

PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS NA BIOMINERAÇÃO

PRODUCTION AND APPLICATION OF BIOPOLYMERS IN BIOMINING

Ana Beatriz Barcelos Nogueira da Gama

Aluno de Graduação em Química Industrial 10º período, Universidade UFRJ

Período PIBIC ou PIBITI/CETEM: abril de 2026 a agosto de 2026

biabarcelos2000@gmail.com

Cláudia Duarte da Cunha

Orientadora, Engenharia Química, D.Sc.

ccunha@cetem.gov.br

Daniele Leonel da Rocha

Coorientadora, Química, D.Sc.

dleonel@cetem.gov.br

RESUMO

Os biopolímeros microbianos, como as substâncias poliméricas extracelulares (EPS), apresentam elevado potencial biotecnológico para aplicação industrial em biomineração, biolixiviação e bioabsorção seletiva de metais no setor minerometalúrgico. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo a produção e recuperação de EPS sintetizado pela bactéria *Paenibacillus polymyxa* em meio líquido simplificado composto por sacarose e extrato de levedura. Para a avaliação dos componentes nutricionais, foi realizado um planejamento experimental fatorial 2^2 , variando as concentrações de fontes de carbono e nitrogênio sob agitação constante pelo período de 24h. Ao final do ensaio, a biomassa foi centrifugada e a EPS foi recuperada do sobrenadante, sendo obtida por precipitação imediata com etanol, confirmando a síntese do polímero. A maior produção do biopolímero ocorreu na presença das maiores concentrações de sacarose (250 g/L), alcançando a produção máxima de 46,8 g/L de EPS. O resultado foi confirmado pela análise estatística realizada no software Statistica, indicando que a concentração de sacarose foi a única variável com efeito significativo e que o aumento da concentração promoveu maior produção de EPS, confirmando análises preliminares de triagem e direcionando as próximas etapas de otimização.

Palavras-chave: EPS, *Paenibacillus polymyxa*, biomineração, bioabsorção.

ABSTRACT

Microbial biopolymers, such as extracellular polymeric substances (EPS), exhibit high biotechnological potential for industrial applications in biomining, bioleaching, and selective metal biosorption in the mining sector. In this context, this work aimed to produce and recover EPS using the bacterium *Paenibacillus polymyxa* grown in a simplified liquid medium containing sucrose and yeast extract. A 2^2 factorial experimental design was conducted, systematically varying the concentrations of carbon and nitrogen sources under constant agitation over a 24-hour period. At the end of the assay, cell biomass was removed and EPS was recovered from the supernatant, obtaining immediate precipitation with ethanol that confirmed polymer synthesis. The highest biopolymer production occurred at the highest sucrose concentration tested (250 g/L), reaching a maximum yield of 46.8 g/L of EPS. This result was supported by statistical analysis conducted using Statistica software, which indicated that sucrose concentration was the only variable with a significant effect and that increasing its concentration promoted higher EPS production, validating preliminary screening analyses and guiding process optimization.

Keywords: EPS, *Paenibacillus polymyxa*, biomining, biosorption.

1. INTRODUÇÃO

A biotecnologia aplicada ao setor minerometalúrgico desponta como alternativa sustentável para a remediação ambiental e o processamento mineral através da biomineração (MARTINS et al., 2008). Nesse cenário, ganham destaque as substâncias poliméricas extracelulares (EPS), macromoléculas complexas constituídas principalmente por polissacarídeos e proteínas, podendo conter ácidos urônicos, lipídeos entre outros componentes, secretados por microrganismos (SHI et al., 2017; DIAS et al., 2019). Devido à presença de grupos funcionais ionizáveis (carboxila, fosfato e hidroxila), as EPS podem apresentar carga líquida negativa em pH operacional, permitindo a complexação de cátions metálicos em solução. Essa característica viabiliza sua aplicação industrial na biossorção de metais pesados e dependendo das suas propriedades, em processos de biofloculação (MARTINS et al., 2008; DIAS et al., 2019). Para a síntese desses biopolímeros, a bactéria Gram-positiva *Paenibacillus polymyxa*, destaca-se pelo seu potencial de aplicação biotecnológica e à sua elevada eficiência na produção de exopolissacarídeos específicos, como curdlana e levana, quando cultivada em meios simples à base de sacarose e extrato de levedura (RAFIGH et al., 2014; LIANG; WANG, 2015).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo a produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) em escala de bancada a partir do cultivo da bactéria *Paenibacillus polymyxa*, visando sua futura aplicação em processos de biomineração. Os objetivos específicos incluem:

- Realizar o cultivo celular em meio líquido contendo diferentes concentrações de sacarose e extrato de levedura;
- Executar as etapas de *downstream* para recuperação, secagem e quantificação do polímero bruto.

