



REMOÇÃO DE ÍONS DE Ni²⁺ DE EFLUENTES A PARTIR DE BIOSURFACTANTE EXTRAÍDO DO CREME DE LEVEDURA DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA

Ana Victória dos Santos Helfstein ^{1*}
Giovanna Teixeira Silva ^{1*}
Thiago Martins Rocha de Paiva ^{1*}
Vinícius Yoshio Ramos Okasaki ^{1*}
Prof. Dr. Klaus Engelmann

RESUMO

A contaminação de efluentes por metais pesados apresenta um crescente problema ambiental na contemporaneidade, tendo em vista a demanda cada vez maior desses metais na indústria. Com isso, há um aumento dos seus descartes inapropriados em recursos hídricos, gerando impactos nos organismos ali presentes. Entre esses compostos, o níquel se caracteriza como um dos principais metais pesados descartado. Uma das soluções para este problema é a remediação por microrganismos e por subprodutos a partir desses, como os biossurfactantes, que podem realizar a complexação de metais pesados com uma grande eficácia. Portanto, tendo em vista os impactos ambientais negativos gerados pelo níquel em efluentes e o resíduo da indústria cervejeira, na qual obtém-se o biossurfactante, o trabalho propõe a utilização desse subproduto para retirada de Ni²⁺, por meio do biossurfactante intracelular extraído da superfície da *Saccharomyces cerevisiae*, também chamado de manoproteína. Para isso, foi induzido a autólise no creme de levedura, utilizando banho maria em agitação por 24 horas, a fim de extrair a manoproteína. Posteriormente, efetivaram-se testes de caracterização utilizando 0,1g do biossurfactante bruto, onde essas análises apresentaram resultados positivos. Por fim, os ensaios de remoção de Ni²⁺ expressaram que o melhor resultado entre seis testes, foi de 1,892 mg de Ni²⁺ por grama de biossurfactante após 1 hora de contato, retirando assim 11,5% dos íons do metal da solução estoque.

Palavras-chave: níquel; biossurfactantes; levedura.

ABSTRACT

The contamination of effluents by heavy metals presents a big environmental issue nowadays, as an effect of the growing demand for these metals in the industry. Considering that, there is an increase in the inappropriate disposal in water resources, generating huge impacts on organisms. Among these compounds, nickel is characterized as one of the main discarded heavy metals. One of the solutions to this problem is the remediation by microorganisms and by-products from them, such as biosurfactants, which can perform the complexation of heavy metals with great efficiency. Therefore, in view of the negative environmental impacts generated by nickel in effluents and the waste caused from the brewing industry, where the biosurfactant can be obtained, the work proposes the use of this waste to remove Ni²⁺, through the intracellular biosurfactant extracted from the surface of *Saccharomyces cerevisiae*, also called mannoprotein. For this, autolysis was induced in the yeast cream, using a water bath in agitation for 24 hours, in order to extract the mannoprotein. Subsequently, characterization tests were carried out using 0.1 g of the raw biosurfactant, in which these analyzes showed positive results. Finally, the Ni²⁺ removal tests expressed that the best result among six tests was 1,892 mg of Ni²⁺ per gram of biosurfactant after 1 hour of contact, thus removing 11.5% of the metal ions in stock solution.

Keywords: nickel; biosurfactants; yeast.

¹ Curso Técnico em Química – ETEC Irmã Agostina
Av. Feliciano Correa s/n – Jardim Satélite - CEP 04815-240 - São Paulo – Brasil
* thiago.mrpaiva01@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A água é um dos recursos naturais em abundância no globo terrestre, cobrindo cerca de 70% do planeta, porém o desenvolvimento desenfreado e sem planejamento de cidades e indústrias carregou consigo um crescente desmatamento das áreas verdes e a poluição dos recursos hídricos, provocando impactos significativos na fauna e flora, além de comprometer toda a cadeia alimentar (GONÇALVES, 2016; CUBAS, 2009).

1.1. Níquel

O níquel (Ni) é um metal de transição, vigésimo quarto elemento mais abundante da crosta terrestre, que em baixas concentrações é essencial para a vida de plantas, além de um grande interesse industrial, devido a características físico-químicas como: maleabilidade, baixa corrosão e oxidação. Contudo, esse elemento possui densidade específica de $8,5 \text{ g.cm}^{-3}$, sendo assim caracterizado como um metal pesado (GONZALEZ, 2016). Em altas concentrações, o níquel apresenta riscos aos meios abióticos e aos seres vivos, pela sua toxicidade e carcinogenicidade, como apresentado pela Agência Internacional para a Investigação do Câncer (IARC), (IARC,1990).

Na indústria, o níquel é usado em diferentes atividades, dentre as quais destaca-se a de galvanoplastia que gera resíduos contaminados (FAVERO, 2018). Como relatado por Günther (1998), em um trabalho sobre resíduos industriais de galvanoplastia, foi identificado a contaminação da região analisada por metais pesados, em especial pelo níquel. Os metais afetaram a única fonte de abastecimento de água da região, acarretando a morte de animais, contaminando a população e inutilizando a área para plantio, mostrando quão nocivo o descarte inadequado pode ser.

Além do seu uso na galvanoplastia, o níquel também marca presença no mercado de veículos leves, os quais apresentam peso bruto de 3,5t ou inferior, como por exemplo: motocicletas, ciclomotores, automóveis, utilitários esportivos, SUVs e caminhonetes. As baterias mais utilizadas em veículos híbridos e elétricos dentro dessa categoria, são as baterias de hidreto metálico de níquel (NiHM). Assim, o mercado de extração do níquel tem grande relevância para a indústria automobilística (CASTRO et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2020).

