

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOCELULOSE UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Enzo de Camargo Postigo ¹; Roberta Albanez ²; Giovanna Lovato ^{2,3};
José Alberto Domingues Rodrigues ²; Suzana Maria Ratusznei ²

¹ Aluno de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

² Professor da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

³ Pós-doutoranda do Departamento de Hidráulica e Saneamento (EESC/USP).

Resumo. Neste trabalho avaliou-se a otimização da produção de biocelulose por *Gluconacetobacter hansenii* utilizando resíduo agroindustrial soro de leite. Foram realizados ensaios com cultivo estático em batelada (B) e em batelada alimentada (BA) com e sem retirada das membranas e com e sem reinoculação. Além disso, foram estudadas configurações de reatores que operavam em série/paralelo, ou que possibilitava o cultivo submerso, ou ainda em que permitiam a expansão do sistema seja pela remoção de parte da biocelulose formada, seja pelo aumento do número de estágios. A operação em batelada com retirada das membranas e reinoculação do meio de cultivo foi vantajosa em relação à operação em batelada alimentada sem remoção das membranas e reinoculação. Foi possível cultivar biocelulose de modo submerso na configuração em que o oxigênio permeava a parede de uma tubulação de silicone e se dissolvia no meio de cultivo, ficando acessível ao microrganismo. O melhor valor de massa de biocelulose por área disponível de crescimento foi obtido para a configuração de reatores em série/paralelo, na qual a reinoculação foi necessária e, também, na configuração submersa, na qual a disponibilidade de oxigênio ao microrganismo foi primordial.

Introdução

Atualmente, a preocupação com o meio ambiente é um assunto amplamente discutido nas diversas áreas de nossa sociedade, acarretando uma maior procura pelas indústrias em produtos e processos que causem menores impactos ambientais (Campêlo 2017). Uma opção que ganhou grande importância nesse contexto é a produção de produtos a partir de fontes renováveis. Dentre esses produtos podem ser citados os biopolímeros que, diferentemente dos polímeros derivados do petróleo, tem origem em processos bioquímicos de diferentes microrganismos (Carreira *et al.* 2011).

Como resultado de alguns processos metabólicos bacterianos é produzida a biocelulose, material que surge como opção para a substituição da celulose vegetal, atualmente, a mais utilizada pelas indústrias. Comparando os dois materiais é possível notar vantagens relacionadas ao polímero de origem bacteriana como, por exemplo, seu alto grau de pureza, que impacta positivamente no custo de produção e na relação com o meio ambiente, pois não é necessário um processo de purificação que depende de substâncias nocivas ao ambiente (Duarte *et al.* 2019).

Além disso, as propriedades únicas da biocelulose permitem um grande leque de aplicações nas diversas áreas do mercado. Isso pode ser visto pela possibilidade de sua utilização tanto na produção de sobremesas no setor alimentício quanto na área biomédica na fabricação de veias, pele, córnea, cartilagem e ossos artificiais (Hussain *et al.* 2019). Apesar do potencial apresentado para esse biopolímero, sua produção em larga escala recai sobre dois obstáculos que são o alto custo dos meios de produção e a baixa produtividade. Procurando solucionar esses desafios, os estudos que visam a potencialidade de resíduos e subprodutos industriais como meio alternativo de produção da biocelulose tiveram um aumento de interesse notável (Campêlo 2017). A utilização de resíduos e subprodutos industriais para produção de um produto de valor agregado traz o benefício de suprir tanto a preocupação com o meio ambiente, pelo direcionamento responsável do descarte de resíduos poluentes, quanto

a diminuição do custo do processo que, dependendo do resíduo/subproduto, pode ser seguido de um aumento na produtividade e vice-versa.

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo a otimização da produção de biocelulose utilizando-se o resíduo agroindustrial soro de leite como substrato alternativo, visando diminuir os custos de produção de biocelulose. Foram avaliadas as operações em batelada e em batelada alimentada com e sem retirada das membranas e com e sem reionoculação. Avaliaram-se, também, configurações de reatores que possibilitavam a operação em série/paralelo, ou o cultivo submerso, ou a expansão da área do reator.

Material e Métodos

Inóculo

O inóculo era composto de cultura pura de *Gluconacetobacter hansenii*, foi obtido na Universidade de São Paulo (USP). Essa cultura foi preservada em geladeira (4 °C), em tubos de ensaio contendo meio cultura sólido Manitol inclinado.

Meios de Cultivo

O meio Manitol, utilizado para a preservação do *G. hansenii*, era composto de: D-manitol: 25,0 g/L; bacto-peptona: 3,0 g/L; extrato de levedura: 5,0 g/L; ágar: 15,0 g/L. O meio Hestrin e Schramm (HS) (Hestrin e Schramm, 1954), utilizado no preparo do inóculo e também como meio-padrão para a produção da biocelulose, era composto de glicose: 20,0 g/L; bacto-peptona: 5,0 g/L; extrato de levedura: 5,0 g/L; ácido cítrico: 1,15,0 g/L e Na₂HPO₄: 2,7 g/L. Os meios de cultivo, após seu preparo, foram autoclavados (autoclave modelo Fabre Primar Industrial Ltda-103) por 15 minutos a 121 °C e 1 kgf/cm².

O meio soro de leite (S) tinha a mesma composição do meio HS, alterando-se somente a fonte de carbono glicose por soro de leite. Foi utilizado soro de leite industrial desidratado (Elegê Brasil Foods S.A, 2018) com: umidade (2 %) e composição: proteínas (11%); glicídios (76%); lipídeos (1%) e outros (12%), cuja dissolução foi feita com água de torneira.

