

## 3. Revisão Bibliográfica

### 3.1. Metais no meio aquoso

A contaminação dos corpos hídricos por metais pesados é um dos graves problemas ambientais atualmente. Apesar de alguns serem essenciais para o funcionamento biológico dos seres vivos, em elevadas concentrações podem apresentar toxicidade aos vegetais e animais.

#### 3.1.1. Níquel (Ni)

O Níquel é um metal de coloração branco prateado, dúctil, maleável, possuindo grande resistência à corrosão e oxidação, sendo, portanto, um dos elementos químicos mais utilizados em sua forma pura nos dias atuais.

É bastante utilizado na produção de ligas (ferrosas, e não ferrosas, elétricas, magnéticas, de expansão, entre outras), na indústria de galvanoplastia, fabricação de baterias alcalinas, como catalisador na indústria petrolífera. Possui aplicações voltadas para a construção civil, militares, fabricação de moedas (DNPM, 2001), assim como para fabricação de próteses dentárias e clínicas (CETESB, 2012).

A exposição por períodos prolongados e em níveis acima dos recomendados de níquel pode apresentar graves efeitos para o ser humano como problemas respiratórios (bronquite crônica, câncer no pulmão), assim como dermatites, danos neurológicos, gástricos e cardiológicos. A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classifica o níquel metálico e ligas como possíveis cancerígenos e os compostos de níquel como cancerígenos para o ser humano (CETESB, 2012).

Porém, em baixas concentrações este elemento é essencial para as plantas, auxiliando na absorção de ferro e é importante na resistência das plantas a algumas doenças (INPI, 2007).

A presença de níquel na água para consumo humano deve-se essencialmente à migração deste metal a partir de materiais das tubagens e acessórios utilizados nos sistemas de distribuição de água e nas redes prediais.

Pode também estar presente em águas subterrâneas como consequência da dissolução do metal das rochas. (CETESB, 2012).

### 3.1.2. Cobalto (Co)

O cobalto possui coloração branco-azulada, e apresenta as formas Co(II) e Co(III). Está presente na formação da vitamina B12, sendo um dos elementos essenciais, em baixas quantidades, para muitos organismos, inclusive o homem.

É encontrado em quantidades muito pequenas em rochas, solos, águas e geralmente associado a outros minérios, como prata, chumbo e cobre. As fontes naturais de emissão de cobalto para a atmosfera são incêndios florestais e vulcões. Como fontes antropogênicas de emissão temos a queima de combustíveis fósseis, uso de biossólidos e fertilizantes fosfatados e mineração, entre outros (CETESB, 2012).

Este elemento é utilizado em ligas metálicas, revestimentos metálicos, catalisadores em indústria química, como pigmento em vidros e cerâmica, agente secante de tintas e vernizes. Uma das principais aplicações do cobalto corresponde ao tratamento de câncer, através da bomba de cobalto (radioisótopo  $^{60}\text{Co}$ ) usado na radioterapia (CETESB, 2012).

A exposição aguda ao cobalto pode resultar em doenças respiratórias, dermatite alérgica, a exposição via oral pode causar náuseas, vômitos e diarreia, e o principal órgão a acumular o cobalto é o fígado. Está enquadrado como um elemento possivelmente cancerígeno para o ser humano segundo a IARC, Agência Internacional de Pesquisa em Câncer. A tabela 1 apresenta algumas fontes de exposição ambiental do cobalto.

Tabela 1. Fontes de exposição ambiental do cobalto. (Alves e Della Rosa, 2003)

Fonte de Exposição	Concentração	Referência
Solo	1-40 mg/kg	Commission of European Communities Industrial Health and Safety, 1987.
Água potável	0,1-5 mg/L	Elinder, Friberg, 1986
Ar	<10 ng/m <sup>3</sup>	IARC (International Agency for Research on Cancer, 1991).

### 3.1.3. Magnésio (Mg)

O magnésio apresenta um brilho vítreo, de coloração prateada. A magnesita é a principal fonte do magnésio encontrada na natureza. Outras fontes não menos importantes para obtenção de magnésio são as olivinas e salmouras provenientes de lagos salgados e da própria água do mar. Algumas das melhores jazidas de magnesita em termos de qualidade do mundo estão localizadas na região nordeste brasileira, concentradas entre os estados da Bahia e Ceará. (DNPM, 2001).

As ligas de magnésio são utilizadas na indústria automotiva, sendo que o magnésio apresenta outros usos: produção de materiais refratários (cadinhos), como sais de banho, revestimentos cerâmicos, e também amplamente utilizado na indústria química, agrícola e da construção civil (DNPM, 2010).

São conhecidos seus benefícios para a saúde: é essencial para a regeneração celular, tem participação em numerosos processos metabólicos, mesmo em sistemas biológicos primitivos e é indicado como um dos responsáveis no retardamento do envelhecimento celular. Juntamente com o cálcio, sódio e potássio, o magnésio é um dos cátions mais importantes nos sistemas biológicos (Baran, 1991).

A principal fonte de contaminação de magnésio nos corpos hídricos e através das reações químicas com o bicarbonato sulfatos, cloretos e nitratos as quais contribuem para a dureza da água. Existem dois tipos de dureza a temporária e a permanente. A primeira resiste à ação dos sabões e provoca incrustações. É denominada de temporária porque os bicarbonatos, pela ação do calor, se decompõem em gás carbônico, água e carbonatos insolúveis que se precipitam. Já a dureza permanente, também, chamada de dureza de não carbonatos, é devida à presença de sulfatos, cloretos e nitratos de cálcio ou magnésio, resiste também à ação dos sabões, mas não produz incrustações por serem seus sais muito solúveis na água. Não se decompõe pela ação do calor. (FUNASA, 2006).

