

Copyright 2012, ABRACO

Trabalho apresentado durante o INTERCORR 2012, em Salvador/BA no mês de maio de 2012.

As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

Bionanotecnologia Aplicada à Corrosão Microbiológica

Ana Carla Cruz de Albuquerque Barbosa^a, Cynthia de Azevedo Andrade^b, Gina Vazquez Sebastian^c, Renato Rocha Valerio^d, Milton Luiz Barroso Anteiro^e, Vanessa Volaro Caminha Mota dos Santos^f

Abstract

The application of nanotechnology in the biological area leads to a new universe that presents many possibilities for studies with major challenges. The bionanotechnology allows the knowledge and the development of materials and processes from biological structures in nano scale. In microbiological corrosion, Petrobras has been investing in the development of biosensor applied to monitoring or capturing SRB (sulfate-reducing bacteria) in real-time production systems and oil exploration. The function of biosensor depends on the geometry of the nanomaterial. Studies are being conducted to evaluate the potential use of bacteriophages (virus) to control the SRB in fluids. Another study is evaluating coatings with 'biological activity', containing biocide in his composition, in this case, the purpose is to release the biocide, in a controlled way, and can also act on reduction of the adhesion process of biofilm on metallic surface.

Keywords: Bionanotechnology, Biotechnology, SRB, Microbiological Corrosion, Nanotechnology.

Resumo

A aplicação da nanotecnologia na área biológica leva a um universo novo que apresenta muitas possibilidades de estudos com grandes desafios. A bionanotecnologia permite o conhecimento e o desenvolvimento de materiais e processos a partir de estruturas biológicas em escala nano. Na área de corrosão microbiológica, a Petrobras vem investindo no desenvolvimento de biosensores aplicados ao monitoramento e/ou captura de BRS (bactérias redutoras de sulfato) em tempo real, para os sistemas de produção e exploração de óleo. A função do biosensor depende da geometria do nanomaterial. Estudos estão sendo realizados para avaliar o potencial de utilização de bacteriófagos (vírus) para controle de BRS nos fluidos. Outro estudo nesta linha de pesquisa é a avaliação de tintas/ revestimentos com 'atividade biológica', que contém biocida em sua composição, neste caso, o objetivo é liberar o biocida, de forma controlada, podendo atuar também, na redução do processo de adesão do biofilme na superfície metálica.

^{a,b} Mestre, Química – PETROBRAS

^c Mestre, Bióloga – PETROBRAS

^{d,e} Técnico Controle Ambiental - GORCEIX

^f Graduação, Bióloga - GORCEIX

Palavras-chave: Bionanotecnologia, Biotecnologia, BRS, Corrosão Microbiológica, Nanotecnologia.

Introdução

A Bionanotecnologia é uma área de conhecimento interdisciplinar. Entre as áreas de interface pode-se destacar: a química, a biologia, a física e as engenharias. Com o desenvolvimento de técnicas microscópicas, tem sido possível estudar e entender muitos fenômenos em escala nano. Como resultado, muitos bioprocessos tem tido a possibilidade de serem otimizados, pois passou-se a conhecer mais aprofundadamente quais as variáveis que regulam ou influenciam o processo. Quando se visualiza o microrganismo em escala microscópica, ele pode ser considerado um reator (biorreator), onde pressão, temperatura, salinidade, presença de água e nutrientes são condições que favorecem ou não o desempenho deste na produção de um metabólito. O metabólito formado pode ser um produto desejável (biopolímero, biosurfactante, biocombustível, álcool, etc) ou um produto indesejável (CO₂, H₂S, outros ácidos).

Ao observar um microrganismo em escala nano é possível identificar com mais detalhes que as células possuem um conjunto de funcionalidades que poderiam ser comparadas a uma máquina. Em linhas gerais, os ácidos nucleicos transportam informações necessárias e específicas do microrganismo que foi submetido ao processo. Lipídeos são usados para compor a infra-estrutura, polissacarídeos são usados em estruturas específicas, o ATP armazena e converte energia necessária à célula e enzimas são os biocatalisadores naturais que realizam hidrólises, quebras, ligações e transferência de grupos funcionais. Ocorre também, um fluxo de elétrons através das vias metabólicas, através das membranas pode-se observar a passagem de nutrientes e em alguns casos, produtos podem ser excretados. Com este olhar, muitos cientistas estão re-descobrimo uma nova forma de fazer biotecnologia. Atualmente, componentes celulares como: DNA, proteínas e enzimas, podem ser adquiridos comercialmente, para uso em diferentes processos em escala industrial.

Outro grande potencial de aplicação dessas nanomáquinas biológicas seriam os biosensores e os agentes de inibição de bioprocessos indesejáveis, neste sentido, a Petrobras vem investindo, junto a parceiros, no desenvolvimento de nanomateriais e nanoprodutos para aplicação em: detecção, controle e mitigação da corrosão microbiológica em seus sistemas.

