

BIOSSORÇÃO DE HG (II) UTILIZANDO BIOMASSA RHODOCOCCUS OPACUS

J.S. Abbud , A.G. Merma , M.L. Torem e Z.C. Castilhos.

Departamento de Engenharia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

A contaminação dos efluentes líquidos com metais pesados é uma ameaça ambiental, os íons metálicos tóxicos encontram-se dissolvidos, atingindo eventualmente o topo da cadeia alimentar e assim, tornando-se um fator de risco para a saúde humana e ambiente. Diversos métodos de tratamento de efluentes como precipitação química, coagulação, floculação, flotação, troca iônica e filtração são empregados para remoção dos metais pesados. Entretanto, estes possuem algumas desvantagens quando empregados para tratamento de grandes volumes de efluentes líquidos com baixas concentrações de metais. Neste trabalho foi avaliada a cepa bacteriana *Rhodococcus opacus* como um potencial biossorvente para a remoção de mercúrio de soluções aquosas através de biossorção. O valor de pH adequado para a biossorção foi em torno de 5 para o metal. Os dados correspondentes à capacidade de captação do *Rhodococcus opacus* em função da concentração do mercúrio foi bem ajustada ao modelo de Freundlich. A capacidade de captação máxima obtida foi de 37,9 mg.g⁻¹ para o mercúrio, equivalente a uma remoção de 73,42 %. A cinética de biossorção para o mercúrio foi modelada pela equação de pseudo-segunda ordem. Foram avaliadas também as propriedades superficiais dos microorganismos antes e após a interação dos metais para poder determinar os possíveis mecanismos implicados na biossorção mediante medições de espectroscopia de infravermelho. Os resultados apresentados mostram que o *Rhodococcus opacus* apresenta características adequadas no que tange a flotação biossortiva para remoção de metais.

PALAVRAS-CHAVE: Biossorção; Biossorvente; Metais Pesados; Mercúrio; Bioacumulação.

1. INTRODUÇÃO

O grande desenvolvimento industrial é um dos principais responsáveis pela contaminação dos resíduos hídricos brasileiros, seja pela negligência no tratamento de seus rejeitos antes de despejá-los nos rios, seja por acidentes e descuidos cada vez mais frequentes que propiciam o lançamento de muitos poluentes nos ambientes aquáticos, contribuindo para que as águas naturais se tornem residuárias (efluentes). O setor industrial constitui-se, assim, como uma das principais e mais diversificadas fontes de introdução de metais pesados no ambiente aquático (Jordão et al., 1999).

Mercúrio (Hg) é um metal extremamente tóxico. É acumulado no ecossistema através da cadeia alimentar e pode ser regenerado por várias fontes, resultando em contaminação dos sistemas atmosféricos e aquosos, o mercúrio é ainda muito utilizado em fabricação de termômetros, lâmpadas, barômetros, medicamentos e corantes. (Arica et al., 2004; Genc et al., 2002; Morel et al., 1998).

As principais fontes de emissões de mercúrio à terra, a água e o ar são os processos de mineração, fundição e queima de combustíveis fósseis, (Haidouti, 1997).

Os tratamentos mais utilizados para tratar efluentes contendo esse poluente são precipitação química, adsorção e troca iônica. O maior problema desses tratamentos é não conseguir tratar efluentes com concentrações muitas baixas, ter um alto custo no caso da troca iônica com aquisição de resinas. Com isso as pesquisas estão sendo direcionadas em busca de tecnologias que consigam tratar efluentes desse tipo, uma dessas tecnologias são os tratamentos biosortivos, o qual usa uma biomassa capaz de reter o metal para obter concentrações permitidas pelos órgãos de controle.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Biomassa

A biomassa utilizada neste trabalho foi a bactéria *Rhodococcus opacus*, que é uma espécie microbiana de natureza não patogênica pertencente ao gênero *Rhodococcus*. É gram positiva, aeróbica, unicelular e filamentosa podendo ser isolada de solos e das usinas de tratamento de águas (Ivshina et al., 1994; Stratton et al., 2002). Os critérios determinantes para sua escolha foram a hidrofobicidade, ausência de patogênicidade, a fácil aquisição em coleção de culturas nacionais, facilidade na manipulação, propagação e manutenção das células.

