



Universidade Federal de Campina Grande

Centro de Ciências e Tecnologia

Programa de Pós Graduação de Doutorado em Engenharia de
Processos

TESE DE DOUTORADO

**Biossorção de íons metálicos presentes nas
águas de efluentes de indústrias químicas**

JOELMA MORAIS FERREIRA

Campina Grande, PB – 22 de dezembro de 2006

JOELMA MORAIS FERREIRA

**Biossorção de íons metálicos presentes nas
águas de efluentes de indústrias químicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação de Doutorado em Engenharia de
Processo da Universidade Federal de Campina
Grande para obtenção do título de doutor.

**ORIENTADORES: Dr. FLÁVIO LUIZ HONORATO DA SILVA
Dra. ODELSIA LEONOR S. ALSINA**

Campina Grande, PB – 22 de dezembro de 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

F368b

2006 Ferreira, Joelma Morais.

Biossorção de íons metálicos presentes nas águas de efluentes de indústrias químicas / Joelma Morais Ferreira.—
Campina Grande, 2006.

100f.: il.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e
Tecnologia.

Referências.

Orientadores: Dr. Flavio Luiz Honorato da Silva e Dra.
Odelsia L. Sánchez de Alsina.

1. Adsorção-Biossorção. 2. Íons Metálicos. 3.
Saccharomyce cerevisiae. I. Título.

CDU 66.081.312

Ao meu Pai Manoel Ferreira.
A memória da minha mãe Josefa Morais.
A minha tia Irene.
Aos meus irmãos e sobrinhos.

AGRADECIMENTOS

"Entrega o teu caminho ao Senhor, confia nele e o mais Ele fará" (Sl 37, 5).

A Deus pelas muitas evidências e manifestações de seu infalível amor. Que sempre me consolou, sustentou e me fez compreender que nunca estou só. Que iluminou meu caminho para que eu pudesse concluir mais esta etapa da minha vida.

Ao meu **Pai Manoel** que sempre confiou em mim, apoiando nos meus sonhos e dando toda base e força para enfrentar os desafios da vida.

À toda minha família que tão carinhosamente me ajudou, principalmente meus irmãos, **Cau** e meus sobrinhos.

Aos meus orientadores **Flávio Luís Honorato** e **Odelsia L. Sánchez de Alsina** pela amizade, paciência, dedicação e orientação, possibilitando-me desta forma crescer nos meus conhecimentos teóricos e práticos.

À Professora **Líbia Conrado Oliveira** pela amizade, incentivo e preciosas sugestões durante toda etapa desse trabalho.

A Pesquisadora (UFCG) **Eliane Bezerra Cavalcanti** pelo convívio, amizade e pela grande colaboração no transcorrer do trabalho.

Ao Professor **Eudésio Vilar** por permitir a realização das análises no laboratório de engenharia eletroquímica (UFCG) e por está sempre disponível para ajudar.

Aos amigos **Carlos, Wolia e Morgana** pela amizade e pela ajuda inestimável em todas as fases desse trabalho.

As amigas: **Bonádia, Fabiana, Gorethe, Josy, Keila, Elba, Wilma, Zora, Márcia, Tina, Aldenise, Leandra, Rossely e Bete** que estiveram ao meu lado em todos os momentos, incentivando e apoiando em tudo. Agradeço a Deus por ter colocado todos vocês no meu caminho.

À minha Amiga **Mônica** (Bola) e toda sua família pela amizade, incentivo e orações.

Aos funcionários: Sr Lopes e Sr Nogueira, do Laboratório de Transferência em Meios Porosos e Sistemas Particulados (LTMPSP) do

departamento de engenharia química da UFCG, pela ajuda fornecida ao longo do trabalho.

Ao CNPq (CT-Hidro), pela concessão da bolsa de estudo e todo suporte financeiro.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
Capítulo 1	
1 – INTRODUÇÃO -----	2
Capítulo 2	
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	6
2.1 – Metais Pesados -----	6
2.1.1 – Cádmio (Cd) -----	11
2.1.2 – Chumbo (Pb) -----	13
2.2 – Indústrias Químicas -----	14
2.2.1 – Indústrias Petroquímicas -----	16
2.2.2 – Indústrias de Baterias -----	19
2.3 – Biossorção -----	20
2.3.1 – Isotermas de Sorção -----	25
2.3.1.1 – Isoterma de Langmuir -----	27
2.3.1.2 – Isoterma de Freundlich -----	28
2.3.1.3 – Lei de Henry -----	29
2.3.2 – Biossorventes -----	30
2.3.3 – A Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	35
2.3.4 – Estado da Arte em Biossorção -----	37
2.3.5 – Planejamento Experimental e Otimização do Processo -----	39
2.3.5.1 – Simplex Seqüencial -----	41
2.3.5.2 – Planejamento Fatorial e Análise de Superfície de Resposta -----	42
2.3.6 – Imobilização de Leveduras -----	43
2.3.7 – Voltametria -----	43
Capítulo 3	
3 – MATERIAIS E MÉTODO -----	46
3.1 – Materiais -----	47
3.1.1 – Biomassa -----	47
3.1.1.1 – Imobilização da Levedura -----	48
3.1.2 – Efluentes Sintéticos -----	49
3.2 – Metodologia Experimental -----	49
3.2.1 – Determinação do teor de íons metálicos -----	49
3.2.2 – Estudo Cinético -----	51
3.2.3 – Estudo da influência da quantidade de biomassa, concentração inicial do metal na solução e temperatura sobre o processo -----	52
3.2.4 – Avaliação do efeito do pH e estado da biomassa na biossorção -----	54
3.2.5 – Estudo da Capacidade máxima de biossorção dos íons metálicos Cd ²⁺ e Pb ²⁺ pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	55