Figura 1 - Evolução anual do licenciamento de híbridos e elétricos e participação no licenciamento total



(Fonte: EPE, ANFAVEA, 2020)

Devido a ascensão do mercado de carros eletrificados, a Vale - empresa com produção no Brasil, Canadá, Indonésia e Nova Caledônia-, disputa com a mineradora australiana BHP e a russa Norilsk Nickel para despontar na produção de baterias de veículos eletrificados, com uma possível parceria com a empresa automotiva e de armazenamento de energia Tesla, como apontado em uma reportagem da Época Negócios. Dessa forma, é de se esperar que a indústria do níquel sofra um aumento nos próximos anos.

Portanto, se faz necessário a aplicação de um método eficaz e com baixos riscos ambientais para o tratamento e remoção de níquel de efluentes.

1.2. Biossurfactantes

Os biossurfactantes são compostos produzidos a partir de microrganismos. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é uma das mais utilizadas, já que os biossurfactantes provenientes dessa levedura possuem propriedades promissoras no campo da biorremediação por conta de sua estrutura com porções hidrofílicas e hidrofóbicas capazes de reduzir a tensão superficial entre fases imiscíveis, além de suas propriedades funcionais em relação a biodisponibilidade e solubilização, podendo ser utilizadas para retirar contaminantes, dado sua alta eficiência na complexação de íons metálicos (CASTRO, 2018).

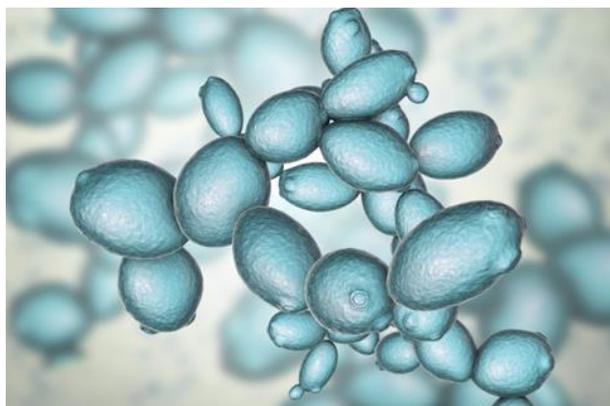
A crescente procura por esse composto ativo é causada pelos seus benefícios, como biodegradabilidade, biodisponibilidade, baixa toxicidade, funcionalidade sob condições extremas de pH e temperatura, entre outros. Ademais, as diversas aplicações incentivam a utilização do composto, entre elas a recuperação de petróleo, biossorção de metais pesados, remoção de resíduos oleosos, entre outras áreas (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

1.3 Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras apresentam um potencial para serem utilizadas como biossurfactantes industrialmente. Entre as mais bem documentadas

tem-se a *Saccharomyces cerevisiae*, a qual está representada na Figura 2. Por suas propriedades atóxicas e fácil crescimento em diferentes substratos, além de fácil obtenção e manipulação genética, é amplamente aplicada na indústria alimentícia em processos fermentativos, como na produção de pães, cervejas, vinhos e destilados de etanol, além da alimentação animal e humana na forma de levedura inativada (KRELING, 2017).

Figura 2 - *Saccharomyces cerevisiae*



(Fonte: Adobe Stock, 2021)

A sua utilização como biossurfactante já vem sendo estudada em conjunto com suas possíveis formas de extração. Entre eles, a intracelular é bem documentada, apesar de seu custo ser alto por conta do processo de autólise necessária para a extração do biossurfactante. Esse impasse que pode ser atenuado pela utilização de subprodutos provenientes da indústria, como na produção cervejeira, a qual a *Saccharomyces* é utilizada para processo fermentativo.

Kreling et al (2019) determinou em seus experimentos que a levedura consegue produzir ambos os biossurfactantes extracelulares - classificados como soforolipídios, e os intracelulares que são as manoproteínas.

1.4 Manoproteína

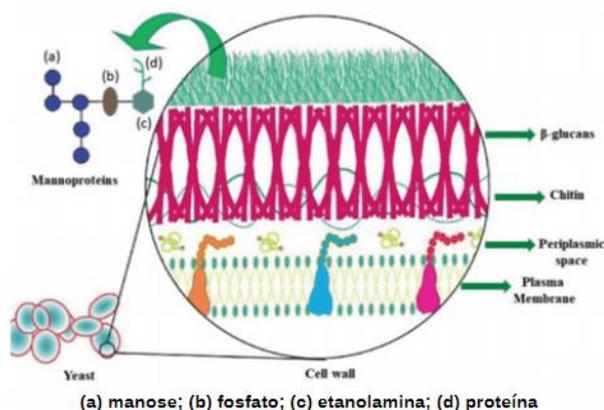
Segundo Costa (2008), a parede celular da *Saccharomyces cerevisiae* é composta por manoproteínas, β -glucanos e quitina, como representado na Figura 3. Essa corresponde a aproximadamente 25% do peso seco da célula, na superfície externa da parede celular dessa levedura, se encontra uma camada de ligação entre os manopolissacarídeos e proteínas, as quais são responsáveis pela formação das manoproteínas (BARROSO et al., 2013).

As manoproteínas são de forma geral divididas em duas grandes classes, uma em que as manoproteínas são formadas aproximadamente por 10% de proteínas e 90% de carboidratos, dos quais a maior parte são fosforilados e ligados as proteínas por N-glicosilação, sendo essas

responsáveis pela sustentação da célula, (ARAÚJO, 2014; DA SILVA et al., 2021).

A outra classe são as mananas com função enzimática, nas quais se localizam entre a membrana plasmática e a parede celular, constituídas de 30 a 50% de proteínas e de 50 a 70% de carboidratos, sua formação constitui em ligações curtas de manose e apresentam O-glicosilação (BARRIGA et al., 1999; DA SILVA et al., 2021).