Para realizar os crescimentos e obter as células concentradas de *Rhodococcus opacus*, a bactéria foi cultivada num meio líquido. O meio de cultura foi ajustado a um pH 7,2 e posteriormente esterilizado numa autoclave a 1atm de pressão, por um lapso de 20 minutos. A suspensão foi levada a um agitador tipo rotatório CIENTEC CT-712 a uma temperatura de 27°C por 48 horas. Após o crescimento, a suspensão celular foi centrifugada a uma velocidade de 4000 rpm por 8 minutos, o precipitado da centrifugação, constituído pelas células do *Rhodococcus opacus*, foi lavado três vezes com água deionizada, e re-suspenso numa solução de 1mM de NaCl, posteriormente a suspensão será colocada na autoclave a 1atm de pressão por um lapso de 20 minutos, obtendo-se o biossorbente inativo de metabolismo para realizar os ensaios.

As soluções foram preparadas com água deionizada a partir dos sais de Mercúrio e Manganês. As soluções teste serão preparadas a partir de soluções estoque de 1000 mg.L⁻¹ adicionando os volumes

necessários da solução estoque para a obtenção das concentrações iniciais desejadas. O pH foi ajustado para os valores desejados com HCl 0.1M e NaOH 0.1 M.

2.2. Estudos Cinéticos

Os ensaios de cinética de biossorção foram realizados para avaliar os mecanismos de adsorção como o processo controlador da taxa, seja como de massa e processos de reação química. Mais do que isso, informação da cinética de captação do metal é precisa para escolher as condições ótimas de um processo de remoção. O estudo cinético do mercúrio foi realizado por retirar amostras de uma solução a uma concentração fixa do íon metálico e do biossorbente a diferentes intervalos de tempo.

2.3. Isotermas de Adsorção

O estudo de equilíbrio é importante visto que estabelece dados importantes para desenvolver equações de projeto (Ramírez, 2005). Mediante a construção das isotermas de captação é possível observar a relação existente entre a quantidade de sorvato presente na superfície da biomassa e a quantidade de sorvato em equilíbrio com a solução.

Os modelos empregados para a análise do equilíbrio foram os de Langmuir, Freundlich, Tempkin. Estes modelos estabelecem que as uniões dos íons na superfície podem acontecer primeiramente por forças físicas, eletrostáticas ou forças de London-van der Waals (Davis et al., 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. POTENCIAL ZETA

Com o objetivo de avaliar uma possível variação nas propriedades eletrocinéticas das células de *Rhodococcus opacus*, decorrente da presença de mercúrio em diferentes valores de pH, e assim determinar se a mudança na carga superficial das células está relacionada à biossorção destes íons, visto que estes podem indicar a interação entre as espécies metálicas e os sítios ativos na parede celular do microorganismo.

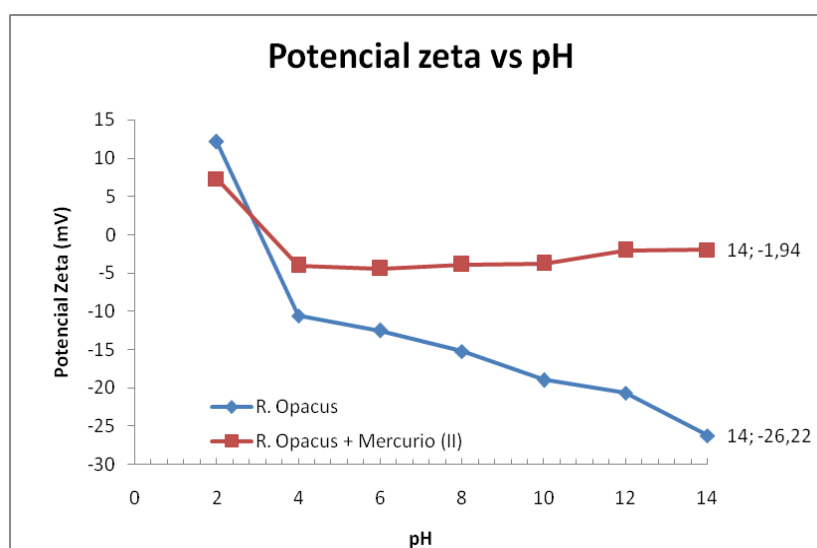


Figura 1. Potencial Zeta do *Rhodococcus opacus* após interação com o mercúrio numa concentração de 10 mg.L^{-1} ; concentração de eletrólito indiferente de 10^{-3} M de NaCl.

