



Estudo da biossorção de Cobre (II) utilizando Biomassa Fúngica de *Pleurotus ostreatus*: Planejamento Fatorial
Ana Paula Buratto¹, Edilson da Silva Ferreira², Raquel Dalla Costa da Rocha³

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná (ap_buratto@hotmail.com)

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná (edilsonferreira@utfpr.edu.br)

³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná (raqueldcr@utfpr.edu.br)

Resumo

Os elementos potencialmente tóxicos provenientes de diversas operações industriais quando lançados no meio ambiente são de grande preocupação, devido o seu potencial poluente. As concentrações de lançamento destes íons metálicos encontram-se acima do limite permitidos pela legislação, representando um perigo para o nosso ecossistema. O trabalho teve como objetivo o estudo da influência de parâmetros no processo de biossorção de íons cobre (II) de soluções aquosas sintéticas por meio de um planejamento fatorial utilizando o fungo *Pleurotus ostreatus*. Os resultados mostraram que a melhor condição corresponde à menor concentração de biossorvente e maior tempo de contato no experimento A melhor eficiência de biossorção encontrada com o fungo foi de 86,01%.

Palavras-chave: Planejamento Fatorial. Metal. Biossorção.

Área Temática: Tecnologias Ambientais

Abstracts

*The potentially toxic elements from various industrial operations when released into the environment are of great concern because of their pollution potential. The launches of these concentrations of metal ions are above the limit allowed by law, representing a danger to our ecosystem. The work aimed to study the influence of process parameters on the biosorption of copper ions (II) from synthetic aqueous solutions by means of a factorial design using the fungus *Pleurotus ostreatus*. The results showed that the best condition corresponds to the lowest and highest concentration of biosorbent contact time in the experiment to efficiently biosorption found with the fungus was 86.01%.*

Key words: Factorial design. Metal. Biosorption.

Theme Area: Environmental Technology



1 Introdução

O acúmulo de elementos potencialmente tóxicos (metais pesados), entre eles o Cobre (II), no solo e em meios aquáticos é resultado de diversas atividades (QUINTELAS, 2007). Em virtude disso, o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), através da Resolução nº. 357, instituída em 17 de março de 2005, estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes nas correntes de ar, nos córregos, e lagos, entre outras questões (BRASIL, 2005).

Os tratamentos convencionais usados para remover metais de efluentes industriais incluem: precipitação, coagulação, redução, processos com membranas, troca iônica e adsorção. Entretanto, a aplicação de tais processos normalmente apresenta elevado custo e restrição, uma vez que não podem garantir que a concentração dos metais esteja dentro dos limites requeridos pelos padrões regulatórios, estabelecidos pelos órgãos ambientais. Estes tratamentos produzem resíduos difíceis de tratar, ou podem se apresentar muito dispendiosos, especialmente quando a concentração de metais no efluente está abaixo de 100 mg L^{-1} (BISHNOI e GARIMA, 2005).

Por esses motivos que se tem buscado novas alternativas de tratamento, as quais sejam eficientes e mais baratas que os processos já utilizados. Uma boa proposta de tratamento para esses resíduos seria o processo de bioassorção, o qual consiste em adsorver os metais pesados encontrados nos efluentes através de materiais biológicos. Alguns estudos realizados visando a bioassorção de metais pesados pelo emprego de biomassas fúngicas têm demonstrado o potencial destes microrganismos em relação à sua grande capacidade de remover metais de soluções aquosas, podendo ser usado em processos de tratamento de efluentes.

A bioassorção é um processo de adsorção pelo qual certos microrganismos retêm metais pesados a partir de soluções aquosas, realizado tanto por biomassa viva quanto por biomassa morta, no qual atuam interações físico-químicas que promovem a atração e a ligação do metal aos compostos celulares das espécies biológicas (AHALYA et. al., 2003; SOUZA et. al., 2008).