Figura 3 - Representação esquemática da estrutura das manoproteínas da parede celular da *Saccharomyces cerevisiae*



(a) manose; (b) fosfato; (c) etanolamina; (d) proteína

(Fonte: SILVA et al., 2021)

Como evidenciado por Kreling (2014), com o avanço de estudos referente à composição dos fungos, o interesse pela exploração da biomassa de leveduras para fins industriais vem crescendo, sendo os principais motivos, por ser parte do subproduto da indústria alimentícia, e pelas propriedades de bioemulsificação das manoproteínas.

1.5 Resíduo da indústria cervejeira: creme de levedura

O papel da *Saccharomyces* na indústria cervejeira é de converter os açúcares extraídos dos cereais, como o malte de cevada, em álcool e gás carbônico, além de produtos de seu metabolismo que agregam sabores e aromas para a cerveja (BRANDÃO, 2019).

Nessas cervejarias, as cepas que serão utilizadas dentro do grupo da *Saccharomyces* são empregadas de acordo com o tipo de fermentação utilizada: baixa ou "lager"; alta ou "ale". Dentre elas, a fermentação "lager" utiliza a cepa *S. uvarum*, a qual geralmente forma uma massa no fundo dos tanques fermentadores. Já a do tipo "ale" utiliza a *S. cerevisiae* que pode ser fermentada a altas temperaturas em comparação a "lager", fazendo a fermentação ser mais rápida e produzir aromas mais frutados. Nessa produção tende-se a formar uma massa na superfície desses tanques, já que a levedura se combina com moléculas de gás

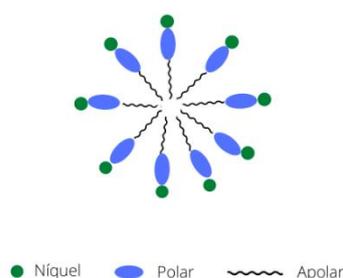
carbônico e flutuam. Essa massa posteriormente pode ser recolhida e utilizada para uma nova produção. Depois desse processo, um subproduto conhecido como creme de levedura é gerado e posteriormente é descartado. Esse tipo de resíduo poderia ser utilizado com várias aplicações, porém ainda não é bem explorado, em vez disso é descartado aumentando a poluição ambiental (BRANDÃO, 2019; ZECHNER-KRPAN, 2010).

Araújo (2014) teve êxito em extrair as manoproteínas e β -glucana da *S. uvarum* a partir da suspensão de creme de levedura com \pm 20% sólidos totais. Costa (2008) também realizou a extração de manoproteínas e concluiu que é possível obtê-las por meio do subproduto da indústria cervejeira com fracionamento.

1.6 Remoção do níquel

O íon metálico tem a capacidade de interagir quimicamente com a manoproteína, por ser um biossurfactante aniônico, devido a presença de grupos carregados negativamente na parte polar, como os grupos hidroxila, fosfato, amino, aldeído e carboxila. Isso ocorre, por meio da ligação iônica com o íon metálico, formando um complexo (FRANÇA, 2014). Os contaminantes são aprisionados nas micelas do composto (Figura 4), que são moléculas agregadas, a qual possuem porções apolares posicionadas na parte interna e porções polares na parte externa, formadas com o aumento da concentração do surfactante em meio aquoso. Por fim, o níquel pode ser removido do meio através do método de precipitação inorgânica. (ALBERTINI; CARMO; GONZAGA, 2007; DURVAL, 2017).

Figura 4 - Representação do aprisionamento do níquel pela micela em meio aquoso



(Fonte: Do próprio autor, 2021)

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Remover íons de Ni^{2+} de efluentes a partir de biossurfactante extraído do creme de levedura.

2.2. Objetivos específicos

- Extrair o biossurfactante intracelular (manoproteína) da parede celular da levedura;
- Caracterizar o biossurfactante através da análise de carboidratos e proteínas;
- Realizar ensaios espectrofotométricos para analisar a capacidade de complexação da manoproteína em meio aquoso contaminado por íons de níquel.

3. METODOLOGIA

3.1. MATERIAIS

Os materiais necessários para a realização da prática são: erlenmeyer 50 mL; tubos de ensaio 7,5 mL; tubos de ensaio 5 mL; estante para tubos; pipeta Pasteur; banho-maria; centrífuga; autoclave; provetas de 50 mL; béqueres de 200 mL; baqueta de vidro; cubetas; balões volumétricos 10 mL; vidro de relógio; capela; balão volumétrico 250 mL; béquer 100 mL; pipeta automática e Filtro de membrana 450 nm.

3.1.2. Reagentes

Os reagentes necessários para a prática estão descritos na Tabela 1, seguido do nome do composto, fórmula molecular e fabricante.

Tabela 1 – Reagentes

Reagente	Fórmula	Fabricante
Cloreto de Sódio	NaCl	SYNTH
Etanol	C ₂ H ₆ OH	*
Água deionizada	H ₂ O	*
Creme de Levedura	*	*
Fenol	C ₆ H ₆ O	MERCK
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄ (concen.)	SYNTH
Hidróxido de Sódio	NaOH	GREENTEC
Sulfato de Cobre II	CuSO ₄	DINÂMICA
Tartarato de sódio e potássio	KNaC ₄ H ₄ O ₆ · 4H ₂ O	SYNTH
Iodeto de Potássio	KI	SYNTH

Nitrato de níquel hexahidratado	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	INLAB
Edta sal dissódico	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot \text{Na}_2$	SYNTH

(FONTE: do próprio autor, 2021)

3.1.3. Equipamentos

Para a realização das etapas foram utilizados os seguintes equipamentos: Centrífuga, marca Nova Instruments® (São Paulo, Brasil); Balança analítica modelo AG200, marca Gehaka® (São Paulo, Brasil); Espectrofotômetro UV/Visível modelo NI-1600 UV, marca Nova Instruments® (São Paulo, Brasil); Agitador magnético, marca IKA® Color Squid e Autoclave.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. EXTRAÇÃO DO BIOSSURFACTANTE

3.2.1.2. Tratamento do creme de levedura

O tratamento do creme de levedura foi realizado conforme Araújo (2014) em triplicata. As soluções feitas em erlenmeyer (50 mL), composta por 10 mL de creme de levedura com 40 mL de água destilada em $\text{pH} \approx 5,0$, foram submetidas a autólise induzida pela adição de aproximadamente 3 gramas de NaCl e mantidas em banho-maria a 55°C , com agitação de 4000 rpm, durante 24 horas (Figura 5).