A Figura 1 acima mostra as curvas de potencial zeta em função do pH para o *Rhodococcus opacus* antes e após a biossorção de mercúrio para a faixa de pH entre 2,0 a 14. Estes resultados mostram que o ponto isoelétrico (PIE) do *Rhodococcus opacus* é ao redor pH 3,0. Por outro lado, pode-se observar que a biossorção de mercúrio modificou o perfil das curvas de potencial zeta, indicando que os íons metálicos foram sorvidos nos sítios ativos na superfície do *Rhodococcus opacus*.

3.2. Efeito do pH

O valor do pH da solução é um dos fatores que mais afeta a sorção de metais pesados. Segundo Kuyucak e Volesky (1988) a sorção aumenta com o aumento do valor de pH, devido ao aumento da densidade de carga negativa na solução, gerando sítios ativos para interação com o metal pesado. A exceção é feita para íons metálicos presentes como espécies aniônicas, onde a biossorção é favorecida pelo decréscimo do valor do pH.

Além de mudar o estado dos sítios ativos da ligação metálica, valores extremos de pH, como os usados na biossorção de mercúrio podem danificar também a estrutura do material do biossorvente. O pH afeta também a especificidade do íon metálico na solução, uma vez que ocorre um decréscimo de solubilidade dos complexos metálicos com o aumento do pH. Isto pode impor limitações na faixa de pH viável para o estudo da biossorção. Como a adsorção não depende somente da atração do sorbato pela superfície do sólido. Para a maioria dos metais isto significa que a adsorção aumenta com o aumento do pH.

Por outro lado, valores muito altos do pH, que causam precipitação dos complexos metálicos, devem ser evitados durante os experimentos de sorção, pois a distinção entre sorção e precipitação na remoção metálica seria difícil.

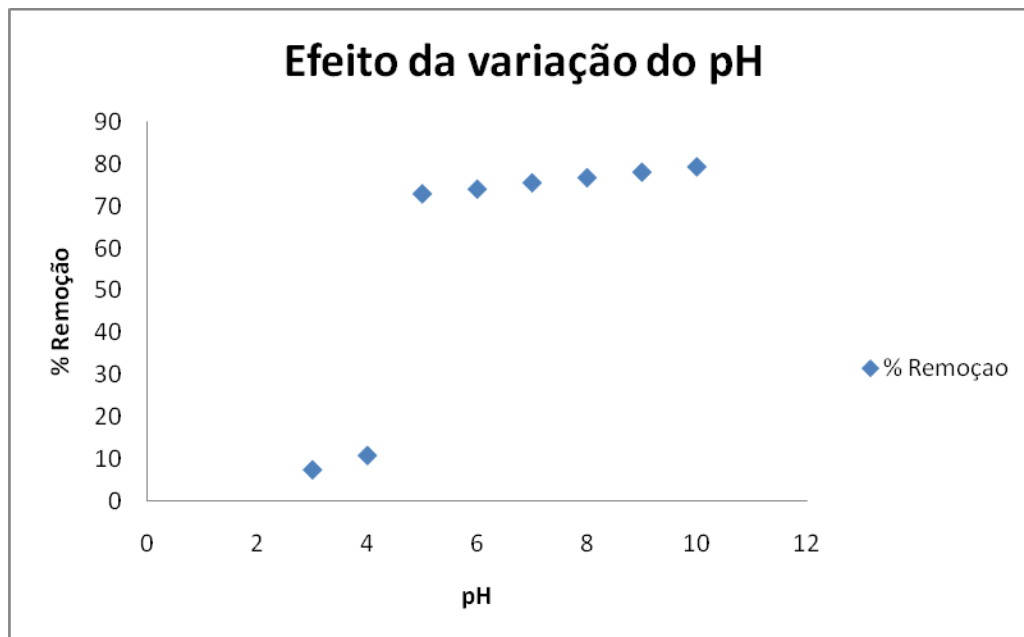


Figura 2. Efeito da variação do pH na biossorção de Hg. (Tempo de contato de 180 minutos; Concentração da biomassa 3 g L^{-1} ; Concentração inicial do íon metálico de 50 ppm; temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; velocidade de agitação: 150 rpm).

Observa-se que na medida em que se aumenta o valor do pH a remoção do mercúrio cresce até atingir 79,2 % para um valor de pH igual a 10. Para valores de pH ácidos, entre 3 e 4, observou-se percentagens de remoção do metal foi de 6,2 % para pH 3 e 11,2 % para pH 4.

