

# CELULOSE BACTERIANA: BIOSÍNTESE E APLICAÇÕES

Dayane Rodrigues Pinto – day\_rp@hotmail.com

Patrícia Candioto Migliari de Oliveira (Orientadora) – patricia.oliveira@mackenzie.br

## RESUMO

A celulose bacteriana (CB) é um polímero com a mesma estrutura da celulose vegetal com a vantagem de não estar vinculada a outros biopolímeros como a hemicelulose, pectina e lignina. O biopolímero (celulose bacteriana) apresenta características notáveis como: alta resistência mecânica e à tração, a possibilidade de inserção de materiais para obtenção de compósitos, biocompatibilidade e alta capacidade de absorção de água. Este trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica da biossíntese e das principais aplicações desse biopolímero com intuito de entender os parâmetros que influenciam a obtenção e o rendimento da celulose bacteriana e as formas viáveis de aplicar esse biopolímero. A celulose bacteriana é biossintetizada por diferentes tipos de bactéria. No entanto, o gênero mais comum utilizado para a sua produção é a *Acetobacter* (agora *Gluconacetobacter*) *xylinum*, apresentando melhor rendimento quando utilizada glicose como fonte de carbono e o meio de cultura com pH 6,5 e temperatura entre 25 e 30°C, além disso o suplemento utilizado no meio de cultura também tem influência no rendimento, o meio enriquecido com etanol e oxigênio apresentou rendimento de 15,30 g.L<sup>-1</sup> em um tempo de cultivo de 50 horas, o maior obtido. O biopolímero apresenta inúmeras possibilidades de aplicações nas áreas da saúde, tecnológica e alimentícia, por exemplo, sendo utilizado principalmente na forma de compósito.

Palavras-chave: Celulose Bacteriana. Biossíntese. Biopolímero. Aplicações.

## BACTERIAL CELLULOSIS: BIOSYNTHESIS AND APPLICATIONS

### ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) is a polymer with the same structure as vegetable cellulose with the advantage of not being linked to other biopolymers such as hemicellulose, pectin and lignin. Biopolymer (bacterial cellulose) has remarkable characteristics such as: high mechanical and tensile strength, possibility of inserting materials to obtain composites, biocompatibility and high water absorption capacity. This work is a literature review of the biosynthesis and the main applications of bacterial cellulose in order to understand the parameters that influence the obtaining and yield of bacterial cellulose and the viable ways to apply this biopolymer. Bacterial cellulose is biosynthesized by different types of bacteria. However, the most common bacteria used for its production is

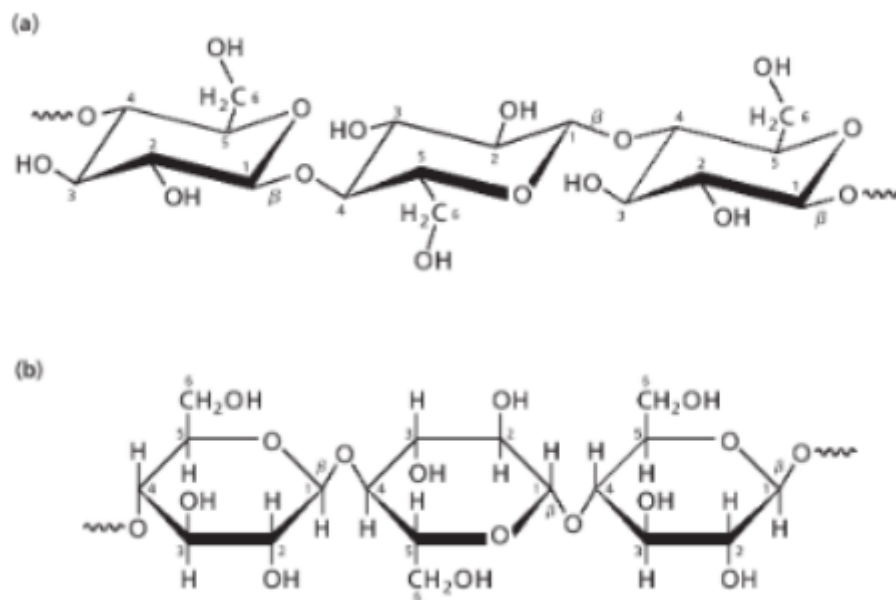
*Acetobacter* (now *Gluconacetobacter*) *xylinum*, presenting better yield when glucose is used as a carbon source and the culture medium with pH 6.5 and temperature between 25 and 30°C, in addition, the supplement used in the culture medium also has an influence on the yield, the medium enriched with ethanol and oxygen presented a yield of 15.30 gL<sup>-1</sup> in a culture time of 50 hours, the highest obtained. The biopolymer presents numerous possibilities of applications in the areas of health, technology and food, for example, being used mainly in the form of composite.

Key-words: Bacterial cellulose. Biosynthesis . Biopolymers applications.

## 1 INTRODUÇÃO

A celulose (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>) é um polissacarídeo estrutural e componente principal do envoltório rígido de muitas células vegetais. Ramos e caules de várias plantas consistem em grande parte de celulose. As moléculas desse polissacarídeo variam muito de tamanho podendo conter de 300 até mais de 15000 resíduos de glicose, que são dispostos linearmente e unidos por ligações β -1,4 que resultam em uma formação estendida e rígida (Loran et al., 2013). A figura a seguir (figura 1) mostra a estrutura da celulose em conformação cadeira e projeção de Haworth modificada.

Figura 1 - Estrutura da Celulose: (A) Conformação Cadeira; (B) Projeção Haworth Modificada.



Fonte: Loran et al., 2013

A celulose é o polímero mais abundante do mundo. Sua produção estimada é de aproximadamente 10<sup>14</sup> toneladas por ano (DONINI et al. 2010). Esse polímero orgânico é sintetizado por plantas ou bactérias é um recurso explorado globalmente com suma importância econômica

(HUANG et al. 2014 apud KIM et al. 2006). Convencionalmente é utilizado em uma extensa gama de indústrias como: papel, têxtil, materiais de construção (EMBRAPA, 2019) e aplicações médicas (HUANG et al. 2014 apud HOENIC 2007) devido a sua biocompatibilidade, estrutura fibrosa, alta rigidez e baixo custo (HUANG et al. 2014).

