

Allan Morcelli¹, Débora Jung Luvizetto Faccin¹, Marco Antônio Záchia Ayub², Argimiro Resende Secchi³, Nilo Sérgio Medeiros Cardozo¹, Rosane Rech²

RESUMO

O poli(3-hidroxibutirato) ou P(3HB) é um poliéster biodegradável produzido por diversos microrganismos para armazenamento de carbono e energia. Este biopolímero possui propriedades similares a polímeros petroquímicos possuindo um grande potencial de aplicação, especialmente na área de embalagens e área médica. Com o objetivo de aumentar a produção deste biopolímero foram realizados ensaios para verificar a influência da fonte de nitrogênio na produção de biomassa e P(3HB) utilizando-se a bactéria *Bacillus megaterium* crescendo

em meio mineral com sacarose ou glicerol como fontes de carbono. Foram realizados ensaios com 5 fontes de nitrogênio diferentes: cloreto de amônio, citrato de amônio, sulfato de amônio, fosfato de amônio e nitrato de amônio. Com relação à fonte de carbono, sacarose se mostrou mais adequada que glicerol. Com relação à fonte de nitrogênio, cloreto de amônio é melhor quando utilizado glicerol como fonte de carbono, enquanto que sulfato de amônio aumenta a produção com sacarose.

MATERIAIS E MÉTODOS

MICROORGANISMO

Bacillus megaterium DSM 32^T

MEIO DE CULTURA

Meio mineral (Wang and Lee, 1997).

Fonte de Carbono (FC): Sacarose e Glicerol (Tabela 1).

Fonte de Nitrogênio (FN): Testou-se 5 fontes de nitrogênio para cada fonte de carbono utilizada (Tabela 1).

EXPERIMENTOS EM ESTUFA INCUBADORA

ROTATÓRIA

volume de meio de cultura → 50 mL em frasco de 250 mL
 temperatura → 30°C
 agitação → 180 rpm
 pH inicial → 7
 tempo de cultivo → 20 hora
 ensaios em duplicata

Tabela 1: Concentração de substratos utilizados em cada ensaio.

Fontes de Carbono (FC)	Concentração (g.L ⁻¹)
Sacarose	16,0
Glicerol	17,2
Fontes de Nitrogênio (FN)	Concentração (g.L ⁻¹)
Cloreto de amônio	1,6
Citrato de amônio	3,4
Sulfato de amônio	2,0
Fosfato de amônio	2,0
Nitrato de amônio	2,4

MÉTODOS ANALÍTICOS:

Biomassa total → Método gravimétrico
 P(3HB) → Propanólise - CG (Riis and Mai, 1988)

Com os dados experimentais obtidos realizou-se análise da variância e o Teste de Tukey, ambos com 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

RESULTADOS OBTIDOS COM GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO

O Crescimento celular não apresentou diferença significativa, em nível de 5% ($p = 0,062$), nos cultivos com as fontes de nitrogênio testadas. A concentração média de biomassa obtida juntamente com o desvio padrão são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Concentração média de biomassa obtida utilizando glicerol como fonte de carbono.

FC e FN	Biomassa média (g.L ⁻¹)
Glicerol e Cloreto	2,71±0,195
Glicerol e Sulfato	2,47±0,027
Glicerol e Nitrato	2,44±0,026
Glicerol e Citrato	2,37±0,152
Glicerol e Fosfato	2,24±0,025

A análise de variância das concentrações médias demonstrou diferença significativa ($p = 0,035$). A média obtida com cultivo em glicerol com fosfato de amônio foi significativamente diferente à obtida com cloreto de amônio. Contudo, as médias entre cloreto, citrato, sulfato e nitrato de amônio não apresentaram diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3: Concentração média de P(3HB) obtida utilizando glicerol como fonte de carbono.

FC e FN	P(3HB) médio (g.L ⁻¹)
Glicerol e Cloreto ^a	0,79±0,053
Glicerol e Citrato ^{ab}	0,74±0,062
Glicerol e Sulfato ^{ab}	0,69±0,010
Glicerol e Nitrato ^{ab}	0,68±0,021
Glicerol e Fosfato ^b	0,61±0,011

O percentual médio de acúmulo do polímero apresentou diferença significativa ($p = 0,001$). O maior acúmulo observado foi para o cultivo utilizando citrato como fonte de nitrogênio (Tabela 4), seguido pelos cultivos com cloreto e sulfato que não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 4: Percentual médio de acúmulo de P(3HB) obtido utilizando glicerol como fonte de carbono.

