


**PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA CAPTURA DE COMPOSTOS VOLÁTEIS E
PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMERO PROTEICO****MICROBIOLOGICAL PROCESS FOR CAPTURING VOLATILE COMPOUNDS AND
PRODUCING PROTEIN BIOPOLYMER****PROCESO MICROBIOLÓGICO PARA LA CAPTURA DE COMPUESTOS VOLÁTILES Y
PRODUCCIÓN DE BIOPOLÍMEROS PROTEICOS** <https://doi.org/10.56238/rcsv16n2-005>

Data de submissão: 19/01/2026

Data de aprovação: 19/02/2026

Odete Gonçalves

Doutora em Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Endereço: Bahia, Brasil

E-mail: odegoncalves7@gmail.com

Cristina M. Quintella

Doutora em Ciências Moleculares

Instituição: University of Sussex, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Endereço: Bahia, Brasil

E-mail: cristina@ufba.br

RESUMO

Ambientes costeiros contaminados por petróleo apresentam baixa eficiência de recuperação com métodos físico-químicos tradicionais. Como solução, foram isolados fungos de manguezais contaminados com petróleo e realizou-se o processo de biorremediação para degradar os hidrocarbonetos. Utilizou-se um consórcio de glicerina bruta e torta de mamona como bioestímulo, associados aos fungos *Aspergillus spp* e *Penicillium spp* em processo de fermentação. Este foi realizado em aquários de campo, contendo provetas no seu interior para armazenagem das amostras compostas, retiradas do substrato do manguezal contaminado; estes foram coletados, quantificados, homogeneizados e utilizados para compor a mistura microbiana. Desta forma, realizou-se o ensaio para consórcio na composição (w/w) substrato manguezal contaminado com petróleo exsudado; glicerina bruta; torta de mamona; água de produção, mais a adição de cepas do fungo. Obteve-se após 20 dias em temperatura ambiente a produção de biopolímero de natureza gel-forme, os quais foram analisados inicialmente em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para identificar o branco referencial do sedimento manguezal, areia calcinada, glicerina bruta e torta de mamona. Posteriormente, foram analisados em Fluorescência de Raios-X (inorganicos) e Infravermelho FT-IR (organico) o sedimento manguezal, referencial, e o produto biopolímero gelatinoso. Com tais dados dos elementos minerais, obteve-se Análise Estatística Covariante de Dados – PCA, objetivando a identificação dos produtos em transformação bioquímica. A análise por espectroscopia no infravermelho apresentou evidências de bandas na região de 1664–1650 cm^{-1} típica de Amida 1, devido a carbonila. Em C=C vibração aromáticos. H-N refere-se a colágeno, estiramento C-N ligação peptídica proteica. É constatado a biotransformação bioquímica realizada pela população fungica.

Palavras-chave: Biorremediação. Fungos. Biopolímero Protéico. Petróleo. Mamona.

ABSTRACT

Coastal environments contaminated by oil show low recovery efficiency with traditional physical-chemical methods. As a solution, oil-contaminated mangrove fungus is isolated and a bioremediation process is carried out to degrade the hydrocarbons. A consortium of raw glycerin and mamona cake was used as a biostimulant, associated with the fungi *Aspergillus spp* and *Penicillium spp* in the fermentation process. This was carried out in field aquariums, containing samples inside for armazenagem of the compost samples, removed from the contaminated manguezal substrate; These forams are collected, quantified, homogenized and used to compose the microbial mixture. In this way, the consortium test was carried out on the composition (w/w) manguezal substrate contaminated with exuded oil; crude glycerin; mamona cake; production water, plus the addition of fungal strains. Obtained after 20 days at room temperature in the production of gelatinous biopolymers, the samples were initially analyzed in high efficiency liquid chromatography (HPLC) to identify the reference target of manguezal sediment, calcined sand, crude glycerin and mamona cake. Subsequently, the samples were analyzed using Rayos-X Fluorescence (inorganic) and Infravermelho FT-IR (organic) or manguezal sediment, reference, and the gelatinous biopolymer product. With two mineral elements given, a Covariant Statistical Analysis of Data – PCA is obtained, aiming at the identification of two products in biochemical transformation. An analysis by non-infrared spectroscopy showed evidence of bands in the region of 1664–1650 cm^{-1} typical of Amida 1, due to carbonyl. In C=C aromatic vibration. H-N refers to collagen, stretching C-N protein peptide ligation. It is confirmed by biochemical biotransformation carried out by the fungal population.

Keywords: Bioremediation. Fungi. Protein Biopolymer. Petroleum. Castor Bean.

RESUMEN

Los ambientes costeros contaminados por petróleo presentan baja eficiencia de recuperación con métodos físico-químicos tradicionales. Como solución, los hongos de mangueza aislados están contaminados con petróleo y se realiza el proceso de biorremediación para degradar los hidrocarbonatos. Utilizou-se um consórcio de glicerina bruta y torta de mamona como bioestímulo, asociados a los hongos *Aspergillus spp* y *Penicillium spp* en el proceso de fermentación. Este foi realizado em aquários de campo, contendo provetas no su interior para armazenagem das amostras compostas, retiradas do substrato do manguezal contaminado; estos foros coletados, cuantificados, homogeneizados y utilizados para componer una mistura microbiana. Desta forma, realizou-se o ensaio para consórcio na composição (w/w) substrato manguezal contaminado com petróleo exudado; glicerina bruta; torta de mamona; água de produção, mais a adição de cepas do fungo. Obteve-se após 20 días em temperatura ambiente a produção de biopolímero gelatinosos, os quais foram analisados inicialmente em cromatografia líquida de alta eficiencia (HPLC) para identificar el blanco referencial del sedimento manguezal, areia calcinada, glicerina bruta y torta de mamona. Posteriormente, foram analisados em Fluorescência de Raios-X (inorganicos) e Infravermelho FT-IR (organico) o sedimento manguezal, referencial, y o produto biopolímero gelatinoso. Com tais dados dos elementos minerais, obteve-se Análise Estatística Covariante de Dados – PCA, objetivando a identificação dos produtos em transformação bioquímica. Un análisis por espectroscopia no infravermelho presenta evidencias de bandas na região de 1664–1650 cm^{-1} típica de Amida 1, devido a carbonila. Em C=C vibraciones aromáticas. H-N refiere-se a colágeno, estiramiento C-N ligação peptídica proteica. É constatado a biotransformação bioquímica realizada pela população fungica.