3.2.6 – Caracterização dos Grupos Funcionais da <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	56
3.2.7 – Testes Preliminares de Funcionamento da Coluna de Leito Fixo -----	57
Capítulo 4	
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	59
4.1 – Estudo Preliminar -----	60
4.2 – Cinética da Bioadsorção através da <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	62
4.3 – Efeitos da Quantidade de Biomassa, Concentração Inicial do Metal na Solução e Temperatura -----	65
4.4 – Efeito do pH e Estado da Biomassa na Bioadsorção -----	70
4.5 – Estudo da Capacidade Máxima de Bioadsorção dos Íons Metálicos Cd ²⁺ e Pb ²⁺ pela Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	75
4.6 – Caracterização dos Grupos Funcionais da <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	82
4.7 – Testes Preliminares de Funcionamento da Coluna de Leito Fixo -----	83
Capítulo 5	
5 – CONCLUSÕES -----	85
Capítulo 6	
6 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS -----	88
Capítulo 7	
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	91
ANEXOS	102

RESUMO

As atividades industriais têm introduzido metais nas águas numa quantidade muito maior do que aquela que seria natural, causando grandes poluições. Os tratamentos convencionais (redução química, troca iônica, ultrafiltração e osmose inversa), normalmente usados para a remoção de metais dos efluentes líquidos, apresentam algumas desvantagens, pois além de serem, na maioria, processos caros, não conseguem remover totalmente os íons metálicos. A necessidade de tratamentos eficientes e econômicos para remoção de íons metálicos de efluentes tem resultado no desenvolvimento de novas tecnologias. Muitas destas descrevem técnicas envolvendo o uso de bactérias, fungos, microalgas, e macroalgas. A biossorção é o processo no qual sólidos de origem biológica ou seus derivados são usados na retenção de íons metálicos de um ambiente aquoso. Comparadas às metodologias convencionais para a remoção de íons metálicos de efluentes industriais, o processo de biossorção tem como principais vantagens o baixo custo operacional e alta seletividade. Dentre os microrganismos mais utilizados destacam-se os fungos, que são utilizados em uma variedade de processos industriais servindo como fonte constante e econômica de suprimento de biomassa para remoção de íons metálicos. Sendo o Brasil, o maior produtor mundial de álcool etílico via processo fermentativo utilizando-se da *Saccharomyces cerevisiae* (levedura) como o microrganismo agente da fermentação, é prática comum nas indústrias de produção de álcool etílico, no Brasil, a sangria do creme de levedura, que consiste em retirar parte do creme do processo de centrifugação. Desta forma, a *Saccharomyces cerevisiae* é uma fonte excedente do processo de fermentação que pode ser utilizada, por exemplo, como bioadsorvente de íons metálicos em processos de descontaminação ambiental. Experimentos de biossorção de íons metálicos utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* para remoção do Cd^{2+} e Pb^{2+} foram realizados para investigar os fatores que influenciam e otimizam o processo de biossorção. Através do estudo da cinética estático verificou-se que o tempo 48h já é suficiente para o processo alcançar o equilíbrio. Para a cinética dinâmica a partir de 90 min não ocorreu mais alteração no valor da concentração final dos dois íons metálicos, portanto, sendo este tempo suficiente para o sistema alcançar o equilíbrio num sistema operando em condições dinâmicas. A técnica de planejamento experimental foi utilizada para avaliar os efeitos das variáveis quantidade de biomassa, concentração dos íons metálicos, temperatura, pH e estado da biomassa (viva ou morta), que influenciam no processo. Os efeitos da quantidade de biomassa e concentração inicial dos íons metálicos estudados foram as variáveis que apresentaram mais efeitos significativos quando comparado com o efeito do pH, estado da biomassa (viva ou morta) e temperatura nas condições avaliadas. O modelo que melhor ajustou o processo foi o de Langmuir com valores de q_{max} de 210,5 mg.g^{-1} para o cádmio e 1486,88 mg.g^{-1} para o chumbo. A levedura imobilizada apresentou uma certa queda na sua eficiência de remoção observando-se redução média na eficiência de q de 78,5% para o Cd^{2+} e de 73,92% para o Pb^{2+} .