De acordo com Voss et. al., (2001), este tipo de tratamento pode envolver a bioacumulação de metais por microrganismos vivos, onde o transporte do metal é dependente de atividades metabólica, ou por biomassa morta a qual retém os metais através dos grupos funcionais das células e em especial da parede celular.

A complexa estrutura de microrganismos implica que há muitas maneiras para o metal a ser tomado pela célula microbiana. Os mecanismos de bioassorção podem ser compreendidos de acordo com a dependência do metabolismo celular. No caso de microrganismos vivos ocorre um mecanismo dependente do metabolismo da célula havendo uma acumulação intracelular através do transporte do metal em toda a produção da membrana da célula. Isto significa que este tipo de bioassorção pode ocorrer somente com células viáveis. Ela é frequentemente associada com um sistema de defesa ativa dos microrganismos, que reage na presença de metais tóxicos. Já no caso de biomassa morta, a bioassorção ocorre independente do metabolismo celular, desse modo a adsorção do metal é pela interação físico-química entre os metais e os grupos funcionais presentes na superfície da célula. Isto é baseado na adsorção física, troca iônica e sorção química que não é dependente sobre o metabolismo das células. Este tipo de bioassorção é relativamente rápido e pode ser reversível (AHALYA et al., 2003).

Alguns fatores podem influenciar na bioassorção de íons metálicos e consequentemente sua eficiência de remoção, levando-se sempre em consideração o pH que afeta a química da solução dos metais, a atividade dos grupos funcionais da biomassa e da competição dos íons metálicos, a temperatura, concentração de metal, concentração de adsorvente, tempo, agitação, etc. (QUINTELAS, 2007; THOMÉ, 2008).

A biorremediação pode ser efetuada através da adsorção de íons de metais pesados por microrganismos oferecendo assim um método alternativo para sua remoção de efluentes



industriais. Portanto, a bioassorção realizada pelos fungos pode servir como um meio econômico e eficiente de tratamento de efluentes tóxicos.

Dentro desse contexto, o presente trabalho tem como objetivo geral avaliar a influência de parâmetros (tempo de contato, massa de bioassorvente e pH) no processo de bioassorção de cobre (II) por biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus* através de um planejamento experimental.

2 Metodologia

O microrganismo utilizado neste trabalho foi *Pleurotus ostreatus*, cedido pela Embrapa Recursos genéticos e biotecnologia. Para os cultivos, as linhagens foram repicadas para placas de Petry, contendo meio BDA (batata, dextrose e ágar). As placas receberam aproximadamente 1 cm² do micélio do fungo, e incubadas em estufa, à temperatura de 28 °C por um período de 7 dias. Após a colonização de toda a superfície do meio pelo micélio fúngico, as placas foram armazenadas em refrigerador a 4 °C para uso posterior (FILHO et al, 2007).

O fungo *Pleurotus ostreatus* foi cultivado em fase líquida, em frascos Erlenmeyer (500 mL) contendo 300 mL de meio mínimo (10 g de glicose, 6 g de NaNO₃, 1,5 g de KH₂PO₄, 0,5 g de KCl, 0,5 g de MgSO₄.7H₂O, 0,0001 de FeSO₄ e 0,0001 de ZnSO₄ para 1L de água destilada). O valor do pH foi ajustado para 5,5 utilizando soluções de HCl 0,5 mol.L⁻¹ e NaOH 0,5 mol.L⁻¹. O meio mínimo foi distribuído nos frascos e esterilizado em autoclave a 121 °C (1 atm) por 30 minutos. A composição do meio de crescimento foi adaptada dos procedimentos de Niebisch (2009). Após o resfriamento do meio, dentro da câmara de fluxo laminar, nos frascos Erlenmeyer foram inoculados 7 unidades do fungo com aproximadamente 1 cm², da região periférica da placa de Petry, que foram adicionados ao meio de cultura líquido. A incubação foi realizada a temperatura ambiente em um agitador rotativo com agitação recíproca de 100 rpm, durante 14 dias, como mostra a Figura 1.