Esse polímero pode ser dividido em dois grupos: celulose complexa e celulose pura, o último grupo engloba a celulose bacteriana. Inicialmente relatada por Brown (1886) a celulose bacteriana é considerada um biopolímero promissor e atrai interesse, principalmente para a área da saúde. A celulose bacteriana possui a mesma fórmula química que a celulose vegetal, mas por possuir fibras em dimensões nanométricas, a mesma possui propriedades distintas, destacando-se: “alta resistência mecânica e à tração, a possibilidade de inserção de materiais para obtenção de compósito” (DONINI et al. 2010), e apresentando outras características como alta eficácia em absorver água, biocompatibilidade e a possibilidade de ser moldada em estruturas tridimensionais ao longo de sua síntese (EMBRAPA, 2019).

A celulose vegetal encontra-se frequentemente ligada a outros biopolímeros: hemicelulose, pectina e lignina, cuja extração requer a utilização de produtos químicos corrosivos, nocivos ao meio ambiente e responsáveis pelo aumento no custo e tempo de produção, diminuindo assim a gama de aplicação e limitam o uso da celulose vegetal em áreas mais específicas (Loran et al., 2013), a busca por um material biodegradável e renovável com propriedades e aplicabilidades que atendam às necessidades do mercado atual é um constante desafio para ciência. Nesse contexto, a celulose bacteriana obtida por rotas biossintéticas, a torna livre de impurezas e de baixo custo final de produto. Além disso, a celulose bacteriana possui características peculiares e é um recurso biodegradável e renovável (EMBRAPA, 2019).

Este trabalho tem como objetivo realizar uma pesquisa bibliográfica visando um amplo conhecimento a respeito da biossíntese da celulose bacteriana, assim como identificar as principais aplicações deste biopolímero.

## **2 METODOLOGIA**

A metodologia utilizada neste trabalho é de caráter exploratório com objetivo de obter um levantamento bibliográfico utilizando plataformas de busca em bases de dados acadêmicos e científicos como: Science Direct, Springer, Elsevier, Wiley, SciELO e Google Acadêmico. Foram pesquisados artigos a partir do ano de 2006, sendo utilizados os termos em inglês “bacterial cellulose”, “bacterial cellulose biosynthesis”, “bacterial cellulose production”, “bacterial cellulose production fermentation”, “bacterial cellulose different carbon sources” e “bacterial cellulose

aplication”. Foram utilizadas nesse trabalho as referências que mais se enquadravam no objetivo do artigo.

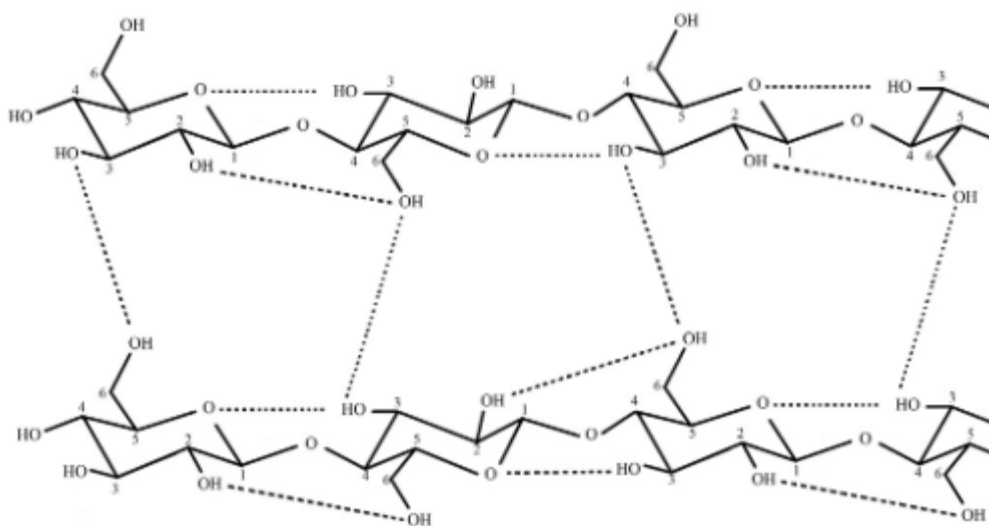
### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 CELULOSE BACTERIANA

A celulose bacteriana foi descoberta por Brown em 1886 enquanto estudava ações químicas da bactéria *Acetobacter xylinum*, previamente denominada *Bacterium aceti*. Essa cultura estática produziu em sua interface ar/líquido o filme de celulose (FERNANDES, 2019 apud SCHRAMM; HESTRIN, 1954). A celulose bacteriana é um polissacarídeo extracelular formado por bactérias dos tipos: *Gluconacetobacter*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Sarcina*, *Azobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes*, entre outros, a partir da fermentação acética. (FERNANDES, 2019).

As cadeias poliméricas da celulose bacteriana são compostas apenas de D-glicose dispostas na configuração piranosil e unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4. As hidroxilas disponíveis sobre as cadeias  $\beta$ -1,4- glucano ajudam na formação de ligações de hidrogênio inter e intra-cadeia formando filamentos estendidos (FERNANDES, 2019 apud ROSS; MAYER; BENZIMAN, 1991). A figura a seguir (figura 2) mostra as ligações de hidrogênio inter e intra cadeia da celulose bacteriana.

Figura 2- Ligações de hidrogênio inter e intra- cadeia da celulose bacteriana



Fonte: Esa; Tasirin; Rahman, 2014 apud de Festucci-Buselli et al. 2007

A celulose bacteriana se distingue da celulose vegetal no que se refere à estrutura fibrosa, fundamentalmente nanométrica, cristalinidade e pureza (LEE et al. 2014).

As condições da fermentação durante a síntese do biopolímero, o tipo de bactéria e o tratamento que ocorre depois da síntese influenciam nas suas propriedades mecânicas, assim como

na macro e microestrutura da celulose bacteriana. Por exemplo, a porosidade da membrana pode ser ajustada variando as condições fisiológicas do crescimento bacteriano, como pH, temperatura e constituição do meio de cultura (LEE et al. 2014; SILVA, 2012).

Das características principais da celulose bacteriana ressalta-se a morfologia, definida por uma rede fibrosa nanométrica, tridimensional e composta de microcanais de tamanhos variados (MOOSAVI-NASAB; YOUSEFI, 2010; SILVA, 2012), sua capacidade de absorver em até 100 vezes sua própria massa em água, sua cristalinidade (influenciada pelo arranjo molecular). Além do mais, possui alto grau de polimerização, permeabilidade, porosidade, elevado módulo de elasticidade (MEFTAHI et al., 2010; MOON et al., 2006), ótima resistência mecânica e elevada área superficial, como consequência de sua alta cristalinidade e do pequeno diâmetro das fibras (SILVA, 2012). A tabela (Tabela 1) a seguir faz uma comparação entre as principais características da celulose vegetal e da celulose bacteriana.

