

# **Análise comparativa do uso de duas biomassas microbianas como biossorventes para recuperação e separação de terras-raras**

## **Comparative analysis of the use of two microbial biomasses as biosorbents for recovery and separation of rare-earth elements**

**Fábio dos Santos Gonçalves**  
Bolsista PCI, Técnico Químico

**Ellen Cristine Giese**  
Supervisora, Química, D. Sc.

### **Resumo**

Os elementos terras-raras (ETRs) apresentam propriedades físicas e químicas bem parecidas, por este motivo a separação exige maior custo visto à dificuldade de se obter ETRs com a pureza necessária para aplicação em produtos de alta tecnologia. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o biossorvente formado pela biomassa da bactéria *Bacillus subtilis* imobilizada em gel de alginato de cálcio na biossorção de La e Sm, visando estudos comparativos futuros com o biossorvente contendo a biomassa da microalga *Ankistrodesmus falcatus*. Os resultados obtidos para a cinética de biossorção dos elementos avaliados demonstraram que o equilíbrio do sistema ocorreu em 125 minutos para La e em 180 minutos para Sm, indicando uma rapidez no processo de biossorção. A porcentagem biossorvida, 62% de La e 78% de Sm, se mostrou significativa, e a ordem de preferência observada para a biossorção foi Sm>La, demonstrando o potencial do biocatalizador na separação de ETRs médias e leves.

**Palavras chave:** biossorção; elementos terras-raras; imobilização; alginato; *Bacillus subtilis*.

### **Abstract**

Rare-earth elements (REEs) have very similar physical and chemical properties, so a separation requires higher cost since it is difficult to obtain REEs with purity for application in high technology products. The present project had the objective of evaluating the *Bacillus subtilis* bacterium biomass immobilized on calcium alginate gel in the La and Sm biosorption, aiming at future comparative studies with the biosorbent containing a biomass of the microalga *Ankistrodesmus falcatus*. The results obtained for the biosorption kinetics of evaluated lanthanides demonstrated that the process equilibrium occurs in 125 minutes for La and 180 minutes for Sm, indicating a fastness in the biosorption process. The percentage biosorbed, 62% for La and 78% for Sm, was shown to be significant, and the order of preference observed for the biosorption was Sm> La, demonstrating the potential of the biocatalyst in the separation of medium and light REEs.

**Keywords:** biosorption; rare-earth elements; immobilization; alginate; *Bacillus subtilis*.

## 1. Introdução

Os componentes da tabela periódica localizados na série dos lantanídeos formam os elementos terras-raras (ETR), a maioria deles apresentam número atômico entre 57 à 71 com exceção do Y (número atômico 39) e o Sc (número atômico 21), sendo apresentado entre todas as propriedades físicas e químicas bem parecidas. A grande semelhança dos ETRs se dá através de suas configurações eletrônicas resultarem na alta estabilidade do estado de oxidação 3+. Eles podem ser divididos em dois grupos: grupo dos leves que vai do La ao Sm e o grupo dos pesados indo do Gd ao Lu. (FERREIRA; NASCIMENTO, 2013; LAPIDO-LOUREIRO, 2013).

Os ETRs são cada vez mais requisitados na aplicação de produtos de alta tecnologia, como por exemplo, nas baterias dos carros híbridos, lasers, micro-ondas, telas de computadores e televisão, catalisadores, corantes, lâmpadas com baixo consumo de energia, entre muitos outros. (LAPIDO-LOUREIRO, 2013; SOUZA FILHO & SERRA, 2014).

Os ETRs apresentam um alto valor de mercado, pois, as etapas de separação possuem um alto custo e grande dificuldade na obtenção da purificação dos elementos. As etapas podem ser feitas através da técnica de extração por solvente e/ou resina de troca iônica e são poucos os países a dominarem todo o processo que visa à separação dos ETRs (LIMA, 2012). A técnica de extração por solventes é aplicada na separação de grandes quantidades de ETRs e a troca iônica é utilizada na separação de porções menores, porém que apresentam maior pureza (VERA, 2015).

O presente trabalho apresenta um estudo que busca aplicar a técnica de troca iônica através do processo biotecnológico de bioadsorção, visando à concentração dos ETRs através da interação da biomassa microbiana aos sítios ativos de bactérias e microalgas. A bioadsorção é um mecanismo que tem como base a troca iônica entre íons metálicos ou não-metálicos e biomassa viva ou morta, onde podem ocorrer reações de troca iônica, complexação, precipitação e adsorção na superfície celular (DAS & DAS, 2013; GIESE *et al.*, 2016).

