

APLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS NA RECUPERAÇÃO DE METAIS

Judith Liliana Solórzano Lemos

Bolsista PCI, Eng. Química, D.Sc.

Ronaldo Luiz Correa dos Santos

Orientador, Eng. Químico, MSc.

Resumo

A rápida expansão e sofisticação crescente de diferentes setores industriais, especialmente nos últimos trinta anos, têm-se traduzido num incremento da quantidade e complexidade de resíduos tóxicos produzidos. Dentre as possíveis técnicas de tratamento, aplicáveis na descontaminação de áreas afetadas merecem especial atenção os tratamentos biológicos, uma vez que podem ser empregados tanto para resíduos orgânicos e inorgânicos. Muitos microorganismos, incluindo bactérias, algas e fungos, possuem habilidade para interagir com metais pesados através de suas células, produtos excretados, parede celular e polissacarídeos. Alguns fatores como pH, temperatura, ausência e presença de nutrientes, e outros metais, podem influenciar no mecanismo de interação, e conseqüentemente, na remoção desses metais de áreas contaminadas.

O presente trabalho tem por objetivo explorar a capacidade de remoção de metais pesados de microorganismos referidos na literatura, bem como aqueles oriundos de rejeito industrial.

1. Introdução

Com o crescente desenvolvimento tecnológico e industrial há uma constante preocupação no mundo atual com a liberação de resíduos industriais metálicos, pois podem causar danos em todo o ecossistema.

Metais como chumbo, arsênio, cromo, zinco, cádmio, cobre e mercúrio podem causar danos significativos ao ambiente e a saúde humana graças à facilidade de solubilização e mobilização. A escolha mais apropriada do método de remediação para solos ou sedimentos depende das características do local, concentração, tipos de poluentes a serem removidos e o destino final do meio contaminado. Dentre as tecnologias empregadas para contornar os problemas gerados pelas áreas impactadas por metais pesados podem ser citados o isolamento do local, a imobilização, redução de toxicidade, separação física e extração. Barreiras físicas feitas de aço, cimento e bentonita, por exemplo, podem ser usadas para isolar e minimizar a mobilidade dos metais. Por outro lado, existem processos que promovem a separação das partículas menores (mais poluídas) das maiores, empregando hidrociclones, leito fluidizado e flotação. Todavia alguns dos processos de remoção podem apresentar custo final elevado e/ou causar a liberação de novos contaminantes. É nesse contexto que surge a necessidade pela busca de novas tecnologias para a remoção de metais, baseadas no desenvolvimento de metodologias para aplicação de microorganismos. Entretanto, de acordo com Gzásó (2001), técnicas convencionais de remoção de metais tóxicos (ex: troca iônica, precipitação, e eletroquímica), podem não ser efetivas, especialmente quando a concentração do metal está abaixo de 100 mg L⁻¹.

Os microorganismos são capazes de afetar a especiação dos metais, por causa de sua capacidade efetora ou mediadora nos processos de mobilização ou imobilização, que influenciam no equilíbrio das espécies metálicas entre as fases solúveis e insolúveis (Gadd, 2004). A capacidade que os solos têm de atenuar os impactos, através de processos naturais, biológicos, químicos e físicos, pode ser utilizado como tratamento na remediação de solos contaminados, e é conhecido com o nome de atenuação natural (Pérez, 2006).

Muitos microorganismos, incluindo bactérias, algas e fungos, possuem a habilidade para remover metais pesados do meio ambiente. A capacidade de remoção, assim como os mecanismos de acumulação, podem variar amplamente de acordo com a espécie microbiana, ou até mesmo com a linhagem. Tanto as células, como os produtos excretados, parede celular e polissacarídeos têm potencial para remover metais de soluções que os contém. Fatores externos como pH, temperatura, ausência ou presença de nutrientes e outros metais também influenciam no mecanismo atuante e, conseqüentemente, na eficiência e seletividade de acumulação (Nakagima e Sakaguchi, 1986, Crist *et al.*, 1988, Cotoras *et al.*, 1992 e Faison *et al.*, 1990).