### 3.1.4. Alumínio (Al)

O alumínio é o mais abundante elemento metálico encontrado na Terra. Apresenta-se mais comumente na forma de óxido de alumínio ( $Al_2O_3$ ) (DNPM, 2001). É um material importante em múltiplas atividades, considerando a quantidade e o valor do metal empregado, o uso deste excede o de qualquer

outro metal, exceto o aço. A concentração de alumínio em águas naturais é menor a  $10\mu\text{g.L}^{-1}$ .

O alumínio puro é maleável e frágil, porém suas ligas com pequenas quantidades de cobre, manganês, silício, magnésio e outros elementos apresentam uma grande quantidade de características adequadas às mais diversas aplicações. Estas ligas constituem o material principal para a produção de muitos componentes na indústria de aviação, medicamentos e cosméticos, fabricação de peças de automóveis, utensílios domésticos, etc.

O alumínio é um dos poucos elementos abundantes na natureza que parecem não apresentar nenhuma função biológica significativa. A exposição a altas concentrações pode causar problemas de saúde, mesmo que o alumínio não seja considerado tão tóxico como outros metais pesados.

Na água destinada ao abastecimento público é comum à existência de um residual de alumínio, liberado para o meio ambiente, principalmente, por processos naturais, como a dissolução de rochas em meio ácido, acrescido também, pela utilização recorrente de coagulantes à base de sais de alumínio no tratamento. (Almeida *et al.*, 2013)

### **3.1.5. Cromo (Cr)**

O cromo é um metal cinza aço, sem odor e muito resistente à corrosão e é o sétimo metal mais abundante na crosta terrestre. Na natureza, é encontrado na forma de cromita, e também faz parte do solo, névoas vulcânicas, poeiras, animais e plantas. Como fontes de contaminação ambiental, temos os incêndios florestais e erupções vulcânicas.

Este elemento pode ser usado na construção civil, metalurgia, fabricação de cerâmicas refratárias, indústria química, indústria de galvanoplastia, curtumes, soldagem de ligas metálicas, fábrica de pigmentos (corantes), fertilizantes, entre outros (Silva & Pedrozo, 2001).

A maioria dos efeitos tóxicos induzidos pelo cromo ocorre no trato respiratório. O contato com substâncias que contenham cromo apresentam riscos à saúde em níveis baixos ou elevados, podendo apresentar dermatites, possíveis efeitos cardiovasculares, gastrointestinais, hematológicos, hepáticos e renais e relatos de câncer pulmonar são observados (Silva & Pedrozo, 2001).

A presença de cromo na água por fontes naturais ocorre através da lixiviação dos minerais contendo cromo, cromita principalmente, considerada o único mineral de minério, ou seja, com viabilidade econômica para obtenção do

cromo. Também pode ser disponibilizado por meio de atividades antrópicas relacionadas a processos químicos: a cromita é transformada em vários produtos químicos essenciais (CETESB, 2013).

### 3.1.6. Ferro (Fe)

O ferro (Fe) é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre, juntamente com o alumínio (Baptista Neto et al. 2004). É extraído da natureza na forma de minério de ferro, onde a produção brasileira representa 20% da produção mundial e seu principal uso é na indústria siderúrgica (DNPM, 2001).

Entre os usos do ferro, está à produção de aço, liga metálica, indústria naval, automotiva, construção civil e obras de engenharia, como pontes.

A falta do ferro para os animais pode levar a anemia, que provoca vários sintomas como fraqueza, cansaço, entre outros.

As fontes de contaminação das águas podem ser naturais como antropogênicas. Constituem fontes naturais de contaminação do ferro o desgaste natural das rochas contendo minérios de ferro, meteoritos, e escoamento superficial do metal (Kroschwitz, 1995). As fontes antropogênicas contaminam através do despejo de efluentes industriais e municipais, o uso de fertilizantes na agricultura. (Scharma *et al.*, 2000)

Na tabela 2 são apresentados os limites máximos para alguns metais em água, previsto na Resolução CONAMA 357/05, para águas de classe II.

Tabela 2. Limites máximos aceitáveis de alguns metais em água segundo o CONAMA 357/05.

<b>Elemento</b>	<b>Limite CONAMA</b>
<b>Níquel</b>	0,025 mg/L
<b>Cobalto</b>	0,05 mg/L
<b>Alumínio</b>	0,1 mg/L
<b>Cromo</b>	0,05 mg/L
<b>Ferro</b>	0,3 mg/L

### 3.2. Métodos de Remoção de Metais

O crescente conhecimento dos efeitos nocivos dos metais pesados ao ambiente vem estimulando inúmeras pesquisas que abordam o potencial para

sua remoção e recuperação de soluções aquosas residuais de indústrias, antes da descarga em corpos receptores de água.

O tratamento de efluentes contaminados com metais pesados é usualmente realizado por meio de processos físico-químicos, tais como precipitação, coagulação, troca iônica, ultrafiltração, osmose reversa e adsorção (Selatnia et al., 2007). Contudo, esses processos possuem alto custo, baixa eficiência ou podem gerar outros produtos que necessitem de depósito ou tratamento. (Zouboulis et al., 2004).

