

# CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA OBTIDA A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

E. B. Duarte<sup>1\*</sup>, J. Feitosa<sup>1</sup>, M. F. Rosa<sup>2</sup>, M. de F. Borges<sup>2</sup>, M. de S. M. de S. Filho<sup>2</sup>

\*Laboratório de Biomateriais, Campus do Pici, Bl. 720, Universidade Federal do Ceará – 60.455-760- Fortaleza/CE – eder235@hotmail.com

1- Universidade Federal do Ceará- UFC

2- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa

## RESUMO

*A celulose bacteriana (CB) produzida pela linhagem de Gluconacetobacter hansenii encontra-se entre os biopolímeros de maior interesse. Tradicionalmente, ela é produzida a partir de meios de cultura caros, resultando em custos de produção muito elevados, o que limita seu uso para aplicações diversas. O emprego de fontes mais baratas de nutrientes, tais como resíduos da agroindústria, é uma estratégia interessante para superar esta limitação. O objetivo deste trabalho é, pois, avaliar a possibilidade de emprego de outros produtos da agroindústria, nomeadamente suco de caju e resíduo líquido de sisal, os quais apresentam cargas orgânicas e nutrientes adequados para o crescimento microbiano. Nesta perspectiva, a formação de CB foi inicialmente realizada em um meio de referência (Alaban) e, posteriormente, nos meios previamente citados. As amostras obtidas foram, então, caracterizadas mediante as técnicas de Análise Termogravimétrica (ATG), Difração de Raios X (DRX) e Espectroscopia de Transformada de Fourier por Raios Infravermelhos (FTIR).*

Palavras-chave: Celulose bacteriana, resíduos agroindustriais, caracterização.

## INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos de origem microbiana, ou biopolímeros, têm sido bastante estudados devido a vantagens de sua obtenção, tais como: produção

independente de condições climáticas, possibilidade de utilização de matérias-primas regionais e necessidade de espaço relativamente pequeno. Além disso, esses polímeros apresentam maior uniformidade em suas propriedades físico-químicas em função da especificidade do microrganismo utilizado e da possibilidade de um rígido controle dos parâmetros de fermentação, o que garante uma alta regularidade estrutural. A celulose bacteriana (CB), por exemplo, apresenta propriedades peculiares que a diferem consideravelmente da celulose vegetal. A CB é obtida pura quimicamente, ou seja, livre de lignina e hemicelulose, é extremamente hidrofílica e possui cristalinidade superior à apresentada pela celulose vegetal. Estas propriedades aliadas a sua estrutura tridimensional nanométrica conferem um amplo leque de aplicações que vão desde a indústria de papel e têxtil até a indústria alimentícia.

Usualmente, a obtenção de celulose bacteriana se dá a partir de meios de cultura caros, contendo glicose como fonte de carbono e outras fontes de nutrientes, o que resulta em custos de produção elevados, limitando o uso deste material para aplicações diversas. O uso de fontes mais baratas de carbono e nutrientes, tais como resíduos da agroindústria, é uma estratégia interessante para superar esta limitação e aumentar a competitividade deste material singular. Neste contexto, alguns resíduos industriais ou subprodutos, como sucos de frutas diversas, incluindo laranja, abacaxi, maçã, pêra e uva japonesa<sup>(1)</sup> já foram utilizados com sucesso como fonte de carbono para a produção de CB. No entanto, há ainda inúmeros produtos ou resíduos da agroindústria com potencial aplicação nesta área de estudo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o biopolímero “celulose bacteriana” obtido de fontes alternativas, nomeadamente suco de caju e resíduo líquido de sisal, os quais apresentam cargas orgânicas e nutrientes adequados para o crescimento microbiano. As amostras do biopolímero obtidas foram caracterizadas mediante as técnicas de Análise Termogravimétrica (ATG), Difração de Raios X (DRX) e Espectroscopia de Transformada de Fourier por Raios Infravermelhos (FTIR).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As películas de CB foram fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia da Embrapa Agroindústria Tropical. O biopolímero foi obtido a partir de meio de

cultura padrão Alaban<sup>(2)</sup>, suco de caju (10,1°Brix) e resíduo líquido de sisal (12,0°Brix), sob condições estáticas de cultivo e temperatura de incubação de 30°C<sup>(3)</sup>. Vale ressaltar que não houve qualquer suplementação quando os meios alternativos foram utilizados.