2. Fundamentos teóricos

2.1 Metais, o seu emprego e as suas implicações com a saúde humana

A dissolução de metais pesados que escapam no meio ambiente pode acarretar sérios problemas de periculosidade. O controle das descargas de metais pesados e remoção de metais tóxicos de rejeitos líquidos tem se convertido numa séria preocupação, especialmente para as indústrias químicas.

Os metais pesados compreendem 40 elementos com densidade superior a 5 g/cm³. Alguns, como ferro, em pequenas quantidades, são elementos essenciais ao crescimento tanto de organismos procaríotas quanto de eucariotas (Hughes e Poole, 1989). No entanto, outros, como o cádmio, não possuem função biológica conhecida (Gadd, 1992a) e são extremamente tóxicos, mesmo em concentrações muito baixas. O controle da emissão de resíduos através de normas, definidas em Leis e Decretos, resulta da preocupação mundial com os efeitos nocivos do uso indiscriminado de produtos químicos tóxicos e de seu descarte para o meio ambiente. Efluentes das indústrias do setor mineral e metal-mecânico, em particular os efluentes de plantas de tratamento de superfície, contêm alta concentração de metais dissolvidos. De acordo com Volesky (2001), os metais que mais preocupam e representam um risco ambiental são, em ordem de prioridade: cádmio, chumbo, mercúrio, cromo, cobalto, cobre, níquel, zinco e alumínio.

2.2. Remediação

O mecanismo bioquímico microbiano não é o da degradação do átomo contaminante, mas aquele que produz uma mudança no estado de oxidação do metal para sua detoxificação. Independente das reações ocorridas, provavelmente o metal ainda permanecerá no local, pois sabe-se que as bactérias possuem a capacidade para concentrar ou remover os mesmos, seja em forma de precipitados ou de substâncias voláteis, conseqüentemente menos tóxicos e facilmente disponíveis. Em outras palavras, os microorganismos podem apenas alterar a especiação dos contaminantes e convertê-los em formas não tóxicas (Singh e Cameotra, 2004).

2.3 Mecanismo de captação dos metais

Segundo Ledin (2000), vários são os mecanismos pelos quais os microorganismos interagem com os metais, conforme resumido na Figura 1:

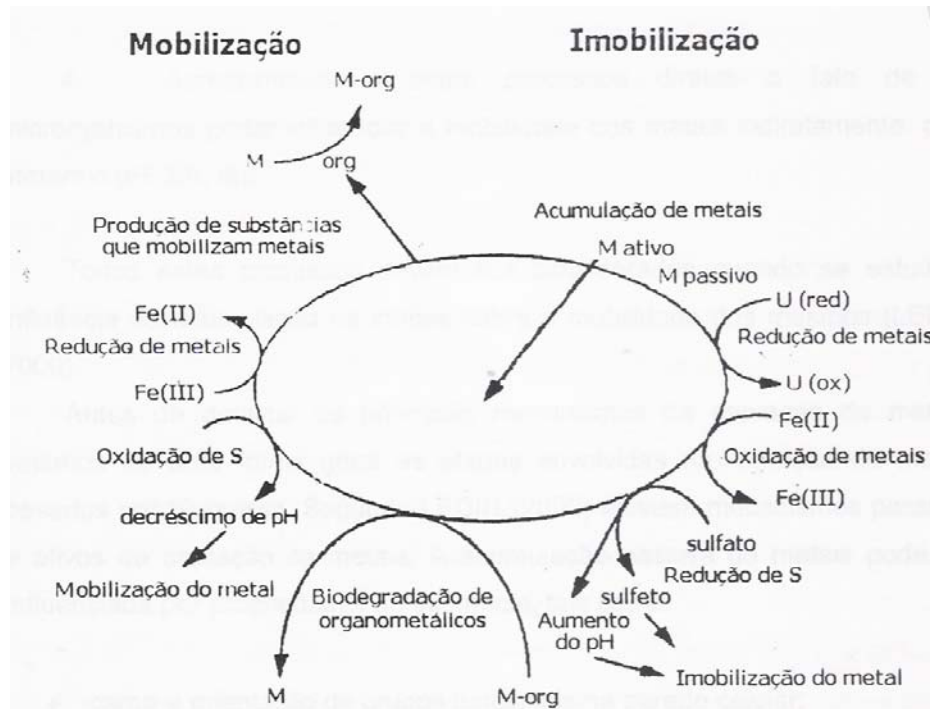


Figura 1. Interação entre metais e microrganismos. Fonte: Ledin (2000).

A parede celular é considerada um complexo trocador de íons, similar a uma resina. A capacidade de troca iônica depende da presença de grupos funcionais e da estrutura espacial da própria parede celular. Dentre os principais grupos funcionais responsáveis por mecanismos de captação de metais, podemos citar a carboxila, o grupo amino, sulfato e fosfato, que são responsáveis pela captação de cátions metálicos, seja por atração eletrostática ou por formação de ligações. Portanto, essa interação pode ser particularmente pronunciada no caso de íons metálicos devido às características aniônicas da parede celular (Aparicio, 2000; Veglió *et al.*, 1997).

2.3.1. Acúmulo de metais pesados por microrganismos

Materiais de origem biológica como os biossorbentes possuem a capacidade de adsorver e/ou absorver íons metálicos dissolvidos. Entre estes materiais estão os microrganismos (bactérias, microalgas e fungos) e vegetais macroscópicos (algas, gramíneas, plantas aquáticas). Partes ou tecidos específicos de vegetais como a casca, bagaço, e sementes também apresentam a capacidade de acumular metais pesados (Schneider, 1995).

Materiais de origem mineral (zeolitas, bentonitas, caulinita, diatomita, etc.) possuem a capacidade de remover íons metálicos do meio aquoso podendo ser utilizados no tratamento de águas. Subprodutos industriais de

origem mineral (argilas, pirita, dolomita, arsenopirita, etc.) também foram avaliados na remoção de íons metálicos tóxicos de soluções aquosas.

A capacidade de remoção, assim como os mecanismos de acumulação, varia de acordo com a espécie microbiana, ou até mesmo com a linhagem. As células microbianas têm potencial para remover metais de soluções, empregando metabólitos excretados, parede celular e polissacarídeos. Fatores externos como pH, temperatura, ausência ou presença de nutrientes e outros metais também influenciam no mecanismo atuante e, conseqüentemente, na eficiência e seletividade de acumulação (Bolton e Gorby, 1995; Gadd, 1992a; Mullen *et al.*, 1989; Galun *et al.*, 1987).

2.3.2. Mecanismos de captação microbiana para remoção de metais pesados

2.3.2.1. Biossorção

A acumulação de metais pesados, por mecanismos independentes do metabolismo celular se dá através de interações físico-químicas entre o metal e constituintes da parede celular, de exopolissacarídeos e outros materiais associados à face externa da membrana celular. A independência do metabolismo ocorre pelo fato de não ser necessário o gasto energético por parte da célula microbiana, para que haja captação dos íons metálicos. A remoção neste caso pode ocorrer tanto em células vivas quanto em células mortas (Gadd, 1992a).