Estudos recentes nos mostram maior eficiência na bioadsorção de metais pesados e ETRs com o uso de micro-organismos imobilizados (DZIWULSKA *et al.*, 2004; CORRÊA *et al.*, 2017). A técnica utilizada na imobilização celular requer o aprisionamento das células em uma área de ponto fixado, com a preservação de suas atividades catalíticas através de métodos contínuos ou descontínuos viabilizando o reaproveitamento das mesmas (COVIZZI *et al.*, 2007; GIESE, 2015a,b). A utilização de micro-organismos imobilizados facilita o crescimento do trabalho empregado pelo fato das células estarem concentradas (FREEMAN; LILLY, 1998).

A técnica vem sendo aplicada e incentivada em processos industriais por possuírem um baixo custo de operação, além da facilidade da regeneração do material bioadsorvente e a separação dos elementos bioadsorvidos fazendo com que sejam diminuídos os resíduos gerados (OLUKANNI *et al.*, 2014; ZIMMERMANN & WOLF, 2011).

Dado ao exposto, o desenvolvimento de estudos envolvendo o uso de biocatalisadores imobilizados poderá auxiliar no desenvolvimento de novos processos bio-hidrometalúrgicos visando a separação de ETRs.

## 2. Objetivos

Avaliar o bioissorvente formado por biomassa da bactéria *Bacillus subtilis* imobilizada em gel de alginato de cálcio na bioissorção de La e Sm, visando fins comparativos com o bioissorvente contendo a microalga *Ankistrodesmus falcatus*.

## 3. Material e Métodos

Para o preparo do inóculo, a bactéria *B. subtilis* foi transferida para placas de Petri contendo meio composto de extrato de levedura ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ), triptona de soja (TSB) ( $30 \text{ g L}^{-1}$ ) e agar ( $20 \text{ g L}^{-1}$ ); as quais foram incubadas por 24h em estufa bacteriológica. Após este período, uma alçada da colônia foi transferida para frascos de Erlenmeyer de 500 mL contendo 200 mL de meio de cultivo (extrato de levedura,  $5 \text{ g L}^{-1}$ ; TSB,  $30 \text{ g L}^{-1}$ ). A agitação para oxigenação foi mantida a 150 rpm por 72h com a temperatura de  $30^\circ\text{C}$ , para a multiplicação e crescimento das bactérias. Posteriormente a conclusão do cultivo, os 200 mL foram distribuídos em 4 tubos falcons (50 mL), os quais foram centrifugados a 4000 rpm durante 15 min na temperatura de  $30^\circ\text{C}$ .

A biomassa sedimentada foi ressuspensa em 40 mL de água Milli-Q, foi realizada a agitação em vortex e centrifugada novamente afim da retirada de algum material ainda restante mantendo somente a bactéria. Após esta etapa, a biomassa foi ressuspensa em 40 mL de solução de NaCl 1M, sendo reunidas em um frasco de Erlenmeyer de 500 mL. O frasco foi mantido durante 60 minutos sob a agitação de 100 rpm a  $30^\circ\text{C}$ . Em seguida, o conteúdo foi centrifugado, e a biomassa sedimentada foi mais uma vez ressuspensa em 40 mL de água Milli-Q e novamente centrifugadas.

A etapa seguinte ao pré-tratamento foi realizada para imobilização celular. Foram adicionados 30 mL de solução de alginato de sódio 2 % ( $\text{m v}^{-1}$ ), à aproximadamente 1 g de biomassa bacteriana, totalizando 120 mL de solução celular, a qual foi agitada e reunida em um frasco de Erlenmeyer de 250 mL. Com o auxílio de uma bomba peristáltica, foram gotejados 10 mL de solução de alginato de sódio + biomassa de *B. subtilis* em Erlenmeyer de 125 mL contendo 15 mL de solução  $\text{CaCl}_2$  1M.

As soluções de La e Sm foram preparadas na concentração pré-estabelecida de 500 mg/L e o pH foi ajustado em 3. Os testes de bioissorção em batelada foram realizados a partir de soluções sintéticas de óxidos de lantânio e samário, em sistemas mono-elementares (La ou Sm, separadamente).

Para os ensaios de bioissorção, foram realizados testes em duplicata para todas as concentrações iniciais. Nos frascos de Erlenmeyer contendo as células imobilizadas foram inseridos 20 mL de solução de ETRs. Na última etapa, os frascos de Erlenmeyer foram colocados no shaker por 1h a 100rpm e  $30^\circ\text{C}$ .

As soluções foram separadas das células imobilizadas e enviadas juntamente com a solução inicial de cada concentração para serem analisadas pelo uso do ICP-OES na COAMI/CETEM.

#### 4. Resultados e Discussão

O estudo cinético desse trabalho avaliou a remoção de lantânio (La) e samário (Sm) através da biomassa imobilizada de *B. subtilis* no intuito de verificar o equilíbrio do processo. Estudos indicam que a biossorção de lantanídeos pela biomassa microbiana é baseada num mecanismo de reações combinadas de troca-iônica, complexação e microprecipitação (KAZY *et al.*, 2006).