Palavras-chave: metais pesados; biossorção; *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

The industrial activities have introduced metals in waters in quantities which are greater than those found naturally, thereby causing heavy pollutions. The conventional treatments (chemical reduction, ionic exchange, ultrafiltration and inverse osmosis), normally used for the metal removal of the liquid effluents, present some disadvantages, because majority of them apart from being expensive processes are not capable to remove metal ions completely. The necessity of efficient and economic treatments for removal of metallic ions from effluents has resulted in the development of new technologies. Many of these techniques are based on the use of bacteria, fungi, microseaweed, and macroseaweed. The biosorption is a process in which solids of natural origin or its derivatives are used in the retention of metallic ions from an aqueous medium. The biosorption process has as main advantages the low operational cost and high selectivity when compared to the conventional methods for the removal of metallic ions from industrial effluents. Amongst the used microorganisms fungi are more distinguished, as these are used in a variety of industrial processes and serves as constant and economic source of supplement of biomass for removal of metallic ions. Brazil being a world-wide big producer of ethyl alcohol by a fermentative process that uses the *Saccharomyces cerevisiae* (ferment) as the microorganism, it is a common practice in the industries of alcohol to remove the excess of the ferment cream by centrifuging. This way, the excessive *Saccharomyces cerevisiae* of the fermentation process is a source that can be used, for example, as biosorbent of metallic ions for the decontamination of environment. Experiments of biosorption of metallic ions using the *Saccharomyces cerevisiae* for removal of the Cd^{2+} and Pb^{2+} had been carried out to investigate the factors that influence and optimize the biosorption process. Through the study of the static kinetics it was verified that a period of 48 hours is enough for the process to reach the equilibrium. For the dynamic kinetics after 90 min no more change in the final concentration of the two metallic ions occurred. Therefore, this time is enough for the system to reach the equilibrium when the process is operating in dynamic conditions. The design of experiment technique was used to evaluate the effect of the variables: biomass amount, metallic ions concentrations, temperature, pH and state of the biomass (alive or dead). The effects of the amount of biomass amount and initial metallic ion concentration were the variables that presented more significant effects when compared with the effect of pH and state of the biomass (alive or dead) under the evaluated conditions. The Langmuir and Freundlich models were used to adjust to the experimental data of the adsorption isotherms of metal ions studied. The model that adjusted better the adsorption isotherms was of Langmuir having q_{max} values as 210.5 $mg.g^{-1}$ for cadmium and 1486.88 $mg.g^{-1}$ (Langmuir not linearized) for the lead. The immobilized ferment presented a decrease in its efficiency of metal ion removal. In the study for the immobilized ferment an average efficiency of the adsorbed amount per unit of mass of 78.5% for the Cd^{2+} and 73.92% for the Pb^{2+} was observed.

Keywords: heavy metal; biosorption; *Saccharomyces cerevisiae*

Lista de Tabelas

TABELA 1:	Principais fontes e impactos de alguns metais pesados.	9
TABELA 2:	Valores máximos permissíveis de alguns metais pesados para descarte em efluentes industriais.	16
TABELA 3:	Vantagens e desvantagens dos métodos tradicionais de tratamentos de efluentes contendo íons metálicos.	21
TABELA 4:	Comparação da capacidade de alguns tipos de microrganismos na remoção dos íons de Pb^{2+} e Cd^{2+} .	23
TABELA 5:	Exemplos do acúmulo de metais por microrganismos.	32
TABELA 6:	Vantagens e desvantagens em utilizar células vivas ou mortas nos processos de remoção de íons metálicos de efluentes líquidos	33
TABELA 7:	Níveis das variáveis do planejamento fatorial completo 2^3 para o chumbo e cádmio.	52
TABELA 8:	Níveis das variáveis do planejamento fatorial completo 2^2 .	54
TABELA 9:	Parâmetros do modelo de Langmuir para os íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} .	65
TABELA 10:	Matriz do Planejamento experimental fatorial 2^3 para os íons de cádmio e chumbo.	66
TABELA 11:	Análise da variância para o ajuste do modelo linear (ANOVA) para os dois íons metálicos.	70
TABELA 12:	Matriz dos planejamentos experimentais fatorial 2^2 para os íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} – condições das variáveis fixas minimizadas (Min) e maximizadas (Max).	71
TABELA 13:	Análise da variância para o ajuste dos modelos lineares (ANOVA) para os íons Cd^{2+} e Pb^{2+} nas condições minimizadas (Min) e (Max).	77
TABELA 14:	Parâmetros dos modelos de Langmuir e Freundlich.	78

Lista de Figuras

FIGURA 1:	Esquema básico envolvido na remoção e recuperação de metais em efluentes líquidos por microrganismos.	25
FIGURA 2:	A biomassa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> nos três estados de estudo: (a) morta; (b) viva e (c) imobilizada.	48
FIGURA 3:	Esquema experimental da imobilização da levedura.	49
FIGURA 4:	Polarógrafo modelo POL 150.	50
FIGURA 5:	Esquema dos tubos para a obtenção dos dados.	52
FIGURA 6:	Modelo experimental do estudo do equilíbrio pelo método estático.	56
FIGURA 7:	Coluna de Leito Fixo.	58
FIGURA 8:	Isotermas de adsorção para o íon metálico Cd^{2+} nos ensaios preliminares.	60
FIGURA 9:	Isotermas de adsorção para o íon metálico Pb^{2+} nos ensaios preliminares.	61
FIGURA 10:	Cinética estática de bioadsorção do íon metálico Cd^{2+} pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ($T = 35^{\circ}C$)	63
FIGURA 11:	Cinética estática de bioadsorção íon metálico Pb^{2+} pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ($T = 35^{\circ}C$).	63
FIGURA 12:	Cinética de bioadsorção do íon metálico Cd^{2+} pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizada ($T = 35^{\circ}C$) no processo de tanques agitados.	64
FIGURA 13:	Cinética de bioadsorção do íon metálico Pb^{2+} pela levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizada ($T = 35^{\circ}C$) no processo de tanques agitados.	64
FIGURA 14:	Efeito da quantidade de biomassa e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons Cd^{2+} por unidade de massa do adsorvente.	68
FIGURA 15:	Efeito da concentração e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons de Cd^{2+} por unidade de massa do adsorvente.	68
FIGURA 16:	Efeito da quantidade de biomassa e da temperatura	69

sobre a quantidade adsorvida de íons de Pb^{2+} por unidade de massa do adsorvente.