Palabras clave: Biorremediación. Hongos. Biopolímero Proteico. Petróleo. Ricino.

1 INTRODUÇÃO

É conhecido da literatura técnica especializada que os manguezais são ecossistemas costeiros abrigados que ocorrem no encontro das águas dos rios com água do mar, sendo assim sujeitos ao regime das marés. Eles se desenvolvem em regiões de alta temperatura e precipitação em terrenos apropriados. No entanto, sua vegetação não é rica em diversidade, sendo composta por árvores e arbustos pertencentes a famílias que apresentam grande tolerância a águas salgadas e salobras.

Ecossistemas de manguezal são altamente sensíveis a distúrbios antrópicos como a contaminação por petróleo ou por outros produtos tóxicos, que podem causar danos a toda a biota, exercendo impacto por longo prazo.

A retirada de uma fonte poluidora de um local, contudo, não significa a interrupção imediata de seus impactos, pois o acúmulo de substâncias tóxicas no ambiente pode ter seus efeitos multiplicados por um longo prazo, atingindo inclusive a saúde humana. Em caso de contaminação por óleo, este pode persistir no ecossistema de manguezal por anos. Além disso, as técnicas que permitem limpar ou remover o petróleo são limitadas.

Neste sentido, pode-se afirmar que a biorremediação é uma técnica que se mostra promissora para a recuperação de manguezais contaminados. Para tanto, são utilizados processos naturais realizados por microrganismos que utilizam os poluentes como fonte de carbono em seus processos metabólicos para remediação de uma área impactada, acelerando a biodegradação natural de contaminantes como hidrocarbonetos e outros compostos perigosos, reduzindo a concentração ou a toxicidade desses compostos, ou ambos.

As contaminações com hidrocarbonetos do petróleo e outras fontes, são distúrbios que modificam o ambiente natural e sua capacidade de autorenovação (Quintella *et al.*, 2009). Nessa perspectiva, vê-se que o benefício maior da aplicação da biorremediação é a mineralização, uma vez que se obtém como produto final CO₂ e H₂O pela via aeróbica, assim como a formação de biomassa.

Em virtude disso, objetiva-se, neste trabalho, apresentar o processo microbiano de produção de biopolímero proteico, obtido sob a forma de um biopolímero resistente e gelatinoso. Mais especificamente, será demonstrado como se deu a produção de biopolímeros compactados, película filamentosa, proveniente de sedimento manguezal contaminado com hidrocarboneto do petróleo ou outros, e proteínas vegetais armazenadas como energia em células dos fungos que metabolizam esses materiais, devolvendo ao ambiente o residual sintetizado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A transformação dos hidrocarbonetos pelos microrganismos pode ser facilitada pela produção de enzimas como catalisadores biológicos que controlam as reações bioquímicas, produzindo energia e material necessário para a proliferação de novas células microbianas (Uña; García, 1983).

Os fungos produzem enzimas extracelulares oxidativas capazes de quebrar compostos policíclicos aromáticos de cadeia longa e transformá-los em compostos assimiláveis ao seu metabolismo. Estas enzimas hidrolisam ligações peptídicas liberando peptídeos que são degradados a aminoácidos livres pelas peptidases (Rodwel 2009). Normalmente, as proteases ou peptidases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações peptídicas, as quais liberam peptídeos de estrutura variável ou aminoácidos livres. (Lopez-Otin; Overall, 2002). 6. Tais enzimas classificam uma classe de enzimas de suma importância em processos fisiológicos (Hedstrom 2002).1.

Importante salientar, também, que estudos indicam o aumento da biodisponibilidade de policíclicos aromáticos (HPAs), aumento da taxa de solubilização dos metais pesados e aumento de solubilização de naftalenos pelo uso de biossurfactantes (Nitschke; Pastore, 2002). É sabido que os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), presente no petróleo são compostos orgânicos moleculares formados por anéis benzênicos fundidos, de alto peso molecular, mais resistentes a degradação e atuam como persistente ambiental (Ghosal *et al.*, 2016). Estes são subprodutos ou emissões geradas no momento da combustão incompleta de matéria orgânica (Gennadiev *et al.*, 2015; Sakshi; Singh; Haritash, 2019). São ainda apontados como os principais contaminadores carcinogênicos com emissão de poluentes no ar, na água e no solo, causadores de impactos ambientais com alteração da qualidade de vida das comunidades próximas e ribeirinhas (Otitolaiye; AL-Harethiya, 2022).

Entretanto, a biorremediação através de processos de óxido-redução atinge a degradação e a mineralização dos HPAs e dos compostos fenólicos em solo de manguezal impactado com petróleo e outros. Isto se verifica quando o processo de transformação das substâncias, inicialmente, em fermentação, emite dispersão de gases (partículas menores). Em seguida, dá-se o efeito das emulsões, passando para a água as partículas solúveis com trocas iônicas e, finalmente, acontece, no substrato, as transformações físico-químicas produzidas pelos microrganismos para o seu metabolismo e assimilação.