Biosensor

Um sensor a base de fibra-óptica está sendo desenvolvido com o objetivo de detectar a presença de BRS (bactéria redutora de sulfato). Anticorpos específicos contra BRS serão fixados à superfície da fibra. A ligação entre a bactéria e o anticorpo formará um complexo que apresentará uma interferência no sinal da luz transmitida pela fibra. A presença da bactéria poderá ser quantificada em função da intensidade do sinal óptico. Os resultados serão comparados aos obtidos por outras técnicas atualmente disponíveis.

Este sensor reduzirá o tempo necessário para a quantificação das BRS, mas deve-se destacar o grande desafio a ser superado, amostras oleosas. Além disso, espera-se que a aplicação do sensor não seja apenas como detector, mas como agente sequestrante de BRS. A

funcionalidade do biosensor está relacionada com a geometria final do nanomaterial. A Figura 1 mostra o esquema de obtenção da fibra customizada.

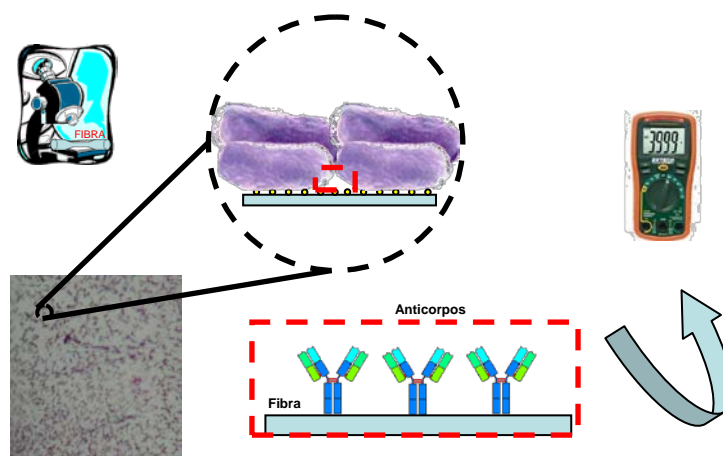


Figura 1 – Etapas de construção do Biosensor.

Bacteriófago

Bacteriófagos ou fagos são vírus que infectam hospedeiros pertencentes aos domínios Archaea e Eubacteria, com natureza geral similar a de outros vírus. Constituídos por ácido nucléico envolto por uma capa protéica (capsídeo), podendo ou não possuir envelope lipoproteico.

A utilização de fagos como agentes antimicrobianos pode ser muito vantajosa pela sua alta especificidade, precisão e potência em comparação ao uso de biocidas. Fagos ainda possuem capacidade de se replicar no sítio de infecção estando, portanto, disponíveis em abundância no local desejado. Possuem a capacidade de infectar bactérias de forma seletiva, a partir de uma interação que requer um receptor específico, permitindo sua entrada e multiplicação.

Os fagos podem ser encontrados em qualquer ambiente, podendo ser isolados do solo, da água, do fundo do oceano, assim como do corpo de animais, pois se propagam em bactérias que são simbióticas ou patogênicas aos organismos mais evoluídos.

Evidências da capacidade de degradar polissacarídeos bacterianos por enzimas polissacarídeo depolimerase (EPD) presentes em bacteriófagos foram registrados a mais de 50 anos. Em cultura líquida, a degradação do material capsular por EPD inicia-se pela interação da depolimerase presente no fago com o material capsular e degradação do polímero até exposição da membrana, onde há a interação com outro receptor e infecção da bactéria, podendo ocorrer a lise celular se o fago estiver em estado lítico. Os bacteriófagos também são capazes, pela ação de depolimerases, de degradar a matriz polissacarídica em biofilmes, infectando as células e causando desestruturação extensa do biofilme. A Figura 2 ilustra bacteriófago e sua ação sobre um filme bacteriano.

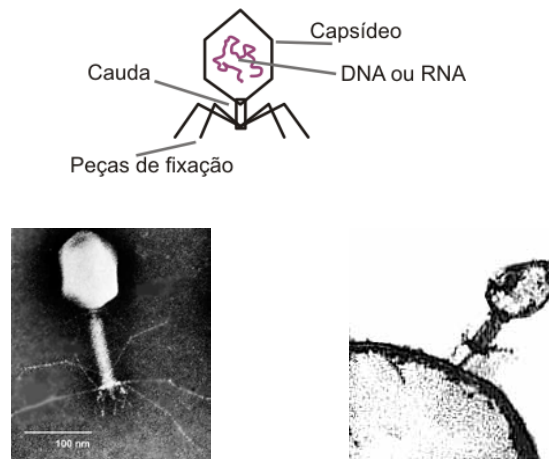


Figura 2 – Bacteriófago e sua ação sobre biofilme.

