

Produção de Tensoativo por *Penicillium corylophilum*

Julianna Ferreira de Almeida Prata
Bolsista de Iniciação Científica, Química, UFRJ

Judith Liliana Solórzano Lemos
Orientadora, Eng^a. Química, D. Sc.

Cláudia Affonso Barros
Co-orientadora, Química

Resumo

O presente trabalho visou otimizar a produção de tensoativos produzidos por *Penicillium corylophilum*, empregando um meio mineral e óleo de soja como fonte de carbono. As condições de produção utilizadas nos testes foram descritas anteriormente por Reiche & Lemos (2005). A análise da tensão superficial foi conduzida com o sobrenadante das amostras, livre de células, à temperatura ambiente, sendo determinado diariamente para estabelecer o melhor dia de produção. Os resultados conduziram a valores entre 31,6 e 37 mN/m, obtidos num período de 7 dias, alcançando o menor valor no último dia de produção. O índice de emulsificação forneceu percentagens baixas (0 a 7 %), indicando provavelmente que o tensoativo produzido por *P. corylophilum* pode ser um composto de baixo peso molecular.

1. Introdução

As atividades antropogênicas como mineração, processos industriais e geração de efluentes municipais têm resultado cada vez mais no acúmulo de metais pesados no meio ambiente (Wong, 1993). Na atividade minero-metalúrgicas, especificamente falando, foram desenvolvidos vários processos para extração e/ou recuperação de metais de interesse comercial, no entanto, apesar da criação de técnicas que tornam os processos mais seletivos, os metais remanescentes ainda representam teores bastante significativos nos rejeitos dessas indústrias. Por outro lado, é importante salientar que, os metais de interesse, geralmente estão acompanhados de contaminantes que acabam sendo descartados para o meio-ambiente, podendo representar um risco para saúde, principalmente se forem catalogados como substâncias tóxicas. Os metais apresentam uma classificação em ordem decrescente de periculosidade: Hg, Ag, Cu, Zn, Ni, Pb, Cd, As, Cr, Sn, Fe, Mn, Al, Be, Li. Dentre os metais já mencionados, Hg e Pb não apresentam funções biológicas, enquanto que Zn, Cu, Ni, Co, Cd e Cr são essenciais para as plantas, animais e microrganismos, mas requeridos em pequenas quantidades (Chaudri et al., 1992). Entretanto, deve-se considerar que todos são potencialmente tóxicos em concentrações elevadas, provocando desnaturação de proteínas e bloqueios de sítios de ligação de enzimas (Siqueira et al., 1994).

A remoção de metais pesados de ambientes contaminados e de efluentes industriais tem envolvido o uso de métodos físico-químicos convencionais de remoção de metais pesados como a precipitação química, extração por solventes, osmose reversa, troca iônica por resinas poliméricas, entre outros. No entanto, esses métodos

podem levar à formação de novos contaminantes, que podem ser ainda mais tóxicos, e em algumas circunstâncias encarecer o processo sem obtenção de remoções efetivas (Valdman, 2000).

Substâncias anfílicas ou anfifílicas são moléculas que possuem regiões que apresentam uma parte hidrofóbica (apolar) e uma hidrofílica (polar). Geralmente, a porção hidrofílica de um tensoativo pode ser composta por aminoácidos ou peptídeos aniônicos ou catiônicos; ou ainda por mono-, di-, ou polissacarídeos. Por outro lado, a porção hidrofóbica pode ser constituída por ácidos graxos insaturados ou saturados (Desai & Banat, 1997). Os tensoativos de alto peso molecular (glicolípidios, lipopeptídios) são mais eficientes na redução da tensão superficial e interfacial, enquanto os de baixo peso molecular (lipopolissacarídeos e polissacarídeos) são estabilizadores efetivos em emulsão de óleo em água (Van Hamme 2003; Banat, 1995).

A biorremediação tem grande potencial em ambientes contaminados por metais pesados como solos e sedimentos. A aplicação de tensoativos sintetizados por bactérias e leveduras tem mostrado bons resultados no tratamento destes ambientes, pois, os tensoativos aumentam a mobilidade dos metais pesados pela redução da tensão interfacial entre os metais e o solo, e a formação de micelas (Wang & Mulligan, 2004 Apud Cordeiro 2006). No entanto, praticamente não existem dados na literatura que referencie a produção de tensoativos biológicos por fungos filamentosos.

2. Objetivo

Avaliar as características tensoativas do metabólito extracelular produzido por *Penicillium corylophilum*.

3. Materiais e Métodos

3.1 Cultivo das linhagens

O cultivo do *Penicillium corylophilum* foi realizado em meio de Batata - Dextrose - Ágar (BDA), em tubos inclinados, incubados em estufa durante 7 dias a 30 °C. A seguir, foi feita uma suspensão de conídeos, adicionando 3mL de solução salina estéril (0,9% p/v).

3.2 Preparo do meio

Para a realização do presente experimento foi elaborado o meio de cultivo, cuja composição química está descrita na Tabela1, a seguir.

Tabela 1. Composição do meio mineral g/L.