### **3.2.1. Biossorção**

A biossorção é definida por Chojnacka (2010) como um processo onde o material sólido de origem vegetal ou animal e seus derivados (biossorvente) são usados para remover os metais contidos na solução aquosa (solvato).

Os processos biossotivos são relativamente rápidos e adequados para remoção de metais, pois podem ser reversíveis, além de dispensar o uso de reagentes adicionais (Febrianto et. al., 2009). Quando comparada a biossorção com outros processos para tratamento de efluentes a biossorção apresenta as seguintes vantagens (Chojnacka, 2010):

- menor custo operacional;
- minimização do volume de lama química e/ou biológica;
- eficiência no tratamento de efluentes diluídos;
- não necessita de nutrientes, quando se trabalha com biomassa inativa.

A biossorção pode ser definida também, como um termo coletivo para um número de processos passivos e mecanismos físico-químicos que podem incluir: troca iônica, microprecipitação, complexação, adsorção e quelação entre os íons metálicos e os ligantes (Febrianto et al., 2009, Kurniawan et al., 2006).

Os principais mecanismos responsáveis pela biossorção implicam interações iônicas e formação de complexos, entre os cátions metálicos e os ligantes presentes na estrutura da biomassa. O conhecimento da estrutura química dos biossorbentes é essencial para conhecer o desempenho da ligação dos metais, contidos nos efluentes líquidos, com as superfícies destes biossorbentes (Selatnia et al., 2007).

A parede celular da biomassa microbiana é composta principalmente de polissacarídeos, proteínas e lipídeos, oferecendo de forma particular abundantes grupos funcionais, os quais apresentam a característica de ligação dos metais, sejam como carboxilas, hidroxilas, sulfeto, fosfato e grupos amino (Vásquez, 2005).

A bioissorção do íon metálico é afetada por diversos fatores, incluindo as propriedades específicas da superfície do organismo e os parâmetros físico-químicos da solução, tais como: pH, temperatura, concentração inicial do metal e da biomassa (Sag e Kutsal, 1998).

### 3.2.1.1. Mecanismos de ligação

A remoção das espécies metálicas por bioissorção não está baseada num único mecanismo. Ela consiste de vários mecanismos que tomam lugar no sistema ao mesmo tempo em que diferem quantitativa e qualitativamente de acordo com as espécies usadas, a origem da biomassa e seu processamento. Em termos gerais a bioissorção nos microrganismos representa a soma de todas as interações passivas na superfície celular com os íons metálicos (Hanif et al, 2007; Selatnia et al., 2004).

Entre os principais mecanismos podemos citar:

**Troca iônica** – Ocorre o intercâmbio de íons que se encontram formando espécies moleculares ou atômicas que perdem ou ganham elétrons. Já que a biomassa libera prótons ou íons leves como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , e/ou  $\text{Mg}^{2+}$ , fazendo a troca por os íons metálicos pesados que se encontram em solução aquosa, mantendo um equilíbrio (Davis et al, 2003; Mesquita 2000).

**Quelação** – Baseia-se na existência de um agente quelante, o qual é um composto que tem a facilidade de ter dois átomos diferentes coordenados com o íon metálico, facilitando a formação de um semi-anel que sequestra o íon de interesse. Alguns exemplos de agentes quelantes são: citrato de sódio, politrifosfato de sódio, NTA e EDTA (Mesquita, 2000).

**Microprecipitação** – Este mecanismo acontece quando a solubilidade do adsorvato (metal) atinge o limite, apresentando-se uma variação nas condições do meio próximo da superfície do bioissorvente (biomassa) gerando variação do pH o qual leva à precipitação das espécies metálicas (Veglio e Beolchini, 1997).

**Complexação** - A complexação se dá pela combinação de um cátion (íon metálico) com outro ligante que não seja a água, recebendo o nome de complexo (Volesky, 2003). Segundo Veglio e Biolchini (1997), a remoção do metal da solução pode tomar lugar através da formação de um complexo na superfície da célula depois da interação entre o metal e grupos ativos. Este mecanismo envolve a coordenação de um íon metálico com um grupo funcional da parede celular como, por exemplo, o ácido carboxílico. Este fenômeno pode

trocar os estados de oxidação dos metais tanto para torná-los solúveis como insolúveis (Mesquita, 2000).

Os mecanismos de bioissorção foram classificados segundo Veglio e Beolchini (1997) de acordo com sua dependência ou não do metabolismo celular (Figura 1) e conforme a localização do metal removido (Figura 2). Nos dois casos os mecanismos podem ocorrer isoladamente ou simultaneamente com outros mecanismos de bioissorção.

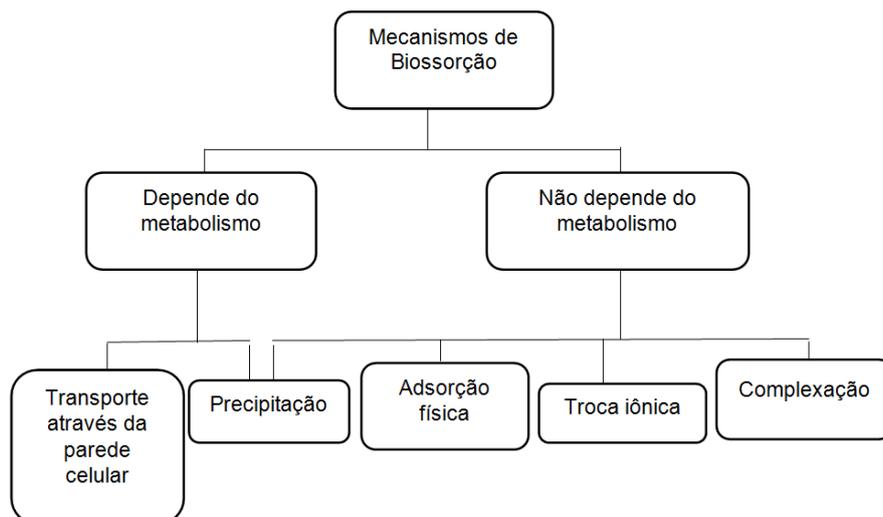


Figura 1. Classificação do mecanismo de bioissorção: dependência do metabolismo celular.

