

# BIOSSÍNTESE DE CELULOSE BACTERIANA UTILIZANDO *GLUCONACETOBACTER HANSENI* PARA UTILIZAÇÃO COMO POLÍMERO BASE PARA MEMBRANAS ATIVAS

Giulia da Costa Sacramento<sup>1</sup> Katharine Valéria Saraiva Hodel<sup>2</sup> Silmar Baptista Nunes<sup>3</sup> Josiane Dantas Viana Barbosa<sup>4</sup> Bruna Aparecida Souza Machado<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia de Materiais; Iniciação Científica – FAPESB; giulia.cs@hotmail.com

<sup>2</sup> Mestranda em Farmácia; Universidade Federal da Bahia; Salvador – BA, k2hodel@gmail.com

<sup>3</sup> Doutorando em Gestão de Tecnologia Industrial; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; silmar@fiieb.org.br

<sup>4</sup> Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; josianedantas@fiieb.org.br

<sup>5</sup> Doutora em Biotecnologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; brunam@fiieb.org.br

## RESUMO

A celulose bacteriana (CB), é um biopolímero muito promissor para aplicações na área de saúde, inclusive como curativos para lesões dérmicas, por conta das suas características básicas como promotor da regeneração tecidual e sua capacidade de absorver materiais, tornando-se um compósito. Tendo como base essas informações, este projeto tem como propósito a obter e caracterizar membranas poliméricas a partir da biossíntese da CB utilizando a cepa bacteriana *Gluconacetobacter hansenii*. A CB é produzida a partir dessa bactéria acidófila, em um meio de cultivo rico em fonte de carbono e após 15 dias, as membranas de celulose são retiradas e purificadas. As propriedades foram avaliadas a partir de análises de atividade de água, umidade, opacidade, espessura e gramatura. A partir dos resultados, foi comprovado então que a celulose pode servir como um curativo de alta eficiência para melhorar a qualidade de vida para pacientes com lesões dérmicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biomateriais. Biocurativos. Celulose Bacteriana. Biopolímeros.

## 1. INTRODUÇÃO

A celulose bacteriana (CB) possui, quimicamente, a mesma estrutura da celulose produzida por plantas, entretanto a morfologia da celulose obtidas pelas plantas é diferente, contendo impurezas como lignina, pectina e hemicelulose.<sup>1</sup> Em um comparativo, o processo de purificação da celulose obtida a partir de bactérias é relativamente simples em relação à sintetizada por plantas, onde se encontra a necessidade de processos complexos, com custos elevados e seriamente poluentes para a extração da lignina e da hemicelulose<sup>2</sup>. A CB possui requisitos apropriados para obtenção de novos biomateriais, sendo esses a biocompatibilidade, pureza e uniformidade. Além da capacidade de retenção de líquidos, que é de extrema importância para aplicações médicas e engenharia de tecidos. Todas essas características são essenciais para uma cobertura ideal para feridas precisa atender alguns critérios básicos, que são: provisão e manutenção de um ambiente úmido; permissão para a ocorrência de trocas gasosas de forma adequada; provisão de isolamento térmico, livre de partículas ou contaminantes tóxicos; manejo do excesso de exsudato, que permite uma remoção não traumática; possuir ajustabilidade; possuir baixo custo; durabilidade; elasticidade e não antigenicidade; proteção contra infecções secundárias, agindo como uma barreira antibacteriana<sup>3</sup>. Em relação as propriedades físicas, mecânicas e biológicas, a CB possui uma barreira física contra infecção bacteriana, reduz de modo considerável a dor, possui baixo custo e esterilização acessível, além de ser biocompatível, atóxica e com características como elasticidade, alta conformidade e resistência.<sup>4</sup> A celulose bacteriana pode ter sua estrutura modificada, permitindo que substâncias possam ser incorporadas a sua estrutura, como por exemplo a própolis, que possui propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticancerígenas.<sup>5</sup> Sendo assim, esse projeto tem como objetivo produzir e caracterizar as membranas de CB obtidas por meio da biossíntese da cepa bacteriana *Gluconacetobacter hansenii*. É desejável que ao fim deste projeto, obtenha-se um biomaterial com funcionalidade para ser utilizado como curativo cicatrizante para queimaduras dérmicas.

