

**COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS DE BIOSSORÇÃO DOS ELEMENTOS
TERRAS-RARAS LANTÂNIO E NEODÍMIO UTILIZANDO BIOMASSAS DE
FUNGOS FILAMENTOSOS**

JULIANA BALDIN CAPORALIN D’AVOGLIO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

2007

JULIANA BALDIN CAPORALIN D'AVOGLIO

**COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS DE BIODISSORÇÃO DOS ELEMENTOS
TERRAS-RARAS LANTÂNIO E NEODÍMIO UTILIZANDO BIOMASSAS DE
FUNGOS FILAMENTOSOS**

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia.**

Orientadora: Prof^ª. Dra. Sandra Regina Pombeiro Sponchiado

**Araraquara
2007**

JULIANA BALDIN CAPORALIN D'AVOGLIO

1. Dados pessoais:

1.1. **Data de nascimento:** 30 de junho de 1982

1.2. **Naturalidade:** Votuporanga – SP

1.3. **Estado civil:** casada

1.4. **Filiação:** Edimir Caporalin

Maria Lucia Baldin

2. Formação acadêmica:

2.1. Graduação:

Licenciatura em Ciências Biológicas – UNIFEV – Centro Universitário de Votuporanga – 2001 / 2004.

2.2. Pós-graduação:

Mestrado em Biotecnologia – UNESP – Universidade Estadual Paulista – 2005 / atual.

3. Comunicações em eventos:

D'Avoglio, J.B.C.; Sábio, K.A.G. Estudo da frequência de possíveis criadouros do vetor do Dengue no município de Votuporanga/SP. 4^o Congresso Nacional de Iniciação Científica - CONIC – SEMESP, 2004.

D'Avoglio, J.B.C.; Graminha, E.B.N.; Guez, M.A.U.; Silva, R.; Gomes, E. Produção de enzimas lignolíticas utilizando resíduos agroindustriais. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005.

Graminha, E.B.N.; Guez, M.A.U.; D'Avoglio, J.B.C.; Silva, R.; Gomes, E. Produção de enzimas com fungo termofílico (Zigomiceto) por meio de fermentação em estado sólido utilizando casca de soja. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005.

Guez, M.A.U.; Martin, N.; Graminha, E.B.N.; D'Avoglio, J.B.C.; Silva, R.; Gomes, E. Perfil de enzimas degradadoras de polímeros vegetais obtidos em fermentação em estado sólido com espécie termotolerante *Aspergillus* ssp. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005.

D'Avoglio, J. B.C.; Leite, C.A.; Berlinck, R.G.S.; Sponchiado, S.R.P. Biossorção de lantânio por fungos isolados do litoral paulista. XXXVI Semana da Química, 2006.

D'Avoglio, J. B.C.; Leite, C.A.; Berlinck, R.G.S.; Sponchiado, S.R.P. Biossorção de lantânio e neodímio por fungos isolados do litoral paulista. EESC / USP: III Simpósio da Engenharia Ambiental: Tecnologias aplicadas ao meio ambiente, 2006.

D'Avoglio, J. B.C.; Sponchiado, S.R.P. Estudo da bio sorção de metais terras-raras por fungos isolados do litoral paulista. XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos – SINAFERM, 2007.

4. Palestra proferida:

V Simpósio de Biologia

Tema: Bio sorção de metais terras-raras por fungos filamentosos

Instituição: UNIFEV – Centro Universitário de Votuporanga

Dia: 27/09/2006

À minha mãe, **Maria Lucia**, que com toda a força, amor e dedicação tornou possível a minha formação pessoal e profissional.

Espelho-me em você para ser uma pessoa correta, batalhadora e digna.

Obrigada por ter me escolhido sua filha.

Aos meus avós, **José e Tereza**, por dedicarem suas vidas à nossa família. Obrigada por todo amor, carinho, respeito, atenção e auxílio.

À minha irmã, **Carolina**, por ser minha companheira de vida. Obrigada por todo amor, carinho e respeito que nutre por mim. Admiro e me espelho em seu caráter, força de vontade e inteligência.

Agradeço a Deus por poder compartilhar a minha vida com esta família.

Ao meu companheiro de vida,
Arnaldo, por todos estes anos de
alegrias, amor, carinho, incentivo,
respeito....

Por sempre me apoiar e acreditar
em meu potencial.

Obrigada

A Prof^ª. **Sandra**, minha orientadora, pela confiança, compreensão, paciência, incentivo e amizade.

Devo meu crescimento científico a você e, por isso, sempre terei a agradecer.

Esta dissertação se fez possível graças à participação de muitas pessoas, as quais contribuíram direta ou indiretamente não apenas para o desenvolvimento deste trabalho, mas para meu crescimento como ser humano.

Aqui ficam expressos os meus mais sinceros agradecimentos:

Ao Prof. Dr. **João Carlos Bonfanti Almeida** pelo grande e decisivo incentivo para seguir a carreira acadêmica, além dos incontáveis conhecimentos durante a graduação.

A Prof^a. Dra. **Eleni Gomes** pela honra de trilhar meus primeiros passos desta jornada ao seu lado.

A Prof^a. Dra. **Sandra Regina Pombeiro Sponchiado** pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, pela orientação, amizade e compreensão.

Ao Prof. Dr. **Oswaldo Garcia Jr** pelo suporte dado no início do trabalho com biossorção.

A Prof^a. Dra. **Maria Lucia Gonsales da Costa Araújo** pelos conhecimentos e auxílio na construção das isotermas.

À **Fátima**, amiga, companheira e grande auxiliadora em todos os momentos.

Ao amigo **André**, por compartilhar seus conhecimentos, colaborar e apoiar este trabalho, além dos incontáveis momentos de descontração.

Às amigas **Rita, Carla, Taís e Marina** pela amizade, auxílio e sugestões.

À **Tatiana** pelo companheirismo e inestimável amizade.

À **Hellen** pela grande amizade, incentivo e sugestões, não só profissionais mas de vida.

Aos amigos **Oedem, Adelino e Tatiana Corrêa** pela amizade e momentos de descontração.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química e, em especial a **Waldenir**, pela grande colaboração e momentos de descontração.

Aos professores da UNESP – Universidade Estadual Paulista, pelos ensinamentos, atenção e apoio nas disciplinas ministradas.

À seção de pós-graduação: **Sandra, Patrícia e Célia** pela simpatia, atenção e prestatividade.

Aos funcionários da biblioteca do Instituto de Química, pela cordialidade, disponibilidade e atenção ao longo deste caminho.

A Capes, pela bolsa concedida.

Aos docentes do Centro Universitário de Votuporanga – UNIFEV, pela contribuição na minha formação acadêmica.

“Mais importante que o conhecimento é a imaginação...”

Se o conhecimento nos permite alcançar os limites do universo, a imaginação nos faz transpor os seus umbrais. Não existe a formação do conhecimento sem a ousadia do pensar.

Albert Einstein

*“Nunca seremos suficientemente gratos
a Deus, a nossos pais e a nossos
mestres”.*

Aristóteles

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Microrganismos e metais.....	2
1.2. Biossorção de metais.....	3
1.3. Fatores que afetam o processo biossortivo.....	7
1.4. Delineamento do processo de biossorção.....	8
1.5. Biossorção de metais terras-raras.....	10
2. OBJETIVOS.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1. Materiais.....	19
3.1.1. Fungos.....	19
3.1.2. Meios de cultura.....	19
3.1.3. Solução de metais.....	20
3.2. Métodos.....	20
3.2.1. Estoque dos fungos.....	20
3.2.2. Identificação dos fungos.....	20
3.2.3. Preparação da suspensão de conídios.....	21
3.2.4. Obtenção da biomassa celular.....	21
3.2.5. Avaliação do crescimento.....	22
3.2.6. Cinéticas de biossorção.....	22
3.2.7. Isotermas de biossorção.....	23
3.2.8. Dessorção.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Identificação dos fungos.....	26
4.2. Cinética de crescimento.....	28
4.3. Cinéticas de biossorção de neodímio e lantânio.....	31
4.4. Isotermas de biossorção.....	36
4.5. Dessorção de neodímio e lantânio.....	46
5. CONCLUSÕES.....	49
6. REFERÊNCIAS.....	53
7. ANEXO.....	61

Figura 1. Mecanismos de interação de microrganismos com metais.....	3
Figura 2. Principais polissacarídeos presentes na parede celular fúngica.....	5
Figura 3. Estrutura química da melanina.....	6
Figura 4. Representação da isoterma de Langmuir.....	10
Figura 5. Valores dos TRs neodímio e lantânio de 1959 a 1998.....	14
Figura 6. Cinética de bioissorção de neodímio, fungos cultivados sob agitação.....	32
Figura 7. Cinética de bioissorção de neodímio, fungos cultivados sem agitação.....	32
Figura 8. Cinética de bioissorção de lantânio, fungos cultivados sob agitação.....	33
Figura 9. Cinética de bioissorção de lantânio, fungos cultivados sem agitação.....	33
Figura 10. Isooterma de bioissorção de neodímio de <i>A. alternata</i>	37
Figura 11. Isooterma de bioissorção de lantânio de <i>A. alternata</i>	37
Figura 12. Isooterma de bioissorção de neodímio de <i>A. terreus</i>	38
Figura 13. Isooterma de bioissorção de lantânio de <i>A. terreus</i>	38
Figura 14. Isooterma de bioissorção de neodímio de <i>A. versicolor</i>	39
Figura 15. Isooterma de bioissorção de lantânio de <i>A. versicolor</i>	39
Figura 16. Isooterma de bioissorção de neodímio de <i>Chrysosporium</i> spp.....	40
Figura 17. Isooterma de bioissorção de lantânio de <i>Chrysosporium</i> spp.....	40
Figura 18. Isooterma de bioissorção de neodímio de <i>Cladosporium</i> sp.....	41
Figura 19. Isooterma de bioissorção de lantânio de <i>Cladosporium</i> sp.....	41
Figura 20. Isooterma de bioissorção de neodímio de <i>Rhizopus</i> spp.....	42
Figura 21. Isooterma de bioissorção de lantânio de <i>Rhizopus</i> spp.....	42
Figura 22. Dessorção dos metais terras-raras, fungos cultivados sob agitação.....	47
Figura 23. Dessorção dos metais terras-raras, fungos cultivados sem agitação.....	47

Tabela 1. Porcentagem de elementos terras-raras na monazita brasileira.....	12
Tabela 2. Eventos significantes que afetaram o preço dos TRs.....	13
Tabela 3. Biossorção de elementos terras-raras por microrganismos.....	15
Tabela 4. Origem dos fungos utilizados.....	19
Tabela 5. Descrição das características dos fungos.....	27
Tabela 6. Crescimento dos fungos, em culturas com e sem agitação.....	29
Tabela 7. $q_{m\acute{a}x}$ e b de neodímio por fungos cultivados sob agitação.....	43
Tabela 8. $q_{m\acute{a}x}$ e b de neodímio por fungos cultivados sem agitação.....	43
Tabela 9. $q_{m\acute{a}x}$ e b de lantânio por fungos cultivados sob agitação.....	43
Tabela 10. $q_{m\acute{a}x}$ e b de lantânio por fungos cultivados sem agitação.....	43

O processo de biossorção, que consiste na adsorção do metal à superfície celular, apresenta potencial aplicação para a extração e separação de metais valiosos, como os terras-raras. Estes metais vêm despertando atenção especial devido sua utilização como matéria-prima na fabricação de super ligas, componentes eletrônicos, cerâmicas especiais, dentre outras. O alto valor agregado destes metais provém não de sua baixa ocorrência mineral, mas da dificuldade de obtenção destes elementos na sua forma pura, a qual é necessária para as suas aplicações tecnológicas. Neste contexto, o estudo do processo de biossorção de TRs utilizando biomassas de microrganismos, principalmente fungos filamentosos, apresenta um grande interesse biotecnológico, pois representa uma alternativa promissora que combina as vantagens de um processo eficiente com menor custo operacional para a separação e/ou recuperação destes elementos de alto valor agregado e tecnológico. No entanto, a eficiência do processo de biossorção pode variar consideravelmente entre espécies de fungos, pois a capacidade de adsorver metais depende diretamente dos grupos funcionais presentes na superfície celular do microrganismo. Por esta razão, o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a potencialidade de utilização de biomassa de fungos filamentosos no processo de biossorção para separação dos metais lantânio e neodímio, visando a seleção de espécies que apresentem uma maior diferença na capacidade dessortiva para os metais em estudo. Os resultados referentes à cinética de biossorção revelaram que a capacidade de biossorção dos metais lantânio e neodímio variaram entre os diferentes fungos estudados, sendo que esta capacidade foi superior nas biomassas inativas e cultivadas sob agitação comparada às ativas, cultivadas sem agitação. Em relação ao coeficiente máximo de biossorção ($q_{m\acute{a}x}$) observou-se que o fungo *Cladosporium* sp. apresentou os maiores valores de $q_{m\acute{a}x}$ para neodímio, em ambas condições de cultivo, enquanto que para lantânio o maior $q_{m\acute{a}x}$ foi obtido para o fungo *Chrysosporium* spp. cultivado sob agitação, e para o *Rhizopus* spp. cultivado sem agitação. Por outro lado, o fungo *Cladosporium* sp., cultivado sem agitação, apresentou uma maior afinidade pelo metal lantânio que para o neodímio e como consequência mostrou uma grande diferença nos metais dessorvidos, sendo que a porcentagem de dessorção para lantânio foi muito superior a de neodímio. Estes dados indicam que o fungo *Cladosporium* sp. apresenta potencial biotecnológico para ser utilizado no processo de biossorção, visando à separação dos metais terras-raras como neodímio e lantânio.

Palavras-chave: biossorção, fungos filamentosos, metais terras-raras, neodímio, lantânio, dessorção.

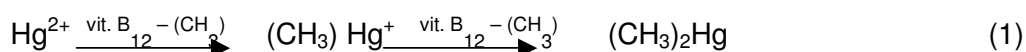
The biosorption process, which consists in the adsorption of metals into the cellular surface, presents a potential application for the extraction and separation of the precious metals, such as the rare earths. These metals have garnered special attention due to their utilization as raw materials in the manufacture of super alloys, electronic components, modified steel, hydrogen stockage, special ceramics, among others. The high aggregate value of these metals is not due to their low mineral availability, but is due to the difficulty of obtaining these elements in their pure form, which is necessary for their technological applications. In this sense, the study of the biosorption process of rare earth metals utilizing microorganism biomass, principally filamentous fungi, presents great biotechnological interest, because it represents an alternative that combines the advantages of an efficient process with minor operational costs for the separation and/or recovery of these elements of high aggregate and technological value. However, the efficiency of the biosorption process may vary considerably among fungi species, because the capacity to adsorb metals depends directly on the functional groups present in the cellular surface of the microorganism. For this reason, the present work has as its main aim the evaluation of the potential to use filamentous fungi biomass in the biosorption process for the separation of two earth rare, lanthanum and neodymium, aiming at a screening of species that presents a great difference in the desorption capacity for the metals under study. The results regarding the biosorption kinetics revealed that the biosorption capacity for the metals lanthanum e neodymium varied between the different fungi, being that this capacity was greater in the inactive biomass grown under agitation compared with to that active and cultivated without agitation. In relation to maximum biosorption capacity ($q_{m\acute{a}x}$), the fungus *Cladosporium* sp. showed the biggest values for neodymium, in both culture condition, while for lanthanum the highest $q_{m\acute{a}x}$ was to the fungus *Chrysosporium* spp. cultivated under agitation, and to *Rhizopus* spp. cultivated without agitation. On the other hand, the fungus *Cladosporium* sp. cultivated without agitation presented the higher affinity for the metal lanthanum than for neodymium and as consequence it showed a great difference in the desorption of these metals, being the percentage of lanthanum desorbed was much greater than that of neodymium. These data indicate that the fungus *Cladosporium* sp. presents biotechnological potential to be utilized in a biosorption process seeking the separation of rare earth metals such as neodymium and lanthanum.

Keywords: biosorption, filamentous fungi, rare-earth metals, neodymium, lanthanum, desorption.

