

BIOSORÇÃO DE CÁDMIO PELO *ASPERGILLUS NIGER*

Silva, E. P.¹, Barros Jr., L. M.² Duarte, M.M. L.³, Macedo, G. R.⁴

^{1,2,3,4} Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Av. Sen. Salgado Filho - Campus Universitário
CEP 59.072-970 - Natal/RN – Brasil, edmilson@eq.ufrn.br

Resumo – A Biosorção é uma propriedade que certos tipos de biomassa microbianas inativas ou mortas apresentam de se ligar a metais pesados a partir de soluções aquosas. A Biomassa exibe esta propriedade agindo como se fosse um trocador iônico de origem biológica. A estrutura da parede celular de certas algas, fungos e bactérias é o agente responsável por este fenômeno. Alguns tipos de biomassa são rejeitos da fermentação industrial (*Rhizopus* ou *Bacillus subtilis*); outros são abundantes na natureza (*Sargassum* ou *Ecklonia*), podendo ser facilmente coletados nos oceanos. Estes tipos de biomassa servem como base para os processos de biosorção e podem acumular um excesso de 25% de seu peso seco em metais pesados tais como: Pb, Cd, U, Cu, Zn, Cr e outros.

Experimentos de sorção utilizando o fungo *Aspergillus niger* para remoção de cádmio de águas de produção foram realizados para estudar os fatores que influenciam a biosorção deste metal. Os efeitos do pH, tempo, concentração de biomassa e concentração inicial do metal pesado na eficiência de biosorção metálica foram examinados.

Palavras-Chave: Biosorção; Cádmio; *Aspergillus niger*

Abstract – Biosorption is a property of certain types of inactive, dead, microbial biomass to bind and concentrate heavy metals from even very dilute aqueous solutions. Biomass exhibits this property, acting just as a chemical substance, as an ion exchanger of biological origin. It is particularly the cell wall structure of certain algae, fungi and bacteria which was found responsible for this phenomenon.

Some of the biomass types come as a waste by-product of large-scale industrial fermentations (the mold *Rhizopus* or the bacterium *Bacillus subtilis*). Other metal-binding biomass types, certain abundant seaweeds (particularly brown algae e.g. *Sargassum*, *Ecklonia*), can be readily collected from the oceans. These biomass types, serving as a basis for metal biosorption processes, can accumulate in excess of 25% of their dry weight in deposited heavy metals: Pb, Cd, U, Cu, Zn, even Cr and others.

Sorption experiments using the *Aspergillus niger* fungus for cadmium removal were carried out to study the factors influencing and optimizing the biosorption of this metal. The effects of pH, time, biomass concentration, and initial concentration of the heavy metal on the rate of metallic biosorption were examined.

Keywords: Biosorption, Cadmium, *Aspergillus niger*

1. Introdução

As espécies metálicas liberadas no meio ambiente pelas atividades tecnológicas tendem a persistir indefinidamente, acumulando-se na cadeia alimentar, gerando assim sérios riscos à saúde dos seres humanos e dos animais.

Os efeitos dos metais sobre o ecossistema variam consideravelmente, sendo de grande importância na saúde pública e de expressivo significado econômico e ambiental. Conseqüentemente, a preocupação ambiental dos empresários e consumidores vem crescendo e as restrições legais sobre as emissões vêm se tornando cada vez mais rígidas, levando a uma necessidade do controle efetivo dessas emissões (Gadd, 1992).

Bactérias, fungos, leveduras e algas podem remover metais pesados e compostos radioativos a partir de soluções aquosas (Brierley, 1990; Volesky, 1994). A sorção e/ou complexação de metais dissolvidos baseados na atividade química da biomassa microbiana, conhecida como biosorção, fornece o fundamento para uma nova tecnologia na remoção e recuperação desses metais. Ela surge como uma alternativa potencialmente econômica neste tratamento, particularmente adequada para uma grande variedade de efluentes industriais.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da aplicação da técnica de biosorção na remoção de cádmio presente em águas de poços de petróleo usando o *Aspergillus niger* como biomassa.

2. Métodos

2.1. Caracterização Físico-Química da Água de Produção

Na caracterização físico-química da água de produção, os metais pesados foram determinados com o auxílio de um espectrômetro de absorção atômica (EAA).