Tabela 1 – Características Da Celulose Bacteriana Versus Celulose Vegetal

<b>Propriedade</b>	<b>Celulose Bacteriana</b>	<b>Celulose Vegetal</b>
<b>Largura da fibra (nm)</b>	50-80	14-40.000
<b>Cristalinidade (%)</b>	84-89	43-65
<b>Grau de polimerização</b>	2.000-6.000	13.000-14.000
<b>Módulo de Young (GPa)</b>	15-138	13-180
<b>Resistência à tração (MPa)</b>	91-260	10-250
<b>Quantidade de água (%)</b>	98,5	60

Fonte: Embrapa, 2019 apud Campano et al., 2016; Chawla et al., 2009; Dufresne et al., 2012; Moon et al., 2011; Pecoraro et al., 2008.

### 3.1.1 Biossíntese da celulose bacteriana

A biossíntese da celulose bacteriana acontece por meio da inserção do micro-organismo em um meio de cultura favorável ao seu crescimento, contendo fontes de fósforo, nitrogênio e carbono, por exemplo. É possível produzir celulose bacteriana em fase sólida ou submersa, vinculada ao modo de cultivo estático ou agitado. A celulose bacteriana formada no cultivo estático é uma película viscosa na interface ar/líquido, enquanto no agitado, uma suspensão dispersa ou fios fibrosos (FERNANDES, 2019 apud EL-SAIED; BASTA; GOBRAN, 2004). A figura a seguir (figura 3) mostra celulose bacteriana sendo retirada do meio de cultura estático.

Figura 3 - Celulose bacteriana sendo retirada do meio de cultura estático

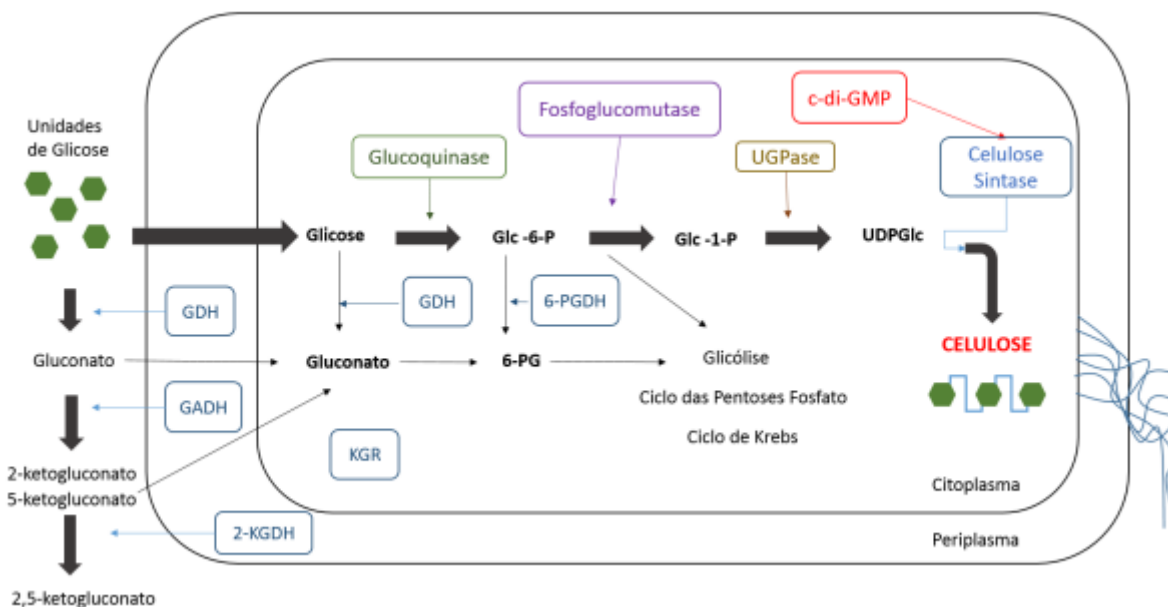


Fonte: EMBRAPA, 2019

De acordo com Lee et al. (2014), o gênero mais comum de bactéria estudado para a produção de celulose bacteriana é a *Acetobacter* (agora *Glucoacetobacter*) *xylinum* devido a sua capacidade de produzir a celulose bacteriana em uma extensa variedade de fontes de carbono/nitrogênio. Lee et al. (2014) menciona que as bactérias *Acetobacter* são aeróbicas, gram-negativas, e podem ter formatos de bastonetes, levemente curvados ou elipsoidais. A celulose bacteriana pode ser biossintetizada por meio de várias espécies de bactérias gram-negativas pertencentes aos gêneros: *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, e *Sarcina*. O biopolissacarídeo é sintetizado principalmente por espécies de bactérias Gram-negativas, mas também pode ser produzido por algumas espécies Gram-positivas como *Gluconoacetobacter hansenii* (Lee et al., 2014).

Dependendo do substrato disponível, bactérias sintetizadoras de celulose com a *A.xylinum* podem utilizar a via de oxidação das pentoses fosfato ou o ciclo de Krebs para metabolizar a glicose. A via das pentoses fosfato é utilizada quando o substrato é carboidrato, já o ciclo de Krebs é utilizado para lipídeos e proteínas, por exemplo. A síntese utilizará necessariamente uma via aeróbia, já que devido à ausência da enzima fosfofrutose quinase a bactéria não pode realizar a etapa responsável pela fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-fosfato, essencial para o mecanismo de glicólise. (LEE et al., 2014; EMBRAPA, 2019). A figura a seguir mostra a produção de celulose partindo de unidades de glicose na bactéria *A. Xilinum*.

Figura 4 – Produção de celulose a partir da glicose (*A. Xilinum*)



Fonte: Lee et al., 2014. Traduzido por Boldrin (2015).

Com base no trabalho de Lee et al. (2014), o processo de biossíntese da celulose bacteriana é uma reação com múltiplas etapas que envolvem complexos catalíticos, enzimas individuais e proteínas para regular o processo. Quando o substrato utilizado na síntese é a glicose, quatro passos fundamentais são observados: (1) transporte da glicose através da membrana da bactéria e fosforilação em glicose-6-fosfato pela glicose quinase; (2) isomerização pela fosfoglicomutase: glicose-6-fosfato torna-se glicose-1-fosfato; (3) conversão da glicose-1-fosfato em uridina 5'-difosfato glicose (UDPG) pela UDPG pirofosforilase, e por fim, (4) polimerização da UDPG pela celulase sintase em celulose (DONINI et al, 2010).