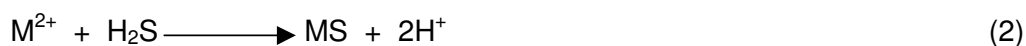
1.1. MICRORGANISMOS E METAIS

Os microrganismos possuem a habilidade de interagir com metais do ambiente que os cerca, uma vez que alguns metais como ferro, zinco, cobre, molibdênio, compõem um grande número de suas moléculas biológicas e também participam de reações metabólicas. Os microrganismos também apresentam mecanismos de proteção para a toxicidade de metais através de interações que podem ocorrer tanto em nível de revestimento celular (paredes e membranas) quanto no interior das células (GRIFFIN, 1994; GARCIA JR, 1997). Como mostrado na Figura 1, estes mecanismos podem ser:

a) Volatilização – consiste na transformação de cátions metálicos tóxicos e metalóides em suas formas metiladas, como por exemplo, a metilação microbiana do mercúrio através da produção e excreção de metilcobalamina (vitamina B₁₂ metilada), como mostrado na equação (1):



b) Precipitação extracelular – imobilização de metais, em solos e sedimentos, devido à ligação destes com produtos metabólicos microbianos excretados. Tem-se, por exemplo, a precipitação do metal (M²⁺) pela ligação deste com H₂S produzido por bactéria formando sulfeto metálico (MS), como mostrado na equação (2):



c) Adsorção – ligação de íons metálicos nos grupos carboxilas, aminas, sulfatos e outros presentes na superfície celular, a qual pode ocorrer em organismos vivos ou não, uma vez que compreende uma série de processos que independem da energia do metabolismo (KAPOOR et al., 1999; PALMIERI et al., 2002; SANTOS et al., 2004; AKSU, 2005).

d) Bioacumulação - transporte de íons metálicos através da membrana da célula em direção ao citoplasma, sendo que este processo ocorre somente em organismos vivos, pois depende da energia proveniente do metabolismo (DONMEZ et al., 1999).

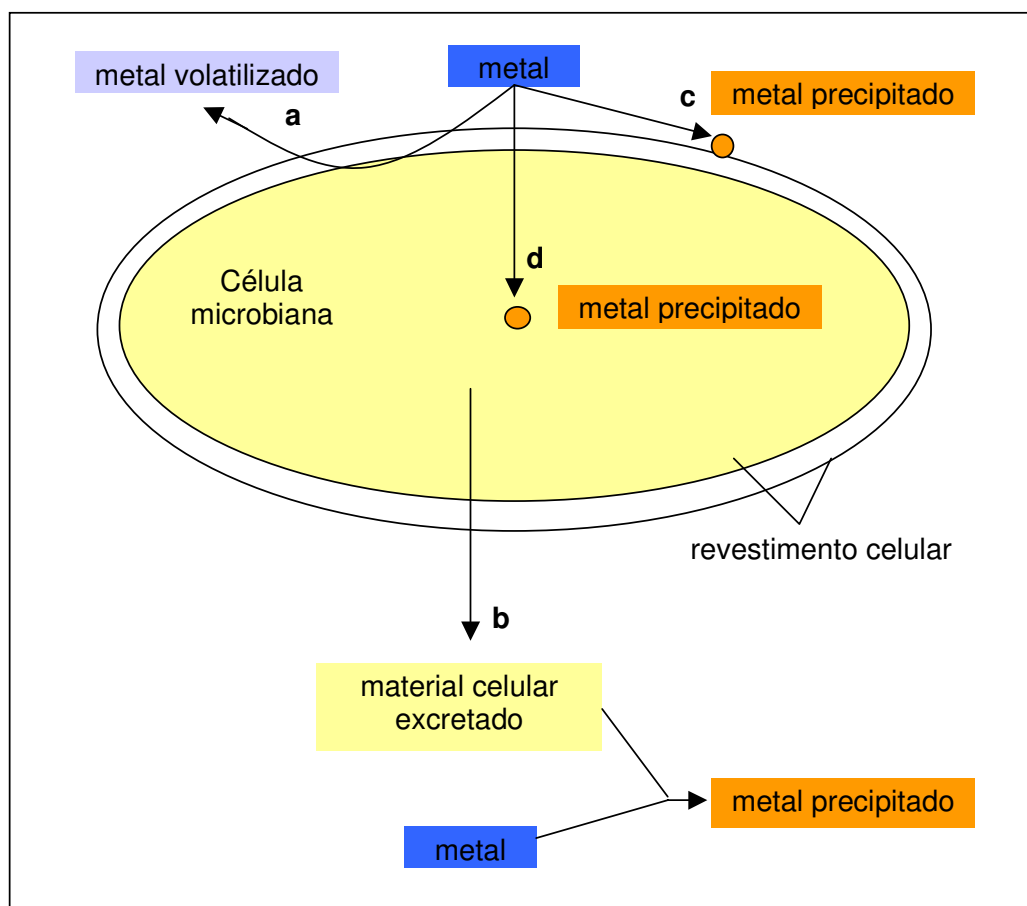


Figura 1. Mecanismos de interação de microrganismos com metais. a) Volatilização; b) Precipitação extracelular; c) Adsorção; d) Bioacumulação. Fonte: GARCIA JR, 1997.

1.2. BIOSORÇÃO DE METAIS

Metais tóxicos presentes em efluentes domésticos e em resíduos da atividade agrícola e industrial (como a mineração) causam danos ao meio ambiente e risco à saúde humana, devido a sua toxicidade, acumulação na cadeia alimentar e persistência na natureza (MURALEEDHARAN et al., 1991; BAKKALOGLU et al., 1998; GAVRILESCU, 2004).

Em geral, o tratamento desta contaminação utiliza métodos convencionais como, precipitação, floculação, extração por solvente, filtração por membrana, troca iônica ou adsorção por carbono ativado (KENTISH; STEVENS, 2001). Estas técnicas mostram-se ineficazes em função da sua baixa eficiência de recuperação, geração de resíduos secundários de difícil tratamento e também pelos elevados custos operacionais e de capital, devido à necessidade de reagentes e/ou energia

(SIEGEL et al., 1990; KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995; FILIPOVIC-KOVACEVIC et al., 2000; PALMIERI et al., 2000; FRANCO et al., 2004; AKSU, 2005).

Neste sentido, a biossorção apresenta-se como uma alternativa para substituir ou suplementar estas técnicas, pois além de exibir uma alta eficiência e seletividade para a recuperação de metais, mostra uma performance comparável às resinas comerciais de troca iônica. Outra vantagem deste processo é um custo de produção menor comparado aos métodos convencionais, pois permite a utilização de biomassa facilmente obtida em grandes quantidades a partir de processos fermentativos industriais, como cervejarias e laticínios (MURALEEDHARAN et al., 1991; KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995; PALMIERI et al., 2000; ANDRÈS, 2003; BAYRAMOGLU et al., 2003; AKSU, 2005).

Vários estudos têm mostrado que a utilização da biomassa de fungos, em especial os filamentosos, no processo de biossorção pode ser comparável a agentes químicos largamente usados para remoção de metais, como Filtrasorb-400 (ROME; GADD, 1991; MURALEEDHARAN et al., 1994; KAPOOR et al., 1999; FOMINA; GADD, 2002; VOLESKY, 2003; JEON et al., 2005).

No entanto, a eficiência do processo de biossorção pode variar consideravelmente entre as espécies de fungos em função da composição da parede celular, pois a presença de grupos funcionais (como carboxil, amina, sulfidril, fosfato e hidroxil) pode potencializar a capacidade de ligação metal-biomassa (MURALEEDHARAN et al., 1991). A parede celular fúngica apresenta uma estrutura microfibrilar multilaminada constituída por duas fases, sendo a externa constituída por glicanas, mananas ou galactanas e, a interna microfibrilar, com um arranjo paralelo de quitina e, algumas vezes, celulose (Figura 2). Existe ainda, uma transição contínua entre estas fases, ligadas por proteínas, lipídeos e polissacarídeos (VOLESKY, 1990).

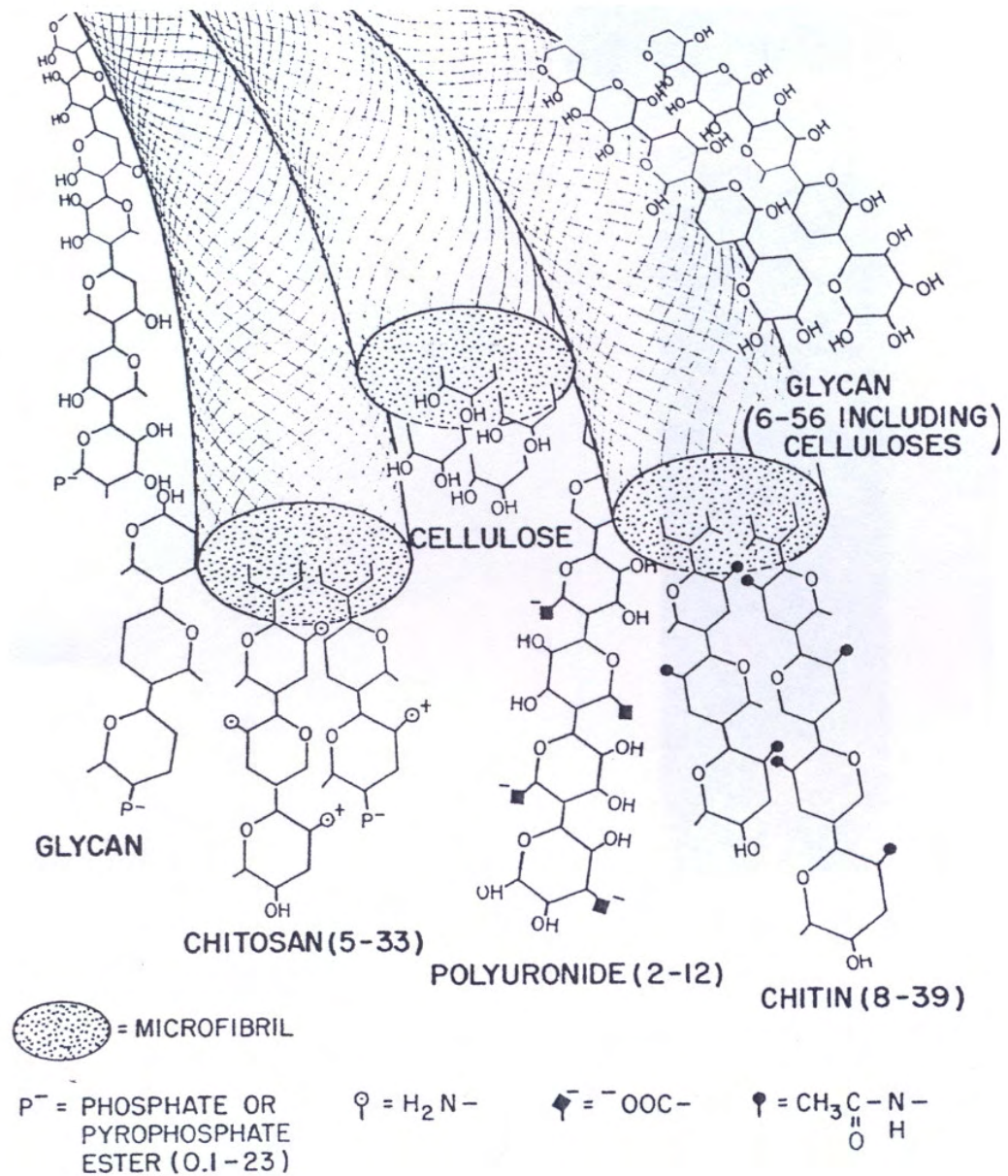


Figura 2. Principais polissacarídeos presentes na parede celular fúngica, ativos durante a biossorção. Fonte: SIEGEL et al., 1990.

Estudos têm mostrado que células melanizadas de vários fungos apresentam um alto potencial para interagir com metais, provavelmente pelo fato da melanina incorporada à parede celular de esporos e hifas conter grupos funcionais (Figura 3) que se tornam sítios de ligação aos íons metálicos, aumentando a sua capacidade de adsorção (BLOIS, 1978; GADD; ROME, 1988; FOGARTY; TOBIN, 1996).

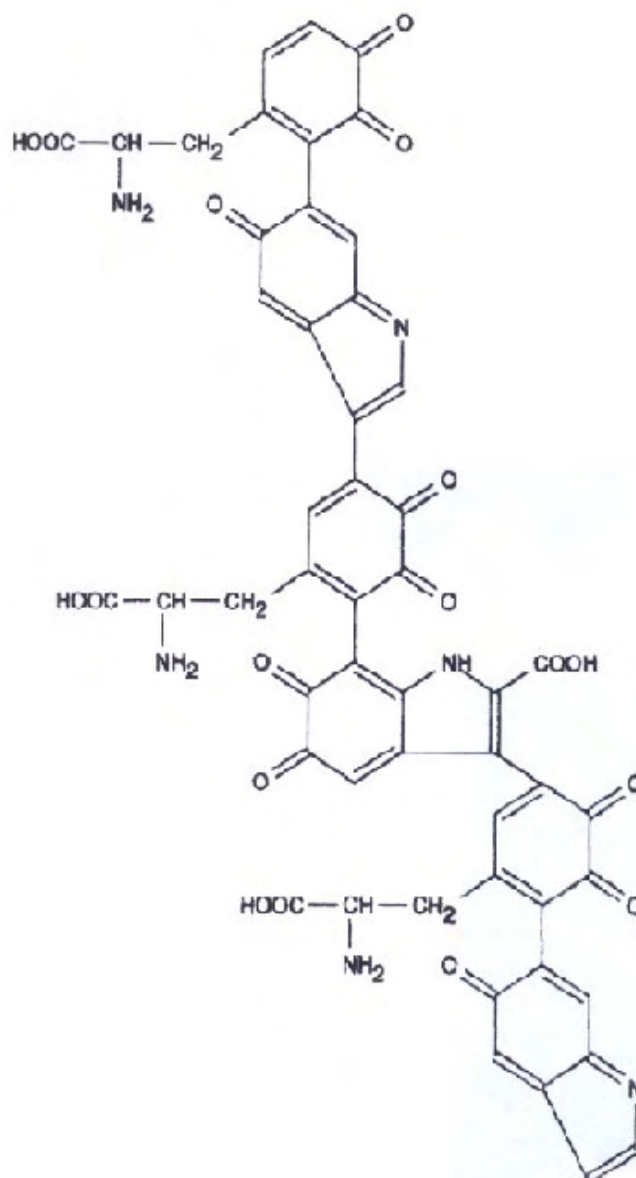


Figura 3: Estrutura química da melanina. Fonte: FOGARTY; TOBIN, 1996.

Garcia-Rivera e Casadevall (2001) observaram que a produção de melanina por *Cryptococcus neoformans* reduz a sua susceptibilidade ao nitrato de prata devido a quelação do íon metálico pela melanina. Resultados obtidos em nosso laboratório com uma linhagem melanizada do fungo *Aspergillus nidulans* confirmaram que a biossorção de metais (neodímio e lantânio) varia em função do estágio de crescimento do fungo. Foi observado que a biomassa de 72 horas apresentou um aumento significativo na capacidade de biossorção (em torno de 75%) comparado com a biomassa de 48 horas. Este resultado foi devido à produção

de pigmento melanina ocorrer em função do tempo de cultivo, ou seja, a biomassa de 48 horas apresenta-se pouco pigmentada enquanto aquela de 72 horas torna-se escura em função da alta produção de pigmento (CAVALLIERI et al, 2007).

Para que o processo de biossorção seja eficiente na recuperação e/ou separação de metais é necessário que o metal adsorvido à biomassa possa ser separado da mesma após o término do processo. Para tanto, realiza-se o processo de dessorção, cujo propósito é enfraquecer a ligação metal-biomassa, usando um agente dessorvente que possua uma afinidade maior pelo metal do que pelo biossorvente (MODAK; NATARAJAN, 1995). Vários tipos dessorventes têm sido utilizados, como as soluções de ácidos minerais, sais, bases ou agentes complexantes. (KAPOOR et al., 1999; DINIZ; VOLESKY, 2006).

1.3. FATORES QUE AFETAM O PROCESSO BIOSSORTIVO

O processo de biossorção de metais pode ser influenciado pelo pH da solução, o íon metálico em questão, a presença de outros ligantes em solução e os pré-tratamentos (físicos ou químicos) da biomassa (BAYRAMOGLU et al., 2003; BLACKWELL et al., 1995; KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995; WANG; CHEN, 2006). Já a temperatura, quando entre 20 a 35°C, não influencia o processo biossortivo (VEGLIÒ; BEOLCHINI, 1997).

Estudos têm mostrado que variações no pH da solução afetam o grau de adsorção dos íons metálicos pelas biomassas. Em pH alcalino, os íons OH^- podem se complexar com o metal, levando a uma diminuição na capacidade biossortiva do metal devido a sua precipitação na forma de óxidos ou hidróxidos metálicos. Em pH ácido, também pode ocorrer uma redução no potencial de interação do metal com a superfície celular, devido a protonação dos grupos carboxílicos (HUANG et al., 1988; FOUREST; ROUX, 1992; BLACKWELL et al., 1995; KAPOOR et al., 1999). Estes grupos têm um papel importante no processo de biossorção, representando cerca de 80 a 90% dos sítios de interação dos cátions metálicos (KRATOCHVIL; VOLESKY, 1998).