2.3.2.2. Bioacumulação

O transporte de íons de metais pesados através da membrana celular e sua acumulação intracelular são dependentes do metabolismo, ou seja, ocorrem somente em células vivas, capazes de gerar energia. A remoção de íons metálicos por este tipo de mecanismos é usualmente mais lento que o mecanismo de adsorção físico-químico. Em contrapartida maiores quantidades de metal podem ser acumuladas (Gadd, 1988). A fonte de energia, presença de inibidores metabólicos, temperatura e luminosidade são os principais fatores que afetam este tipo de acumulação (Gadd, 1990 e Ting *et al.*, 1989). Os mecanismos de transporte envolvidos na acumulação de metais pesados são pouco conhecidos. Uma das suposições seria a de que os metais pesados podem ser captados pelos sistemas de transporte de metais essenciais para o desenvolvimento microbiano (Gadd, 1988). Uma vez dentro da célula, os íons metálicos podem se localizar em organelas, ou podem estar ligados a proteínas, deslocando os íons adequados de suas posições, prejudicando as funções metabólicas (Gadd, 1992b).

Como uma tecnologia alternativa, os biosurfactantes produzidos por bactérias e fungos poderiam ser usados para a remediação ambiental de metais pesados de solos, superfícies e águas subterrâneas (Christofi and Ivshina, 2002).

Na figura 2 mostra-se um esquema sobre os mecanismos de interação entre metais e células microbianas.

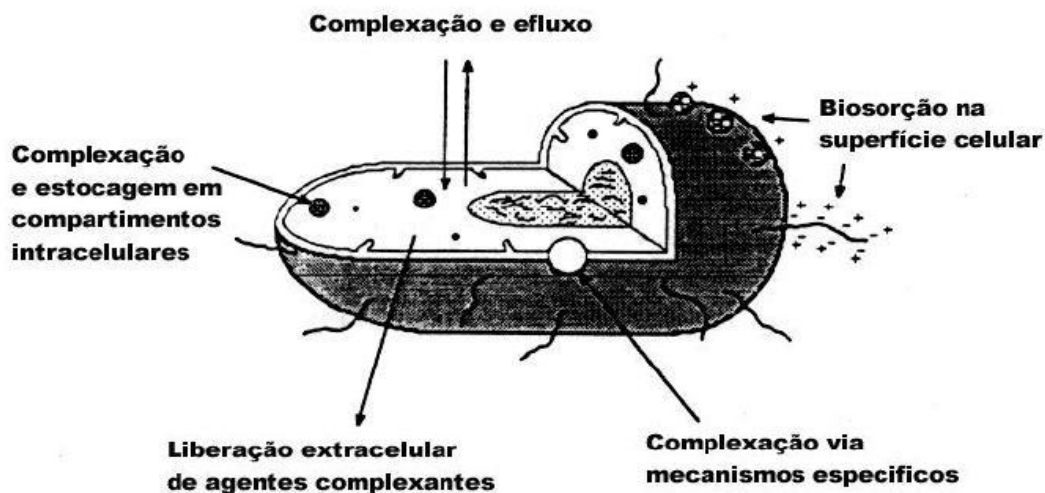


Figura 2. Mecanismos de interação entre metais e células microbianas. Fonte: Birch e Bachofen, 1990.

3. Material e Métodos

Foram identificados na literatura 15 fungos com capacidade para remover metais pesados e solicitados ao Laboratório de Micologia da FIOCRUZ, para avaliar a referida capacidade.

O trabalho será efetuado com base no artigo de Sprocati *et al.*, (2006), realizando algumas adaptações.

Inicialmente será efetuado um ensaio de tolerância das espécies fúngicas para seleção das de maior potencial, utilizando uma solução sintética de zinco. A seguir será feita a seleção daquelas que apresentarem maior resistência ao zinco, incrementando a concentração do meio com $ZnSO_4$ de 1,5 mM até 40mM, com aumento de duas em duas unidades de concentração. Os cultivos sucessivos serão inoculados com concentrações de 10% v/v da amostra anterior. Em seqüência, será feita a contagem microbiana das amostras que contém as concentrações crescentes de $ZnSO_4$, em placa de Petri, contendo meio mineral (Reiche e Lemos, 2006) agarizado e a respectiva concentração de $ZnSO_4$. A resistência será avaliada de acordo com a máxima capacidade de tolerância (MCT: a maior concentração de metal que não afete a contagem viável de células).

