

Fixação Simultânea de Metais Pesados e Compostos Orgânicos em Matriz Biológica

T.Tavares*, C.Quintelas

Centro de Engenharia Biológica- IBQF, Universidade do Minho, 4710-057 Braga, Portugal

(Fax:+351253678986; E-mail:ttavares @deb.uminho.pt)

*Autor para correspondência

Palavras-Chave: *Arthrobacter viscosus*, biofilme, bioissorção, carvão activado, metais pesados, compostos orgânicos

Sumário

Foi utilizado um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em carvão activado granular (GAC) para remover metais pesados e compostos orgânicos presentes em soluções líquidas diluídas. Nos ensaios com metais pesados e na ausência de compostos orgânicos foram utilizados dois diferentes suportes: um tratado com HNO₃ e outro com H₂O₂. Os ensaios realizados com soluções mistas tiveram como suporte do biofilme, o carvão activado sem qualquer tipo de tratamento. A gama de concentrações estudadas, para as soluções de um só metal, variou de 4-77 mg/l para o crómio, 5-95 mg/l para o cádmio, 8-165 mg/l para o chumbo e 2.5-42 mg/l para o ferro. Em relação às soluções mistas, foram utilizadas concentrações iniciais de crómio entre 10-200 mg/l para uma concentração de composto orgânico de 60 mg/l. De uma forma global conseguiram-se melhores resultados com os metais crómio, chumbo e ferro, tendo-se concluído que o cádmio exerce um efeito tóxico sobre as bactérias. Em relação às soluções mistas, fixou-se a atenção na remoção de crómio e verificou-se que esta é ligeiramente afectada pela presença do composto orgânico (ortocresol>fenol>clorofenol). O estudo comparativo entre os três compostos orgânicos indica que a sua remoção não é sensível a concentrações crescentes do metal no caso do fenol e do clorofenol, ao contrário da remoção de ortocresol que é evidentemente afectada pela presença do Cr em concentrações crescentes.

Introdução

Actualmente, um dos maiores problemas ambientais consiste nos resíduos decorrentes do desenvolvimento tecnológico. Os efluentes industriais são, neste contexto, um problema particular pois a Natureza não os absorve facilmente. A contaminação por metais pesados e compostos orgânicos de ecossistemas aquáticos ou terrestres assume grande importância. Assim, cresce a preocupação com estes elementos e as pesquisas no tratamento de efluentes são, cada vez mais, incentivadas (Falabella *et al.*, 1998).

Novos desenvolvimentos na área da biotecnologia ambiental apontam para a utilização de microrganismos no controlo da poluição causada por metais pesados. Estudos desenvolvidos por Muraleedharan *et al.* (1991) permitem afirmar que estes processos poderão substituir os convencionais processos de tratamento. Este conceito é reforçado por estudos efectuados por Wilde *et al.* (1993), que concluem que a utilização de um sistema biológico na remoção de metais tem um grande potencial para alcançar bons desempenhos a baixo custo, isto porque alguns microrganismos têm a capacidade de concentrar iões metálicos. A retenção dos mesmos faz-se por ligações à parede das células ou por complexação química entre aqueles e enzimas extracelulares excretadas pelas células (Levine e Pradhan, 1992).

A biossorção é considerada um termo colectivo para designar um conjunto de processos de acumulação passiva de metais, o qual pode incluir troca iónica, complexação, adsorção e microprecipitação (Duncan *et al.*, 1994). O uso de bactérias como biossorvente apresenta inúmeras vantagens das quais se destaca o seu pequeno tamanho, a capacidade de crescimento em condições controladas e a resistência a uma gama alargada de condições ambientais (Urrutia, 1997).

As propriedades físicas e químicas do carvão activado fazem dele um poderoso adsorvente. A sua utilização no tratamento de águas residuais tem sido estudada por diversos grupos de investigação, pois é conhecida a sua capacidade de adsorver os compostos orgânicos vulgarmente associados aos metais pesados presente nos efluentes industriais. Stenzel e Merz (1989) afirmam que o tratamento com carvão activado granular é uma das técnicas mais promissoras na redução de contaminantes orgânicos das águas residuais, pois consegue remover uma grande quantidade de substâncias orgânicas a baixas concentrações. Bactérias da espécie *Arthrobacter* foram utilizadas no estudo da biodegradação de uma mistura de poluentes tóxicos (fenol) e não-tóxicos (glucose), tendo obtido resultados significativos (Baradarajau *et al.*, 1996). A utilização de um sistema de biossorção constituído por um biofilme suportado em carvão activado combina a capacidade do biofilme para remover metais pesados com a capacidade do carvão activado para remover compostos orgânicos (Scott e Karanjkar, 1995).

O objectivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um sistema de biossorção composto por um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em carvão activado granular capaz de remover metais pesados (crómio, cádmio, chumbo e ferro) e soluções conjuntas de metal (crómio) com compostos orgânicos (fenol, ortocresol e clorofenol). Nos ensaios com as soluções metálicas foi testado o efeito da alteração química da superfície do carvão, que consistiu no tratamento a quente do carvão com HNO_3 e H_2O_2 .

Material e Métodos

Material

A bactéria utilizada, *Arthrobacter viscosus*, foi obtida na Colecção Espanhola de Culturas Tipo da Universidade de Valência. As soluções de crómio, cádmio, chumbo e ferro foram preparadas diluindo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{CdSO}_4 \cdot 8/3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em água destilada. Para as soluções de compostos orgânicos fez-se a diluição de fenol, ortocresol e clorofenol em água destilada. Todo o material utilizado nas experiências foi lavado com uma solução de ácido nítrico a 60% e lavado com água ultra-pura para remover qualquer possível interferência de outros metais. O doseamento dos metais foi feito por espectrofotometria de

absorção atômica, EAA, e o doseamento dos orgânicos foi feito por espectrofotometria. Os padrões para a EAA foram preparados a partir de soluções padrão de 1000 mg_{cromio}l⁻¹, 1000 mg_{cadmio}l⁻¹, 1000 mg_{chumbo}l⁻¹. O suporte foi caracterizado por adsorção de N₂ (77 K), com um ASAP Micromeritics 2001, de modo a quantificar a área superficial, distribuição do tamanho dos poros e porosidade. O tratamento da superfície do carvão consiste em lavar o carvão activado granular (GAC) durante 1 h a 90°C, com uma solução 1M HNO₃ ou 1M H₂O₂, de modo a desenvolver diferentes grupos funcionais na superfície do carvão, após tratamento térmico em atmosfera N₂. A identificação dos grupos funcionais foi feita por FTIR, TPD e XPS. A Universidade Nova de Lisboa, Departamento de Química, fez a caracterização o tratamento à superfície dos carvões bem como a sua caracterização. Para os estudos da remoção de crómio na presença de compostos orgânicos foi utilizado carvão activado sem tratamento superficial.

Métodos

Todos os ensaios experimentais foram efectuados em duplicado. O GAC foi colocado num Erlenmeyer de 250 ml com 150 ml de água destilada e posteriormente esterilizado de modo a retirar o ar dos poros. Após esterilização foi colocado nas colunas (diâmetro interno = 0,9 cm, altura = 30 cm) e estas foram utilizadas para estudos em sistema aberto, parcialmente cheias com GAC (6 g) com uma área específica de Langmuir de 1270 m²g⁻¹ e tamanho médio dos poros de 20 nm. A cultura de microrganismos e o meio nutritivo foram bombeados através da colunas de modo a desenvolver um biofilme. Foram usados dois meios de crescimento diferentes, com diferentes concentrações de peptona, para fazer crescer o biofilme durante 3 dias, com o objectivo de otimizar a adesão do biofilme ao suporte. A observação do crescimento do biofilme foi efectuada a olho nu. Após este período de tempo as colunas foram lavadas e deu-se início à passagem de das soluções com um caudal de 10 ml/min. Ao longo do tempo foram tiradas amostras (5 ml), estas foram centrifugadas e analisadas por espectrofotometria de absorção atômica (caso dos metais pesados) ou por espectrofotometria (caso dos compostos orgânicos). No fim de cada ensaio fez-se o plaqueamento em meio de cultivo com agar de modo a avaliar a actividade metabólica dos microrganismos.

Resultados e Discussão

Soluções de metal

De um modo geral a remoção de metais pesados é rápida e apresenta melhores resultados durante a primeira hora do ensaio experimental. A remoção de crómio, cádmio, chumbo e ferro das respectivas soluções segue uma cinética típica de bioadsorção com duas etapas bem distintas: uma rápida acumulação inicial que é descrita como sendo independente do metabolismo celular e da temperatura, bioadsorção propriamente dita, e um segundo passo dependente do metabolismo celular, muito mais lento. Para ambos os suportes utilizados (Figura 1) verificam-se melhores resultados para as mais baixas concentrações de metal. Verificou-se uma melhor adesão dos microrganismos no carvão tratado com HNO₃ o que poderia induzir a um melhor comportamento por parte deste sistema bioadsorvente. Tal relação não ficou totalmente demonstrada.