A biomassa produzida foi filtrada e lavada com quantidades generosas de água deionizada. Após a lavagem, a biomassa foi seca em estufa a temperatura de 105 °C por 24 horas, e moída em moinho de faca Marconi MA 630 e utilizada como bioassorvente para a realização dos testes, como mostra a Figura 3.

Figura 1 – (a) Inóculo de fungo *Pleurotus ostreatus* e (b) Biomassa seca



Os experimentos foram realizados empregando-se uma solução sintética de Sulfato de cobre (II) pentahidratado, de forma molecular CuSO₄. 5 H₂O, diluído em água destilada, nas devidas concentrações utilizadas de acordo com o experimento. Foram utilizados soluções de HCl 0,5 mol.L⁻¹ e NaOH 0,5 mol.L⁻¹ para controlar o pH das soluções dos experimentos.

As condições experimentais de bioassorção para o íon Cu (II), foram determinadas por meio de planejamento experimental, factorial 2³ e três repetições no ponto central, em regime batelada. As variáveis de entrada correspondem a quantidade de bioassorvente, tempo de contato e pH. Os demais parâmetros foram constantes (temperatura, agitação e concentração



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

inicial de íon metálico - 10 mg L⁻¹). A variável resposta é a eficiência do processo de bioassorção. As Tabelas 1 e 2 mostram os níveis e os fatores utilizados no modelo experimental, com três repetições no ponto central.

Tabela 1 – Planejamento experimental fatorial 2³

Experimento	pH	Massa (g)	Tempo (min)
1	-	-	-
2	-	-	+
3	-	+	-
4	-	+	+
5	+	-	-
6	+	-	+
7	+	+	-
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

Tabela 2 – Níveis e variáveis estudados no planejamento experimental fatorial 2³

Níveis	-1	0	+1
pH	5,0	5,5	6,0
Massa (g)	0,05	0,10	0,15
Tempo (min)	2	5	8

A quantificação dos íons de cobre II nas amostras dos experimentos foi realizada por método colorimétrico, utilizando como agente de complexação o reativo de neocuproína, segundo NBR 11020 (BRASIL, 1989) e os resultados foram submetidos a análises estatísticas empregando o programa Statistica™ versão 8.0 para o tratamento dos dados do planejamento experimental, desenvolvimento de curvas de cinética e obtenção de isotermas.

3 Resultados e Discussão

Com o objetivo de verificar a influência de parâmetros como pH, quantidade de bioassorvente e tempo, a fim de alcançar uma maior eficiência no processo de bioassorção de cobre (II) por biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus*, um planejamento fatorial foi utilizado dentro da faixa experimental, definida na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultado do planejamento experimental 2³ para otimização do processo de bioassorção de cobre (II) por *Pleurotus ostreatus*

Exp	pH	Massa (g)	Tempo (min)	Eficiência (%)
1	-	-	-	41,53
2	-	-	+	85,97
3	-	+	-	44,76
4	-	+	+	44,43
5	+	-	-	38,22
6	+	-	+	86,01
7	+	+	-	44,69
8	+	+	+	76,86
9	0	0	0	44,24
10	0	0	0	42,91
11	0	0	0	47,52