Para a purificação da película formada realizaram-se lavagens sucessivas com dodecil sulfato de sódio 2% (SDS) e tratamento térmico com hidróxido de sódio 1 mol/L (NaOH). Por fim, a biocelulose foi neutralizada e submetida à secagem. O protocolo de purificação foi adotado com base na literatura<sup>(4),(5)</sup>.

#### Análise termogravimétrica (ATG)

A análise foi realizada em um analisador termogravimétrico Shimadzu, modelo TGA-50, conduzida entre 0-850°C, a 10°C/min, sob atmosfera de ar sintético. Procurou-se uniformizar as massas das amostras trabalhadas para valores até 10 mg.

#### Difração de raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X foram obtidos no difratômetro da marca Rigaku modelo DMAXB. O intervalo angular (em  $2\theta$ ) utilizado foi de 10 a 70° com uma velocidade de varredura de 0,5°/min.

#### Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos no espectrômetro Nicolet 800 associado a uma célula MTech PAS, após o preparo das amostras com KBr pulverizado, sob as seguintes condições: porcentagem de transmitância (%T) com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, na faixa de absorção de 4000-400 cm<sup>-1</sup>.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O protocolo de purificação utilizado mostrou-se eficaz, levando à obtenção de películas sem quaisquer traços de contaminantes e resquícios dos meios. As películas purificadas apresentaram aspecto gelatinoso, resistência ao manuseio e translucidez (Fig. 1).



Figura 1 - Película de celulose bacteriana obtida em meio Alaban após etapa de purificação

### Análise termogravimétrica (ATG)

As curvas da análise termogravimétrica para as películas de celulose bacteriana estão representadas nas Fig. 2, 3 e 4.

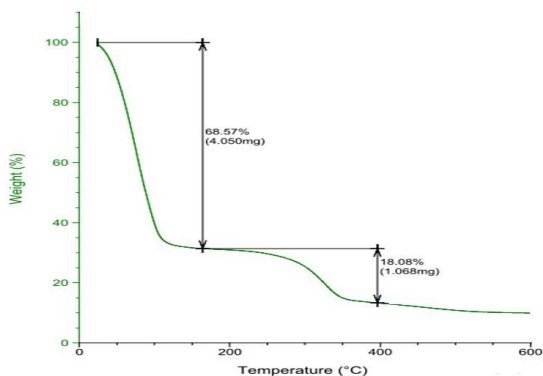


Figura 2 - ATG da película de celulose bacteriana obtida em meio Alaban

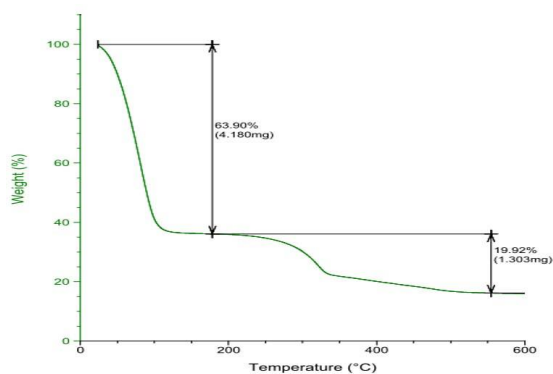


Figura 3 – ATG da película da celulose bacteriana obtida a partir de suco de caju

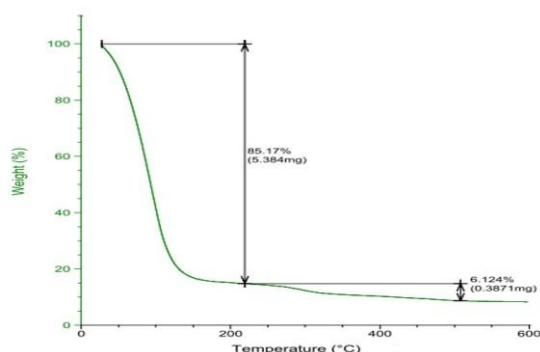


Figura 4 – ATG da película da celulose bacteriana obtida a partir de resíduo líquido de sisal

As curvas obtidas a partir de suco de caju e resíduo líquido de sisal apresentaram comportamento similar à curva do meio Alaban, adotado como

referência. Analisando-se as curvas, observa-se que, no intervalo de 25 a 100°C, há perdas consideráveis de massa devido à evaporação de grande quantidade de água absorvida pela celulose. Entre aproximadamente 250 e 350°C, observa-se outra perda de massa devido aos processos de degradação da celulose, tais como: despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas seguida pela formação de resíduos de carbono<sup>(6)</sup>. Este é o principal evento característico do biopolímero.