Outros cátions (como K^+ , Mg^{+2} , Zn^{+2} , Ca^{+2} , Na^+ , Ni^{+2}) adicionais ao íon de interesse, também podem diminuir a capacidade biossortiva do metal em resposta a competição entre espécies de mesma carga pelos sítios de ligação. Do mesmo modo, a presença de ânions pode afetar a capacidade de biossorção, uma vez que estes podem competir com os sítios ligantes da biomassa pelo íon metálico,

conforme observaram Diniz e Volesky (2005b) onde a capacidade biossortiva de íons La^{3+} por *Sargassum polycystrum* foi diminuída pela presença do ânion sulfato, o mesmo não ocorreu na presença dos ânions clorídrico e nitrato. Também Filipovic-Kovacevic et al. (2000) puderam notar que a capacidade biossortiva dos íons Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} e CrO_4^{2-} pela biomassa de *Aspergillus niger* foi reduzida a 50% na presença de ânions clorídricos.

Pelo fato da biossorção não requerer energia proveniente do metabolismo celular, a utilização da biomassa inativa (submetida à pré-tratamentos físicos ou químicos), ao invés de células vivas, apresenta-se vantajosa, pois permite eliminar problemas com possíveis contaminações microbianas, toxicidade do metal a ser removido e necessidade de adequação do processo de biossorção às condições de cultivo do microrganismo.

Vários estudos têm mostrado que a utilização da biomassa submetida a diferentes pré-tratamentos pode aumentar a capacidade de biossorção. Kiran et al. (2005), observaram que as células de *Neurospora crassa* pré-tratadas com calor apresentaram uma maior capacidade biossortiva de Pb^{2+} , quando comparadas à biomassa submetida a outros pré-tratamentos (hidróxido de sódio, ácido acético, dimetilsufóxido e detergentes) ou ativa (sem tratamento). Galun et al. (1983) notaram um aumento de aproximadamente 50% na adsorção de urânio pela biomassa de *Penicillium digitatum* pré-tratada com água fervente, álcool, dimetilsufóxido ou hidróxido de potássio. Também Kapoor et al. (1999) relataram que a biomassa de *Aspergillus niger* aquecida por 15 minutos em uma solução de NaOH 0,1N removeu uma maior quantidade de Pb, Cd e Cu, comparada à biomassa não tratada. Uma possível explicação para estes resultados seria que a inativação da biomassa possibilita uma maior área de superfície devido à destruição das membranas da célula, facilitando, com isso, a exposição de componentes intracelulares e possivelmente sítios de ligação anteriormente bloqueados (TOBIN et al., 1994; GAVRILESCU, 2004; WANG; CHEN, 2006).

1.4. DELINEAMENTO DO PROCESSO DE BIOSSORÇÃO

Para entender e otimizar o processo de biossorção faz-se necessário à realização de experimentos de cinética e quantificação do acúmulo de metais no equilíbrio.

A cinética tem sido determinada para estabelecer o tempo de contato necessário entre a biomassa e o metal para que a biossorção atinja o equilíbrio. Este passo é muito importante, pois é o tempo de contato que, eventualmente, determina o tamanho do equipamento necessário para o contato biomassa/metal, o que diretamente influencia os custos de capital e operação do processo (VOLESKY, 1990).

Durante a biossorção, um rápido equilíbrio é estabelecido entre os íons metálicos adsorvidos pela biomassa (q_{eq}) e os íons não adsorvidos presentes em solução (C_{eq}). Este equilíbrio pode ser representado pelas isotermas de adsorção, as quais são indispensáveis para o delineamento do processo, além de serem a maneira mais eficiente para comparar a eficiência da biossorção entre diferentes microrganismos sob a mesma condição ambiental (KRATOCHVIL; VOLESKY, 1998; DONMEZ et al., 1999; AKSU, 2005). Nestes experimentos ocorre a variação da quantidade de metal acumulado (q_{eq}) pela concentração de metal no equilíbrio (C_{eq}) (VOLESKY, 1990).

Vários modelos foram propostos para o entendimento do processo de biossorção, como o modelo de Langmuir, o de Freundlich, o Langmuir-Freundlich, o Redlich-Peterson, o Brunauer-Emmet-Teller (BET) e o de Radke-Prausnitz (VOLESKY, 2003; GAVRILESCU, 2004; ASKU, 2005). Estes modelos, apesar de ajustarem-se adequadamente aos resultados obtidos, pouco refletem sobre a natureza das interações envolvidas devido à complexidade dos sistemas biológicos, e têm sido utilizados, principalmente, para determinar parâmetros específicos como a capacidade máxima de biossorção ($q_{m\acute{a}x}$) e a interação da biomassa com o metal (b) (VOLESKY, 1990; PALMIERI, 2001).

O modelo mais freqüentemente usado é o de Langmuir, o qual sugere uma monocamada de adsorção, com distribuição homogênea dos sítios ligantes, sem interações entre as moléculas adsorvidas. Este modelo pode ser expresso pela equação (3):

$$q_{eq} = \frac{q_{m\acute{a}x} \cdot b \cdot C_{eq}}{1 + b \cdot C_{eq}} \quad (3)$$

onde, q_{eq} é a capacidade de biossorção da biomassa no equilíbrio, a qual representa a quantidade de metal acumulado por unidade de biomassa; $q_{m\acute{a}x}$ é a

capacidade máxima de biossorção da biomassa, alcançada quando seus sítios ligantes estão saturados pelo metal; b é a constante que representa a afinidade entre a biomassa e o metal e, C_{eq} é a concentração de metal em solução após atingir o equilíbrio (ANDRÈS et al., 2000; FILIPOVIC-KOVACEVIC et al., 2000; VOLESKY, 2003; SELATNIA et al., 2004). A representação da isoterma de Langmuir está ilustrada na Figura 4:

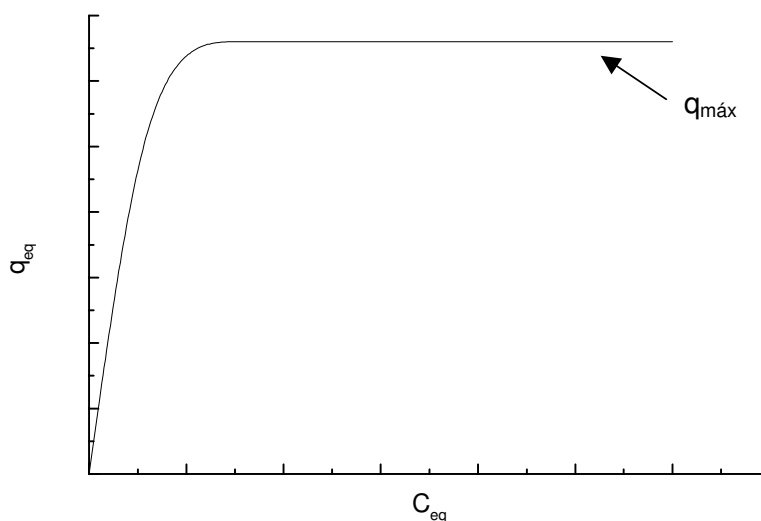


Figura 4. Representação da isoterma de Langmuir. Fonte: Oliveira, 2007.

Um rearranjo da equação acima origina a forma linear, a qual é representada por:

$$\frac{1}{q_{eq}} = \frac{1}{q_{máx}} + \frac{1}{b \cdot q_{máx}} \cdot \frac{1}{C_{eq}} \quad (4)$$

A construção do gráfico $1/q_{eq}$ versus $1/C_{eq}$ origina uma linha ajustada da isoterma obtida, permitindo estimar os parâmetros $q_{máx}$ e b .

1.5. BIOSSORÇÃO DE TERRAS-RARAS

O processo de biossorção também vem despertando a atenção dos pesquisadores para a obtenção dos metais terras-raras (TRs) em função da sua importância tecnológica e do seu alto valor agregado (VOLESKY, 1990).

Os metais Terras-Raras (TRs), assim denominados por terem sido primeiramente observados na forma de óxidos, os quais se assemelham a “terra” na nomenclatura popular, são também impropriamente chamados de “raras”, uma vez que a maioria deles é mais abundante do que muitos outros elementos, exceto o promécio, que não é encontrado naturalmente. Um exemplo disso é o elemento cério, o qual possui uma concentração na crosta terrestre de 60ppm, enquanto que cobre possui concentração de 50ppm (HEDRICK, 2005; MARTINS; ISOLANI, 2005).

Esta série pode ser dividida em dois grupos, classificados conforme suas características químicas, sendo: os elementos leves das terras-raras, ou grupo do cério, e os elementos pesados das terras-raras, também denominado grupo do ítrio. Ao primeiro grupo pertencem os elementos químicos, lantânio (número atômico 57), cério (58), praseodímio (59), neodímio (60), promécio (61), samário (62) e európio (63). Já no segundo grupo estão, gadolínio (64), térbio (65), disprósio (66), hólmio (67), érbio (68), túlio (69), itérbio (70) e lutécio (71). Os elementos escândio (21) e ítrio (39) também estão incluídos nesta segunda série devido a características químicas semelhantes às dos outros elementos e, também, por encontrarem-se associados às terras-raras na natureza (ABRÃO, 1994; JONES et al., 1996).

Os elementos TRs podem ser encontrados em rochas carbonatíticas, granitos, pegmatitos e rochas silicatadas, em concentrações que variam entre 10 a 300µg/g. Estão presentes também como constituintes de mais de 250 espécies minerais, sendo as que apresentam interesse econômico à monazita, a bastnaesita, o xenotímio, a gadolinita, a allanita, a loparita, a euxenita e a apatita (VIEIRA; LINS, 1997).

Estima-se que as reservas totais de minérios de terras-raras (medidas e indicadas) sejam de 112,6 milhões de toneladas. Deste total, a China possui mais de 40%, seguida pela Rússia (18%) e Estados Unidos (12,4%). Seguem-se depois Austrália (5,1%), Índia (1,2%) e países com menos de 1%, sendo: Canadá, África do sul, Brasil, Malásia, Sri-Lanka, Tailândia, Zaire e outros países (VIEIRA; LINS, 1997).

No Brasil, os terras-raras são provenientes do mineral monazita, sendo as suas reservas, principalmente encontradas em solos lateríticos e silexitos associados a complexos carbonatitos, além das provenientes de “placers” marinhos e fluviais (VIEIRA; LINS, 1997). De acordo com o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), de 1996, as reservas (medidas e indicadas) são da ordem de 93.000 toneladas, sendo 53.597 toneladas pertencentes à Indústria

Nucleares do Brasil S.A., distribuídas nos estados do Rio de Janeiro (São João da Barra – 40.889 ton), Espírito Santo (Itapemirim, Anchieta, Guarapari e Aracruz – 4.869 ton) e Bahia (Alcobaça, Prado e Porto Seguro, 7.869 ton) e, 39.258 toneladas pertencentes à empresa Samitri S.A. – Mineração da Trindade, localizadas principalmente no município de São Gonçalo do Sapucaí, MG.

Outras reservas, cujas extensões ainda não foram incorporadas oficialmente ao total das reservas brasileiras, encontram-se em Paranaguá – PR, Araxá e Poços de Caldas – MG, Catalão – GO, além da província de Pitinga – AM.

A monazita, cuja fórmula estrutural é $R-PO_4$, sendo R o grupo dos terras-raras, constitui-se em cerca de 90% dos elementos La, Ce, Pr e Sm, enquanto que o restante é itérbio e lantanídeos pesados (GSCHNEIDNER, 1980; ABRÃO, 1994). Na Tabela 1, pode-se observar a porcentagem dos elementos TRs na monazita brasileira.

Tabela 1. Porcentagem de elementos terras-raras na monazita brasileira. Fonte: HEDRICK, 2005.

Monazita	Composição (%)
Ítrio	1,40
Lantânio	24,00
Cério	47,00
Praseodímio	4,50
Neodímio	18,50
Samário	3,00
Európio	0,10
Gadolínio	1,00
Térbio	0,10
Disprósio	0,40
Hólmio	Traço
Érbio	0,10
Túlio	Traço
Itérbio	0,02
Lutécio	Não determinada
Total	100

Historicamente, a aplicação prática dos terras-raras pode dividir-se em quatro períodos, sendo: 1788/1891 – os TRs foram cientificamente examinados, porém não tecnicamente utilizados; 1891/1930 – primeiras utilizações industriais dos TRs em misturas ou separados; 1930/1960 – utilização dos TRs em vários programas de

pesquisas atômicas, principalmente, pelos EUA e Inglaterra; e, finalmente o quarto período que se estende de 1960 até os dias atuais – aumento qualitativo e quantitativo de suas aplicações, como lasers, fósforos, lentes de vidro, polimento de vidros, sensores, corantes de vidros, conversor catalítico, participação em super ligas, aço modificado, magnetos permanentes, armazenamento de hidrogênio, cerâmicas especiais, entre outras (GSCHNEIDNER, 1980; PALMIERI et al., 2000; DINIZ; VOLESKY, 2005a).

Flutuações nos preços dos TRs, do final da década de 50 a 1998, ocorreram devido ao fornecimento, demanda, legislação ambiental e fatores econômicos, especialmente a inflação e os custos energéticos, Tabela 2.

Tabela 2. Eventos significantes que afetaram o preço dos TRs. Fonte: HEDRICK, 2007.

Período	Eventos
1958 – 1971	Declínio no preço devido à abertura de um grande depósito de TRs, a Mountain Pass, na Califórnia.
1971 – 1978	O fornecimento continuou crescendo e a demanda manteve a velocidade.
1979	A alta da inflação e os altos custos de operação da indústria mineira fizeram o preço aumentar.
Após 1982	Com a melhora na economia e a inflação subsidiada, o preço se estabilizou.
Em 1985	A demanda por TRs utilizados na catálise do petróleo caiu drasticamente, devido a legislação ambiental que regulamentou a redução da quantidade destes na gasolina
1986 – 1998	Crescimento da indústria de TRs, principalmente em mercados de produtos de alta pureza.

Com o crescimento das indústrias de alta tecnologia, os TRs neodímio e lantânio, objetos deste estudo, tiveram seus preços valorizados, conforme Figura 5. O neodímio por sua participação na liga neodímio-ferro-boró (NIB), utilizada em ímãs permanentes, e o lantânio pela participação no híbrido lantânio-níquel, amplamente utilizado em baterias recarregáveis principalmente de equipamentos sem fio, como telefones celulares e computadores portáteis (HEDRICK, 2007).

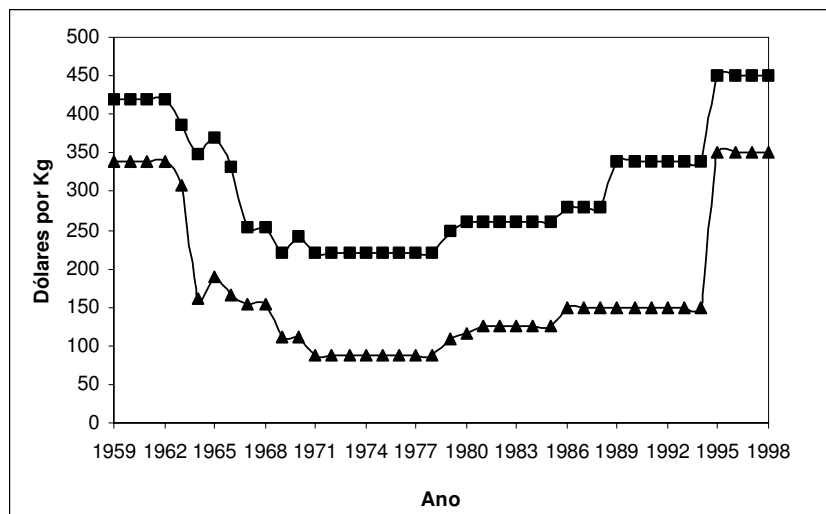


Figura 5. Valores dos TRs neodímio (■) e lantânio (▲) de 1959 a 1998. Fonte: http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/rare_earths/740798.pdf.

O alto valor agregado destes metais provém da dificuldade de obtê-los na sua forma pura, a qual é necessária para as suas aplicações de alta tecnologia. Esta dificuldade decorre do comportamento físico-químico muito semelhante entre os elementos deste grupo (GUPTA; KRISHNAMURTHY, 1992). Prova disso é o fato de somente alguns países no mundo como Estados Unidos, Japão, França, Alemanha e China possuírem a tecnologia para a sua separação e purificação (OLIVEIRA, 2007).

