

PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA UTILIZANDO SUBSTRATOS ALTERNATIVOS NO MEIO DE CULTURA*

JÉSSYCA DE ARAUJO BORRO¹, GIOVANA ROBERTA FRANCISCO BRONZATO²,
MILENA CHANES DE SOUZA³, ALCIDES LOPES LEÃO⁴, IVANA CESARINO⁵

* Artigo extraído da dissertação do primeiro autor

¹Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Agrônomicas/UNESP, Av. Universitária, 3780 - Altos do Paraíso, Fazenda Experimental Lageado, 18610-034, Botucatu, São Paulo, Brasil, jessycaborro.jb@gmail.com;

²Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Agrônomicas/UNESP, Av. Universitária, 3780 - Altos do Paraíso, Fazenda Experimental Lageado, 18610-034, Botucatu, São Paulo, Brasil, giovana.bronzato@unesp.br;

³Instituto de Tecnologia Flextronics (FIT), Centro de excelência (COE) de Economia Circular, Av. Liberdade, 6315 - Iporanga, 18087-170, Sorocaba, São Paulo, Brasil, milena.souza@fit-tecnologia.org.br

⁴Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Agrônomicas/UNESP, Av. Universitária, 3780 - Altos do Paraíso, Fazenda Experimental Lageado, 18610-034, Botucatu, São Paulo, Brasil, alcides.leao@unesp.br;

⁵Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Agrônomicas/UNESP, Av. Universitária, 3780 - Altos do Paraíso, Fazenda Experimental Lageado, 18610-034, Botucatu, São Paulo, Brasil, ivana.cesarino@unesp.br;

RESUMO: O estudo tem como objetivo o desenvolvimento de celulose bacteriana (CB) produzidas a partir da bactéria *Gluconacetobacter xylinus*, em meios de cultura enriquecidos com vinhaça e *Aloe vera*. A análise de Espectroscopia na região do infravermelho, possibilitou concluir que ocorreram alterações químicas nas estruturas da CB incorporadas com *Aloe vera* e na incorporação com vinhaça. Na análise de Difração de Raio – X, foi possível identificar incorporações com a presença de celulose I e incorporações com a presença de celulose II. Mecanicamente, a incorporação CBB80 de *Aloe vera* demonstrou semelhança nos valores de módulo de elasticidade (MPa), tensão máxima (MPa) e alongamento (%), enquanto a incorporação com vinhaça, a CBV40 demonstrou semelhança nos valores de módulo de elasticidade (MPa), tensão máxima (MPa) e alongamento (%) quando comparadas às membranas CB. Os resultados mostraram o potencial uso de incorporações da vinhaça e *Aloe vera* como substratos alternativos, reduzindo os altos custos envolvidos na produção, a valorização do uso de resíduos agroindustriais e o potencial uso de plantas com compostos bioativos.

Palavras-chaves: celulose bacteriana, *Gluconacetobacter xylinus*, substratos alternativos, vinhaça, *Aloe vera*.

BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION USING ALTERNATIVE SUBSTRATES IN THE CULTURE MEDIUM

ABSTRACT: The study aims to develop CB produced from the bacterium *Gluconacetobacter xylinus*, in culture media enriched with vinasse and *Aloe vera*. The infrared spectroscopy analysis allowed us to conclude that there were chemical alterations in the structures of the CB incorporated with *Aloe vera* and in the incorporation with vinasse. In the X-ray diffraction analysis, it was possible to identify incorporations with the presence of cellulose I and incorporations with the presence of cellulose II. Mechanically, the incorporation CBB80 of *Aloe vera* showed similarity in the values of modulus of elasticity (MPa), maximum stress (MPa) and elongation (%), while the incorporation with vinasse, CBV40 showed similarity in the values of modulus of elasticity (MPa), maximum stress (MPa) and elongation (%) when compared to CB membranes. The results showed the potential use of incorporations of vinasse and *Aloe vera* as alternative substrates, reducing the high costs involved in production, valorization of the use of agroindustrial waste and the potential use of plants with bioactive compounds.

Keywords: bacterial cellulose, *Gluconacetobacter xylinus*, alternative substrates, vinasse, *Aloe vera*.

1 INTRODUÇÃO

A celulose bacteriana (CB) é produzida a partir de vias biossintéticas de microrganismos dos seguintes gêneros: *Komagataeibacter*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina* e *Salmonella*. A bactéria produz as membranas de celulose por meio da fermentação em meio rico em fontes de carbono (C) e nitrogênio (N). Esta membrana de CB é considerada quimicamente pura, por ser livre de lignina e hemicelulose e não tóxica, além de possuir alta porosidade e resistência mecânica (CHANG; CHEN, 2016; QIU *et al.*, 2016; HALIB *et al.*, 2019; WANG; TAVAKOLI; TANG, 2019).

A utilização e aproveitamento de resíduos agroindustriais, alimentícios, cervejeiros, produtos com potenciais propriedades terapêuticas e/ou medicinais como substrato alternativo, nos meios de cultura, para a obtenção de celulose bacteriana se fazem crescentes na literatura, dentre eles, a utilização de glicerol (VAZQUEZ *et al.*, 2013), líquido de sisal (LIMA *et al.*, 2017), suco de caju e melão de soja (SOUZA *et al.*, 2021b), resíduos de cascas de laranja (KUO *et al.*, 2019), resíduos de casca de banana (SIJABAT *et al.*, 2020), mistura de xarope de tâmara e soro de queijo (RAISZADEH-JAHROMI *et al.*, 2020) entre outros. Estes subprodutos, geralmente são ricos em açúcares como: glicose, frutose, galactose e sacarose e podem ser promissores para a produção industrial da celulose bacteriana (WU; LIU, 2013).