### 3.2.2. Adsorção

Dentre os mecanismos acima citados o mais comum para a explicação do fenômeno de bioissorção é a adsorção (Moreira, 2007).

Adsorção é um processo de separação que envolve o acúmulo ou a concentração de uma substância (adsorvato) em uma superfície sólida (adsorvente) (Cervelin, 2010). Segundo Cavalcanti (2012), o adsorvato pode ser de natureza orgânica ou inorgânica presentes em solução sobre uma interface entre um líquido e um sólido.

Além disso, o mecanismo de separação se deve a uma rápida formação de uma concentração interfacial de equilíbrio, seguida de uma lenta difusão das moléculas de soluto para dentro dos poros do adsorvente (Barakat, 2011).

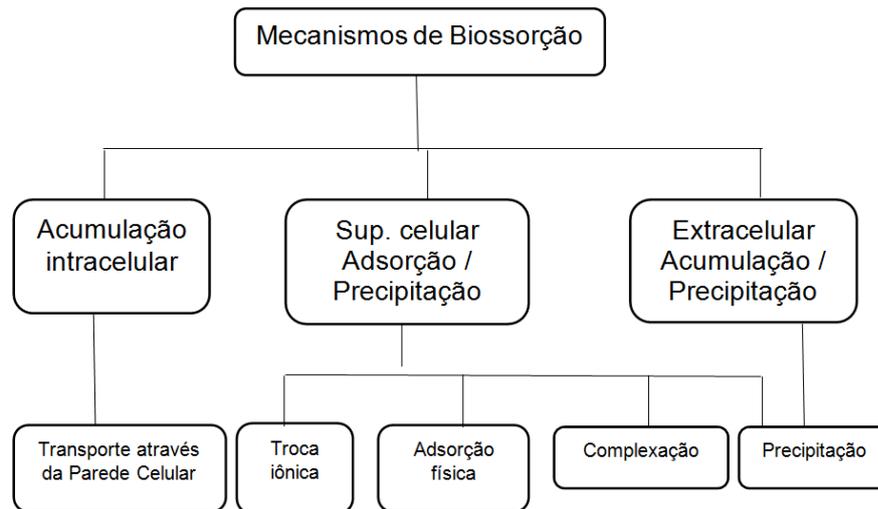


Figura 2. Classificação do mecanismo de bioadsorção: sítio onde o metal é removido.

O processo de adsorção afeta as cargas de superfície das partículas suspensas e colóides, influenciando a sua agregação e transporte, que são fenômenos importantes para o equilíbrio dos íons na água e no solo.

Em linhas gerais, adsorção é um fenômeno em que a substância adsorvida, adere-se à superfície da substância adsorvente, quanto maior for a sua superfície, isto é, quanto mais particulado for o adsorvente, melhor a sua ação, e quanto menor a partícula maior é a superfície específica. (Vianna e Neto 2012).

A força da ligação com que as moléculas estão sendo adsorvidas é determinada pelo tipo de interação entre os íons e a superfície das partículas (Francischetti, 2004). Normalmente, os íons podem ser adsorvidos por meio de ligações covalentes denominadas de adsorção específica ou por meio de ligações de natureza eletrostática, no qual os íons são retidos por forças físicas (Van der Waals) sendo denominadas de adsorção não específica (Moreira, 2004).

#### Adsorção específica

A adsorção é específica quando predominam mecanismos que independem da atração eletrostática. Íons adsorvidos, especificamente, podem aumentar, reduzir, neutralizar ou reverter a carga elétrica efetiva do sólido (Parks, 1975).

A adsorção específica envolve interações estáveis, governada pela formação de ligações químicas de alta energia entre grupos funcionais da superfície sólida e as espécies em solução (SPOSITO, 1989). Esse tipo de

adsorção ocorre, em geral, de forma mais lenta, sendo mais difícil sua reversão e assim dificultando atingir a situação de equilíbrio.

#### Adsorção não específica

Adsorção não específica ocorre quando as forças de ligação entre as moléculas são de baixa intensidade, como as forças de van der Waals e as forças de natureza eletrostática. Esse tipo de adsorção é reversível e se apresenta como um processo rápido e geralmente limitado pelos fenômenos de difusão (Muranaka, 2010). Além disso, na maioria dos casos, existe seletividade ou preferência de um íon pelo outro, pois esse processo está relacionado com o raio iônico e com a energia de hidratação dos cátions de mesma valência. Um íon com raio iônico hidratado grande é retido com menor intensidade, enquanto um com raio pequeno chega mais perto da superfície, e assim, a atração coulômbica é maior (Moreira, 2004).