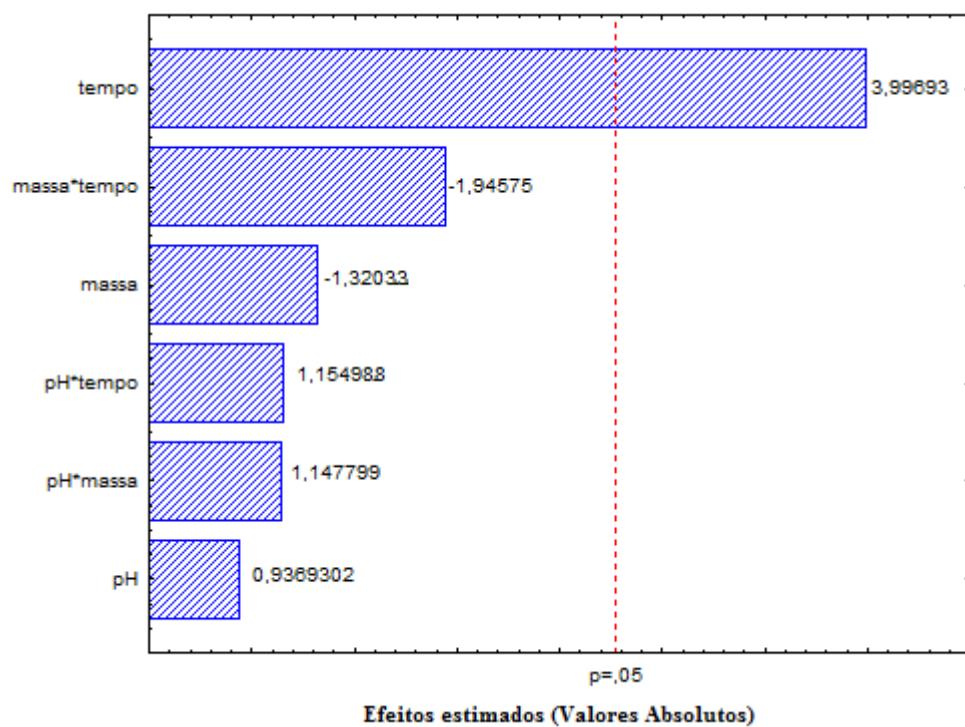


3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

Os resultados obtidos no planejamento factorial 2³ mostraram que somente a variável tempo apresenta efeito significativo. As variáveis pH e massa de adsorvente além das interações entre as variáveis de entrada não apresentaram efeitos significativos ao nível de confiança de 95%, conforme pode ser confirmado na Figura 2. O sinal positivo do valor do efeito indica que mudando do nível inferior (-1) para o nível superior (1) há um favorecimento para o aumento da variável resposta (eficiência da bioabsorção), ou seja possui efeito positivo.

Figura 2 – Gráfico de Pareto



O mesmo pode ser observado pela Tabela 4, que apresenta o efeito das variáveis de entrada na eficiência da adsorção de Cu (II). Apresenta também a significância de cada efeito se comparado com a média quadrática em relação ao erro experimental.

Tabela 4 – Análise da variância (ANOVA) para a eficiência da bioabsorção de cobre (II) em biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus*.

Variáveis	SQ	GL	MQ	F	p
pH	105,7	1	105,7	0,877	0,401
Massa	209,9	1	209,9	1,743	0,257
Tempo	1924,0	1	1924,3	15,97	0,016*
pH x massa	158,7	1	158,7	1,317	0,315
pH x tempo	160,7	1	160,7	1,334	0,312
Massa x tempo	456,0	1	456,0	3,785	0,123
Erros	481,8	4	120,4		
Total	3497,0	10			0,050

* Significativo ao nível de confiança de 95% ($p < 0,05$)

SQ – Soma dos quadrados; GL - grau de liberdade; MQ – média quadrática; p – probabilidade de erros associadas; F – Teste F calculado;

Como citado, verifica-se que somente uma variável de entrada foi significativa estatisticamente ao nível de confiança de 95% ($p < 0,05$), apresentando um valor de