Após a escolha adequada das linhagens será levada a efeito a determinação da fonte de carbono (galactose, maltose ou glicerol) que favoreça o processo de remoção de metais, visto a influência dessa fonte no metabolismo dos fungos.

Os microrganismos que apresentarem maior resistência ao zinco serão avaliados também na sua capacidade de remoção e resistência a cobre (até 40mM) e cádmio (até 20 mM), conforme descrito anteriormente. A fonte de carbono a ser utilizada será a determinada no experimento anterior.

Uma vez feita a seleção dos microrganismos convenientes à remoção dos três metais propostos, será montado um consórcio com a microbiota selecionada, com o intuito de comparar as capacidades de remoção entre cada

uma das linhagens isoladas e o consórcio que contém os microrganismos mais favoráveis ao processo de remoção de metais.

Depois de identificado o melhor microrganismo e/ou consórcio serão feitos ensaios para estabelecer o mecanismo de remoção dos microrganismos empregados. Para isso, será feita a determinação da concentração do metal na solução, utilizando como inóculo, em um, a biomassa viva e em outro a biomassa morta, na mesma concentração. A diferença de ambos os resultados representa a bioacumulação de metais pelo microrganismo vivo, enquanto o resultado com a biomassa morta exprime o resultado correspondente à biossorção.

A seguir serão executados ensaios de remoção de metais pesados, utilizando efluentes industriais.

Os teores de metal pesado serão determinados por espectrofotometria de absorção atômica.

4. Considerações Finais

A biohidrometalurgia, que envolve a interação do mundo microbiano com os processos mineros-metalúrgicos, tem se transformado num fenômeno crescente, tanto em extensão como em diversificação, destacando-se em aplicações voltadas ao tratamento de efluentes e à recuperação de áreas degradadas.

No que tange à biossorção, os estudos salientam predominantemente a determinação das capacidades adsorptivas de uma série de materiais e resíduos industriais, incluindo-se o lodo ativado, resíduos de processos fermentativos, resíduos agrícolas e biopolímeros. Verifica-se ainda na literatura a existência de trabalhos que empregam linhagens isoladas, bem como consórcios microbianos, sejam estes obtidos de bancos de cepas ou de isolamentos a partir de amostras líquidas ou sólidas, de biomassas vivas ou mortas. Contudo, o desenvolvimento desta área mostra-se aquém das expectativas iniciais. Portanto, espera-se que, a aplicação industrial possa firmar-se dentro de um par de décadas.

5. Referências Bibliográficas

APARICIO, S. *Chromium biosorption by the algal biomass Sargassum sp.* 45p. Master of Science Programme – Department of Kemi och metallurgi, Division of Kemisk teknologi, Luleå University of Technology, Sweden, 2000. (Monografia Fernandes)

BIRCH, L.; BACHOFEN, R.; Complexing agents from microorganisms. *Experientia*. v. 46, n.7., p. 827-834, 1990.

BOLTON, H.; GORBY, Y. A; An overview of the bioremediation of metal-contaminated industrial effluents using waste sludges. *Water Sci Technol.* **34**, pp. 9–15, 1995.

COTORAS, D.; VIEDMA, P.; CIFUENTES, L. e MESTRE, A.; Sorption of metal ions by whole cells of *Bacillus* and *Micrococcus*. *Environ. Technol. Lett.* 13:551–559, 1992.

CRIST, R. H.; OBERHOLSER, K.; SCHWARTZ, D.; MARZOFF, J.; RYDER, D.; CRIST, D. R.; Interactions of metals and protons with algae. *Environ. Sci. Technol.* 22(7):755-760, 1988.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I. B.; Microbial surfactants and their use in fields studies of soil remediation. *Journal of Applied Microbiology*, Editora Elsevier, v. 93, p. 915-929, 2002.

