AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE GERAÇÃO DE ÁGUAS ÁCIDAS DE SUBSTRATOS SULFETADOS DA MINA DO SOSSEGO E ESTUDO QUÍMICO DE ESPÉCIES NATIVAS DA REGIÃO DE CANAÃ DOS CARAJÁS – PA COM INDICATIVO BIORREMEDIADOR

ASSESSMENT OF THE POTENTIAL FOR GENERATION OF ACIDIC WATERS OF SUBSTRATES SULFETADOS THE SOSSEGO MINE AND CHEMICAL STUDY OF NATIVE SPECIES IN THE REGION OF CANAÃ DOS CARAJÁS - PA WITH INDICATION BIORREMEDIADOR

Elivelton Fonseca Barbosa[1] - Unifesspa
Marinaldo Vilar de Souza Júnior[2] - Unifesspa
Marilene Nunes de Oliveira[3] - Unifesspa

Resumo: Foram selecionadas para realização do presente trabalho linhagens associadas como endofíticos. As 18 linhagens selecionadas foram reativadas inoculando em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Agar) das quais foram armazenadas em uma incubadora do tipo BOD. As linhagens selecionadas estavam armazenadas em eppendorf na micoteca estruturada pelo grupo de pesquisa em Produtos Naturais da Faculdade de Química (FAQUIM). Após o processo de reativação das linhagens em meio de cultura BDA, fragmentos do micélio de cada linhagem foram inoculados em frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 100 g de arroz do tipo Tio João e 30 mL de água destilada. Previamente à inoculação o meio de cultura foi submetido a um processo de estrilização que consistiu em submeter o sistema para cultivo a uma temperatura de 120° C e pressão de 1atm por 45 minutos em autoclave. Após o inoculo os frascos Erlenmeyers foram armazenados em ambiente desprovido de luz por um período de 27 dias para a obtenção de biomassa fúngica. Vale ressaltar que este processo foi feito em duplicata. Após o período de 27 dias adicionou-se o solvente hexano (C_6H_{14}) para obtenção do extrato hexânico. Foram realizadas 04 extrações com hexano, restando, portanto, as extrações com dicloro, acetato e metanol, conforme previsão em plano de trabalho.

Palavras-chave: Biorremediação, Produtos Naturais, Fungos endofíticos.

Resumo: Were selected for completion of this work associated lineages as septate. The 18 strains selected were reactivated inoculating in Petri plates containing PDA culture medium (Potato Dextrose, and Hagar) of which were stored in an incubator of BOD. The strains selected were stored in Eppendorf tubes in Bioinformatics and structured by the research group in natural products from the Faculty of Chemistry (FAQUIM). After the process of reactivation of the strains in PDA culture medium, fragments of the mycelium of each strain were inoculated in Erlenmeyer flasks of 500 mL containing 100 g of rice of type Uncle John and 30 mL of distilled water. Prior to inoculation of the culture medium was submitted to a process of estrilização which consisted of subjecting the system to grow at a temperature of 120° C and a pressure of 1 atm for 45 minutes in an autoclave. After the inoculum flasks flasks were stored in an environment devoid of light for a period of 27 days to obtain fungal biomass. It is worth noting that this process was done in duplicate. After the period of 27 days added to the solvent hexane (C6H14) for obtaining the hexane extract. Were performed 04 extraction with hexane, leaving, therefore, the extractions with dichloro acetate and methanol, as predicted in the work plan.

Keywords: Bioremediation, Natural Products, Endophytic Fungi.

---

[1] Graduando do Curso de Licenciatura em Química (FAQUIM/ICE/Unifesspa). Bolsista do Programa Institucional de Iniciação Científica – PIBIC. Email: eliveltonfonseca25@gmail.com
[2]Graduando do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Naturais (FAQUIM/ICE/Unifesspa). Voluntário do Programa de Iniciação Científica. E-mail: juniorvilar09@gmail.com
[3]Doutora em Química. Professora Titular Adjunta da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (FAQUIM/ICE/Unifesspa). Coordenadora do Programa Institucional de Iniciação Científica – PIBIC. E-mail: mno@unifesspa.edu.br.

1. INTRODUÇÃO

A flora brasileira é riquíssima em espécies com princípios ativos de importância terapêutica, portanto, o Brasil, com sua imensa diversidade vegetal e portador de uma das maiores florestas tropicais do planeta, tem sido alvo para a descoberta de novas substâncias com atividades farmacológicas. Neste sentido, o potencial de utilização dessa flora está longe de se esgotar (ALVES, 2001).

A busca de substâncias com atividades biológicas úteis para o homem é um dos campos mais estudados na ciência. Faz-se necessário renovar o arsenal de compostos ativos, devido aos parasitas adquirirem resistência aos medicamentos já existentes no mercado, bem como, o surgimento de novas doenças.

Os microrganismos endofíticos são fontes relativamente espontâneas e potenciais de produtos naturais modernos para exploração na medicina, agricultura e indústria, por se tratarem de sintetizadores químicos dentro da planta. Os fungos endofíticos possuem a capacidade de produzirem substâncias que podem ajudar as plantas a combaterem infestações por outros fungos, bactérias e vírus, até mesmo ajudar no seu desenvolvimento. Tais substâncias podem também ser úteis para as pessoas (MARINHO et al., 2013 e PITTA et al., 2014).