3. METODOLOGIA

3.1. Preparo do Meio de Cultivo e Inoculação

O meio de cultivo líquido foi preparado em água destilada utilizando sacarose como fonte de carbono e extrato de levedura como fonte de nitrogênio. Para avaliar a influência de diferentes condições nutricionais na síntese de EPS, os tratamentos foram preparados com variações nas concentrações desses componentes, objetivando a maximização da produção de EPS e a redução de custos. Inicialmente, foi realizado um pré-inóculo para ativação celular da cultura de *Paenibacillus polymyxa* por 22 horas, sendo formulado com 250 g/L de sacarose e 6 g/L de extrato de levedura. O delineamento experimental 2² com triplicata do ponto central contou com 7 sistemas de tratamento no total. Os tratamentos 1 a 7 atuaram como os ensaios analíticos de produção, sendo inoculados simultaneamente com uma alíquota padronizada de 10% (v/v) do pré-inóculo ativo. A composição detalhada de cada meio está sistematizada na Tabela 1.

Tabela 1: Composição dos meios de cultivo para produção de EPS por *Paenibacillus polymyxa*.

Tratamentos	Sacarose (g/L)	Extrato de levedura (g/L)
1	150	2
2	150	10
3	250	2
4	250	10
5	200	6
6	200	6
7	200	6

3.2. Processo Fermentativo e Downstream

A fermentação ocorreu em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 10 mL de volume útil do meio de cultivo, inoculados com 10% (v/v) de pré-inóculo. O processo foi mantido sob agitação orbital constante de 150 rpm a 30 °C por um período de 24 horas. Na etapa de *downstream*, os frascos foram submetidos à fervura por 15 minutos para promover o desprendimento dos exopolissacarídeos (EPS) capsulares associados à parede celular. Em seguida, a biomassa celular foi separada por centrifugação a 4.000 rpm por 15 minutos e descartada. Ao sobrenadante límpido, adicionou-se etanol absoluto gelado na proporção de 3:1 (etanol:sobrenadante), e a mistura foi mantida a 4 °C por 24 horas para a precipitação química dos polímeros. Por fim, o precipitado foi coletado por nova centrifugação, seco a 60 °C até peso constante e pesado para a determinação da massa e cálculo do rendimento final (g/L).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Aspectos Visuais do Cultivo de *Paenibacillus polymyxa*

Durante o período de fermentação bacteriana conduzido em mesa agitadora, foi possível monitorar qualitativamente o crescimento de *Paenibacillus polymyxa* e a presença de metabólitos no meio líquido. Como podem ser observados na figura 1, os frascos Erlenmeyer apresentaram aumento acentuado da turbidez do meio de cultivo, acompanhado por um visível incremento da viscosidade ao longo do período.



Figura 1: Crescimento de *Paenibacillus polymyxa*. (A) em frascos Erlenmeyer dos ensaios do planejamento experimental e (B) coloração de Gram para avaliar a pureza.

Essas alterações macroscópicas são indícios clássicos do crescimento bacteriano exponencial e da concomitante secreção de polímeros solúveis no meio, indicando que o microrganismo respondeu de forma positiva ao estímulo nutricional da sacarose e do extrato de levedura.

4.2. Produção de EPS e Avaliação da Cinética de Crescimento do Inóculo

Os ensaios iniciais de produção foram conduzidos utilizando formulações com condições teoricamente otimizadas no Laboratório de Biotecnologia do CETEM. Contudo, os rendimentos quantitativos brutos obtidos, mostrados na tabela 2, situaram-se abaixo do esperado para o microrganismo, que em campanhas prévias operou em patamares de até 130 g/L (PINHEIRO; CUNHA, 2022; DIAS; CUNHA, 2020). Esta divergência inicial pode estar relacionada ao estado fisiológico da estirpe bacteriana utilizada, pois o estoque encontrava-se sob criopreservação (congelamento) por um período superior a 5 anos no laboratório.

Tabela 2: Planejamento experimental visando o aumento da produção de EPS.

Amostras	Sacarose (g/L)	Extrato de levedura (g/L)	Placa (g)	(Placa + Massa seca) (g)	Produção de EPS (g/L)
1	150	2	7,48	11,79	43,1
2	150	10	7,46	11,94	44,8
3	250	2	7,46	12,14	46,8
4	250	10	7,43	12,02	45,9
5	200	6	7,48	11,85	43,7
6	200	6	7,57	11,75	41,8
7	200	6	7,47	11,83	43,6