Figura 5 – Autólise induzida em banho-maria



(FONTE: do próprio autor, 2021)

Após as 24 horas, as misturas então foram transferidas para frascos de reagente incolor com rolha em vidro, não totalmente fechadas, aquecidas até 121°C em autoclave e mantida durante 25 minutos, posteriormente foram resfriadas até 25°C . Após resfriadas, as soluções em triplicata foram centrifugadas a 4000 rpm durante 25 minutos. Isso permitirá que a β -glucana fique no precipitado e a manoproteína no sobrenadante, sendo está a utilizada para a extração e utilização como biossurfactante.

3.2.1.3. Extração da manoproteína

A extração da manoproteína será feita conforme metodologia Costa et al (2012). Os sobrenadantes de cada uma das soluções da triplicata foram coletados, separadamente, e transferidos para uma proveta a fim de quantificar o volume coletado, após isso, transferidos para um erlenmeyer e precipitados com etanol nas proporções de 1:3 volumes de etanol absoluto, e incubados à 4°C durante 12 horas. Então, a separação da manoproteína foi obtida após dividir cada um dos sobrenadantes precipitados, em dois tubos de ensaios, e realizar duas lavagens com etanol absoluto por centrifugação a 4000 rpm, durante 15 minutos.

3.2.1.4. Secagem da manoproteína

As manoproteínas foram deixadas para secar a temperatura ambiente.

3.2.2. CARACTERIZAÇÃO DAS MANOPROTEÍNAS

3.2.2.1. Preparo do reagente biureto

Para preparar o reagente, deverá pesar 1,5 gramas de sulfato de cobre e 6 gramas de tártaro duplo de sódio e potássio e dissolver em 500 mL de água destilada. Sob agitação, adicionar 300 mL de solução NaOH 10% e 1 grama de iodeto de potássio, complete o volume para 1L com água destilada, posteriormente guardar o reagente em um frasco até sua utilização.

3.2.2.2. Análise dos carboidratos

Para a análise da presença de carboidratos totais da manoproteína foi abordado o método fenol-sulfúrico, proposto por Dubois et al (1956). Inicialmente, deve-se adicionar em um tubo de ensaio 0,1g da amostra e com o auxílio de uma proveta (5 mL), adicionar 1 mL de fenol e, de forma rápida, adicionar 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Devido a reação, a amostra apresenta mudança em sua coloração, adquirindo um tom alaranjado.

3.2.2.3. Análise das proteínas

Para determinar a presença das proteínas, será aplicado o método de Biureto, proposto por Gornall, Bardawill e David (1949). Para a análise qualitativa, deve utilizar 0,1g de manoproteínas. As ligações peptídicas das proteínas reagem com íons de cobres presentes no reagente biureto, o que atribui a coloração violeta a mistura. (MARTINS; SILVEIRA, 2011).

3.2.3. ENSAIOS PARA REMOÇÃO DE Ni^{2+}

3.2.3.1. Preparação do meio com nitrato de níquel hexahidratado

O preparo controlado da água contaminada foi realizado a partir da dissolução de 4,2557 gramas de Nitrato de Níquel Hexahidratado em água destilada, para alcançar a concentração de 3.444 ppm em 250 mL de solução.

3.2.4.1. Curva de Calibração

Preparo de 5 soluções, em balões de 10mL, de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e EDTA, onde o EDTA terá o dobro do volume da solução de Ni^{2+} coletado. As soluções padrões foram preparadas a partir de uma solução estoque de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ com concentração de 3444 ppm em Ni^{2+} . Foram preparadas 5 diluições com faixa de concentração de Ni^{2+} de 100 a 600 ppm (Tabela 2) sendo transferidas para as cubetas e posteriormente analisadas por Espectrofotometria de Absorção Molecular.

Tabela 2 – Concentrações analisadas

Tubo	Concentração (ppm)
1	100
2	300
3	400
4	500
5	600

3.2.4.2. Remoção de Ni^{2+} pela manoproteína

Com o objetivo de avaliar a capacidade de remoção do Ni^{2+} , pelas manoproteínas, foram misturados 4 mL de uma solução estoque de 3.444 ppm de Ni^{2+} com uma solução feita a partir do biossurfactante bruto e 12 gotas de água destilada, em tubos de ensaio. Após a mistura, a nova solução foi mantida em repouso por um período de 1h, em temperatura ambiente. Após esse período, os tubos foram centrifugados por aproximadamente 1h a 2100 rpm, no qual foram retiradas alíquotas de 1500 μL com pipeta automática, posteriormente cada alíquota foi filtrada através de Filtro de Membrana de 450 nm. (DRUZIAM, FREIRE, LOBATO, 2018).

3.2.4.3. Análise espectrofotometria do Ni^{2+}

Para a análise, foram utilizadas as alíquotas pós filtração, utilizando Espectrofotometria de Absorção Molecular, em um comprimento de 583 nm. Partindo das soluções presente no tubo de ensaio, foram retiradas do sobrenadante, alíquotas de 1000 μL de cada tubo, transferidos para balões volumétricos de 10 mL, com a adição de 2000 μL de EDTA a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, completando com água destilada até o menisco, para serem analisadas em um Espectrofotômetro UV/Visível modelo NI-1600 UV, marca Nova Instruments® (São Paulo, Brasil). Dessa forma, foi possível notar formação do, complexo $[\text{Ni}(\text{EDTA})]^{2-}$.