MEIO BÁSICO	
Composto	(g)
KH ₂ PO ₄	5,460
Na ₂ HPO ₄	4,760
NH ₄ Cl	2,500
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,800
NaCl	0,100

3.3 Procedimento

O presente teste foi realizado com o cultivo do fungo ao longo de uma semana, em meio mineral, acondicionado em “erlenmeyers” de 250 mL, contendo cada um 100mL de meio estéril e 2mL de suspensão de conídeos, advindos dos tubos inclinados, como especificado no item 3.1, e anteriormente descrito por Reiche e Lemos (2005). Os frascos foram incubados num período de 7 dias a 30 °C e 150 rpm. Em seguida, 0,4 mL de óleo de soja (fonte de carbono) foram adicionados aos meios de cultivo, os quais foram novamente agitados a 150 rpm por mais 7 dias, na mesma rotação. Ao final dos 7 dias, os frascos foram retirados do “shaker” e os caldos filtrados a vácuo, para separação da biomassa. O sobrenadante foi reservado para medida da tensão superficial e para determinação do índice de emulsificação. Importante dizer que os frascos foram retirados diariamente a fim de verificar a produção de metabólito com menor tensão superficial.

4. Avaliação da tensão superficial

As análises da tensão superficial foram realizadas em Tensiômetro Krüss a 25 °C.

5. Avaliação do potencial hidrogeniônico

As análises do pH foram realizadas em potenciômetro Analion *Penicillium corylophilum* a 25 °C.

6. Avaliação da emulsão

As análises para a determinação do índice de emulsificação do tensoativo foram realizadas segundo descrito por Willusen & Karlson (1997) Apud Cordeiro (2006), em tubos de ensaio, adicionando uma alíquota de 4,75mL do sobrenadante de cada frasco, aos quais foram acrescentados 0,25mL de gasolina. Esses tubos foram agitados em vortex durante 20s e a seguir agitados por mais 20 segundos, manualmente. Foram deixados em repouso por 24h a fim de estabilizar a emulsão formada, e a seguir calculado o índice de emulsificação pelo percentual da altura da camada emulsionada, dividida pela altura total do líquido da coluna total.

7. Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta o perfil cinético da produção de tensoativo produzido por *P. corylophilum*, conduzida em “erlenmeyers”, após a adição de óleo de soja. O óleo foi adicionado após o sétimo dia de cultivo do fungo em meio mineral, descrito na Tabela 1. Essa estratégia foi empregada com o intuito de incentivar a produção do tensoativo biológico, uma vez que a adição imediata da fonte de carbono ao meio de cultivo levou à obtenção de tensão superficial ligeiramente superior (34,9 mN/m), realizada anteriormente por Reiche & Lemos (2005). O resultado mostrou que houve uma diminuição acentuada da tensão superficial no meio de produção de *P. corylophilum*, desde o primeiro dia de cultivo. No entanto, no quinto dia de produção aconteceu um aumento na referida tensão, passando de 33,8 mN/m, no primeiro dia, para 37,0 mN/m no quinto dia. Possivelmente, uma queda no valor de pH pode ter influenciado no aumento dessa tensão superficial, conforme mostra a Tabela 2,

pois, o decréscimo de pH foi de 6,6 para 4,7, do primeiro para o quinto dia, e manteve-se num valor próximo de 6 nos outros dias.

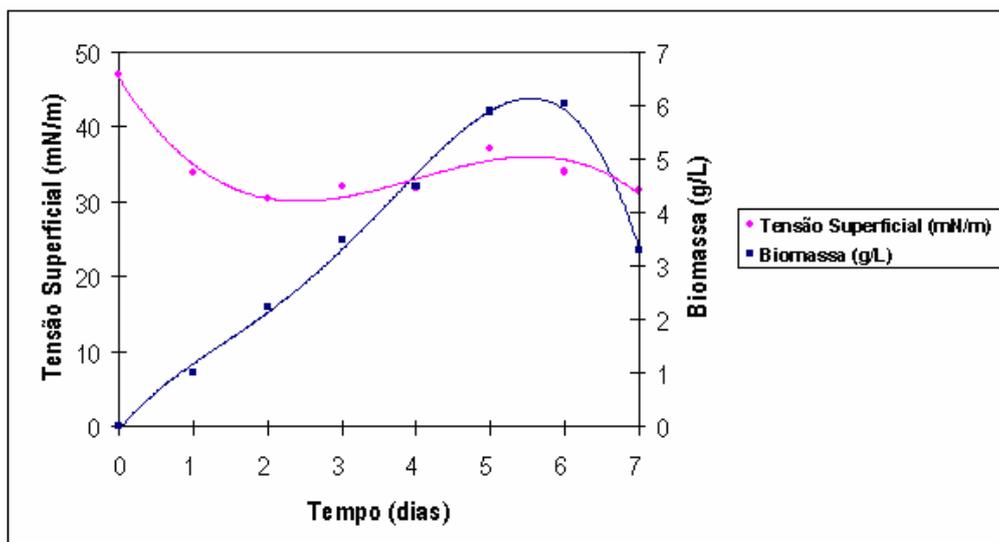


Figura 1. Perfil cinético da síntese de tensoativo produzido por *P. corylophilum* em meio mineral.