A cinética de biossorção dos ETRs La e Sm pela biomassa imobilizada de *B. subtilis* foi avaliada em sistemas mono-elementares sob agitação e temperatura constantes, sendo os resultados apresentados nas Figuras 1 e 2. A biossorção de La e Sm aumentou com o aumento do tempo de contato entre o material biossorvente e a solução iônica aquosa.

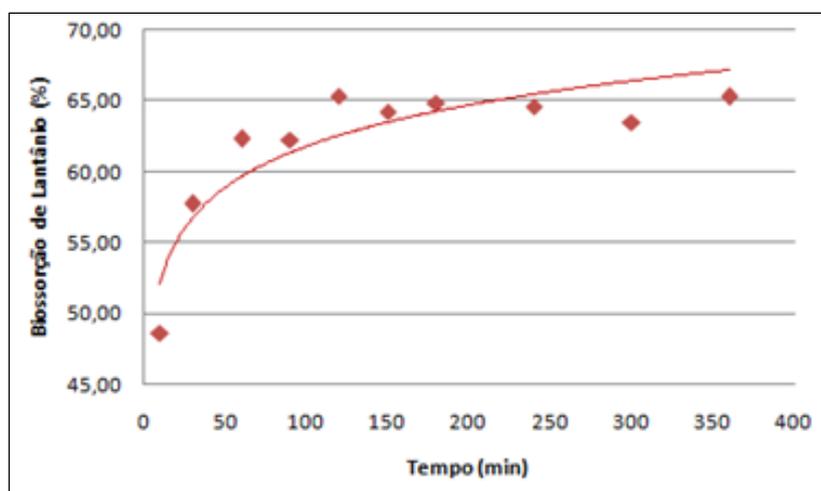


Figura 1. Cinética de biossorção de lantânio pela biomassa imobilizada de *Bacillus subtilis*.

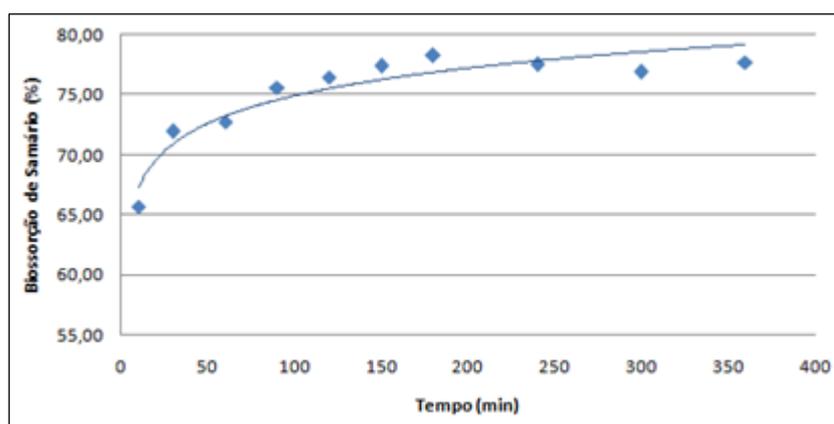


Figura 2. Cinética de biossorção de samário pela biomassa imobilizada de *Bacillus subtilis*.

Na Figura 1 foi verificado que a bioissorção foi relativamente rápida quando comparada aos tempos propostos. Nos primeiros minutos já conseguimos observar a cinética acontecendo, aos 60 minutos cerca de 62% de lantânio é bioissorvido. O equilíbrio é atingido em 125 minutos com uma pequena diferença de 3% de bioissorção comparado à cinética em 60 minutos.

Na Figura 2, a cinética levou um pouco mais de tempo para atingir o equilíbrio, porém, obteve melhor resultado de bioissorção chegando a 78% de samário em 180 minutos. No geral, a cinética de bioissorção de lantanídeos por micro-organismo parece seguir o modelo de pseudo-segunda ordem, mesmo com baixas concentrações iniciais (KUCUKER et al., 2017). Ensaios experimentais estão em andamento para que concluir a determinação dos parâmetros cinéticos da bioissorção de La e Sm pelas biomassas avaliadas no projeto.

Através da análise da porcentagem de bioissorção de cada ETR separadamente, pode-se observar que a ordem de preferência para a sorção foi Sm>La. Estudos complementares em sistemas bi-elementares serão necessários para a determinação da preferência das biomassas avaliadas, tanto a *B. subtilis* e *A. falcatus*.