- FAISON, B. D.; CANCEL, C. A.; LEWIS, S. N. e ADLER, H. I.; Binding of dissolved strontium by *Micrococcus luteus*. *Appl. Environ. Microbio.* v. 56, n. 12, pp. 2.649-3.656, 1990.
- GADD, G. M. Accumulation of metals by microorganism and algae. In: Eehm, H. J. (ed.): *Biotechnology – A comprehensive treatise*. Weinheim: VHC Verlagsgesellschaft 6B. p 401-433, 1988.
- GADD, G. M.; Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms. *Experientia*, v. 46, pp. 834-840, Basel, Suíça, 1990.
- GADD, G. M.; Biosorption. *J. Chem. Technol. Biotech.*, v. 55, n.3 , pp. 302-304, 1992a.
- GADD, G. M. Microbial control of heavy metal pollution. In: ZRY, J.C. *et al.* (ed): *Microbial control of pollution*. 58th Symposium of the Society for General Microbiology, 1992b.
- GADD, G. M.; Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma* 122, 109-119, 2004.
- GALUN, M.; GALUN, E.; SIEGEL, B. Z.; KELLER, P.; LEHR, H. e SIEGEL, S. M.; Recovery of metal ions from aqueous solutions by *Penicillium* biomass: kinetic and uptake parameters. *Water Air Soil Pollut* **33**, pp. 359–371, 1987.
- GAZSÓ, L.G. ; The key microbial processes in the removal of toxic metals and radionuclides from the environment, *Central Eur. J. Occup. Environ. Med.* **7**, pp. 178–185, 2001.
- HUGHES, M. N.; POOLE, R. K.; *Metals and Microorganisms*. Chapman and Hall Ltd., Londres, 1989.
- LEDIN, M.; Accumulation of metals by microorganisms – processes and importance for soil systems. *Earth-Science Reviews*, v.51, p.1-31, 2000.
- MULLEN, M. D.; WOLF, D. C.; FERRIS, F. G.; BEVERIDGE, T. J.; FLEMMING, C. A.; BAILEY, G. W.; Bacterial sorption of heavy metals. *Appl Environ Microbiol* **54**, pp. 3143–3149, 1989.
- NAKAJIMA, A.; SAKAGUSHI, T.; Selective accumulation of heavy metals by microorganims. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 24, pp. 59-64, 1986.
- PÉREZ, O. C., Atenuación natural de suelos contaminados con residuos tóxicos de origen minero. Aislamento y caracterización microbiana. Relatório interno de atividades da Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Habana, Cuba, 2006.
- REICHE, A. P.; LEMOS, J.L.S. . Estudo do Potencial de Degradação de Petróleo de Linhagens de Fungos Isoladas de Solo Nordeste. In: XIV Jornada de Iniciação Científica do CETEM, 2006, Rio de Janeiro.
- SCHNEIDER, I. A. H.; Biossorção de metais pesados com biomassa de macrófitos aquáticos. Porto Alegre: Escola de Engenharia, 141p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e dos Materiais, UFRGS, 1995.
- SINGH, P.; CAMEOTRA, S. S.; Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 319, 291–297, 2004.
- SPROCATI, A.; R. ALISI, C.; SEGRE, L.; TASSO, F.; GALLETI, 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* 366, 649–658, 2006.

TING, Y. P.; LOWSON, F.; PRINCE, I. G.; Uptake of cadmium and zinc by alga *Chlorella vulgaris*: Part 1. Individual ion species. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 34, pp. 990-999, 1989.

VEGLIÓ, F.; BEOLCHINI, F.; GASBARRO, A.; Biosorption of toxic metals: an equilibrium study using free cells of *Athrobacter* sp. *Process Biochemistry*, v.32, n.2, p.99-105, 1997.

VOLESKY, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, v. 59, p. 203-216, 2001.