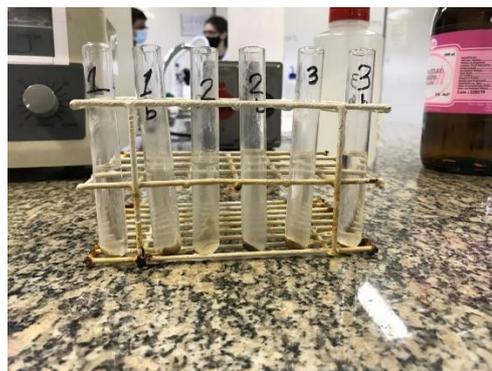
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. EXTRAÇÃO DO BIOSURFACTANTE

4.1.1. Extração da manoproteína

A metodologia proposta no tópico 3.2.1.3. se mostrou eficaz para a extração da manoproteína. Cada uma das soluções da triplicata, foram divididas em 2 tubos de ensaios para realizar a separação do sobrenadante e do precipitado (biossurfactante). Conforme figura 6.

Figura 6 – Manoproteína após lavagem



(FONTE: do próprio autor, 2021)

4.1.2. Secagem da manoproteína

Após o período da secagem das manoproteínas, observou-se que o biossurfactante apresentava coloração marrom e estava compactado, dificultado a sua coleta.

A extração do biossurfactante apresentou resultados relevantes, visto que após a secagem observa-se um aspecto diferente do creme de levedura inicialmente utilizado. As amostras do ensaio de triplicata após a etapa de extração podem ser visualizadas na Figura 7.

Figura 7 – Manoproteína pós secagem



(FONTE: do próprio autor, 2021)

Após secagem, as manoproteínas obtidas em cada tubo foram pesadas e os dados apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3 – Quantidade de manoproteínas (g)
(a partir de 10 mL de creme de levedura)**

Extração	Manoproteínas (g)
1	0,9066
2	1,3476
3	0,8892

(FONTE: do próprio autor, 2021)

4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS MANOPROTEÍNAS

4.2.1. Análise dos carboidratos

A caracterização foi realizada conforme a metodologia proposta no tópico 3.2.2.2 deste artigo, os testes foram realizados em triplicata. Os resultados obtidos foram positivos, ou seja, a solução apresentou tons alaranjados, conforme a figura 8, indicando a presença de carboidrato na manoproteína.

Figura 8 – Análise de carboidratos



(FONTE: do próprio autor, 2021)

O tom alaranjado na solução da amostra é resultante da formação de um complexo, gerado pela adição de fenol à manose, tendo como produto o Fenol-Hidroximetilfurfura, assim, com a adição de ácido sulfúrico concentrado, os monossacarídeos presentes nesse complexo se desidratam, fazendo com que a solução apresente tons alaranjados. A reação química é apresentada na Figura 9.

Figura 9 – Reação da Análise de Carboidratos



(FONTE: do próprio autor, 2021)

4.2.2. Análise de proteínas

A caracterização foi realizada conforme a metodologia proposta no tópico 3.2.2.3 deste artigo, os testes foram realizados em triplicata. Os resultados obtidos foram positivos, ou seja, a solução apresentou tons de violeta, conforme a Figura 10, indicando a presença de proteína no biossurfactante intracelular.

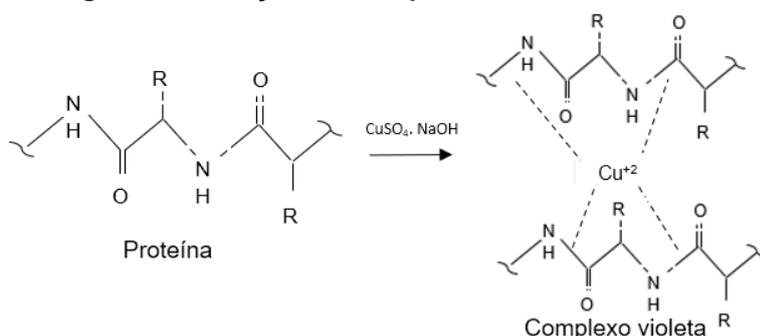
Figura 10 – Análise de proteínas



(FONTE: do próprio autor, 2021)

O tom violeta na solução da amostra é resultante da formação de um complexo, que é gerado pela interação do sulfato de cobre e a proteína, em meio alcalino. A reação química é apresentada pela Figura 11.

Figura 11 – Reação do Complexo Violeta



(FONTE: do próprio autor, 2021)

4.3. ENSAIOS DE REMOÇÃO DE Ni²⁺

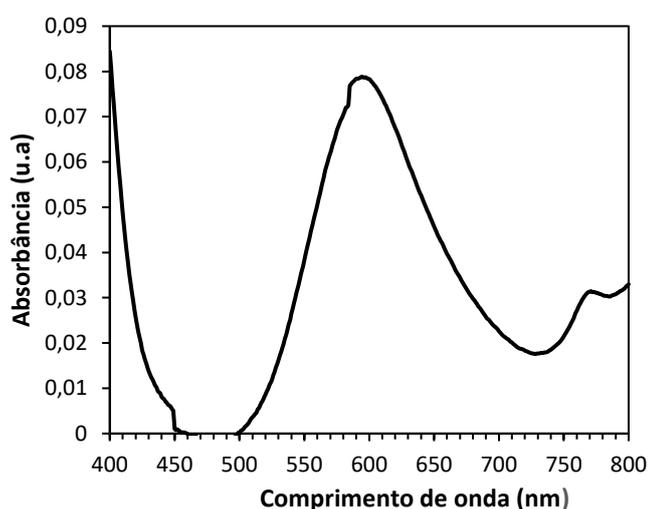
4.3.1. Curva de calibração

Para realização da curva de calibração e posteriormente quantificação de níquel residual, fez-se necessário a complexação de Ni²⁺ com EDTA (Y⁻⁴), conforme equação abaixo:



Posteriormente à complexação e análise, o comprimento de máxima absorção do complexo [Ni(EDTA)]⁻² se deu em 583 nm, conforme a Figura 12.