Superfícies Condicionadas

Um dos grandes problemas biotecnológicos, associados à corrosão microbiológica, na indústria de óleo, é a presença de biofilme nas superfícies metálicas. Fatores como presença de água, tempo de estagnação, temperatura e pressão ambiente favorecem o crescimento de microrganismos e seu depósito em superfície. Bactérias plactônicas podem ser facilmente controladas com a adição de produto químico (biocida), no entanto, bactérias sésseis (aderidas a uma superfície) e seu biofilme são de difícil remoção. Em geral, há necessidade de remoção mecânica, pois os produtos químicos não conseguem penetrar no biofilme formado e dessa forma, inibir o crescimento e metabolismo dos microrganismos presentes. Considerando o processo de formação e desprendimento de biofilme como um mecanismo de “automata celular”, quando o biofilme atinge certo grau de ‘maturação’ ele se desprende e coloniza outro ponto, este fenômeno traz sérias conseqüências, uma vez que gera no sistema um inóculo de microrganismo. Entender este processo de formação de biofilme, através de estudo de *quorum sensing*, é extremamente importante e necessário. A Petrobras está iniciando suas pesquisas nesta área investigando quais são os possíveis sinalizadores envolvidos neste processo e quais moléculas poderiam inibir esta comunicação. Em contrapartida, existe a possibilidade de atuar na superfície metálica, ou seja, funcionalizar a superfície de modo a impedir ou reduzir a adesão indesejável.

Revestimentos contendo biocidas em sua composição têm sido testados para avaliar a liberação lenta desses agentes anti-microbianos.

Outra hipótese é trabalhar com revestimentos hidrofóbicos, que apresentam incompatibilidade e impedem a adesão das bactérias na superfície do metal. A Figura 3 apresenta o processo de adesão de um biofilme e a Figura 4 mostra o mesmo processo sofrendo interferência de uma superfície condicionada (não ocorre a adesão na superfície metálica).

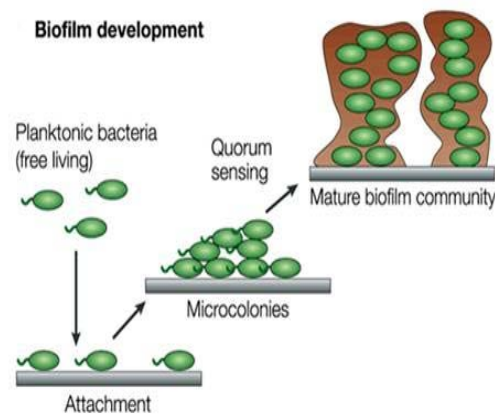


Figura 3 – Formação de Biofilme.

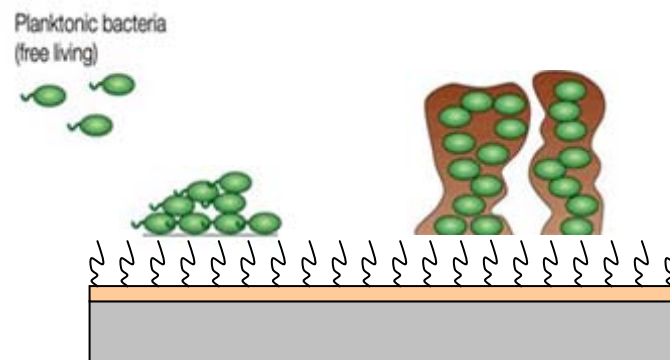


Figura 4 – Formação de Biofilme prejudicada pelo tratamento da superfície metálica.

Conclusões

A Bionanotecnologia reúne disciplinas diferentes que se complementam visando alcançar um determinado objetivo, com aplicação direta em algum processo, inclusive em escala industrial. Inúmeras são as áreas e possibilidades de utilização da nanotecnologia na área biológica. A Petrobras vem investindo no desenvolvimento de biosensor para BRS, uso de bacteriófagos líticos para controle e mitigação da corrosão microbológica e avaliação de revestimentos a base de 'tintas inteligentes', capazes de impedir ou reduzir a adesão de bactérias evitando dessa forma, o futuro desenvolvimento de biofilmes nas superfícies metálicas.

Referências bibliográficas

- (1) ACKERMANN, H. W. **Frequency of morphological phage descriptions.** Arch Virol. v.124, p.201-9. 1992.
- (2) ACKERMANN, H. W. **Bacteriophage observations and evolution.** Research in Microbiology. v.154, n.4, p.245-51. 2003.