A vinhaça, um subproduto da fabricação do etanol, é rica em nitrato residual líquido, alto teor de matéria orgânica, de macro e micronutrientes, altas quantidades de cátions como o potássio (K), ferro (Fe), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) e menores quantidades de Nitrogênio (N) e Fósforo (P) (FUESS, 2013). É composta por 93 % de água e 7 % de sólidos orgânicos e inorgânicos, podendo variar a composição conforme o processo de produção do etanol (ALBANEZ *et al.*, 2018). A vinhaça, quando depositada no solo, age como recuperador da fertilidade em um processo chamado de fertirrigação (OLIVEIRA, 2015). No entanto, a aplicação desse processo deve ser

controlada para evitar impactos no solo e nos lençóis freáticos, pois quando descontrolada, pode acarretar lixiviação (SULEIMAN *et al.*, 2018).

Conhecida popularmente como babosa, a *Aloe vera* é uma planta pertencente à família das Xanthorrhoeaceae (LIM; CHEONG, 2015). A principal característica é o alto teor de água, cerca de 99 %, com o outro 1 % de 75 compostos ativos diferentes, como vitaminas, minerais, enzimas, polissacarídeos, compostos fenólicos e ácidos orgânicos, além de derivados antracênicos, sendo as aloínas (barbaloina e isobarbaloina) os mais conhecidos. Possui grande potencial de aplicação nas áreas médicas – engenharia de tecidos, queimaduras e cicatrização. (RAMOS; PIMENTEL, 2011; FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014; RADHA; LAXMIPRIYA, 2015; GAO *et al.*, 2019).

Uma vez que o meio de cultura deve conter, no mínimo, fonte de carbono (C), fonte de nitrogênio (N), e outros macro e micronutrientes necessários para o crescimento do microrganismo, tais como sais de fósforo (P), enxofre (S), potássio (K) e magnésio (Mg), a *Aloe vera* e a vinhaça apresentam-se como potenciais substratos nos meios de cultura para a produção de celulose bacteriana, podendo tornar-se uma solução economicamente viável (JOZALA *et al.*, 2016; MOHAMMADKAZEMI; AZIN; ASHORI, 2015).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desenvolvimento de celulose bacteriana (CB) utilizando meios de cultura enriquecidos com vinhaça e *Aloe vera*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

2.1.1 Microrganismo

A bactéria utilizada para a produção de membranas de celulose bacteriana foi a *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 23768, doada gentilmente pelo Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro da Universidade Estadual

Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química de Araraquara – UNESP.

2.1.2 Meio de cultura: crescimento e manutenção

Para garantir o crescimento e viabilidade do microrganismo, foi utilizado o

meio de cultura Alaban modificado (substituição de glicose por sacarose – açúcar cristal), preparado em 1 L de água destilada e pH da solução ajustado entre 4,5 e 5 conforme Tabela 1. As esterilizações do meio de crescimento e de manutenção ocorreram em autoclave vertical, temperatura a 121°C, pressão 1,2 kgf/cm² por 15 min.

Tabela 1. Composição do meio de cultura padrão Alaban.

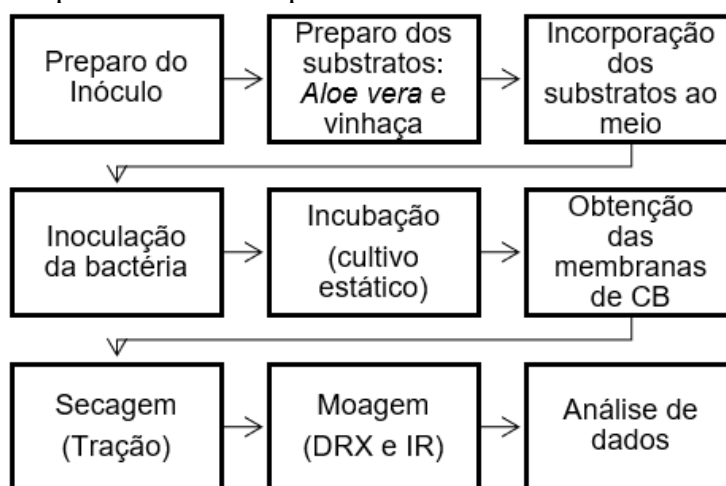
Componentes	Concentração (g.L ⁻¹)
Açúcar cristal (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	150
Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇)	6
Fosfato de potássio dibásico anidro (K ₂ HPO ₄)	10
Extrato de levedura	5
Sulfato de magnésio (MgSO ₄)	0,12
Sulfato de amônio ((NH ₄) ₂ SO ₄)	0,4

Fonte: Elaborado pelos autores

2.2 Métodos

A metodologia utilizada neste trabalho está descrita no fluxograma apresentado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma experimental das etapas



Fonte: Elaborado pelos autores

2.2.1 Preparo do inóculo

Para a formação do inóculo, cerca de 0,2 mL da alíquota recebida, foram adicionados em Erlenmeyer com 5 mL de meio de cultura padrão Alaban, esterilizado a 121°C, pressão 1,2 kgf/cm² por 15 min, e incubado por um período de 72 horas em cultivo estático com temperatura de 28 ± 2°C.

Após 72 horas, 3 mL do conteúdo anterior foram adicionados em Erlenmeyer com 50 mL de meio de cultura padrão Alaban e incubados, também, por um período de 72 horas sem agitação em temperatura de 28 ± 2°C.