No sentido de dá contribuição aos estudos com fungos endofíticos na busca de substâncias com propriedades biológicas úteis, foram selecionadas espécies vegetais cultivadas em Canãa dos Carajás, para isolamento e investigação do perfil metabólico de fungos endofíticos associados a estas, bem como, a avaliação do potencial bioativo de seus extratos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

- Vidrarias em geral: Erlenmeyer, provetas, pipetas, buretas, copo becker, Placas de Petri;

Meio de cultura BDA (Bata Agar Dextrose) para cultivo dos fungos endofíticos;

- Solventes: Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e Etanol. Os solventes serão usados nos processos de cultivo e eliminação dos microrganismos em estudo;
- Equipamentos: Estufas, BOD, capela de exaustão, capela de fluxo laminar, Shaker, autoclave, balança analítica, rotaevaporador.

2.2 Reativação do Endofítico

Foram selecionadas para realização do presente trabalho dezoito linhagens associadas como endofíticos das espécies coletadas na área de mineração, Mina do Sossego, Canaã dos Carajás.

As linhagens selecionadas foram reativadas inoculando fragmentos de micélio que estavam armazenados em tubos de eppendorf na micoteca do grupo de produtos naturais da Faculdade de Química em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Agar). Após inoculo as placas de Petri foram armazenas a 29°C em uma incubadora do tipo BOD.

As linhagens reativadas foram codificadas como segue: I2MF1 (2º isolado da Malva folha boa), I9MFlor (9º Isolado da malva com flor), I11MF1 (11º Isolado da malva folha boa), I1Tf (1º Isolado da Taboa Folha), I3TFrp (3º Isolado da Taboa fruto da ponta), I1Mc (1º Isolado da malva caule), I3Tfr (3º isolado da taboa fruto), I2Tfr,(2º Isolado da taboa fruto) I2MF2, (2º Isolado da folha infectada com fungo) I3Mc, (3º isolado da malva caule) I9MF2, (9º Isolado da folha infectada com fungo) I6MFlor, (6º Isolado da malva com flor) I5MFlor, (5º Isolado da Malva com flor) I10MF1, 10º Isolado da malva folha boa)I12MF1, (12º Isolado da malva folha boa) I16MF1, (16º Isolado da malva folha boa) I5MF1, (5º Isolado da malva folha boa) e I3CSrF (3º isolado do cipó saído do rejeito folha).

2.3 Extração da Biomassa

Após o processo de reativação das linhagens em meio de cultura BDA, fragmentos do micélio de cada linhagem foram inoculados em frascos Erlenmeyer de 500 ml contendo 100g de arroz do tipo Tio João e em seguida adicionou-se 30 ml de água destilada e levou a autoclave por um tempo de 45 minutos e temperatura de na pressão de 1atm, após este processo de esterilização do meio, levou-se os Erlenmeyers até a capela de fluxo laminar onde adicionou-se dois fragmentos dos micélios e em seguida vedou-se os Erlenmeyers e então armazenou-se em ambiente fechado na ausência de luz por um período de 27 dias para o desenvolvimento das linhagens em meio sólido, porém no intervalo de 3 em 3 dias era necessário agitar os

fungos fazendo com que eles desenvolvessem um crescimento uniforme no arroz. Vale ressaltar que este processo foi feito em duplicata.

Após o período de 27 dias, para a extração da biomassa fúngica foram adicionados solventes orgânicos (Figura 01) em ordem crescente de polaridade, tais como, hexano (C_6H_{14}), diclorometano, acetato de etila e metanol. O processo de extração foi repetido por quatro vezes para todas as linhagens com todos os solventes.

.

Figura 1: Extração da biomassa fúngica utilizando solventes orgânicos

Após 24 horas os sistemas submetidos à extração foram filtrados utilizando como auxílio funil simples e algodão como filtro. O material filtrado foi submetido à concentração em rotaevaporador levando a obtenção dos extratos.

2.4 Caracterização química da biomassa

Para a caracterização química da biomassa produzida e, portanto, obtenção do perfil do metabolismo secundário das linhagens em estudos, 10 mg de cada extrato foram submetidas à análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para avaliar o perfil do metabolismo secundário de fungos associados a espécies vegetais que habitam solos, cujas condições ambientais são adversas, tais como solos mineralizados foram selecionadas 18 linhagens (I2MF1 I9MFlor, I11MF1, I1Tf, I3TFrp I1Mc, I3Tfr, I2Tfr, I2MF2, I3Mc, I9MF2, I6MFlor, I5MFlor, I10MF1, I12MF1, I16MF1 I5MF1 e I3CSrF). Ambas as linhagens foram reativas e cultivas em meio de cultura sólido, arroz, para a obtenção de biomassa. Após 27 dias de cultivo utilizando a técnica de extração por percolação foram obtidos 18 extratos hexânicos, 18 extratos diclorometânicos, 18 extratos acetato de etila e 18 extratos metanólicos, totalizando 72 extratos.