Desconsiderando-se as perdas associadas à desidratação, observa-se perda de massa máxima da ordem de 19,9% na temperatura de 285,0°C para a película de caju.

#### Difração de raios X (DRX)

Medições de DRX foram realizadas a fim de se confirmar celulose presente nas amostras. Geralmente, celulose é composta por uma mistura de fases I $\alpha$  e I $\beta$ , cuja proporção depende da espécie e origem. No entanto, a estrutura I $\alpha$  é prevalente na celulose produzida por algas e bactérias. Analisando os resultados obtidos no DRX, Fig. 5, observa-se que a celulose apresenta três picos de difração em  $2\theta = 15^\circ$ ,  $17^\circ$  e  $22,5^\circ$  que são atribuídos à distância interplanar característica das fases I $\alpha$  e I $\beta$  da estrutura cristalina elementar da celulose ( $100_{I\alpha}$ ,  $110_{I\beta}$  e  $010_{I\beta}$  são referentes ao ângulo de  $15^\circ$  e  $110_{I\alpha}$  e  $200_{I\beta}$  ao de  $22,5^\circ$ )<sup>(6)</sup>, com predominância da fase I $\alpha$ .

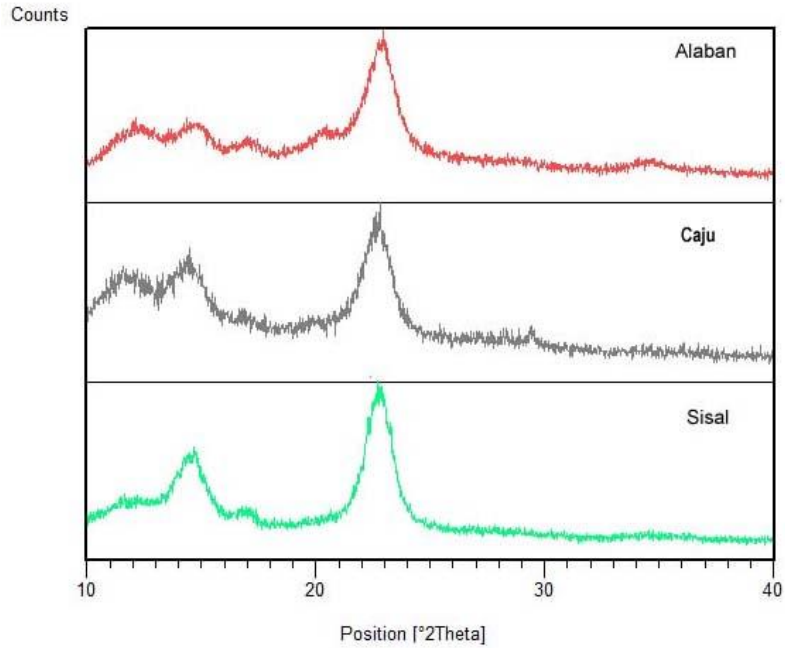


Figura 5 - DRX da celulose bacteriana obtida a partir de meio Alaban, suco de caju e resíduo líquido de sisal

#### Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR, Fig. 6, mostram que os grupos funcionais da celulose são de fato encontrados nas películas obtidas. A banda larga na região de  $3390\text{ cm}^{-1}$  é característica do estiramento dos grupos hidroxilas presentes na celulose. As principais atribuições que caracterizam o polímero de celulose são:  $3390\text{ cm}^{-1}$ : estiramento OH;  $2921\text{ cm}^{-1}$ : estiramento CH de alcanos e estiramento assimétrico  $\text{CH}_2$ ;  $1636\text{ cm}^{-1}$ : deformação OH;  $1410\text{ cm}^{-1}$ : deformação  $\text{CH}_2$ ;  $1340\text{ m}^{-1}$ : deformação OH. Outra banda interessante é ao redor de  $400\text{ a }700\text{ cm}^{-1}$ , que é característica de torção angular dos grupos OH.