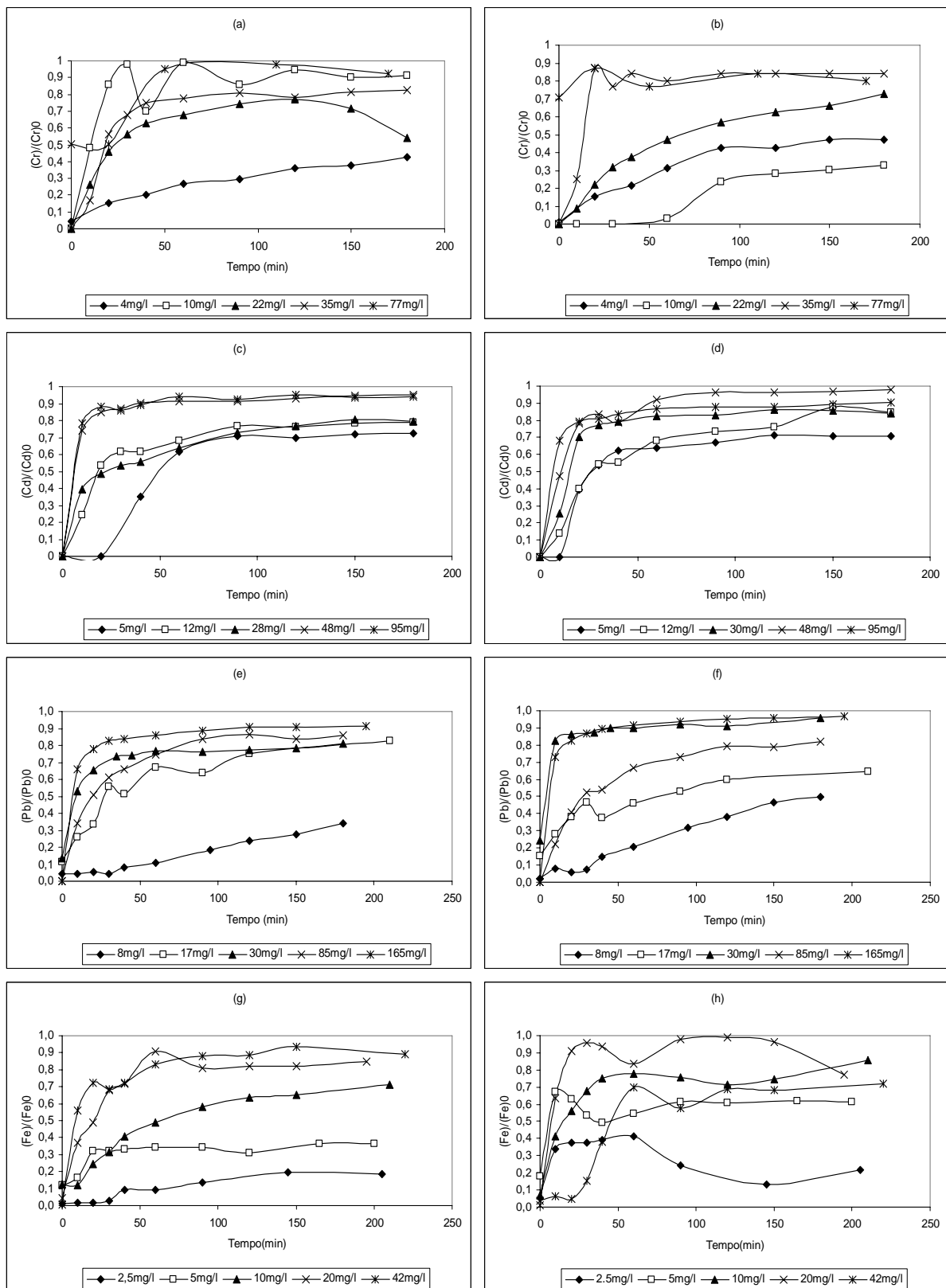


Figura 1- Variação da concentração normalizada de metal em função do tempo para as várias concentrações iniciais estudadas. Com o suporte GAC-HNO₃: a)crómio, c)cádmiio, e)chumbo, g)ferro. Com o suporte GAC-H₂O₂: b)crómio, d)cádmiio, f)chumbo e h)ferro

Os piores resultados de remoção foram obtidos com o metal cádmio, concluindo-se que este metal exerce um efeito tóxico sobre as bactérias. O melhor comportamento global verificado para o chumbo e o ferro poderá ser justificado com a possível maior afinidade destes metais para com os sítios de ligação à bactéria. Esta maior afinidade poderá estar relacionada com a atracção exercida pela carga negativa das células bacterianas sobre os cátions ferro e chumbo. O elevado peso atômico do chumbo e o relativamente pequeno raio iónico do ferro contribuem para o seu melhor desempenho.