A UDPG, de acordo com Lee et al. (2014), é o precursor direto da celulose e é encontrado em vários organismos. Já a enzima UDPG pirofosforilase apresenta atividade 100 vezes maior em bactérias produtoras de celulose do que em bactérias que não produzem, por isso considera-se que ela desempenhe uma função importante quando se trata da produção de celulose (LEE et al., 2014 apud VALLA et al, 1989). Quando as fontes de carbono utilizadas no processo de biossíntese da celulose bacteriana são dissacarídeos como, por exemplo, sacarose e maltose, a biossíntese da celulose começa com a hidrólise desses açúcares em monossacarídeos. Lee et al. (2014), cita em seu trabalho que, ainda que a rota UDPG seja parcialmente conhecida por estudiosos, o mecanismo de polimerização molecular da glicose em cadeias extensas e não ramificadas ainda é muito vago.

O ácido cíclico diguanílico também apresenta suma importância na síntese da celulose, já que na sua ausência a enzima celulase sintase apresenta-se inativa ou com baixo desempenho enzimático (LEE et al., 2014 apud VALLA et al, 1989).

A celulose é sintetizada em micro-organismo utilizando-se de duas etapas intermediárias: o desenvolvimento de cadeias  $\beta$  -1,4-glucano e, a cristalização e montagem da celulose. Sendo essa

última a etapa limitante do processo (LEE et al., 2014 apud BROWN & SAXENA, 2000). A formação da celulose ocorre entre a parte externa e o citoplasma da célula (figura 3). Inicialmente, as moléculas de celulose são sintetizadas internamente na bactéria, depois são externalizadas por mecanismos exportadores de celulose e formam protofibrilas de 2-4 nm de diâmetro, aproximadamente. Uma fita de aproximadamente 80 nm será formada a partir dessas protofibrilas (LEE et al., 2014 apud IGUCHI; YAMANAKA; BUDHIONO, 2000).

É conhecido que a catálise da biossíntese da celulose bacteriana é realizada pela celulose sintase, que polimeriza as unidades de glicose em cadeias  $\beta$ -1,4-glucano, no entanto, de acordo com Lee et al. (2014), a polimerização dos monômeros de glicose em cadeia glucano ainda não é bem esclarecida. Como hipótese plausível, Lee et al. (2014) cita Deianinno & Dankert (1988), que cogitam a possibilidade da polimerização da  $\beta$ -1,4-glucano contém um lipídeo intermediário, no qual a glicose é primeiramente transferida da UDPG para o lipídeo na membrana plasmática formando um gluco-lipídeo intermediário pela enzima glicosiltransferase. (LEE et al., 2014 apud DEIANNINO & DANKERT, 1988). Outra sugestão plausível citada por Lee et al. (2014), é a hipótese de Brown & Saxena, (BROWN & SAXENA, 2000), que não envolve um lipídeo intermediário, mas supõe que os resíduos da glicose ficam ligados a terminação não-redutora do polissacarídeo, que ocorre do lado de fora do citoplasma durante a polimerização do  $\beta$ -1,4-glucano.

### **3.1.2 Produção da celulose bacteriana por fermentação**

A produção e o rendimento da celulose bacteriana estão intimamente ligados as condições do meio de cultura como pH, oxigênio dissolvido, temperatura, e também, ao tipo de cultura usada: estática ou agitada. (LEE et al., 2014). Quando mantida estática, as fitas celulósicas em formação e as bactérias do meio se entrelaçam e formam filme sobrenadante na linha de fronteira ar/líquido. Já quando agitada, a celulose obtida tem formas irregulares, com esferas, por exemplo (EMBRAPA, 2019).

A fonte de carbono utilizada na cultura do biopolímero é um fator determinante para o rendimento da produção, várias fontes de carbonos têm sido estudadas: monossacarídeos, oligossacarídeos, ácidos orgânicos. Os meios de produção também apresentam fontes de nitrogênio, fósforo e microelementos como:  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ , entre outros, esses elementos executam a função de cofatores para as enzimas do processo de produção da biocelulose. (LEE et al., 2014; EMBRAPA, 2019).

#### **3.1.2.1 Influência do pH na produção de celulose bacteriana**

O pH ótimo para produção de celulose bacteriana varia de acordo com o micro-organismo utilizado, mas normalmente se encontra entre 4-7. A produção do biopolímero celulose bacteriana foi

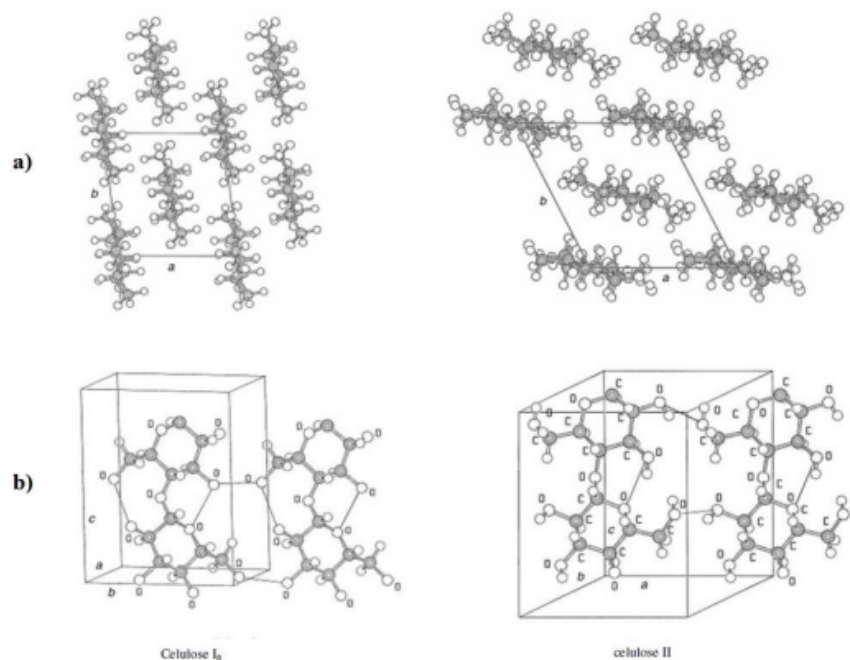


observada em um amplo intervalo de pH (4,5 -7,5), obtendo-se maior rendimento no pH 6,5. (LEE et al., 2014 apud SON et al. 2001). É importante ressaltar que, embora o pH da produção seja fundamental, ele é independente do pH do meio de cultura dos micro-organismos, já que pode ocorrer um decréscimo no pH do meio de cultura em relação ao tempo em razão da acumulação de metabólitos secundários como ácido acético, ácido láctico e ácido glutâmico, produtos do metabolismo da bactéria pelo consumo de açúcares e compostos nitrogenados. No entanto, é importante para um bom rendimento reacional manter o pH, assim utiliza-se o 3-doxil-5-colestano (CSL) como tampão. Todavia, a acréscimo do tampão CSL, que é viscoso, aumenta a viscosidade do meio de cultura, o que pode causar a mistura de compostos não homogêneos no meio de cultura (LEE et al., 2014 apud NORO et al. 2004).