## 5. Conclusão

O presente projeto busca comparar futuramente a ação de duas biomassas, *B. subtilis* e *A. falcatus*, imobilizadas em gel de alginato de cálcio na bioissorção de ETRs. Após o estudo cinético do bioissorvente imobilizado de *B. subtilis*, pode-se concluir que o equilíbrio do sistema ocorreu em 125 minutos para lantânio e 180 minutos para samário, indicando um rápido processo de bioissorção que poderá ser otimizado para futuras aplicações em processos de separação baseados em técnicas biohidrometalúrgicas. A porcentagem bioissorvida se mostrou significativa, e a ordem de preferência observada para a bioissorção foi Sm>La, demonstrando o potencial do biocatalizador na separação de ETRs médias e leves.

## 6. Agradecimentos

Agradeço a Deus por cada dia concedido, ao CNPq pela bolsa, ao CETEM pela ótima infraestrutura do LABIOTEC e da COAMI, a minha orientadora Ellen Cristine Giese pela paciência e todo o conhecimento passado e aos amigos de trabalho Ronan Erbe e Luciano Borges por toda ajuda.

## 7. Referências Bibliográficas

- CORRÊA, F. N.; LUNA, A. S.; COSTA, A. C. A. Kinetics and equilibrium of lanthanum biosorption by free and immobilized microalgal cells. **Adsorption Science & Technology**, v.35(1-2), p.137-152, 2017.
- COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; DA SILVA, R. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v.28, n.2, p.143-160, 2007.

- DAS, N.; DAS, D. Recovery of rare earth metals through biosorption: An overview. **Journal of Rare Earths**, v.31, p.933-956, 2013.
- DZIWIŃSKA, U.; BAJGUZ, A.; ZYLKIEWICZ, G. B. The use of algae *Chlorella vulgaris* immobilized on Cellex-T support for separation/ preconcentration of trace amounts of platinum and palladium before GFAAS determination. **Analytical Letters**, v.37, p.2189-2203, 2004.
- FERREIRA, F. A.; NASCIMENTO, M. **Terras Raras: Aplicações atuais e reciclagem**. 1.ed. Série Tecnologia Mineral, Rio de Janeiro, Brasil: CETEM/MCTI, 2013. 72p.
- FREEMAN, A., LILLY, M. D. Effect of processing parameters on the feasibility and operational stability of immobilized viable microbial cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v.23, n.5, p.335-345, 1998.
- GIESE, E. C. Biocatalisadores imobilizados: Prospecção de inovações tecnológicas na última década. **Revista GEINTEC: gestão, inovação e tecnologias**, v 5, p.2296-2307, 2015a.
- GIESE, E. C. **Potencial biotecnológico do uso de micro-organismos imobilizados em gel de alginato de cálcio**. 1.ed. Série Tecnologia Ambiental, Rio de Janeiro, Brasil: CETEM/MCTIC, 2015b. 49p.
- GIESE, E. C.; MAGALHÃES, D.; EGLER, S. **Biossorção de elementos de terras-raras**. 1.ed. Série Tecnologia Ambiental, Rio de Janeiro, Brasil: CETEM/MCTIC, 2016. 90p.
- 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, n.9, p.773-783, 2006.
- KUCUKER, M. A.; WIECZOREK, N.; KUCHTA, K.; COPTY, N. K. Biosorption of neodymium on *Chlorella vulgaris* in aqueous solution obtained from hard disk drive magnets. **PLoS One**, v.12, n.4, e0175255, 2017.
- LAPIDO-LOUREIRO, F. E. **O Brasil e a reglobalização da indústria das terras -raras**. SANTOS, R. L. C.(Ed.) - Rio de Janeiro: CETEM/ MCTI, 2013. 216 p.
- LIMA, P. C. R. **Terras Raras: Elementos estratégicos para o Brasil**. Consultoria Legislativa. Brasília, Câmara dos Deputados. 2012.
- OLUKANNI, D. O.; AGUNWAMBA, J. C.; UGWU, E. I. Biosorption of heavy metals in industrial wastewater using microorganisms (*Pseudomonas aeruginosa*). **American Journal of Scientific and Industrial Research**, v.5, n.2, p.81-87, 2014.
- SOUZA FILHO, P. C.; SERRA, O. A. Terras-raras no Brasil: histórico, produção e perspectivas. **Química Nova**, v.37, p.753-760, 2014.
- VERA, Y. M. **Separação de terras-raras a partir da extração por solvente: revisão sobre o uso dos extratantes ácidos organofosforados**. 1.ed. Série Tecnologia Mineral, Rio de Janeiro, Brasil: CETEM. 2015. 55p.
- ZIMMERMANN M., WOLF K. (2011) Biosorption of Metals. In: HOFRICHTER M. (eds) **Industrial Applications. The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research)**, vol 10. Springer, Berlin, Heidelberg.