Os fungos que estão presentes, no cotidiano, possuem um corpo vegetativo chamado talo ou soma que é composto de finos filamentos unicelulares chamados hifas. Estas formam uma rede microscópica junto ao substrato (fonte de alimento), chamada micélio, por onde o alimento é absorvido. Os micélios podem ser cenocíticos ou septados. A célula fúngica é uma estrutura similar a células animais, porém, com parede celular distinta (Mancera; López *et al.*, 2008).

Os polímeros resultantes da biodegradação da ação de microrganismos de ocorrência natural como fungos, bactérias e algas são os polímeros biodegradáveis (Norma ASTM D6400-04) 19. Esses biopolímeros têm sido estudados com mais dedicação para viabilizar seu uso em diversas aplicações com novos processamentos e modificações (Fechine, 2010) 4. São considerados polímeros sustentáveis, os que durante sua síntese, produção e processamento ou mesmo na degradação produzem menor impacto ambiental, menos nocivo, que os polímeros convencionais (Clarival; Halleux, 2005) [40].

Como forma de aumentar as propriedades físico-químicas tais como processabilidade, permeabilidade a gases e taxa de degradação, ainda a resistência térmica, propriedades mecânicas e reológicas (Clarival; Halleux, 2005), especialmente em blendas (Balakrishnan *et al.*, 2010) compósitos (Bioresource *et al.*, 2004) e nanocompósitos (Chivrac *et al.*, 2010). Vários métodos de avaliar a biodegradação têm sido descritos na literatura. Basicamente tais métodos são pautados em, monitorar o crescimento de microrganismos, o consumo do substrato, a liberação de CO₂ e eventuais transformações nas propriedades do polímero (Bastioli, 2005) [43]. Assim sendo, a biorremediação fungica (Quintella; Mata; Lima, 2019) processo biológico, biodegradação, acontece na compostagem, o biopolímero sofre a biodegradação para ceder CO₂, água, compostos inorgânicos e biomassa, remove de forma contínua e previsível não deixando resíduos visíveis ou tóxicos (Rudnik, 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Importante esclarecer que este trabalho é fruto da Carta Patente UFBA PI 1105934-6 “Processo microbiológico para captura de voláteis e produção de biopolímero proteico” (Quintella; Gonçalves; Triguís, 2022). [5].

A pesquisa foi realizada no laboratório de campo, localizado nas proximidades do estuário do rio São Paulo. Esta unidade laboratorial, que se constitui como extensão do Laboratório de Estudos do Petróleo (LEPETRO), foi denominada “Laboratório de Simulação de Processos de Biorremediação” (LEPETRO - SIMULAÇÃO). Incluindo o Núcleo de Estudos Ambientais (NEA), do Instituto de Geociências (IGEO/UFBA), em conjunto com o LabLaser - Laboratório de Cinética e Dinâmica Molecular do Instituto de Química (IQ/UFBA).

3.1 A ÁREA DE ESTUDO

Mais precisamente destaca-se a área estudada, que está situada entre os municípios de Madre de Deus, Candeias e São Francisco do Conde, é representativa do Bioma Mata Atlântica, no ecossistema manguezal (Figura 1). Inserida na Bacia sedimentar do Recôncavo Baiano (limitada pela falha de Salvador, a leste, e de Maragogipe, a oeste) como unidades litológicas que compõem essa

bacia. As unidades litológicas que compõem essa bacia são essencialmente compostas por sequências de conglomerados, arenitos e folhelhos (Rosa, 2001) [6]. Este pacote sedimentar repousa sobre o Embasamento Pré-Cambriano, composto, em sua maior parte, de granulitos e migmatitos de Idade Arqueana que constituem o Cinturão Granulítico Atlântico, e sobre os metassedimentos brasileiros da formação Estância.

3.2 O PETRÓLEO DO RECÔNCAVO BAIANO

Quanto ao petróleo do Recôncavo Baiano, devido a sua origem, a partir de matéria lacustre, tem composição dominante de parafinas e cadeias normais diferenciando-se, assim, do petróleo de outras bacias sedimentares (Borges, 2011) [7]. Em virtude disso, a precipitação de parafinas, diminui gradativamente o fluxo de oxigenação dos sedimentos de manguezais, provocando contaminações compactas no interior dos sedimentos e, conseqüentemente, dificultando o processo de remediação.

O enxofre é o terceiro elemento mais abundante encontrado no petróleo, com concentração média de 0,65%, em peso, e uma faixa que apresenta valores entre 0,02 e 4,00%. Este elemento pode ocorrer no petróleo nas formas de sulfetos, polissulfetos, benzotiofenos e derivados, moléculas policíclicas com nitrogênio e oxigênio, gás sulfídrico, dissulfeto de carbono, sulfeto de carbonila e enxofre elementar.

3.3 O PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO

Para simular o processo de biorremediação utilizou-se um consórcio de subprodutos da 1ª geração de biocombustíveis, glicerina bruta e torta de mamona, empregados como bioestímulo e associados aos fungos *Aspergillus spp* e *Penicillium spp* com a proteína vegetal inibidora ricina da mamona no processo da fermentação alcoólica.