- FIGURA 17:** Efeito da concentração do metal e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons de Pb^{2+} por unidade de massa do adsorvente. 69
- FIGURA 18:** Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Cd^{2+} na condição minimizada. 73
- FIGURA 19:** Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico cádmio na condição maximizada. 73
- FIGURA 20:** Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Pb^{2+} na condição minimizada. 74
- FIGURA 21:** Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Pb^{2+} na condição maximizada. 74
- FIGURA 22:** Isotermas na temperatura de 35 °C para o íon metálico Cd^{2+} , em pH 6, utilizando a levedura morta (inativa). 76
- FIGURA 23:** Isotermas na temperatura de 35 °C para o íon metálico Pb^{2+} , em pH 6, utilizando a levedura morta (inativa). 76
- FIGURA 24:** Isotermas de adsorção do íon Cd^{2+} ajustadas pelo modelo de Langmuir não linear e linear utilizando a levedura morta (T= 35°C e pH = 6) 77
- FIGURA 25:** Isotermas de adsorção do íon Pb^{2+} ajustadas pelo modelo de Langmuir não linear e linear utilizando a levedura morta (T= 35°C e pH = 6) 77
- FIGURA 26:** Comparativo da quantidade adsorvida entre a levedura sem e com imobilização para os íons de Cd^{2+} a uma temperatura de 35°C e pH igual a 6. 80
- FIGURA 27:** Comparativo da quantidade adsorvida entre a levedura sem e com imobilização para os íons de Pb^{2+} a uma temperatura de 35°C e pH igual a 6. 81
- FIGURA 28:** Espectrofotometria infravermelho da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. 82

Capítulo 1

Introdução

1 – INTRODUÇÃO

A preservação ambiental assume papel fundamental no mundo moderno, devido à preocupação cada vez maior com a escassez, mau uso e poluição dos recursos naturais, principalmente os hídricos (Féris *et al.*, 1998). A vida, todas as atividades do homem, a sua saúde e bem estar, como também o desenvolvimento e o progresso das regiões dependem de recursos hídricos. Defender e preservar a qualidade da água é, portanto, uma obrigação que revela o grau de civilização de um povo.

Sabe-se que 75% da superfície terrestre é formada por oceanos, rios, e lagos. No entanto, somente uma pequena parte dessa água - da ordem de 113 trilhões de m³ - está à disposição da vida na Terra. Apesar de parecer um número muito grande, a Terra corre o risco de não mais dispor de água limpa, o que em última análise significa que a grande máquina viva pode parar (Dias, 2000). Tendo em vista a pouca quantidade de água doce disponível no mundo, é muito importante que se tenha uma conscientização para um melhor aproveitamento, evitando assim a poluição e gerando uma economia de água para fins de maior prioridade.

A atenção em relação à qualidade e quantidade de água disponível para o consumo humano tem aumentado muito. Existe a necessidade de se estabelecer padrões de qualidade, aprovados por um suporte legal.

Para lançamento de efluentes de qualquer fonte poluidora, a Legislação Federal Brasileira segue o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) resolução 357 (10 de outubro de 2005), que classifica as águas doces (salinidade < 0,05%), salobras (salinidade entre 0,05% e 3%) e salinas (salinidade > 3%) do território nacional em função dos usos previstos e também apresenta os padrões de qualidade e lançamento de efluentes líquidos.

O problema da poluição ambiental e em particular a poluição das águas, aumentou, em todo mundo, com o grande crescimento exponencial da população e o avanço no setor industrial nas últimas décadas.

A poluição química talvez seja um dos tipos mais graves de contaminação da água. Dentre os vários agentes contaminantes, o despejo de

compostos orgânicos e minerais pode acarretar variações danosas na acidez ou alcalinidade, na salinidade e na toxicidade das águas. Uma classe particularmente perigosa de compostos é a dos metais pesados (Cu, Zn, Pb, Cr, Cd, Hg, Ni, Sn, etc), pois muitos deles estão ligados a alterações degenerativas do sistema nervoso central, uma vez que não são metabolizados pelos organismos produzindo, assim, o efeito de bioacumulação (Prado Filho & Silva, 1999).

A contaminação das águas por metais pesados vem acontecendo à medida que as indústrias despejam seus efluentes de maneira inapropriada em corpos receptores. Os efeitos nocivos deste processo não são prontamente percebidos pelo homem e, muitas vezes, os sintomas resultantes desta contaminação, tardam a aparecer (Barros *et al*, 2001).