### 3.1.2.2 Influência da temperatura na produção de celulose bacteriana

No trabalho de Lee et al. (2014), é citado o estudo de Son et al. (2001) sobre a influência da temperatura, intervalo entre 20 e 40°C, no rendimento de celulose bacteriana pela *Acetobacter* sp. A9 pelo meio de cultura descrito por Hestrin e Schamm (HS). A temperatura ótima encontrada para produção de celulose bacteriana foi de 30°C. Ao mesmo tempo que, o abaixamento da temperatura para 25°C não diminuiu o rendimento, quando comparada com 30°C mas, quando a temperatura foi elevada para 35°C, o rendimento da produção de celulose bacteriana diminuiu (LEE et al., 2014 apud SON et al. 2001). Além do rendimento, a estrutura cristalina e a morfologia, também são afetadas pela temperatura do meio de cultivo, o biopolímero produzido por *A. xylinum* ATCC 23769 no meio HS, com temperatura de 4°C, tinha estrutura de celulose II (composta por microfibrilas que se orientam antiparalelamente), enquanto o biopolímero produzido à 28°C, também no meio de cultura HS, apresentou fitas de celulose I (composta por microfibrilas que se orientam paralelamente) (LEE et al., 2014 apud HIRAI et al. 1997). Resultados similares foram encontrados por Zeng et al., onde o biopolímero obtido pela bactéria *A. xylinum* BPR2001 em meio composto por frutose, levedura, sulfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), fosfato de monopotássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) quando a temperatura era mantida entre 25 e 30°C apresentava estrutura característica de celulose I (LEE et al., 2014 apud ZENG et al. 2011). A figura a seguir (figura 5) demonstra as estruturas de celulose I e II.

Figura 5 – Estrutura cristalina da celulose I $\beta$  e II (a) projeção da cela unitária dos cristais ao longo do plano a-b (b) Projeção da cela unitária paralela ao plano 100 (celulose I $\beta$ ) e ao plano 010 (celulose II).



Fonte: Klemm et al., 2005.

### 3.1.2.3 Influência do oxigênio na produção de celulose bacteriana

O oxigênio dissolvido presente no meio de cultura tem importância fundamental para o metabolismo células, e influencia tanto na qualidade quanto no rendimento da celulose bacteriana (LEE et al., 2014 apud SHIRAI et al. 1994). No entanto, o excesso de oxigênio dissolvido no meio de cultura causa o aumento da concentração de ácido glucônico o que terá efeito no pH do meio de cultura e acarretarão modificações na viabilidade celular o que resultará na diminuição do rendimento do processo. Por outro lado, a deficiência de oxigênio dissolvido no meio o crescimento das colônias de bactérias e como consequência a produção (LEE et al., 2014 apud TANTRATIAN et al. 2005).

### 3.1.3 Compósitos de celulose bacteriana

A celulose bacteriana possui propriedades únicas que a torna foco de vários estudos, porém, em seu estado puro, a celulose bacteriana não possui propriedades bioativas, antibacteriana ou transparência óptica, por exemplo. Isso reduz a gama de aplicabilidade da celulose bacteriana (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014; FERNANDES, 2019). Para superar as limitações naturais do biopolímero foram desenvolvidos compósitos (matriz porosa celulose bacteriana + material de reforço) de celulose bacteriana, a estrutura consiste basicamente da matriz e de materiais de reforço. Utiliza-se do arranjo de fibras naturalmente poroso da celulose bacteriana, o que a torna uma ótima matriz para inserir partículas de variados materiais de reforço. Materiais esses que proverão propriedades biológicas e físico químicas adicionais que não fazem parte da natureza da celulose bacteriana. (SHAH et al., 2013).

A preparação de compósitos de celulose bacteriana pode ocorrer por meio da técnica *in situ*, na qual durante a síntese do biopolímero são adicionados materiais de reforço à celulose bacteriana, e da técnica *ex situ*, que a impregnação dos materiais de reforço ocorre depois da purificação da biocelulose (EMBRAPA, 2019).

A utilização do método *in situ*, tem como resultados a formação de estruturas com qualidades complementares, com essa técnica os materiais de reforço serão integrados a rede fibrosa da celulose bacteriana por intermédio da difusão do mesmo no meio de cultura da celulose (EMBRAPA, 2019).

### **3.1.4 Aplicações da celulose bacteriana**

De acordo com Zhu, et al. (2011), a celulose bacteriana destaca-se por ser um biopolímero com propriedades que permitem inúmeras aplicações: matrizes biomédicas, adesivos, absorventes, lubrificantes, embalagens, matérias de alta performance, amaciadores, dispositivos computacionais, entre outros.

A EMBRAPA (2019), cita a produção em larga escala de celulose bacteriana pela empresa Johnson & Johnson em 1980, posteriormente a empresa Xylos utilizou o biopolímero para manufatura da XCell<sup>®</sup>, utilizado no tratamento de ferimentos. A principal fabricante de membranas de celulose bacteriana no Brasil é a Bionext Produtos Biotecnológicos Ltda., que comercializa membranas para tratamento de feridas na pele e queimaduras. Além do Brasil, Canadá, EUA e Japão, também comercializam membranas de CB.

Devido a sua estrutura tridimensional, propriedades não alergênicas (SHI et al., 2014) e alta biocompatibilidade (FERNANDES, 2019 apud MELLO et al., 1997), a celulose bacteriana é utilizada como suporte para facilitar a proliferação e fixação das células que constroem novos tecidos (SILVA, 2012), isso faz com que o biomaterial se destaque na área biomédica como material para cicatrização de feridas, já que pode ser utilizado para o bloqueio físico à infecção bacteriana, diminuição da dor e produção extracelular, características consideradas fundamentais para biocurativos ideais (OLYVEIRA et al., 2016), além de, pele artificial, enxertos vasculares, vasos sanguíneos artificiais, implantes dentários e almofadas médicas (SHAH et al., 2013) e na engenharia de tecidos na produção de estruturas. (ANDRADE et al., 2010; FARIA-TISCHER; TISCHER, 2012). Bedoya (2019), em sua tese para obtenção do título de mestre, desenvolveu um biomaterial com a aplicação na regeneração de tecido cutâneo a base de celulose bacteriana, utilizando o interesse da engenharia de tecidos em desenvolver biodegradáveis e biocompatíveis. O autor (BEDOYA, 2019), desenvolve uma biomembrana de celulose bacteriana modificada com a introdução de peptídeos que possuem a sequência RGD (Arg-Gly-Asp) utilizando das propriedades deste peptídeo para promover adesão e celular, e também, para orientar seletivamente estipulados tipos de células e promover respostas celulares específicas e favorecer a renovação do tecido.