Entretanto, estudos de recuperação de elementos de valor agregado, como os metais terras-raras, utilizando adsorventes de origem biológica ainda são muito limitados, como se pode observar na Tabela 3.

Tabela 3. Biossorção de elementos terras-raras por microrganismos.

Biossorvente	Terra-rara	Referência
<i>Bacillus subtilis</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Ralstonia metallidurans</i>	Gd ³⁺	Andrès et al., 2000
<i>Mycobacterium smegmatis</i>		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
<i>Neurospora</i> sp.		
<i>Humicola</i> sp.		
<i>Penicillium</i> sp.		
<i>Rhizopus</i> sp.		
<i>Ankistrodesmus gracilis</i>		
<i>Ankistrodesmus densus</i>	Nd ³⁺	Palmieri et al., 2000
<i>Monoraphidium</i> sp.		
<i>Chlorella minutíssima</i>		
Levedura F		
Linhagens (UB1193, UB1194 e UBIR92) de <i>Saccharomyces</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Philip et al., 2000
<i>Bacillus subtilis</i>		Markai et al., 2003
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eu ³⁺	Texier et al., 1999;2000;2002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Philip et al., 2000
<i>Sargassum</i>		Diniz; Volesky, 2005a
<i>Sargassum fluitans</i>		Palmieri et al., 2002
Sargassum polycystrum		Diniz; Volesky, 2005b
<i>Pseudomonas</i> sp.	La ³⁺	Kazy et al., 2006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Texier et al., 1999;2000;2002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Philip et al., 2000
<i>Sargassum</i>		Diniz; Volesky, 2005a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Yb ³⁺	Texier et al., 1999;2000;2002
<i>Sargassum</i>		Diniz; Volesky, 2005a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pr ³⁺	Philip et al., 2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Dy ³⁺	Philip et al., 2000

Neste contexto, o estudo do processo de biossorção de TRs utilizando biomassas de microrganismos, principalmente fungos filamentosos, apresenta um grande interesse biotecnológico, pois representa uma alternativa promissora que combina as vantagens de um processo eficiente e com custo operacional menor para a separação destes elementos de alto valor agregado e tecnológico.

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a potencialidade da utilização de biomassa de fungos filamentosos no processo de biossorção dos íons lantânio e neodímio, visando a separação destes metais terras-raras. Para atingir tal objetivo foi necessário:

- Construir e avaliar as cinéticas de biossorção, de lantânio e neodímio, das biomassas ativas e inativas dos fungos filamentosos cultivados com e sem agitação.
- Determinar, através da construção de isothermas de biossorção, os parâmetros de equilíbrio: $q_{máx}$ (capacidade máxima de biossorção) e b (afinidade da biomassa pelo metal).
- Quantificar a porcentagem de metal dessorvido (q_d) das biomassas dos fungos estudados.

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Fungos

Neste trabalho foram utilizados fungos filamentosos coletados no litoral paulista e isolados por Vita-Marques (2003), conforme mostrado na Tabela 4. Estes fungos encontram-se estocados no Laboratório de Fungos Filamentosos do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química do Instituto de Química de Araraquara (UNESP).

Tabela 4. Origem dos fungos marinhos utilizados neste trabalho.

Fungo (n ^o .)	Amostra	Origem
11	S4SS11	Sedimentos marinhos em São Sebastião/SP
20	S2SS20	Sedimentos marinhos em São Sebastião/SP
22	AbSS22	Alga <i>Padina</i> sp. de São Sebastião/SP
26	RP26	Rocha em Peruíbe/SP
34	S1SS34	Sedimentos marinhos em São Sebastião/SP
57	AsSS57	Alga <i>Sargassum cymosum</i> de São Sebastião/SP.

3.1.2. Meios de cultura

Para o crescimento das linhagens utilizou-se o “meio marinho”, que possui a seguinte composição:

Glicose	4,000g
Extrato de levedo	4,000g
Peptona de soja	2,000g
Cloreto de sódio	15,153g
Cloreto de magnésio	1,398g
Sulfato de magnésio	1,888g
Cloreto de cálcio	0,652g
Cloreto de potássio	0,414g
Bicarbonato de sódio	0,116g
Água destilada até completar	1000mL

Para a identificação dos fungos, utilizou-se o meio Sabourand, cuja composição é:

Dextrose	40g
Peptona	10g
Água destilada até completar	1000mL

Após ajustar do pH em 5,7 com NaOH, ambos os meios foram autoclavados a 1 atm de pressão, 121°C, por 20 minutos. Para a preparação do meio sólido foi adicionado 15g de ágar por 1000mL de meio antes da autoclavagem.

3.1.3. Solução de metais

As soluções estoque de lantânio e neodímio, na concentração de 8g.L^{-1} , foram preparadas a partir da dissolução de seus respectivos óxidos em HCl concentrado sob aquecimento à 80°C. Os óxidos de ambos metais, provenientes da Aldrich com 99,9% de pureza, foram previamente calcinados a 900°C por 2 horas antes do preparo das soluções estoque.

Nos experimentos de biossorção, as soluções estoque foram diluídas para atingir as concentrações de $0,15\text{g.L}^{-1}$, $0,175\text{g.L}^{-1}$, $0,2\text{g.L}^{-1}$, $0,25\text{g.L}^{-1}$, $0,3\text{g.L}^{-1}$ e $0,8\text{g.L}^{-1}$, e o pH ajustado em 5,7 pela adição de NaOH conforme o necessário.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Estoque dos fungos

Após crescimento em placas de Petri contendo “meio marinho”, os fungos foram estocados à 4°C.

3.2.2. Identificação dos fungos

Os fungos crescidos em placas de Petri com 20mL de meio Sabourand, pH 5,7, à temperatura de 27°C, foram identificados com base nas suas características macro e microscópicas, segundo LARONE (1995).

O estudo macroscópico foi feito pela observação visual das colônias em relação à velocidade de crescimento; esporulação; morfologia e cor da colônia. O exame microscópico dos fungos foi obtido através do exame direto ou a fresco, o qual consiste em coletar um fragmento de colônia com o auxílio de um fio de platina, colocá-lo sobre a superfície de uma lâmina de microscópio contendo uma gota de

solução salina, cobri-lo com uma lamínula e observá-la ao microscópio óptico em relação às seguintes características: morfologia da hifa; forma dos esporos e presença de estruturas de reprodução vegetativa ou sexuada.

3.2.3. Preparação da suspensão de conídios

Os conídios obtidos após o crescimento das linhagens em placas de Petri contendo “meio marinho” foram coletados em solução salina 0,85% e, em seguida filtrados em lã de vidro. O número de conídios por mililitro foi estimado através da contagem em câmara de Neubauer, sob microscópio óptico, conforme equação (5).

$$\text{N}^{\circ} \text{ conídios / mL} = n \times 25 \times \text{dil} \times 10^4 \quad (5)$$

Onde, n corresponde ao número de conídios contados em um campo contendo 16 divisões, 25 é o total de campos de contagem, dil é a diluição utilizada para realizar a contagem e 10^4 corresponde ao volume da câmara expressa em cm^3 .

3.2.4. Obtenção da biomassa celular

A biomassa foi obtida pela inoculação de 10^7 conídios em Erlenmeyers de 500mL contendo 250mL de “meio marinho”, pH 5,7. O período de crescimento variou entre 72 a 480 horas, a 30°C , para que todos os fungos estivessem em fase de crescimento estacionária. As culturas sob agitação foram crescidas em mesa agitadora CONTROLLED ENVIRONMENT INCUBATOR (New Brunswick Scientific Co. Inc.) a 250 rpm.

Após o tempo de crescimento previamente determinado para cada fungo, as culturas (com e sem agitação) foram submetidas à filtração e a massa micelial obtida foi lavada várias vezes com água destilada. Esta biomassa foi denominada de “biomassa ativa” foi colocada em estufa a 70°C por uma noite para a obtenção da biomassa inativada.

Para a utilização nos experimentos de biossorção, as biomassas (ativa e inativa) foram trituradas em um almofariz para a obtenção de um pó.

3.2.5. Avaliação do crescimento

A avaliação do crescimento dos fungos foi feita pela determinação da massa seca, a qual foi obtida após a secagem da biomassa celular em estufa a 70°C, até que o peso fosse constante.

3.2.6. Cinéticas de biossorção

Estas cinéticas foram realizadas em Erlenmeyers de 125mL contendo biomassa ativa ou inativa (0,4g de massa seca) e 100mL da solução de neodímio ou lantânio (0,8g.L⁻¹ em pH 5,7) incubados a 30°C sob agitação de 150rpm em uma mesa agitadora orbital refrigerada, modelo MA 830, MARCONI. A concentração de metal, a temperatura e o pH da solução utilizados nestes experimentos foram previamente determinados.

Nos tempos de 10, 20, 30, 45, 60 e 120 minutos, foram retiradas alíquotas da solução, as quais foram filtradas para a determinação da concentração residual de metal na fase líquida através da titulação complexométrica com EDTA (GUENTHER, 1972). Neste procedimento, em uma alíquota de 5mL do filtrado foi adicionado 25mL de tampão acetato 0,1 M pH 5,7 e 5 gotas do indicador alaranjado de xilenol e, em seguida, iniciou-se a titulação com uma solução de EDTA 0,01 M. Paralelamente, foram realizados dois ensaios controle nas mesmas condições acima: um contendo metal, sem biomassa e, o outro, contendo biomassa, exceto metal. Cada experimento foi realizado em duplicata.

A capacidade de biossorção (q) foi calculada pela equação 6:

$$q = \frac{(C_o - C_f) V}{m} \quad (6)$$

onde C_o é a concentração inicial do metal (g.L⁻¹); C_f é a concentração final do metal no tempo da coleta (g.L⁻¹); V é o volume da solução (L) e m é o peso da biomassa seca (g). O valor de q foi expresso em miligrama de metal/grama de biomassa.

3.2.7. Isotermas de bioissorção

Os ensaios para a construção das isotermas de bioissorção foram realizados em Erlenmeyers de 125mL, contendo biomassa inativa (0,4g de massa seca) e 100mL da solução de neodímio ou lantânio, em concentrações iniciais de 0,15, 0,175, 0,2, 0,25 e 0,3g.L⁻¹, com pH ajustado em 5,7. Após 90 minutos sob agitação, uma alíquota de 5mL foi coletada, filtrada e determinada à concentração de metal através da titulação complexométrica com EDTA (GUENTHER, 1972). Neste procedimento, em uma alíquota de 5mL do filtrado foi adicionado 25mL de tampão acetato 0,1 M pH 5,7 e 5 gotas do indicador alaranjado de xilenol e, em seguida, iniciou-se a titulação com uma solução de EDTA 0,001 M. Paralelamente foram realizados dois ensaios controle nas mesmas condições acima: um contendo metal, sem biomassa e, o outro, contendo biomassa, exceto metal. Cada experimento foi realizado em duplicata.

As isotermas foram construídas pela representação gráfica da concentração de metal no equilíbrio (C_{eq}) versus os valores da capacidade de bioissorção no equilíbrio (q_{eq}). Pela análise da regressão linear das isotermas foi possível determinar a capacidade máxima de adsorção do metal pela biomassa ($q_{m\acute{a}x}$) e a afinidade entre os sítios de ligação presentes na biomassa e o íon metálico (b), de acordo com o modelo de Langmuir (equação abaixo):

$$q_{eq} = \frac{q_{m\acute{a}x} \cdot b \cdot C_{eq}}{1 + b \cdot C_{eq}}$$

onde q_{eq} é a capacidade de bioissorção da biomassa no equilíbrio, a qual representa a quantidade de metal acumulado por unidade de biomassa; $q_{m\acute{a}x}$ é a capacidade máxima de bioissorção da biomassa, alcançada quando seus sítios ligantes estão saturados pelo metal; b é a constante que representa a afinidade entre a biomassa e o metal e, C_{eq} é a concentração de metal após atingir o equilíbrio.

3.2.8. Dessorção

Os ensaios de dessorção foram realizados em Erlenmeyers de 125mL contendo biomassa inativa (0,4g de massa seca), proveniente dos ensaios de

biossorção, e 100mL da solução de HCl 0,1M e mantidos a 30°C sob agitação de 150rpm em mesa agitadora orbital refrigerada, modelo MA 830, MARCONI.

Após 24 horas, a determinação da concentração de metal foi feita pela titulação complexométrica com EDTA (GUENTHER, 1972). Neste procedimento, em uma alíquota de 5mL do filtrado foi adicionado 5 gotas de alaranjado de xilenol, 4 gotas de NaOH 6M e 25 ml de tampão acetato 0,1 M pH 5,7 e, em seguida, iniciou-se a titulação com uma solução de EDTA 0,001 M.

O coeficiente de dessorção (q_d) foi calculado pela equação (7) mostrada abaixo:

$$q_d = \frac{C_f V}{m} \quad (7)$$

onde: q_d é a capacidade de dessorção da biomassa no equilíbrio, a qual representa a quantidade de metal liberado por unidade de biomassa; C_f é a concentração de metal após atingir o equilíbrio ($g.L^{-1}$); V é o volume da solução (L) e m é o peso da biomassa seca (g). O valor de q_d foi expresso em miligrama de metal/grama de biomassa. A porcentagem de dessorção foi calculada a partir do valor de q_d em relação à capacidade de metal adsorvido no equilíbrio (q_{eq}), considerada como 100%.

4.1. IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

Com o objetivo de selecionar fungos que apresentem capacidade de bio sorção diferencial em relação aos metais terras-raras neodímio e lantânio, primeiramente foi realizada a identificação de seis fungos coletados no litoral Paulista (Vita-Marques, 2003), de acordo com as características morfológicas descritas por Larone (1995), como mostrado na Tabela 5.

Tabela 5. Descrição das características macroscópicas e microscópicas dos fungos identificados neste trabalho.

Fungo	Características Macroscópicas	Características Microscópicas
 <i>Alternaria alternata</i>	Colônia com aspecto de lã; superfície com coloração negra acinzentada e margem branca; reverso negro.	Hifas septadas e negras; conidióforos septados com aparência zig-zag; conídios largos, marrons e com divisões transversais e longitudinais.
 <i>Aspergillus terreus</i>	Colônia com aspecto aveludado; superfície com coloração marrom clara; reverso é amarelado.	Fiálides biseriadas com colunas compactadas; células hialinas submergidas no agar.
 <i>Aspergillus versicolor</i>	Colônia com aspecto aveludado; superfície com coloração branca no centro e círculos alternados de cores: azul, bege, verde finalizando com a margem branca; reverso avermelhado no centro e branco na margem.	Conidióforos longos e lisos; fiálides biseriadas, levemente radiadas cobrindo a maioria da vesícula.
 <i>Chrysosporium spp.</i>	Superfície algodoadosa; coloração branca a cinza; reverso com coloração de branco a marrom.	Hifas septadas; conídios ovais lisos ou rugosos, com base larga; únicos ou em pequenas cadeias.
 <i>Cladosporium sp.</i>	Superfície aveludada, com coloração acinzentada a negra; reverso cinza.	Hifas septadas e conidiósporos ramificados; produzem duas ou mais cadeias de conídios. Conídios ovais formando galhos, sendo as células das cadeias de conídios largas e septadas.
 <i>Rhizopus spp.</i>	Crescimento denso; superfície algodoadosa; coloração marrom e reverso claro.	Hifas largas, septadas; esporangióforos longos e normalmente não ramificados.

2. CINÉTICAS DE CRESCIMENTO

Estas cinéticas foram realizadas para estabelecer o tempo necessário para a obtenção de biomassa relativa a fase de crescimento estacionária dos fungos estudados, a qual foi utilizada nos ensaios de bio sorção. A Tabela 6 mostra as biomassas obtidas em diferentes tempos de crescimento, à temperatura ambiente, em culturas com e sem agitação.

Tabela 6 - Crescimento dos fungos por diferentes períodos de tempo, em culturas com e sem agitação, na temperatura de 25-27°C.