As forças que originam a adsorção não específica podem ser classificadas como (Brandão, 2006):

- forças eletrostáticas entre partículas carregadas (íons) e entre dipolos permanentes, quadrupolos e multipolos superiores;
- forças de indução entre um dipolo permanente (ou quadrupolo) e um dipolo induzido;
- forças de atração (também chamadas de forças de dispersão) e
- forças de repulsão de curto alcance.

### **3.3 Potenciais Biossorventes**

Estudos têm mostrado que muitos biomateriais (naturais ou modificados) podem ser utilizados como biossorventes, pois possuem a capacidade de adsorver e/ou absorver íons metálicos dissolvidos, óleos e corantes. Entre esses biomateriais estão algas, plantas aquáticas, fungos, bactérias e subprodutos agroindustriais (Schneider, 1995).

A sorção (adsorção e/ou absorção) de metais por microrganismos tem despertado a atenção de pesquisadores pela capacidade superior da biomassa microbiana em comparação com outros sorventes inorgânicos e orgânicos (Kurek et al, 1982). Estudos têm demonstrado que, na maior parte dos casos, a biossorção de metais por microrganismos se deve a fenômenos de superfície

(adsorção e/ou precipitação) (Beveridge, 1989; Collins & Stotzky, 1992; Shokohifard et al., 1990).

### **3.3.1 Bactérias**

A habilidade de captação dos metais pelos microrganismos esta associada com seus componentes celulares, sendo os principais: água, sais inorgânicos e elementos minerais, proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos e lipídeos (Lehninger et al., 1993). Além disso, a capacidade de uma biomassa em recuperar metais de efluentes depende de suas propriedades físicas, químicas e biológicas. (Kratochvil e Volesky, 1998).

Os polissacarídeos, as proteínas e os lipídeos presentes na parede celular da biomassa microbiana são os responsáveis pelos muitos grupos funcionais (carboxilas, fosfatos, hidroxilas, sulfatos e grupos amino) disponíveis para os íons metálicos ligarem-se (Vásquez, 2005).

Na tabela 3 estão presentes os diferentes grupos funcionais envolvidos na interação de metais da solução.

Tabela 3. Grupos químicos de ligação envolvidos na biossorção.

Grupo Químico	Fórmula Estrutural	pKa	Átomo Ligante	Localização
<b>Hidroxila</b>	R-OH	9,5-13,0	O	Polissacarídeos, Ácidos urônicos, Aminoácidos
<b>Carbonila</b>	$\begin{array}{c} \text{R} \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$	-	O	Peptídeos
<b>Carboxila</b>	$\begin{array}{c} \text{R} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad // \\ \text{C} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	1,4-4,7	O	Ácidos urônicos Aminoácidos
<b>Sulfidrina</b>	R-SH	8,3-10,8	S	Aminoácidos
<b>Sulfonato</b>	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{R}-\text{S}=\text{O} \\    \\ \text{O} \end{array}$	1,3	O	Polissacarídeos sulfatados
<b>Amina</b>	R-NH <sub>2</sub>	8,0-11,0	N	Aminoácidos,
<b>Amina Secundária</b>	$\begin{array}{c} \text{R} \\ \diagdown \\ \text{NH} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$	13,0	N	Peptideoglicana
<b>Amida</b>	$\begin{array}{c} \text{R} \\   \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{O} \\    \end{array}$	-	N	Aminoácidos
<b>Fosfonato</b>	$\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{HO} - \text{P}=\text{O} \\   \end{array}$	0,9-2,1 6,1-6,8	O	Fosfolipídios
<b>Fosfodiéster</b>	$\begin{array}{c} \text{R} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad // \\ \text{P} \\ \diagup \quad   \\ \text{R} \quad \text{OH} \end{array}$	1,5	O	Ácido teicóico, Polissacarídeos, Diéster, Lipopolissacarídeos

Fonte: Volesky, 2007.

Um grupo ácido forte, como o radical sulfonato, está ionizado em qualquer valor de pH acima de 1, fato que o torna pouco seletivo, porém com poder de captação de cátions em praticamente qualquer pH. Já grupos superficiais de ácidos fracos não estão ionizados quando o pH encontra-se abaixo do valor de dissociação e usualmente só exibem comportamento de troca-iônica máximo em valores acima do seu pKa, um exemplo é a carboxila cujo pKa é aproximadamente 4,7. Aminas primárias ou secundárias são radicais básicos fracos e não se dissociam em água em pH maiores do que seu pKa, geralmente entre 7 e 9 (Schneider, 1995).

As diferentes características apresentadas por cada microrganismo dependem dos tipos de proteínas, grupos aminos, ácidos orgânicos e polissacarídeos que a célula possui na sua parede. Essas características aliadas à espécie e as condições da cultura são responsáveis por atribuir carga elétrica positiva ou negativa à superfície do microrganismo (Chojnacka, Chojnacki e Górecka, 2005).

Podemos perceber com clareza essas diferenças de composição da parede celular ao observar as Figuras 3 e 4, onde estão representados o esquema estrutural da parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas.

