada para produção de CB. Para o pré-inóculo, a bactéria foi inoculada em tubos contendo 5 mL de meio padrão HS. Os tubos foram incubados a 30 ° C por 48 h. Após este período, os pré-inóculos foram misturadas e usadas para inocular o meio.

Meios de cultura

Meio HS: O meio padrão usado neste estudo foi composto por (g L⁻¹): glicose - 20; peptona - 5; extrato de levedura - 5; fosfato dissódico (anidro) - 2,7; ácido cítrico (monohidrato) - 1,15.

Meio suco de caju com extrato de levedura: O SC foi filtrado através de um filtro de papel qualitativo (Unifil, Alemanha) para separar o material sólido em suspensão. Os açúcares redutores foram determinados pelo método DNS e o suco foi diluído com água destilada até a concentração final de açúcares redutores de 20 g L⁻¹. Separadamente uma solução de extrato de levedura (10 g L⁻¹) foi preparada e adicionada ao meio.

Meio suco de caju com melão de soja: O SC filtrado foi diluído com água destilada para 20 g L⁻¹ de açúcares redutores. O melão de soja diluído a 12 g L⁻¹ foi adicionado como fonte de nitrogênio.

Nos meios usados no cultivo agitado foram adicionados de 1,5% de carboximetilcelulose.

Condições de produção CB

Após o preparo, em triplicata, os meios preparados foram distribuídos, 50 mL de cada meio em Erlenmeyer de 250 mL e autoclavado a 121° C por 15. O inóculo foi realizado de acordo com a D.O. obtida. Os cultivos foram realizados a 30° C durante 3 dias em condições estáticas e agitadas em Shaker 150 rpm para comparação.

Recuperação e purificação da celulose bacteriana

Após a fermentação, o meio foi centrifugado (Thermo Fisher Sci-entific, Waltham, MA, EUA) a 4000 rpm por 15 min. As membranas e géis de CB foram colhidos e purificados por tratamento com NaOH 1 M a 80 ° C durante 1 h (A CB produzida em meio alternativo passou por uma etapa prévia com SDS). Por fim, a CB foi lavada com água destilada até pH 7,0 e submetida a secagem em estufa por 24 h a 60°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização do substrato

O suco de caju apresenta 105 g L⁻¹ de açúcares redutores, 0,32 g 100 g⁻¹ de cinzas e 0,05 g 100 g⁻¹ de nitrogênio total. O melão contém 153 g L⁻¹ de açúcares redutores, 67 g L⁻¹ de proteínas e 11,62 g 100 g⁻¹ de cinzas, fontes nutricionais importantes para o crescimento bacteriano (SIQUEIRA et al., 2008). Considerando que o suco de caju apesar de ser rico em

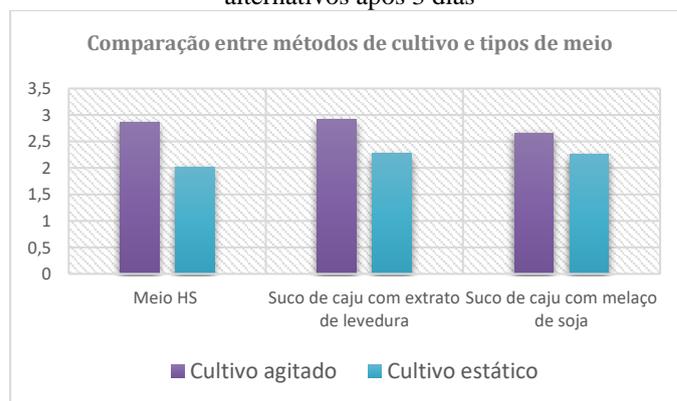
AVALIAÇÃO DO CUSTO DE PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

açúcares, é pobre em nitrogênio, o extrato de levedura e melão de soja foram avaliados como fonte de nitrogênio.

Produção de celulose bacteriana

Devido a tendência de formação de células mutantes negativas em cultivo agitados, estudos sugerem o uso de aditivos que inibam esse processo, como os polímeros, capazes de reduzir a mutação por interferir na viscosidade do meio. Nesse estudo foi utilizada a carboximetilcelulose por demonstrar considerável aumento na produção de CB, além de favorecer a formação de pellets (CHENG et al., 2009). Os resultados obtidos no cultivo estático foram 2,02 g/L, 2,27 g/L e 2,25 g/L respectivamente para o meio padrão HS e alternativos caju com extrato e caju com melão. Os resultados obtidos no cultivo agitado foram 2,86 g/L, 2,91 g/L e 2,66 g/L respectivamente para o meio padrão HS e alternativos caju com extrato e caju com melão.

Figura 01: Rendimento de celulose bacteriana em cultivo estático e agitado com meio padrão e meios alternativos após 3 dias



Fonte: Própria (2021)

A adição de CMC ao cultivo agitado levou ao aumento do rendimento de CB, em comparação ao cultivo estático para todos os meios testados, conforme pode ser observado na Figura 1, viabilizando dessa forma o cultivo agitado em detrimento ao estático. Dentre os meios alternativos analisados, o cultivo agitado no meio suco de caju com extrato de levedura levou ao maior rendimento (2,91 g/L). Ainda assim, o meio suco de caju com melão de soja também se mostrou com rendimento satisfatório nas condições testadas.