Uma das primeiras utilizações da celulose bacteriana na indústria alimentícia é para a fabricação de nata de coco, uma fibra servida na dieta do sudeste da Ásia como um cubo gelatinoso de textura mastigável e macia, sem colesterol e de baixo teor calórico (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014).

Na indústria alimentícia, a celulose bacteriana é muito utilizada como gomas para estabilização de espumas espessantes e gelificação de soluções aquosas, emulsões e dispersões, tal qual, impossibilitar a formação de cristais de gelo e açúcar (DOURADO et al., 2016). É utilizada também como nanoreforço para embalagem de alimentos com objetivo de aumentar a resistência a temperatura, a transparência e diminuir a permeabilidade da água e dos gases nos filmes compostos de amidos e poliácido láctico (FERNANDES, 2019 apud RHIM; PARK; HA, 2013), afora a vantagem de ser biodegradável (SHI et al., 2014). A autora Fernandes (2019), em sua tese de mestrado desenvolve um biofilme de celulose bacteriana enriquecido com compostos bioativos do chá verde e mistura ternária do chá branco, bagaço de uva e hibiscus e com a introdução de colágeno hidrolisado, utilizando-se da nanoporosidade característica da celulose bacteriana para incluir no biopolímero atividade antimicrobiana e antioxidante, já que a celulose bacteriana pura não dispõe de compostos bioativos em sua estrutura (compósito). Além da potencialização do uso da celulose bacteriana, a autora (FERNANDES, 2019) também visava atenuar o descarte do bagaço de uva produzido pela indústria do vinho.

Na manufatura de papel, é utilizada a capacidade de formação de ligações de hidrogênio da celulose bacteriana para aumentar a força e durabilidade da polpa. E também como componente de alto valor para o papel sintético (PARK et al., 2009).

Na área cosmética, são utilizadas máscaras de biocelulose produzidas a partir da fermentação da celulose bacteriana em água de coco. Com propósito de aprimorar as propriedades de hidratação das máscaras de biocelulose, os desenvolvedores adicionam substâncias hidratantes, tal qual o hialurato de sódio, glicerina e aloe vera. E também adicionam antioxidantes como as vitaminas A, B e C para reduzir a formação de manchas escuras e reduzir o aparecimento de linhas finas que causam o aspecto de envelhecimento, ou apenas para estimular a formação de fibras de colágeno (DOURADO et al., 2016).

Na divisão eletrônica, desenvolveu-se membranas com alta condutividade e aparatos emissores de luz por via da inclusão de metais na estrutura da celulose. Com a inserção de paládio e platina, algumas membranas foram modificadas para serem utilizadas em células de combustíveis e reatores catalíticos (PINEDA; MESA; RIASCOS, 2012). No trabalho de Zhou et al (2013), foram utilizadas nanoplaquetas de grafite (Graphite nanoplatelets, GNP) para aprimorar a condutividade elétrica da celulose bacteriana pura. As nanoplaquetas foram inseridas por métodos físico-químicos pela rede de fibras da camada superficial do biopolímero, e foram fixadas ou presas pelas nanofibrilas

adjacentes da superfície da biocelulose. Para efeito de comparação, Zhou et al. (2013), também fez um compósito inserindo homoganeamente na membrana da celulose bacteriana, nanotubos de carbono de múltiplas paredes em formato de bastonetes (Multi-walled carbon nanotubes, MWCNT) através de sua estrutura porosa. Existe uma alta interação física e química entre as nanofibrilas do biopolímero e as partículas de GNP e MWCNT (ZHOU et al, 2013).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a pesquisa realizada, a biossíntese da CB está intrinsecamente relacionada com quatro propriedades: Meio de cultura, pH, temperatura e oxigênio dissolvido. A tabela a seguir é uma adaptação retirada do trabalho de Lee et. al (2014).

Tabela 2 – Produção De Celulose Bacteriana Pela *A.Xylinum* Em Diferentes Fontes De Carbono

<b>Bactéria</b>	<b>Fonte de carbono</b>	<b>Suplemento</b>	<b>Cultivo (h)</b>	<b>Rendimento (g.L<sup>-1</sup>)</b>
<i>A. xylinum</i> BRC 5	glicose	Etanol e oxigênio	50	15,30
<i>A. xylinum</i> BPR2001	melaço		72	7,82
<i>A. xylinum</i> BPR2001	frutose	Ágar e oxigênio	72	14,10
<i>A. xylinum</i> BPR2001	frutose	ágar	56	12,00
<i>A. xylinum</i> ssp. sucrofermentans BPR2001	frutose	oxigênio	52	10,40
<i>A. xylinum</i> ssp. sucrofermentans BPR2001	frutose	Ágar e oxigênio	44	8,70
<i>A. Xylinum</i> E25	flucose	-	168	3,50
<i>A. xylinum</i> NUST4.1	glicose	Sodium alginate	120	6,00

Fonte: Adaptado LEE et. al (2014) apud CHAWLA et al. (2009).

Ao observarmos a tabela é possível notar que o maior rendimento obtido em menor tempo de cultivo foi quando a fonte de carbono é diretamente a glicose no meio de cultura com etanol e oxigênio, em outra produção também com glicose, mas alterando o suplemento do meio de cultura, mesmo com o tempo de cultura 2,4 vezes maior obtemos menos da metade do rendimento de celulose bacteriana apresentada pelo meio composto por glicose, etanol e oxigênio. Embora a produção com frutose também apresente bons rendimentos, o tempo de cultura para obter um rendimento próximo aos obtidos com a glicose é maior, tornando assim a glicose um melhor precursor.

Citando o trabalho de Son et al. 2001, Lee et. al (2014) ressalta que o pH ideal para a produção de celulose bacteriana depende do micro-organismo utilizado mas está normalmente na faixa entre 4-7, no caso da *A.xylinum* o pH ideal encontrado foi de 6,5. Devido a presença de

metabólitos secundários como ácido acético, ácido láctico e ácido glutâmico, produtos do metabolismo da açúcares e outros compostos pela bactéria, pode ocorrer a diminuição do pH do meio de cultura, no entanto é essencial manter o pH para um bom rendimento. Para isso, pode-se adicionar o tampão CSL, que manterá o pH, porém como consequência de sua viscosidade ocorrerá a mistura de compostos não homogêneos no meio de cultura. (LEE et al., 2014 apud NORO et al. 2004).