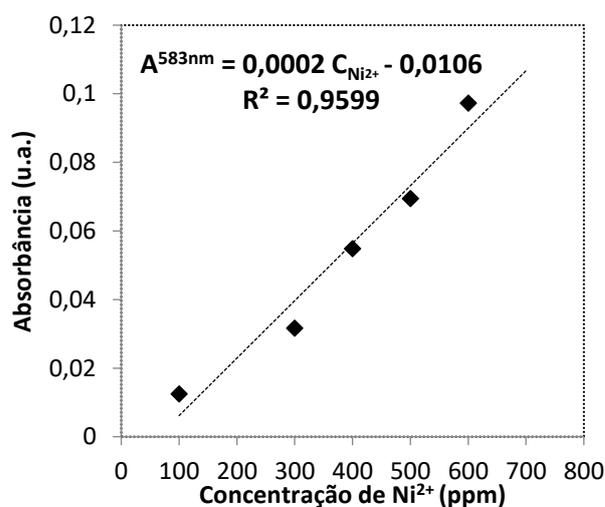
Figura 12 – Curva de absorção do Complexo [Ni(EDTA)]⁻²



(FONTE: do próprio autor, 2021)

A partir dos dados obtidos, foi possível realizar a curva de calibração do complexo, assim exibindo a equação da reta, conforme Figura 13.

Figura 13 – Curva de calibração do complexo [Ni(EDTA)]⁻²

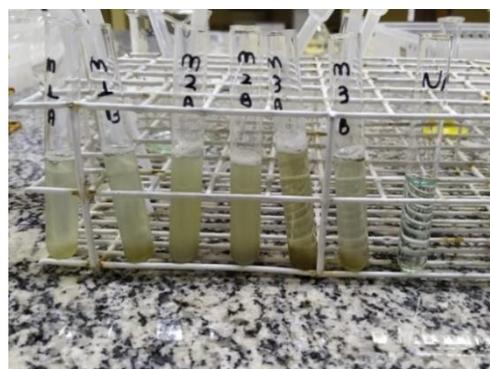


(FONTE: do próprio autor, 2021)

4.3.2. Remoção de Ni²⁺ pela manoproteína

O contato da manoproteína com a solução de Ni²⁺ apresentou turvação do meio, caracterizando uma precipitação, algo já esperado, como indicado na Figura 14.

Figura 14 – Íons de Ni²⁺ precipitados



(FONTE: do próprio autor, 2021)

4.3.3. Análise espectrofotometria do Ni²⁺

As manoproteínas estiveram em contato com a solução de Ni²⁺ a 2995 ppm, durante 1 hora em repouso. Após esse período, o sobrenadante de cada tubo de ensaio foi retirado, filtrado em um microfiltro e 6 alíquotas foram analisadas por Espectrofotometria de Absorção Molecular, a fim de quantificar os íons de Ni²⁺ residuais que as soluções apresentavam. Os dados obtidos estão expressos na Tabelas 4.

Tabela 4: Quantidade de Ni²⁺ retirado por grama de biossurfactante

Leituras	Massa de Biossurfactante (g)	Concentração inicial (ppm)	Concentração final (ppm)	Ni ²⁺ removido (mg)	Ni ²⁺ em mg/g de Biossurfactante
1	0,1823	2995	2650	0,345	1,892484915
2	0,5243	2995	2835	0,160	0,305168796
3	0,3328	2995	2620	0,375	1,126802885
4	0,8148	2995	2310	0,685	0,840697103
5	0,3749	2995	2680	0,315	0,840224059
6	0,3149	2995	2830	0,165	0,523975865

(FONTE: do próprio autor, 2021)

A partir da Tabela 4, conclui-se que a 1 leitura houve a maior retirada de Ni²⁺ por grama de biossurfactante, uma vez que com apenas 0,1823g de manoproteínas obteve-se a extração de 0,345 mg de Ni²⁺. Ainda assim, as leituras 3, 4 e 5 também apresentaram resultados satisfatórios.

No entanto, os testes 2 e 6 não apresentaram resultados esperados, pois em comparação com outros, estas amostras continham massa elevada ou aproximada de biossurfactante, porém não houve a retirada esperada de Ni²⁺, levando em consideração os outros resultados apresentados na tabela.

Esse resultado não esperado pelo grupo pode ser explicado pela textura do biossurfactante utilizados nas leituras, tendo em vista que as manoproteínas se encontravam extremamente compactadas, dificultando a sua diluição com apenas 12 gotas para o preparo da solução.

Diante dos resultados obtidos, as análises e discussões apontam para que ao utilizar menores concentrações de manoproteínas, nas mesmas condições, o composto irá solubilizar de forma efetiva, assim, a quantidade de micelas será maior. Logo, com essa perspectiva, a concentração do níquel no meio aquoso será menor, conseqüentemente, os resultados tendem a apresentar um padrão crescente.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Perante as problemáticas evidenciadas, a utilização do creme de levedura, para extração do biossurfactante, se mostrou necessária, tendo em vista que a caracterização obteve resultados conclusivos acerca da presença da manoproteína, mostrando assim, que o aproveitamento do resíduo da indústria cervejeira é benéfico. Ademais, os ensaios de remoção de Ni²⁺ apresentaram resultados relevantes pois houve a diminuição em média de 11,36% da concentração de íons de Ni²⁺ das soluções. Em comparação a estudos com o fungo *Penicillium spp* realizado por Farias (2014), a

remoção de níquel foi 14,7% em contato por 24h, nossos resultados se mostraram positivos.