Procedimento Experimental

Preparo do Inóculo e Inoculação

O inóculo foi preparado com *G. hansenii* propagado em meio ágar manitol sólido inclinado. Com o auxílio de uma alça de platina, retiraram-se três alçadas de microrganismo, o qual foi transferido, de modo asséptico, para 50 mL de meio HS ou soro de leite (S) contido em erlenmeyer de 250 mL, sendo cultivado por 48 h a 30°C. Os meios de cultivo contido nos biorreatores foram inoculados, de forma asséptica, com a suspensão de *G. hansenii* no cultivo.

Produção de celulose bacteriana

A produção de biocelulose foi realizada com meio de soro de leite (S), com concentração inicial de substrato de 40 g/L, inoculado com 30 a 40% (v/v) de inóculo, conforme os Ensaio 1 a 4 descritos a seguir. O Ensaio 1 foi realizado em batelada (B) ou em batelada alimentada (BA) com retirada da membrana formada (RM) ou a reinoculação dos reatores (RR), em cada etapa, conforme as condições apresentadas na Tabela 1. Os meios foram soro de leite (S) ou meio HS. Inicialmente, na Etapa 1, os reatores com capacidade de 250 mL, diâmetro de 8,0 cm e área superficial de 50,27 cm², contendo 50 mL de meio (40 g/L), foram inoculados com 40,0 % (v/v) de inóculo e foram cultivados por 7 dias. Na Etapa 2 foram retiradas as membranas obtidas, após 7 dias de cultivo, dos reatores R1 a R3 e foram alimentados 25 mL de meio aos reatores R4 a R7. Todos os reatores foram cultivados por mais 7 dias. Na Etapa 3 foram retiradas as membranas obtidas nos reatores R1 a R3 e estes reatores foram reinoculados 10,0 % (v/v) de inóculo. Foram alimentados 12,5 mL de meio aos

reatores R4 e R7. Todos os reatores foram cultivados por mais 7 dias. Na Etapa 4 foi repetido o mesmo procedimento da Etapa 3 para todos os reatores com exceção do R3.

Tabela 1 – Condições de cultivo de biocelulose no Ensaio 1

Etapa / Tempo (dias)				2 / 7	3 / 14		4 / 21	
Ensaio	Reator	Meio	Operação	RM	RM	RR	RM	RR
1a	R1	S	B	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
1b	R2		B	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
1c	R3	S	BA	Sim	Sim	Sim	Sim	-
1d	R4		BA	-	-	-	-	-
1e	R5		BA	-	-	-	-	-
1f	R6	HS	BA	-	-	-	-	-
1g	R7		BA	-	-	-	-	-

O Ensaio 2 foi realizado em um sistema composto por 3 reatores (R1 a R3) que continham uma abertura próxima à base dos mesmos. Os reatores tinham capacidade de 1000 mL, diâmetro de 9,5 cm e área superficial de 70,88 cm². No início do ensaio somente um dos reatores (denominado de R1), contendo 200 mL de meio soro de leite (40 g/L), foi inoculado com 40,0 % (v/v) de inóculo. O cultivo foi realizado a temperatura ambiente, durante 7 dias (Etapa 1). Após este período o meio de cultivo do R1 foi transferido para outros dois reatores (R2 e R3) de mesmo volume por meio de uma mangueira de silicone, a qual inicialmente encontrava-se fechada por uma pinça. Cada reator recebeu a metade do meio de cultivo, ou seja 100 mL. O R2 foi reinoculado com 40,0 % (v/v) de inóculo, enquanto o R3 não foi, ou seja, manteve os microrganismos que porventura estavam no meio do R1. Além disso, a membrana do R1 foi retirada e foram adicionados 100 mL de meio de cultivo ao mesmo. O cultivo foi realizado durante mais 7 dias (Etapa 2). Na sequência (Etapa 3) as membranas foram retiradas e os três reatores foram reinoculados e o cultivo foi realizada por mais 7 dias.

O Ensaio 3 foi realizado em um reator de 2000 mL, com diâmetro de 12,7 cm e área superficial de 127,3 cm², contendo 800 mL de meio de cultivo. Neste ensaio havia uma tubulação de silicone no interior do reator. Uma das extremidades desta tubulação estava ligada a um filtro absoluto (Pall PN 4250), o qual estava conectado a uma linha de ar comprimido, cuja válvula poderia permanecer aberta ou fechada. O ensaio foi realizado destas duas formas. A outra extremidade da tubulação de silicone foi colocada em um erlenmeyer com água. Desta forma, a abertura da válvula da tubulação de ar comprimido permitia que o ar passasse pelo interior da tubulação de silicone. Na saída o ar era borbulhado em água, que era adicionada ao erlenmeyer durante o ensaio. Ressalta-se que, durante o ensaio parte da tubulação de silicone ficava submersa no meio de cultivo. Desta forma o microrganismo tinha acesso ao ar na superfície do meio de cultivo, e também ao ar que, porventura, passasse pela parede da mangueira de silicone. Na tampa do reator haviam três entradas, das quais duas foram utilizadas para entrada e saída de tubulação de silicone, e a terceira entrada permitia a abertura para atmosfera com um filtro de profundidade.