Fungo	Condição de cultivo	Tempo de crescimento (h)	Peso seco da biomassa (g) ^(a)	Desvio padrão (g)
<i>Alternaria alternata</i>	Agitado	96	0,071	0,003
		168	0,165	0,005
		240	0,163	0,002
	Sem agitação	360	0,090	0,001
		480	0,160	0
		600	0,158	0,003
<i>Aspergillus terreus</i>	Agitado	120	0,167	0,007
		168	0,200	0,009
		216	0,200	0,01
	Sem agitação	168	0,210	0,001
		360	0,224	0,003
		432	0,220	0
<i>Aspergillus versicolor</i>	Agitado	48	0,030	0,006
		72	0,182	0,008
		144	0,180	0,006
	Sem agitação	72	0,071	0,001
		168	0,100	0,004
		240	0,095	0
<i>Chrysosporium</i> spp.	Agitado	48	0,053	0,009
		72	0,194	0,02
		144	0,190	0,008
	Sem agitação	240	0,100	0,001
		360	0,141	0,005
		480	0,137	0
<i>Cladosporium</i> sp.	Agitado	120	0,138	0,008
		168	0,159	0,005
		216	0,160	0,009
	Sem agitação	240	0,113	0,006
		480	0,200	0,008
		528	0,200	0,007
<i>Rhizopus</i> spp.	Agitado	48	0,134	0
		72	0,255	0,004
		144	0,250	0,002
	Sem agitação	72	0,090	0,002
		168	0,166	0,004
		240	0,161	0

^(a): Valores representam a média de dois experimentos independentes.

Como pode ser observado na Tabela 6, o tempo necessário para que os fungos atinjam a fase de crescimento estacionária variou entre as diferentes espécies e também em função da condição de cultivo (com ou sem agitação).

Para os fungos *A. alternata* e *Cladosporium* sp., a fase estacionária de crescimento foi estabelecida em 168 horas e 480 horas, respectivamente, para as culturas com e sem agitação. Em relação aos fungos *A. versicolor* e *Rhizopus* sp., esta fase de crescimento foi atingida em 72 horas para as culturas sob agitação e 168 horas para aquelas sem agitação. Para *A. terreus* e *Chrysosporium* spp., cultivados sem agitação, o crescimento estacionário foi alcançado após 360 horas, enquanto que no cultivo sob agitação, esta fase foi atingida com 72 horas para *Chrysosporium* spp. e após 168 horas para *A. terreus* (Tabela 6).

Nos experimentos de bioissorção realizados neste trabalho foram utilizadas biomassas provenientes da fase de crescimento estacionário porque durante esta fase ocorre a síntese de vários metabólitos secundários que podem ser incorporados à parede celular de esporos e hifas, aumentando a capacidade de bioissorção da biomassa. Dentre estes metabólitos tem-se os pigmentos, os quais apresentam vários grupos funcionais que se ligam fortemente a metais (FOGARTY; TOBIN, 1996).

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que para a otimização do processo de bioissorção é necessário determinar o tempo de cultivo do microrganismo em que o envoltório celular esteja com todos os seus possíveis sítios de ligação para metais visando maximizar a capacidade de bioissorção da biomassa.

4.3. CINÉTICAS DE BIOSSORÇÃO DE NEODÍMIO E LANTÂNIO

Com o objetivo de determinar o tempo mínimo necessário para que a ligação dos metais terras-raras (neodímio e lantânio) à superfície celular atinja o equilíbrio, foram realizados ensaios de bioissorção utilizando as biomassas, ativas e inativas, dos fungos *A. alternata*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *Chrysosporium* spp., *Cladosporium* sp. e *Rhizopus* spp. em diferentes tempos de incubação (10, 20, 30, 45, 60 e 120 minutos), como mostrado nas Figuras 6, 7, 8 e 9.

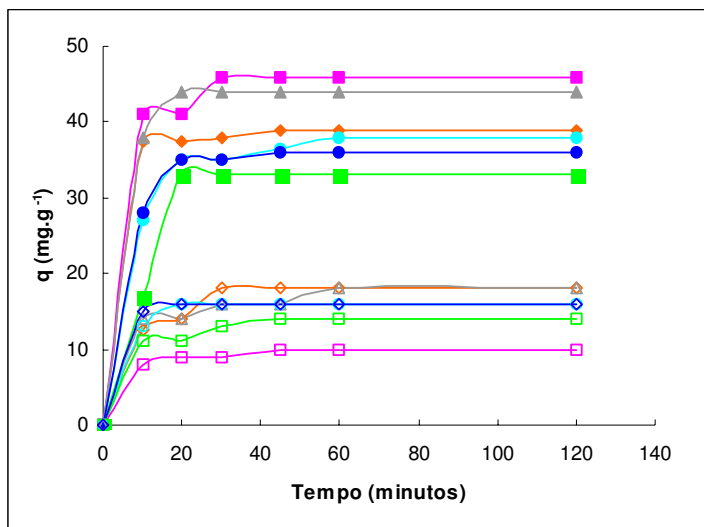


Figura 6. Cinética de biossorção de neodímio pelas biomassas dos fungos: *A. alternata*, \diamond biomassa ativa e \blacklozenge inativa, *A. versicolor*, \square biomassa ativa e \blacksquare inativa, *A. terreus*, \triangle biomassa ativa e \blacktriangle inativa, *Chrysosporium* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, *Cladosporium* sp., \square biomassa ativa e \blacksquare inativa e *Rhizopus* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, cultivados sob agitação. Resultados referentes aos valores médios de dois experimentos independentes.

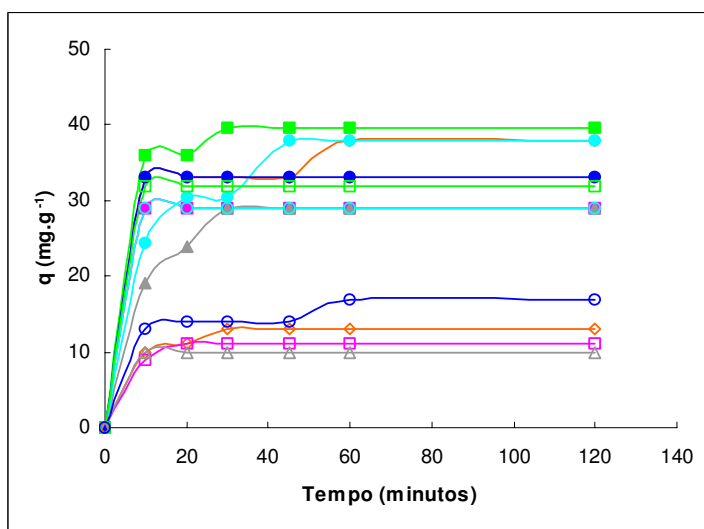


Figura 7. Cinética de biossorção de neodímio pelas biomassas dos fungos: *A. alternata*, \diamond biomassa ativa e \blacklozenge inativa, *A. versicolor*, \square biomassa ativa e \blacksquare inativa, *A. terreus*, \triangle biomassa ativa e \blacktriangle inativa, *Chrysosporium* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, *Cladosporium* sp., \square biomassa ativa e \blacksquare inativa e *Rhizopus* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, cultivados sem agitação. Resultados referentes aos valores médios de dois experimentos independentes.

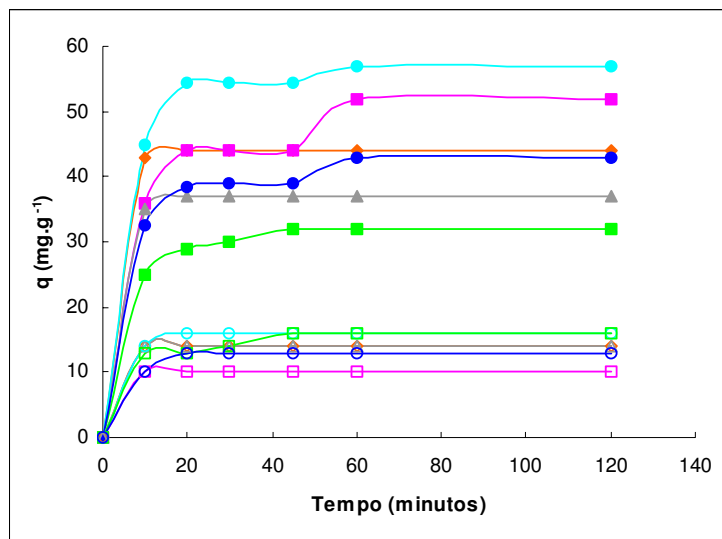


Figura 8. Cinética de biossorção de lantânio pelas biomassas dos fungos: *A. alternata*, \diamond biomassa ativa e \blacklozenge inativa, *A. versicolor*, \square biomassa ativa e \blacksquare inativa, *A. terreus*, \triangle biomassa ativa e \blacktriangle inativa, *Chrysosporium* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, *Cladosporium* spp., \square biomassa ativa e \blacksquare inativa e *Rhizopus* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, cultivados sob agitação. Resultados referentes aos valores médios de dois experimentos independentes.

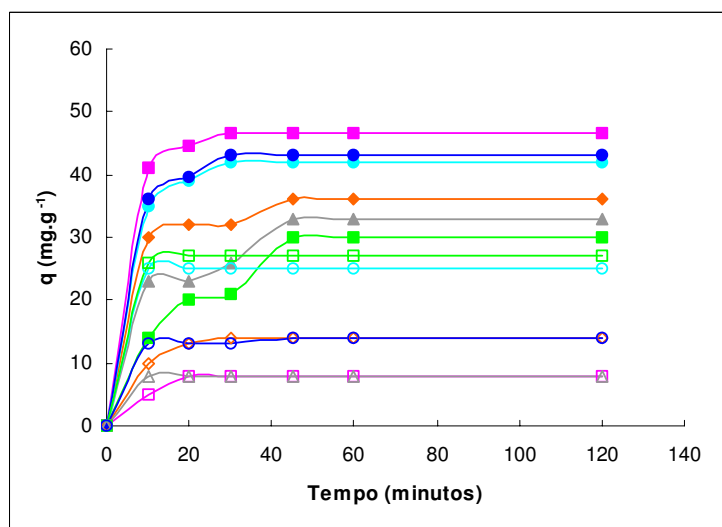


Figura 9. Cinética de biossorção de lantânio pelas biomassas dos fungos: *A. alternata*, \diamond biomassa ativa e \blacklozenge inativa, *A. versicolor*, \square biomassa ativa e \blacksquare inativa, *A. terreus*, \triangle biomassa ativa e \blacktriangle inativa, *Chrysosporium* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, *Cladosporium* spp., \square biomassa ativa e \blacksquare inativa e *Rhizopus* spp., \circ biomassa ativa e \bullet inativa, cultivados sem agitação. Resultados referentes aos valores médios de dois experimentos independentes.

As cinéticas de bioadsorção de neodímio, apresentadas nas Figuras 6 e 7, mostram que a capacidade de ligação deste metal foi cerca de 2,5 vezes maior para as biomassas inativas comparado às ativas, tanto para os fungos cultivados com e sem agitação. O mesmo comportamento foi observado em relação ao lantânio (Figuras 8 e 9), porém a capacidade de bioadsorção foi aproximadamente 3,5 vezes maior para as biomassas inativas, independente da condição de cultivo. Estes resultados concordam com os relatos da literatura que apontam que a capacidade de bioadsorção pode aumentar em função do pré-tratamento utilizado na biomassa (GALUN et al, 1983; KAPOOR et al., 1999; KIRAN et al., 2005). Uma explicação para esta maior capacidade de bioadsorção seria que a inativação pelo calor causa o rompimento das células, expondo outros componentes celulares que podem atuar como sítios para ligação aos metais (BAYRAMOGLU et al., 2003; WANG; CHEN, 2006).

Analisando os gráficos de cinéticas de bioadsorção para os metais lantânio e neodímio pode-se observar a existência de duas fases: uma inicial com uma bioadsorção rápida, a qual contribui para a capacidade total de bioadsorção seguida por uma fase de adsorção mais lenta até a estabilização da capacidade de bioadsorção, quando o equilíbrio é atingido. No entanto, a fase inicial de rápida adsorção dos metais à biomassa variou entre os metais estudados em função da condição de cultivo. Em relação aos fungos cultivados sob agitação, a fase inicial compreendeu cerca de 10 minutos para lantânio e 15 minutos para neodímio (Figuras 6 e 8), enquanto que para as biomassas cultivadas sem agitação, os tempos foram 20 minutos para neodímio e 35 minutos para lantânio (Figuras 7 e 9).

Observou-se também que o tempo necessário para que a bioadsorção atingisse o equilíbrio variou de 10 a 60 minutos para ambos metais (Figuras 6, 7, 8 e 9). Este intervalo de tempo, quando comparado a relatos da literatura, pode ser considerado pequeno, conferindo a estes fungos potencial para a utilização como bioadsorventes em maiores escalas.

Notou-se ainda que os fungos que atingiram mais tardiamente o equilíbrio apresentaram uma cinética de bioadsorção diferente, caracterizada por um acúmulo de metais temporário seguida de uma nova ascendência da capacidade de bioadsorção até atingir o equilíbrio definitivo. Em relação ao metal neodímio, os fungos cultivados sob agitação que apresentaram este padrão foram: *A. versicolor*, *Chrysosporium* spp., *Rhizopus* spp., *A. alternata*, e *Cladosporium* spp. (Figura 6),

sendo que para os cultivados sem agitação têm-se: *Cladosporium* sp., *Chrysosporium* spp., *A. alternata* e *Rhizopus* spp. (Figura 7). Com relação às cinéticas de bioissorção de lantânio, este comportamento foi observado para os seguintes fungos cultivados sob agitação: *Chrysosporium* spp., *A. versicolor* e *Rhizopus* spp. e *Cladosporium* spp. (Figura 8); e para *A. alternata*, *A. terreus* e *Cladosporium* sp cultivados sem agitação (Figura 9). Uma explicação para este padrão de cinética foi dada por Kazy et al., 2006, onde descreveram que isso indicaria a presença de, no mínimo, dois tipos de sítios para a ligação de metais.

Os resultados obtidos também mostraram que as condições de cultivo afetam a capacidade de bioissorção de neodímio e lantânio, pois as biomassas dos fungos cultivadas sob agitação (Figuras 6 e 8) apresentaram uma maior capacidade de ligar os metais em estudo que àquelas cultivadas sem agitação (Figuras 7 e 9). Estes resultados concordam com a literatura, a qual diz que a composição química da parede celular é fortemente dependente das condições de cultivo, uma vez que diferentes condições provocam mudanças na bioquímica da superfície dos fungos, o que pode também influenciar na capacidade de ligação de metais (TOBIN et al., 1994; FOMINA; GADD, 2002).

Portanto, a partir das cinéticas de bioissorção foi possível verificar que para a avaliação da eficiência do processo de bioissorção é importante determinar a velocidade da cinética em função da condição de cultivo e do tratamento da biomassa. Em função dos resultados obtidos, pode-se concluir que as melhores condições para uma maior bioissorção dos metais em estudo foram com as biomassas inativas por um tempo de contato superior a 60 minutos.

4.4. ISOTERMAS DE BIOSSORÇÃO

A construção das isotermas de biossorção (Figuras 10 a 21) usando biomassas inativas, foi feita nas seguintes concentrações de neodímio e lantânio: 0,15; 0,175; 0,2; 0,25 e 0,3 g.L⁻¹, as quais são da mesma ordem de grandeza das resinas de troca-iônica convencionais (KENTISH; STEVENS, 2001). A partir da análise da regressão linear das isotermas foi possível determinar a constante de afinidade da biomassa pelo metal (b) e o coeficiente máximo de biossorção ($q_{máx}$), parâmetros importantes para comparar a eficiência de biossorção entre diferentes microrganismos sob a mesma condição ambiental (KRATOCHVIL; VOLESKY, 1998).

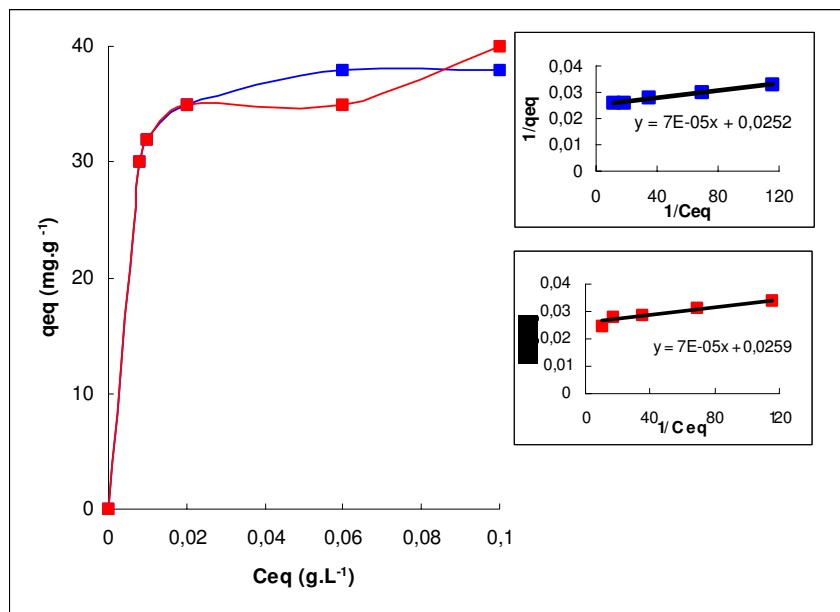


Figura 10. Isotherma de biossorção de neodímio do fungo *A. alternata*, ■ cultivado sob agitação e ■ sem agitação.

