

Macroalgas como Suportes para Adesão Microbiana em Biorreatores: antagonismo e sinergia de metais pesados em biossorção

João Tornovsky

Bolsista de Iniciação Científica, Engenharia Química, UFRJ

Antonio Carlos Augusto da Costa
Orientador, Engenheiro Químico, M.Sc.

RESUMO

O presente trabalho apresenta alguns resultados sobre a imobilização de microalgas e cianobactérias em superfícies de macroalgas marinhas, para condução contínua do processo de biossorção de metais. São discutidos também alguns aspectos relacionados aos efeitos sinérgicos e antagônicos por combinações dos metais zinco, cádmio e cobre, observados durante suas biossorções por espécies microbianas.

1. INTRODUÇÃO

Os mecanismos de bioacumulação de metais pesados vêm merecendo atenção crescente nos últimos anos, especialmente para o desenvolvimento de tecnologias alternativas para o tratamento de efluentes industriais a custo compatível e competitividade técnica (1). O correto desenvolvimento do sistema reacional para o processo pode ser essencial para o sucesso da tecnologia, sendo comum, para o tratamento de efluentes contaminados com metais pesados, o emprego de reatores de leito fixo (colunas de adsorção com resinas de troca iônica). Entretanto, se microrganismos são empregados como resinas biológicas, deve-se viabilizar seu emprego nos reatores propostos, de modo a se manter configurações reacionais compatíveis do ponto de vista técnico e econômico.

2. OBJETIVO

Este trabalho se propõe a estudar a imobilização da cianobactéria *Spirulina maxima* e da microalga verde *Tetraselmis chuii*, ambas capazes de acumular elevados níveis de cádmio, tornando possível sua utilização em reatores de leito usando macroalgas como suporte de imobilização não-inertes ao processo (*Sargassum sp.* e *Ulva sp.*). Efeitos sinérgicos e antagônicos foram também investigados para combinações dos metais Cd, Cu e Zn, sendo, entretanto, selecionado o Cd para os experimentos em regime contínuo.

3. METODOLOGIA

3.1 Reator de leito fixo

O reator de leito fixo que operou continuamente consistiu de uma coluna recheada com 50,0 g de *Sargassum sp.* ou 8,0 g de *Ulva sp.*. Cada coluna tinha 30,0 cm de altura, com um diâmetro interno de 3,5 cm. A solução de metais era bombeada pela coluna em fluxo ascendente de 15,0 mL/min. A concentração residual de metais foi analisada na saída da coluna por espectrometria de emissão em plasma (Perkin Elmer, modelo 2000). Os dados apresentados são médias dos experimentos realizados. Algumas considerações quanto às características hidráulicas do sistema foram discutidas em publicação anterior (2). Tais parâmetros serão ainda estudados e otimizados.

3.2 Macroalgas, microalgas e cianobactérias

As macroalgas utilizadas neste estudo foram *Sargassum sp.* e *Ulva sp.*, coletadas na costa do Oceano Atlântico, lavadas e secas por 24 h a 60°C. A cianobactéria utilizada foi a *Spirulina maxima*, cultivada no meio Zarrouk modificado (3). Como microalga, foi estudada a *Tetraselmis chuii*, cultivada em meio Conway, (4).

3.3 Quantificação celular de *S. maxima* e *T. chuii*

As células crescidas foram centrifugadas por 15 min, e o sobrenadante descartado. O centrifugado foi ressuspenso e novamente submetido à separação. Tal procedimento foi efetuado 3 vezes, e as células lavadas foram ressuspendidas, depositadas em cadinhos de cerâmica previamente tarados e levadas à estufa por 24 h a $85\pm 1^\circ\text{C}$. As quantificações foram feitas em quadruplicatas para cada teste.