No Ensaio 4 foi realizado o cultivo de *Gluconacetobacter hansenii* em condições semelhantes às de Kralisch, Hessler e Klemm (2008). O cultivo foi realizado em um estágio que consistia em uma placa de vidro (Ensaio 4a) ou em dois estágios formados recipientes de alumínio (Ensaio 4b). O Ensaio 4a foi realizado em um recipiente de vidro (15,5 x 2 cm e área superficial de 188,7 cm²) de 400 mL (V_{reator}). Este sistema foi acomodado sobre um suporte cerâmico no interior de um recipiente de vidro. O recipiente foi recoberto com papel “Kraft” e o sistema foi esterilizado a 121°C por 15 minutos. Foram adicionados, de forma asséptica, 100 mL (V_{meio}) de Meio Soro (40 g/L) inoculado com 30,0 % (v/v) de inóculo. Após 7 dias de cultivo, aproximadamente, a metade da membrana de biocelulose formada foi cortada com uma tesoura esterilizada e retirada do reator. A outra parte foi mantida no reator e foram alimentados 50 mL de meio de cultivo. O sistema foi mantido assim por mais 7 dias.

O Ensaio 4b foi realizado em dois recipientes de alumínio de 200 mL (V_{reator}) (E1 e E2) e área superficial de 108 cm² que foram acomodados sobre um suporte cerâmico no interior de um recipiente de vidro. O recipiente foi recoberto com papel “Kraft” e o sistema foi esterilizado a 121°C por 15 minutos. Foram adicionados, de forma asséptica, 100 mL (V_{meio}) de Meio Soro (40 g/L) inoculado com 30,0 % (v/v) de inóculo, em um dos estágios (E1) do sistema. Após 7 dias de cultivo, a membrana de biocelulose formada no estágio E1 foi movimentada de forma que metade dela ficasse no estágio E1, e a outra metade ficasse no estágio E2. Foram repostos 30 mL de meio no estágio E1 e 100 mL de meio foram adicionados no estágio E2 e o sistema foi cultivado por mais 7 dias.

Tratamento da Celulose Bacteriana

Após o cultivo, as películas de biocelulose foram removidas do meio e lavadas com água. A seguir, foram imersas em solução de NaOH (0,3 N) por 24 h (Shah *et al.*, 2010). Na sequência, foram lavadas novamente com água, até que todo o NaOH fosse removido e foram secas em estufa por 5 h a 105°C.

Resultados e Discussão

Na Tabela 2 são apresentados os valores individuais de massa de biocelulose (MCI) em cada etapa dos Ensaio 1 a 4, além dos valores da massa total de biocelulose (MCT) (soma das massas individuais) e os valores de massa total de biocelulose por área disponível para cultivo (MCTA). Os ensaios foram realizados em batelada (B), em batelada alimentada (BA), em sistema em série/paralelo (S-P), em um sistema de com aeração natural (AN) e aeração forçada (AF), em um sistema com um estágio (E1) ou com dois estágios (E1/E2).

Na Figura 1 são mostradas as membranas obtidas no Ensaio 1. Na Figura 1(a) são apresentadas as membranas obtidas após 7 dias de cultivo nos Ensaio 1a a 1c (Etapa 1) nos reatores R1 a R3. Na Figura 1(b) cujas massas foram de 0,036 g (R1), 0,035 g (R2) e 0,035 g (R3).

Tabela 2 – Massa individual de biocelulose (MCI) ou total (MCT) ou total por área disponível para crescimento (MCTA) nos Ensaio 1 a 4

Etapa		1	2	3	4		
Tempo (dias)		7	14	21	28		
Ensaio	Condição	MCI (g)	MCI (g)	MCI (g)	MCI (g)	MCT (g)	MCTA (mg/cm ²)
1a	B/S/R1	0,036	-	0,014	0,009	0,059	1,17
1b	B/S/R2	0,035	-	0,013	0,006	0,056	1,11
1c	BA/S/R3	0,037	-	-	-	-	-
1d	BA/S/R4	-	-	-	-	0,051	1,01
1e	BA/S/R5	-	-	-	-	0,042	0,84
1f	BA/HS/R6	-	-	-	-	0,071	1,41
1g	BA/HS/R7	-	-	-	-	0,072	1,43
2	B/S/S-P/R1	0,109	0,023	0,032	-	0,164	3,41
	B/S/S-P/R2	-	0,040	0,027	-	0,067	
	B/S-P/R3	-	-	0,011	-	0,011	
3a	B/S/AN	-	-	-	-	0,157	1,23
3b	B/S/AF	-	-	-	-	0,189/0,130	2,50
4a	B/E1/R1	-	0,021	-	-	0,021	0,11
4b	B/E1/E2/R2	-	0,114	-	-	0,114	0,53