Soluções mistas de metal e composto orgânico

Verifica-se que para as combinações testadas- crómio/fenol, crómio/clorofenol e crómio/ortocresol, a remoção do metal é ligeiramente afectada pela presença do composto orgânico (Figura 2). No entanto, a fixação dos iões metálicos seguirá outro mecanismo diferente do descritivo da remoção do composto orgânico com eventual concurso a diferentes centros activos, pois o impacto do orgânico na curva de breakthrough do metal é pouco significativo. Da observação da Figura 2, poderá afirmar-se que os melhores resultados foram obtidos com o clorofenol, seguido do fenol e do ortocresol, não sendo no entanto significativas as diferenças entre eles.

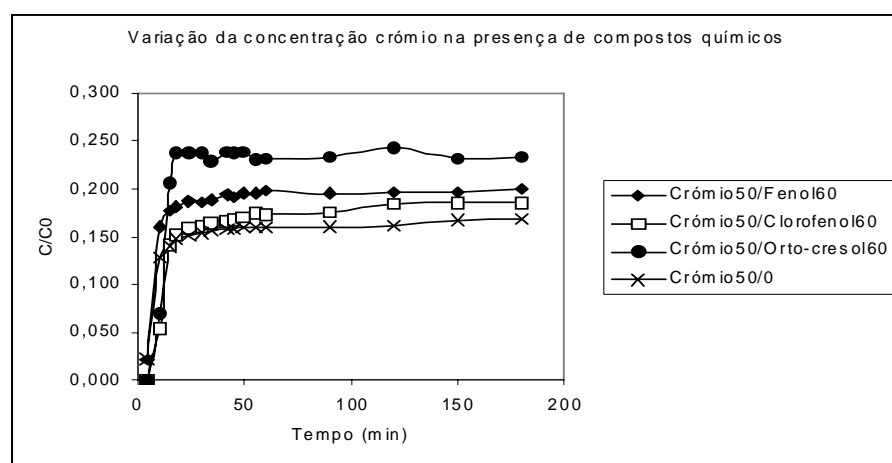


Figura 2- Estudo comparativo da evolução da concentração normalizada de crómio ao longo do tempo na presença de compostos orgânicos e na ausência dos mesmos, para uma concentração inicial de crómio de 50 mg/l e uma concentração de 60 mg/l de composto orgânico.

Na figura 3 está representada a variação da concentração de fenol, clorofenol e ortocresol a diferentes concentrações iniciais de crómio. Para o ortocresol verifica-se, como seria de esperar, que a acumulação de composto orgânico diminui com o aumento da concentração de

crómio, para o fenol e clorofenol a concentração mantém-se aproximadamente constante, pelo que se conclui que a remoção destas substâncias não é afectada pela presença de crómio.