Destaca-se, neste caso, o uso da torta de mamona, oriunda da *Ricinus communis*, como uma fonte de energia para os microrganismos heterotróficos, modificando a atividade enzimática, além de favorecer a soimobilização de compostos minerais e inibir o efeito de algumas toxinas (Cavalcanti, 1998) [8]. A ricina é uma proteína inativadora de ribossomos (RIPs) do tipo II, heterodimérica, com a enzima inibidora de ribossomo (~32 KDa, cadeia A ou RTA) ligada por ponte dissulfeto a uma lectina galactose (~34KDa, cadeia B ou RTB). Já a cisteína é uma metalo-protease que usa um íon metal no seu mecanismo catalítico e hidrolisa as proteínas em aminoácidos, facilitando a sua absorção pelas células, uma vez que possui um papel despolimerizante (Alvarez *et al.*, 2000) [9].

3.4 MICRORGANISMOS CARACTERIZAÇÃO

As amostras foram coletadas no experimental (Figura 1), e enviadas ao Laboratório de Toxicologia de Farmácia da UFBA para análise de micologia de isolamento e identificação dos fungos. Os micro-organismos foram analisados através dos testes microbiológicos por técnicas de micro cultivo em Ágar batata, descrita por Lacaz (2002).

Figura 1. Coleta de sedimento no manguezal contaminado com petróleo



Fonte: Efetuada pelos próprios autores

3.5 O PROCESSO DE PRODUÇÃO DO BIOPOLÍMERO SINTETIZADO

O referido processo de produção do filme de película sintetizado por um grupo proteico amida com moléculas e elementos minerais consiste em:

- preparar uma mistura microbiológica contendo entre 80 – 85% de manguezal contaminado com petróleo, 1 – 5% de glicerina bruta, 1 – 6% de torta de mamona e 5 – 10% de água de produção;
- semear cepas de fungos filamentosos, selecionados entre *Aspergillus flavus* e *Penicillium sp* ou outras espécies de fungos filamentosos;
- injetar a mistura microbiológica semeada em tubulações dotadas de tela de contenção em sua parte inferior para armazenagem de amostras compostas, retiradas do substrato do manguezal, ditas tubulações sendo distribuídas em tanques contendo solução salina;
- aguardar a proliferação fúngica e a formação do biopolímero.

3.5.1 A semeadura

A semeadura em placas de petri é utilizada como amostras comparativas com as espécies de fungos. Os procedimentos realizados nos pré-testes e para obtenção das amostras para semeadura são seguintes:

- 1) pesar e/ou medir cada um dos sistemas listados acima e preparar a mistura nos seus padrões pré-estabelecidos;
- 2) levar ao aquecedor agitador magnético em béquer de 200 mL com temperatura até 85°C por 3min;
- 3) retirar a mistura do agitador e adicionar cepas do fungo específico já identificado;
- 4) lacrar e identificar em placas de petri;
- 5) acompanhar a incubação e desenvolvimento dos fungos.

Com estes procedimentos, se obteve um consórcio, **mistura microbiana** pronta para ser semeada nos sedimentos do manguezal.

3.5.2 O processo de Biorremediação

O processo de biorremediação foi efetuado em aquários de campo, contendo provetas no seu interior para armazenagem dessas amostras compostas, retiradas do substrato do manguezal. Para isso, foram coletados sedimentos contaminados, homogeneizados e utilizados para compor a mistura microbiológica responsável pela biorremediação efetuada.

A mistura microbiológica preparada para o ensaio possuía a seguinte composição (w/w): 600 g de substrato manguezal contaminado com petróleo exsudado; 24,60 g glicerina bruta; 34,40 g de torta de mamona; e 50 mL água de produção, mais a adição de cepas do fungo. Os componentes foram pesados e misturados sob agitação com aquecimento à temperatura na faixa de 85-90°C durante 4 minutos para solubilizar o petróleo. Em seguida, foi colocado nas tubulações e acrescentado o fungo, *Aspergillus* spp ou *Penicillium* spp ou outras espécies de fungo. A tela de contenção na parte inferior das tubulações permite a liberação de substâncias com trocas iônicas dentro do tanque contendo a solução salina.

Foram realizadas inicialmente análises de cromatografia HPLC para identificar o branco referencial das amostras sedimento manguezal, areia calcinada, glicerina bruta e torta de mamona. Posteriormente, foi analisado em Fluorescência de Raios-X o sedimento manguezal, referencial, e o produto biopolímero de natureza gel-forme produzido, na forma seca e gelatinosa. Além disso, investigou-se em espectroscopia de Infravermelho o produto biopolímero. Com tais dados dos elementos minerais, obteve-se Análise Estatística Covariante de Dados – PCA, objetivando a identificação dos produtos em transformação bioquímica.