3.4 Imobilização de *S. maxima* ou *T. chuii* em biomassa de *Sargassum sp.* e *Ulva sp.*

A imobilização dos microorganismos na superfície das macroalgas foi feita através do cultivo das células na presença do suporte, dentro do reator e em condições assépticas. 1 L da suspensão celular foi adicionado ao reator contendo *Sargassum sp.* ou *Ulva sp.* e mantido sob iluminação constante por 72 h. A eficiência da imobilização foi determinada pela medida da concentração de microorganismo antes da inoculação e após as 72 h de contato. Pela diferença encontrada, foi calculada a massa de células imobilizadas pela macroalga. Após o escoamento da suspensão celular, os reatores foram rinsados com água destilada afim de remover eventuais microorganismos não aderidos efetivamente ao suporte. Este procedimento é análogo ao adotado para *T. chuii*. A eficiência de imobilização de *S. maxima* e *T. chuii* foi de, respectivamente, 59% e 32% sobre suporte de *Sargassum sp.*; nos reatores contendo *Ulva sp.* a eficiência de adesão de *S. maxima* e *T. chuii* foi de 85% e 43%. Com os microorganismos imobilizados, experimentos de bioissorção contínua de Cd foram conduzidos, nas condições anteriormente descritas, usando uma solução 42,5 mg/L de Cd (preparada com $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ em água destilada) como efluente sintético.

3.5 Sinergia e Antagonismo

Células de *S. maxima* de uma cultura estoque foram centrifugadas para elaboração do inóculo. Foram preparadas as seguintes soluções de metais pesados a partir dos seus sais de sulfato: Cd, Cu, Zn, Cd + Cu, Cd + Zn, Cu + Zn e Cd + Cu + Zn (todas soluções na concentração de 10 mg/L em relação a cada metal

isoladamente). Ressuspendeu-se uma alíquota do centrifugado de células em 50 mL de cada uma das soluções de metais de modo a atingir uma concentração celular de 0,1 g/L de células na mistura reacional (peso seco). As células foram deixadas em contato com a mistura por 24 h, após o qual foi retirada uma amostra do meio para determinação da concentração residual de metais por espectrometria de emissão em plasma. Todos experimentos foram realizados em duplicata. O mesmo procedimento, nas mesmas condições, foi utilizado com células de *T. chuii*. Os resultados obtidos são analisados adiante.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alguns resultados obtidos com *Sargassum sp.*, usando reatores de leito fixo em escala de laboratório, foram anteriormente descritos (2). Somando-se a isso, estudos prévios com a cianobactéria *S. maxima* e com a microalga verde *T. chuii* (4) também estimularam o desenvolvimento de um sistema contínuo capaz de utilizá-los devido às suas notáveis capacidades em captar metais pesados. A Figura 1 apresenta os resultados obtidos na operação contínua de um processo de bioissorção de Cd usando o suporte *Sargassum sp.* associado com *S. maxima* e *T. chuii*, ou apenas o suporte como controle. Numa visão geral, os resultados mostraram que a associação entre *Sargassum sp.* e *S. maxima* contribuiu negativamente para o processo quando comparado com *Sargassum sp.* puro. O comportamento oposto foi observado quando se utilizou *T. chuii* sobre o suporte. Pode-se também notar que em ambos os casos a imobilização não contribuiu para aumentar o tempo de operação do sistema. O incremento na eficiência do processo observado quando do acoplamento de *T. chuii* e *Sargassum sp.* foi significativo em relação ao experimento de controle. Deve ser ressaltado na Figura 1 que durante 50 h de operação a concentração de Cd na saída do reator foi igual a zero, o que corresponde a uma total eficiência do tratamento da solução de Cd, nas condições estabelecidas.