-
- (3) ADAMS, M. H.; PARK, B. H. **An enzyme produced by a phage-host cell system. The properties of the polysaccharide depolymerase.** *Virology*. v.2, p.710-36. 1956.
- (4) BEECH, I. B. **Sulfate-reducing bacteria in biofilms on metallic materials and corrosion.** *Microbiology Today*. v.20, p.115-7. 2003.
- (5) CASJENS, S. R. **Comparative genomics and evolution of the tailed-bacteriophages.** *Curr Opin Microbiol*. v.8 (4): p.451-8. 2005.
- (6) CHARACKLIS, W. G. **Fouling biofilm: a process analysis.** *Biotechnol Bioeng*. v.23, p.1923-60. 1981.
- (7) COSTERTON, J. W.; CHENG, K. J.; GESSEY, G. G.; LADD, T. I.; NICKEL, J. C.; DASGUPTA, M.; MARRIE, T. J. **Bacterial biofilms in nature and disease.** *Annual Reviews in Microbiology*. v.41, p.435-64. 1987.
- (8) COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.; KORBER, D.; LAPPIN-SCOTT, H. M. **Microbial biofilms.** *Annual Reviews in Microbiology*. v.49, p.711-45. 1995.
- (9) FERREIRA; A. P., RIBEIRO; R. M., WERNECK; M. M. **Method and device for the detection of microorganisms by fiber optics.** United States Patent 6718077. Filing Date: July 31, 2000. Publication Date: April 6, 2004.
- (10) FERRIS, F. G.; SCHUHZE, S.; WITTEN, T. C.; FYFE, W. S.; BEVERIDGE, T. J. **Metal interactions with microbial biofilms in acidic and neutral pH environments.** *Applied and Environmental Microbiology*. v.55, p.1249-57. 1989.
- (11) GOODSSELL, D.S. **Bionanotechnology Lessons from Nature.** New Jersey: Wiley-Liss, 2004.
- (12) GÓRSKI, A.; WEBER-DABROWSKA, B. **The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens.** *Cell Mol Life Sci*. v.62, p.511-9. 2005.
- (13) HUGHES, K. A.; SUTHERLAND, I. W.; JONES, M. V. **Biofilms susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase.** *Microbiology*. v.144, p.3039-47. 1998.
- (14) LU, T. K.; COLLINS, J. J. **Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage.** *PNAS*. v.104, p.11197-202. 2007.
- (15) MERRIL, C. R. **Bacteriophage interactions with higher organisms.** *Transaction of the New York Academy of Sciences*. v.36, p.265-72. 1974.
- (16) **Método e dispositivo para detecção de microorganismos a fibra óptica,** patente depositada no INPI em 21 de julho de 2000, número PI0003066-0.
- (17) OLIVEIRA, J, SILVA, A. V., WERNECK, M. M. AND MIGUEL, M.. **Protein attachment to plastic optical fiber - preliminary studies for the development of a POF-**

based biosensor. Proceedings of the WorkPOF 2006, International Workshop on Polymer Optical Fibres and 2nd International Workshop on Micro-Structured Polymer Optical Fibres, pp 221-224, ISBN 85-285-0105-1, Rio de Janeiro and Campinas, Brasil, 25th to 28th April, 2006.

(18) PARISIEN, A.; ALLAIN, B.; ZHANG, J.; MANDEVILLE, R.; LAN, C; Q. **Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides.** J Appl Microbiol. v.104 (1): p.1-13. 2008.

(19) POSTGATE, J. R. **The sulphate reducing bacteria.** Cambridge university press, Cambridge. p.31-32. 1984.

(20) VIDELA, H. A. **Manual of biocorrosion.** CRC Press, Boca Raton, FL. p.273. 1996.

(21) WERNECK, M.M, GERMANO, S.B., RIBEIRO, R.M., MACIEL, F.L., PORCIÚNCULA, P., ALMEIDA, A., MARTINS, L. **Plastic Optical Fibre Technology for High Voltage Current Measurements.** 11th International POF Conference 2002, Hotel New Otani, Tokyo, Japan, September 18-20, 2002.

(22) WERNECK, M.M., RIBEIRO, R.M., CANEDO, J. **Spectrally Resolved Surface Plasmon Resonance Sensing on Plastic Optical Fibre.** 11th International POF Conference 2002, Hotel New Otani, Tokyo, Japan, September 18-20, 2002.

(23) WERNECK, M.M, MACIEL, F.L., CARVALHO, C.C., RIBEIRO, R.M. **Development and field tests of a 13.8 kV leakage current LED/POF based sensor.** Proceedings of the 12th International POF Conference 2003, pp 54-57, University of Washington, Seattle, EUA, September 14-17, 2003.

(24) WERNECK, M.M. **Preliminary studies for the development of a POF-based Biosensor to detect E. Coli.** Proceedings of the 15th International Conference on Polymer Optical Fibre - ICPOF2006, "The Joint International Conference on Plastic Optical Fiber & Microoptics 2006", held in the Grand Hilton Seoul, Seoul, South Korea, 11th to 14th September, 2006.