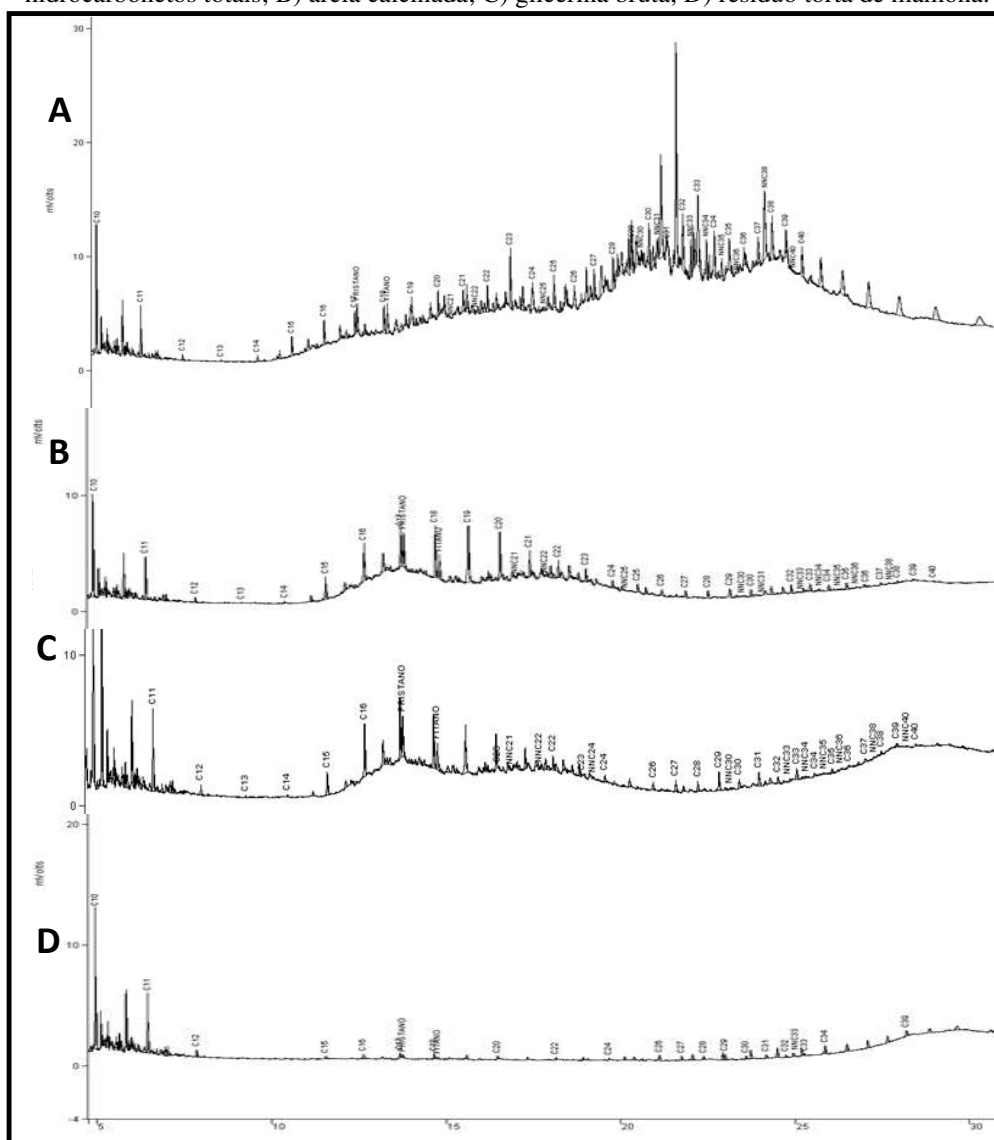
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a investigação orgânica dos hidrocarbonetos, inicialmente foram analisadas as amostras de referência branco (Figura 2) e posteriormente se acompanhou as análises nas 8 semanas do processo

de biorremediação por análises de cromatografia líquida e gasosa dos fungos das alíquotas de saturados e aromáticos. Também foram acompanhadas as prováveis alterações sofridas por compostos aromáticos alquilados (Roques; Overton; Hency, 1994), utilizando o cromatográfico a gás (CG). Estes procedimentos fornecerão os perfis denominados *Fingerprints*, que indicarão quais os compostos do óleo presente e suas alterações à medida que os microrganismos degradam o contaminante.

Observou-se que a simulação com o fungo *Aspergillus* spp, e/ou outros, com o bioestímulo torta de mamona gerou, em cima da solução salina, uma camada de emulsão oleosa, que passou a ficar escura e turva nos dias seguintes. A fermentação e a formação de emulsão continuavam a ocorrer à medida que o gel-forme biopolímero ia se formando; a solução salina tornava-se clara, sem espuma, porém com um pouco limo verde, e resíduo de sedimento no fundo.

Figura 2. Análise inicial de cromatografia HPLC de referencial branco: A) sedimento manguezal com hidrocarbonetos totais; B) areia calcinada; C) glicerina bruta; D) resíduo torta de mamona.



Fonte. Efetuada pelos próprios autores.

Após 35 dias, passou a formar-se um gel-forme de biopolímeros no fundo. Na parte superior, das tubulações havia abundante proliferação de fungos com rajadas de cor amarelo, indicando a presença de enxofre ou outros minerais. Com 50 dias, o sedimento no interior das tubulações encontrava-se mais seco, resultado do processo de hidrólise da cisteína da ricina uma metalo-protease, devido ao processo microbiano de retirar do sedimento o oxigênio para sua energia, desidratando o sedimento.

Figura 3. Tomada dos parâmetros físico-químico das simulações. Figura 4. Consorcio microbiano com processo de Biorremediação em estrias.



Fonte. Efetuada pelos próprios autores.

Como forma de biorremediação do sedimento contaminado, resultou pela ação dos fungos, na transformação de substâncias HPAs, estas em moléculas menores e voláteis, lançadas para a solução salina, vindo a reagir com a enzima da proteína vegetal ricina da mamona. Portanto, as substâncias degradadas e os voláteis são capturados para a sintetização, produção de biopolímero.

Foram monitorados os parâmetros físico-químico na unidade de simulação com ambos os agentes fungos. Desta forma se observa a coletânea do fungo *Aspergillus spp*, com o bioestímulo glicerina bruta e torta de mamona durante as 8 semanas (Quadro 1).