A partir de 50 h de operação, diferentes perfis de captação de Cd foram registrados. Como exemplo, em torno de 70 h de operação as concentrações do metal foram de 0,9, 16,4 e 5,5 mg/L para os experimentos *Sargassum sp.* com *T. chuii*, *Sargassum sp.* com *S. maxima* e *Sargassum sp.*, respectivamente. Segundo a literatura, a acumulação de metais pesados em algas marinhas pardas se deve

basicamente à presença de alginatos como polissacarídeos estruturais dessa classe de algas. Sabe-se, também, que os alginatos podem ser eficientemente extraídos da estrutura destas algas usando-se Na_2CO_3 2%. Considerando que o meio de cultura da *S. maxima* contém esse componente numa concentração de 8,9 g/L, e que a *S. maxima* foi mantida em contato com a macroalga por 72 h para promover o contato entre as espécies, é provável que o Na_2CO_3 do meio de cultura da cianobactéria tenha extraído uma certa fração de alginato da *Sargassum sp.*. Desta forma, a quantidade de sítios de captação disponíveis no suporte foi diminuída, e o efeito aditivo da *S. maxima* aderida sobre este não foi suficiente para garantir um aumento de eficiência no sistema como um todo. A Figura 2 apresenta os resultados obtidos durante a operação contínua do processo usando como recheio da coluna *Ulva sp.* e *Ulva sp.* associada com *S. maxima* ou *T. chuii*.

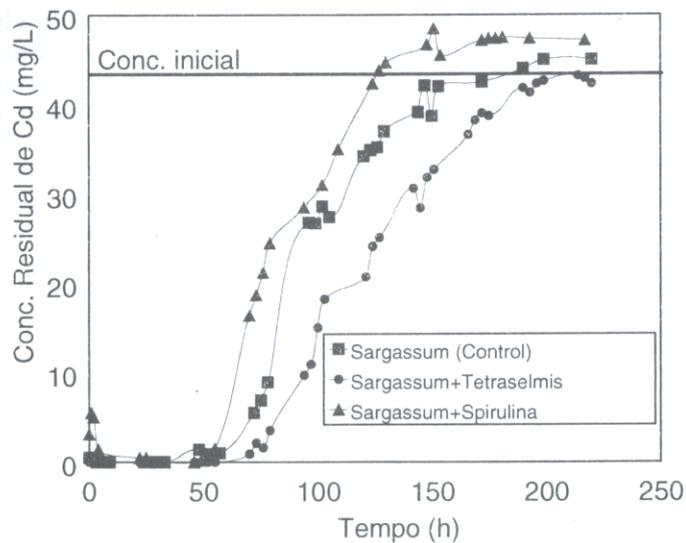


Figura 1 - Remoção de Cd por *Sargassum sp.* e *Sargassum sp.* com células imobilizadas

