

FLOTAÇÃO CELULAR: INFLUÊNCIA DE SURFATANTES E DO MEIO DE CULTIVO SOBRE A ADESÃO LEVEDURA-BOLHAS DE AR.

Karina Aparecida Gini, Miguel Jafelicci Jr., Sandro Rogério de Sousa e Cecília Laluze - Química - Departamento de Físico-Química - Instituto de Química - Campus de Araraquara.

A flotação é um processo de separação de sólidos suspensos em líquidos, no qual, as partículas sólidas são retiradas do meio líquido por a adesão as bolhas de ar. O processo de flotação é o inverso da sedimentação, pois na flotação as partículas acumulam-se nas interfaces líquido-gás das bolhas de ar, as quais são geradas pelo borbulhamento de gás através do meio líquido, contendo células suspensas. As bolhas apresentam densidade menor que a da fase líquida e migram para superfície arrastando as partículas seletivamente aderidas á superfície das bolhas de ar, em função da afinidade da superfície da partícula pela superfície da fase gasosa. O processo da flotação constitui-se numa aplicação muito importante, mas bastante complexa da química de superfície. Devido à sua simplicidade operacional, o processo é utilizado para separar uma grande variedade de sólidos, principalmente minerais. O objetivo do presente trabalho consistiu em estudar os efeitos da presença de surfatantes adicionados aos meios sobre os parâmetros de flotação e eficiência de flotação em função do pH.

A levedura flotante utilizada foi a *S.cerevisiae* FLT-01 da coleção IQAr-UNESP. Esta linhagem foi mantida em YPD sólido (agar inclinado), em geladeira a 4° C. As leveduras foram propagadas em meio de melaço 10% (açúcar redutor total) e meio quimicamente definido no qual os macro-nutrientes g/L foram: 20 C₆H₁₂O₆, 3,12 (NH₄)₂SO₄, 1,99 KH₂PO₄, 0,54 MgSO₄.7H₂O, 0,09 CaCl₂ e 0,11 NaCl; vitaminas: 30,0 myo-inositol, 4,8 piridoxina, 16,8 tiamina, 4,8 pantotenato de cálcio, 16,8 biotina e micro-nutrientes mg/mL: 72,8 ZnSO₄.7H₂O, 10,4 CuSO₄.5H₂O, 10,4 H₃BO₃, 52,0 FeCl₃.6H₂O e 10,4 de KI). Os meios foram esterelizados por 20 minutos em autoclave (fabricada pela Fabbe-Primar Industrial LTDA, modelo 103) pelo vapor produzido a 120 ° C.

O Pré-inóculo foi preparado transferindo porções de células (da linhagem FLT-01 conservada em YPD em agar inclinado) por meio de uma alça de platina para 50 mL do meio de cultivo (melaço ou meio definido) contido em Erlenmeyers de 250 mL. O pré-inóculo foi propagado por 24 horas a 30°C sob agitação de 125 rpm. O pré-inóculo foi utilizado para inocular alíquotas de 50mL de melaço diluído e meio definido contido em Erlenmeyers de 250 ml até uma densidade de células de ordem de 1,0 mg/ml. Então, a cultura foi propagada em mesa giratória a 125 rpm e 30°C por um período de 48 horas em melaço 10% e por 24 horas em meio definido.

Os surfatantes CTAC (cloreto de cetiltrimetilamonio) e SDS (dodecil sulfato de sódio) foram utilizados em concentrações da ordem de 10⁻⁴M, sendo os valores de pH (1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 7,0) ajustados antes da flotação.

O ar foi borbulhado através de uma coluna de flotação (17 cm altura e 2 cm de diâmetro), contendo os meios, e as células foram flotadas a uma vazão de ar de 6 mL/s no meio de melaço e 7 mL/s no meio definido por um período de 1 minuto para as duas suspensões.