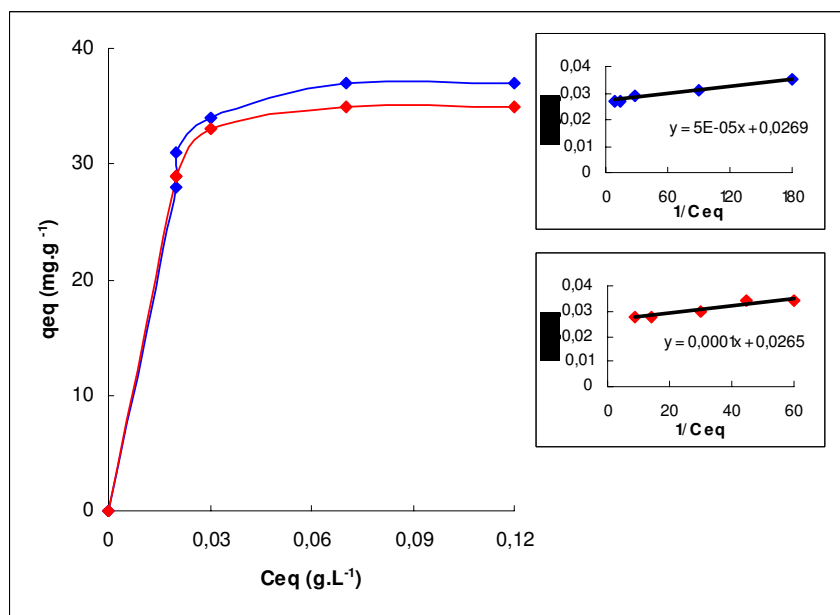


Figura 11. Isotherma de biossorção de lantânio do fungo *A. alternata*, ◆ cultivado sob agitação e ◆ sem agitação.

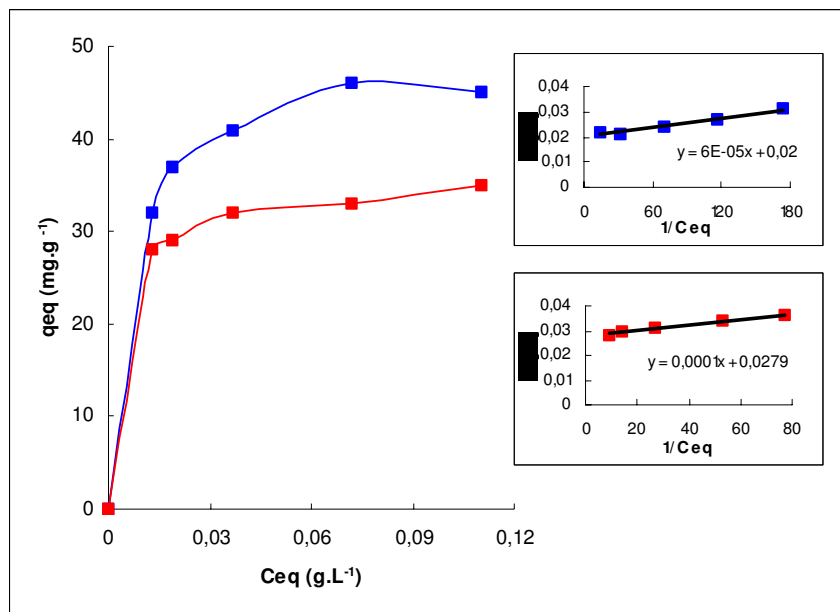


Figura 12. Isotherma de biossorção de neodímio do fungo *A. terreus*, ■ cultivado sob agitação e ■ sem agitação.

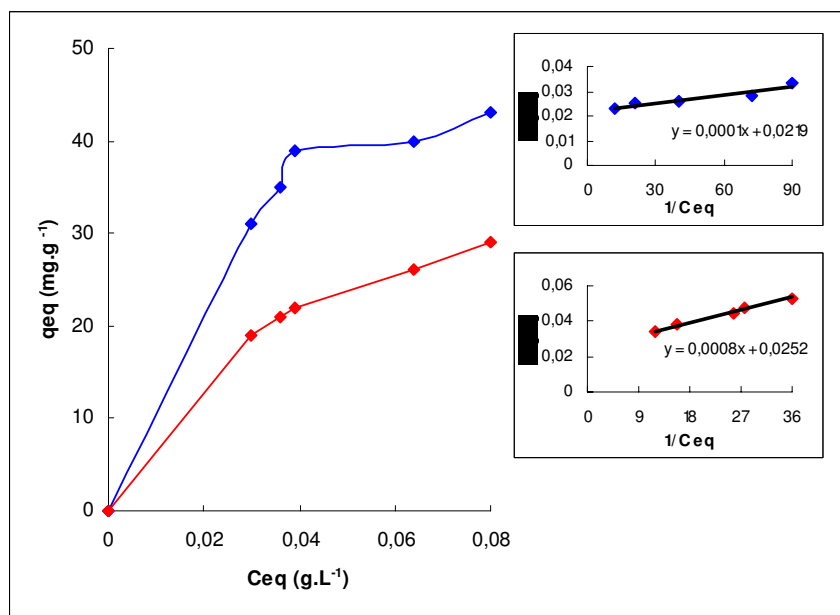


Figura 13. Isotherma de biossorção de lantânio do fungo *A. terreus*, ◆ cultivado sob agitação e ◆ sem agitação.

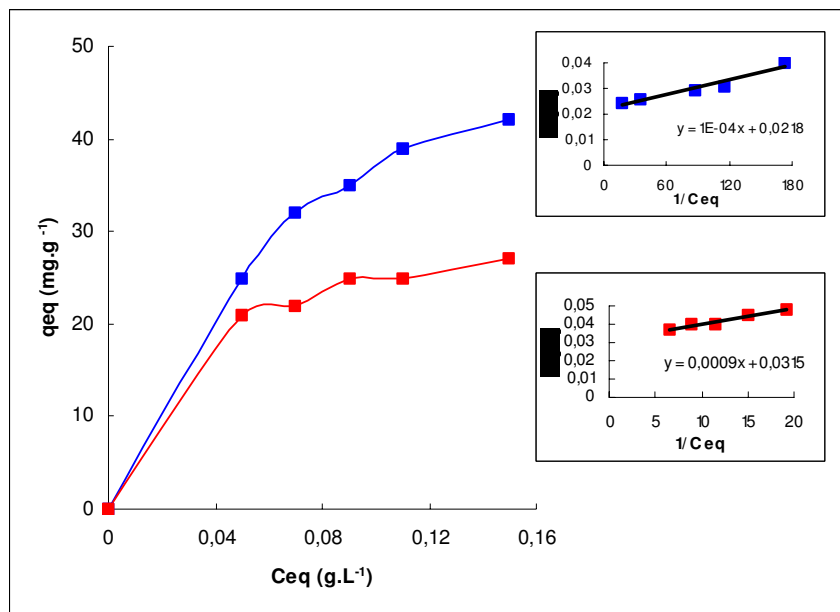


Figura 14. Isoterma de biossorção de neodímio do fungo *A. versicolor*, ■ cultivado sob agitação e ■ sem agitação.

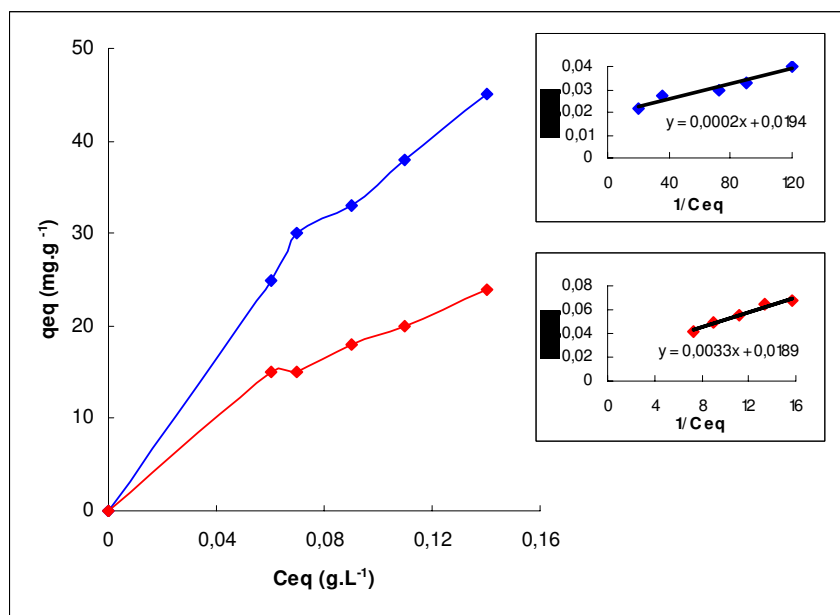


Figura 15. Isoterma de biossorção de lantânio do fungo *A. versicolor*, ◆ cultivado sob e ◆ sem agitação.

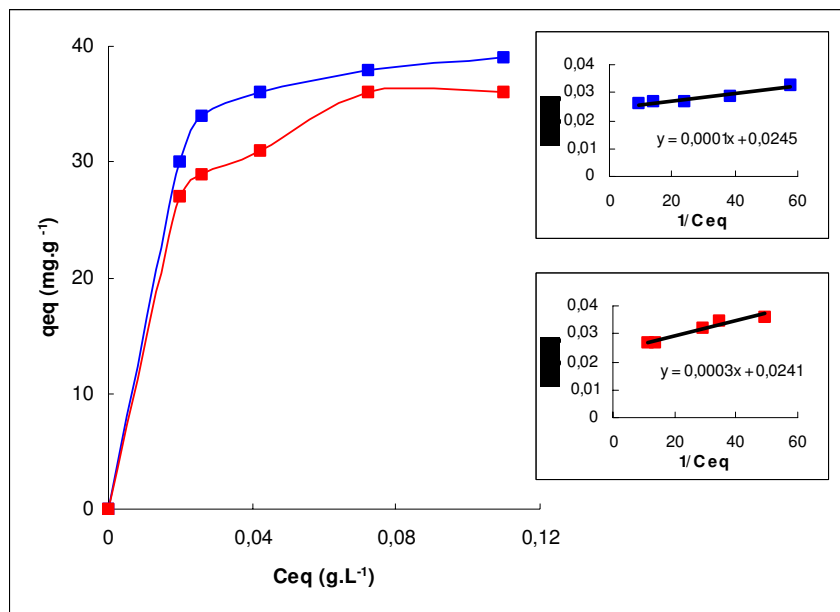


Figura 16. Isotherma de biossorção de neodímio do fungo *Chrysosporium* spp., ■ cultivado sob agitação e ■ sem agitação.

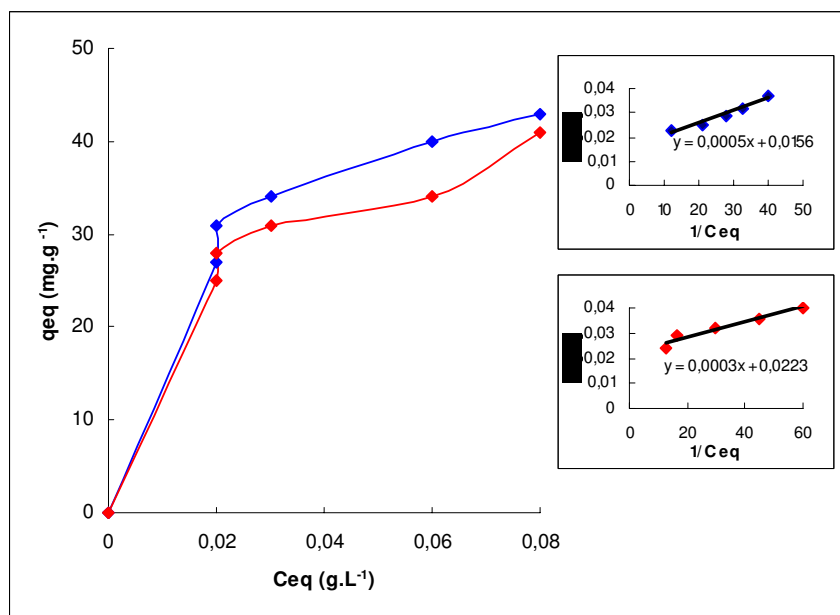


Figura 17. Isotherma de biossorção de lantânio do fungo *Chrysosporium* spp., ◆ cultivado sob agitação e ◆ sem agitação.

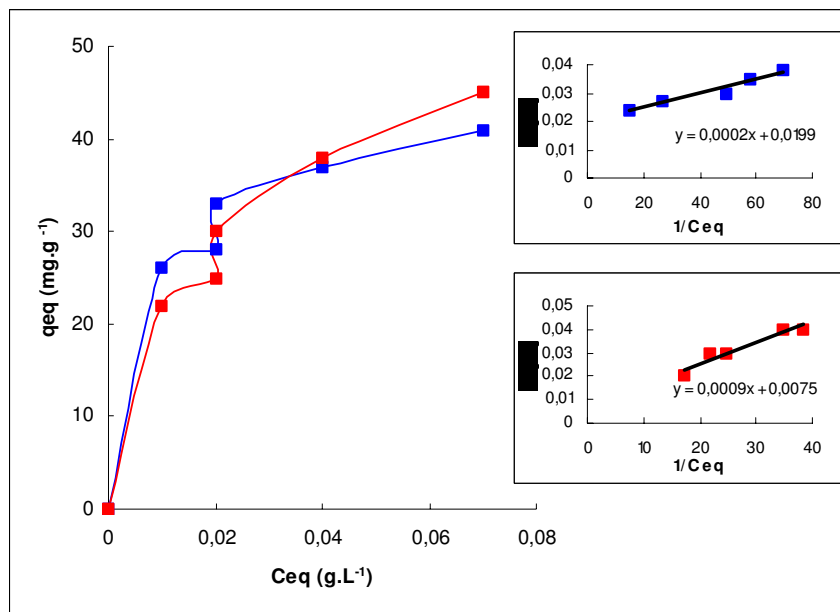


Figura 18. Isotherma de biossorção de neodímio do fungo *Cladosporium* sp., ■ cultivado sob agitação e ■ sem agitação.

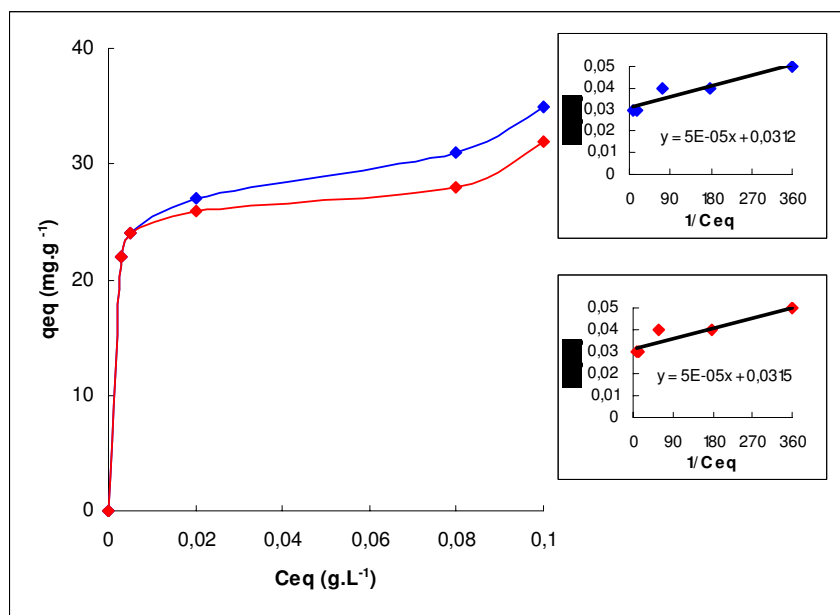


Figura 19. Isotherma de biossorção de lantânio do fungo *Cladosporium* sp., ◆ cultivado sob agitação e ◆ sem agitação.