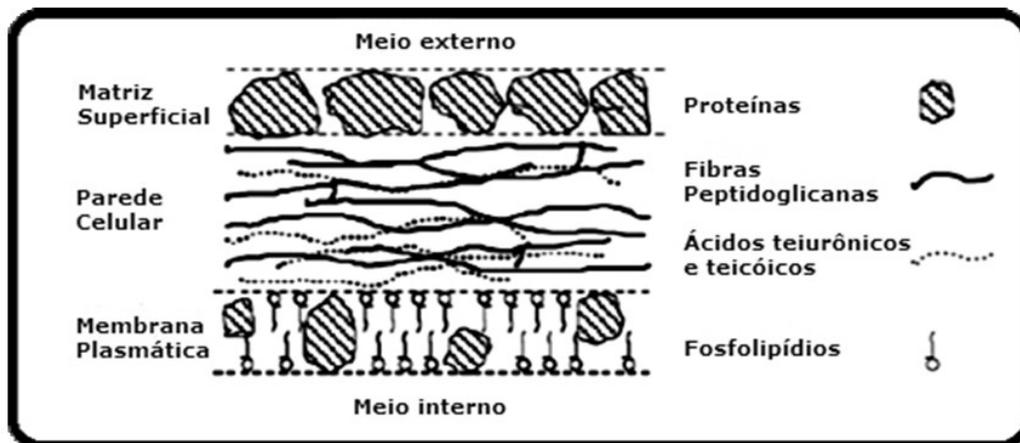


Figura 3. Esquema da estrutura celular de bactérias gram-positivas (Volesky, 2007).

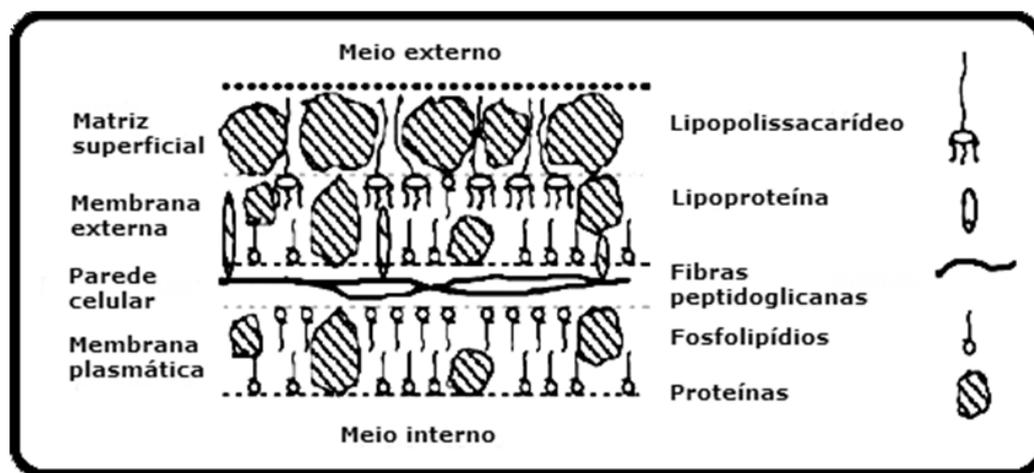


Figura 4. Esquema da estrutura celular de bactérias gram-negativas (Volesky, 2007).

### **Modificação Química (Ativação) das Bactérias**

A modificação química tem sido utilizada por muitos pesquisadores com o objetivo de remover compostos orgânicos solúveis, eliminar a coloração de soluções aquosas e aumentar a capacidade de adsorção pelas biomassas (bactérias) (Demirbas, 2008).

Existem diversos métodos de pré-tratamento descritos na literatura com diferentes agentes modificadores. Mas, os produtos químicos mais utilizados para ativação de biomassas são ácidos e bases. De uma maneira geral, a modificação química melhora a capacidade de adsorção dos biossorbentes, pois aumenta o número de sítios ativos de ligação, melhora as propriedades de troca iônica e forma novos grupos funcionais, que podem favorecer a adsorção de metais. (Ozer, 2007; Nghah & Hanafiah, 2008).

#### **3.3.2. Estirpe *Rhodococcus***

Segundo Viana (2007) e Goodfellow (1998) o gênero *Rhodococcus* foi descrito pela primeira vez por Zopf em 1891, sendo que em 1977 ocorreram modificações para acomodar algumas cepas que apresentavam diferenças dos gêneros previamente estabelecidos (Bell et al., 1998).

Bactérias do gênero *Rhodococcus* são actinomicetos nocardioformes, membros da família Mycolata, que contém também gêneros como *Corynebacterium*, *Mycobacterium* e *Nocardia*. Existem aproximadamente 27 espécies separadas pela diversidade de metabolismo. (Krewer et al., 2008). O grupo de fenotípico Nocardioformes (Bell et al., 1998) possui aspectos morfológicos e de ciclo celular diferenciados dos demais organismos gram-positivos. Em geral, são aeróbicos, contém ácidos micólicos na parede celular,

não são móveis na fase vegetativa e apresentam pleomorfismo e em alguma fase do ciclo celular, pode formar filamentos (Stackebrandt et al., 1997).

Os membros do gênero *Rhodococcus* são gram-positivos (Mirimanoff e Wilkinson, 2000), não esporulados, possuem um amplo espectro metabólico, com capacidade de degradar uma variedade de poluentes, como hidrocarbonetos, herbicidas e outros compostos xenobióticos. Além disso, no seu ciclo de crescimento podem variar, morfológicamente, de cocos a pequenos bastonetes (Finnerty, 1992).

Muitas espécies do gênero *Rhodococcus* vêm sendo estudadas em trabalhos de biorremediação, neste trabalho será fonte de estudo a estirpe *Rhodococcus ruber* (*R. ruber*).

### **3.3.3. Estirpe *Rhodococcus ruber***

*Rhodococcus ruber* são bactérias gram-positivas, como as pertencentes ao gênero *Rhodococcus*. Possuem um amplo espectro metabólico, muito utilizado em estudos ambientais e industriais, sendo capazes de degradar uma variedade de poluentes. (Finnerty, 1992).