2.2. Produção da Biomassa

Para produção da biomassa utilizou-se uma linhagem de *Aspergillus niger* pertencente à Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

Esta linhagem, crescida em meio SAB (Sabouraud Dextrose Agar), foi repicada em tubos de ensaio contendo 5 mL desse meio e incubada em estufa, a 25 °C, por sete dias, sendo depois transferidos para frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL do mesmo meio para aumentar o número de esporos do fungo. Esta transferência foi realizada espalhando-se os esporos de *Aspergillus niger* em toda a superfície do meio sólido com o auxílio de uma alça de platina flambada em bico de Bunsen. Esses frascos foram incubados a 25 °C por um período de no mínimo 5 dias e de no máximo 15 dias.

Adicionou-se a esses frascos 50 mL de solução de agente tensoativo (Tween 20) juntamente com pérolas de vidro e agitou-se levemente para suspensão dos esporos. Esta suspensão foi utilizada como inóculo para cultivo do microrganismo. Este cultivo foi feito em um incubador rotativo utilizando-se frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de crescimento com pH ajustado para 5.

Uma vez inoculados, os frascos foram agitados a 125 rpm por cinco dias a 25 °C. A biomassa foi coletada por filtração a vácuo e aquecida em uma solução de NaOH 0.5 N por 15 minutos para gerar sítios ativos e aumentar a capacidade de biosorção (Kappor, Viraraghavan e Cullimore, 1998) sendo então lavada com água deionizada até que o pH da solução de lavagem estivesse próximo do neutro (7.0 – 7.2). Depois de lavada, a biomassa foi seca a 60 °C por 16 horas e pulverizada para ser utilizada nos testes de biosorção em batelada.

Saliente-se que todo o material utilizado na produção da biomassa foi previamente esterilizado a 120°C durante 30 minutos.

2.3. Experimentos de Biosorção em Batelada

Experimentos de biosorção em batelada foram realizados separadamente para estudar o efeito do pH, tempo, quantidade de biomassa e concentração inicial do metal pesado na remoção do cádmio metálico. Soluções estoque do metal (100 mg/L) foram preparadas utilizando cádmio metálico (99,99%, MERCK). Foram utilizadas soluções de hidróxido de sódio e ácido nítrico para ajustar o pH no valor desejado. As concentrações do metal pesadas foram determinadas a partir de um espectrofotômetro de absorção atômica. Todos os experimentos de biosorção foram realizados em frascos erlenmeyer de 250 mL, contendo 75 mL de solução de cádmio e agitados a 125 rpm em um incubador rotativo rotacional à temperatura de 25 °C (Kappor, Viraraghavan e Cullimore, 1998). Todos os experimentos foram realizados em duplicata e valores médios foram utilizados como resultados.

A quantidade de íon metálico (mg) biosorvido por g (peso seco) da biomassa e a eficiência de biosorção foram calculadas utilizando as Equações 1 e 2, respectivamente:

$$q = \left(\frac{C_i - C_f}{m} \right) V \quad (1)$$

$$E = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \quad (2)$$

Onde:

q é a quantidade de metal biosorvido por g de biomassa ou capacidade de biosorção;

C_i é a concentração inicial do íon metálico, mg L⁻¹;

C_f é a concentração final ou de equilíbrio do íon metálico, mg L⁻¹;

m é a massa do biosorvente na mistura reacional, g;

V é o volume da mistura reacional, L;

E é a eficiência de biosorção (%).

2.4. Determinação das Variáveis de Operação do Processo de Biosorção

2.4.1. Efeito do pH na Biosorção

Valores do pH da solução metálica (75 mL) foram ajustados para 2,0 e incrementados de 0,5 unidades entre 2,5 e 6,5. As soluções do metal foram colocadas em contato com a biomassa (0,1 g) por 15 horas em um incubador rotativo rotacional. O pH da mistura reacional não foi controlado depois do início dos experimentos. O pH final da mistura reacional foi medido e a amostra foi filtrada a vácuo através de uma membrana de acetato de celulose de 0,47 µm. Amostras do filtrado foram utilizadas para análise da concentração do metal dissolvido. Com os resultados obtidos construiu-se um gráfico do pH versus eficiência de biosorção e determinar a faixa de pH que produziu uma maior eficiência na remoção do metal pesado.

