



Jean da Silva Abbud

**Biocaptação de Hg (II) pela bactéria *Rhodococcus*
opacus.**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia dos Materiais da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Maurício Leonardo Torem

Rio de Janeiro
Agosto de 2010



Jean da Silva Abbud

**Biocaptação de Hg (II) pela bactéria *Rhodococcus*
opacus.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia dos Materiais do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Maurício Leonardo Torem

Orientador

Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia - PUC - Rio

Prof. Zuleica Carmen Castilhos

Centro de Tecnologia Mineral - CETEM

Prof. Roberto José de Carvalho

Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia - PUC - Rio

Prof. José Eugênio Leal

Coordenador Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 23 de agosto de 2010

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Jean da Silva Abbud

Graduou-se em Ciências Físicas e Biológicas na Universidade Severino Sombra em Vassouras - RJ 2007.

Ficha Catalográfica

Abbud, Jean da Silva

Biocaptação de Hg (II) pela bactéria *Rhodococcus opacus* / Jean da Silva Abbud ; orientador: Maurício Leonardo Torem. - 2010.

103 f.: il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado)-Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia de Materiais, Rio de Janeiro, 2010.

Inclui bibliografia

1. Engenharia de materiais - Teses. 2. *Rhodococcus opacus*. 3. Metais pesados. 4. Biossorção. 5. Bioflotação. I. Torem, Maurício Leonardo. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia de Materiais. III. Título.

CDD: 620.11

A todos os familiares e amigos
pelo apoio e confiança.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por estar sempre ao meu lado em todos os passos de minha vida.

Ao meu orientador e professor Maurício Leonardo Torem pelo apoio e confiança depositados durante a realização de todo o meu trabalho.

À CAPES, CNPq, e PUC-Rio pelo auxílio financeiro concedido.

Ao CETEM pelas análises de espectrometria de absorção atômica em especial à professora Zuleica Carmen Castilhos, Patrícia Araújo e à Laila.

À PUC-Rio pelas micrografias no Microscópio Eletrônico de Varredura e em especial ao professor Marcos Henrique de Pinho Mauricio e ao André Alves Ferreira .

Aos meus colegas da PUC-Rio, aos professores, pesquisadores e funcionários do Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia pelos ensinamentos e valiosas sugestões durante a realização deste trabalho.

Aos meus familiares pelo apoio oferecido e ajuda em todos os sentidos, em especial ao meu pai, minha irmã, sobrinhos, Alex, e a família de Raquel Zacaron Marques que hoje faz parte de minha vida, muito obrigado a todos vocês.

Ao Antonio Gutierrez Merma que é um verdadeiro amigo. Por seu apoio, paciência e compreensão.

A Raquel Zacaron Marques por todo amor, carinho e paciência.

Resumo

Abbud, Jean da Silva; Torem, Maurício Leonardo. **Biocaptação de Hg (II) pela bactéria *Rhodococcus opacus***. Rio de Janeiro, 2010. 103p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Engenharia dos Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Os efluentes líquidos contaminados com metais pesados é uma ameaça ambiental, os íons metálicos tóxicos encontram-se dissolvidos, atingindo eventualmente o topo da cadeia alimentar e assim, tornando-se um fator de risco para a saúde humana e ambiente. Diversos métodos de tratamento de efluentes como precipitação química, coagulação, floculação, flotação, troca iônica e filtração são empregados para remoção dos metais pesados. Entretanto, estes possuem algumas desvantagens quando empregados para tratamento de grandes volumes de efluentes líquidos com baixas concentrações de metais. Neste trabalho foi avaliada a cepa bacteriana *Rhodococcus opacus* como um potencial bioissorvente para a remoção de mercúrio de soluções aquosas através de bioissorção. O valor de pH adequado para a bioissorção foi em torno de 5 para o metal. Os dados correspondentes à capacidade de captação do *Rhodococcus opacus* em função da concentração do mercúrio foi bem ajustada ao modelo de Freundlich. A capacidade de captação máxima obtida foi de 37,9 mg.g⁻¹ para o mercúrio, equivalente a uma remoção de 73,42 %. A cinética de bioissorção para o mercúrio foi modelada pela equação de pseudo-segunda ordem. Foram avaliadas também as propriedades superficiais dos microorganismos antes e após a interação dos metais para poder determinar os possíveis mecanismos implicados na bioissorção mediante medições de espectroscopia de infravermelho. Os resultados apresentados mostram que o *Rhodococcus opacus* apresenta características adequadas no que tange a flotação bioissorativa para remoção de metais.

Palavras-chave

Bioissorção; Bioissorvente; Metais Pesados; Mercúrio; Bioacumulação.