## **3.4. Dupla Camada Elétrica**

As regiões de contato entre as superfícies apresentam diferenças de cargas elétricas, no caso dos meios aquosos podem ser exemplificadas pelo comportamento de sistemas coloidais.

Pode-se dizer que a maior parte das substâncias adquire uma carga elétrica superficial em contato com o meio aquoso (que apresenta polaridade) por mecanismos de ionização, adsorção ou dissolução de íons.

O fenômeno elétrico em um sistema bateria/água é bastante semelhante (Oshima et al. 1998). A superfície celular bacteriana é dinâmica e responde fortemente as mudanças do meio através da adsorção de íons e compostos macromoleculares (Poortinga et al., 2002). A carga em uma parede celular bacteriana se origina da dissociação ou protonação dos diversos grupos funcionais presentes na parede celular e conseqüentemente dependem do pH e a atividade dos eletrólitos em solução (Hunter, 1981).

Essa carga superficial é o que faz com que ocorra a distribuição dos íons, sendo que cargas iguais (co-íons) se repelem entre si e cargas contrárias (contra-íons) se atraem. Gerando assim um balanço dinâmico de cargas na interface de contato (Lima e Da Luz, 2007).

Este mecanismo associado ao fenômeno da agitação térmica entre as moléculas forma a dupla camada elétrica, que é constituída por uma superfície carregada e um meio polar onde se distribuem os íons.

A dupla camada elétrica pode ser geralmente constituída por duas regiões:

- região interna: pode incluir os íons adsorvidos.
- região difusa: local onde os íons se encontram distribuídos de acordo com a influência de forças elétricas e do movimento térmico.

Existem diversos modelos que descrevem a distribuição das cargas na dupla camada elétrica. São eles: modelo de Helmholtz e Perrin, modelo de Gouy e Chapman e modelo de Stern (Shaw, 1975).

#### Teoria de Helmholtz e Perrin

Nesta teoria, a dupla camada é igualada a um capacitor de placas paralelas onde uma das placas está conectada a uma superfície sólida, já a outra, possui carga contrária e esta na fase líquida. O potencial elétrico ( $\Psi_M$ ) é linear até o final da dupla camada ( $\Psi_S$ ) e a distância entre as placas é pequena (Hunter, 1981), como pode ser visto na figura 5.

Essa teoria não foi considerada suficiente para explicar uma série de fenômenos eletrocinéticos, e sua principal falha foi considerar muito pequena a espessura da dupla camada elétrica.

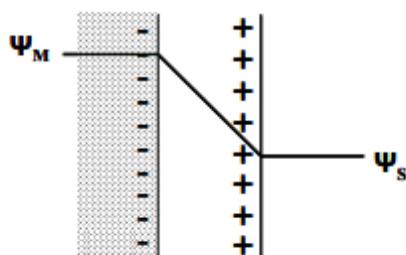


Figura 5. Dupla Camada Elétrica de Helmholtz e Perrin.

#### Teoria de Gouy e Chapman

Proposta independentemente por Gouy (1910) e Chapman (1913), esta teoria considera uma camada difusa de contra-íons, de acordo com a influência de forças elétricas e do movimento térmico. Segundo SHAW (1992), este modelo baseia-se nos seguintes critérios: a superfície é plana, infinita e com cargas elétricas distribuídas uniformemente; os íons são cargas pontuais localizadas segundo a distribuição de Boltzmann; o solvente só influencia a dupla camada

por meio de sua constante dielétrica, a qual se supõe que possua o mesmo valor ao longo de toda a camada difusa; há um único eletrólito simétrico de carga  $z$ .

Segundo esta teoria, flutuações tendem a afastar os contra-íons da interface, levando à formação de uma camada difusa, mais extensa que uma camada molecular. O campo elétrico da fase sólida atrai uma quantidade equivalente de contra-íons o mais perto possível da interface, ao mesmo tempo em que tendem a permanecer dispersos na fase fluida devido à agitação térmica. Esta combinação de forças leva a formação de uma dupla camada (Lima, 2008).

A ação do campo elétrico prevalece na proximidade da interface, onde existe uma tendência de organização das primeiras camadas de íons. Essa intensidade decresce à medida que nos afastamos da superfície e os íons encontram-se mais espalhados em função do movimento de agitação térmica, até que em maiores distâncias a concentração dos íons seja igual à do seio da fase. Nesta camada difusa, se estabelece um equilíbrio dinâmico. Os co-íons são repelidos pela fase sólida, tendendo a se distanciar da interface. Estes efeitos combinados levam a uma distribuição de potencial na camada difusa.

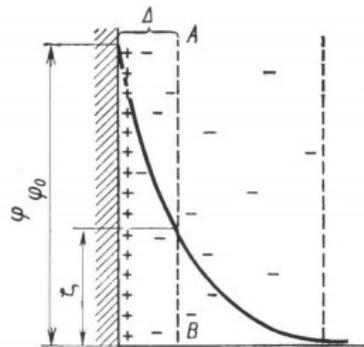


Figura 6. Dupla Camada Elétrica de Gouy-Chapman

Dentre os modelos citados, o mais completo é o modelo de Stern (Figura 7). Neste modelo, a dupla camada elétrica se divide em duas partes bem distintas, separadas pelo plano de Stern, que se localiza a uma distância da superfície igual ao raio dos íons hidratados. No modelo proposto está prevista a adsorção específica de íons, além da adsorção puramente eletrostática.