Portanto, o biossurfactante utilizado no trabalho, possui potencial para auxiliar no processo de tratamento da água, em especial na etapa de decantação por se tratar de um agente complexante biológico de íons metálicos, como o Ni²⁺. Diante desse cenário, o projeto apresenta uma alternativa sustentável em frente ao crescimento da utilização de níquel em diversos setores industriais, tendo enfoque no automobilístico. Contribuindo assim, para um futuro mais sustentável.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao nosso orientador Prof. Dr. Klauss Engelmann por todo auxílio, apoio, tempo disponibilizado e instruções ao longo de todo o desenvolvimento do trabalho;

Às professoras de PDTCC, Dra. Aline Alves Ramos e Thais Taciano dos Santos, por nos apoiar incondicionalmente ao longo desses três anos e nos auxiliarem na resolução de eventuais questões;

Aos professores Dr. Fábio Rizzo e Ma. Márcia Silva por disponibilizaram aulas da disciplina de TPI para a realização do trabalho;

À Escola Técnica Estadual Irmã Agostina por toda a infraestrutura fornecida;

Aos nossos amigos e familiares por todo apoio e incentivo.

REFERÊNCIAS

- ALBERTINI, S.; CARMO, L. F.; GONZAGA, L. P. F. **Utilização da serragem e bagaço de cana-de-açúcar para adsorção de cádmio.** Revista Ciência e Tecnologia dos Alimentos, v. 27, n. 1, p. 113-118. Campinas, 2007.
- ARAÚJO, V. B. S. **Obtenção de manoproteína e β -glucana de levedura descartada em cervejaria com potencial para aplicação em alimentos.** 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M.; GORNALL, A. G. **Determination of serum proteins by means of the biuret reaction.** Journal of biological chemistry, v. 177, n. 2, p. 751-766, 1949.
- BARBOSA DA SILVA, B. E., et al. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Vol 3, cap 9. Doi: 10.37885/210303498. 2021.
- BARRIGA, J. A. T.; COOPER, D. G.; IDZIAK, E. S.; CAMERON, D. R. **Components of the emulsifier from *Saccharomyces cerevisiae* Enzyme and Microbial Technology,** v. 25, n. 2, p. 96-102, 1999.
- BARROSO, D. C., et al. **Adição da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na dieta para frangos de corte.** Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia, 65, (4): p.1139 – 1148, 2013.
- BRANDÃO, L. **As leveduras e a produção de cervejas.** Laboratório da Cerveja. Disponível em: <https://www.laboratoriodacerveja.com.br/post/as-leveduras-e-a-produ%C3%A7%C3%A3o-de-cervejas>. 2019.
- CABALLERO-CÓRDOBA, G. M., et al. **Composição química da biomassa de levedura integral (*Saccharomyces* sp.) e determinação do valor nutritivo da proteína em células íntegras ou rompidas mecanicamente.** Food Science and Technology, v. 17, n. 2, p. 102-106, 1997.
- CAPOBIANGO, M., et al. **Extração química e enzimática das proteínas do fubá de milho.** Ciênc. Tecnol. Aliment, v. 26, n. 4, p. 884-890, 2006.
- CARVALHO, L. Pedro Sérgio, et al. **Panorama e tendências do mercado de níquel: estudo realizado em junho de 2015.** BNDES Setorial 42, p. 245-296, 2015.
- CASTRO, D. C. M. **Avaliação da influência de metais pesados no crescimento e na produção de surfactante da linhagem *Pseudomonas fluorescens slim15*.** Instituto de estudos em saúde e biológicas, Universidade Federal do sul e sudeste do Pará. p. 13-14. Marabá, 2018.
- COLLA, L. M., HEMKEMEIER, M., GIL, A. S. L. **Biossorção de cádmio e produção de biossurfactantes por fungos filamentosos em fermentação submersa.** Revista CIATEC- UPF, v. 4, p. 1-10. Passo Fundo, 2012.
- COSTA, G. A. **Extração e caracterização de manoproteínas da parede celular de levedura de cervejaria e avaliação das propriedades emulsificantes.** Centro de Ciências Agrária, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Londrina, 2008.
- COSTA, A. G., et al. **Obtenção e caracterização de manoproteínas da parede celular de leveduras de descarte em cervejaria.** Acta Scientiarum. Biological Sciences, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2012.
- CUBAS, A. V. **Poluição Ambiental.** Livro didático. Palhoça, SC: Unisul Virtual, 2009. Unidade 3 p.20.
- DA SILVA, B. B. E.; STAMFORD, M. T. C.; STAMFORD, M. T. L. **Manoproteínas: uma perspectiva biotecnológica.** Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Vol 3, cap 9. 2021.
- DE CASTRO, H. R; FERREIRA, T. T. **Veículos elétricos: aspectos básicos, perspectivas e oportunidades.** BNDES Setorial, n. 32, set. 2010, p. 267-310, 2010.
- DESAI, J. D.; BANAT, I. M. **Production of surfactants and their comercial potential.** Microbiology and Molecular biology reviews, v. 61, n. 1, p. 47, 1997.
- DRUZIAM J. I; FREIRE, A. A; LOBATO A. K. C. L. **Produção e aplicação de biossurfactante para remediação de metais tóxicos.** XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, XVII Encontro Brasileiro Sobre o Ensino de Engenharia Química. 2018.
- DUARTE, I., et al. **Dermatite de contato por metais: prevalência de sensibilização ao níquel, cobalto e cromo.** Ambulatório de Dermatologia do Hospital Central da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (SP), 2005.