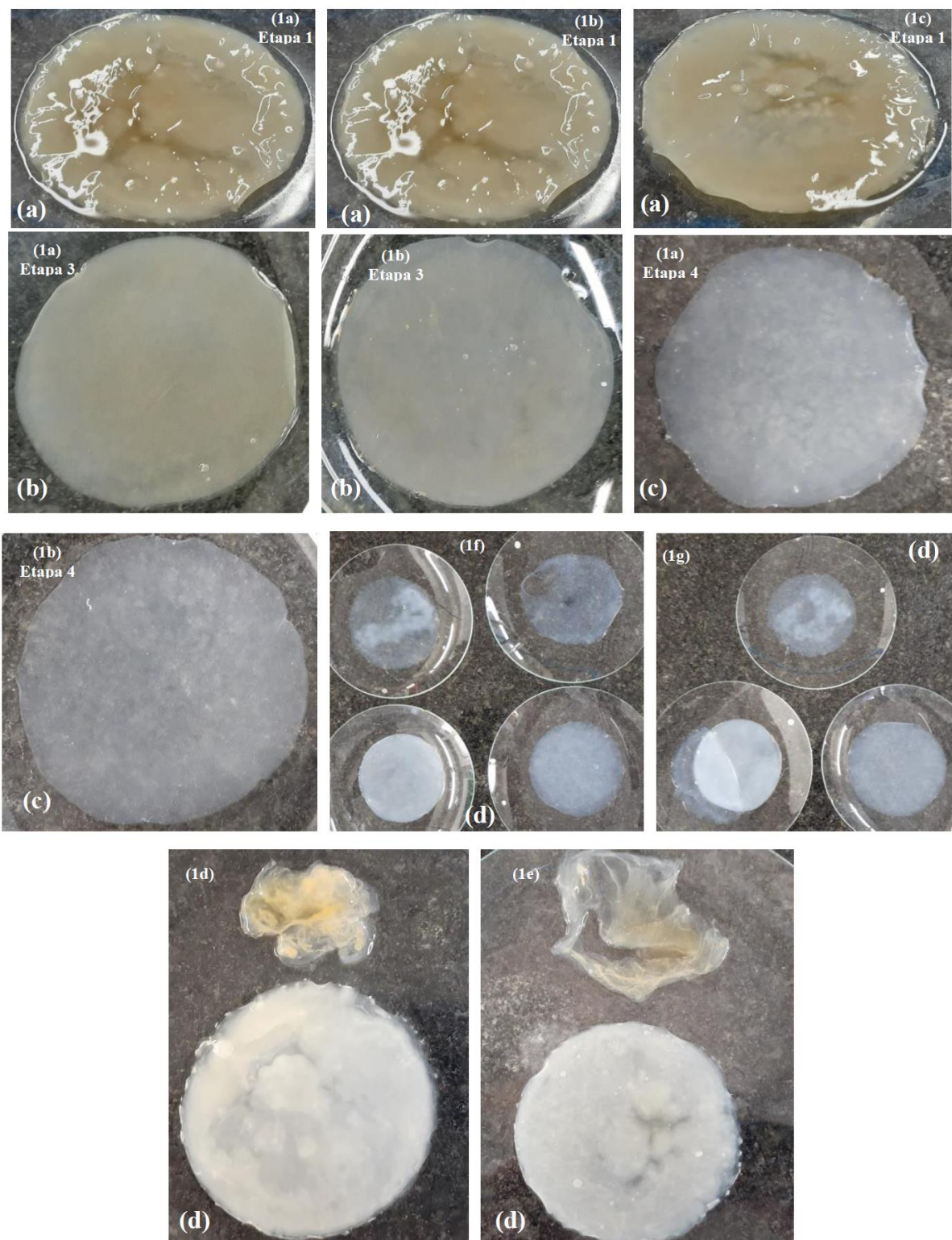


Figura 1 – Resultados do cultivo em batelada (B) com remoção das membranas formadas e com reinoculação do meio e em batelada alimentada (BA) no Ensaio 1

Após a retirada das membranas dos reatores, houve reposição de 25 mL de meio no reator R3, e todos os reatores foram cultivados por mais 7 dias (Etapa 2). Na Etapa 2 verificou-se que a formação da biocelulose foi bastante prejudicada com a retirada da primeira membrana formada Etapa 2, resultando em uma massa irrelevante. Mesmo no R3 (Ensaio 1c), no qual houve reposição de 25 mL de meio de cultivo, o resultado foi o mesmo. Em função dos resultados obtidos nos reatores R1 a R3 na Etapa 2, ainda nesta etapa, na sequência houve reinoculação (1° reinoculação) dos reatores R1 a R3, e o cultivo realizado por 7 dias. Além

disso, houve reposição de 12,5 mL de meio somente no reator R3. O aspecto das membranas de biocelulose formadas (Etapa 3) é apresentado na Figura 1(b). A reinoculação dos reatores R1 a R3, na Etapa 2, implicou em bons resultados, uma vez que houve a formação de membranas uniformes. Ressalta-se, que infelizmente houve contaminação no R3.

Em função dos bons resultados obtidos com a reinoculação na Etapa 2, na Etapa 3, repetiu-se o procedimento da Etapa 2, ou seja, foram novamente retiradas as membranas formadas e os reatores R1 e R2 foram reinoculados (2º reinoculação). O sistema foi cultivado por mais 7 dias (Etapa 4), e o aspecto das membranas de biocelulose formadas é apresentado na Figura 1(c). Quanto aos demais ensaios realizados em batelada alimentada (Ensaio 1d a Ensaio 1g), ressalta-se que foram alimentados com 25 mL na Etapa 1, e de 12,5 mL nas demais etapas. As membranas foram retiradas somente no final do ensaio após 28 dias. Na Figura 1(d) são apresentadas as membranas obtidas. Verifica-se que houve formação de uma membrana de biocelulose e de uma massa de biocelulose disforme nos reatores R4 (Ensaio d) e R5 (Ensaio e). Os valores de massa obtidos foram de 0,051 g e 0,042 g para R3 e R4. Esses valores foram inferiores aos obtidos no Ensaio f e no Ensaio g, nos quais o meio de cultivo foi o HS. As membranas formadas nestes ensaios são apresentadas na Figura 1(e), na qual é possível observar a formação de 4 membranas independentes no Ensaio f e 2 independentes e 2 unidas no Ensaio g. Os maiores valores de massa por área disponível para o crescimento (MCTA) foram obtidos nos Ensaio f e no Ensaio g, cuja fonte de carbono era a glicose de assimilação mais fácil para o *G. hansenni*.