Os metais pesados são tóxicos e a principal característica desses elementos metálicos é a tendência em acumular-se no meio através da sua fácil assimilação na cadeia alimentar dos seres vivos. Quando a concentração destes metais pesados, lançados no ambiente por inúmeros processos industriais, é superior aos níveis determinados pelos órgãos competentes, inicia-se um processo de degradação dos recursos naturais, tendo por conseqüência sérios problemas ao bem estar dos seres vivos em geral e à saúde humana.

As principais fontes de poluição por metais pesados são os efluentes industriais, dentre os quais estão os de indústria de curtimento de peles, indústria petroquímica e indústria de baterias, que liberam dos seus processos industriais metais pesados como: cromo, cádmio e chumbo respectivamente, constituindo um grande perigo e havendo a necessidade de um rigoroso e intenso controle nesses efluentes.

Em geral, os tratamentos de efluentes contaminados com metais pesados envolvem processos físico-químicos de floculação e/ou precipitação, eletrólise, cristalização e adsorção. Contudo, alguns destes processos são caros e produzem novos resíduos, apenas transportando o problema de um lado para outro. A busca por soluções mais baratas e definitivas levou ao desenvolvimento de tecnologias baseadas na utilização de microrganismos, como agentes de remoção dos metais (Gomes *et al.*, 1998; Valdman & Leite,

2000). Muitos microrganismos, incluindo bactérias, algas e fungos possuem a habilidade para remover metais pesados do meio ambiente (Bai *et al.*, 2003).

A bioadsorção vem se colocando como uma alternativa potencialmente atrativa para uma grande variedade de efluentes industriais (Torresdey *et al.*, 1998). Este processo vem adquirindo suma importância por utilizar biossorbentes não perigosos e baratos, podendo apresentar altas seletividades e taxas de remoção.

Nesse sentido este trabalho tem por **objetivo geral** a remoção dos íons metálicos: Cd^{2+} e Pb^{2+} através do processo de bioadsorção, em efluentes sintéticos, utilizando leveduras (*Saccharomcyes cerevisae*).

Objetivos específicos:

- Estudo da cinética estática e dinâmica de bioadsorção para verificar o tempo mínimo de equilíbrio;
- Estudo dos efeitos das variáveis de entrada: concentração de metais pesados, pH do meio, temperatura, quantidade de biomassa e estado da biomassa (viva, morta e imobilizada) na adsorção de metais pesados;
- Estudo do efeito do pH e condições da biomassa (viva, morta);
- Levantamento das isotermas de bioadsorção dos íons metálicos;
- Ajustes das isotermas por modelos encontrados na literatura;

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2.1 – METAIS PESADOS

Acredita-se que os metais talvez sejam os agentes tóxicos mais conhecidos pelo homem. Há aproximadamente 2.000 anos a.C., grandes quantidades de chumbo eram obtidas de minérios, como subproduto da fusão da prata e isso provavelmente tenha sido o início da utilização desse metal pelo homem.

O crescimento industrial decorrente do desenvolvimento tecnológico após a Segunda Guerra Mundial foi de grande importância para a humanidade, mas por outro lado contribuiu para a poluição ambiental devido ao fato de ser o principal responsável pela crescente introdução de diversos metais no ambiente, sendo o homem a sua vítima principal (Albertini *et al.*, 2001).

Mais de 100 mil compostos diferentes são hoje produzidos pela indústria química. Muitos deles acabam sendo lançados no meio ambiente acidentalmente e outros são descartados através de efluentes industriais.

Um dos maiores problemas no setor ambiental é a poluição química originada pela presença de metais pesados, pois além de serem tóxicos não são biodegradáveis. Eles são incorporados facilmente no meio aquático, onde em seguida, poderão ser consumidos e conseqüentemente torna-se um perigo para a saúde humana podendo causar intoxicações que se desenvolvem lentamente e somente são identificadas após muitos anos, podendo gerar também: problemas no sistema nervoso, câncer, hemorragias, baixa resistência às infecções respiratórias, gastrointestinais, etc. (Rodriguez *et al.*, 1998).

Os metais pesados lançados no meio ambiente causam maiores impactos ambientais do que a poluição causada por pesticidas, dióxido de enxofre, óxidos de nitrogênio e monóxido de carbono, pelo fato de não serem degradados (Barros Junior, 2001) e terem efeitos bioacumulativos. O problema da contaminação do meio ambiente por esses metais, alcança atualmente dimensões mundiais, sendo observado tanto nos países desenvolvidos como naqueles subdesenvolvidos (Prado-Filho & Silva, 1999).

Dos 2,9 milhões de toneladas de resíduos industriais perigosos gerados anualmente no Brasil, somente 850 mil toneladas recebem tratamento adequado, conforme estimativa da Associação Brasileira de Empresas de Tratamento, Recuperação e Disposição de Resíduos Especiais (ABETRE); os 72% restantes são depositados indevidamente em lixões ou descartados em cursos d'água sem qualquer tipo de tratamento (Jimenez *et al*, 2004).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (1984), os metais que mais preocupam são: o alumínio, cromo, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, cádmio, mercúrio e o chumbo (Costa *et al.*, 1999).

A expressão "metais pesados", mesmo sendo comumente usada, não é muito bem definida, podendo-se utilizar como sinônimos, "metais traços", "elementos traço", "micronutrientes", "microelementos", entre outros. Designa-se metal pesado o grupo de elementos que, ocorrem em sistemas naturais em pequenas concentrações e apresentam densidade igual ou acima de 5 g/cm³ (Duarte & Pascal, 2000).