2.2.2 Preparo do substrato *Aloe vera*

As folhas de *Aloe vera* foram coletadas na área externa do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, na Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Botucatu. O tratamento das folhas de *Aloe vera* foi realizado no laboratório RESIDUALL. Primeiramente as folhas foram lavadas em água corrente para remoção de impurezas maiores e logo após, lavadas uma segunda vez com água destilada a fim de garantir a limpeza do material. Para a separação do gel, foram cortados 2 cm da porção basal das folhas e 5 cm da porção apical. Para obter o gel, retirou-se a casca, morfológicamente dito como parênquima clorofilado, em cortes longitudinais e os espinhos laterais. O gel, parênquima de reserva, foi raspado com uma colher e homogeneizado no liquidificador marca Walita, velocidade 3 por 2 minutos. A solução foi transferida para um béquer de 2 L e aquecida em estufa à temperatura de 60 °C por 20 minutos, para diminuição da espuma que foi formada após a mistura no liquidificador.

2.2.3 Incorporação do substrato *Aloe vera* no meio de cultura Alaban

O meio de cultura padrão Alaban e o substrato de gel homogeneizado da *Aloe vera* foram preparados semanalmente. Utilizou-se Erlenmeyers de 250 mL para adição de 100 mL de meio de cultura, volume representado pelo meio de cultura Alaban + substrato. Para as amostras de CB controle utilizou-se a quantidade de 100 mL de meio de cultura padrão Alaban em Erlenmeyers de 250 mL. Já para as amostras de CBB20, 80mL de Alaban e 20mL de substrato de *Aloe vera*, amostras de CBB40, 60mL de Alaban e 40mL de substrato de *Aloe vera*, amostras de CBB60, 40mL de Alaban e 60mL de substrato de *Aloe vera* e amostras de CBB80, 20mL de Alaban e 80mL de substrato de *Aloe vera*. A certificação da distribuição das frações dos meios e dos substratos de maneira homogênea foi realizada utilizando-se de provetas graduadas.

A Tabela 2 apresenta a forma com que o meio de cultura padrão Alaban foi fracionado em porcentagens de 100 %, 80 %, 60 %, 40 % e 20 % e inseridos o substrato *Aloe vera*.

Tabela 2. Frações do substrato *Aloe vera* no meio de cultura padrão Alaban.

Frações		Membranas de celulose bacteriana (CB)	
		Alaban	<i>Aloe vera</i>
CB	100 %	100 mL	0 mL
CBB20	20 %	80 mL	20 mL
CBB40	40 %	60 mL	40 mL
CBB60	60 %	40 mL	60 mL
CBB80	80 %	20 mL	80 mL

Fonte: Elaborado pelos autores

2.2.4 Preparo do substrato vinhaça

A vinhaça utilizada na produção de membranas de celulose bacteriana foi doada gentilmente de um Alambique da região de São Manuel - SP. A separação da parte sólida e detritos da parte líquida ocorreu por meio de bombas à vácuo 122 BCP. Para preservação do material durante o experimento, a vinhaça foi engarrafada e congelada em um ultra freezer CL580/86v a - 40 °C.

2.2.5 Incorporação do substrato vinhaça no meio de cultura Alaban

O meio de cultura padrão Alaban e o substrato vinhaça foram preparados semanalmente. Para o preparo de amostras, foram utilizados Erlenmeyers de 250 mL, uma vez determinado o volume final de 100 mL (meio de cultura Alaban + substrato) a quantidade de 100 mL de meio de cultura padrão Alaban, para as amostras de CB controle, para amostras de CBV20, 80mL de Alaban e 20mL de

substrato de vinhaça, amostras de CBV40, 60mL de Alaban e 40mL de substrato de vinhaça, amostras de CBV60, 40mL de Alaban e 60mL de substrato de vinhaça e amostras de CBV80, 20mL de Alaban e 80mL de substrato de vinhaça. Utilizou-se provetas para a

certificação da distribuição das frações dos meios e dos substratos de maneira homogênea. A Tabela 3 apresenta a forma com que o meio de cultura padrão Alaban foi fracionado em porcentagens de 100 %, 80 %, 60 %, 40 % e 20 % e inseridos o substrato vinhaça.

Tabela 3. Frações do substrato *Aloe vera* no meio de cultura padrão Alaban.

Frações		Membranas de celulose bacteriana (CB)	
		Alaban	Vinhaça
CB	100 %	100 mL	0 mL
CBV20	20 %	80 mL	20 mL
CBV40	40 %	60 mL	40 mL
CBV60	60 %	40 mL	60 mL
CBV80	80 %	20 mL	80 mL

Fonte: Elaborado pelos autores

2.2.6 Esterilização e Inoculação

Os frascos, com o meio de cultivo padrão Alaban e os substratos alternativos (vinhaça e *Aloe vera*), nas devidas proporções, foram fechados com tampões de algodão e autoclavados em autoclave vertical, temperatura de 121°C, pressão 1,2 kgf/cm² por 15 min, mesmo procedimento realizado com a *Aloe vera*.

Após serem resfriados em temperatura ambiente, foram para a capela microbiológica de fluxo laminar vertical, já esterilizada com álcool 70 %. A luz UV foi ligada por 15 minutos a fim de garantir que não ocorresse nenhuma contaminação por outros organismos. Encerrado o tempo de esterilização com a luz, iniciou-se o procedimento de inoculação.