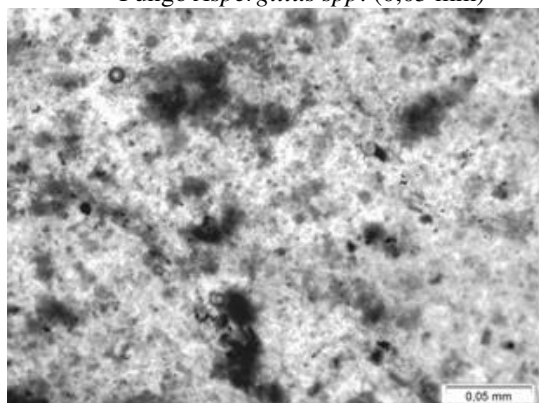
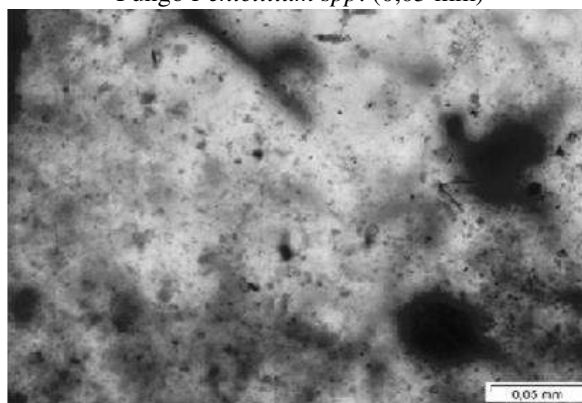
Quadro 1. Parâmetros físico/químico da simulação *Aspergillus* spp com glicerina bruta e torta de mamona monitorados durante 8 semanas

PARÂMETROS FÍSICO/QUÍMICOS	COLETA SEMANAL							
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Horário h	10:50	10:50	10:20	10:33	11:15	10:50	10:35	10:42
Temperatura Ambiente (°C)	29.9	27.7	29.2	27.5	29.6	26.6	25.5	26.1
pH	6.48	7.30	7.4	8.10	8.26	8.49	8.50	9.49
OD (mg/L)	2.7	4.8	6.6	8.2	3.2	2.0	-	-
Salinidade	30	27	22	35	40	48	15	20
Eh (Mv)	56	17	-3	-35	-43	-57	-53	-99
Condutividade ms/cm	47.7	57.3	49	58.4	75.2	84	30.6	-

Fonte. Elaborada pelos próprios autores

As coletas de amostras foram feitas no período da manhã, entre às 10h30min e 11h15min. A temperatura variou entre 25.5°C e 29.9°C, na solução salina que somente cobria o fundo até encostar uns 10 cm na proveta com sedimento, o que é normal para o clima tropical. Inicialmente e no final, como indica a literatura da área, o pH se mostrou ácido, entretanto, durante o período de maior biorremediação se manteve neutro entre 7,5 e 8,0. O Eh iniciou com 56 (Mv) e acentuou-se com final mínimo de -99, o que evidencia o processo de biorremediação. Os dados relativos ao pH e potencial redox (Eh) são parâmetros que devem ser observados nos sistemas marinhos ao aferir informações sobre as variações das condições ambientais geoquímicas e a respeito das tendências das degradações dos hidrocarbonetos.

O desenvolvimento de fino biopolímero produzido pelos fungos foi acompanhado durante o período de 8 semanas no experimental da mistura microbiológica de biorremediação em aquários de campo (Figuras 5 e 6). Após este período de desenvolvimento, foi feito um tratamento de limpeza do biopolímero com hipoclorito de sódio e diclorometano, sendo depois deixado para evaporação, permitindo, assim, que o gel-forme, fino produto biopolímero permanecesse seco.

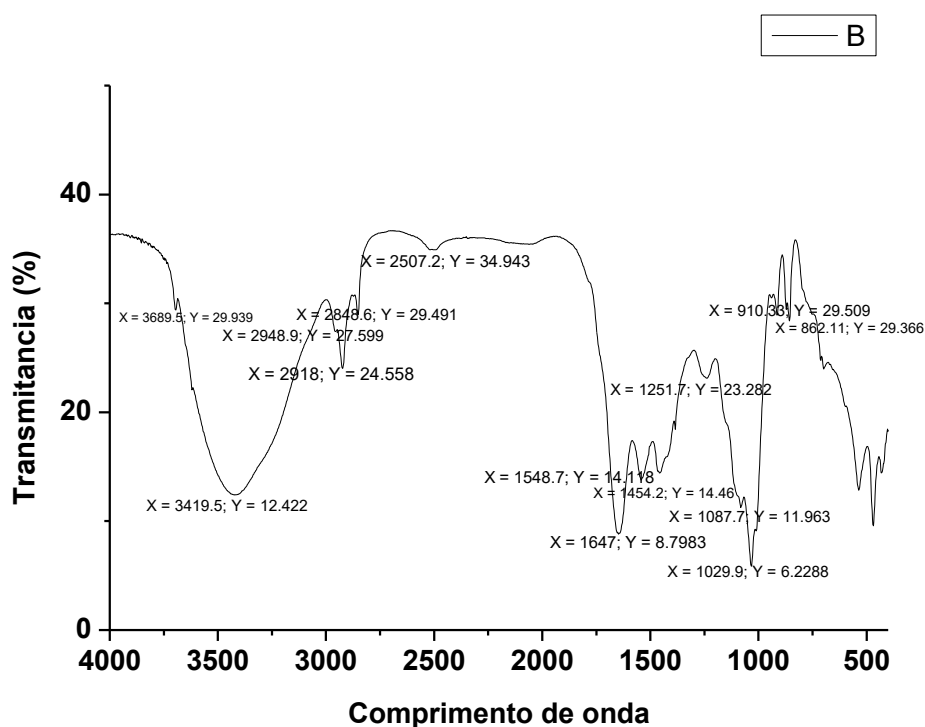
Figura 5. Foto do biopolímero produzido pelo Fungo *Aspergillus spp.* (0,05 mm)Figura 6. Foto do biopolímero produzido pelo Fungo *Penicillium spp.* (0,05 mm)

Fonte. Elaborada pelos próprios autores

Estas amostras foram analisadas em Infravermelho (Figura 7) para análise orgânica e Fluorescência de Raios-X para análise inorgânica e constatou-se que as matérias orgânicas diminuíram e obteve-se um maior rendimento dos elementos minerais. A partir dessa análise, pode-se perceber que se destacam os elementos inorgânicos minerais que contribuem para a composição do biopolímero.