Son et al. 2001 fez uma pesquisa sobre a influência da temperatura no rendimento da produção da CB pela *Acetobacter* sp.A9 pelo meio de cultura descrito por Hestrin e Schamm (HS), de acordo com seus estudos a temperatura ideal para um bom rendimento da produção da celulose bacteriana é entre 25 e 30°C, não apresentando mudança significativa nesse intervalo de temperatura, no entanto, ao ser elevada para 35°C o rendimento cai significativamente (LEE et al., 2014 apud SON et al. 2001). Além do rendimento, a temperatura também influencia na morfologia e na estrutura cristalina, por exemplo a obtenção de dois tipos de celulose utilizando o mesmo meio de cultivo (*A. xylinum* ATCC 23769 no meio HS ) variando apenas a temperatura, obteve-se celulose I (composta por microfibrilas que se orientam paralelamente) quando em 28°C e celulose II (composta por microfibrilas que se orientam antiparalelamente) quando em 4°C (LEE et al., 2014 apud HIRAI et al. 1997).

O oxigênio dissolvido no meio influencia na qualidade e no rendimento da produção de celulose bacteriana, de acordo com a pesquisa realizada o excesso de oxigênio no meio causa o aumento da concentração de ácido glucônico no meio de cultivo, o que influenciará o pH e afetará o rendimento do cultivo, já a deficiência de oxigênio dissolvido no meio impede o crescimento das bactérias no meio já que elas necessitam do mesmo para produção de energia, o que também afeta negativamente o rendimento (LEE et al., 2014 apud TANTRATIAN et al. 2005).

Em relação à sua aplicação, a celulose bacteriana mostra-se como um biopolímero extremamente versátil, a tabela abaixo retirada do trabalho de Donini et al. (2010) cita algumas das várias aplicabilidade da celulose bacteriana.

Tabela 3- Aplicações da Celulose Bacteriana

<b>Área</b>	<b>Aplicação</b>
<b>Cosméticos</b>	Estabilizador de emulsões: cremes tônicos, condicionadores, polidores de unha...
<b>Indústria têxtil</b>	Roupas para esportes, tendas e equipamentos de camping
<b>Mineração e refinaria</b>	Esponjas para coleta de vazamento de óleo, materiais para absorção de toxinas
<b>Tratamento de lixo</b>	Reciclagem de minerais e óleos
<b>Purificação de esgotos</b>	Purificação de esgotos urbanos, ultrafiltração de água
<b>Comunicações</b>	Diafragmas para microfones e fones estéreos
<b>Alimentos</b>	Celulose comestível (nata de coco)
<b>Indústria de papel</b>	Substituição de madeira, papéis especiais
<b>Medicina</b>	Pele artificial temporária para queimaduras e úlcera, componentes de implantes dentários
<b>Laboratórios</b>	Imobilização de proteínas de células, técnicas cromatográficas, meio para cultura de tecidos
<b>Eletrônica</b>	Materiais opto-eletrônicos (telas de cristal líquido, suporte para OLED)
<b>Energia</b>	Membranas células combustível (paládio)

Fonte: Donini et al (2010)

Embora muitíssimo versátil, a celulose bacteriana apresenta limitações quando o assunto é utilizá-la pura, por isso a maioria de suas aplicações é por meio de compósito utilizando-a como matriz devido à sua estrutura porosa e inserindo materiais de reforço. A tabela (Tabela 4) a seguir apresenta alguns compostos de CB.

Tabela 4- Compósitos de Celulose Bacteriana e Aplicação

<b>Ramo de aplicação</b>	<b>Material de reforço</b>	<b>Função</b>
<b>Eletrônica</b>	Nanoplaca de grafite	Condução elétrica
<b>Eletrônica</b>	Ácido 4-poliestireno sulfônico	Bateria de fluxo redox
<b>Biomédico/Industrial</b>	Quitosana	Nanofilme
<b>Biomédico</b>	Hidroxiapatita	Engenharia de tecido ósseo
<b>Biomédico</b>	Nanopartículas de Ag	Curativo antimicrobiano para feridas
<b>Biomédico</b>	Parafina	Estruturação óssea
<b>Eletrônica</b>	Poliuretano	Substrato de filme de diodo emissor de luz

Fonte: Esa; Tasirin; Rahman (2014)

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A celulose bacteriana apresenta-se como um biopolímero extremamente versátil e promissor que pode atender as necessidades atuais em termos de materiais funcionais e sustentáveis. Embora sua aplicabilidade pura seja limitada, os compósitos produzidos com a celulose bacteriana apresentam as mais diversas aplicações, como por exemplo, nas áreas da saúde, eletrônica, alimentícia e industrial, além de ser uma alternativa para a celulose vegetal.

A celulose bacteriana tem seu rendimento influenciado por quatro variáveis: meio de cultura, pH, temperatura e oxigênio dissolvido. O meio de cultura compõe-se basicamente da fonte de carbono, da bactéria e do suplemento utilizado. O rendimento será melhor e obtido em menor tempo quando a glicose é utilizada como fonte de carbono. Isso se deve ao fato de a celulose bacteriana ser um polímero formado por unidades de glicose unidas por ligações  $\beta$ -1,4, sendo assim, não haverá a necessidade de transformar a fonte de carbono em glicose. Como todo organismo vivo, elas também possuem um pH e temperatura ótimo para operar e sobreviver. Um pH e temperatura abaixo ou acima pode causar a desnaturação da proteína que as compõe por exemplo, o que causará a diminuição do número de seres vivos presentes no meio e conseqüentemente diminuirá a produção de celulose. O oxigênio dissolvido também apresenta grande importância já que a *Acetobacter xylinum* utiliza uma via aeróbia para metabolização das fontes de carbono. Sendo assim, é necessário haver disponibilidade de oxigênio no meio para que as bactérias produzam energia (finalidade da fermentação) e celulose. No entanto, o excesso de oxigênio dissolvido causa o aumento da concentração de ácido glucônico no meio, o que afeta o pH e conseqüentemente o crescimento das bactérias.

A celulose bacteriana na forma de compósito pode ser utilizada tanto como reforço, devido a sua alta resistência, quanto matriz, devido a sua porosidade. Podem ser utilizados os mais diversos tipos de materiais de reforço para obter o compósito de celulose bacteriana, o material escolhido dependerá da finalidade do compósito.