2.4.2. Cinética de Biosorção

A avaliação da cinética de biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger* foi realizada em frascos erlenmeyer de 250 mL, contendo 75 mL da solução de cádmio e cerca de 0,1 g de biomassa. A biomassa foi colocada em contato com a solução metálica e agitada em um incubador rotativo rotacional. Amostras da solução de cádmio foram retiradas em diferentes intervalos de tempo, filtradas a vácuo através de uma membrana de acetato de celulose de 0,47 µm e analisadas em relação à concentração de cádmio em espectrômetro de absorção atômica.

3. Resultados e discussões

3.1. Análise Físico-Química da Água de produção

Os resultados da análise físico-química da água de produção em relação aos principais metais pesados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados da Análise físico-química da Água de Produção

Parâmetro	Unidade	Limite Aceitável (Resolução CONAMA 20)		Resultados
		Artigo N°4		
			Artigo N°21	
PH	-	6,0/9,0	5,0/9,0	7,42 @ 17,0
Cádmio	mg/L	0,001	0,2	<0,01
Chumbo	mg/L	0,03	0,5	0,01
Cobre	mg/L	0,02	1,0	<0,01
Cromo	mg/L	0,5	2,0	<0,01
Ferro Solúvel	mg/L	0,3	15,0	0,5
Mercurio	mg/L	0,0002	0,01	<0,0002
Prata	mg/L	0,01	0,1	<0,01
Zinco	mg/L	0,18	5,0	<0,01

De acordo com os resultados obtidos, foi verificado que o cádmio e o ferro solúvel apresentaram concentrações acima do permitido no artigo N° 4 da resolução 20 do CONAMA que dispõe sobre águas para irrigação, recreação, criação de peixes e consumo após tratamento primário. O metal cádmio foi escolhido para os testes de biosorção. Como a precisão do Espectrômetro de Absorção Atômica disponível no Laboratório de Análises do Departamento de Engenharia Química da UFRN, não detectou concentrações em nível do artigo N°4 do CONAMA 20, simulações com soluções sintéticas de concentrações na faixa de 0,2 a 3 mg/L do metal cádmio foram realizadas para verificar a eficiência da biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger*.

3.2. Influência do pH sobre a biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger*

O pH da solução aquosa é um importante parâmetro controlador em processos de biosorção de íons metálicos. A influência da concentração de íons hidrogênio na biosorção de cádmio foi analisada tratando-se o *Aspergillus niger* com uma solução de NaOH 0,05 N por meio de testes em batelada utilizando um incubador rotativo (Incubador rotativo).

Nos experimentos de biosorção em batelada variou-se o pH entre 2 e 6,5 e a concentração da solução sintética de cádmio foi mantida constante (9 mg/L) a uma temperatura de 25 °C e uma velocidade de agitação de 125 rpm. A Figura 1 apresenta o efeito do pH sobre a biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger*.