A inoculação foi feita a partir de uma membrana de celulose bacteriana crescida em um Erlenmeyer com Alaban 100 % por 7 dias. Cortou-se as membranas em quadrados de 2 cm x 2 cm para inocular os novos frascos. Os frascos inoculados, foram incubados em B.O.D (biochemical oxygen demand) com temperatura determinada de 28 ± 2 °C por cultivo estático durante 7 dias.

2.2.7 Purificação e neutralização

Para eliminar quaisquer resquícios de bactéria e garantir a purificação, as membranas

de celulose bacteriana foram lavadas com solução NaOH 4 % (m/v) a 60 °C por 1 hora em banho maria e, posteriormente, lavadas em água destilada sucessivas vezes até a neutralização.

2.2.8 Secagem

A fim de caracterizar as membranas de CB, o processo de secagem ocorreu em estufa, temperatura de 50 ± 2 °C por 10 h. As membranas foram colocadas em placas de petri previamente forradas com papel do tipo manteiga ou papel absorvente e uma outra placa foi colocada por cima, a fim de garantir que as CB secassem esticadas. A cada 1 h, trocou-se as folhas de papel manteiga e/ou papel absorvente, garantindo que as membranas não grudassem. Depois de secas, as membranas foram transferidas para as placas de petri nomeadas e colocadas em dessecadores para futuras análises

2.2.9 Moagem

As membranas de celulose bacteriana, já secas, foram moídas em moinho de facas tipo Willey. Para padronização do tamanho das partículas das amostras, primeiramente passaram pela peneira de aço inox de 10 mesh e logo em seguida para a peneira de 20 mesh. As CB em pó foram armazenadas em tubos Falcon para futuras análises de caracterização.

2.2.10 Propriedades Mecânicas: Teste de tração

Para análise das propriedades mecânicas das membranas de celulose bacteriana, foram realizados testes de tração, no equipamento EMIC, DL3000, do Laboratório de Resíduos Sólidos e Compósitos da FCA/Unesp/Botucatu – RESIDUALL.

Estes ensaios de tração foram realizados seguindo a norma ASTM D882 com adaptações. Para isso, dez corpos de prova secos em estufa de cada fração, mantidos em dessecador, foram cortados em 40 mm de comprimento, 15 mm de largura, e médias da espessura medidas com paquímetro digital em três pontos diferentes. Uma célula de carga de 5000 N (500 Kgf) foi utilizada.

Foram pré-determinadas e padronizadas antes do ensaio no software Tesc a velocidade de 5 mm/min e distância entre garras inicial de 20 mm, medida utilizada como comprimento inicial para cálculo do alongamento percentual.

Posteriormente em planilhas no Excel, foram calculadas as médias de Alongamento (%), Tensão de ruptura (MPa) e o Módulo de elasticidade (MPa), calculado a partir da inclinação da seção inicial reta da curva de deformação *versus* tensão obtida no ensaio de tração.

2.2.11 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR)

As análises das estruturas químicas das amostras de CB foram realizadas utilizando um Espectrômetro PerkinElmer® modelo Spectrum Two, do Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (Nupam) da FCA/Unesp/Botucatu.

A técnica determina as características estruturais das CB, os grupos funcionais e ligações presentes. As amostras foram secas, moídas e armazenadas em tubos Falcon. Para a leitura, foi determinada a faixa de 400 a 4.000 cm^{-1} . Os dados gerados foram tratados no software Origin®.

2.2.12 Difratorômetro de Raio – X (DRX)

Para a análise de cristalinidade das membranas de celulose bacteriana, as amostras foram processadas em um difratômetro de raio – X (D2 Phaser) de bancada do laboratório multiusuário do Campus de Londrina da Universidade Tecnológica do Paraná (UTFPR).

As amostras foram secas, moídas e armazenadas em tubos Falcon. A análise foi realizada nas 9 amostras em pó de CB nos parâmetros: Cu-K α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), slit 0,2 mm + faquinha (Air Anti – scattering Screen – AAS) de 3 mm. A varredura de cada amostra foi entre 5° e 40° na faixa 2 θ e velocidade de varredura de 0,02°/min. Os dados gerados, foram exportados para planilhas do Excel e os gráficos gerados no software Origin®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das propriedades mecânicas estão relacionados com a quantidade de água presente nas membranas de CB. A tensão pode ser afetada em relação à espessura das amostras, devido às ligações inter e intramoleculares na membrana e a orientação das fibrilas. As diferentes incorporações com o substrato *Aloe vera* apresentaram variações da tensão máxima de 0,91 a 2,32 MPa, de alongamento de 33,7 a 45,7% e de módulo de elasticidade de 3,41 a 13,05 Mpa, esses dados estão detalhados na Tabela 4. Quando comparada com a CB controle, a CBB80 apresentou maiores valores de módulo de elasticidade, tensão máxima e alongamento.

Os diferentes enriquecimentos com o substrato vinhaça apresentaram variações da tensão máxima de 0,78 a 1,76 MPa, de alongamento de 28,9 a 47,9% e do módulo de elasticidade de 5,98 a 13,42 Mpa, esses resultados estão apresentados na Tabela 5. Quando comparada com a CB controle, a CBV40 apresentou maior módulo de elasticidade e a CBV80 maiores valores de alongamento (%) e tensão máxima (MPa).

O índice de cristalinidade também é um fator que influencia nas propriedades mecânicas das CB. A presença de celulose do tipo II pode estar relacionada a uma menor

resistência à tração (CLARO, 2017). A fonte de carbono também pode influenciar as propriedades mecânicas das membranas de CB,

embora não afete a estrutura química (NADZIR *et al.*, 2021).