Os metais pesados compreendem 40 elementos que ocupam colunas centrais da classificação periódica. Todos eles têm propriedades tóxicas seja em estado elemento, seja em estado combinado. Alguns como ferro, magnésio e zinco, em níveis de concentração da ordem de 100 ppb ou menos, adquirem papéis importantes em diversos processos metabólicos, biológicos e químicos. Estes metais atuam em reações altamente específicas, enzimáticas em sua grande maioria, e em qualquer alteração no sistema que as envolve, podendo ser observados também alguns efeitos negativos (Silva & Homem, 2000). No entanto outros como cádmio, níquel, manganês e chumbo não desempenham funções nutricionais ou bioquímicas em microrganismos, plantas ou animais. Os efeitos observados podem ser os mais diversos possíveis desde a alteração da estrutura molecular de proteínas até o crescimento desordenado de uma célula, que poderá provocar o desenvolvimento de câncer. Ou seja, a presença destes metais em organismos vivos é prejudicial em qualquer concentração.

De acordo com Jimenez *et al* (2004) os resíduos contendo metais pesados possuem alto poder de contaminação e com facilidade atingem os lençóis freáticos ou mesmo reservatórios e rios que são fontes de abastecimento de água nas cidades.

Os metais pesados são liberados no ambiente como resultado de várias atividades, principalmente industriais como: metalúrgica, eletro galvanização, operações de curtume, indústria têxtil, indústria de baterias, dentre outras (Shukla *et al.*, 2002).

Devido ao grande desenvolvimento industrial ao longo do último século, a contaminação do ambiente por metal pesado se tornou um problema sério (Wang *et al.*, 2003). Uma vez no ambiente, os metais produzem um grande impacto à saúde humana e são difíceis de serem retirados. Diferentemente das espécies poluidoras orgânicas, que em muitos casos podem ser degradadas, as espécies metálicas tendem a persistir indefinidamente circulando e se acumulando por toda a cadeia alimentar.

O aumento da conscientização dos efeitos nocivos provocados pela liberação de metais tóxicos no meio ambiente aliado à implantação de leis ambientais mais severas tornou o gerenciamento ambiental uma questão fundamental para as indústrias de uma forma geral (Barros Junior, 2001). A remoção de metais pesados do meio ambiente é necessária, devido às preocupações ambientais, aos problemas causados para os seres vivos e regulamentos federais (Crusberg *et al.*, 1997). Devido aos problemas no ambiente, houve um aumento nas pesquisas envolvendo a remediação ambiental.

Na Tabela 1 encontram-se as principais fontes e impactos de alguns dos metais pesados provenientes dos efluentes perigosos ao meio ambiente.

TABELA 1 - Principais fontes e impactos de alguns metais pesados

Nome	Fontes principais	Impactos na saúde
Mercúrio	Células de eletrólise do sal para produção de cloro, indústria de bateria, mineração.	Agente cancerígeno, provoca sintomas neurológicos, tremores, vertigens, irritabilidade, depressão, perda de visão e audição.
Cádmio	Produção de baterias, fabricação de pigmentos para cerâmica, indústria de petróleo.	Agente cancerígeno, pode causar danos ao sistema reprodutivo, anemia, efizema pulmonar.
Cobre	Indústria de petróleo, tinturas têxteis, galvanoplastia	Agente cancerígeno provoca anemia, doenças cardiovasculares.
Cromo	Curtição de couro, galvanoplastia	Agente cancerígeno, dermatites, úlceras cutâneas, inflamação nasal, câncer de pulmão.
Chumbo	Indústria de baterias, Indústria de petróleo	Prejudicial ao cérebro e ao sistema nervoso em geral. Afeta o sangue, rins, sistema digestivo e reprodutor

Fonte: Barros Junior (2001)

De acordo com Silva *et al* (1999) o cádmio juntamente com o chumbo e o mercúrio são os elementos que têm concentrado maior atenção entre os pesquisadores devido à toxidez e a penetração nos ecossistemas, como resultado do desenvolvimento tecnológico.

Apesar do Brasil ser um país em desenvolvimento, não há motivos para se supor que o problema seja menor em relação a outros países mais industrializados. Porém, não existe, um levantamento mais abrangente ou estimativas confiáveis que possam expressar a dimensão do problema da

contaminação por metais pesados no país. A poluição por metais pesados ocorre em função do modelo de crescimento industrial bem como do tipo de indústrias instaladas no país (Pallu, 2006).

No Brasil já foram constatadas algumas incidências de contaminação com metais pesados, uma delas ocorrida na cidade de Paulínia – SP, pela Empresa Shell Química do Brasil. Dos 166 moradores submetidos a exames, 53% apresentaram contaminação crônica e 56% das crianças apresentaram altos índices de cobre, zinco, alumínio, cádmio, arsênio e manganês. Observou-se também a ocorrência de tumores hepáticos, alterações neurológicas, dermatoses, rinites alérgicas, disfunções pulmonares e hepáticas (Del Rio, 2004).