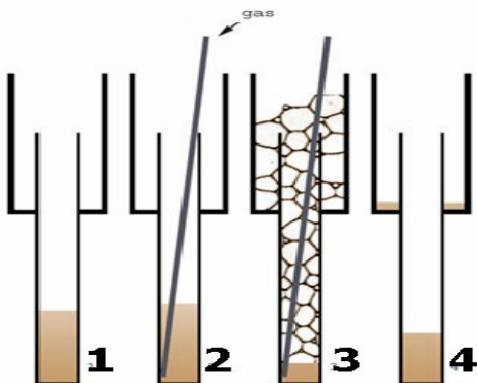


Figura 1: Representação esquemática das etapas da flotação: 1-Adição do líquido; 2-Inserção do borbulhador e conseqüente aumento do volume do líquido no tubo; 3-Borbulhamento; 4-Meio residual deixado na coluna e concentrado celular transferido para a parte superior do sistema de flotação após o colapso completo da espuma.

O grau de flotação (células totais retiradas do meio) e eficiência da flotação (concentração de células na espuma) foram os parâmetros determinados em presença de detergentes adicionados ao meio definido e ao melaço. A Figura 2 mostra os efeitos das variações em pH ajustados antes da flotação em melaço 10% ,enquanto que a Figura 3 mostra os mesmos efeitos em melaço contendo SDS adicionado. O grau de flotação, praticamente, não variou em presença em presença de SDS (Figura 3), mas aumentou com as elevações de pH em presença de CTAC (Figura 2). A eficiência de flotação manteve-se abaixo dos 25% em todo o intervalo de pH para os dois surfatantes em meio de melaço 10%.(Figura 2 e 3). Os experimentos realizados com o meio definido estão descritos nas Figuras 4 e 5. A Figura 4 mostra que o efeito do CTAC foi maior sobre a eficiência da flotação (valor máximo em pH 3,0) que sobre a flotação propriamente dita. No entanto, a elevação do pH causou uma diminuição em eficiência da flotação em presença de SDS.

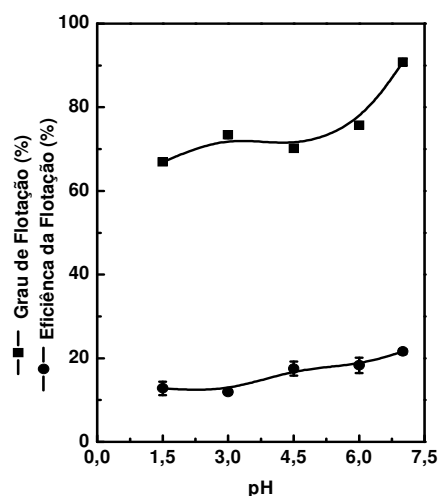
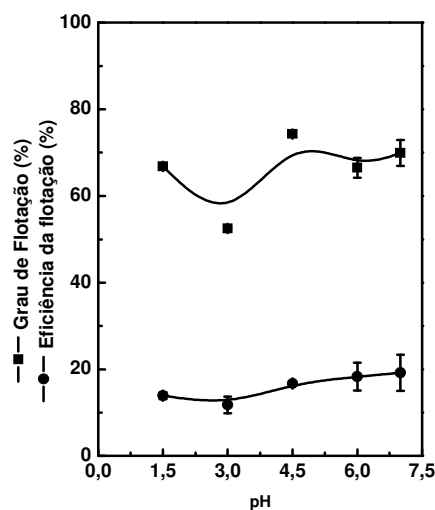


Figura 2: Grau de flotação e Eficiência de flotação da levedura linhagem FLT-01 propagada em meio de melaço 10% suspensa no próprio meio de cultivo na presença de cloreto de cetiltrimetilamonio (CTAC): Ci (concentração inicial)=1,0 mg/mL; Tempo de flotação=1minuto; Vp (volume inicial)=12,00mL; Vazão de ar = 6mL/s.