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

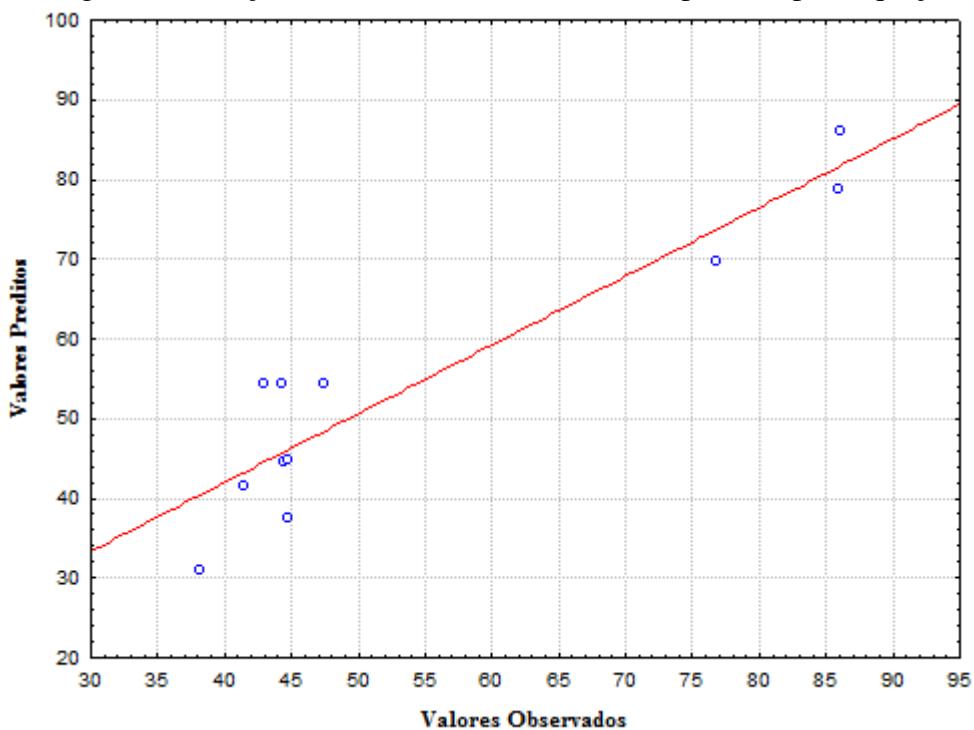
coeficiente de determinação (R^2) de 0,8623 explicando 86,23% da variação total da variável resposta em torno da média.

O modelo matemático para o sistema com as condições estudadas pode ser representado por um modelo empírico, a qual estima a eficiência (E) no processo de adsorção (%), como a Equação 1. Em que os valores das variáveis A, B e C representam valores de pH, massa de bioassorvente (g) e tempo de contato (min), respectivamente

$$E = 54,29 + 7,27X_A - 10,25X_B + 31,02X_C + 8,91X_AX_B + 8,96X_AX_C - 15,10X_BX_C \quad (1)$$

A Figura 3 apresenta a dispersão dos pontos para a relação ideal entre os valores preditos e os observados. Pode observar que há pouca dispersão dos pontos em torno da reta de equalidade.

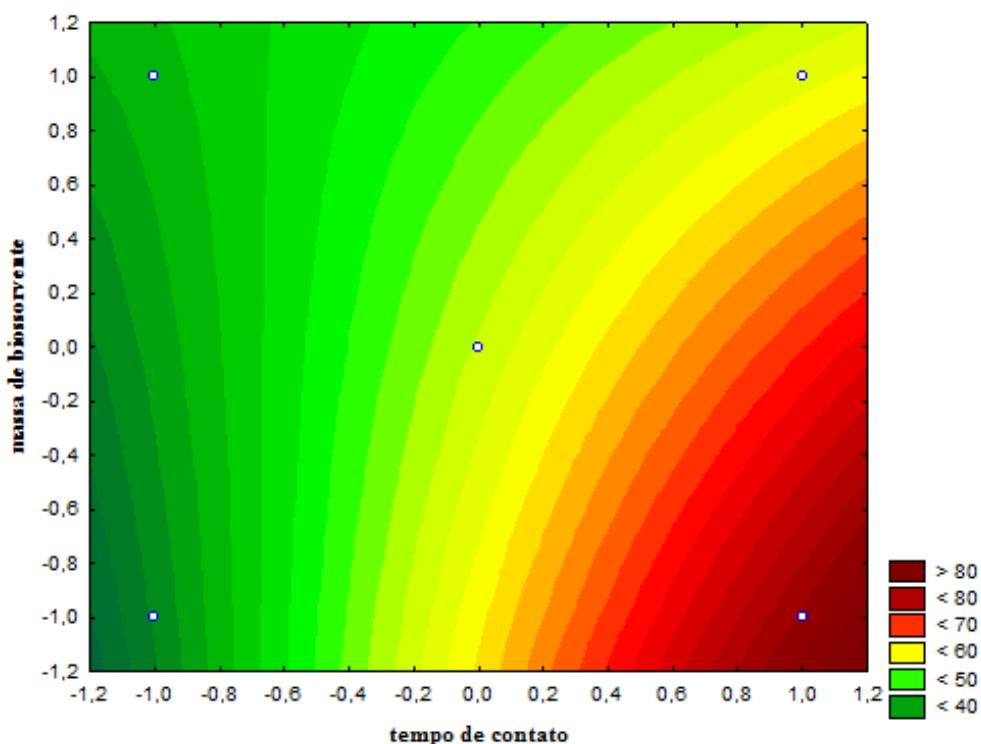
Figura 3 - Relação entre os valores observados e preditos pela equação