## 2. METODOLOGIA

### *Produção e Purificação da CB*

A *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769 foi ativada e mantida em um meio de fermentação estático em um processo que durou 14 dias até a formação da membrana na superfície ar/meio. Foi utilizado o meio de cultivo Hestrin e Schramm (HS)<sup>6</sup> com adaptações. Os meios de fermentação esterilizados foram mantidos uma estufa

bacteriológica (QUIMIS – modelo Q316M4) a 30°. Após o período de incubação, a membranas foi purificada através do tratamento alcalino proposto por Vasconcelos et al.<sup>7</sup> com carbonato de potássio. Depois da etapa de purificação, a membrana foi armazenada em uma placa de petri com água destilada, na incubadora D.O.B (Demanda Bioquímica de Oxigênio) na temperatura de aproximadamente 4°C.

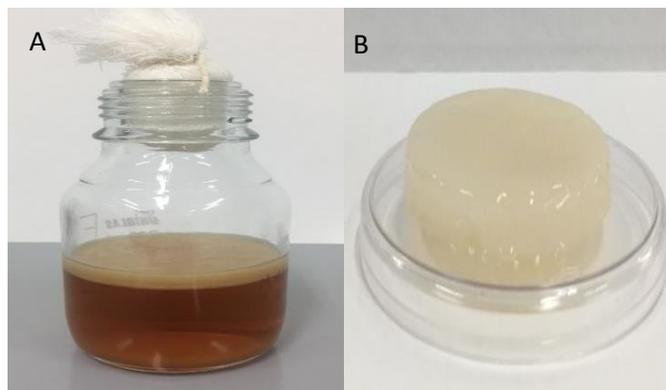
#### **Caracterização das membranas de CB**

As membranas de celulose bacteriana foram caracterizadas quanto a atividade de água, umidade, sólidos totais, espessura segundo Costa<sup>8</sup>. O teste de atividade de água das amostras foi realizado utilizando um equipamento da marca Novasina, modelo Lab Master Aw em uma temperatura a 25 °C. A opacidade aparente da CB foi determinada pela técnica espectrofotométrica proposta por Almeida<sup>9</sup>, assim como a gramatura. A capacidade de reidratação de água foi realizada segundo Faria<sup>10</sup>. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A Figura 1(A) mostra a membrana de CB que foi obtida a partir do meio de cultivo HS graças a formação superfície ar/meio de cultivo após ter sido mantida pelo tempo de incubação determinado. A Figura 1(B) mostra a membrana de CB após a purificação pelo tratamento alcalino.

Figura 1. (A) Meio de Cultivo HS (B) Membrana de CB após purificação



Na Tabela 01 estão dispostos os resultados referentes a celulose bacteriana (CB), contendo as análises de atividade de água (Aw), umidade (U), sólidos totais (ST), espessura (E), gramatura (G), opacidade (O) e taxa de reidratação (TR).

Tabela 01. Resultados das análises da CB.

<b>Aw</b>	<b>U (%)</b>	<b>ST (%)</b>	<b>E (mm)</b>	<b>G (g.cm<sup>-2</sup>)</b>	<b>O (Abs 600nm. mm<sup>-1</sup>)</b>	<b>TR (%)</b>
0,887 ±00011	98,04 ±0,1	1,96 ± 0,1	5,202 ± 0,8	119,5 ±11,78	1,545 ± 0,036	43,51 ± 0,01

Os resultados descritos representam valores médios aritméticos e as barras de erro referem-se ao desvio padrão da média.

Os resultados das análises de atividade de água (0,8) e umidade (98,04%) apresentaram valores altos, o que significa que os sólidos totais que foram encontrados apresentam uma concentração baixíssima (1,96%) ratificando os dados encontrados por Donini<sup>11</sup> e Chan & Chen<sup>12</sup>, onde é comprovado que as membranas de celulose bacteriana possuem uma quantidade elevada de água em sua composição em relação aos curativos comuns, abrangendo a diversos requisitos para aplicação de curativos, como a capacidade de troca do vapor de água. A análise opacidade possui grande importância visto que, para manter um padrão de qualidade, é necessário que o aspecto translucido das membranas sejam pré-definidos de acordos com os resultados obtidos. A translucidez do curativo é de suma importância pois atende a requisitos essenciais, funcionando como auxiliar para acompanhamento das lesões dérmicas. Quanto as análises de espessura e gramatura, que servem para avaliar as propriedades de barreira e desempenho mecânico, indicam que a massa da celulose (119,5 g.cm<sup>-2</sup>) oferece uma boa resistência mecânica e sua espessura (5.059mm) possui boa uniformização, sem variações, já

que variações na espessura implicam problemas no desempenho mecânico do material.<sup>13</sup> Os resultados encontrados relacionados a análise da taxa de reidratação foram maiores que os de Faria<sup>10</sup>, visto que a composição material analisado foi uma blenda entre CB e polímero metacrilato de glicidila, que é hidrofóbico, diferente do presente estudo que analisou a CB pura. A alta taxa de reidratação de água tem relação com a porosidade da membrana. A porosidade é importante para o processo de adesão de moléculas ativas e para a proliferação celular, o que podem impactar diretamente no processo de cura.<sup>14</sup>

