

# 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 HNO<sub>3</sub> e outro com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 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  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

## 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<sub>cromio</sub>l<sup>-1</sup>, 1000 mg<sub>cadmio</sub>l<sup>-1</sup>, 1000 mg<sub>chumbo</sub>l<sup>-1</sup>. O suporte foi caracterizado por adsorção de N<sub>2</sub> (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 HNO<sub>3</sub> ou 1M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de modo a desenvolver diferentes grupos funcionais na superfície do carvão, após tratamento térmico em atmosfera N<sub>2</sub>. 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 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> 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 HNO<sub>3</sub> o que poderia induzir a um melhor comportamento por parte deste sistema bioadsorvente. Tal relação não ficou totalmente demonstrada.

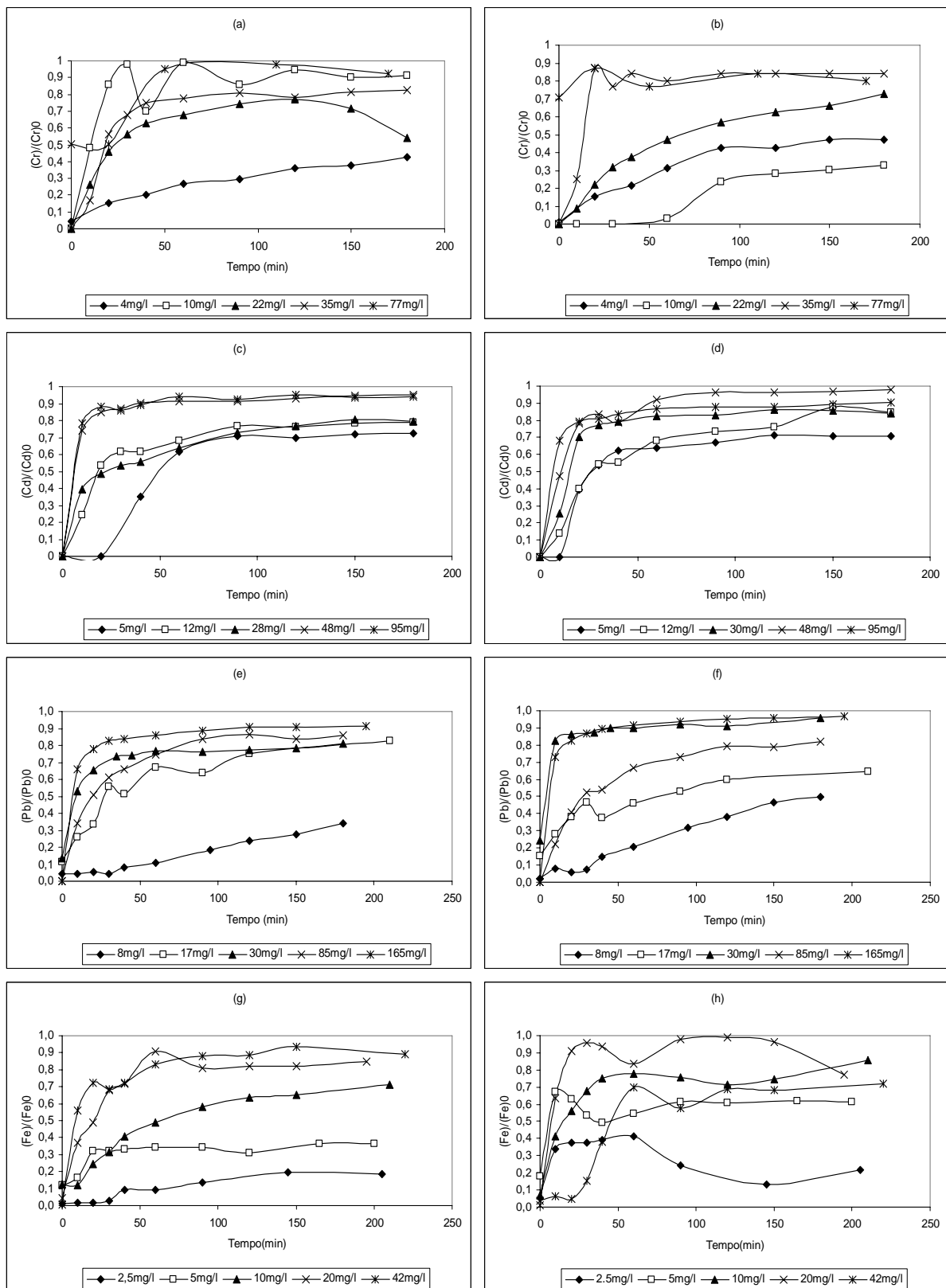


Figura 1- Variação da concentração normalizada de metal em função do tempo para as várias concentrações iniciais estudadas. Com o suporte GAC-HNO<sub>3</sub>: a)crómio, c)cádmiio, e)chumbo, g)ferro. Com o suporte GAC-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: b)crómio, d)cádmiio, f)chumbo e h)ferro

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 atómico 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.