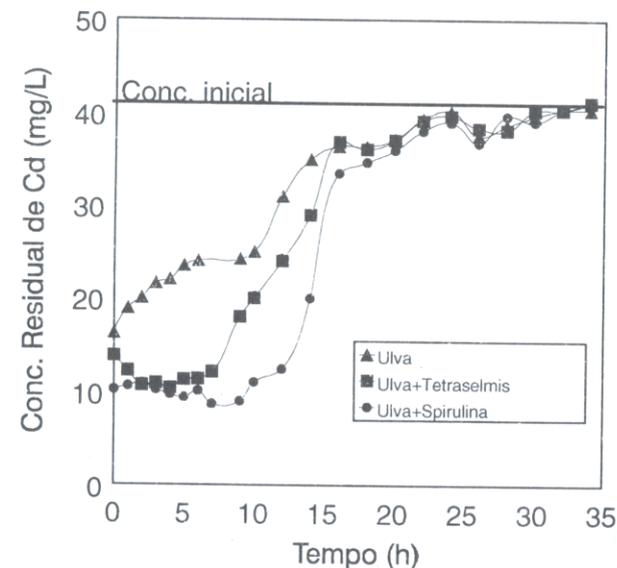


Figura 2 - Remoção de Cd por *Ulva sp.* e *Ulva sp.* com células imobilizadas

Os resultados demonstram um comportamento distinto daquele observado quando *Sargassum sp.* foi usado como agente imobilizador. A associação entre *Ulva sp.* e ambas as culturas aumentou consideravelmente a eficiência do processo. Apesar dos equilíbrios sólido/líquido serem diferentes daqueles estabelecidos no experimento anterior usando *Sargassum sp.*, já foi demonstrado anteriormente que a *Ulva sp.* não se constitui num bom bioissorvente de Cd, basicamente devido à sua baixa capacidade de carga (4). Analogamente, a associação entre *Ulva sp.* e *T. chuii* ou *S. maxima* não contribuiu para um aumento do tempo de operação do reator (em comparação com o controle). No entanto, ambos os microorganismos associados à macroalga verde aumentaram a capacidade de tratamento da solução de Cd, fato esse observado devido às menores concentrações de metal detectados na saída do reator. Pode-se notar que, mesmo nos primeiros estágios de operação do reator, em ambos os casos, os diferentes sistemas não foram capazes de remover completamente o Cd do efluente sintético. Entretanto, no decorrer do processo, foi possível perceber a melhora promovida pelos

microorganismos devido à sua presença em associação com a macroalga. No reator contendo *Ulva sp.*, concentrações de Cd crescentes foram rapidamente detectadas durante o curso do experimento; no entanto, em ambos os reatores contendo os microorganismos em associação, foi possível observar um melhor tratamento da solução de metal, marcadamente superior ao observado no controle. Deve ser notado que essa tratabilidade é substancialmente superior no reator em que se utilizou *S. maxima* imobilizada sobre a superfície da macroalga verde, em comparação a quando se usaram células de *T. chunii*. Este fato está provavelmente relacionado à bem maior eficiência de imobilização alcançada com *S. maxima* (85%) em comparação com *T. chunii* (43%). Em experimentos anteriores, *T. chunii* provou ser superior à *S. maxima* na capacidade de captar Cd iônico. Com 16 h de operação dos diferentes sistemas, os comportamentos dos reatores tornou-se idêntico, em termos de eficiência de captação de metais pesados, indicando uma tratabilidade equivalente em presença e ausência de microorganismos. Os experimentos em batelada revelaram diferentes comportamentos dos microorganismos frente a soluções multimetais quando comparado à bioabsorção em soluções de um único metal. Os resultados obtidos para *S. maxima* são mostrados na Figura 3.

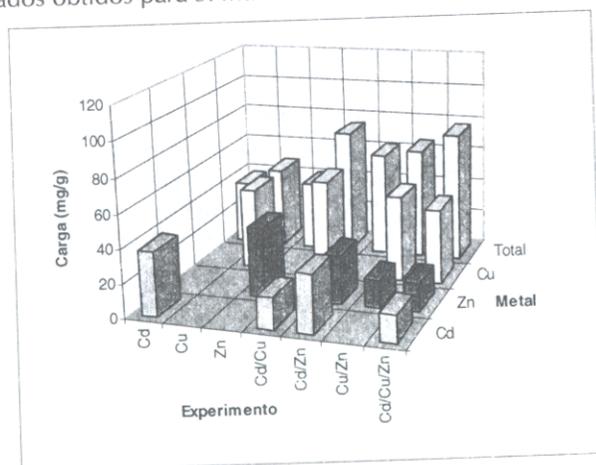


Figura 3 - Carga de metais pesados em *S. maxima*

A análise do gráfico revela um espécie de competição direta entre Cd e Zn na bioabsorção. Deve-se notar que a carga de ambas espécies na cianobactéria decresce no experimento Cd + Zn se comparada à carga obtida para cada metal em solução individual. Isto sugere que estes íons metálicos tendem a ser bioabsorvidos nos mesmos sítios de captação e com intensidade de ligação semelhante, sendo cada espécie iônica antagonista à outra. Naturalmente, a carga total de metais nessa condição é maior do que a carga atingida para um dos metais individualmente, pois a concentração total da solução é duas vezes maior (10mg/L em Cd mais 10 mg/L em Zn). Diferentemente, a bioabsorção de Cu não é comprometida com a adição de um outro metal à solução. A carga de cobre nos tecidos da *S. maxima* é, inclusive, notadamente maior quando se trata uma solução de Cu e Cd, ficando configurado o efeito sinérgico da adição de Cd em relação ao Cu. A carga de Cd, por outro lado, é fortemente prejudicada nessa condição, o que sugere que o Cu ocupe os sítios de captação de Cd de forma mais estável do que este. Como era de se esperar, o mesmo efeito é observado no par Cu + Zn, sendo, inclusive, extremamente semelhantes em termos de proporção (vide gráfico). Ao se promover a bioabsorção da solução contendo os três elementos, observa-se um resultado que é praticamente a extrapolação dos três pares combinados dois a dois. É interessante notar que a carga de Cu se mantém praticamente a mesma nos quatro experimentos em que ele participa. Tal fato se deve possivelmente ao Cu ocupar mais fortemente os sítios de captação, ganhando em competição, ou ocupar sítios distintos, ou uma combinação desses dois fenômenos. A Figura 4 apresenta os dados referentes às cargas de metais em *T. chunii* nas mesmas condições que *S. maxima*.