Embora o repique e a ativação inicial tenham apresentado características morfológicas típicas de *Paenibacillus polymyxa*, foi observada uma cinética de crescimento mais lenta do que a esperada (DIAS, 2018; PINHEIRO, 2022). O pré-inóculo foi transferido na proporção de 10% (v/v) para os frascos do planejamento experimental, mantendo-se o tempo padrão de 24 horas para produção e precipitação. Entretanto, devido à perda parcial de viabilidade e ao prolongamento da fase lag ocasionados pelo longo período de armazenamento, esse tempo não foi suficiente para que as células atingissem a densidade crítica e a máxima atividade metabólica para a produção de EPS, comprometendo o rendimento final.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 2, foram avaliadas no *software Statistica* o efeito das variáveis sobre a produção de EPS, sendo os resultados apresentados na Figura 2, por meio do gráfico de Pareto. A concentração de sacarose foi a única variável com efeito significativo, indicando que o aumento de sua concentração promoveu maior produção de EPS. Esse resultado confirma análises preliminares de triagem, que apontaram a sacarose como a variável de maior influência na síntese de EPS, direcionando as próximas etapas de otimização do processo.

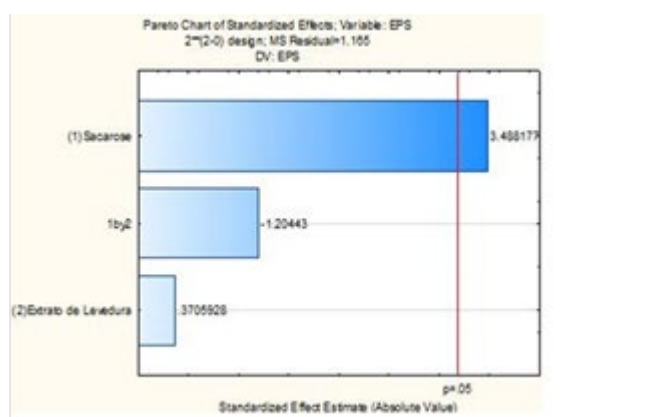


Figura 2: Gráfico de Pareto apresentando os efeitos das variáveis Sacarose e Extrato de Levedura e sua interação na produção de EPS, com valor de $p = 0,05$.

5. CONCLUSÕES

Os ensaios preliminares confirmaram a viabilidade do protocolo de cultivo e recuperação de EPS em escala de bancada. A redução nos rendimentos em relação aos valores obtidos anteriormente pode estar associada ao maior tempo de adaptação da estirpe bacteriana, criopreservada por mais de 5 anos, indicando a necessidade de ajuste do tempo de cultivo. Contudo, a análise estatística mostrou que a sacarose, como a variável de maior influência no sistema, forneceu um direcionamento para a otimização do meio de cultivo. A precipitação instantânea com etanol mostrou a síntese do biopolímero bruto, sendo obtida a produção máxima de 46,8 g/L de EPS na presença de 250g/L de sacarose. Como etapas futuras, recomenda-se a realização de transferências sequenciais do cultivo da estirpe de *Paenibacillus polymyxa* para recuperação da sua atividade metabólica, e o início dos ensaios de aplicação deste bioproduto em processos de biofloculação e biomineração.

6. AGRADECIMENTOS

A autora expressa seus sinceros agradecimentos ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) pela cessão do espaço físico, fornecimento de infraestrutura laboratorial e pelo suporte técnico e institucional indispensáveis para o desenvolvimento desta pesquisa. À Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), em especial à coordenação do curso de Química Industrial, pelo suporte acadêmico. Aos orientadores, Dra. Cláudia Duarte da Cunha, Dra. Daniele Leonel da Rocha e Dr. Diogo Simas Bernardes Dias, pela mentoria, paciência e valiosas contribuições científicas ao longo desta jornada. Por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica, viabilizando a execução deste projeto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIAS, D. S. B.; TAKETANI, N. F.; CUNHA, C. D. Aplicação de Substâncias Poliméricas Extracelulares (EPS) com viés biotecnológico: Ênfase na produção por *Paenibacillus*. Rio de Janeiro: CETEM/MCTIC, 2019. 57p. (Série Tecnologia Ambiental, 105).

LIANG, T.; WANG, S. Recent advances in exopolysaccharides from *Paenibacillus* spp.: Production, Isolation, structure, and Bioactivities. *Marine Drugs*, v. 13, n. 4, p. 1847-1863, 2015.

MARTINS, P. S. O. et al. Evaluation of EPS Application in Microbial Consortia Growing in Aqueous Co-Contaminated Systems: The Trend to Natural Attenuation. *The Open Biotechnology Journal*, v. 2, p. 176-182, 2008.

PINHEIRO, A. S. Produção de um biopolímero em larga escala utilizando *Paenibacillus polymyxa*. 2022. Relatório de Iniciação Científica – Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCTI), Rio de Janeiro, 2022.

RAFIGH, S. M. et al. Optimization of culture medium and modeling of curdlan production from *Paenibacillus polymyxa* by RSM and ANN. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 70, p. 463-473, 2014.

SHI, Y. et al. Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: An overview. *Chemosphere*, v. 180, p. 396-411, 2017.