

BIOSSORÇÃO DE NEODÍMIO PELA LINHAGEM MELANIZADA DO FUNGO *Aspergillus nidulans*. André Pastrelo Cavallieri, Oswaldo Garcia Jr., Sandra Regina Pombeiro Sponchiado. – Microbiologia – Farmácia Bioquímica – Departamento de Bioquímica e Química Tecnológica – Instituto de Química – Campus de Araraquara.

A utilização de biomassa de fungos, especialmente as formas filamentosas, como bioabsorventes de metais vem sendo muito pesquisada como uma alternativa para tratamento de efluentes contendo metais pesados, principalmente em casos que os tratamentos convencionais não se aplicam ou são economicamente inviáveis (TUOVINEN E KELLY, 1974; KAPOOR e VIRARAGHAVAN, 1995; BAKKALOGLU *et al.*, 1998; AKSU, 2005; BISHNOI, 2005). O mecanismo de adsorção do metal à superfície celular também apresenta potencial aplicação para a extração e recuperação de metais valiosos, como ouro, prata e os terras-raras, pois combina as vantagens de um processo eficiente e com baixo custo operacional na recuperação de elementos de alto valor agregado e tecnológico (MURALEEDHARAN *et al.*, 1994; PHILIP *et al.*, 2000; PALMIERI *et al.*, 2000; PALMIERI *et al.*, 2002).

No entanto, a eficiência de bioabsorção pode variar consideravelmente entre espécies de fungos em função das diferenças na composição da parede celular, pois o processo de absorção de metais ocorre através de interações eletrostáticas entre o cátion metálico e a superfície celular carregada negativamente pela presença dos grupos carboxílicos, fosfatos e/ou sulfidrilas dos polissacarídeos e glicoproteínas (MURALEEDHARAN *et al.*, 1991; TOBIN *et al.*, 1994; VEGLIO e BEOLCHINI, 1997). Estudos têm mostrado que células melanizadas de vários fungos apresentam um alto potencial para interagir com metais pelo fato da melanina conter grupos funcionais que tornam-se sítios de ligação aos íons metálicos, aumentando a sua capacidade de adsorção (GADD e de ROME, 1988; FOGARTY e TOBIN, 1996). Siegel *et al.* (1986) observaram que a biomassa melanizada do fungo *Cladosporium cladosporioides* bioabsorveu de 2,5 a 4 vezes mais Ni, Cu, Zn, Cd, e Pb que o fungo não pigmentado *Penicillium digitatum*. Os estudos de Rizzo *et al.* (1992) indicaram que o fungo melanizado *Armillaria* adsorveu altas concentrações de cátions do ambiente, sendo que alguns íons (como Al, Zn, Fe, Cu e Pb) estavam 50 a 100 vezes mais concentrados no micélio que no solo. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a bioabsorção do metal terra-rara neodímio por uma linhagem melanizada do fungo de *Aspergillus nidulans*.

Os experimentos de bioabsorção foram realizados com biomassa obtida após crescimento de uma linhagem altamente melanizada do fungo *Aspergillus nidulans*, por 24, 48 e 72 horas a 37°C, sob agitação de 250 rpm. Nos ensaios foi utilizado 1% de biomassa úmida (massa ativa) ou 0,6% de biomassa seca (massa inativa) em 150 mL da solução de neodímio nas concentrações de 0,8 g L⁻¹; 1,6 g L⁻¹ e 3,2 g L⁻¹. Após incubação a 30°C, sob agitação de 250 rpm, foi retirada amostras nos tempos de 5, 10, 20, 30, 45, 60 e 120 minutos e procedeu-se a determinação da concentração de metal pela técnica Titulação Complexométrica com EDTA. O coeficiente de bioabsorção do metal (q) foi calculado da seguinte maneira: $q = [(C_0 - C_f) V] / M$, onde C₀ é a concentração inicial do metal (mg/L); C_f é a concentração final do metal após contato com a biomassa (mg/L); V é o volume da solução (L) e M é o peso da biomassa seca (g). O valor de q é expresso em miligrama de metal/grama de biomassa.

Neste trabalho foram realizados experimentos com o objetivo de comparar a eficiência do processo de bioabsorção pelas biomassas ativa (células viáveis) e inativa (células não viáveis). Os resultados obtidos mostraram que as biomassas inativas exibem um coeficiente de bioabsorção maior ou igual comparado a biomassa ativa, independente do pH utilizado no processo de bioabsorção e do tempo de cultivo do fungo (Tabelas 1 e 2). Estes resultados estão em concordância com outros trabalhos da literatura (GALUN *et al.*, 1983; SIEGEL *et al.*, 1990; TOBIN *et al.*, 1994; KAPOOR *et al.*, 1999; BISHNOI, 2005) e podem ser explicados pelo fato de que na inativação por calor seco ocorre um aumento da temperatura acompanhado da desidratação da biomassa, o que pode propiciar a “abertura” de outros grupos de ligação para o metal e, conseqüentemente, aumentar a capacidade de bioabsorção da biomassa.