Tabela 2. Potencial hidrogeniônico a 25 °C

MEIO	MEIO MINERAL	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	6º dia	7º dia
pH	6,5	6,6	6,5	6,3	6,2	4,7	5,7	6,3

Embora a exata função fisiológica dos tensoativos biológicos ainda não tenha sido completamente elucidada, sabe-se que exercem influência sobre a sobrevivência de microrganismos por estarem relacionados com a mobilidade e comunicação celular, com o acesso a nutrientes, a competição célula-célula e a patogênese em plantas e animais. Podem ser usados ainda como fonte de carbono para a produção de energia, como mecanismo protetor contra alta força iônica ou como subprodutos liberados em resposta a mudanças ambientais (Van Hamme et al., 2006). E ainda podem atuar como um mecanismo de sobrevivência em resposta à deficiência de nutrientes no meio de cultivo (Sanin et al. 2003).

Os respectivos índices de emulsificação, obtidos de acordo com a metodologia descrita por Willusen & Karlson (1997) se encontram na Tabela 3. Alguns trabalhos relatam que a maioria dos tensoativos com capacidade emulsificante apresenta um índice de emulsificação em torno de 65%. No entanto, o resultado do índice de emulsificação obtido pelo produto gerado pelo fungo filamentososo está bastante abaixo desse valor (0 a 5,5%). Segundo LIN e colaboradores (2005), os tensoativos que não apresentam emulsificação possuem índices menores que 10%.

Tabela 3. Índice de emulsificação dos tensoativos(%)

MEIO	1	2	3	4	5	6	7
(mN/m)	2,3	3,4	4,6	2,3	5,5	4,2	0

Tensoativos de baixo peso molecular são geralmente glicolípídeos e lipopeptídeos, e são muito efetivos na redução das tensões superficial e interfacial (Lin, 1996). Tensoativos de alto peso molecular são normalmente polissacarídeos anfipáticos, proteínas, lipopolissacarídeos e lipoproteínas, caracterizando-se como importantes formadores de emulsões (Van Hamme *et al.*, 2006). De acordo com o relato anterior podemos inferir que em função do baixo índice de emulsão, o tensoativo produzido por *P. corylophilum* poderia ser inicialmente classificado dentro do grupo dos tensoativos de baixo peso molecular.

8. Conclusão

P. corylophilum produziu um tensoativo com tensão superficial entre 30,4 a 37,0 mN/m e índice de emulsão na faixa de 0 à 5,5%. Estes valores foram esperados para o tipo de tensoativo produzido por esta espécie.

9. Agradecimentos

Agradeço ao programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica - PIBIC /CNPq, por conceder a bolsa e aos que trabalham no Centro de Tecnologia Mineral – CETEM, e àqueles que ajudaram na execução deste artigo.

10. Referências Bibliográficas

ANISZEWSKI, E. **Remoção de metais pesados de residuo industrial por biossurfactantes**. 2003.103p. Tese (mestrado) – Curso de pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Brasil).

CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E. Metal tolerance of isolates applications of sewage sludge. **Soil Biololy and Biochemistry**, v. 24, p.83-88, 1992.

Cordeiro, C.M.M. **Caracterização de um biossurfactante produzido pela cepa *Serratia sp.* obtido a partir de diferentes condições de meio de cultivo visando sua aplicação na redução de tensão superficial e captação de metais pesados**. 2006.104p. Tese (mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Brasil).

DESAI, J.D.; BANAT, I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 61(1): 47-64, 1997.

4o PDPETRO, Campinas, SP 2.1.72 – 1

SANTOS, F.K.G; ALVES, J.V.A; DANTAS, T.N.C; Neto, A.A.D; DUTRA JUNIOR, T.V; BARROS NETO, E.D. **Determinação da concentração micelar crítica de tensoativos obtidos a partir de óleos vegetais pra o uso na recuperação avançada de petróleo**. UFRN. Rio Grande do Norte, Outubro. 2007.

Disponível em <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_2_1_0072-2.pdf> Acesso em : 25 de maio.2008

SANIN, S. L.; SANIN, D. F.; BRYERS, J.D. Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degradation bacteria. **Process Biochemistry** 38: 909-914, 2003.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISS, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. **Microorganismos e processos biológicos do solo**; perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 142p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 45).

VALDMAN, E. Uso do *Sargassum sp* residual como biossorbente para cádmio, cobre e zinco. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2000.

MORIKAWA, M.; HIRATA, Y., IMANAKA, T. A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants. **Biochimica et Biophysica Acta** 1488: 211-218, 2000.

SANIN, S. L.; SANIN, D. F.; BRYERS, J.D. Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degradation bacteria. **Process Biochemistry** 38: 909-914, 2003.

VAN HAMME, J.; SIGH, A.; WARD, O. Recent advances in petroleum microbiology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. 67: 503-549, 2003.

WONG, P.K., LAM, K.C., SO, C.M. Removal and Recovery of Cu(II) from Industrial Effluent by Immobilized Cells of *Pseudomonas putida*. **Applied Microbiology Biotechnology** 39:127-131, 1993.