Um outro caso de contaminação com metais pesados aconteceu no início dos anos 90, na cidade de Belo Jardim – PE, onde uma das maiores fabricantes de baterias para veículos do país, a Moura, foi acusada de contaminar trabalhadores, solo e água com chumbo. Na época, o Sindicato dos Metalúrgicos de Pernambuco denunciou que 62,7% dos operários examinados tinham índices superiores a 60 microgramas de chumbo por 100 mililitros de sangue, quando o aceitável seria até 40 microgramas (Greenpeace, 2002). Uma indústria, localizada em Caçapava, São Paulo, desde 1979, produtora de lingotes de chumbo, através da reciclagem de resíduos industriais e de baterias, provocou contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, com chumbo e cádmio.

A Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), em 1993 efetuou um programa de monitorização ambiental na citada região e detectou a presença de chumbo e cádmio em amostras de sedimentos, água e gramíneas. Nessas o teor de cádmio encontrado foi de 1,5 mg/kg, que é 50% maior que o valor normal, enquanto que para o chumbo os níveis encontrados foram até 300 vezes superiores aos considerados normais. A localização desta indústria em área rural, que desenvolve a pecuária leiteira, causou preocupação às autoridades sanitárias devido à possibilidade daqueles metais entrarem na cadeia alimentar (Okada *et al.*, 1997).

Autoridades sanitárias mundiais estão preocupadas em estabelecer medidas para reduzir a concentração de metais pesados nos alimentos, como o chumbo e o cádmio, que mesmo em nível de traços apresentam elevada

toxicidade. Acredita-se que pessoas idosas e crianças sejam mais susceptíveis a essas substâncias tóxicas, observando-se um elevado índice de adsorção gastrointestinal (Okada *et al.*, 1997).

2.1.1 – Cádmi

O cádmio é um elemento químico com número atômico 48, raio atômico de 161 pm e raio iônico de 0,97 Å. Foi descoberto na Alemanha em 1817. É um metal branco azulado, com densidade igual a 8,65 g/m³ e um pouco escasso na crosta terrestre Encontrado na natureza quase sempre junto com o zinco, em proporções que variam de 1:100 a 1:1000, na maioria dos minérios e solos e faz parte do grupo de risco ao meio ambiente. É um elemento altamente tóxico, mesmo em pequenas concentrações, podendo ser absorvido por via respiratória e intestinal, e vem sendo descrito como um dos elementos traços mais perigosos de todos os metais contaminantes presentes nos alimentos e no ambiente do homem, não apenas pelos altos níveis de toxicidade, mas também devido a sua ampla distribuição e aplicações industriais (Albertini *et al.*, 2001).

Em 2001, o cádmio foi classificado em sétimo lugar na lista de “substâncias mais perigosas” pela EPA (Environmental Protection Agency) e ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), entidade que classifica as substâncias de acordo com sua toxicidade, potencial de risco à saúde e exposição destes aos organismos vivos (Del Rio, 2004).

O cádmio é um elemento de vida biológica longa (10 a 30 anos) e de lenta excreção pelo organismo humano. Dentre os metais pesados, é um dos mais facilmente removido do ambiente pelos seres vivos, por sorção, penetrando, conseqüentemente, em todos os elos das cadeias alimentares. Geralmente é introduzido por descartes industriais. Encontrado na fabricação de pigmentos para metais cerâmicos, em águas de produção da indústria petroquímica é empregado também como agente de estabilização do PVC.

Cerca de 34% do consumo total de cádmio é aplicado em revestimentos metálicos, sendo seus principais usuários as indústrias automobilísticas. A segunda maior aplicação, cerca de 23% do consumo total do cádmio destina-

se à produção de pigmentos para tintas, vernizes e plásticos com base de sulfeto. Este metal apresenta também dificuldades de eliminação sendo ainda assim excretado pelos rins onde pode ser acumulado. Um outro local de aglomeração é o fígado. Toxicidade ao nível dos rins, neurológico e gastrointestinal são os principais sintomas associados à exposição excessiva a este metal pesado. O alto grau de toxicidade pode causar náuseas, vômitos, diarreia, anemia, efizema pulmonar, aumento da próstata, enfraquecimento ósseo e câncer.

A introdução do cádmio, assim como de outros metais pesados, na dieta humana é facilitada pelos produtos agrícolas contaminados. A alimentação é a principal fonte de contaminação já que 70% das exposições ocorrem via oral (Jarup *et al*, 1988).

O mais conhecido caso de envenenamento por via alimentar de seres humanos por Cd se deu em Toyama no Japão por volta de 1947, moradores dessa região do Japão, utilizando as águas do rio Jintsu que recebia os despejos e resíduos de uma fundição de Zn-Pb, morriam apresentando os mesmos sintomas, fortes dores nas pernas e costas e com a evolução do quadro clínico múltiplas fraturas no esqueleto, caracterizando assim a osteomalácia – mineralização inadequada da matriz óssea, e a osteoporose - definida como sendo uma excessiva, porém proporcional, redução do mineral (Ca) e matriz óssea (Larini, 1987 apud Duarte & Pascal, 2000).

Os teores máximos permitidos para o cádmio presente em diferentes tipos de águas foram estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA resolução 357 (17 de março de 2005). De acordo com essa resolução os efluentes de indústrias ou outras atividades, somente poderão ser lançados em corpos de água (como rios) desde que obedeçam ao valor máximo de 0,2 mg Cd. L⁻¹.