Tabela 4. Propriedades mecânicas das membranas de CB obtidas a partir da incorporação de substrato Aloe vera no meio de cultura padrão Alaban

CB	Módulo de Elasticidade (MPa)	Tensão Máxima (MPa)	Alongamento (%)	Espessura (mm)
CB	13,05 ± 5,69	2,32 ± 1,23	33,7 ± 9,02	0,66 ± 0,13
CBB20	5,95 ± 2,10	0,91 ± 0,24	35,1 ± 8,21	0,57 ± 0,14
CBB40	4,87 ± 1,02	0,91 ± 0,05	34,4 ± 6,55	0,45 ± 0,02
CBB60	3,41 ± 0,59	0,91 ± 0,26	45,7 ± 705	0,50 ± 0,06
CBB80	10,83 ± 7,27	1,91 ± 0,58	36,5 ± 12,39	0,20 ± 0,01

CB (100% Alaban) / CBB20 (80% Alaban e 20% *Aloe vera*) / CBB40 (60% Alaban e 40% *Aloe vera*) / CBB60 (40% Alaban e 60% *Aloe vera*) / CBB80 (20% Alaban e 80% *Aloe vera*).

Fonte: Elaborado pelos autores

Tabela 5. Propriedades mecânicas das membranas de CB obtidas a partir da incorporação de substrato vinhaça no meio de cultura padrão Alaban

CB	Módulo de Elasticidade (MPa)	Tensão Máxima (MPa)	Alongamento (%)	Espessura (mm)
CB	13,05 ± 5,69	2,32 ± 1,23	33,7 ± 9,02	0,66 ± 0,13
CBV20	5,98 ± 1,38	0,78 ± 0,15	36,9 ± 4,62	0,65 ± 0,06
CBV40	13,42 ± 2,26	1,61 ± 0,22	28,9 ± 6,23	0,37 ± 0,05
CBV60	10,15 ± 4,42	1,12 ± 0,42	33,4 ± 7,17	0,35 ± 0,05
CBV80	6,79 ± 1,96	1,76 ± 0,56	47,9 ± 9,05	0,19 ± 0,02

CB (100% Alaban) / CBV20 (80% Alaban e 20% vinhaça) / CBV40 (60% Alaban e 40% vinhaça) / CBV60 (40% Alaban e 60% vinhaça) / CBV80 (20% Alaban e 80% vinhaça).

Fonte: Elaborado pelos autores

Em relação ao espectro das CB, CBB20, CBB40, CBB60, CBB80 e CBV20, a banda na região de comprimento de onda entre 3352 – 3246 cm^{-1} , está relacionada à vibração de alongamento de grupos de hidroxila (OH) e é característica de celulose do tipo I (REVIN *et al.*, 2020). Conforme aumenta a diluição dos componentes, em relação ao meio, percebe-se que algumas bandas específicas ainda estão presentes, mesmo que menos acentuadas e outras bandas de absorção aparecem. Segundo (STANISŁAWSKA; STAROSZCZYK;

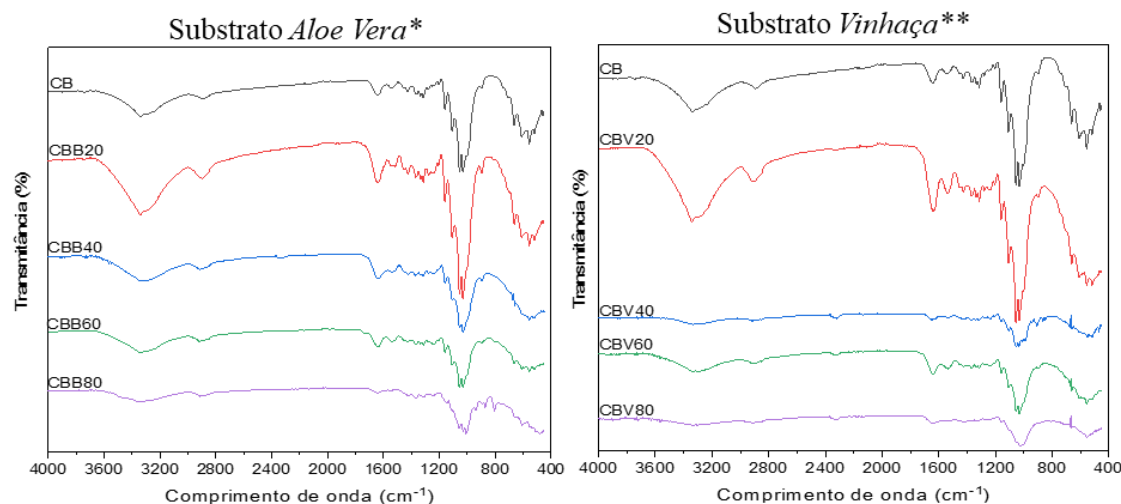
SZKODO, 2020) os espectros de IR das CB podem também variar em relação à cepa aplicada, à posição e à intensidade das bandas.

A banda em 1315 cm^{-1} presente na CB, CBB20, CBB40, CBB60 e CBV20 sugere regiões cristalinas, ou seja, regiões características de membranas de formação bacteriana, uma vez que a cristalinidade é um dos fatores imprescindíveis na caracterização das amostras de CB, mesmo que existam regiões não cristalinas numa mesma CB (ZHONG, 2020).

Os espectros de IR, apresentados na Figura 2, mostraram que as diferentes incorporações, tanto de vinhaça como de *Aloe vera*, apresentaram semelhanças entre si, com mudanças em relação ao tamanho e intensidade

dos espectros, principalmente na presença das bandas relacionadas à celulose do tipo I, características de CB (GÜZEL; AKPINAR, 2020).