Os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2 mostram que o estágio de crescimento do fungo *A. nidulans* influencia a capacidade de bioabsorção de neodímio, pois a biomassa de 72 horas apresentou um coeficiente de bioabsorção maior, em torno de 485 µmol/g, comparada a biomassa de 48

horas que apresentou uma bioissorção de 310 $\mu\text{mol/g}$. Estes resultados podem ser explicados pelas mudanças na composição da parede celular que ocorreram durante o crescimento, pois a linhagem utilizada neste trabalho apresenta uma produção aumentada do pigmento melanina em função do tempo de cultivo, ou seja, a biomassa de 48 horas apresenta-se pouco pigmentada enquanto que a biomassa de 72 horas torna-se escura em função da alta produção do pigmento.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho também foi verificado que o pH da solução de metal afeta a capacidade de bioissorção de neodímio pela biomassa do fungo *A. nidulans* (Tabelas 1 e 2), pelo fato de que o pH pode afetar a solubilidade do metal como também o estado de ionização dos grupos funcionais presentes na parede celular do fungo. Quando o pH da solução de bioissorção foi ajustada em 4,7 não foi observada diferença significativa no coeficiente de bioissorção para as biomassas ativa e inativa crescidas por 48 e 72 horas após 30 minutos (Tabela 1 e 2). No entanto, a capacidade de bioissorção de neodímio neste pH foi menor comparada com o experimento em pH 5,7 sendo que os valores obtidos para a biomassa inativa crescida por 72 horas foram, respectivamente, 54 e 70 mg/g após 60 minutos de incubação (Tabelas 2). Isto provavelmente ocorreu porque em pH 4,7 ocorre uma maior protonação dos grupos funcionais presentes na biomassa, o que acarreta uma diminuição da capacidade ligante do metal nestes grupos. Quando a bioissorção foi realizada em pH 6,7 notou-se que o coeficiente de bioissorção também foi menor em relação ao pH 5,7, pois considerando a biomassa inativa crescida por 72 horas obteve-se, respectivamente, os valores de 58,4 mg/g e 70 mg/g após 45 minutos de incubação (Tabelas 2). A diminuição da bioissorção no pH 6,7 pode ser decorrente do comportamento do metal neste pH, pois nesta condição a solubilidade do neodímio diminui e hidróxidos de neodímio podem ser formados, os quais dificultariam a interação do metal com o sítio ligante.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o pré-tratamento da biomassa, o estágio de crescimento do fungo e o pH da solução de bioissorção afetam a ligação de neodímio na biomassa do fungo estudado, sendo que as condições necessárias para uma maior bioissorção deste metal são: uma biomassa crescida por 72 horas, inativada pelo calor seco e incubada em uma solução de neodímio com pH ajustado em 5,7. Nestas condições foram realizados os experimentos para obtenção das isotermas de bioissorção com o objetivo de determinar a capacidade de bioissorção máxima de neodímio por este fungo. De acordo com os resultados obtidos, a bioissorção de neodímio aumenta rapidamente em baixas concentrações até atingir um valor de 925 $\mu\text{mol/g}$. Desta forma, este trabalho sugere que a utilização da biomassa melanizada de *A. nidulans* no processo de bioissorção de metais terras-raras apresenta um grande potencial biotecnológico para a recuperação de elementos de alto valor agregado e tecnológico.

Tabela 1 - Biossorção de Neodímio pelas Biomassas Ativa e Inativa de *Aspergillus nidulans* crescida por 48 horas a 37° C

Tempo de contato do metal com a biomassa	Coeficiente de biossorção de neodímio (mg/g)					
	pH 4,7		pH 5,7		pH 6,7	
	AT ^(a)	ICS ^(b)	AT ^(a)	ICS ^(b)	AT ^(a)	ICS ^(b)
5 minutos	27,9	30,8	26,8	29,1	27,4	38,5
10 minutos	41,0	39,4	26,8	33,6	45,3	44,0
20 minutos	39,5	51,9	26,8	40,3	45,3	45,8
30 minutos	46,4	50,0	28,9	44,8	48,9	47,6
45 minutos	44,5	50,0	35,1	44,8	49,0	51,2
60 minutos	42,8	51,8	31	40,3	47,2	49,4
120 minutos	42,8	50,0	26,8	40,3	47,2	49,4

(a) AT: Biomassa Ativa

(b) ICS: Biomassa Inativada por calor seco

Tabela 2 - Biossorção de Neodímio pelas Biomassas Ativa e Inativa de *Aspergillus nidulans* crescida por 72 horas a 37° C