Abstract

Abbud, Jean da Silva; Torem, Maurício Leonardo (AAdvisor). **Biocaptation of Hg (II) by bacterium Rhodococcus opacus**. Rio de Janeiro, 2010. 103p. MSc. Dissertation - Departamento de Engenharia dos Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Heavy metals presence in wastewaters is a common environmental threat, since these toxic metal ions are dissolved, eventually reaching the top of the food chain and thus become a risk factor to human health and the environment. Mercury is considered a pollutant of high risk been regulated by USEPA (United States Environmental Protection Agency). The concern regarding pollution by mercury emerges of the problems to health caused for exposition to methyl mercury found in the aquatic water and foods in normal conditions. Several methods of effluent treatment like chemical precipitation, coagulation, flocculation, flotation, ion exchange, filtration are used to remove heavy metals. These methods have some drawbacks when used for treating large volumes of wastewater with low concentration of the metal. In this study we evaluated the bacterial strain *Rhodococcus opacus* as a potential biosorbent for mercury removal from aqueous solutions through biosorption. The pH value suitable for the biosorption of the metal was around 5. The data corresponding to the uptake capacity of *Rhodococcus opacus* depending on the concentration of mercury was well adjusted to the Freundlich model. The maximum uptake capacity was about: 37.9 mg.g^{-1} for mercury equivalent to a removal of 73.42%. The kinetics of mercury biosorption was represented by a equation of pseudo-second order. We also evaluated the surface characteristics of the microorganism before and after the interaction of metals in order to determine the possible mechanisms involved in biosorption by measurements of infrared spectroscopy. The results demonstrated that *Rhodococcus opacus* shows good performance as biosorbent for bioaccumulation of Hg (II).

Keywords

Biosorption; Biosorbent; Heavy Metals; Mercury; Bioaccumulation.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 2. OBJETIVOS E RELEVÂNCIA DO TRABALHO | 18 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 18 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 18 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA | 19 |
| 3.1. OS METAIS E O MEIO AMBIENTE | 19 |
| 3.1.1. POLUIÇÃO POR METAIS TÓXICOS – INFLUÊNCIA NOS SERES HUMANOS | 21 |
| 3.1.2. MERCÚRIO | 22 |
| 3.1.3. MERCÚRIO NO MEIO AMBIENTE | 24 |
| 3.1.4. CICLO DO MERCÚRIO NO MEIO AMBIENTE | 25 |
| 3.2. MÉTODOS CONVENCIONAIS DE TRATAMENTO DE EFLUENTES | 26 |
| 3.2.1. PRECIPITAÇÃO QUÍMICA | 27 |
| 3.2.2. COAGULAÇÃO E FLOCULAÇÃO | 28 |
| 3.2.3. FLOTAÇÃO | 28 |
| 3.2.4. FILTRAÇÃO POR MEMBRANAS | 29 |
| 3.2.5. TROCA IÔNICA | 29 |
| 3.2.6. TRATAMENTO ELETROQUÍMICO | 30 |
| 3.2.7. ADSORÇÃO | 30 |
| 3.2.8. TRATAMENTO BIOLÓGICO | 31 |
| 3.3. BIOSORÇÃO | 32 |
| 3.3.1. CLASSES DE BIOMASSA – BIOSORVENTES | 35 |
| 3.3.2. CARGA ELÉTRICA DE SUPERFÍCIE | 36 |
| 3.3.3. POTENCIAL ZETA | 38 |
| 3.4. RHODOCOCCUS OPACUS | 39 |
| 3.5. MECANISMOS DE ACUMULAÇÃO DE METAIS POR MICRORGANISMOS | 41 |
| 3.5.1. TRANSPORTE ATRAVÉS DA MEMBRANA CELULAR | 42 |
| 3.5.2. ADSORÇÃO | 43 |
| 3.5.3. TROCA IÔNICA | 43 |