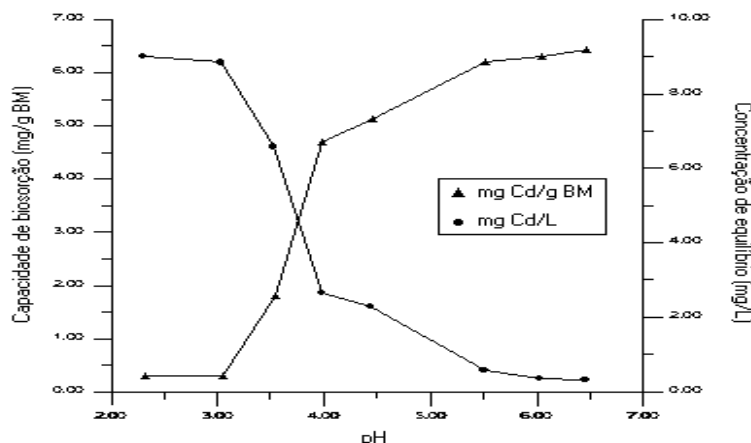


Figura 1. Biosorção do cádmio por *Aspergillus niger* em função do valor do pH

A partir dos resultados obtidos observou-se que pouca ou nenhuma biosorção do cádmio metálico ocorreu para valores de pH menor que 3,0. A capacidade de remoção do metal pesado aumentou rapidamente com o aumento do pH entre 3,0 e 4,0 e, a partir de pH 4,0, a capacidade de biosorção continuou a aumentar, mas de forma bem menos pronunciada. Este fato pode ser explicado pelo aumento da densidade de carga negativa na superfície da célula causando a desprotonação dos sítios ligantes da célula e o aumento da sua capacidade de biosorção. Verificou-se que o pH desempenhou um papel importante no processo de sorção. Para o *Aspergillus niger*, a biosorção ótima (mg de Cd/g de biomassa) e uma baixa concentração de equilíbrio (mg de Cd/L) foram alcançadas numa faixa de pH entre 4,0 e 5,5.

Um teste com pH 7,0 (a 25 °C) foi realizado, sendo observada a existência de um precipitado de cádmio quando as soluções foram filtradas. Além disso, a análise de um frasco utilizado como controle (sem a presença de biosorvente) revelou que houve redução na concentração de cádmio entre o início e o fim do experimento.

Esta dependência do pH observada na Figura 2 pode ser explicada por uma competição dos íons metálicos e dos prótons pelos mesmos sítios de ligação, uma vez que nesta faixa de pH o cádmio apresenta-se como um cátion, podendo ligar-se a uma superfície negativamente carregada. Isto explica os resultados obtidos, em que as melhores capacidades de sorção foram verificadas para valores altos do pH. Este fato pode ser usado na prática para regeneração do metal pesado carregado pela biomassa através da desorção dos íons metálicos adsorvidos num pH abaixo de 2.

3.3. Análise da cinética de biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger*

Os estudos cinéticos do processo de remoção de cádmio pelo *Aspergillus niger* foram realizados com o propósito de observar a evolução da biosorção até que o sistema atinja o equilíbrio. A biosorção de cádmio em relação ao tempo a diferentes valores de pH é mostrada na Figura 2.

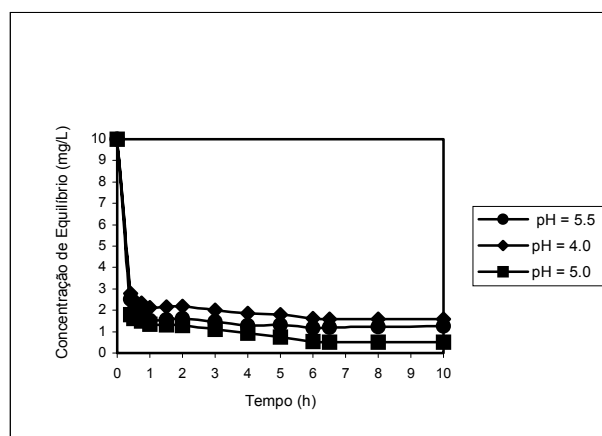


Figura 2. Cinética de Biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger* a diferentes valores de pH

A concentração de cádmio diminuiu com o passar do tempo até atingir o equilíbrio após 6 h a pH 4,0, 5,0 e 5,5. Os gráficos mostraram que a cinética de biosorção do cádmio consistiu de duas fases: um rápido crescimento inicial

onde a biosorção foi significativamente rápida (1/2 h) até atingir o equilíbrio (6 h) e uma segunda fase mais lenta em que a biosorção total do metal não foi significativa (após 6 h).

3.4. Influência da concentração da biomassa

A influência da concentração da biomassa no processo de remoção de cádmio pelo *Aspergillus niger* foi realizada com o propósito de observar o efeito deste parâmetro na biosorção metálica. Os resultados obtidos por estes experimentos são mostrados na Figura 3.

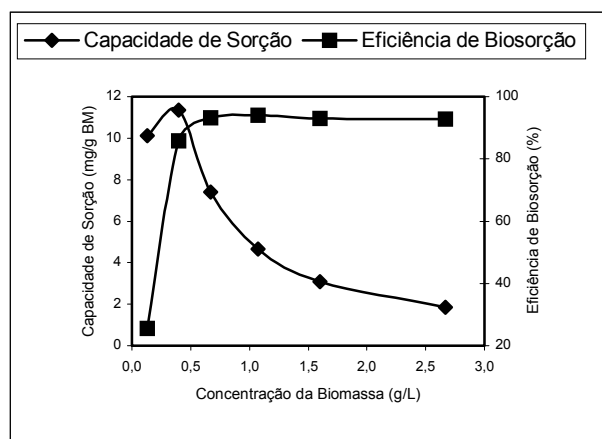


Figura 3. Biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger* em relação a concentração de biomassa.