3.3. Efeito da Biomassa

O efeito da concentração de biossorvente na taxa inicial de captação do íon metálico é mostrada na Figura 3 abaixo. A concentração bacteriana foi variada em 0,5; 1; 2; 3; 4; g.L^{-1} com o intuito de determinar o efeito da concentração do microorganismo na taxa inicial de sorção.

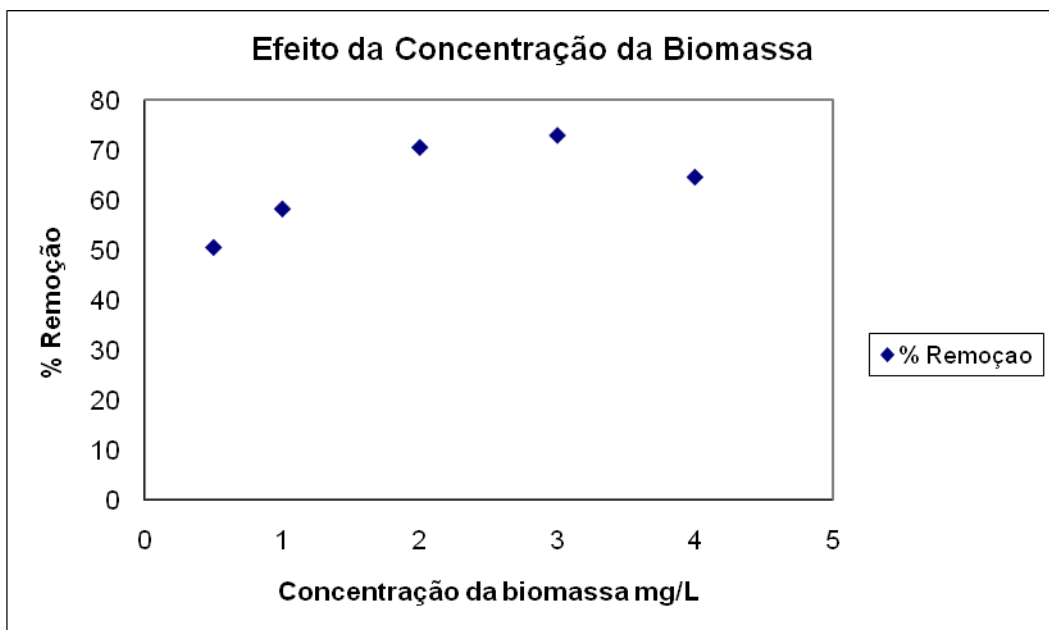


Figura 3. Efeito da Concentração de Biomassa na biossorção de Hg. (Tempo de contato de 180 minutos; pH:5,0; Concentração inicial do íon metálico de 50 ppm; temperatura de 25 °C; velocidade de agitação: 150 rpm).

Foi observado que o efeito da concentração de biomassa na biossorção de Hg que conforme aumentava a quantidade da biomassa, a remoção foi aumentada. Com a concentração de biomassa de 3g.L^{-1} foi atingida a maior percentagem de remoção para o mercúrio, esta observação pode ser atribuída ao incremento da área superficial de adsorção e a disponibilidade de sítios livres de adsorção. Por outro lado para maiores concentrações de biomassa a remoção é diminuída como podemos ver na figura acima, isto pode ser explicado pela formação de agregados durante a biossorção, o qual é produzido para altas concentrações de biomassa causando uma diminuição da área efetiva de adsorção.

3.4. Influência do Tempo de Contato

Os testes de adsorção foram desenvolvidos baseados nos testes em equilíbrio. Biomassa na concentração de 3g.L^{-1} foi colocada em contato em uma solução carregada com íon metálico de mercúrio na concentração de 50 ppm. A biomassa foi mantida em contato com a solução metálica por diferentes períodos de tempo (5, 10, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos) incluindo tempo zero.

Os resultados mostram uma rápida remoção para o mercúrio já nos primeiros 5 minutos, onde consideramos uma boa taxa de remoção para tão pouco tempo de contato. A máxima remoção dos íons foi atingida em 240 minutos de contato com uma taxa de 73,6 % que foram captados pela biomassa e após este tempo o processo de biossorção atingiu o seu equilíbrio, não apresentando variação significativa da quantidade de íons metálicos adsorvidos com o incremento do tempo de contato.

