

Aplicação de microorganismos na remediação de áreas contaminadas por metais pesados

Yaci Pira-Tatá Maria Marcondes Farias

Bolsista de Iniciação Científica, Ciências Biológicas, Faculdades Integradas Maria Thereza

Judith Liliana Solórzano Lemos

Orientadora, Eng. Química, D. Sc

Resumo

A biorremediação é uma técnica que utiliza microorganismos no tratamento de áreas impactadas por rejeitos potencialmente tóxicos, como hidrocarbonetos de petróleo e metais pesados. Esta técnica vem alcançando importância cada vez maior, uma vez que as atividades industriais estão degradando de forma mais acelerada os ecossistemas naturais. Por este motivo, o presente estudo foi realizado com o intuito de selecionar linhagens fúngicas que apresentam capacidade de remoção de metais pesados como cobre, zinco e manganês, empregando galactose como fonte de carbono. Foram testadas cinco linhagens de fungos para os três diferentes metais e as primeiras análises mostraram que dentre os fungos avaliados, *Aspergillus versicolor*, foi o que apresentou o melhor desempenho considerando a captação inicial nos testes preliminares, que foi de 12,3; 31,4 e 15,8% para cobre, zinco e manganês respectivamente.

Em seguida, a partir dos resultados obtidos, as linhagens foram testadas novamente –utilizando aquelas que apresentaram maior eficiência de remoção – a fim de avaliar um melhor desempenho na remoção dos metais, empregando xilose e maltose como fontes de carbono. Nesse experimento constatou-se que quando utilizada maltose como fonte de carbono, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta um desempenho na captação dos metais de 23,3% para cobre e o *Aspergillus versicolor* de 36,7% para zinco. Quando a xilose é utilizada como fonte, os resultados se mostram semelhantes, tendo a *Saccharomyces cerevisiae* captando 30,2% de cobre e *Aspergillus versicolor*, 43% de zinco.

1. Introdução

Os microorganismos, como fungos e bactérias, constituem ótimos materiais biológicos para a utilização em processos de biorremediação de áreas contaminadas, por exemplo, por metais pesados.

Algumas das características que fazem com que sejam de grande potencial biotecnológico são, entre outros fatores, o crescimento acelerado, a tolerância a condições ambientais extremas e o fato de possuírem baixo custo de cultivo (Simões & Tauk – Tornisielo, 2005).

Dentre os vários poluentes existentes, os metais pesados são considerados extremamente tóxicos para um grande número de organismos, mesmo em baixas concentrações. Desta forma, as pesquisas em biorremediação que utilizam microorganismos como agentes de remoção de metais passam a ter uma posição

de destaque, uma vez que essa técnica é de baixo custo quando comparadas com outras formas de tratamento que utilizam processos físico-químicos como o de floculação, eletrólise e adsorção (Pinto et al., 2003).

O termo biorremediação pode ser definido como o uso de microorganismos (bactérias, algas, fungos e leveduras) para a remoção de poluentes do solo, água e gases (Kapoor & Viraraghavan, 1995). A biorremediação, neste caso, pode ser entendida como a imobilização dos íons por parte dos microorganismos, de maneira a proteger os ecossistemas de possíveis contaminações (Sprocati et al., 2006).

Alguns fungos como os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* e, ainda, leveduras como a *Saccharomyces cerevisiae* exibem a propriedade de remover metais pesados do ambiente, pois apresentam maior resistência para metais tóxicos, o que proporciona o seu desenvolvimento em meios com altas concentrações destes elementos (Blumer, 2002).

Além dos mecanismos físico-químicos, a remoção dos metais pesados do meio ambiente por fungos e leveduras pode ser feita também por atividade metabólica, como a de transporte através da membrana plasmática. O acúmulo de metais na superfície celular chama-se biossorção, no entanto, se tal acúmulo depender da atividade metabólica do microorganismo, então, passa a ser chamada de bioacumulação (Blumer, 2002). Uma vez dentro da célula, os íons metálicos podem se localizar em organelas, ou ligar-se a proteínas, deslocando alguns íons de suas posições habituais, prejudicando assim, as funções metabólicas (Gadd, 1992).

2. Objetivo

Selecionar linhagens fúngicas com potencial de remoção de cobre, zinco e manganês, utilizando soluções sintéticas.

3. Materiais e Métodos

3.1 Microorganismos

Foram utilizadas para os ensaios de biorremediação, cinco linhagens fúngicas, cuja identificação e meios de cultivo, empregados na sua proliferação para obtenção do inóculo, estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Microorganismos utilizados e os respectivos meios de cultivo.