Comparando-se os valores para operação em batelada, com retirada das membranas e reinoculação, com a operação em batelada alimentada, verifica-se que os valores foram próximos com pequena vantagem para a operação em batelada com retirada das membranas e reinoculação. Quando se comparam o aspecto das membranas obtidas verifica-se que a operação com retirada e reinoculação possibilitou a obtenção de membranas independentes. Desta forma, o aumento da concentração de microrganismos com a reinoculação, e a retirada das membranas foi uma melhor estratégia para a obtenção de membranas independentes, além de ter sido mais relevante que a alimentação de substrato na operação em BA. Ou seja, parece que a limitação está mais relacionada à concentração de células.

No Ensaio 2 foi utilizado um sistema composto por 3 reatores (R1 a R3), no qual somente o R1 continha 200 mL de meio de cultivo inoculado. Foi possível obter membrana de biocelulose no R1, conforme mostrado na Figura 2(a) e na Figura 2(b), no cultivo realizado por 7 dias (Etapa 1). Após este período houve a transferência de metade do meio do reator R1 para o reator R2 e a outra metade para o R3. Além disso, o R2 foi reinoculado e 100 mL de meio de cultivo foram adicionados ao R1 e o sistema foi cultivado por mais 7 dias (Etapa 2).

Os resultados do cultivo na Etapa 2 são apresentados na Figura 2(c). Houve formação de membrana no R1 (Figura 2(a) e (b)) e no R2 (Figura 2(a) e (c)). No R1 foi retirada a membrana formada na Etapa 1, e foram adicionados 100 mL de meio de cultivo ao R1. Os microrganismos que se mantiveram no R1, após a transferência do meio, possibilitaram a formação de uma nova membrana de biocelulose na Etapa 2. O R2 recebeu metade do meio do R1 e foi reinoculado, o que possibilitou a formação de uma nova membrana na Etapa 2. O R3 também recebeu metade do meio de cultivo do R1, porém não foi inoculado, o que não possibilitou a formação de uma nova membrana, da mesma forma que ocorreu no Ensaio 1a, 1b e 1c (Etapa 2). Na Etapa 3, foram retiradas as membranas dos reatores R1 e R2 e os mesmos foram reinoculados e o sistema foi cultivado por mais 7 dias.

O objetivo desta configuração é a obtenção de membranas independentes, pois quando o reator é perturbado a membrana não consegue se manter na superfície e submerge. Dependendo das condições, após a membrana ter submergido, pode ocorrer a formação de novas membranas. Essas membranas podem ficar aderidas umas às outras, e a tentativa de separação pode romper as membranas. Desta forma, na configuração proposta no Ensaio 2, de reatores que operam em série/paralelo, após a formação da membrana, esta poderá ser separada do meio de cultivo. O meio poderá ser encaminhado para outro reator, o qual poderá

ser utilizado para o cultivo de novas membranas e os reatores podem ser desconectados, para retiradas das membranas, para limpeza, para uma nova inoculação, etc.