Dos resultados obtidos foi escolhido como o tempo de contato ideal o de 180 minutos para a sorção das espécies, pois não obtemos uma variável notável no aumento da sorção em função de 240 minutos.

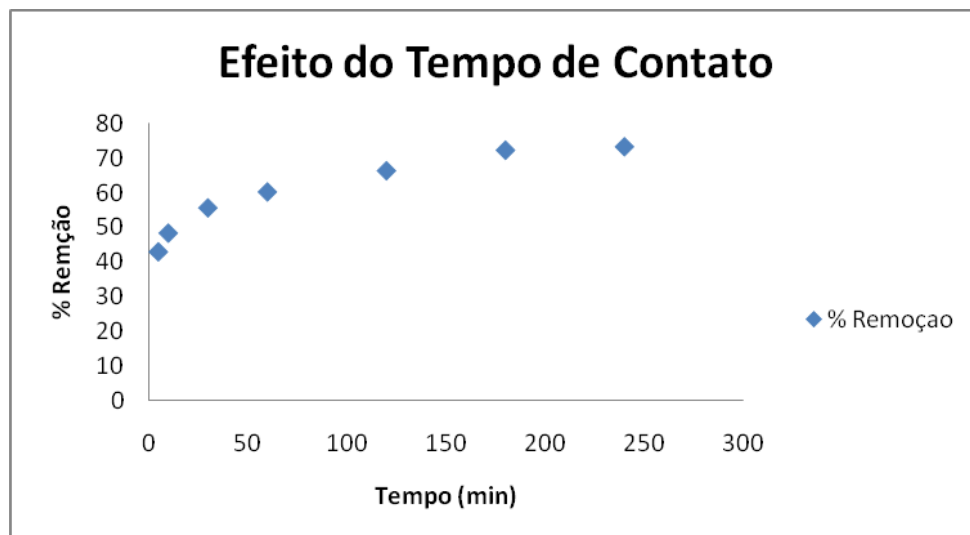


Figura 4. Efeito do tempo de contato na biossorção do íon Hg por *Rhodococcus opacus*. (concentração de biomassa: 3g.L^{-1} ; pH:5,0; Concentração inicial do íon metálico de 50 ppm; temperatura de 25 °C; velocidade de agitação: 150 rpm).

3.5. Estudos Cinéticos

O modelo de pseudo-segunda ordem foi avaliado para o processo de biossorção utilizando a Equação abaixo, os termos t/qt e q são relacionados num gráfico, e são apresentados na figura 5 abaixo.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q^2} + \frac{1}{q} t \quad (1)$$

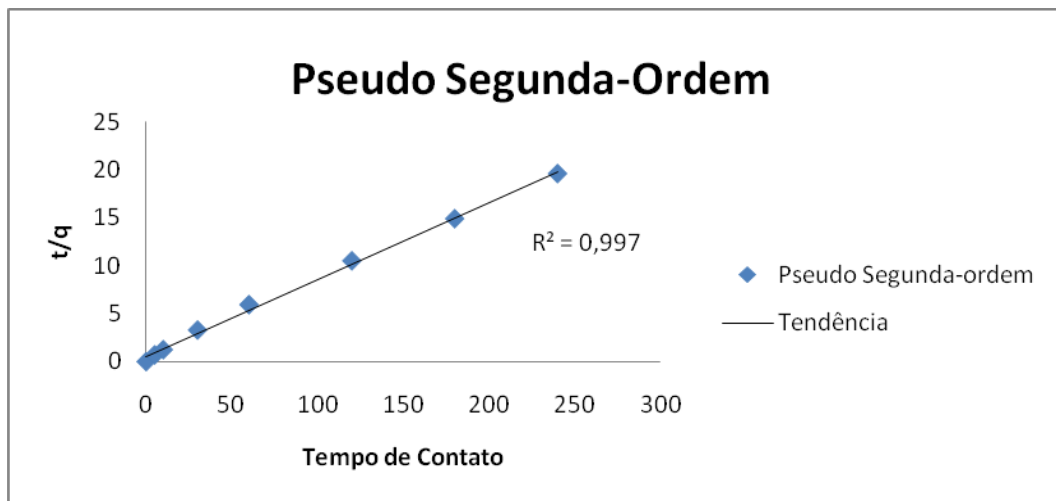


Figura 5. Representação gráfica do modelo de pseudo-segunda ordem para o processo de biossorção de Hg empregando a biomassa *Rhodococcus opacus*.