| | |
|--|----|
| 3.5.4. COMPLEXAÇÃO E PRECIPITAÇÃO | 44 |
| 3.5.5. QUELAÇÃO | 44 |
| 3.6. BIOSSORÇÃO USANDO VARIADOS TIPOS DE BIOMASSAS | 45 |
| 3.7. ALGUMAS VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM A BIOSSORÇÃO | 46 |
| 3.7.1. EFEITO DO pH | 46 |
| 3.7.2. EFEITO DA TEMPERATURA | 47 |
| 3.7.3. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO ÍON METÁLICO | 47 |
| 3.7.4. EFEITO DAS CONDIÇÕES DO BIOSSORVENTE | 49 |
| 3.7.5. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO | 49 |
| 3.7.6. CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO | 52 |
| | |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 58 |
| 4.1. OBTENÇÃO DO BIOSSORVENTE | 58 |
| 4.1.1. CULTIVO E CRESCIMENTO DO MICRORGANISMO | 58 |
| 4.2. PREPARO DAS SOLUÇÕES DE MERCÚRIO | 61 |
| 4.3. CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL BIOSSORVENTE | 61 |
| 4.3.1. POTENCIAL ZETA | 61 |
| 4.3.2. MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV) | 61 |
| 4.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO PORESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA | 62 |
| 4.5. ENSAIOS DE BIOSSORÇÃO | 64 |
| 4.5.1. INFLUÊNCIA DO pH | 64 |
| 4.5.2. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO BIOSSORVENTE | 64 |
| 4.5.3. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO ÍON METÁLICO | 65 |
| 4.5.4. CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO E TEMPO DE EQUILÍBRIO | 67 |
| 4.5.5. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA | 67 |
| | |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 68 |
| 5.1. DETERMINAÇÃO DO MERCÚRIO | 68 |
| 5.2. POTENCIAL ZETA | 68 |
| 5.3. MICROSCOPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV) | 69 |
| 5.4. ENSAIOS DE BIOSSORÇÃO | 72 |
| 5.4.1. INFLUÊNCIA DO pH | 72 |
| 5.4.2. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO BIOSSORVENTE | 74 |
| 5.4.3. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO ÍON METÁLICO | 76 |
| 5.4.4. CINÉTICA DE BIOSSORÇÃO E TEMPO DE EQUILÍBRIO | 78 |
| 5.4.5. ISOTERMAS DE BIOSSORÇÃO | 85 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| 5.4.5.1. ISOTERMA DE LANGMUIR | 85 |
| 5.4.5.2. ISOTERMA DE FRENDLICH | 89 |
| 5.4.5.3. ISOTERMA DE TEMKIN | 90 |
| 5.4.6. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA | 92 |
| 5.4.7. INFLUÊNCIA DO TEMPO DE CONTATO | 94 |
| | |
| 6.CONCLUSÕES | 96 |
| | |
| 7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 98 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. Principais fontes poluidoras de mercúrio. | 16 |
| FIGURA 2. Tipos de interação e de reações entre as fases sólida e líquida da biosfera. | 20 |
| FIGURA 3. Ciclo simplificado do mercúrio no ambiente. | 25 |
| FIGURA 4. Uso de água e geração de efluentes na indústria. | 26 |
| FIGURA 5. Parede celular das bactérias a) Gram-positivas e b) Gram-negativas | 37 |
| FIGURA 6. Modelo da Dupla Camada. | 37 |
| FIGURA 7. Mecanismos de Biossorção: classificação de acordo com dependência do metabolismo celular. | 38 |
| FIGURA 8. Mecanismos de Biossorção: classificação de acordo com o sítio ativo onde o metal é removido. | 42 |
| FIGURA 9. Formação de um complexo entre um ácido carboxílico e um íon metálico. | 44 |
| FIGURA 10. Formação de um quelato entre uma hidroxila, um grupo carboxílico e um íon metálico. | 45 |
| FIGURA 11. Classificação das isotermas baseado na curvatura. | 49 |
| FIGURA 12. Bactéria <i>Rhodococcus opacus</i> após crescimento em meio sólido. | 59 |
| FIGURA 13. Bactéria <i>Rhodococcus opacus</i> após crescimento em meio líquido. | 60 |
| FIGURA 14. Espectrofotômetro de absorção atômica (CETEM-RJ). | 63 |
| FIGURA 15. Espectrofotômetro de absorção atômica (CETEM-RJ). | 63 |
| FIGURA 16. Potencial Zeta do <i>Rhodococcus opacus</i> após interação com o mercúrio numa concentração de 10 mg.L^{-1} ; concentração de eletrólito indiferente de 10^{-3} M de NaCl. | 69 |
| FIGURA 17. Micrografia da biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> antes da biossorção, aumento de 3000 vezes. | 70 |
| FIGURA 18. Micrografia da biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> antes da biossorção, aumento de 5500 vezes. | 70 |
| FIGURA 19. Micrografia da biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> depois da biossorção, aumento de 3000 vezes. | 71 |
| FIGURA 20. Micrografia da biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> depois da | |