Figura 2. Espectros de IR de CB obtidos das incorporações com substrato *Aloe vera* e vinhaça



* CB (100% Alaban) / CBB20 (80% Alaban e 20% *Aloe vera*) / CBB40 (60% Alaban e 40% *Aloe vera*) / CBB60 (40% Alaban e 60% *Aloe vera*) / CBB80 (20% Alaban e 80% *Aloe vera*). ** CB (100% Alaban) / CBV20 (80% Alaban e 20% vinhaça) / CBV40 (60% Alaban e 40% vinhaça) / CBV60 (40% Alaban e 60% vinhaça) / CBV80 (20% Alaban e 80% vinhaça).

Fonte: Elaborado pelos autores

A celulose I é uma mistura de duas formas cristalinas, a I α e a I β . A celulose I α (triclínica), é predominante em algas e bactérias e celulose I β (monoclínica), característico da celulose vegetal, encontrados em plantas e tunicados. A celulose I, pode ser convertida em celulose II e III. A celulose II, material polimorfo da indústria, é considerada a forma mais estável. A diferença entre a celulose I e II está na orientação atômica, a direção no sentido paralelo da celulose I é oposto ao da celulose II (SOUZA *et al.*, 2020a).

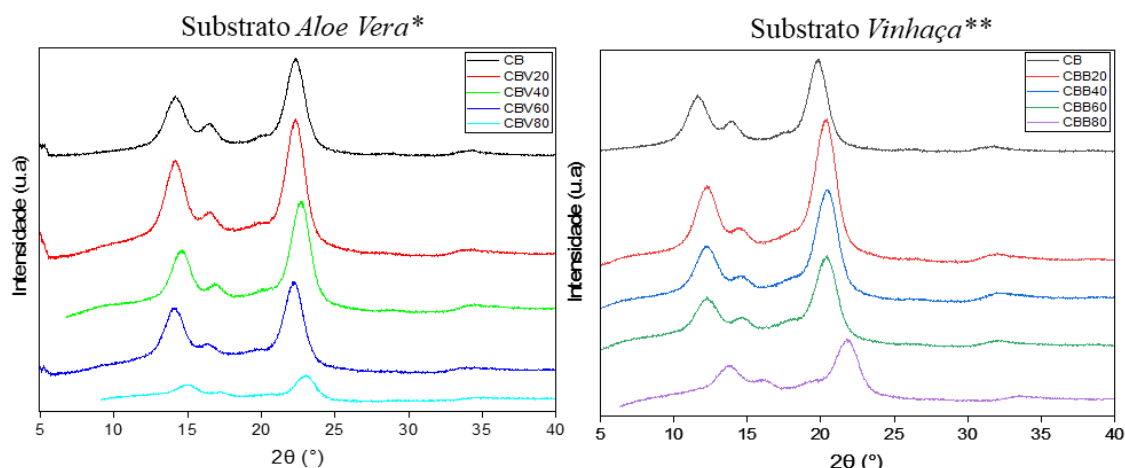
A Figura 3 apresenta os difratogramas de DRX e em todas as amostras, tanto enriquecidas com vinhaça como com *Aloe vera*, foram identificados, no segundo pico, região do ângulo $2\theta \cong 14$, celulose I. Nas amostras enriquecidas com substrato *Aloe vera*, a CBB20, CBB40 e CBB60 apresentaram picos predominantemente na região de $12,2^\circ$ e $20,5^\circ$. O pico no ângulo $2\theta \cong 12^\circ$ e 20° são característicos de celulose II, apresentando

arranjo antiparalelo (THORAT; DASTAGER, 2018).

Percebe-se que, o enriquecimento CBV80, com proporção de 80% de vinhaça inserida ao meio de cultura, o pico próximo a 16° . A variação das intensidades, principalmente entre o ângulo $2\theta \cong 16^\circ$, podemos relacionar com as mudanças na cristalinidade da celulose (celulose cristalina e amorfa), associado também com as diferentes incorporações de vinhaça ao meio de cultura (GHOZALI; MELIANA; CHALID, 2021), provocando uma possível alteração na conformação da celulose.

Alguns processos envolvidos na produção de CB podem influenciar na cristalinidade destas membranas, são eles: o meio de cultivo (estático ou dinâmico), a fonte de carbono, pH do meio, temperatura, tempo de crescimento, método de secagem e método de obtenção das CB em pó (liofilizador, moinho de bolas, moinho de facas, entre outros) (KHAN *et al.*, 2021).

Figura 3. Difratomogramas de DRX de CB obtidos a partir das incorporações com substrato *Aloe vera* e vinhaça



* CB (100% Alaban) / CBB20 (80% Alaban e 20% *Aloe vera*) / CBB40 (60% Alaban e 40% *Aloe vera*) / CBB60 (40% Alaban e 60% *Aloe vera*) / CBB80 (20% Alaban e 80% *Aloe vera*). ** CB (100% Alaban) / CBV20 (80% Alaban e 20% vinhaça) / CBV40 (60% Alaban e 40% vinhaça) / CBV60 (40% Alaban e 60% vinhaça) / CBV80 (20% Alaban e 80% vinhaça).

Fonte: Elaborado pelos autores

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos dentre as diferentes frações dos substratos avaliados nas análises, apontam dados promissores para o uso de vinhaça e *Aloe vera* como substratos no meio de cultura para a produção de celulose bacteriana.