Linhagens Fúngicas	Meios de Cultivo
<i>Aspergillus niger</i>	BDA*
<i>Aspergillus versicolor</i>	BDA*
<i>Penicillium chrysogenum</i>	BDA*
<i>Penicillium corylophilum</i>	BDA*
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saboroud

* Batata Dextrose Agar

As linhagens fúngicas utilizadas (Tabela 1) foram cultivadas, inicialmente em tubos inclinados, a aproximadamente 30°C, durante 7 dias em estufa. Os conídeos de cada amostra foram suspensos em água destilada estéril e, a seguir, inoculados em erlenmeyers, contendo 250mL de meio de cultura líquido, específico para cada linhagem (Tabela 1). Os erlenmeyers contendo meio de cultura líquido e o inoculo foram incubados em “shaker” rotatório por 4 1/2 dias, à temperatura de 30°C e a 150 rpm.

3.2 Meio para remoção de metais

A composição do meio mineral utilizado neste experimento foi a seguinte (g/L): NaCl (5), K₂HPO₄ (1), NH₄H₂PO₄ (1), (NH₄)₂SO₄ (1), MgSO₄.7H₂O (0.2) e KNO₃ (3). O meio especificado acima descrito foi adicionado de galactose (0,5%) como fonte de carbono, e dos seguintes metais: cobre (CuSO₄.5H₂O, 104mg/L), zinco (ZnSO₄.7H₂O, 94,6mg/L) e manganês (MnSO₄.H₂O, 5,7mg/L). Os frascos que continham Cu e Zn foram ajustados em pH 4,0 e os que continham Mn em pH 6,0. Os experimentos foram realizados em duplicata.

3.3 Peso seco da biomassa

As amostras fúngicas foram levadas até peso constante em estufa regulada a 100°C em intervalos de 1 hora.

3.4 Determinação de Metais

Os teores de metal pesado foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, nos laboratórios da Coordenação de Análises Mineraias – COAM/CETEM.

4. Resultados e Discussão

A partir das análises provenientes dos laboratórios da COAM, calculou-se a eficiência de remoção dos metais pesados por parte dos microorganismos estudados, como mostram os resultados apresentados na Figura 1.

De acordo com os resultados observados na Figura 1, a linhagem que apresentou um melhor desempenho como agente de remoção, considerando os três diferentes metais, foi *Aspergillus versicolor*. Quanto à eficiência de remoção das outras linhagens de fungos estudadas no mesmo processo, os valores variaram de acordo com o metal empregado. Para zinco, excetuando *Aspergillus versicolor* (32%), não houve remoção. *A. niger* foi o que apresentou o melhor resultado de captação para manganês (19,2%), seguido de *A. versicolor* (15,8%) e de *P. corylophilum* (15,8%); tendo *P. chrysogenum* (16,6%) e *S. cerevisiae* (15,5 %) como as melhores linhagens para remoção de cobre. O presente experimento foi realizado com o intuito de identificar os microrganismos com maior potencial para remoção de metais, para, posteriormente, conduzir os microrganismos promissores a avaliações com outras fontes de carbono.

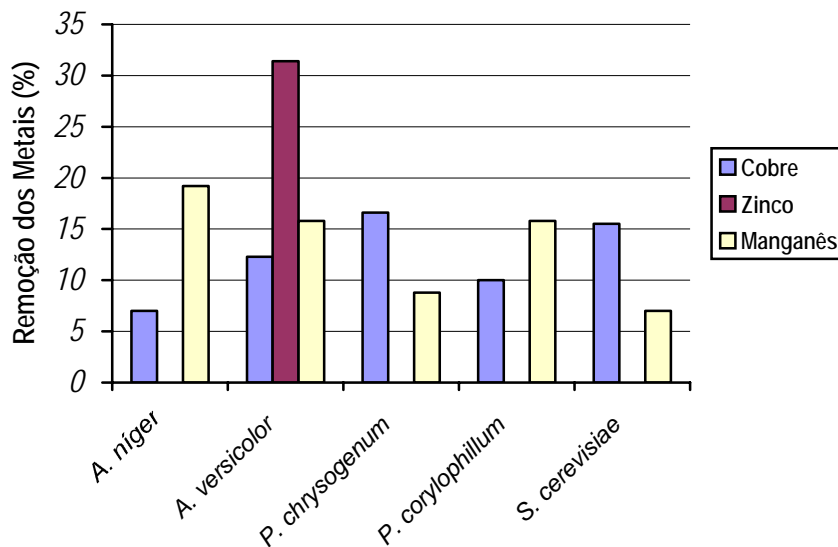


Figura 1. Remoção de cobre, zinco e manganês por fungos, utilizando galactose como fonte de carbono.