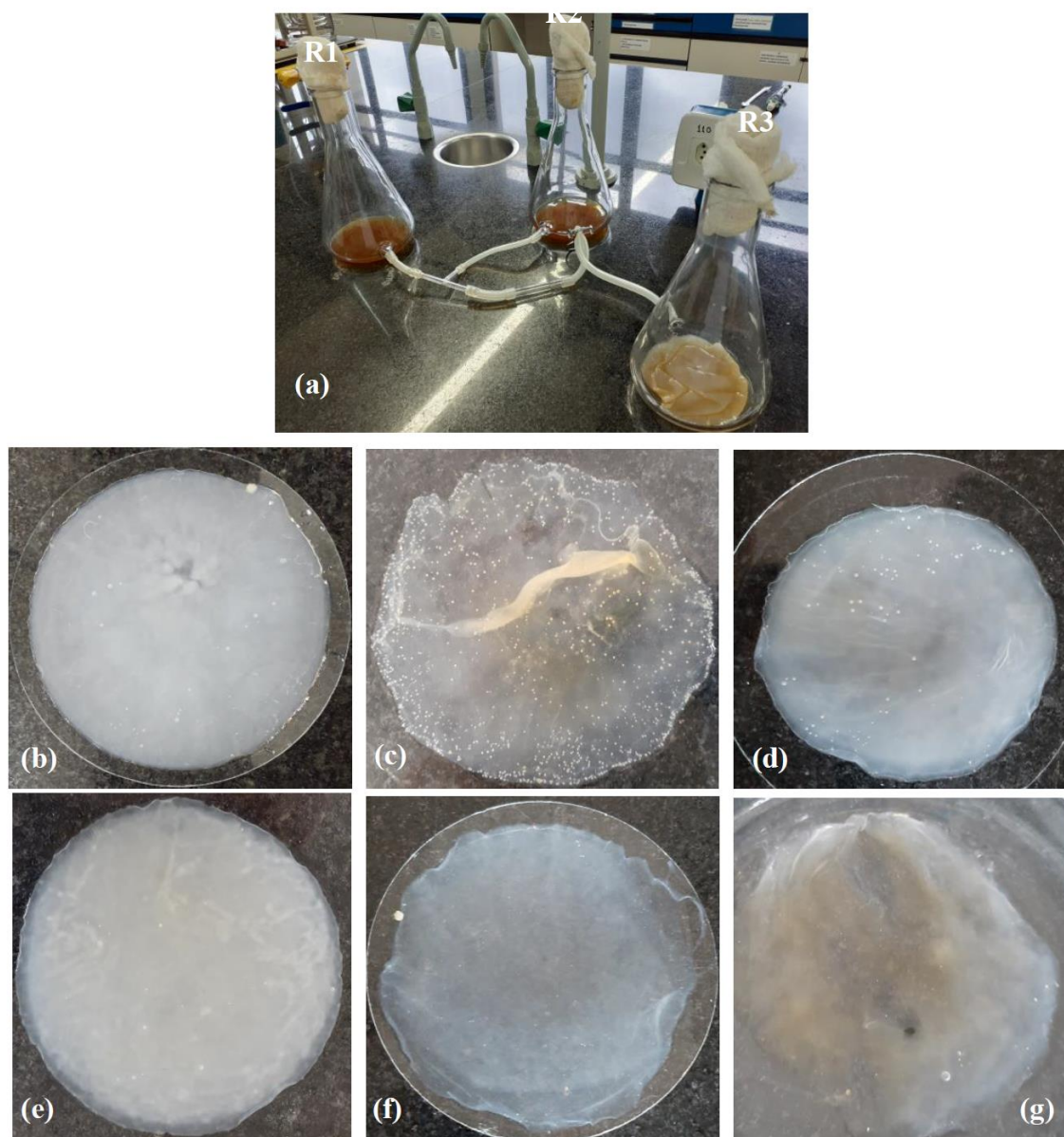


Figura 2 – Aspecto do sistema após transferência do meio para R2 e R3 (a), membrana de biocelulose formada no R1 na Etapa 1 (b), na Etapa 2 (c), na Etapa 3 (d), no R2 na Etapa 2 (e) e na Etapa 3 (f), no R3 na Etapa 3 (h) – Ensaio 2

Foi possível verificar que a estratégia de operação em batelada com retiradas periódicas das membranas formadas e a reinoculação do meio de cultivo foi mais favorável em relação à operação em batelada alimentada sem retiradas e reinoculação. Embora os valores de MCTA tenham sido próximas nas duas estratégias, foram obtidas membranas independentes na operação em batelada com retiradas e reinoculação.

O objetivo do Ensaio 3 foi verificar a possibilidade de obtenção de biocelulose em cultivo submerso, visando aumentar a produtividade do processo. Na Figura 3(a) é mostrado sistema contendo meio inoculado no início do Ensaio 3. Nas Figuras 3(b) e 3(c) verifica-se a membrana formada na superfície em contato com o ar, e também, na parte submersa, em contato com a mangueira de silicone, em cujo interior havia um fluxo de ar (Figura 3(c)). Na Figura 3(d) é apresentado o aspecto quando o fluxo foi interrompido e o sistema permaneceu aberto para a atmosfera em contato com o ar presente na mangueira, que estava sujeito à renovação natural. Houve formação de uma fita de biocelulose ao longo da mangueira de

silicone nos dois casos, ou seja, com e sem o fluxo de ar. Desta forma verifica-se que a mangueira de silicone foi permeável ao ar sem que houvesse contaminação do sistema. Porém só foi possível medir a massa de biocelulose formada na superfície da tubulação de aeração (0,130 g) no caso em que houve um fluxo de ar passando no interior da mangueira, pois sem o fluxo, a quantidade de biocelulose formada foi muito pequena. Durante o tratamento, para remoção de células, a massa de biocelulose foi diminuindo, o que pode ser um indicativo de que parte do material depositado na superfície da mangueira era composto de sólidos do meio de cultivo.

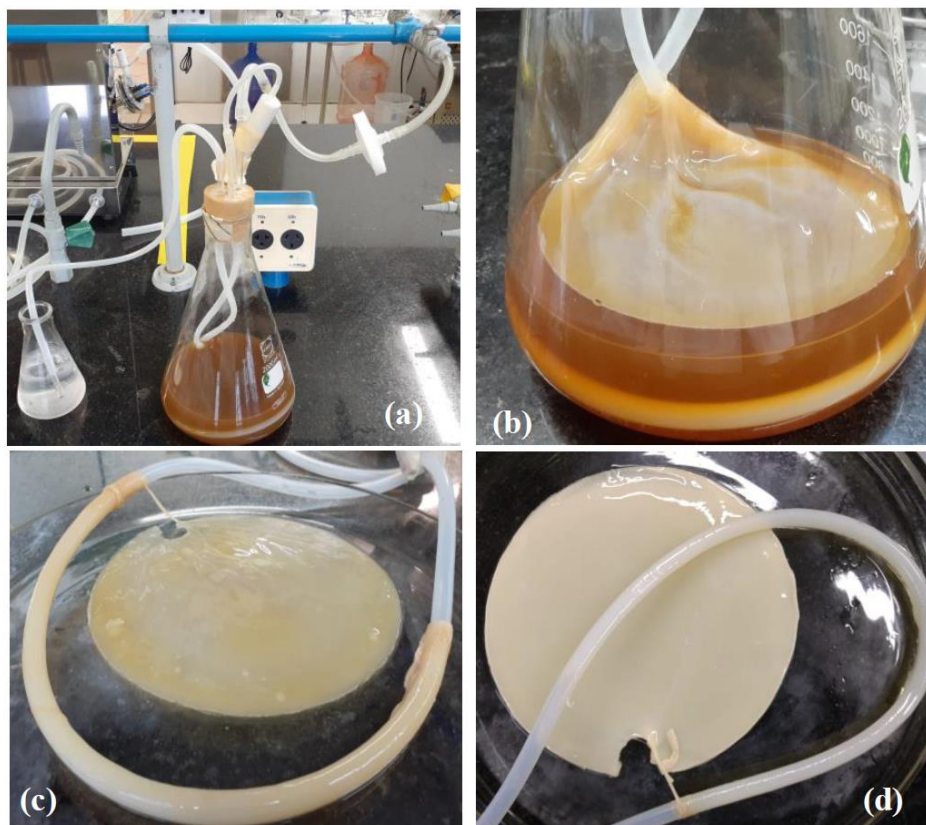


Figura 3 – Aspecto do sistema para cultivo submerso (a) biocelulose formada na superfície do meio de cultivo (b) e detalhe da biocelulose formada na superfície e submersa no Ensaio 3a (c) e no Ensaio 3b (d)