Custo dos meios de cultivo

Ao longo dos anos, diferentes subprodutos agroindustriais foram avaliados para a produção de CB (Fan et al., 2016; Güzel e Akipinar 2019) e a associação entre melão de soja

e suco de caju (Souza et al., 2019) apresentou resultado superior aos demais. Como pode ser observado no Quadro 01 o uso de subprodutos agroindustriais suco de caju e melão de soja possibilitou a redução dos custos do meio de cultivo. O meio suco de caju com extrato de levedura reduziu em 40%, enquanto o meio suco de caju com melão de soja reduziu em 70% em comparação com o custo estimado para a produção em meio HS.

Quadro 01: Custo do meio de cultivo padrão e alternativo sob agitação.

Meio HS	R\$ Kg-1 reagente	g L-1	Custo médio	
Glicose	456	20	9,12	
Extrato de levedura	933	5	4,66	
Peptona	1760	5	8,80	
Ácido Cítrico	560	1,5	0,84	
Fosfato dissódico (anidro)	738	2,7	1,99	
Carboximetilcelulose	912	10	9,12	
Meio HS R\$ L-1				34,54
Meio suco de caju com extrato de levedura	R\$ L-1 reagente	mL L-1	g L-1	Custo médio
Suco de caju	4,4	200	AT	0,88
Extrato de levedura	933	-	12	11,20
Carboximetilcelulose	912	-	10	9,12
Meio suco de caju com extrato de levedura R\$ L-1				21,20
Meio suco de caju com melão de soja	R\$ L-1 reagente	mL L-1	g L-1	Custo médio
Suco de caju	4,4	200	AT	0,88
Melão de soja	0,3	150	AT	0,04
Carboximetilcelulose	912	-	10	9,12
Meio suco de caju com melão de soja R\$ L-1				10,05

CONCLUSÃO

Foi possível produzir a celulose bacteriana usando meios alternativos tanto no método agitado quanto no estático. Em todos os meios avaliados, a produção no cultivo agitado adicionado de carboximetilcelulose 1% foi maior do que no cultivo estático. A maior produção de celulose (2,91 g/L) foi obtida em suco de caju com extrato de levedura, sendo esse rendimento próximo ao obtido com o meio padrão HS e com custo 40% inferior.

REFERENCIAS

CHENG, Kuan-Chen; CATCHMARK, Jeffrey M.; DEMIRCI, Ali. Effect of different additives on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* and analysis of material property. *Cellulose*, v. 16, n. 6, p. 1033-1045, 2009.

AVALIAÇÃO DO CUSTO DE PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

DUARTE, Eden B. et al. Utilização de resíduos agroindustriais na elaboração de bionanocompósitos baseados em celulose bacteriana e Hidroxiapatita. In: **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 13., 2015, Natal. São Carlos: Associação Brasileira de Polímeros], 2015., 2015.

FAN, Xin et al. Production of nano bacterial cellulose from beverage industrial waste of citrus peel and pomace using *Komagataeibacter xylinus*. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 1068-1072, 2016.

GUBA, E. G.; LINCOLN, Y. S. **Fourth generation evaluation**. Newbury Park, London, New Delhi: Sage, 1989.

GÜZEL, Melih; AKPINAR, Özlem. Production and characterization of bacterial cellulose from citrus peels. **Waste and biomass valorization**, v. 10, n. 8, p. 2165-2175, 2019.

HUANG, Yang et al. Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 1-30, 2014.

LIN, Shin-Ping et al. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 20, n. 5, p. 2191-2219, 2013.

LOWRY, Oliver H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of biological chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MILLER, Gail Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

PINHEIRO, JOSÉ AURÉLIO. Aspectos técnicos e avaliação de ciclo de vida da extração de nanocristais de celulose bacteriana produzida em suco de caju. **Embrapa Agroindústria Tropical-Tese/dissertação**. 2016.

RECOUVREUX, D., RAMBO, C., BERTI, F., CARMINATTI, C., ANTÔNIO, R., PORTO, L. Novel threedimensional cocoon-like hydrogels for soft tissue regeneration. **Mater. Sci. Eng.**, v. 31, p. 151- 157, 2011.

ROUABHIA, Mahmoud et al. Production of biocompatible and antimicrobial bacterial cellulose polymers functionalized by RGDC grafting groups and gentamicin. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 3, p. 1439-1446, 2014.

SIQUEIRA, Paula F. et al. Produção de bioetanol a partir de melaço de soja por *Saccharomyces cerevisiae* em escala de laboratório, piloto e industrial. **Tecnologia Bioresource**, v. 99, n. 17, pág. 8156-8163, 2008.

SOUZA, Erika F. et al. Production and characterization of *Gluconacetobacter xylinus* bacterial cellulose using cashew apple juice and soybean molasses. **International journal of biological macromolecules**, v. 146, p. 285-289, 2020.

WANG, Z.-G. et al. Preparation of an inoculum of *Gluconacetobacter xylinus* without mutants in shaken culture. **Journal of applied microbiology**, v. 121, n. 3, p. 713-720, 2016.