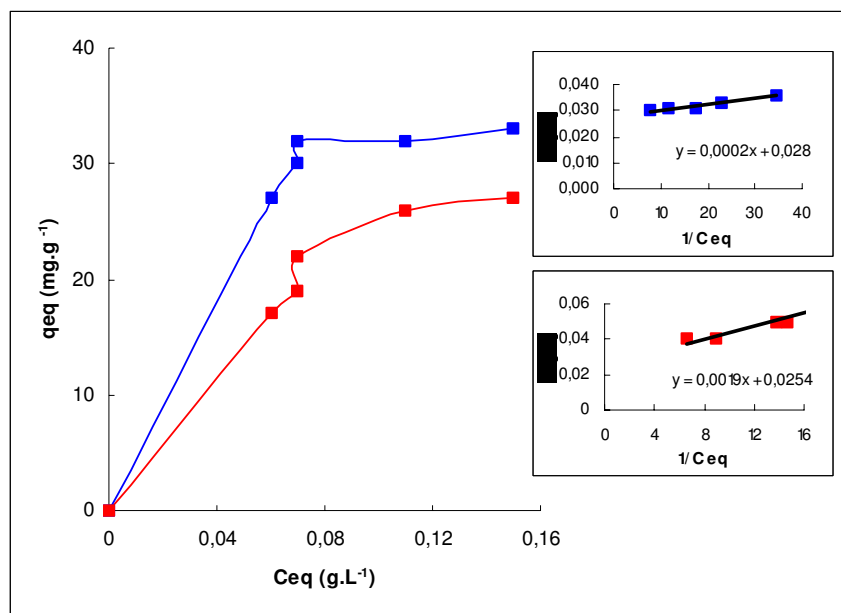


Figura 20. Isoterma de biossorção de neodímio do fungo *Rhizopus* spp., ■ cultivado sob agitação e ■ sem agitação.

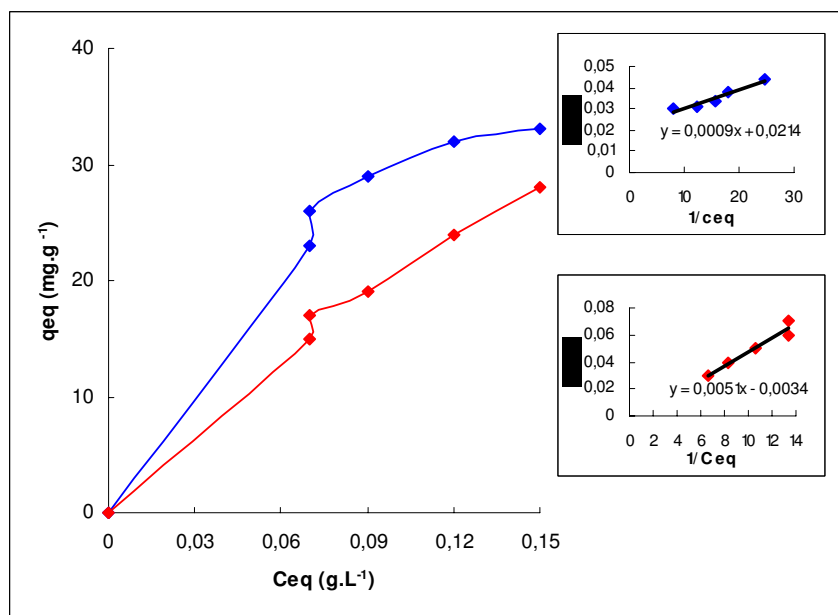


Figura 21. Isoterma de biossorção de lantânio do fungo *Rhizopus* spp., ◆ cultivado sob agitação e ◆ sem agitação.

A partir dos dados obtidos, usando o modelo de Langmuir, foi possível estimar os coeficientes máximos de bioissorção ($q_{\text{máx}}$) e as constantes de afinidade da biomassa pelos metais estudados (b) (Tabelas 7, 8, 9 e 10)

Tabela 7. Valores de coeficiente máximo de bioissorção ($q_{\text{máx}}$) e constante de afinidade (b) da biomassa inativa dos fungos cultivados sob agitação pelo metal neodímio.

Fungo	$q_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	b (L.g^{-1})	r^2
<i>Alternaria alternata</i>	270	380	0,97
<i>Aspergillus terreus</i>	340	332	0,98
<i>Aspergillus versicolor</i>	319	225	0,98
<i>Cladosporium</i> sp.	374	73	0,97
<i>Chrysosporium</i> spp.	284	167	0,99
<i>Rhizopus</i> spp.	249	119	0,95

Tabela 8. Valores de coeficiente máximo de bioissorção ($q_{\text{máx}}$) e constante de afinidade (b) da biomassa inativa dos fungos cultivados sem agitação pelo metal neodímio.

Fungo	$q_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	b (L.g^{-1})	r^2
<i>Alternaria alternata</i>	263	367	0,95
<i>Aspergillus terreus</i>	243	269	0,98
<i>Aspergillus versicolor</i>	215	41	0,98
<i>Cladosporium</i> sp.	1380	5	0,98
<i>Chrysosporium</i> spp.	277	100	0,98
<i>Rhizopus</i> spp.	312	11	0,95

Tabela 9. Valores de coeficiente máximo de bioissorção ($q_{\text{máx}}$) e constante de afinidade (b) da biomassa inativa dos fungos cultivados sob agitação pelo metal lantânio.

Fungo	$q_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	b (L.g^{-1})	r^2
<i>Alternaria alternata</i>	266	588	0,98
<i>Aspergillus terreus</i>	324	210	0,96
<i>Aspergillus versicolor</i>	374	116	0,99
<i>Cladosporium</i> sp.	230	699	0,95
<i>Chrysosporium</i> spp.	453	32	0,98
<i>Rhizopus</i> spp.	323	25	0,97

Tabela 10. Valores de coeficiente máximo de bioissorção ($q_{\text{máx}}$) e constante de afinidade (b) da biomassa inativa dos fungos cultivados sem agitação pelo metal lantânio.

Fungo	$q_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol.g}^{-1}$)	b (L.g^{-1})	r^2
<i>Alternaria alternata</i>	266	197	0,96
<i>Aspergillus terreus</i>	288	32	0,99
<i>Aspergillus versicolor</i>	396	5	0,98
<i>Cladosporium</i> sp.	216	903	0,95
<i>Chrysosporium</i> spp.	316	77	0,97
<i>Rhizopus</i> spp.	1338	1	0,97

Comparando os coeficientes máximos de biossorção ($q_{m\acute{a}x}$) para o metal neodímio, observou-se que o maior valor foi obtido para o fungo *Cladosporium* sp., tanto para o cultivo com e sem agitação, cujos valores foram respectivamente $374\mu\text{mol.g}^{-1}$ e $1380\mu\text{mol.g}^{-1}$. Notou-se também que o $q_{m\acute{a}x}$ da biomassa cultivada sem agitação ($1380\mu\text{mol.g}^{-1}$) foi superior a outros biossorventes descritos na literatura, como *Penicillium* sp. ($617\mu\text{mol.g}^{-1}$) (PALMIERI et al., 2000) e *Sargassum* sp. ($286\mu\text{mol.g}^{-1}$) (OLIVEIRA, 2007).

Em relação ao metal lantânio, os maiores valores de $q_{m\acute{a}x}$ foram obtidos para o fungo *Chrysosporium* spp. cultivado sob agitação ($453\mu\text{mol.g}^{-1}$) e para *Rhizopus* spp. cultivado sem agitação ($1338\mu\text{mol.g}^{-1}$). Para este metal, o do fungo *Rhizopus* spp. ($1338\mu\text{mol.g}^{-1}$) mostrou-se superior a outros biossorventes, como *Pseudomonas aeruginosa* ($397\mu\text{mol.g}^{-1}$), *Bacillus cereus* ($33\mu\text{mol.g}^{-1}$), *Bacillus subtilis* ($114\mu\text{mol.g}^{-1}$), *Escherichia coli* ($70\mu\text{mol.g}^{-1}$) e *Rhizopus arrhizus* ($350\mu\text{mol.g}^{-1}$) (ANDRÈS et al., 2003).

Os resultados também mostraram que os coeficientes máximos de biossorção variaram conforme a espécie em questão, a condição de cultivo e o metal utilizado. Isto pode ser explicado pelas propriedades de cada microrganismo como a presença de grupos funcionais na parede celular, os quais diferem na distribuição de suas cargas e, também, na área de superfície (ANDRÈS et al., 2000; PALMIERI et al., 2000; FOMINA; GADD, 2002).

Para que o processo de biossorção possa ser utilizado para a separação de metais de valor agregado, como por exemplo neodímio e lantânio, a biomassa deve apresentar uma diferença de afinidade entre os metais estudados. Esta afinidade da biomassa pelos metais (denominada b) representa a energia de ligação necessária para a interação metal-biomassa.

De acordo com os resultados mostrados nas Tabelas 7, 8, 9 e 10, pode-se notar que a afinidade das biomassas pelos metais foi diferente em relação à condição de cultivo. Em relação ao metal lantânio, utilizando as biomassas cultivadas sob agitação, os valores de afinidade mostraram a seguinte ordem: *Cladosporium* sp. > *A. alternata* > *A. terreus* > *A. versicolor* > *Chrysosporium* spp. > *Rhizopus* spp; enquanto que para as biomassas cultivadas sem agitação observou-se que os valores foram *Cladosporium* sp. > *A. alternata* > *Chrysosporium* spp. > *A. terreus* > *A. versicolor* > *Rhizopus* spp. E em relação ao neodímio, utilizando-se as

biomassas cultivadas sob agitação, os valores foram *A. alternata* > *A. terreus* > *A. versicolor* > *Chrysosporium* spp. > *Rhizopus* spp. > *Cladosporium* sp.; e, para as biomassas cultivadas sem agitação, a ordem de afinidade foi *A. alternata* > *A. terreus* > *Chrysosporium* spp. > *A. versicolor* > *Rhizopus* spp. > *Cladosporium* sp.

Pode-se observar que a biomassa de *Cladosporium* sp., cultivado sem agitação, apresentou uma grande diferença nos valores de afinidade entre os metais, sendo para lantânio o valor de 903 L.g⁻¹ enquanto que para neodímio obteve-se 5 L.g⁻¹ (Tabelas 8 e 10). Esta diferença de afinidade da biomassa pelos metais poderia resultar em uma rápida liberação de neodímio, por conta de sua baixa afinidade por este metal, e um tempo maior para liberar lantânio, devido à alta afinidade da biomassa por este elemento, conforme Diniz e Volesky, 2006, que relataram que quanto maior a afinidade da biomassa pelo metal, mais difícil é dessorvê-lo.

4.5. DESSORÇÃO DE NEODÍMIO E LANTÂNIO

Para avaliar a potencialidade biotecnológica do processo de biossorção para a separação de metais terras-raras é necessário determinar a quantidade de metal desorvido da biomassa. Para isto são usados ácidos minerais diluídos, sais, bases ou agentes complexantes, como o EDTA, os quais causam um enfraquecimento da ligação metal-biomassa. As Figuras 22 e 23 apresentam a porcentagem dos metais neodímio e lantânio desorvidos da biomassa, utilizando HCl $0,1\text{mol.L}^{-1}$ como agente desorvente.

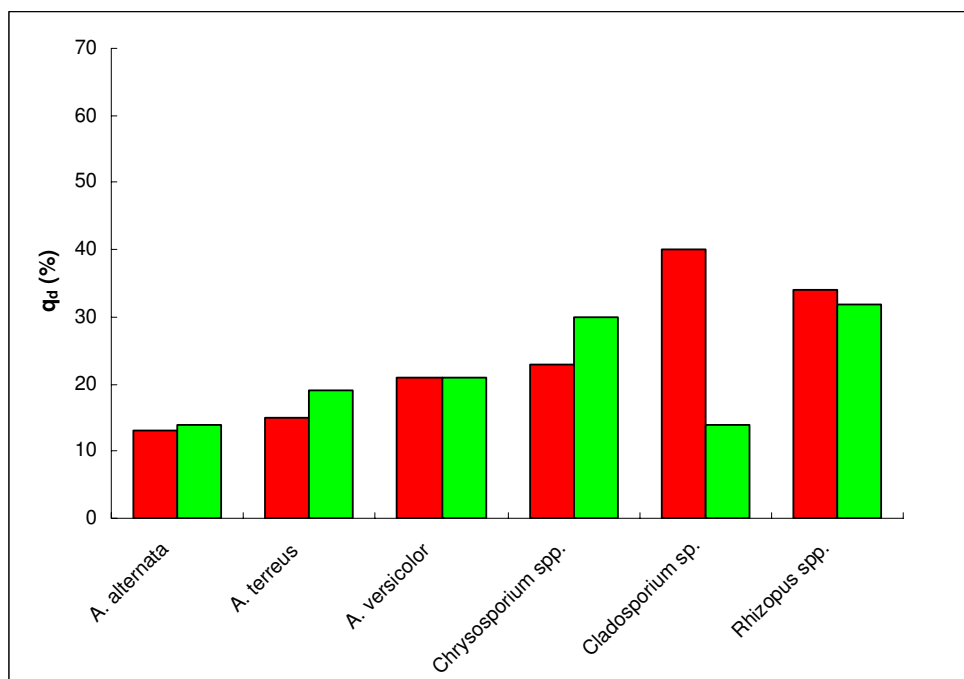


Figura 22. Porcentagem média de desorção dos metais terras-raras, ■ neodímio e ■ lantânio, a partir das biomassas dos fungos cultivados sob agitação.

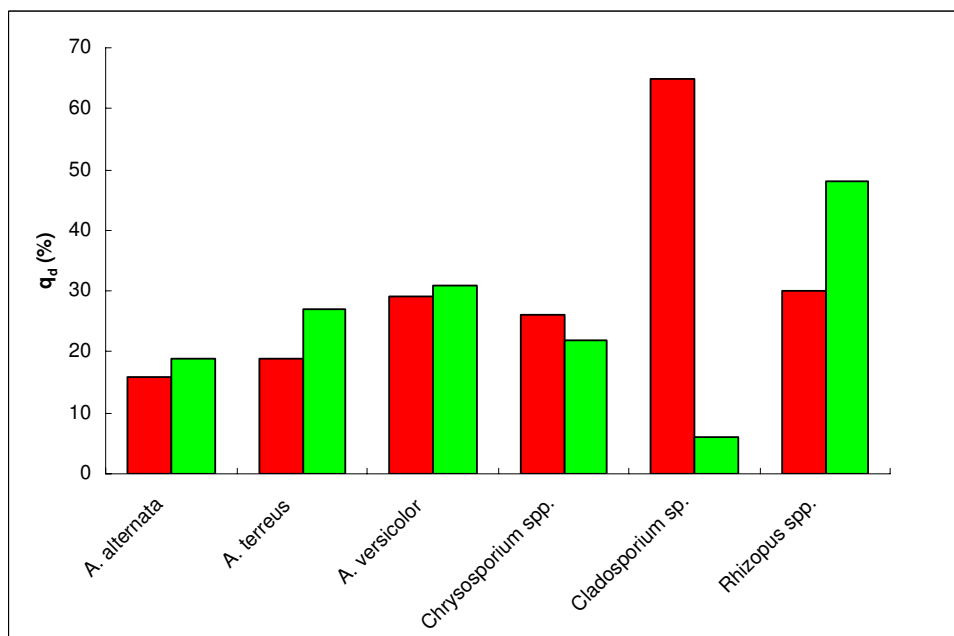


Figura 23. Porcentagem média de desorção dos metais terras-raras, ■ neodímio e ■ lantânio, a partir das biomassas dos fungos cultivados sem agitação.

Os resultados apresentados nas Figuras 22 e 23, mostram que alguns fungos, como *A. alternata* e *A. versicolor*, em ambas as condições de cultivo, apresentaram praticamente a mesma porcentagem de dessorção para os metais em estudo. O fungo *A. terreus*, apresentou maiores porcentagens de lantânio dessorvido em relação a neodímio, sendo que esta diferença mostra-se mais acentuada na biomassa que foi cultivada sem agitação. Por outro lado, as biomassas de *Cladosporium* sp. mostraram uma maior dessorção de neodímio, sendo o maior coeficiente observado para a cultura sem agitação. Já o fungo *Chrysosporium* spp. apresentou maior dessorção de lantânio, quando cultivado sob agitação, enquanto que para a biomassa cultivada sem agitação, a porcentagem de dessorção foi praticamente a mesma para neodímio e lantânio. O fungo *Rhizopus* spp. apresentou a mesma quantidade de lantânio e neodímio dessorvidos para a biomassa obtida sob agitação, e uma dessorção de lantânio superior para a biomassa cultivada sem agitação.