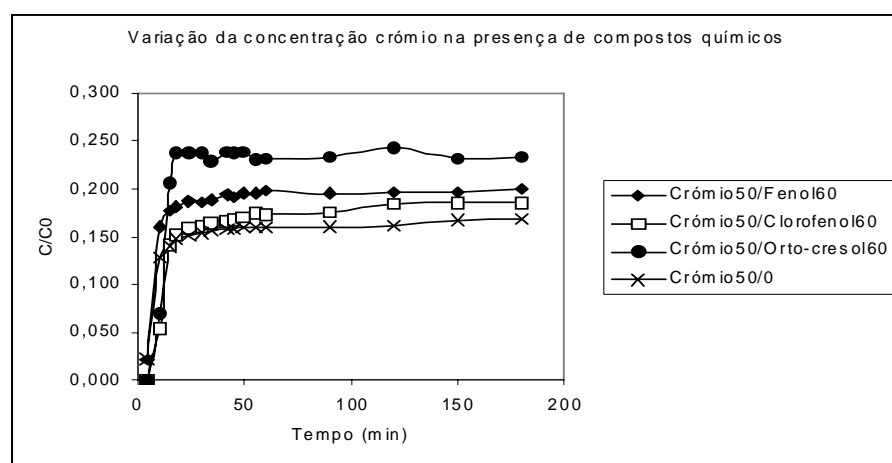


Figura 2- Estudo comparativo da evolução da concentração normalizada de crómio ao longo do tempo na presença de compostos orgânicos e na ausência dos mesmos, para uma concentração inicial de crómio de 50 mg/l e uma concentração de 60 mg/l de composto orgânico.

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.

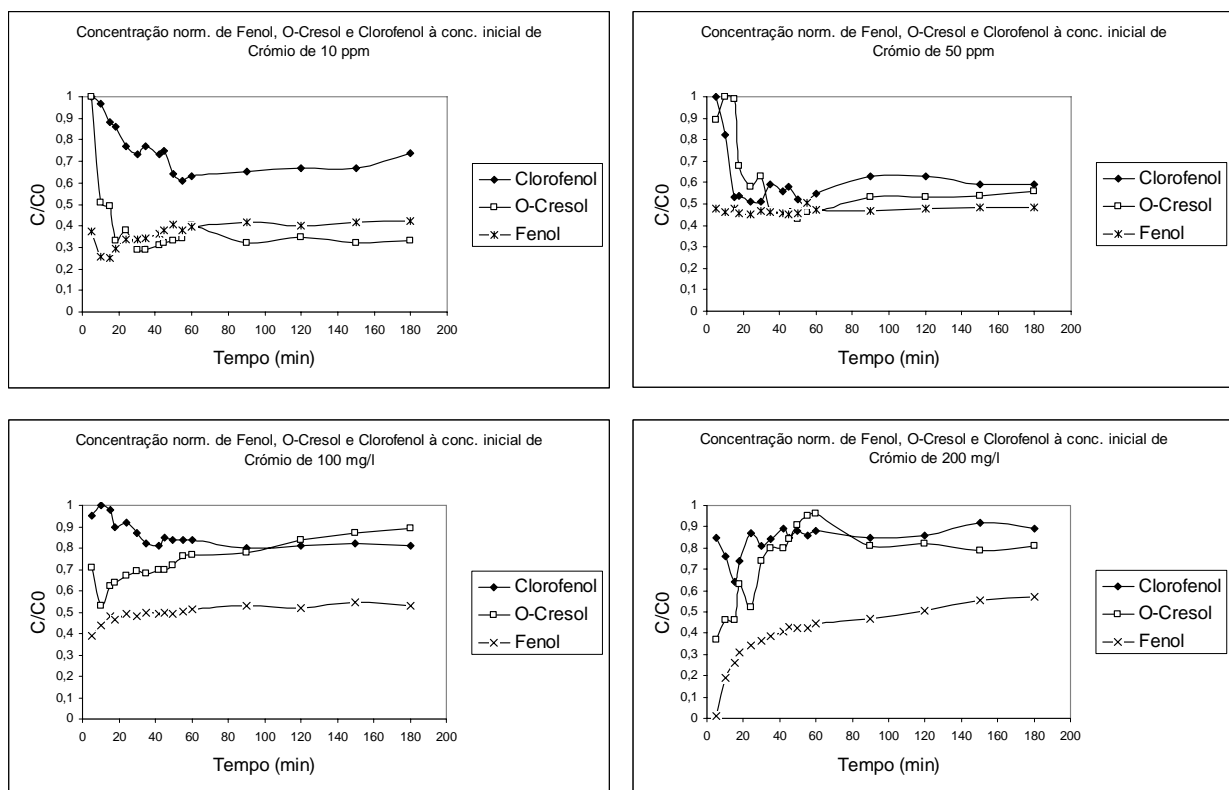


Figura 3- Estudo comparativo da evolução da concentração normalizada de clorofenol, ortocresol e fenol na presença de crómio a diferentes concentrações iniciais.

## 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<sup>a</sup> 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