Maltose e xilose foram, em seguida, avaliadas como novas fontes de carbono. A utilização de fontes de carbono distintas pode influenciar no desenvolvimento da biomassa fúngica, influenciando conseqüentemente na melhor remoção dos metais. Importante dizer que, o experimento adicionado de galactose foi realizado novamente, apenas em termos de comparação, e que em se tratando de cobre apostou-se em todos os microrganismos, uma vez que nenhum deles despontou significativamente do outro.

Os resultados obtidos com galactose (Figura 2) eram os esperados, atingindo 33% na captação de zinco por *A. versicolor* e valores entre 11 e 15% na remoção de cobre pelos demais fungos. Na presença da maltose (Figura 3) *A. versicolor* mostrou uma remoção de zinco semelhante à atingida no meio anterior (36,7%), enquanto a levedura *S. cerevisiae* apresentou um desempenho 55% superior na remoção do cobre (23.3%), quando comparada à obtida em meio com galactose (15%). Para o meio que continha xilose (Figura 4), os resultados se mostraram mais promissores do que aqueles que continham maltose, especialmente em relação aos microrganismos mais promissores. A captação utilizando *S. cerevisiae* removeu 30.2% do cobre e, a levada a cabo com *A. versicolor* 43% do zinco. Desta forma, o experimento com xilose como fonte de carbono, elevou as remoções em 30% e 17% para *S. cerevisiae* e *A. versicolor*, respectivamente, em relação à maltose. Vale salientar que, o emprego de xilose promoveu um aumento de 100%, na remoção de cobre, se comparada à remoção com galactose.

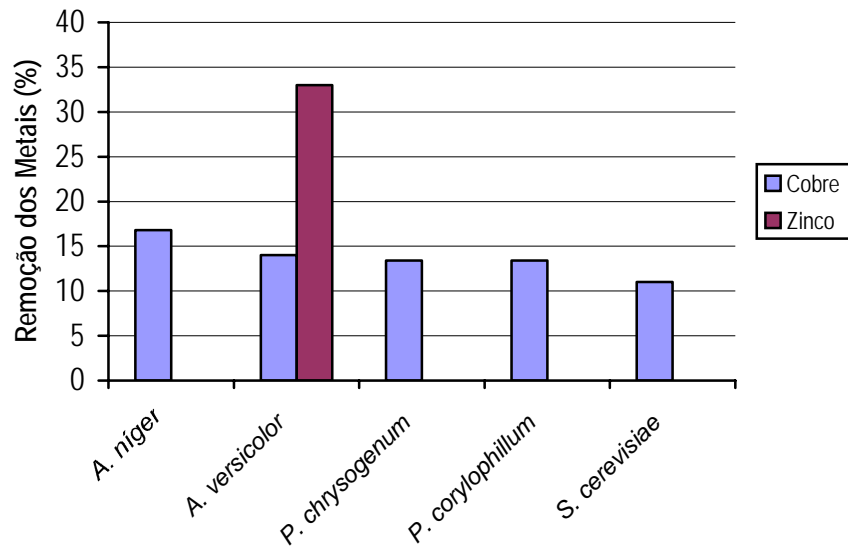


Figura 2. Remoção de cobre e de zinco por fungos, utilizando galactose como fonte de carbono.