A massa de celulose por área disponível para o crescimento (MCTA) foi de $2,50 \text{ mg/cm}^2$ (Tabela 2) para no Ensaio 3b. Verifica-se que a massa de biocelulose foi maior no caso que houve uma maior disponibilidade de oxigênio, porém a membrana obtida era menos homogênea em relação àquela obtida com menor disponibilidade (Figura 3(d)) em função da renovação natural do ar, à medida que o mesmo permeia a membrana e o oxigênio se dissolve no meio.

O objetivo do Ensaio 4 (Ensaio 4a e 4b) foi verificar a hipótese de obtenção de uma membrana de biocelulose de dimensões variáveis a partir da liberação frequente da superfície do meio para um novo contato com o ar, permitindo o alongamento da película. A Figura 4(a) apresenta o sistema utilizado, no Ensaio 4a, contendo meio inoculado. Este sistema foi cultivado por 7 dias. A Figura 4(b) apresenta, aproximadamente, a metade da membrana de biocelulose após remoção da outra metade. A remoção foi realizada após 7 dias de cultivo. A Figura 4(c) mostra o sistema após a alimentação de 50 mL de meio de cultivo e após o cultivo por mais 7 dias (Figura 4(d)). Verifica-se que a biocelulose foi formada na porção em que houve a remoção da membrana, semelhante ao proposto pela literatura. Desta forma, a manutenção de parte da biocelulose no reator proporciona a continuidade de formação da biocelulose sem a necessidade de reinoculação do reator. Desta forma, parte da biocelulose

pode ser extraída do reator à medida que ocorre a sua formação. O grande desafio, neste caso, é a manutenção da esterilidade deste sistema.

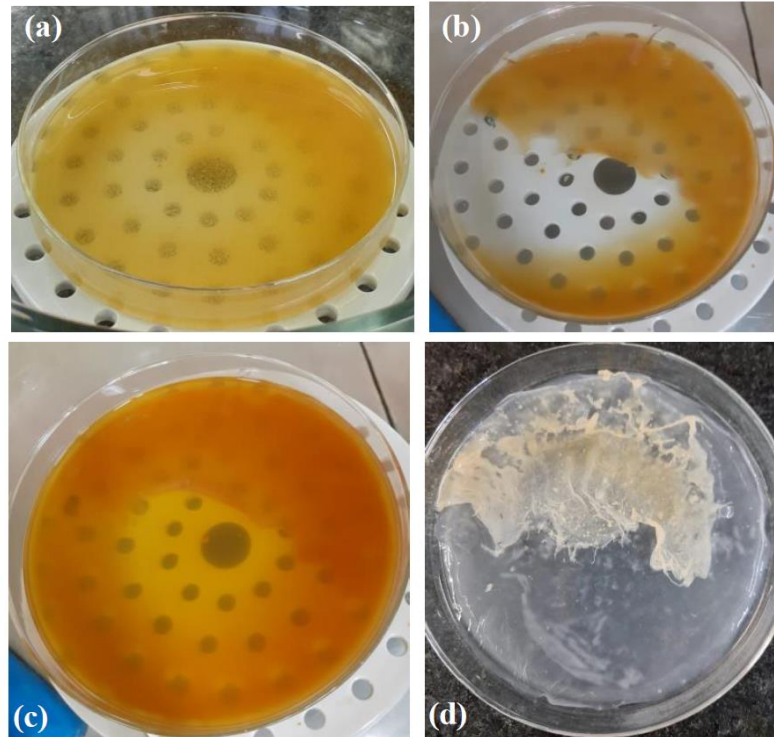


Figura 4 – Aspecto do sistema para cultivo de biocelulose com meio inoculado (a), parte da membrana removida (b), sistema após alimentação de meio (c), continuidade de formação de biocelulose (d) - Ensaio 4a

A Figura 5 apresenta os resultados obtidos no Ensaio 4b.