Destaca-se na 1ª semana o cloro proveniente da solução salina de produção, enquanto que na última semana do experimento aumenta o percentual de silício e o cloro é carreado em reações bioquímicas em outros compostos. Desse modo, produziu uma emulsão superficial de biopolímeros orgânicos na solução aquosa do tanque aquário experimental. Foi investigada a transformação bioquímica existente durante o processo de biorremediação com ricina da mamona e Fungos. Durante a análise visual da solução salina, percebeu-se que, com 4 dias, gerou, em cima da água, uma camada de emulsão oleosa, que passou a ficar escura e turva. Com 15 dias, a solução apresentava-se muito escura, com fermentação dos fungos e emulsão na superfície. Já com 34 dias, as substâncias que estavam emulsificadas formaram em um gel-forme biopolímero, enquanto que a solução salina se tornou de cor clara, sem espuma. Estes foram analisados em XRF e espectroscopia no infravermelho e identificadas como biopolímeros protéicos (Figura 7). Como forma de biorremediação do sedimento contaminado, resultou pela ação dos fungos a transformação de substâncias HPAs em moléculas menores e voláteis, lançadas para a solução salina, vindo a reagir com a enzima da proteína vegetal ricina da mamona.

Figura 7. Espectro de infravermelho resultante da análise da película de biopolímero.

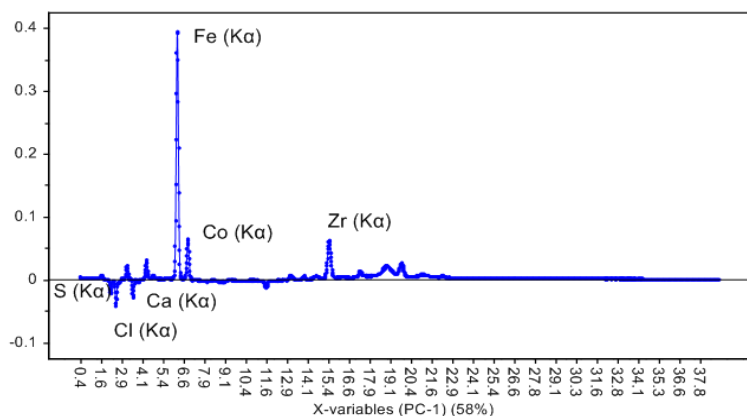


Fonte. Elaborada pelos próprios autores

O espectro no infravermelho do biopolímero de natureza gel-forme seco indicou a presença de enzima protéica tipo amida orgânica com número de onda (cm^{-1}) cerca de 3.419 associado com aminas secundárias; em comprimento de onda cerca de 2.848, corresponde a amida A; em cerca de 1.647 a $\text{C}=\text{C}$ vibração aromáticos e NO_2 ; em cerca de 1.548 a banda forte e a partir cerca de 1.087, são atribuídas a $\text{S}=\text{O}$ (sulfóxido) e compostos halogênicos em alfa.

Complementando a investigação, foi analisado na forma de natureza gel-forme em Fluorescência de Raios-X. Através disso, obteve-se 99,8% de material orgânico e apenas 0,2% de minerais inorgânicos, com enxofre distribuído entre Cálcio, Potássio, Ferro, Titânio, Bromo e Cromo. Além disso, novos grupos de minerais como cloro, gálio, arsênio e óxido de rutênio contribuem em reações/redução para o processamento bioquímico. O resultado da análise elementar qualitativa torna o biopolímero mais resistente, gel-forme, microbiano orgânico.

Figura 8. Gráfico de loadings, PCA mostra compostos metálicos que contém o consórcio microbiano



Fonte. Elaborada pelos próprios autores

Com a análise estatística PCA por Fluorescência de Raios-X se obteve os elementos que compõe o produto biopolímero de natureza gel-forme da solução salina transformada pela ação dos fungos com a proteína vegetal *Ricinus communis*, separando os produtos da amostra sedimento.

O crescimento de microrganismos em uma interface de água e óleo favorece o aparecimento de um gel-forme, no qual os microrganismos se aderem à superfície de grandes gotas de óleo devido à hidrofobicidade das células, passando a formar uma delgada interface, extraindo os compostos insolúveis em água da fase oleosa e utilizando os sais minerais da fase aquosa. À medida que as células revestem as gotas de óleo produzindo biossurfactantes, reduz-se a tensão interfacial, o que favorece o crescimento e a colonização microbiana (Martins, 2005).

Os fungos filamentosos são os mais eficientes na produção de enzimas extracelulares oxidativas, dentre elas proteases, celulasas, ligninases e outras (Santaella, 2009). Pelo processo das enzimas proteases, as partículas metálicas que as compõem, se expõem em maior quantidade no meio aquoso salino, possibilitando um aumento de frações nanométricas que, ao se reagruparem, interagem, provocando a mineralização do substrato.