A Figura 4 apresenta as curvas de contorno para a eficiência no processo de bioassorção de Cu (II) em função da massa do bioassorvente e o tempo de contato. A melhor condição neste processo corresponde à menor concentração de bioassorvente e maior tempo de contato, removendo 86,01% de íons Cu (II).



Figura 4 – Curvas de contornos para variável resposta em função dos parâmetros – massa de bioassorvente e tempo de contato



Processos com pH na faixa de estudo (5,0, 6,0) pode-se utilizar uma quantidade reduzida de massa de bioassorvente, uma vez que esta não teve uma influência significativa entre o nível + e o nível -.

4 Considerações finais

A biomassa fúngica seca de *Pleurotus ostreatus*, utilizada como bioassorvente, foi capaz de remover íons metálicos de cobre (II) de soluções aquosas sintéticas.

A melhor condição neste processo corresponde à menor concentração de bioassorvente e maior tempo de experimento, sendo o tempo o parâmetro mais significativo sobre o processo de bioassorção, com um nível de confiança a 95%.

Referências

AHALYA, N., RAMACHANDRA, T.V.L., KANAMADI, R.D. "Biosorption of Heavy Metals". **Research Journal of Chemistry and Environment**, v. 7, n. 4, dezembro de 2003. pg. 4544-4552.

BRASIL, Resolução Nº 357, de 17 de Março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**, Brasília, DF, 02 mai. 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 18 de maio de 2011.



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

BISHNOI T., GARIMA, N.R. “*Fungus – An Alternative for Bioremediation of Heavy Metal Containing Wastewater: A review*”. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 64, Fevereiro de 2005, pg. 93–100.

FILHO, G.N.S.; OLIVEIRA, V.L. **Microbiologia Manual de Aulas Práticas**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2ª edição, 2007.

NIEBISCH C.H. **Biodegradação do Corante Têxtil Remazol Azul por Lentinus crinitus, Lepista sordida e Hydnopolyporus fimbriatus**. Dissertação de Mestrado em Ciências – Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009, 109 p.

QUINTELAS, C.M.C. **Implementação e Desenvolvimento de Sistemas de Biosorção para Fixação de Metais Pesados**. Tese de Doutorado em Engenharia Química e Biológica, Universidade do Minho, Braga – Portugal, 2007, 194 p.

SOUZA, J.I., SCHOENLEIN-CRUSIUS, I.H., PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A., SCHOENLEIN, N. C. “*Biosorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas de Saprolegnia subterranea (Dissmann) R.L. Seym. e Pythium torulosum Coker & P. Patt. (Oomycetes)*”. **Acta Botânica Brasilica**, v. 22, n. 1, 2008, pg. 217-223.

THOMÉ, L.C.P. **Bioacumulação de Íons de Pb⁺² na Macrófita *Salvinia Auriculata***. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, 2008, 110 p.

VOSS, M., THOMAS, R.W.S.P. “*Sorção de Cobre e Manganês por Bactérias Rizosféricas do Trigo*”. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, 2001, pg.947-951.