## REFERÊNCIAS

ANDRADE, F. K.; PERTILE, R. A. N.; DOURADO, F.; GAMA F. M. **Bacterial Cellulose: Properties, Production and Applications**. In: LEJEUNE, A.; DEPREZ, T. (Eds.). Cellulose: structure and properties, derivatives and industrial uses. New York: Nova Science Publishers, p. 427-458, 2010.

BEDOYA, J. G. M. **Biomaterial a base de celulose bacteriana com aplicação na regeneração de tecido cutâneo**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.

BOLDRIN, Luís Felipe. **Biossíntese, Aplicabilidade e Recentes Avanços no Estudo da Celulose Bacteriana**. 2015. 50 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação no curso de Engenharia Bioquímica) - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA, [S. l.], 2015. Disponível em: <https://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2015/MBI15011.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2021.

DONINI, Í.A. N., SALVI, D. T. B., FUKUMOTO, F.K., LUSTRI, W. R., BARUD, H. S., MARCHETTO, R., MESSADDEQ, Y. & RIBEIRO, S.J. L. **Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana**. Eclética Química, São Paulo, vol. 35, nº4, p. 165-178, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000400021>. Acesso em: 03/04/2021

DOURADO, F.; LEAL, M.; MARTINS, D.; FONTAO, A.; RODRIGUES, AC.; GAMA, M. **Celluloses as Food Ingredients/Additives: Is There a Room for BNC**. In: GAMA, M.; DOURADO, F.; BIELECKI, S. (Ed). Bacterial Nanocellulose: from Biotechnology to Bio-Economy, Cambridge: Elsevier, p. 142-151, 2016.

EMBRAPA, **Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações**. Documento 186. Fortaleza, 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1109174/1/DOC19001.pdf> Acesso em: 02 fev. 2021.

ESA, F.; TARISIN, S. M.; RAHMAN, Norliza A. **Overview of Bacterial Cellulose Production and Application.** Agriculture and Agricultural Science Procedia 2, Malaysia, p.113 – 119, 2014. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210784314000187>. Acesso em: 18 mar. 2021.

FARIA-TISCHER, P. C. S.; TISCHER, C. A. **Nanobiotechnology: platform technology or biomaterials and biological applications the nanostructures.** Biochemistry and Biotechnology Reports, Londrina, v. 1, n. 1, p. 32-53, 2012.

FERNANDES, I. A. A. **Desenvolvimento de biofilme de celulose bacteriana enriquecido com compostos bioativos de origem vegetal e colágeno hidrolisado.** 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2019.

HUANG, Y.; ZHU, C.; YANG, J.; NIE, Y.; CHEN, C. & SUN, D. **Recent Advances in Bacterial Cellulose.** Cellulose, Nanjing, p. 1-30, out. 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10570-013-0088-z>. Acesso em: 02 mar. 2021.

KLEMM, D., HEUBLEIN, B., FINK, H.-P. AND BOHN, A. **Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material.** *Angewandte Chemie International* v. 44, p. 3358-3393, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>. Acesso em: 20 jan.2022

LEE, K. Y.; BULDUM, G.; MANTALARIS, A.; BISMARCK, A. **More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites.** *Macromolecular Bioscience*, Weinheim, v. 14, n. 1, p. 10-32, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mabi.201300298>. Acesso em: 28 abr. 2021

LORAN, M. A.; HORTON, H. R.t; SCRIMGEOUR K. G.; PERRY, M. D. **Bioquímica, 5 ed.** São Paulo: Pearson, 2013.

MEFTAHI, A.; KHAJAVI, R.; RASHIDI, A.; SATTARI, M.; YAZDANSHENAS, M. E.; TORABI, M. **The effects of cotton gauze coating with microbial cellulose.** *Cellulose*, Houten, v. 17, n. 1, p. 199-204, 2010.

MOON, S. H.; PARK, J. M.; CHUN, H. Y.; KIM, S. J. **Comparisons of physical properties of bacterial celluloses produced in different culture conditions using saccharified food wastes.** *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Seoul, v. 11, n.1, p. 26-31, 2006.

MOOSAVI-NASAB, M.; YOUSEFI, A. R. **Investigation of physicochemical properties of the bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* from date syrup.** *World Academy of Science, Engineering and Technology*, Paris, v. 4, n. 8, p. 613 -618, 2010.

OLYVEIRA, L.M.; COSTA, L.M.M.; RICCARDI, C.S.; SANTOS, M.L.; DALTRO, P.B.; BASMAJI, P.; DALTRO, G.C.; GUASTALDI, A.C. **Bacterial cellulose for advanced medical materials.** In: GRUMEZESCU, A.M. (Ed). *Nanobiomaterials in Soft Tissue Engineering: Applications of Nanobiomaterials*. Cambridge: Elsevier, p.57-82, 2016.

PARK, J.K.; JUNG, J.Y.; KHAN, T. Bacterial cellulose. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P.A. (Ed). **Handbook of Hydrocolloids**, New York: CRC Press, 2. ed., p.725-739, 2009.

PINEDA, L. D. C.; MESA, L. A. C.; RIASCOS, C. A. M. **Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión.** *Ingeniería y Ciencia*, Medellín, v. 8, n. 16, p. 307-335, 2012.

SILVA, T. R. S. **Desenvolvimento de hidrogéis de celulose bacteriana para cultura de células e permeação de biomoléculas.** 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

SHAH, N., UL-ISLAMA, M., KHATTAKA, W.A., PARKA, J.K. **Overview of Bacterial Cellulose Composites: A Multipurpose Advanced Material.** *Carbohydrate Polymers* v. 98, 1585– 1598, 2013.

SHI, Z.; ZHANG, Y.; PHILLIPS, G.O.; YANG, G. **Utilization of bacterial cellulose in food.** *Food Hydrocolloids*, v.35, p.539-545, 2014.

ZHOU, T.; JIU, J.; SUGAHARA, T.; NAGAO, S.; SUGANUMA, K.; WANG, X.; LIU, X.; CHANG, P.; WANG, T.; XIONG, D.; CHEN, D.; NGE, T.T.; KOGA, H.; NOGI, M. **Electrically conductive bacterial cellulose composite membranes produced by the incorporation of graphite nanoplatelets in pristine bacterial cellulose membranes.** *eXPRESS Polymer Letters*, v. 7, n.

9, 756-766, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2013.73>. Acesso em: 01 mai. 2021.

ZHU, H.; JIA, S.; YANG, H.; JIA, Y.; YAN, L.; LI, J. **Preparation and application of bacterial cellulose sphere: A novel biomaterial.** *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, Sofia, v. 25, n. 1, p. 2233-2236, 2011.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao programa universidade para todos (ProUni)