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os biopolímeros vêm ganhando mercado e tem tido como preocupações maiores os fatores como compatibilidade e adequação da matéria prima ao processo de produção. No caso das membranas de celulose bacteriana para biocurativos, o fator de compatibilidade implica de forma importante para o resultado esperado: bem-estar e qualidade de vida do paciente. A membrana possui resultados interessantes para seu determinado fim, que atendem os requisitos cruciais para um curativo. Experimentos estão sendo realizados, quanto a purificação, para definir o padrão de excelência da translucidez. Sendo assim, é importante a continuidade dos estudos para futura incorporação da própolis vermelha à membrana de CB, que poderá aumentar a eficiência dos biocurativos dérmicos.

#### Agradecimentos

A FAPESB, por todo apoio a pesquisa. A equipe do laboratório, que sempre auxiliam quando necessário. A Katharine Hodel, que me ensina mais a cada dia. A Bruna Machado, por ter me oferecido essa experiência, pelo projeto excepcional e todo o apoio que tem me dado.

#### 5. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> BROWN, Malcon; **Cellulose biosynthesis in higher plants**. Trends in Plant Science., v.1, n.5, p.149-156. 1996.
- <sup>2</sup> PEREIRA, Ana Paula et al. **Novos Biomateriais: Híbridos Orgânico-Inorgânicos Bioativos**. Belo Horizonte: Polímeros: Ciência e Tecnologia, 9(4):104-109. 1999.
- <sup>3</sup> GIRARDI, Raquel Cecília Goy. **Comportamento das matrizes de colágeno utilizadas no tratamento de feridas planas induzidas em pele de rato**. Dissertação de mestrado – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2005.
- <sup>4</sup> CZAJA, W. et al. **Microbial cellulose the natural power to heal wounds**. Biomaterials: v.27, n.2, p.145-51. 2006.
- <sup>5</sup> PICOLOTTO, Aline, et al. **Bacterial cellulose membrane associated with red propolis as phytomodulator: Improved healing effects in experimental models of diabetes mellitus**. Biomedicine & Pharmacotherapy: 2019.
- <sup>6</sup> HESTRIN, S. e SCHRAMM M. **Synthesis of Cellulose by *Acetobacter xylinum***. Biochem J, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954
- <sup>7</sup> VASCONCELOS, N. F. et al. **Efeito do tratamento alcalino na porosidade de películas de celulose bacteriana**. In: Encontro Nordeste De Ciência E Tecnologia De Polímeros, 3., 2016, Fortaleza: ABPOL-NE, p. 142-146. Fortaleza. Anais. 2016.
- <sup>8</sup> COSTA, Samantha Serra. **Filmes de fécula de mandioca e glicerol, reforçados com nanocelulose e ativados com própolis vermelha**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
- <sup>9</sup> ALMEIDA, Denise et al. **Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata**. Polímeros, v. 23, n. 4, 538-546, 2013.
- <sup>10</sup> FARIA, Maria. et al. **Poly(glycidyl methacrylate)/bacterial cellulose nanocomposites: Preparation, characterization and post-modification**. International Journal of Biological Macromolecules: Volume 127, Pages 618-627. 2019.
- <sup>11</sup> DONINI, I. A. N. et al. **Desenvolvimento de métodos de cultivo de *Gluconacetobacter xylinus* para obtenção de compósitos à base de celulose bacteriana e colágeno Tipo I adicionado *in situ***. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, p. 105, 2011.
- <sup>12</sup> CHAN, W. S.; CHEN, H. H. **Physical properties of bacterial cellulose composites for wound dressings**. Food Hydrocoll, v. 53, p. 75-83, 2016.
- <sup>13</sup> CORDEIRO, Naiara de Freitas. **Obtenção Caracterização De Películas Biodegradáveis De Amido De Mandioca Incorporados Com Celulose Bacteriana. TCC** - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. Campo Morão. 2015.
- <sup>14</sup> Lamboni, Lallepak et al. **Silk Sericin-Functionalized Bacterial Cellulose as a Potential Wound-Healing Biomaterial**. Biomacromolecules, v. 17, n. 9, p. 3076-3084, 2016.