- DUBOIS, M., et al. **Calorimetric method for determination of sugars and related substances**. Analytical chemistry, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- DURVAL, I. J. B. **Estudo de um biossurfactante produzido por espécies de *Bacillus* isoladas de água do mar e seu potencial para biorremediação de derramamento de petróleo**. Dissertação (Pós- Graduação Biotecnologia Industrial). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2017.
- EPE - Empresa de Pesquisa Energética. **Demanda de energia dos veículos leves: 2021-2030**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao331/topico569/Informe_Demanda_Ve%C3%ADculos_Leves_2021_2030.pdf. Acesso em: 23 set. 2021.
- FARIAS, Yaci Maria Marcondes. **Biossorção De Metais Pesados Pelo Fungo *Penicillium corylophilum***. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.
- FAVERO, A. C. **Recuperação e purificação do níquel presente em efluentes galvânicos através de tratamentos convencionais e avançados**. Universidade La Salle. 2018.
- FRANÇA, I. W. L. **Estudo de produção e aplicabilidade de biossurfactante bacteriano produzido por cepa isolada de manguezal cearense**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará. p. 43-45. Fortaleza, 2014.
- GONÇALVES, A. A. **Aplicação de nanopartículas bimetálicas de ni-fe estabilizadas com sílica e quitosana para remediação de água contaminada com nimesulida**. 2016. 135 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.
- GONZALEZ, K. R. **Toxicologia do Níquel**. Revista Intertox de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade, v. 9, n. 2, p. 30-54, jun. 2016.
- GÜNTHER, R. W. M. **Contaminação ambiental por disposição inadequada de resíduos industriais contendo metais pesados – Estudo de caso**. Universidade de São Paulo, São Paulo. 1998.
- HENRIQUE, G. **Pesquisadora desenvolve métodos para a extração da proteína do farelo de arroz**: De baixo custo, extrato obtido pode ser usado como suplemento alimentar. Jornal da Unicamp, edição web. Campinas, 2 out. de 2018. Disponível em: <https://www.unicamp.br/unicamp/index.php/ju/noticias/2018/10/02/pesquisadora-desenvolve-metodos-para-extracao-da-proteina-do-farelo-de-arroz>. Acesso em: 10 de maio, 2021.
- IARC. **Chromium, nickel and welding**. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 49: 1–648. 1990.
- JUNIOR, R., ALVES, G. **A saúde do trabalhador no contato com metais pesados**. Universidade Federal Fluminense. Niterói. 2006.
- KRELING, N. E. **Biorremediação de solo contaminado com biodiesel utilizando biomassa e manoproteínas obtidas através da levedura *Saccharomyces cerevisiae***. Universidade de Passo Fundo, 2014.
- KRELING, N. E. **Produção de Biossurfactantes extracelulares por *Saccharomyces cerevisiae* e sua aplicação em biorremediação**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental). Faculdade de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Passo Fundo. p. 16-17. Passo Fundo, 2017.
- KRELING, N. E., et al. **Produção de biossurfactantes: manoproteínas intracelulares e soforolipídios extracelulares por *Saccharomyces cerevisiae***. Engenharia Sanitaria e Ambiental, v. 24, n. 6, p. 1209-1219, 2019.
- MACHADO, C., et al. **Metais pesados – Análise ambiental**. Faculdade de Biomedicina do Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio, 2011.
- MAGALHÃES L. A. J., et al. **Carros elétricos e uso eficiente de baterias**. Centro Universitário Academia, v. 2, n. 2. 2020.
- MARTINS, R. P.; SILVEIRA, P. **Determinação de proteínas totais**. Disponível em: <https://ppgbqa.ufsc.br/files/2011/07/Protocolo-de-aula-pr%C3%A1tica-Proteina-total.pdf>. 2011.
- MILLER, R. M. **Biosurfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils**. Environmental Health Perspectives, v. 103, n. suppl 1, p. 59-62, 1995.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. **Biossurfactantes: propriedades e aplicações**. Química nova, v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.

PULVIRENTI, A., et al. **Saccharomyces uvarum, a proper species within Saccharomyces sensu stricto**. FEMS microbiology letters, v. 192, n. 2, p. 191-196, 2000.

RIBEIRO, B. G. **Biossurfactante produzido por leveduras para aplicação na formulação de biscoito tipo cookie**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2018.

REUSTERS. **Vale negocia com Tesla e setor de veículos elétricos fornecimento de níquel do Canadá**. Época Negócios, [S. l.], p. 1, 5 out 2020. Disponível em: <https://epocanegocios.globo.com/Empresa/noticia/2020/10/epoca-negocios-vale-negocia-com-tesla-e-setor-de-veiculos-eletricos-fornecimento-de-niquel-do-canada.html>. Acesso em: 17 jul. 2021.

SILVA S. C., JÚNIOR A. E., **Remediação de águas contaminadas com metais utilizando biossurfactantes**. Anais do II Encontro de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação. PUC. Campinas, 2012.

SIMÕES, B. D. F. **Identificação e Quantificação de Níquel em Produtos Alimentares para Crianças**. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra. 2018.

SOEIRA, L. S. **Estudo da degradação do p-nitrofenol por ferro de valência zero: Avaliação de processos redutivos e oxidativos**. 2007. 94p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 2007.

SANTOS, S. C. **Biossurfactantes: potenciais agentes biorremediadores**. Cadernos de Prospecção, v. 12, n. 5 Especial, p. 1531, 2019.

VIANA, N. C. **Caracterização morfológica e molecular de isolados de fermentação alcoólica**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.

VILELA, E. S. D., SGARBIERI, V. D., ALVIM, I. D. **Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (Saccharomyces sp.)**. Revista de Nutrição, v. 13, n. 3, p. 185-192, 2000.

VIRGA, R., et al. **Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis**. Santos: Universidade Católica de Santos, 2007. 7 p. 2007.

ZECHNER-KRPAN, V., et al. **Characterization of β -Glucans Isolated from Brewer's Yeast and**

Dried by Different Methods. Food Technol. Biotechnol, v. 48, n. 2, p. 189–197, 2010.

ZHANG, Yongsheng, et al. **Sustainable bio-phenol-hydroxymethylfurfural resins using phenolated de-polymerized hydrolysis lignin and their application in bio-composites**. Industrial Crops and Products. 2015. Department of Chemical and Biochemical Engineering, Western University, Canada. p.1-7, abr./out. 2015.