



Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023



Isolamento de microrganismos produtores de celulose de cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) de kombucha utilizando meio à base de resíduos de laranja

Floriano Witt Neto | Fábio C. Sampaio | José Guilherme P. Martin | Arthur José D. Almeida | Bárbara C. Venturim | André Ricardo F. S. Rocha
Grande área: Ciências biológicas e da Saúde | Área temática: Microbiologia | Categoria: Pesquisa | Palavras-chave: Biopolímeros, Triagem, SCOBY

Introdução

A celulose bacteriana é um biopolímero de β -D-glicopiranosos unidas por ligações glicosídicas β (1-4) cujas diferenças na organização estrutural a conferem maior índice de cristalinidade e maior capacidade de reter água em relação à celulose vegetal, ressaltando sua aplicabilidade no ramo industrial (BRISOLA et al., 2016).

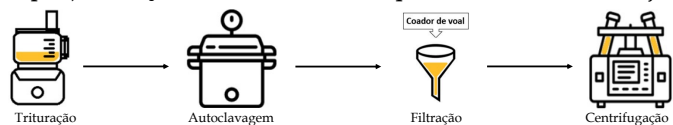
A principal dificuldade na produção de CB está nos altos custos dos meios de cultivo utilizados, que encarecem o custo final do produto. Dessa forma, a produção de celulose em meio à base de resíduos de laranja aparece como uma alternativa sustentável e viável economicamente.

Objetivo

Isolar bactérias de SCOBY de kombucha produtoras de celulose e adaptadas ao crescimento em meio de cultivo líquido obtido a partir da casca e do epicarpo-mesocarpo de laranja (*Citrus sinensis*).

Material e Métodos

Etapa 1) Obtenção do meio de cultivo líquido alternativo de laranja:

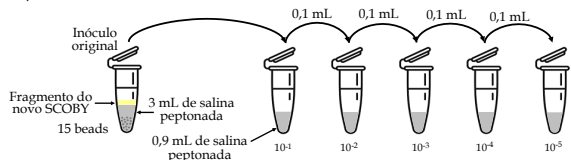


Para a obtenção do meio de cultivo líquido (MCL), o resíduo de laranja foi triturado em água (proporção 1:2 - 2,5 min em multiprocessador), seguido de autoclavagem (121 °C por 15 min), filtração (coador de voal) e centrifugação (11,739 x g, por 10 min).

Etapa 2) Cultivo do SCOBY K30:

O SCOBY K30 foi cultivado em 25 mL de MCL (5,0 °Brix e pH 4,7). Após 7 dias de incubação estática a 25 graus Celsius, houve a formação de um novo SCOBY.

Etapa 3) Isolamento das bactérias do SCOBY:



O fragmento do novo SCOBY foi vortexado, durante 10 min, juntamente com 3 ml de salina peptonada e 15 beads. A suspensão de microrganismos obtida foi, então, submetida a cinco diluições seriadas, em que cada Eppendorf continha 0,9 mL de salina peptonada. Posteriormente, 0,1 mL de cada diluição foi inoculado em GY (*spread plate*), como na figura abaixo.



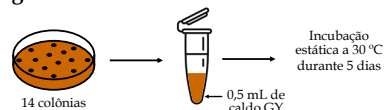
Incubação estática a 30 °C durante 5 dias

Composição do Ágar GY:

- Ágar 2% m/v;
- Glicose 2% m/v;
- Extrato de levedura 1% m/v.

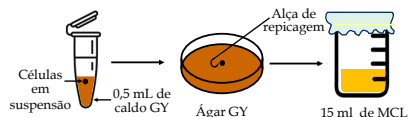
Material e Métodos

Etapa 4) Repicagem das bactérias isolados do SCOBY:



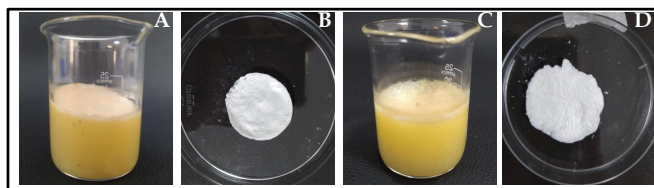
14 colônias foram cultivadas individualmente em 0,5 mL de caldo GY.

Etapa 5) Cultivo das bactérias isoladas do SCOBY em MCL:



Para aumentar a biomassa, as colônias de bactérias foram semeadas em placas de Petri contendo ágar GY. Por fim, com o auxílio de uma alça de repicagem, as colônias foram transferidas para béqueres com 15 ml de MCL cada.

Resultados e Discussão



Apenas as bactérias AK 18.3.9 e AK 18.3.10 formaram películas de celulose em meio alternativo à base de laranja: Películas úmida e após liofilização obtidas para os isolados AK 18.3.9 (A e B, respectivamente) e AK 18.3.10 (C e D, respectivamente).

Conclusões

A partir da triagem realizada, foi observada a formação de películas de celulose apenas para os cultivos das bactérias AK18.3.9 e AK18.3.10, demonstrando a capacidade produtora de CB de tais isolados em meio de cultivo alternativo de resíduo de laranja.

Bibliografia

BRISOLA, Juliano; A Tischer. Comparação de celulose e nanocelulose bacteriana produzidas em diferentes substratos. in: ii congresso paranaense de microbiologia - Simpósio sul-americano de microbiologia ambiental, 2016.

Apoio Financeiro e Agradecimentos