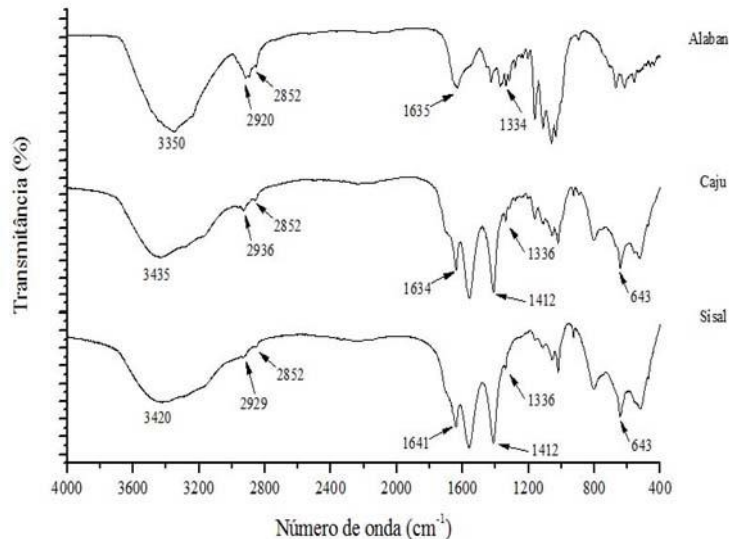


Figura 6 - FTIR das amostras de celulose bacteriana obtidas em meio Alaban, suco de caju e resíduo líquido de sisal

## CONCLUSÕES

Neste trabalho, caracterizou-se celulose bacteriana obtida a partir da fermentação de meios não convencionais (suco de caju e resíduo líquido de sisal). Para todos os polímeros obtidos, observou-se, quando comparados ao meio padrão, a ocorrência de características típicas de celulose bacteriana, o que comprova a possibilidade de utilização destes meios nos processos fermentativos associados à formação do biopolímero bacteriano.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (Agronano) e Embrapa, pela disponibilidade das instalações, pessoal e equipamentos. Ao Laboratório de Biomateriais (UFC) pela colaboração desenvolvida e à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Funcap – pelo fomento da bolsa.

## REFERÊNCIAS

1. 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. **Carbohydr. Polym.** **76**, 333–335, 2009.

2. Alaban, C. A. Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. **Philippine Agriculturist, Manila. v.45, p. 490-516, 1962.**
3. Nascimento, R. M.; Duarte, E. B.; Feitosa, J.; Borges, M. F.; Mattos, A. L.; Filho, M. S. M. S.; Rosa, M. F. Caracterização preliminar da celulose bacteriana obtida a partir do líquido de sisal. IX Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.
4. Pértile, R.A.N. **Estudo in vitro da interação da linhagem de fibroblastos L929 com membrana de celulose bacteriana para aplicações em engenharia de tecidos.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2007.
5. Recouvreux, D. O. S. **Desenvolvimento de Novos Biomateriais Baseados em Celulose Bacteriana para Aplicações Biomédicas e de Engenharia de Tecidos.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
6. Oliveira, R. L. et al. Síntese e Caracterização da Celulose Microcristalina a partir da Celulose Bacteriana. In: VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, São Pedro (SP), 2010.

## **CHARACTERIZATION OF BACTERIAL CELLULOSE OBTAINED FROM AGROINDUSTRIAL WASTE**

### **ABSTRACT**

*Bacterial cellulose (BC) produced by *Gluconacetobacter hansenii* strain is among the biopolymers of interest. Traditionally, it is produced from expensive culture media, resulting in very high production cost, which limits their use for various applications. The use of cheaper sources of nutrients, such as agro-industrial wastes, is an interesting strategy to overcome this limitation. The objective of this work is therefore to evaluate the possibility of employing other agribusiness products, particularly cashew juice and sisal liquid waste, which have organic loads and nutrients suitable for microbial growth. In this perspective, the formation of CB was initially held in a reference medium (Alaban) and subsequently in the media previously cited. The samples were then characterized by the techniques of thermogravimetric analysis (TGA), X-Ray Diffraction (XRD) and Fourier Transform Spectroscopy by Infrared Rays (FTIR).*

*Keywords: Bacterial Cellulose, agro-industrial wastes, characterization.*