A concentração da biomassa é um importante parâmetro para a eficiência e a capacidade de biosorção. Quando houve um aumento na concentração da biomassa, houve também um aumento na eficiência e uma diminuição na capacidade de biosorção.

Verificou-se que a eficiência é baixa para baixas concentrações de biomassa (0,2 g/L), porém aumenta mais de 8 % na concentração de 0,7 g/L e permanece praticamente inalterada para concentrações superiores a 0,5 g/L.

3.5. Influência da concentração da solução sintética de cádmio

A influência da concentração da solução sintética de cádmio no processo de remoção de cádmio pelo *Aspergillus niger* a valores fixos de pH e concentração de biomassa de (5,5 e 0,7 g/L) foi realizada com o propósito de observar o efeito deste parâmetro na biosorção metálica. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 4.

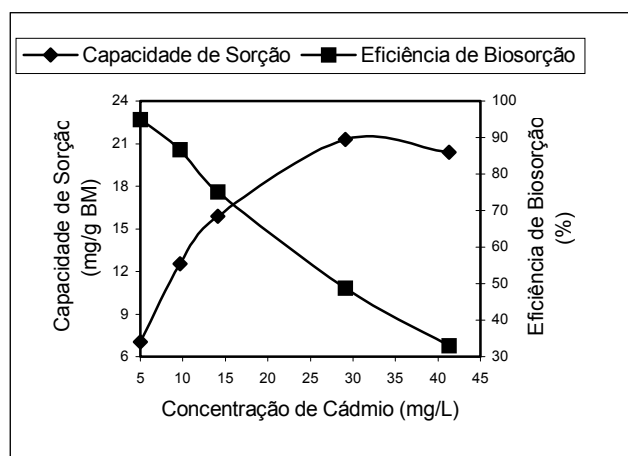


Figura 4. Biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger* em função da concentração inicial de cádmio

Os resultados mostraram que aumentando a concentração inicial do metal, a capacidade de biosorção aumentou até em torno de 30 mg/L, e diminuiu a partir deste ponto. A eficiência de biosorção diminuiu com o aumento da concentração inicial de cádmio. Portanto, para se obter maiores eficiências na remoção de metais pesados é necessário manter concentrações baixas do metal pesado no efluente.

4. Conclusões

Neste trabalho parâmetros importantes na utilização da biosorção para remoção metálica de soluções aquosas, tais como o pH, concentração da biomassa e concentração metálica foram estudados.

De acordo com os resultados obtidos, para se obter maiores eficiências na remoção metálica é necessário manter baixas concentrações do metal no efluente, maiores concentração da biomassa e pH entre 4,0 e 5,5. Observou-se ainda que em tempo superior a 6h não houve remoção significativa do metal.

O presente estudo demonstrou que a remoção de cádmio de soluções aquosas pode ser realizada efetivamente utilizando o *Aspergillus niger*.

5. Agradecimentos

A Agência Nacional do Petróleo pelo apoio financeiro.

6. Referências

- BRIERLEY, C. L.. Bioremediation of metal-contaminated surface and groundwaters. *Geomicrobiology Journal*, 8, 201-223. 1990.
- GAAD, G. M. in *Microbial Control of Pollution* (Fry, J.C., Gaad, G. M., Herbert, R. A., Jones, C. W. and Watson-Craik, I. A., eds), pp. 59-68, Cambridge University Press. 1992.
- KAPPOR, A., VIRARAGHAVAN, T., CULLIMORE, D. R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Biores. Technol.* 70, 95-104. 1998.
- HUANG, C. P., WESTMAN, D., HUANG, C., MOREHART, A. L. The removal of cadmium (II) from dilute aqueous solutions by fungal biosorbent. *Wat. Sci. Technol.* 20, 369-376. 1988.
- VOLESKY, B. Advances in biosorption of metals: selection of biomass types. *FEMS Microbiology Review*, 14, 291-302. 1994.