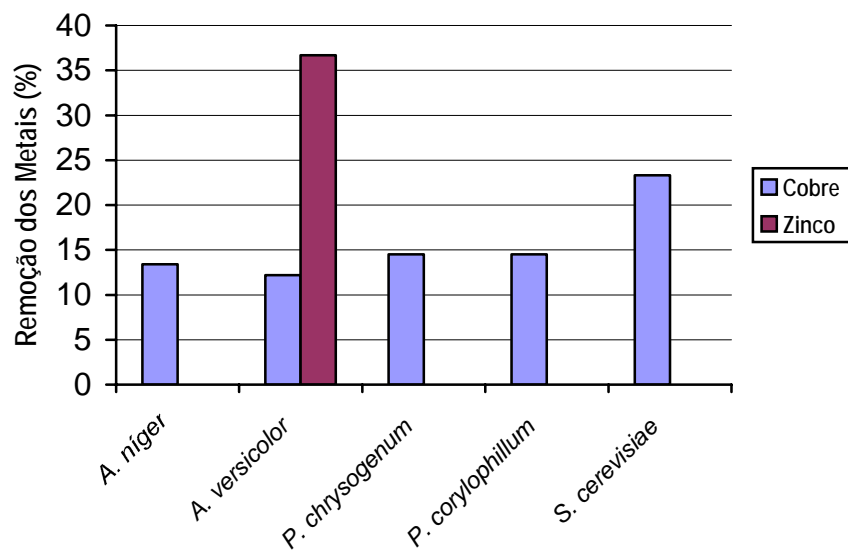


Figura 3. Remoção de cobre e zinco por fungos, utilizando maltose como fonte de carbono.

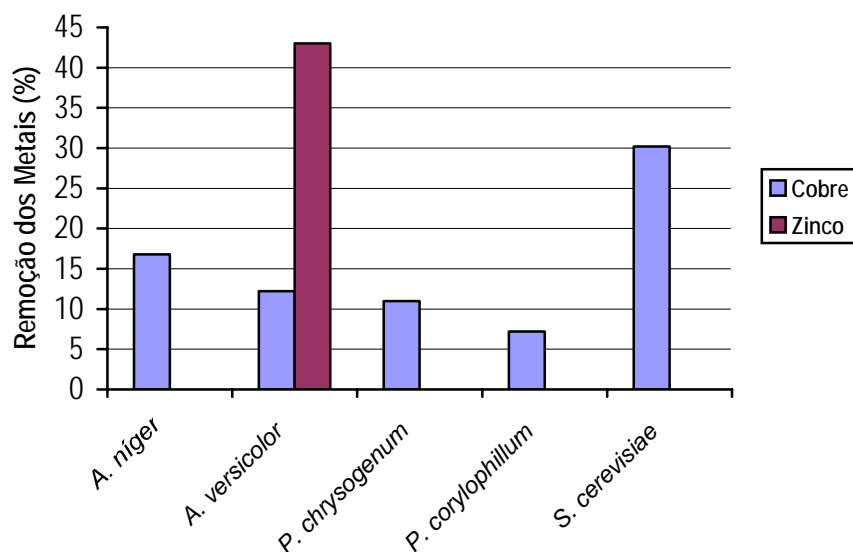


Figura 4. Remoção de cobre e zinco por fungos, utilizando xilose como fonte de carbono.

5. Conclusão

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que dentre as linhagens de fungos submetidas ao teste de captação de metais, A. versicolor apresentou uma maior eficiência na captação dos três diferentes metais na primeira etapa das análises. E a partir das análises comparativas entre as eficiências de remoção dos metais na presença de galactose, maltose e xilose, conclui-se também que A. versicolor teve uma posição de destaque quanto à remoção do zinco quando utilizada galactose (33%), maltose (36.7%) e xilose (43%), seguido de S. cerevisiae para remoção do cobre, utilizando as mesmas fontes de carbono.

6. Referências Bibliográficas

- BLUMER, S. A. G. **Enriquecimento com ferro em levedura *Saccharomyces cerevisiae***. 2002. 53p. Tese (Mestrado) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, SP (Brasil).
- GADD, G. M. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma* v.122, p.109-119, 2004.
- SPROCATI, A.; R. ALISI, C.; SEGRE, L., TASSO, F., GALLETTI, M., CREMISINI, C. Investigating heavy metals resistance, bioaccumulation and metabolic profile of a metallophile microbial consortium native to an abandoned mine. *Science of the Total Environment* v. 366, p.649-658, 2006.
- KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: A review. *Bioresource Technology*, v. 53, p.195-206, 1995.

SIMÕES, M. L. G.; TAUKE-TORNISIELO, S. M. Comparação da técnica tradicional e do método turbidimétrico automatizado no cultivo de diferentes fontes de carbono de fungos filamentosos isolados de solo de área de caatinga. **HOLOS Environment**, v.5, n.2, p.94 - 103, 2005.

PINTO, G. A. S.; LEITE, S. G. F.; CUNHA, C. D.; MESQUITA, L. M. S. Aplicação de microorganismos no tratamento de resíduos: A remoção de metais pesados de efluentes líquidos. **Revista Científica e Cultural da Universidade Estácio de Sá**, v.5, n.9, p.01 – 13, 2003.