Analisando os resultados obtidos pode-se verificar que o fungo *Cladosporium* sp., cultivado sem agitação, apresentou uma grande diferença nos metais dessorvidos, sendo a porcentagem de dessorção para neodímio muito superior a de lantânio (Figura 23). Este resultado pode ser explicado pela afinidade da biomassa pelo metal (b), pois este fungo apresentou uma maior afinidade por lantânio (Tabela 10) em relação a neodímio (Tabela 8). Portanto, estes dados parecem indicar que o fungo *Cladosporium* sp. apresenta potencial biotecnológico para ser utilizado no processo de bioextração, visando à separação dos metais terras-raras neodímio e lantânio.

1. As cinéticas de crescimento dos fungos revelaram que o tempo necessário para que estes atinjam a sua fase estacionária de crescimento variou de 72 a 480 horas, entre os diferentes fungos estudados e também em função da condição de cultivo (com e sem agitação).
2. A partir dos resultados das cinéticas de biossorção pode-se verificar que:
 - 2.1. A capacidade de ligação de neodímio e lantânio foi maior (respectivamente 2,5 e 3,5 vezes) nas biomassas inativas comparada às ativas, independente da condição de cultivo.
 - 2.2. As cinéticas de biossorção de neodímio e lantânio apresentaram uma fase inicial com uma adsorção mais rápida, a qual, para os fungos cultivados sob agitação, compreendeu 10 minutos para lantânio e 15 minutos para neodímio, enquanto que para as biomassas cultivadas sem agitação, os tempos foram de 20 minutos para neodímio e 35 para lantânio.
 - 2.3. O tempo necessário para que a biossorção atingisse o equilíbrio variou de 10 a 60 minutos, para ambos os metais, independente da condição de cultivo.
 - 2.4. Dependendo da condição de cultivo, os fungos estudados apresentaram uma cinética de biossorção diferente, caracterizada por um acúmulo de metais temporário seguida de uma nova ascendência da capacidade de biossorção até atingir o equilíbrio definitivo.
 - 2.5. As condições de cultivo também afetaram a capacidade de biossorção dos metais em estudo pois as biomassas dos fungos cultivadas sob agitação apresentaram uma maior capacidade de ligar neodímio e lantânio que àquelas cultivadas sem agitação.
3. Com relação às isotermas de biossorção, os resultados mostraram que os coeficientes máximos de biossorção ($q_{m\acute{a}x}$) variaram conforme o fungo em questão, a condição de cultivo e o metal utilizado:
 - 3.1. O fungo *Cladosporium* sp. apresentou os maiores coeficientes máximos de biossorção ($q_{m\acute{a}x}$) para neodímio, sendo o valor de

374 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ para a biomassa cultivada sob agitação e 1380 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ para a cultivada sem agitação.

- 3.2. Com o fungo *Chrysosporium* spp. foi obtido o maior $q_{\text{máx}}$ para o metal lantânio, cujo valor foi de 453 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ para o cultivo sob agitação e, 1338 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ para a biomassa de *Rhizopus* spp. obtida sem agitação.

4. Para o parâmetro afinidade das biomassas pelos metais (b), os dados também variaram em relação ao fungo e a condição de cultivo da biomassa:
 - 4.1. Para as biomassas cultivadas sob agitação, o valor da afinidade seguiu, para lantânio, a seguinte ordem: *Cladosporium* sp. > *A. alternata* > *Chrysosporium* spp. > *A. terreus* > *A. versicolor* > *Rhizopus* spp. E, para neodímio, *A. alternata* > *A. terreus* > *A. versicolor* > *Chrysosporium* spp. > *Rhizopus* spp. > *Cladosporium* sp.
 - 4.2. Para as biomassas cultivadas sem agitação observou-se que o valor em relação a lantânio, foi *Cladosporium* sp. > *A. terreus* > *A. alternata* > *A. versicolor* > *Chrysosporium* spp. > *Rhizopus* spp. E, com relação a neodímio, *A. alternata* > *A. terreus* > *Chrysosporium* spp. > *A. versicolor* > *Rhizopus* spp. > *Cladosporium* sp.

5. Os resultados da dessorção de lantânio e neodímio indicaram:
 - 5.1. *A. alternata* e *A. versicolor*, em ambas as condições de cultivo, apresentaram praticamente a mesma porcentagem de dessorção para os metais em estudo.
 - 5.2. O fungo *A. terreus* apresentou maiores porcentagens de lantânio dessorvido em relação a neodímio, sendo que esta diferença se mostra mais acentuada na biomassa que foi cultivada sem agitação.
 - 5.3. O fungo *Chrysosporium* spp. e *Rhizopus* spp. apresentaram uma maior dessorção de lantânio quando cultivado respectivamente com e sem agitação.

- 5.4.** O fungo *Cladosporium* sp. apresentou uma grande diferença com relação à porcentagem dos metais dessorvidos, sendo a dessorção para lantânio muito superior a de neodímio, principalmente para a biomassa proveniente da cultura sem agitação, o que representa um menor custo de produção.

Portanto os resultados obtidos neste trabalho indicam que o fungo *Cladosporium* sp. apresenta potencial biotecnológico para a separação dos metais terras-raras como neodímio e lantânio.

ABRÃO, A. **Química e Tecnologia das Terras-Raras**: tecnologia mineral. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, 1994.

ANDRÈS, Y.; THOUAND, G.; BOUALAM, M.; MERGEAY, M. Factors influencing the biosorption of gadolinium by micro-organisms and its mobilisation from sand. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 54, p. 262-267, 2000.

ANDRÈS, Y.; TEXIER, A. C.; LE CLOIREC, P. Rare Earth elements removal by microbial biosorption: a review. **Environmental Technology**, v. 24, p. 1367-1375, 2003.

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 997-1026, 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. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 6, p. 269-277, 1998.

BAYRAMOGLU, G.; BEKTAS, S.; ARICA, M. Y. Biosorption of heavy metal ions on immobilized white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Journal of Hazardous Materials**, v. B101, p. 285-300, 2003.

BLACKWELL, K. J.; SINGLETON, I.; TOBIN, J. M. Metal cation uptake by yeast: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 579-584, 1995.

BLOIS, M. S. The melanins: their synthesis and structure. **Photochemistry and Photobiology**, v.3, p.115-134, 1978.

CAVALLIERI, A. P.; GARCIA JUNIOR, O.; SPONCHIADO, S. R. P. Biossorção de neodímio pela linhagem melanizada do fungo *Aspergillus nidulans*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 18., 2006, Botucatu. **Anais ...** São Paulo: UNESP, 2006.

CAVALLIERI, A. P.; GARCIA JUNIOR, O.; SPONCHIADO, S. R. P. Biossorção de lantânio e neodímio pela biomassa de *Aspergillus nidulans*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 19., 2007, Botucatu. **Anais ...** São Paulo: UNESP, 2007.

BRASIL. Ministério das Minas e Energia. **Sumário Mineral**, Brasília: Departamento Nacional de Produção Mineral, 1996.

DINIZ, V.; VOLESKY, B. Biosorption of La, Eu e Yb using *Sargassum* biomass. **Water Research**, v. 39, p. 239-247, 2005a.

DINIZ, V.; VOLESKY, B. Effect of conterions on lanthanum biosorption by *Sargassum polycystrum*. **Water Research**, v. 39, p. 2229-2236, 2005b.

DINIZ, V.; VOLESKY, B. Desorption of lanthanum, europium and ytterbium from *Sargassum*. **Separation and Purification Technology**, v. 50, p. 71-76, 2006.

DÖNMEZ, G. C.; AKSU, Z.; OZTURK, A.; KUTSAL, T. A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 885-892, 1999.

FILIPOVIC-KOVACEVIC, Z.; SIPOS, L.; BRISKI, F. Biosorption of chomium, copper, nickel and zinc Ions onto Fungal Pellets *Aspergillus niger* 405 from Aqueous Solutions. **Food Technology and Biotechnology**, v. 38, n. 3, p. 211-216, 2000.

FOGARTY, R. V.; TOBIN, J. M. Fungal melanins and their interactions with metals. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 311-317, 1996.

FOMINA, M.; GADD, G. M. Metal sorption by biomass of melanin-producing fungi grown in clay-containing medium. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 78, p. 23-34, 2002.

FOUREST, E.; ROUX, J. C. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH. **Applied Microbiology and Biotecnology**, v. 37, p. 399-403, 1992.

FRANCO, L. O.; MAIA, R. C. C.; PORTO, A. L. F.; MESSIAS, A. S.; FUKUSHIMA, K.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. C. Heavy metal biosorption by chitin and chitosan isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 243-247, 2004.

GADD, G. M.; ROME, L. Biosorption of copper by fungal melanin. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 29, p. 610-617, 1988.

GALUN, M.; KELLER, P.; MALKI, D.; FELDSTEIN, H.; GALUM, E.; SIEGEL, S. M.; SIEGELI, B. Z. Removal of uranium (VI) from solution by fungal biomass and fungal wall-related biopolymers. **Science**, v. 219, p. 285-286, 1983.

GARCIA JUNIOR, O. Microrganismos e metais. In: MELO, I. S. DE; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. p. 11-42.

GARCIA-RIVERA, J.; CASADEVALL, A. Melanization of *Cryptococcus neoformans* reduces its susceptibility to the antimicrobial effects of silver nitrate. **Medical Mycology**, v. 39, n. 4, p. 353-357, 2001.

GAVRILESCU, M. Removal of heavy metals from the environment by biosorption. **Engineering in Life Sciences**, v. 4, n.3, p. 219-232, 2004.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. 2nd ed. New York: Willey-Liss, 1994. p. 266-267.

GSCHNEIDNER, K. A. **Industrial Applications of rare-earths Elements**. Las Vegas: American Chemical Society, 1980. p. 297.

GUENTHER, W. B. **Química quantitativa medições e equilíbrio**. São Paulo: Edgard Blücher, 1972. p. 356-359.

GUPTA, C. K.; KRISHNAMURTHY, N. Extractive metallurgy of rare-earths. **International Materials Reviews**, v. 37, n. 5, p. 197-248, 1992.

HEDRICK, J. B. Rare-earths. **2005 Minerals Yearbook**. Disponível em: <<http://minerals.usgs.gov/minerals/pub/commodity/rareearths/rareemyb05.pdf>>. Acesso em: 09 ago. 2007.

HEDRICK, J.B. **Rare-earth metals**. Disponível em: <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/rare_earths/740798.pdf>. Acesso em: 09 ago. 2007.

HUANG, C. P.; WESTMAN, D.; HUANG, C.; MOREHART, A. L. The removal of cadmium (II) from dilute aqueous solutions by fungal biosorbent. **Water Science and Technology**, v. 20, p. 369-376, 1988.

JEON, C.; YOO, Y. J.; HOELL, W. H. Environmental effects and desorption characteristics on heavy metal removal using carboxylated alginic acid. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 15-19, 2005.

JONES, A. P.; WALL, F.; WILLIAMS, C. T. **Rare Earth Minerals Chemistry, origin and ore deposits**. New York: Chapman & Hall, 1996.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal Biosorption – an alternative treatment option for heavy metal wastewaters: a review. **Bioresource Technology**, v. 53, p. 195-206, 1995.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T.; CULLIMORE, D. R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 95-104, 1999.

KAZY, S. K.; DAS, S. K.; SAR, P. Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas* sp.: equilibrium studies and chemical characterization. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 773-783, 2006.

KENTISH, S. E.; STEVENS, G. W. Innovations in separations technology for the recycling and re-use of liquid waste streams. **Chemical Engineering Journal**, v. 84, p. 149-159, 2001.

KIRAN, I.; AKAR, T.; TUNALI, S. Biosorption of Pb(II) and Cu(II) from aqueous solutions by pretreated biomass of *Neurospora crassa*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 3550-3558, 2005.

KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in the biosorption of heavy metals. **Trends in Biotechnology**, v. 16, p. 291-300, 1998.

LARONE, D. H. **Medically Important Fungi: a Guide to Identification**. 3rd ed, Herndon: ASM Press, 1995.

MARKAI, S.; ANDRÈS, Y.; MONTAVON, G.; GRAMBOW, B. Study of the interaction between europium (III) and *Bacillus subtilis*: fixation sites, biosorption modeling and reversibility. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 262, p. 351-361, 2003.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Terras-raras: aplicações industriais e biológicas. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 111-117, 2005.

MODAK, J. M.; NATARAJAN, K. A Biosorption of metals using nonliving biomass: a review. **Mineral and Metallurgical Processing**, v. 12, p. 189-196, 1995.

MURALEEDHARAN, T. R.; IYENGAR, L.; VENKOBACHAR, C. Biosorption: an attractive alternative for metal removal and recovery. **Current Science**, v. 61, n. 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**, v. 49, n. 2, p.179-186, 1994.

OLIVEIRA, R. C. **Estudo da concentração e recuperação de íons lantânio e neodímio por bioissorção em coluna com a biomassa *Sargassum sp.*** 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

PALMIERI, M. C.; GARCIA, O.; MELNIKOV, P. Neodymium biosorption from acid solutions in batch system. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 441-444, 2000.

PALMIERI, M. C. **Estudo da utilização de biomassas para a bioissorção de terras-raras.** 2001. 78 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

PALMIERI, M. C.; VOLESKY, B.; GARCIA, O. Biosorption of lanthanum using *Sargassum fluitans* in batch system. **Hydrometallurgy**, v. 67, 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 and Biotechnology**, v. 25, p. 1-7, 2000.

ROME, L.; GADD, G. M. Use of pelleted and immobilized yeast and fungal biomass for heavy metal and radionuclide recovery. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 7, p. 97-104, 1991.

SANTOS, S.; MACHADO, R.; CORREIA, M. J. N.; CARVALHO, J. R. Treatment of acid mining waters. **Minerals Engineering**, v. 17, p. 225-232, 2004.

SELATNIA, A.; BOUKAZOULA, A.; KECHID, N.; BAKHTI, M. Z.; CHERGUI, A.; KERCHICH, Y. Biosorption of lead (II) from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. **Biochemical Engineering Journal**, v. 19, p. 127-135, 2004.

SIEGEL, S. M.; GALUN, M.; SIEGEL, B. Z. Filamentous fungi as metal biosorbents: a review. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 53, p. 335-344, 1990.

TEXIER, A. C.; ANDRÈS, Y.; LE CLOIREC, P. Selective lanthanide (La, Eu, Yb) ions by *Pseudomonas aeruginosa*. **Environmental Science and Technology**, v. 33, p. 489-495, 1999.

TEXIER, A. C.; ANDRÈS, Y.; ILLEMASSENE, M.; LE CLOIREC, P. Characterization of Lanthanide Ions Binding Sites in the Cell Wall of *Pseudomonas aeruginosa*. **Environmental Science and Technology**, v. 34, p. 610-615, 2000.

TEXIER, A. C.; ANDRÈS, Y.; FAUR-BRASQUET, C.; LE CLOIREC, P. Fixed-bed study for lanthanide (La, Eu, Yb) ions removal from aqueous solutions by immobilized *Pseudomonas aeruginosa*: experimental data and modelization. **Chemosphere**, v. 47, p. 333-342, 2002.

TOBIN, J. M.; WHITE, C.; GADD, G. M. Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 13, p. 126-130, 1994.

VEGLIÒ, F.; BEOLCHINI, F. Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, v. 44, p.301-316, 1997.

VIEIRA, E. V.; LINS, F. F. **Concentração de minérios Terras-raras: uma revisão**. Rio de Janeiro: CETEM/CNPQ, 1997.

VITA-MARQUES, A. M. **Isolamento, atividade biológica e análise do perfil químico de fungos coletados no litoral do estado de São Paulo**. 2003. 192 f.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

VOLESKY, B. **Biosorption of heavy metals**. Boca Raton: CRC Press, 1990.

VOLESKY, B. Biosorption process simulation tools. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 179-190, 2003.

WANG, J.; CHEN, C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 427-451, 2006.

ANEXO

Ácido acético 0,1M

Ácido acético concentrado	5,7mL
Água destilada até completar	1000mL

Ácido clorídrico 0,1M

Ácido clorídrico concentrado	0,83mL
Água destilada até completar	100mL

Alaranjado de xilenol

Alaranjado de xilenol	0,1g
Solução 50% etanol/água	100mL

EDTA 0,01M

EDTA	3,724g
Água até completar	1000mL

EDTA 0,001M

EDTA	0,3724g
Água até completar	1000mL

Solução salina

Cloreto de sódio	0,85g
Água estéril até completar	100mL

Tampão acetato de sódio pH 5,7

Acetato de sódio	13,608g
Ácido acético 0,1M até atingir pH 5,7	
Água destilada até completar	1000mL