FC e FN	Acúmulo médio de P(3HB) (%)
Glicerol e Citrato ^a	31,2±0,62
Glicerol e Cloreto ^b	29,2±0,13
Glicerol e Sulfato ^{bc}	28,1±0,14
Glicerol e Fosfato ^c	27,1±0,79
Glicerol e Nitrato ^c	26,9±0,20

RESULTADOS OBTIDOS COM SACAROSE COMO FONTE DE CARBONO

Observa-se que tanto a produção de polímero quanto a formação de biomassa obtidas em cultivos com sacarose são muito superiores quando comparadas com as médias obtidas com glicerol como fonte de carbono. A análise da variância das concentrações médias de biomassa obtidas em diferentes fontes de nitrogênio mostrou que existe diferença significativa ($p = 0,019$). A maior formação de biomassa ocorreu nos cultivos com sulfato e cloreto de amônio como fontes de nitrogênio (Tabela 5).

Tabela 5: Concentração média de biomassa obtida utilizando sacarose como fonte de carbono.

FC e FN	Biomassa média (g.L ⁻¹)
Sacarose e Sulfato ^a	4,69±0,196
Sacarose e Cloreto ^{ab}	4,10±0,119
Sacarose e Fosfato ^b	3,90±0,266
Sacarose e Citrato ^b	3,79±0,184
Sacarose e Nitrato ^b	3,68±0,177

Os resultados de produção de polímero, expressos tanto na forma de concentração como de percentual, também mostraram diferença significativa quando aplicado a Análise de Variância ($p < 0,001$). Cultivos em sacarose contendo sulfato, cloreto e citrato de amônio apresentaram resultados sem diferença significativa para a concentração de polímero obtida e percentual de polímero acumulado (Tabela 6 e 7, respectivamente). Fosfato e nitrato de amônio não se mostraram fontes favoráveis ao acúmulo de polímero e biomassa.

Tabela 6: Concentração média de P(3HB) obtida utilizando glicerol como fonte de carbono.

FC e FN	P(3HB) médio (g.L ⁻¹)
Sacarose e Sulfato ^a	2,55±0,073
Sacarose e Cloreto ^a	2,22±0,013
Sacarose e Citrato ^a	2,20±0,242
Sacarose e Fosfato ^b	1,53±0,046
Sacarose e Nitrato ^b	1,09±0,144

Tabela 7: Percentual médio de acúmulo de P(3HB) obtido utilizando sacarose como fonte de carbono.

FC e FN	Acúmulo médio de P(3HB) (%)
Sacarose e Citrato ^a	57,8±3,60
Sacarose e Sulfato ^a	54,4±0,72
Sacarose e Cloreto ^a	54,3±1,27
Sacarose e Fosfato ^b	39,2±1,50
Sacarose e Nitrato ^c	29,5±2,50

CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a utilização da sacarose como fonte de carbono possibilitou maior acúmulo de polímero e maior crescimento celular quando comparado a utilização de glicerol. Cultivos com glicerol como fonte de carbono, apresentaram melhores resultados quando se utilizou citrato ou cloreto de amônio como fonte de nitrogênio. Para cultivos com sacarose como fonte de carbono, o melhor desempenho foi alcançado em cultivos utilizando sulfato de

amônio como fonte de nitrogênio, pois possibilitou uma boa formação de biomassa com boa produção de polímero. Para ambas as fontes de carbono utilizadas o fosfato ou nitrato de amônio como fonte de nitrogênio não apresentaram produção de polímero satisfatória. O citrato de amônio apesar de possibilitar um grande acúmulo de polímero não parece ser uma boa fonte de nitrogênio para produção de biomassa.

¹Departamento de Engenharia Química - UFRGS, R. Eng. Luis Englert, s/n. Porto Alegre - RS - Brasil

²Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFRGS, Porto Alegre - RS - Brasil

³Programa de Engenharia Química - COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro - RJ - Brasil

APOIO:

FAPERGS
 CAPES
 CNPq