Como pode ser observado na figura acima, o modelo de pseudo-segunda ordem testado fornece uma descrição apropriada dos dados experimentais através do tempo, já que o coeficiente de correlação que representa o quanto os dados experimentais se ajustam ao modelo, apresenta um valor de $R^2=0,997$.

Os coeficientes de correlação linear obtidos para o modelo de pseudo- primeira ordem foi menor em comparação com o obtido pelo modelo de pseudo- segunda ordem, e o valor teórico encontrado de q pelo modelo de pseudo- primeira ordem não apresenta correlação com o valor de q obtido experimentalmente, portanto, o processo de biossorção não corresponde ao modelo de pseudo-primeira ordem.

Com o modelo de pseudo-segunda ordem, o coeficiente de correlação obtido com o ajuste linear ($R^2= 0,997$) foi maior que o obtido pelo modelo de pseudo-primeira ordem

Na tabela 1 apresentam-se os valores obtidos dos parâmetros do modelo cinético de pseudo-primeira ordem linearizado.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-segunda ordem linearizado.

Sistema	q_e (mg.g ⁻¹)	K_2 (g.mg ⁻¹ .min ⁻¹)	R^2
Mercúrio	12,1	0,7521	0,997

Os gráficos refletem a congruência entre os dados experimentais e o modelo de pseudo-segunda ordem, este modelo também é baseado na capacidade do sólido, ao contrário do outro modelo, este não precisa extrapolar os dados para obter a capacidade de adsorção no equilíbrio, pois o modelo de pseudo-segunda ordem o prediz.

3.6. Isotermas de Adsorção

A isoterma de Temkin assume que a queda no calor de adsorção é linear e não logarítima como implicado na isoterma de Freundlich. A figura 6 abaixo apresenta a aplicação da isoterma de Temkin aos dados experimentais de mercúrio.

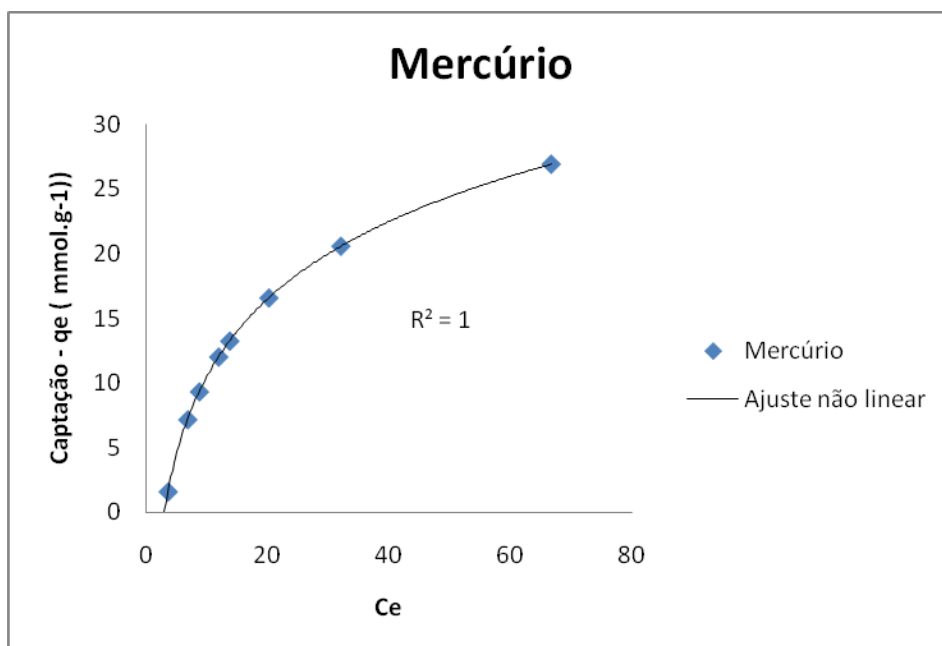


Figura 6. Isoterma não linearizada de Tempkin para o mercúrio.

