

ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO PARA USO INDUSTRIAL E/OU EM PROCESSOS DE BIORREMEDIAÇÃO¹

Rita Cajazeira Alvarez e Silvia Santos²
Taíse Bonfim de Jesus³
Luzimar Gonzaga Fernandez⁴
Eduardo de Aquino Ximenes⁵

INTRODUÇÃO

Microrganismos, isolados de diferentes fontes na natureza, têm demonstrado produzir enzimas capazes de hidrolisar eficientemente substratos lignocelulósicos presentes na parede celular de vegetais, sendo este processo de hidrólise de grande interesse biotecnológico para uso em diferentes indústrias, incluindo as de alimentos, bebidas, têxtil, polpa e papel, assim como na agricultura (BHAT, 2000). Neste sentido, diferentes enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas têm sido purificadas e caracterizadas (XIMENES, 1999; LI *et al.*, 2001).

Outra aplicação importante dos microrganismos diz respeito aos processos de biorremediação. Os estudos visando o uso de microrganismos capazes de eliminar poluentes e lixos tóxicos produzidos por vários processos industriais intensificaram-se no fim da década de 80. Tais microrganismos podem converter os poluentes nas fontes de energia as quais consomem, ou ainda converter toxinas em substâncias menos nocivas. Apesar das vantagens do uso da biorremediação, ainda há limitações a serem superadas. Esta é um processo sítio-específico, e sua eficiência pode ser limitada por condições microbiológicas e físico-químicas do solo. Fatores limitantes incluem o tipo e a concentração dos contaminantes e a população microbiana nativa, disponibilidade de nutrientes e aceptores de elétrons, pH, temperatura, conteúdo da umidade do solo e biodisponibilidade do substrato (AUTRY and ELLIS, 1992; BALBA *et al.*, 1998). O mercado mundial na área de biorremediação encontra-se em maior concentração nos Estados Unidos, responsável por 35-40% do mesmo (FERNANDES, 2000). À medida que os estudos forem demonstrando com mais dados os benefícios da biorremediação, a tendência será uma ampliação do seu uso, o que aumenta a possibilidade da expansão deste mercado. Vários benefícios já são visíveis, como, dentre outros, o fato de ser economicamente viável quando comparada com outros métodos de remediação convencionais, acontecer de modo natural, uma vez que os microrganismos usam o composto tóxico como fonte de carbono, além de permitir seu uso tanto no local contaminado quando em biorreatores.

O presente trabalho tem como objetivo o isolamento de microrganismos com potencial para uso em processos industriais e/ou em biorremediação. Tem-se ainda como objetivo, o isolamento de microrganismos extremófilos, que são aqueles capazes de crescerem em condições extremas (alta concentração de metais, sais, extremos de pH etc), os quais apresentam vantagens por permitirem o uso nas mais variadas condições em que os processos biotecnológicos ocorrem.

¹ O trabalho está sendo desenvolvido com apoio financeiro da FAPESB – Fundação de Amparo à Pesquisa do estado da Bahia, em colaboração com o Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA/UCSal. Coordenação do Projeto do Professor Doutor Eduardo de Aquino Ximenes.

² Acadêmicas em Ciências Biológicas da Universidade Católica do Salvador – UCSal e bolsistas de Iniciação Científica FAPESB/LEMA/UCSal.

³ Bióloga, Bolsista Apoio Técnico FAPESB/LEMA/UCSal.

⁴ Professora, Doutora, do Instituto de Ciências Biológicas, Coordenadora do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA da Universidade Católica do Salvador – UCSal, e do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia – UFBA.

⁵ Pesquisador, Doutor, do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA da Universidade Católica do Salvador - UCSal.

MATERIAL E MÉTODOS

- Isolamento dos microrganismos – Os meios de cultura utilizados foram idênticos a outros descritos na literatura (XIMENES *et al.*, 1994). No caso de condições extremas de pH, os meios foram adaptados para atender às mesmas. As colônias obtidas foram repicadas várias vezes até a obtenção destas puras.
- Caracterização fisiológica – Microrganismos foram cultivados em meio sólido (XIMENES *et al.*, 1994), contendo glicose como única fonte de carbono (0,5%), para a avaliação da faixa de temperatura e pH ideais para crescimento. Para avaliar a capacidade de degradação de diferentes substratos (celulose, caseína, ácido palmítico, margarina, N-hexadecano e fenol), os microrganismos foram também cultivados em meio sólido, porém contendo tais substratos como única fonte de carbono (0,5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Microrganismos foram isolados de diferentes fontes em áreas no estado da Bahia (Tabela 1). Tais fontes foram escolhidas por apresentarem características para isolamento de microrganismos capazes de degradarem substratos lignocelulósicos, lipídicos, proteásicos ou poluentes derivados do petróleo (Figura 1).

Tabela 1. Fontes para isolamento dos microrganismos em diferentes áreas no estado da Bahia

Isolados	Fonte	Local
1	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
2	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
3	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
4	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
5	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
6	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
7	Solo com possível contaminação por derivados do petróleo	São Francisco do Conde-BA
8	Material vegetal em decomposição	Santo Amaro da Purificação-BA
9	Fonte de águas térmicas	Caldas do Jorro-BA

Um total de 9 microrganismos, que cresceram em diferentes fontes de carbono (Tabela 2), foram selecionados tendo-se como critério o potencial de uso dos mesmos em processos industriais ou de biorremediação.