Para a caracterização química da biomassa produzida e, portanto, obtenção do perfil do metabolismo secundário das linhagens em estudos, 10 mg de cada extrato foram submetidas à análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear de 1H (RMN 1H) revelando a produção de triacilgliceróis (Figura 02).

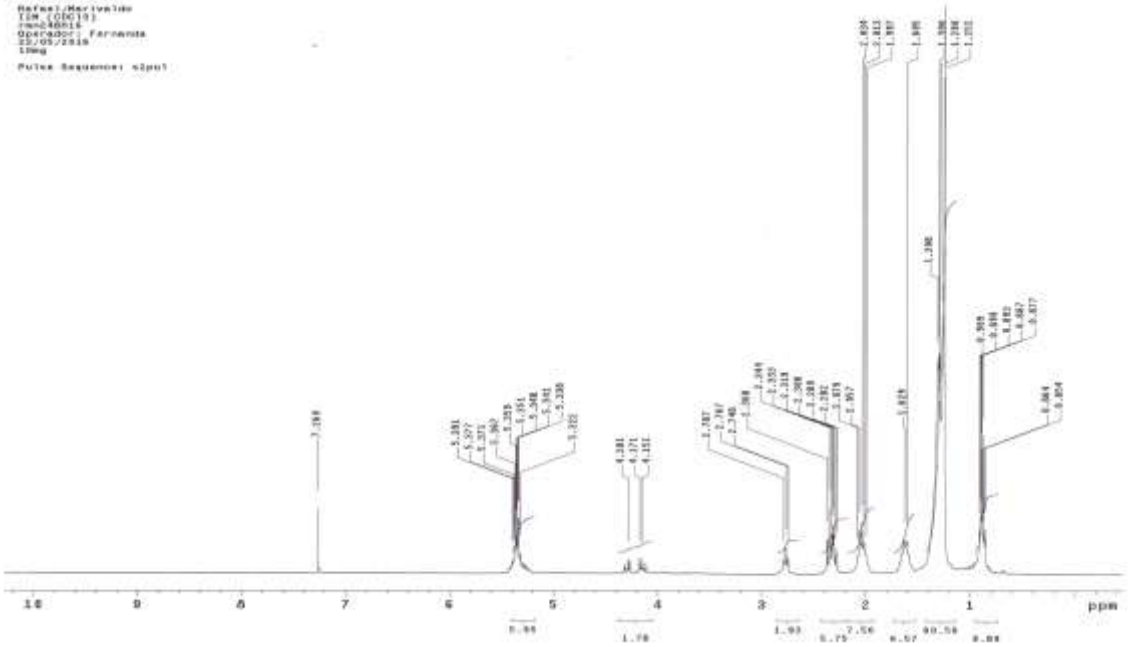

Figura 02: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) de triacilgliceróis.

4. CONCLUSÃO

Na avaliação do perfil cromatográfico e potencial biológico de extratos de fungos endofíticos, tomando como material de partida as linhagens armazenadas na micoteca do grupo de produtos naturais da Faculdade de Química, foram selecionadas 18 linhagens para estudo.

As linhagens fúngicas selecionadas foram reativadas e em seguidas cultivadas em arroz por um período de 27 dias. A biomassa obtida foi extraída por percolação utilizando hexano, diclorometânico, acetato de etila e metanol como solvente. Foram obtidos, portanto, 72 extratos.

A partir da análise de RMN ^1H dos extratos ficou evidenciado a produção de triacil glicerol por todas as linhagens em estudo, assim apresentando o mesmo perfil metabólico.

Os triacilgliceróis serão utilizados como material de partida para o desenvolvimento de novas atividades, tais como, obtenção dos ácidos graxos e caracterização dos mesmos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas – CG/EM.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a minha orientadora professora Drª Marilene Nunes Oliveira, ao CNPQ pela concessão à bolsa.

REFERÊNCIAS

ALVES, H. M**. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, 7: 10-14, 2001.

MARINHO, A. M. R.; MARINHO, P. S. B.; SANTOS, L. S.; FILHO, E. R.; FERREIRA, I. C. P. **Active polyketides isolated from *Penicillium herquei***. Na. Acad. Bras. Cienc., 2013.

PITTA, E.; TSOLAKI, E.; GERONIKAK, A.; PETROVIC, J.; Glamoclija, J.; SOKOVIC, M.; CRESPAN, E.; MAGA, G.; BHUNIA, S. S.; SAXENA, A. K. **Thiazolidinone derivatives as potent antimicrobial agents: microwave-assistedsynthesis, biological evaluation and docking studies.** Med. Chem. Commun, 2015.

SERAFINE, A. L; BARROS, M. N.; AZEVEDO L. J; "***Biotecnologia: Avanços na agricultura e na agroindústria***". EDUCS, p. 247, 2002.

SILVA, M. F. F. **Distribuição de Metais na Vegetação Metalófila de Carajás**. Acta Botânica Brasileira 6 (1): 107-122, 1992.