Na análise de DRX, foi possível identificar picos característicos de celulose I nos enriquecimentos com vinhaça (CBV20, CBV40, CBV60 e CBV80) e de celulose II nos enriquecimentos com *Aloe vera* (CBB20, CBB40 e CBB60).

Mecanicamente, a CBB80 de *Aloe vera* demonstrou semelhança nos valores de módulo de elasticidade (MPa) e tensão máxima (MPa) quando comparadas às membranas CB (controle) enquanto a CBV40 demonstrou semelhança nos valores de módulo de elasticidade (MPa) e alongamento (%).

Morfologicamente, as CB apresentaram uma rede de microfibrilas densa e sem padrão de disposição muito semelhante às membranas controle. A CBB80 demonstrou uma rede de microfibrilas com gel de *Aloe vera* aderidas na superfície.

O uso da vinhaça, promove a redução dos altos custos envolvidos na produção de CB e a valorização do uso de resíduos

agroindustriais no processo de produção de CB. Já o uso da *Aloe vera*, com propriedades terapêuticas e/ou medicinais, conhecidas e descritas na literatura, possibilita além da redução dos custos na produção de CB, como também aplicação nas mais diversas áreas, como médicas, cosméticas e farmacêuticas.

5 REFERÊNCIAS

- ALBANEZ, R.; LOVATO, G.; RATUSZNEI, S. M.; ZIAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D. Feasibility of biohydrogen production by Co-digestion of vinasse (Sugarcane stillage) and Molasses in an Ansbbr. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 27-41, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180351s20150807>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjce/a/yktRgQms67fgWNPfw5vwDdH/?lang=en#>. Acesso em: 11 out. 2023.
- CHANG, W. S.; CHEN, H. H. Physical properties of bacterial cellulose composites for wound dressings. **Food Hydrocolloids**, Taiwan, v. 53, p. 75-83, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.009>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X14004500?via%3Dihub>.

Acesso em: 11 out. 2023.

FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. G. Propriedades farmacológicas da Aloe vera (L.) Burm. f. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014. DOI:

<https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000200020>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbpm/a/xVWmRtwnWBjLcSmMJKjcCcN/?lang=pt>. Acesso em: 11 out. 2023.

FUESS, L. **Potencial contaminante e energético da vinhaça**: riscos de contaminação ao solo e recursos hídricos e recuperação de energia a partir da digestão anaeróbica. 2013. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013. Disponível em:

<https://repositorio.unesp.br/items/831f1357-fc89-4cfd-a0f5-0b6cd71e2177>. Acesso em: 11 out. 2023.

GAO, Y.; KUOK, I. K.; JIN, Y.; WANG, R. Biomedical applications of Aloe vera. **Critical reviews in food science and nutrition**, Boca Raton, v. 59, n. sup.1, p. S244-S256, 2019. DOI: <http://10.1080/10408398.2018.1496320>. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2018.1496320>. Acesso em: 11 out. 2023.

GHOZALI, M.; MELIANA, Y.; CHALID, M. Synthesis and characterization of bacterial cellulose by Acetobacter xylinum using liquid tapioca waste. **Materialstoday: Proceedings**, Cleveland, v. 44, p. 2131-2134, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.274>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S221478532039965X>. Acesso em: 17 out. 2023.

GÜZEL, M.; AKPINAR, Ö. Preparation and characterization of bacterial cellulose produced from fruit and vegetable peels by

Komagataeibacter hansenii GA2016.

International Journal of Biological Macromolecules, Guildford, v. 162, p. 1597-1604, 1 nov. 2020. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.049> Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32777420/>. Acesso em: 17 out. 2023.

HALIB, N.; AHMAD, I.; GRASSIC, M.; GRASSI, G. The remarkable three-dimensional network structure of bacterial cellulose for tissue engineering applications. **International Journal of Pharmaceutics**,

Amsterdam, v. 566, p. 631-640, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.06.017> Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517319304612>. Acesso em: 17 out. 2023.

JOZALA, A. F.; LENCASTRE-NOVAES, LC; LOPES, M. A; SANTOS-EBIUMA, C. V; MAZZOLA, G. P, PESSOA JR, A; GRUTA, D; GERENUTTI, M; CHAUD, MV. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 100, p. 2063-2072, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7243-4>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-015-7243-4>. Acesso em: 17 out. 2023.

KHAN, H.; SAROHA, V.; RAGHUVANSHI, S.; BHARTI, K. A.; DUTT, D. Valorization of fruit processing waste to produce high value-added bacterial nanocellulose by a novel strain Komagataeibacter xylinus IITR DKH20. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 260, p. 117807, maio 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117807>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33712153/>. Acesso em: 17 out. 2023.

KUO, C. H.; HUANG, Y. C.; SHIEH, C. J.; WANG, D. H. M.; TSENG, C. Y. Hydrolysis of Orange Peel with Cellulase and Pectinase to Produce Bacterial Cellulose using Gluconacetobacter xylinus. **Waste and**

Biomass Valorization, Albi, v. 10, p. 85-93, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0034-7>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/318789268_Hydrolysis_of_Orange_Peel_with_Cellulase_and_Pectinase_to_Produce_Bacterial_Cellulose_using_Gluconacetobacter_xylinus. Acesso em: 17 out. 2023.

LIM, Z. X.; CHEONG, K. Y. Effects of drying temperature and ethanol concentration on bipolar switching characteristics of natural Aloe vera-based memory devices. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 17, n. 40, p. 26833-26853, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5CP04622J>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/cp/c5cp04622j>. Acesso em: 17 out. 2023.