A equação 2 abaixo expressa a isoterma de Temkin na forma linearizada, o ploteo dos dados experimentais apresentado na figura abaixo.

$$q_e = B \ln A + B \ln C_e \quad (2)$$

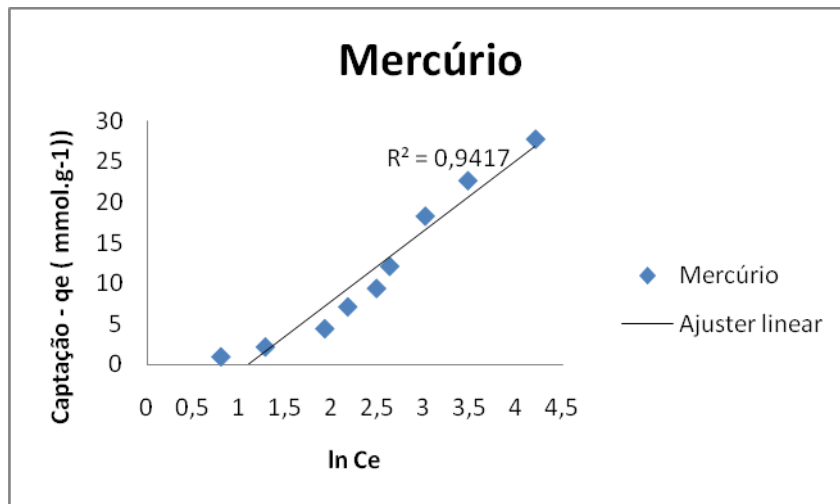


Figura 7. Isoterma de temkin para mercúrio na forma linearizada

Tabela 2. Contantes de mercúrio a 25° C

Constantes de Adsorção			
Temkin	B	A (L.mol ⁻¹)	R ²
Linear	286.9	0.3378	0.941
Não Linear	286.9	0.3378	1
Langmuir	q _{max} (mg.g ⁻¹)	b (L.mg ⁻¹)	R ²
Linear	10.52	0.042	0.895
Não Linear	0.526	0.090	0.968
Freundlich	K _F (L.g ⁻¹)	n	R ²
Linear	0.42	0.81	0.980
Não Linear	0.0008	0.11	0.939

Segundo a literatura (Lee et al, 1999; Lee et al, 2007; Ozdemir et al, 2004) a biossorção de mercúrio em algumas biomassas, o modelo que melhor descreve a biossorção será o modelo de Freundlich; no entanto os dados experimentais do mercúrio ajustam-se a este modelo. Isso nos sugere que na biossorção teremos a presença de interações adsorvato - adsorvato.

CONCLUSÕES

Este estudo avaliou a remoção a partir de soluções aquosas da espécie metálica mercúrio (Hg), usando o microorganismo *Rhodococcus opacus* como biossorvente. Este metal foi selecionado por seu grau de periculosidade à saúde humana, ao ambiente e por ser descartado em alguns efluentes industriais. Diante dos resultados obtidos, apresentados e discutidos no presente trabalho. A capacidade de captação de mercúrio pelo microorganismo *Rhodococcus opacus* é dependente do pH do meio, obtendo-se maior eficiência em pH 5,0 e concentrações iniciais dos metais de 50 mg.L⁻¹. Segundo os estudos eletrocinéticos, o PIE do *Rhodococcus opacus* se encontra a um pH 3,0 acima deste pH é favorecida a biossorção, já que o potencial zeta é mais negativo facilitando a interação com os cátions metálicos. A cinética de biossorção permitiu concluir que o processo de

bioSORÇÃO para o mercúrio é rápido; e a partir dos primeiros 60 minutos se obtém quase a totalidade da sorção dos íons pelo bioSORVENTE. O modelo cinético de pseudo-segunda ordem foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais para o mercúrio, apresentando uma constante cinética de $0,7521 \text{ (g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1})$, para uma concentração inicial de 50 mg.L^{-1} para todas as espécies. Considerando a faixa de concentração inicial dos metais, estudada, os dados experimentais do mercúrio foram melhor ajustados ao modelo de Temkin com o coeficiente de regressão $R^2 = 1$. Com suas respectivas constantes $b = 286,9$ e $A = 0,3378$. Os resultados aqui apresentados mostram o grande potencial do bioSORVENTE bacteriano *Rhodococcus opacus* a bioSORÇÃO para remoção de metais pesados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ana Elisa C. Botero, Maurício Leonardo Torem, Luciana Maria S. de Mesquita *Surface chemistry fundamentals of biosorption of Rhodococcus opacus and its effect in calcite and magnesit flotation* Minerals Engineering, Volume 21, Issue 1, January 2008, Pages83-92.