Tempo de contato do metal com a biomassa	Coeficiente de biossorção de neodímio (mg/g)					
	pH 4,7		pH 5,7		pH 6,7	
	AT ^(a)	ICS ^(b)	AT ^(a)	ICS ^(b)	AT ^(a)	ICS ^(b)
5 minutos	30,9	33,8	33,7	37,5	33,1	40,4
10 minutos	46,9	39,3	39,9	46,2	60,1	54,8
20 minutos	46,9	52,1	54,4	60,0	58,2	56,6
30 minutos	50,5	50,2	62,1	67,5	60,2	60,2
45 minutos	50,5	50,2	62,1	70,0	60,2	58,4
60 minutos	46,9	54,0	62,1	70,0	62,1	56,4
120 minutos	48,7	54,0	62,1	67,5	60,2	58,4

(a) AT: Biomassa Ativa

(b) ICS: Biomassa Inativada por calor seco

Referências Bibliográficas

- AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review **Process Biochemistry** 40 (3-4), p.997-1026, MAR 2005.
- BAKKALOGLU, I.; BUTTER, T.J.; EVISON, L.M.; HOLLAND, F.S.; HANCOCK, I.C. Screening of various types biomass for removal and recovery of heavy metals (Zn,Cu,Ni) by biosorption, sedimentation and desorption. **Wat. Sci. Tech.** v.38, No.38, p269-277, 1998.
- BISHNOI N.R, GARIMA Fungus - An alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: A review **Journal Of Scientific & Industrial Research** 64 (2), p.93-100 ,FEB 2005.
- FOGARTY, R. V. & TOBIM, J. M. Fungal melanins and their interactions with metals. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 311-317, 1996.
- GADD, G.M.; and ROME, L. Biosorption of copper by fungal melanin. **Applied Microbiology Biotechnology**, 29, p.610-617, 1988.
- GALUN, M.; KELLER, P.; MALKI, D.; FELDSTEIN, H.; GALUM, E.; SIEGEL, S.M.; SIEGEL, B.Z. Removal of uranium (VI) from solution by fungal biomass and fungal wall-related biopolymers. **Science**, v.219, p.285-286, 1983.
- KAPPOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal Biosorption- Fungal biosorption- An alternative treatment option for heavy metal wastewaters: a review. **Bioresource Technology**, 53, p.195-206, 1995.
- MURALEEDHARAN, T.R.; IYENGAR, L.; and VENKOBACHAR, C. Biosorption: An attractive alternative for metal removal and recovery. **Curr. Sci.**, 61,(6), p.379-385, 1991.
- MURALEEDHARAN, T.R.; PHILIP, L.; IYENGAR, L.; VENKOBACHAR, C.; Application studies of biosorption for monoazite processing-industry effluents. **Bioresource Technology**, 49 (2), p.179-186, 1994 .
- PALMIERI, M.C.; GARCIA, O.; MELNIKOV, P. Neodymium biosorption from acidic solutions in batch system. **Process Biochemistry**, 36(5), p.441-444, 2000.
- PALMIERI, M.C.; VOLESKY ,B.; GARCIA, O. Biosorption of lanthanum using *Sargassum fluitans* in batch system. **Hydrometallurgy**, 36(1-3), p.31-36, 2002.
- PHILIP, L.; IYENGAR ,L.; VENKOBACHAR , C. Biosorption of U, La, Pr, Nd, Eu and Dy by *Pseudomonas aeruginosa* **Journal Of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 25 (1): 1-7, Jul 2000.
- RIZZO, D.M.; BLANCHETE; R.A.; PALMER, M.A. Biosorption of metal ions by *Armillaria rhizomorphs* **Can. J. Bot.**, 70, p.1515-1520, 1992.
- SIEGEL, S.M.; GALUN, M.; KELLER, P.; SIEGEL, B.Z.; GALUN, E. Fungal biosorption: A comparative study of metals uptake by *Penicillium* and *Cladosporium*. **Proc. Int. Symp. Met. Speciation, Separation and Recovery**. Illinois Institute of Technology and Italian Research Council, Chicago, I.L., III, p. 77-94, 1986.
- SIEGEL, S.M.; GALUN, M.; SIEGEL, B.Z. Filamentous fungi as metal biosorbents: a review. **Water, Air, and Soil Pollution**, 53, p.335-344, 1990.
- TOBIN, J.M.; WHITE, C.; GADD. G.M. Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology. **Journal of Industrial Microbiology**, 13, p.126-130, 1994.
- TUOVINEN, O.H.; KELLY, D.P. Use of microorganisms for the recovery of metals **Int. Metall. Revs.**, 19, p.21-31,1974.
- VEGLIO, F.; BEOLCHINI, F. Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, 44, p.301-316, 1997.

Bolsa: CNPq/PIBIC