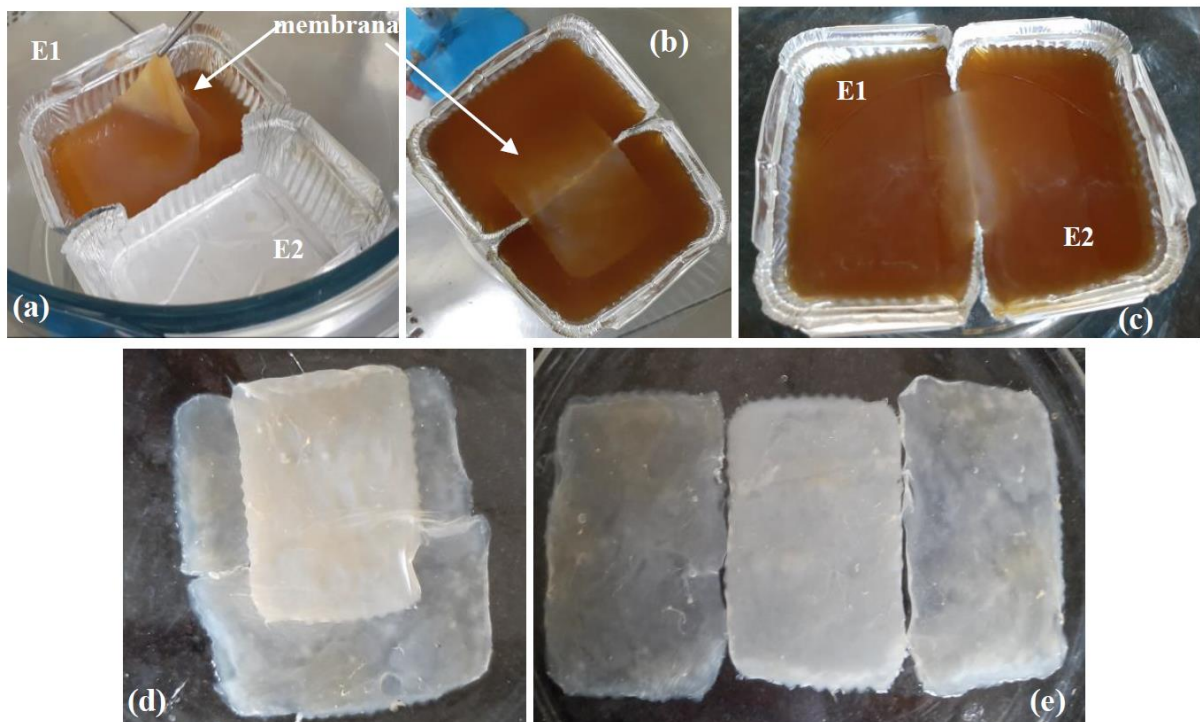


Figura 5 – Membrana formada no estágio E1 após 7 dias de cultivo (a) e membrana localizada entre os estágios E1 e E2 (b), aspecto do sistema no final do ensaio (c) e (d) e após a separação das membranas - Ensaio 4b

Na Figura 5(a) é possível observar a membrana formada no recipiente E1 após 7 dias de cultivo, e a Figura 5(b) parte dessa membrana, aproximadamente a metade, localizada em cada um dos estágios. Além do reposicionamento da membrana formada, foram repostos 30 mL de meio no estágio E1 e 100 mL de meio foram adicionados no estágio E2 (Figura 5(b)). É possível verificar o aspecto do sistema após 7 dias de cultivo, no final do ensaio, na Figura 5(c) e 5(d) e após separação das membranas (Figura 5(e)). Houve formação de membrana na porção disponível dos estágios E1 e E2 não ocupada pela primeira membrana formada. Este ensaio teve como principal objetivo a obtenção de membranas utilizando um procedimento semelhante ao de Kralisch, Hessler e Klemm (2008), que utilizaram um reator semi contínuo denominado HoLiR (*Horizontal Lift Reactor*). Neste sistema, quando a membrana atinge uma espessura determinada, parte dela é suspensa e uma de suas extremidades é presa ao mecanismo de extração. Esse mecanismo então será responsável por suavemente puxar parte da membrana para o exterior do reator, enquanto a outra parte permanece no interior do reator e continua a ser formada horizontalmente. Analisando os resultados verifica-se que os maiores valores de massa de biocelulose foram obtidos no Ensaio 2 e no Ensaio 3b. Ressalta-se que a vantagem da configuração do Ensaio 2, sistema de reatores em serie/paralelo que não necessitou de um fluxo de ar, o que implica em custos menores.

Conclusões

No estudo da otimização da produção de biocelulose utilizando resíduos agroindustriais foi possível verificar que a estratégia de operação em batelada com retiradas periódicas das membranas formadas e a reinoculação do meio de cultivo foi mais favorável em relação à operação em batelada alimentada sem retiradas e reinoculação.

A configuração do sistema de três reatores operando em série/paralelo possibilitou a obtenção de membranas independentes, porém a reinoculação, também, foi um fator importante na formação das novas membranas. A configuração de um sistema para cultivo submerso possibilitou a obtenção de biocelulose ao redor da tubulação de aeração que se encontrava submersa, além da biocelulose formada na superfície em contato com o ar. O que é um bom indicativo da possibilidade de cultivo submerso da biocelulose, desde que a concentração de oxigênio dissolvido seja suficiente. A configuração na qual parte de uma membrana formada é retirada do sistema, ou na qual há uma expansão do sistema pelo aumento do número de estágios, mantendo-se a membrana formada em contato com os estágios, também se mostrou promissora, uma vez que os microrganismos continuaram a formar a biocelulose a partir das suas extremidades.

Referências Bibliográficas

- Campêlo, J.D.M. (2017). Produção de celulose bacteriana em meio de glicerol. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- Carreira, P., Mendes, J.A., Trovatti, E., Serafim, L.S., Freire, C.S., Silvestre, A.J., Neto, C.P. (2011). Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. *Bioresource Technology*, 102(15), 7354-7360.
- Duarte, E., Andrade, F., Lima, H., Nascimento, E.S., Carneiro, M., Borges, M.D.F., Rosa, M. D.F. (2019). Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações. Embrapa Agroindústria Tropical.
- Hussain, Z., Sajjad, W., Khan, T., & Wahid, F. (2019). Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *cellulose*, 26(5), 2895-2911.
- Karlisch, D.; Hessler, N.; Klemm, D.; Erdmann, R.; Schmidt, W. (2009) White biotechnology for cellulose manufacturing, the HoLiR concept. *Biotechnology and Bioengineering*. 105(4): 740-747.