A.M Raichur, S.P Vijayalakshmi *The effect of nature of raw coal on the adhesion of bacteria to coal surface* Fuel, Volume 82, Issue 2, January 2003, Pages 225-231.

Arica M Y, Bayramoglu G, Yilmaz M, Genc O, Bektas S, 2004. *Biosorption of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Zn^{2+} by Ca-alginate and immobilized wood-rotting fungus *Funalia trogii*.* J Hazard Mater, 109: 197–199.

Bruno Abreu Calfa, Maurício Leonardo Torem *On the fundamentals of Cr(III) removal from liquid streams by a bacterial strain* Minerals Engineering, Volume 21, Issue 1, January 2008, Pages 48-54

B.Y.M. Bueno, M.L. Torem, F. Molina, L.M.S. de Mesquita *Biosorption of lead(II), chromium(III) and copper(II) by R. opacus: Equilibrium and kinetic studies* Minerals Engineering, Volume 21, Issue 1, January2008,Pages65-75.

Carlos E. Rochitte, Paulo F. Oliveira, Joalbo M. Andrade, Bárbara M. Ianni, José R. Parga, Luiz F. Ávila, Roberto Kalil-Filho, Charles Mady, José C. Meneghetti, João A.C. Lima, José A.F. Ramires. *Myocardial Delayed Enhancement by Magnetic Resonance Imaging in Patients With Chagas' Disease: A Marker of Disease Severity* Journal of the American College of Cardiology, Volume 46, Issue 8, 18 October 2005, Pages 1553-1558

D. Belhocine, H. Grib, D. Abdessmed, Y. Comeau, N. Mameri. *Optimization of plasma proteins concentration by ultrafiltration*, Journal of Membrane Science, Volume 142, Issue 2, 13 May 1998, Pages159-171

Genc O, Arpa C, Bayramoglu G, Arica M Y, Bektas S, 2002. *Selective recovery of mercury by Procion BrownMX 5BR immobilized poly (hydroxyethylmethacrylate/chitosan) composite membranes.* Hydrometallurgy, 67: 53–62.

Javier Enrique Basurco Cayllahua, Maurício Leonardo Torem *Biosorption of aluminum ions onto Rhodococcus opacus from wastewaters* Chemical Engineering Journal, Volume 161, Issues 1-2, 1 July 2010,Pages1-8.

Jordão, c. p.; Silva, a c. da; Pereira j. l.; Brune, w. *Contaminação por cromo de águas de rios proveniente de curtumes em Minas Gerais.*

Jonathan Febrianto, Aline Natasia Kosasih, Jaka Sunarso, Yi-Hsu Ju, Nani Indraswati, Suryadi Ismadji. *Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies* Journal of Hazardous Materials, Volume 162, Issues 2-3, 15 March 2009, Pages 616-645

Lee H.S., Volesky B. *Characteristics of aluminum biosorption by sargassum fluitans biomass.* Journal of Marine Biotechnology 1 (1999) 308-383.

Lee H.S., Suh J.H., Kim I.B., Yoon T. *Effect of aluminum in two-metal biosorption by an algal biosorbent.* Journal of Minerals engineering 17 (2007) 487-493.

Loukidou, M.; et al. *Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by Aeromonas caviae,* Colloids and Surfaces A, v.242, p. 93-104, 2004.

Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M., e Amyot, M. “*The chemical cycle and bioaccumulation of mercury*”, Annu. Rev. Ecol. Sci., v. 29, p. 543-566, 1998.

Ozdemir G., Baysal S.H. *Chromium and aluminum biosorption on Chryseomonas luteola TEM05.* Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 64 (2004) 599-603.

Turgut Baştuğ, Serdar Kuyucak. *Role of the Dielectric Constants of Membrane Proteins and Channel Water in Ion Permeation* Biophysical Journal, Volume 84, Issue 5, May 2003, Pages 2871-2882

Volesky, B. *Advances in biosorption of metals: selection of biomass types.* FEMS MICROBIOLOGY Reviews, v.14, p.291-302, 1994. VOLESKY, B. (1986), Biotechnology and Bioengineering Symp.16, 121.

Volesky, B. *Sorption and biosorption,* BV-Sorbex, Inc., St.Lambert, Quebec, 326 p, 2004.