Figura 3: Grau de Flotação e Eficiência de flotação da levedura linhagem FLT-01 propagada em meio de melaço 10% suspensa no próprio meio de cultivo na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS): Ci (concentração inicial) =1,0 mg/mL; Tempo de flotação=1minuto; Vp (volume inicial) =12,00mL; Vazão de ar= 6mL/s.



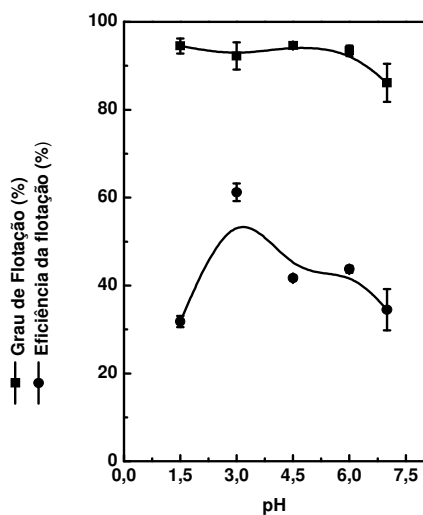
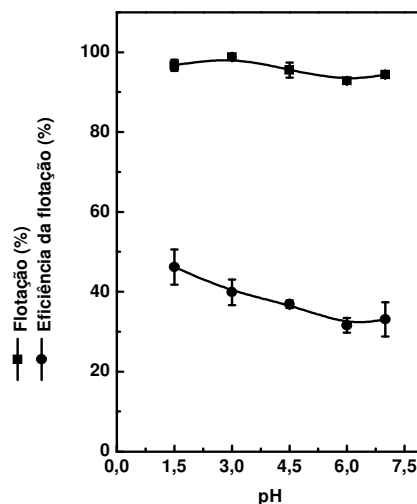


Figura 4: Grau de flotação e Eficiência de flotação da levedura linhagem FLT-01 propagada em meio definido suspensa no próprio meio de cultivo na presença de cloreto de cetiltrimetilamonio (CTAC): Ci (concentração inicial)=1,0 mg/mL; Tempo de flotação=1minuto; Vp (volume inicial)=12,00mL; Vazão de ar=7mL/s.

Figura 5: Grau de flotação e Eficiência de flotação da levedura linhagem FLT-01 propagada em meio definido suspensa no próprio meio de cultivo na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS): Ci (concentração inicial) =1,0 mg/mL; Tempo de flotação=1minuto; Vp (Volume inicial) =12,00mL; Vazão de ar= 7mL/s.



Os surfatantes CTAC e SDS apresentaram graus de flotação e eficiência de flotação maiores em meio definido do que em melaço. Células propagadas em meio definido e suspensas no próprio meio de cultivo contendo de CTAC ou SDS adicionados aderiram melhor às bolhas de ar. A natureza do detergente exerceu mais efeito sobre a eficiência da flotação que sobre a flotação propriamente dita e disto ocorreu de forma mais acentuada em meio definido. O melhor resultado foi obtido com a adição de CTAC ao meio definido, pois este surfatante melhorou o processo de flotação por aumentar a sua eficiência a pH 3,0 (aumento da concentração de células na espuma). Por fim, os parâmetros da flotação devem ser ensaiados sempre que ocorrerem variações no meio de cultivo (componentes e pH) para que rendimentos bons em termos de grau de flotação e eficiência da flotação sejam obtidos. A utilização da flotação, como processo de separação de células, depende do ajuste das suas variáveis: pH, tipo de aditivo (atuando como surfatante ou outros efeitos) ou componentes do meio e vazão de ar.

Referências bibliográficas:

Walker, G. M. Yeast physiology and biotechnology. John Wiley and Sons, Chicago, 1998.
 DESOUSA, S.R.; LALUCE, C. Biotechnol Lett, v.22, p.753, 2000.

Bolsa: CNPq/PIBIC