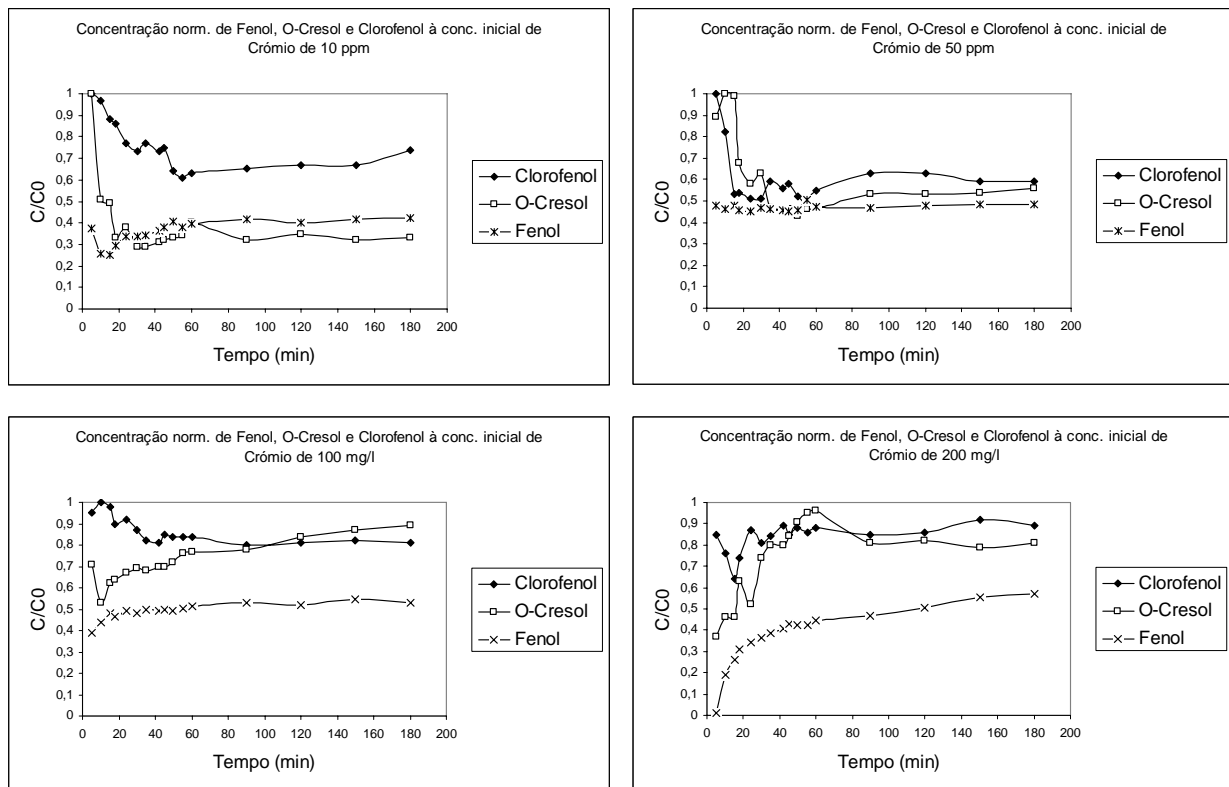


Figura 3- Estudo comparativo da evolução da concentração normalizada de clorofenol, ortocresol e fenol na presença de crómio a diferentes concentrações iniciais.

Conclusões

Ficou demonstrado que um sistema constituído por um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em carvão activado granular apresenta as condições necessárias para remover metais pesados de soluções diluídas. Os melhores resultados foram obtidos durante a primeira hora de funcionamento e para as soluções mais diluídas. O metal cádmio apresenta um forte efeito xenobiótico sobre o biofilme, enquanto os metais chumbo e ferro permitem obter bons resultados como resultado da afinidade entre a carga catiónica do metal e a carga aniónica da bactéria, do elevado peso atómico do chumbo e do reduzido raio iónico do ferro. Verifica-se que a remoção de crómio é pouco afectada pela presença compostos orgânicos. A remoção de fenol e de clorofenol não parece ser afectada pela presença de crómio.

Agradecimentos

Os autores desejam agradecer o apoio financeiro dado a este projecto pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, Ministério da Ciência e Tecnologia, Portugal

(PRAXIS/P/EQU/12017/1998). Gostariam também agradecer à Dr^a Isabel Fonseca da Universidade Nova de Lisboa pela preparação do GAC e respectiva caracterização.

Referências

- Baradarajan, A., Swaminathan, T., Kar, S., (1996), Studies on biodegradation of a mixture of toxic and nontoxic pollutant using *Arthrobacter* species, *Bioprocess Eng.*, **15**, 195-199
- Duncan, J.R., Brady, (1994) Bioaccumulation of metals cations by *Saccharomyces cerevisiae*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **41**, 149-154
- Falabella, E., Machado, N.R.C.M., Barros, M.A., (1998) Remoção de Cr(III) de efluentes industriais e sintéticos por accção de clinoptilolita de ocorrência natural, *CYTED-Catalizadores e Adsorbentes para la Protección Ambiental en la Región Iberoamericana*, 219-224
- Levine, A.D. e Pradhan, A.A., (1992) Experimental evaluation of microbial metal uptake by individual components of a microbial biosorption system, *Water Sci. Tech.*, **26**, 2145-2148
- Muraleedharan, T., Iyengar, L. e Venkobachar, C., (1991) Biosorption: attractive for metal removal and recovery, *Current Science*, **61**, 379-385
- Scott, A., Karanjkar, A., (1995) Adsorption isotherms and diffusion coefficients for metal biosorbed by biofilm coated granular activated carbon, *Biotechnol. Lett.*, **17**, 1267-1270
- Stenzel, M.H., Merz W.J., (1989) Use of carbon adsorption processes in groundwater treatment, *Environ. Prog.*, **23**, 68-74
- Urrutia, M.M., (1997) General bacterial sorption processes. In *Biosorbent for Metal Ions* (J. Wase & C. Forster, eds), pp 39-66. Taylor and Francis Publishers; London
- Wilde, E., Benemann, J., (1993) Bioremoval of heavy metal by the use of microalgae, *Biotech. Advances*, **11**, 781-812