- eletroforese – partículas carregadas se movimentam em um líquido estacionário devido à aplicação de um campo elétrico externo;
- eletrosmose – líquido que se movimenta em relação às partículas carregadas estacionárias pela aplicação de um campo elétrico externo. Denomina-se pressão eletrosmótica a pressão necessária para contrabalançar o fluxo eletrosmótico;
- potencial de escoamento – é o campo elétrico gerado quando um líquido flui sobre uma superfície estacionária carregada eletricamente;
- potencial de sedimentação – campo elétrico gerado quando partículas carregadas se movimentam em relação a um líquido estacionário.

De todas as técnicas descritas, a eletroforese é a técnica mais utilizada para medição do potencial zeta. A eletroforese determina a mobilidade eletroforética ( $\mu$ ). Esta técnica é descrita pela equação a seguir:

$$\zeta = \frac{4\pi\eta v}{\epsilon_0\epsilon_r}$$

Onde:

$v$  = mobilidade eletroforética ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{cm}$ )

$\eta$  = viscosidade do fluido ( $\text{Nm}^{-2}\cdot\text{s}$ )

$\epsilon_0$  = permissividade de ar ( $8,854\times 10^{-12}\text{C}^2\text{J}^{-1}\text{m}^{-1}$ )

$\epsilon_r$  = constante dielétrica

$\zeta$  = potencial zeta (mV)

Como já citado, uma característica das células microbianas é que quando estas se encontram em meio aquoso podem ser consideradas como partículas que possuem carga elétrica. As proteínas, ácidos orgânicos, grupos aminas e polissacarídeos que a parede da célula contém vão conferir carga negativa ou positiva à superfície do microrganismo. Tem-se verificado que a presença de polissacarídeos determina um comportamento mais aniônico devido aos grupos fosfato. Já a presença de átomos de nitrogênio nas proteínas e aminas confere um comportamento mais catiônico à superfície (Mozes et al., 1989).

O potencial zeta determina o caráter global da superfície para diferentes valores de pH. O valor de pH onde se anulam as cargas (valor do potencial zeta igual a zero) é chamado de ponto isoelétrico (PIE), e indica as características catiônicas ou aniônicas da superfície do microrganismo.

Geralmente o PIE do microrganismo tem tendência de ser negativo devido à predominância dos grupos fosfatos sobre os grupos amidos presentes

na parede celular (Mozes et al., 1989). A tabela 4 apresenta diferentes espécies de bactérias com diferentes valores de PIE.

Tabela 4. Valores de PIE para diferentes espécies de bactérias (Rijnaarts et al., 1995)

<b>Tipo de Bactéria</b>	<b>PIE</b>
<i>Arthobacter SP</i>	1,7
<i>Pseudomonas olecorants</i>	1,7
<i>Pseudomonas SP</i>	2,2
<i>Pseudomonas putida</i>	3,2
<i>Coryneform SP</i>	2,6
<i>Rhodococcus erytopolis</i>	2,8
<i>Rhodococcus SP</i>	3,0
<i>Gordona sp</i>	3,4

### 3.6. Infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier ou espectroscopia IV tem uma larga faixa de aplicações que vai desde a análise de moléculas pequenas até sistemas complexos como cédulas e tecidos (Berthomieu e Hienerwadel, 2009). Ela é uma das espectroscopias vibracionais e sofre grandes avanços principalmente pela possibilidade de usar a amostra em estado sólido amorfo ou cristalino, soluções aquosas, solventes orgânicos, filmes, pastilhas de KBr e membranas (Mantsch e Chapman, 1995; Forato et. al., 1998).

Assim como qualquer técnica espectroscópica, a espectroscopia no IV é devida à interação da radiação, no caso IV, com a matéria, e ocorre com o acoplamento do campo elétrico oscilante da vibração molecular e o da radiação incidente.

O espectro infravermelho de um composto químico é considerado uma de suas propriedades físico-químicas mais características e, devido a isto, a espectroscopia na região do infravermelho tem extensa aplicação na identificação dos compostos. Normalmente, as transições eletrônicas são

situadas na região do ultravioleta ou visível, as vibracionais na região do infravermelho e as rotacionais na região de micro-ondas e, em casos particulares, também na região do infravermelho longínquo (Silverstein, 2007).

A maior parte das moléculas apresenta vibração ou rotação, associadas a ligações covalentes que resultam em absorção de radiação na região do infravermelho ( $4000-450\text{ cm}^{-1}$ ), devido à variação do momento dipolar da molécula (Vulcani, 2004). Essas vibrações são classificadas como estiramento ou deformação angular, podendo ser simétricas ou assimétricas. As vibrações de deformação podem ser: deformação simétrica no plano (scissoring), deformação assimétrica no plano (rocking), deformação simétrica fora do plano (wagging) e deformação assimétrica fora do plano (twisting) (Figueira, 2012).

A condição para que ocorra absorção da radiação infravermelha é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional. Somente nessas circunstâncias, o campo elétrico alternante da radiação incidente interage com a molécula, originando os espectros. De outra forma, pode-se dizer que o espectro de absorção no infravermelho tem origem quando a radiação eletromagnética incidente tem um componente com frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais (Silverstein, 2007; Canevarolo, 2007).

Esta técnica de análise físico química apresenta uma série de vantagens destacando-se a redução no tempo de análise, diminuição nas quantidades de amostra, ampliação da capacidade de identificar ou caracterizar estruturas complexas. (Lopes e Fascio, 2004).