5 CONCLUSÃO

Ressalte-se que, em um primeiro aspecto, a presente invenção disponibiliza um tecido microbiano resistente e gelatinoso, produto biopolímero de natureza gel-forme para emprego nas mais diversas áreas de biotecnologia avançada medicinal de transplante ósseo.

Em um segundo aspecto, viabiliza tanto um processo de transferência de elétrons entre as proteínas de ferro/enxofre quanto à obtenção de um produto biopolímero emulsificado em solução salina para aplicação no interior de dutos, permitindo a proteção do aço e maior fluidez do óleo. Ou seja, oferece um processo de obtenção de um gel-forme anticorrosivo para emprego de revestimento de dutos metálicos no transporte e indústria petroquímica.

Mais particularmente, a presente invenção refere-se a um produto biopolímero de natureza gel-forme sintetizado por um grupo protéico amida com moléculas e elementos minerais essenciais à vida, produtores de biomassa, podendo ser utilizado em outros processos de formação e aplicação industrial.

Além disso, os fungos utilizam estas substâncias para sua cometabolização, devolvendo ao ambiente o residual sintetizado (biopolímero), o qual possui larga variedade de aplicação também na indústria de produtos e revestimentos e na área medicinal.

AGRADECIMENTOS

Laboratório NEA IGEO/UFBA, Laboratório Análises Toxicológicas IBIO/UFBA, PIBIC, CNPq.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-SÁNCHEZA, *et al.* A novel cysteine proteinase (CP65) of *Trichomonas vaginalis* involved in cytotoxicity, *Microbial pathogenesis*, 28 (2000) 193-202
- BALAKRISHNAN, *et al.* Novel toughened polylactic acid nanocomposite: Mechanical, thermal and morphological properties. *Materials & Design*. V. 31, n. 7, 2010.
- BASTIOLI, C. *Handbook of Biodegradable Polymers*. Shawbury: Rapra Technology Limited, 2005.
- BIORESOURCE, W S.; SHANKS, R.; HODZIC, A. Interfacial improvements in poly (3-hydroxybutyrate)-flax fibre composites with hydrogen bonding additives. *Composites Science and Technology*. v. 64, n. 9, 2004.
- BORGES, *et al.* Recuperação secundária de óleo pesado e completção de reservatórios de campos maduros utilizando o subproduto (glicerina bruta) da produção do biodiesel. *Boletim técnico da Produção de Petróleo*, 2 (2007) 131-152. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/coproduto/19.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2011.
- CAVALCANTI (Coord.) *Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: 2ª aproximação*, in: F. J. A. Recife, Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, 1998.
- CLARINVAL, A. M.; HALLEUX, J. Classification of biodegradable polymers. In: Smith, R. *Biodegradable Polymers for Industrial Application*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2005.
- FECHINE, G. J. M. A Era dos Polímeros Biodegradáveis. *Plástico Moderno*. n. 423, 2010
- GENNADIEV, *et al.*, 2015; SAKSHI; SINGH S. K.; HARITASH, A. K. Polycyclic aromatic hydrocarbons: soil pollution and remediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 16, n. 10, p. 6489–6512, out. 2019
- GHOSAL, D. *et al.* Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, 31 ago. 2016.
- GONÇALVES, O.; QUINTELLA, C. M.; TRIGUI, J. A. PI 1105934-6, Processo para obtenção de biossensor e biossensor bioativo enzimático, 2022.
- HEDSTROM, L.; *Chem. Rev.* 2002, 102, 4501.
- LACAZ, C. S. L. *et al.* *Tratado de Micologia Médica*. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- LOPEZ-OTIN, C.; OVERALL, C. H.; *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002, 3, 509
- MANCERA-LÓPEZ, *et al.* Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with filamentous fungi, *International Biodeterioration & Biodegradation* 61(2008) 151-160.
- MARTINS, V. G. Produção de biossurfactante por fermentação em estado sólido e sua utilização em biorremediação. *Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) Fundação Universidade Federal do Rio Grande*, 2005.

NITSCHKE, M.; PASTORE, Biosurfactantes: propriedades e aplicações, Quím. Nova, 25 (5) (2002) 772-776.

Norma ASTM D6400-04. Standard Specification for Compostable Plastics.

OTITOLAIYE, V; AL-HARETHIYA, G. M. Impacts of petroleum refinery emissions on the health and safety of local residents. Journal of Air Pollution and Health, 13 mar. 2022.

QUINTELLA, C. M. *et al*; Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. Quím. Nova, v. 32(3), p. 793- 808, 2009.

QUINTELLA, C. M.; Mata, A. M. T.; Lima, L.C.P. Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils, Journal of Environmental Management, v. 241, 2019, 156-166.

RODWELL, V. W. Catabolism of Proteins & Amino Acid Nitrogen, Biomedical Importance, 28 (2009).

ROQUES, D. E.; OVERTON, E. B.; HENCY, C. B. Using gas chromatography/mass spectroscopy fingerprint analyses to document process and progress of oil degradation. Journal Environment Quality, v. 23, n. 1, p. 851-855, 1994.

ROSA, A. P. Processos de biorremediação na mitigação do impacto ambiental, devido a eventuais derrames de óleo na bacia de campos - experimentos laboratoriais, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Reservatório e Exploração de Petróleo) Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2001.

RUDNIK, E. Compostable Polymer Materials. Oxford: Elsevier, 2008.

SANTAELLA, *et al*. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger*, *Eng Sanit Ambient*, 14, (2009) 139-148.

UÑA, G. V.; GARCÍA, M. J. N. Biodegradation of non-ionic dispersants in sea water, *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. 18 (5) (1983) 315-319.