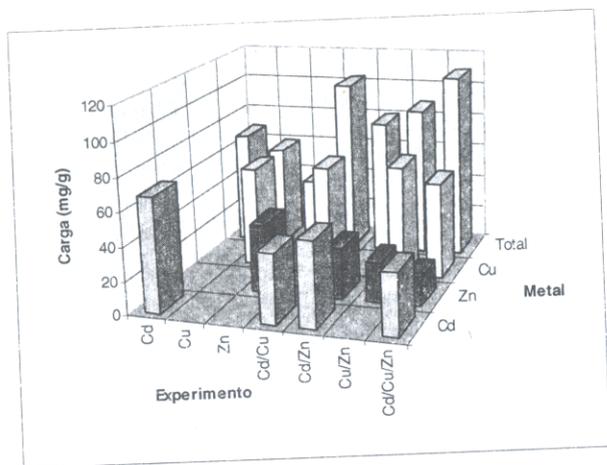


Figura 4 - Carga de metais pesados em *T. chuii*

Os comportamentos observados são semelhantes aos da *S. maxima*. Conforme observado em experimentos anteriores, a microalga verde *T. chuii* apresenta, de um modo geral, maior capacidade de captação de metais pesados que a *S. maxima*. Essa superioridade, conforme observado no gráfico acima, é menos acentuada no caso do Zn. Os experimentos de biossorção da solução binária Cd/Zn confirmam, no entanto, que a competição entre estes íons metálicos, assim como na *S. maxima*, é proporcional à carga obtida nas soluções simples de cada espécie. Mantidas as proporções, observou-se comportamento semelhante do Cu, tanto em sua solução isolada, quanto combinada a cada um ou aos dois outros íons, em comparação com *S. maxima*, salvo por uma leve sinergia da captação de Cu em presença de Zn. Estes fatos sugerem que, apesar das distinções químicas e fisiológicas entre os microorganismos utilizados, os mecanismos de captação são semelhantes, respondendo da mesma forma às combinações dos íons Cd, Cu e Zn em solução.

BIBLIOGRAFIA

1. DA COSTA, A.C.A., DE FRANÇA, F.P. Cadmium uptake by biosorbent seaweeds: adsorption isotherms and some process conditions. *Sep. Sci. Technol.* v.31,n.17, p.2373-2393. 1996a.
2. DA COSTA, A.C.A., MESQUITA, L.M.S., TORNOVSKY, J. Batch and continuous heavy metals biosorption by a brown seaweed from a zinc-producing plant. *Min. Eng.* v.9, n.8, 1996, p.811-824.
3. FERRAZ, C.A.M., AQUARONE E., FLORENZANO G., TREDICI. M. Mass production of *S. maxima*. *Rev. Microbiol.* v.16, 1985, p.179-87.
4. DA COSTA, A.C.A., DE FRANÇA, F.P. The use of seaweeds as immobilization supports for microorganisms used in continuous cadmium biosorption. *Biotec. Tech.* v.10, n.10, 1996b, p.761-766.
5. DRAKE, L.R., LIN, S., RAYSON, G.D., JACKSON, P.J. Chemical modification and metal binding studies of *Datura innoxia*. *Envir. Sci. Technol.* v.30, n.1, 1996, p.110-14.