LIMA, H. L. S.; NASCIMENTO, S. E.; ANDRADE, K. F.; BRIGIDA, S. I. A.; BORGES, F. M.; CASSALES, R. A.; MUNIZ, R. C.; SOUZA FILHO, M. M. S.; MORAIS, S. P. J.; ROSA, M. F. Bacterial cellulose production by *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 using sisal juice - An agroindustry waste. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 671-680, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150514>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjce/a/nXCm63frpnDcTDPVjzn6vdG/abstract/?lang=en>. Acesso em: 17 out. 2023.

MOHAMMADKAZEMI, F.; AZIN, M.; ASHORI, A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 117, p. 518-523, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014486171401011X?via%3Dihub>. Acesso em: 17 out. 2023.

NADZIR, M. M; NURHAYATI, W. R; IDRIS, N. F; NGUYEN, H, M. Biomedical Applications of Bacterial Exopolysaccharides: A Review. **Polymers**, Abingdon, v. 13, n. 4, p.

1-23, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13040530>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7916691/>. Acesso em: 17 out. 2023.

OLIVEIRA, B. G. **Emissão de metano e microbiota funcional associadas a vinhaça de cana-de- açúcar em sistemas de armazenamento e transporte**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

QIU, Y. Y.; QIU, M.; CUI, J.; WEI, Q. Bacterial cellulose and bacterial cellulose-vaccarin membranes for wound healing. **Materials Science and Engineering C**, Amsterdam, v. 59, p. 303-309, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.016>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26652377/>. Acesso em: 17 out. 2023.

RADHA, M. H.; LAXMIPRIYA, N. P. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, Vadodara, Gujarat, v. 5, n. 1, p. 21–26, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.10.006>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26151005/>. Acesso em 17 out. 2023.

RAISZADEH-JAHROMI, Y.; BARI, R. M.; ALMASI, H ; AMIRI, S. Optimization of bacterial cellulose production by *Komagataeibacter xylinus* PTCC 1734 in a low-cost medium using optimal combined design. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 57, n. 7, p. 2524-2533, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04289-6>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7271089/>. Acesso em: 17 out. 2023.

RAMOS, A. P.; PIMENTEL, L. C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização Effectiveness of Aloe vera on the tissue repair

and healing process. **Brazilian Journal of Health**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 40-48, 2011.

REVIN, V. V.; LIYASKINA, V. E.; SAPUNOVA, B. N.; BOGATYREVA, O. A. Isolation and Characterization of the Strains Producing Bacterial Cellulose. **Microbiology (Russian Federation)**, Moscou, v. 89, n. 1, p. 86-95, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0026261720010130>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1134/S0026261720010130>. Acesso em: 17 out. 2023.

SOUZA, E. F.; FURTADO, M.; CARVALHO, W. P. C.; SILVA, F. O.; GOTTSCHALK, M. F. L. Production and characterization of *Gluconacetobacter xylinus* bacterial cellulose using cashew apple juice and soybean molasses. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 146, p. 285-289, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.180>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31883899/>. Acesso em: 17 out. 2023.

SOUZA, R. P.; OLIVEIRA, C. A.; VILSINSKI, H. B.; KIPPER, J. M.; MARTINS, F. A. Materiais à base de polissacarídeos criados por processos físicos: da preparação às aplicações biomédicas. **Farmacêutica**, Maringá, v. 13, n. 5, p. 621, 2021b. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050621>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/5/621>. Acesso em: 17 out. 2023.

STANISŁAWSKA, A.; STAROSZCZYK, H.; SZKODO, M. The effect of dehydration/rehydration of bacterial nanocellulose on its tensile strength and physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 236, p. 116023, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116023>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32172842/>. Acesso em: 17 out. 2023.

SULEIMAN, A. K. A.; LOURENÇO, S. K.; PITOMBO, M. L.; MENDES, L. W.; ROESCH, W. L. F.; PIJL, A.; CARMO, B. J.; CANTARELLA, H.; KURAMAE, E. E. Recycling organic residues in agriculture impacts soil-borne microbial community structure, function and N₂O emissions. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 631/632, p. 1089-1099, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.116>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29727935/>. Acesso em: 17 out. 2023.

THORAT, M. N.; DASTAGER, S. G. High yield production of cellulose by a *Komagataeibacter rhaeticus* PG2 strain isolated from pomegranate as a new host. **RSC Advances**, Cambridge, v. 8, n. 52, p. 29797-29805, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8RA05295F>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/ra/c8ra05295f>. Acesso em: 17 out. 2023.

VAZQUEZ, A.; FORESTI, M. L.; CERRUTTI, P.; GALVAGNO, M. Bacterial Cellulose from Simple and Low Cost Production Media by *Gluconacetobacter xylinus*. **Journal of Polymers and the Environment**, Buenos Aires, v. 21, n. 2, p. 545-554, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10924-012-0541-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10924-012-0541-3>. Acesso em: 17 out. 2023.

WANG, J.; TAVAKOLI, J.; TANG, Y. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 219, p. 63-76, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31151547/>. Acesso em: 17 out. 2023.

WU, J. M.; LIU, R. H. Cost-effective production of bacterial cellulose in static cultures using distillery wastewater. **Journal**

of Bioscience and Bioengineering, Osaka, v. 115, n. 3, p. 284-290, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.09.014>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23102658/>. Acesso em: 17 out. 2023.

ZHONG, C. Industrial-Scale Production and Applications of Bacterial Cellulose. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 8, article 605374, p. 1-19, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.605374>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33415099/>. Acesso em: 17 out. 2023.