| | |
|--|----|
| biossorção, aumento de 5500 vezes. | 71 |
| FIGURA 21. Efeito da variação do pH na biossorção de Hg. | 73 |
| FIGURA 22. Diagrama de especiação de Mercúrio. | 74 |
| FIGURA 23. Efeito da Concentração de Biomassa na biossorção de Hg. | 75 |
| FIGURA 24. Efeito da Concentração do íon metálico na biossorção de Hg. | 76 |
| FIGURA 25. Variação da capacidade de biossorção do mercúrio em função do tempo de contato. | 78 |
| FIGURA 26. Efeito do tempo de contato na biossorção de Hg. | 79 |
| FIGURA 27. Representação gráfica para teste de ordem zero para o processo de biossorção de Hg empregando biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> . | 80 |
| FIGURA 28. Representação gráfica para teste de primeira ordem para o processo de biossorção Hg empregando a biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i> . | 81 |
| FIGURA 29. Representação gráfica para teste de segunda ordem para o processo de biossorção de Hg empregando a biomassa <i>Rhodococcus Opacus</i> . | 82 |
| FIGURA 30. Representação gráfica do modelo de Langergren (pseudo-primeira ordem) para o processo de biossorção de Hg empregando a biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> . | 83 |
| FIGURA 31. Representação gráfica do modelo de pseudo-segunda ordem para o processo de biossorção de Hg empregando a biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> . | 84 |
| FIGURA 32. Isoterma de Langmuir para mercúrio na forma não linearizada. | 86 |
| FIGURA 33. Isoterma de langmuir para mercúrio na forma linearizada. | 87 |
| FIGURA 34. Isoterma de freundlich para mercúrio na forma não linearizada. | 89 |
| FIGURA 35. Isoterma de freundlich para mercúrio na forma linearizada. | 90 |
| FIGURA 36. Isoterma de temkin para mercúrio na forma não linearizada. | 91 |
| FIGURA 37. Isoterma de temkin para mercúrio na forma linerarizada. | 92 |
| FIGURA 38. Efeito da Temperatura na biossorção de Hg. | 93 |
| FIGURA 39. Efeito do tempo de contato na biossorção do íon Hg por <i>Rhodococcus opacus</i> . | 95 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| TABELA 1. Principais poluentes industriais. | 15 |
| TABELA 2. Efeito dos metais na saúde humana. | 22 |
| TABELA 3. Propriedades físico-químicas do mercúrio. | 23 |
| TABELA 4. Principais técnicas de tratamento de efluentes industriais e algumas de suas vantagens e desvantagens. | 32 |
| TABELA 5. Algumas das diversas biomassas já estudadas. | 36 |
| TABELA 6. Valores de PIE para diferentes espécies de bactérias. | 39 |
| TABELA 7. Melhores taxas de remoção de íons metálicos feito por pesquisadores do grupo utilizando a cepa bacteriana <i>Rhodococcus opacus</i> . | 46 |
| TABELA 8. Melhores taxas de remoção de íons metálicos feito por pesquisadores do grupo utilizando o pó da casca de coco verde (<i>Cocos nucifera</i>). | 46 |
| TABELA 9. Meio de cultivo sólido utilizado no cultivo bacteriano. | 59 |
| TABELA 10. Meio de cultivo líquido utilizado no cultivo bacteriano. | 59 |
| TABELA 11. Condições a serem empregadas para a determinação da influencia do pH. | 64 |
| TABELA 12. Condições a serem empregadas para a determinação da influencia da concentração de biossorvente. | 65 |
| TABELA 13. Condições a serem empregadas para a determinação da influencia da concentração inicial do íon metálico. | 66 |
| TABELA 14. Condições a serem empregadas na determinação do tempo de equilíbrio. | 66 |
| TABELA 15. Condições a serem empregadas para a determinação da influencia da temperatura. | 67 |
| TABELA 16. Efeito da variação do pH na biossorção de Hg. | 74 |
| TABELA 17. Efeito da Concentração de Biomassa na biossorção de Hg. | 76 |
| TABELA 18. Efeito da Concentração do íon metálico na biossorção de Hg. | 77 |
| TABELA 19. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-primeira ordem linearizado. | 83 |
| TABELA 20. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-segunda ordem linearizado. | 85 |
| TABELA 21. Constantes de adsorção de Langmuir para o mercúrio a 25 °C. | 87 |
| TABELA 22. Valores do parâmetro de equilíbrio RL. | 88 |

| | |
|--|----|
| TABELA23. Valores de R_L para para a biossorção de mercúrio para o <i>Rhodococcus opacus</i> . | 89 |
| TABELA 24. Constantes de adsorção de Freundlich para o mercúrio a 25 °C. | 90 |
| TABELA 25. Constantes de adsorção de Temkin para o mercúrio a 25 °C. | 92 |
| TABELA 26. Efeito da temperatura na biossorção de Hg. | 93 |
| TABELA 27. Efeito do tempo de contato na biossorção do íon Hg por <i>Rhodococcus opacus</i> . | 94 |