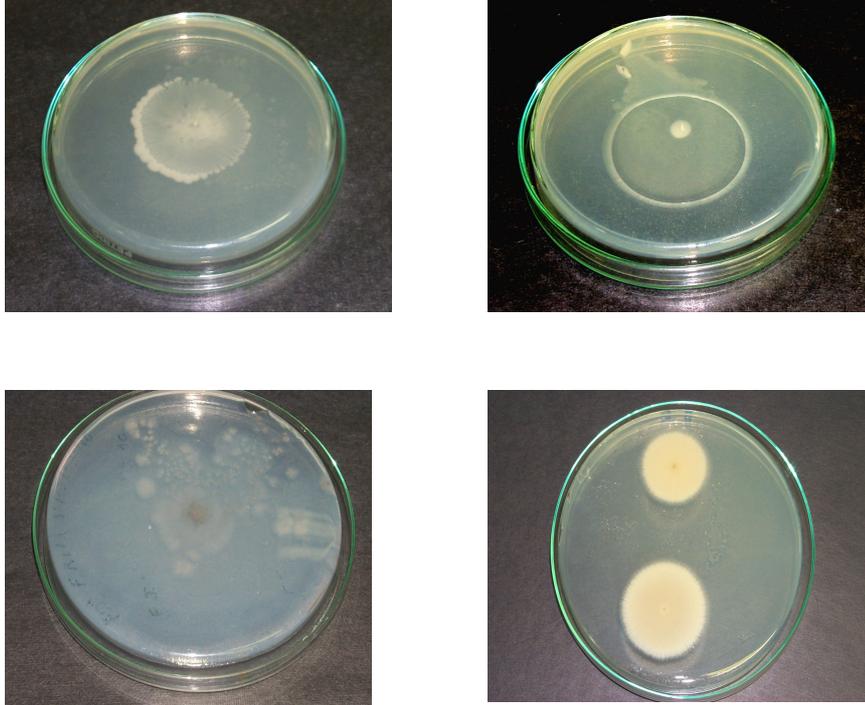


Figura 1. Exemplos de microrganismos isolados de diferentes regiões do estado da Bahia e selecionados para o presente trabalho.

Tabela 2. Avaliação do potencial de crescimento de microrganismos em meio sólido contendo uma única fonte de carbono de interesse.

Isolados	Fonte de Carbono (0,5%)
1	Celulose
2	Caseína
3	Caseína e N-hexadecano
4	Caseína e N-hexadecano
5	Caseína e N-hexadecano
6	Caseína e N-hexadecano
7	N-hexadecano
8	N-hexadecano
9	Celulose, Caseína, Ácido palmítico, Margarina e N-hexadecano

Uma caracterização fisiológica foi procedida para verificação da temperatura e pH ideais para crescimento dos microrganismos selecionados (Tabela 3). É importante ressaltar que as características do isolado 9 de crescer em uma ampla faixa de temperatura e pH, inclusive em condições extremas, qualifica-o como um microrganismo com grande potencial de uso biotecnológico, inclusive em processos ocorrendo em diferentes condições, seja nas indústrias ou em biorremediação.

Tabela 3. Faixa de temperatura e pH ideais para crescimento dos microrganismos selecionados.

Isolados	Temperatura	pH
1	50-55°	determinação em andamento
2	50-55°	determinação em andamento
3	50-55°	determinação em andamento
4	50-55°	determinação em andamento
5	50-55°	determinação em andamento
6	50-55°	determinação em andamento
7	determinação em andamento	determinação em andamento
8	determinação em andamento	determinação em andamento
9	20-45°C	4-12

Os microrganismos isolados inicialmente neste trabalho demonstram potencial na degradação de diferentes substratos, indicando a possibilidade de seu uso direto, isoladamente ou em combinação a outros microrganismos, ou de seus produtos celulares em processos industriais ou de biorremediação. Estudos adicionais de conclusão da caracterização fisiológica destes dois microrganismos com maior potencial para uso industrial e outros em biorremediação serão considerados para identificação em termos de gênero, espécie e linhagem, assim como de caracterização enzimática, encontram-se já em andamento.

REFERÊNCIAS

AUTRY, A. R. and G. M. ELLIS. 1992. Bioremediation : an effective remedial alternative for petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *Environ. Prog.* 11 (4): 318-323.

BHAT, M.K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology advances.* 355-383

BALBA , M. T., N. AL- AWADHI and R. AL-DAHER. 1998. Bioremediation of oil-contaminated soil : Microbial methods for feasibility assessment and field evaluation . *J. Microbiol. Meth.* 32 : 155-164.

FERNANDES, F.M. 2000. Biorremediação de solos – Estado da Arte. São Paulo. Produtos Químicos LTDA.

LI, X-L., LJUNGDAHL, L.G., CHEN, H and E. A. XIMENES. Beta-glucosidase coding sequences and protein from *Orpinomyces* PC-2. Aplicação PCT com uma patente estabelecida: U.S. Patent 6,184,018 B1. 2001.

XIMENES, E. A., C. J. ULHOA, and C. R. FELIX. 1994. Production of Cellulases by *Aspergillus fumigatus* Fresenius and Characterization of One Beta-Glucosidase. *Current Microbiology* 32:119-123.

XIMENES, E. A. Cloning and sequencing of cDNAs encoding one β -glucosidase, three cellulases and one mannanase of the fungus *orpinomyces* sp. Strain PC-2, and over-expression of the β -glucosidase and Mannase in *Saccharomyces cerevisidae*. Brasília-DF 1999. (Tese Doutorado): Universidade de Brasília.