2.1.2 – Chumbo (Pb)

O chumbo é um elemento químico com número atômico 82, raio atômico de 154 pm e raio iônico de 1,26 Å. É um metal branco azulado, com densidade igual a 11,340 g.cm⁻³, bastante abundante na crosta terrestre e sua utilização já ocorria em épocas bem antigas. Os alquimistas acreditavam que o chumbo era o mais antigo dos metais e o associavam ao planeta saturno.

O uso do chumbo remonta a 5000 a.C, com os egípcios, que o utilizavam para a cunhagem de moedas e fabricação de cosméticos. Ao longo do tempo, seu manuseio tem aumentado progressivamente, no entanto, a descoberta de que o chumbo e seus derivados são danosos à saúde, mesmo em pequenas quantidades, causou uma grande redução do seu uso, sendo atualmente mais utilizado em baterias de chumbo-ácido.

O chumbo é encontrado na natureza acumulado em minas como resultado dos processos de diferenciação que ocorreram durante a evolução do planeta. Os resíduos de chumbo, quanto metal mais utilizado na indústria, são classificados pelas normas brasileiras como perigosos (Diniz, 2001).

A exposição ao chumbo utilizado em diversos tipos de indústrias (mineração, cerâmica, baterias, pintura) é cada vez mais comum e os desastres são descobertos apenas anos ou décadas mais tarde.

O contato humano com o metal pesado chumbo pode levar a distúrbio de praticamente todas as partes do organismo - sistema nervoso central, sangue e rins – culminando com a morte. Em doses menores, acarreta alteração na produção de hemoglobina e processos bioquímicos cerebrais causando alterações psicológicas e comportamentais. Devido sua baixa solubilidade, a absorção se dá principalmente por via oral ou respiratória. As crianças são um grupo sensível aos efeitos do chumbo devido a relação contaminação/peso assim como também por estarem em fase de desenvolvimento do sistema neurológico.

O principal uso do chumbo é na fabricação de baterias de chumbo-ácido. O chumbo utilizado pela indústria de baterias pode ser classificado como: primário (proveniente de minas) e secundário (obtido pelo refino através do material reciclado) (Diniz, 2001).

Como visto, as baterias chumbo-ácido funcionam à base de chumbo, um metal pesado e tóxico e, portanto, representam sério risco ao meio ambiente. Na realidade, grande parte das baterias exauridas já são recolhidas pelos

fabricantes nacionais para recuperar o chumbo nelas contido, uma vez que o Brasil não é auto-suficiente na produção de chumbo primário e o seu preço é relativamente alto no mercado internacional. Por isso, este tipo de bateria é reprocessada em unidades de produção de chumbo secundário. Porém muitas indústrias recicladoras de baterias, mal estruturadas, também contribuem para a severa contaminação ambiental com chumbo e ácido sulfúrico (Bocchi *et al.*, 2000).

Para o metal chumbo, a resolução nº 357 do CONAMA de 17 de março de 2005 estipula o limite máximo de 0,5 mg.L⁻¹ em águas de descarte em efluente.

2.2 – INDÚSTRIAS QUÍMICAS

Devolver a água em condições de manter a integridade dos ecossistemas naturais tem sido uma preocupação constante, em virtude da mesma ser um ponto crítico no ciclo vital do planeta.

Na indústria, geralmente, a água pode ser utilizada ou como matéria-prima, que se une a outras para formar produtos, ou como meio de transporte, agente de limpeza, fonte de vapor, sistema de refrigeração e produção de energia. Nas indústrias químicas, que muitas vezes geram poluentes extremamente tóxicos, a água é a matéria-prima mais usada na manufatura de produtos importantes.

A atividade industrial está, inevitavelmente, associada a uma certa degradação do ambiente, tendo em vista que não existem processos de fabricação totalmente limpos.

O perigo das emissões industriais varia com o tipo de indústria, matérias-primas usadas, processos de fabricação e substâncias produzidas, visto conterem componentes que afetam os ecossistemas.

De um modo geral as principais origens da poluição industrial são:

- As tecnologias utilizadas, muitas vezes envelhecidas e fortemente poluentes, com elevados consumos energéticos e de água, sem tratamento adequado dos efluentes com rara valorização de resíduos;

- A inexistência de sistemas de tratamento adequado dos efluentes;
- Localização das unidades na proximidade de áreas urbanas, causando incomodo e aumentando os riscos;
- Localização das unidades em zonas ecologicamente sensíveis, perturbando e prejudicando a fauna e flora;
- Realização das descargas de efluentes em águas subterrâneas ou superficiais, com risco de contaminação das águas de consumo.

Segundo Braile & Cavalcanti. (1993), os poluentes industriais que mais preocupam são os orgânicos, especialmente os sintéticos e os metais pesados. A poluição por matérias orgânicas vem crescendo muito, principalmente a partir do fim da segunda guerra mundial, com a expansão acelerada da indústria petroquímica. Por razões da mesma natureza, existe também grande preocupação com relação aos despejos que apresentam metais pesados.

A consolidação de uma legislação de regulamentação e controle para os despejos líquidos obrigou muitas indústrias a implantar em seus projetos sistemas de tratamento de efluentes. As dificuldades são consideráveis, mas um grande volume de conhecimento é adquirido. Houve um maior compromisso na aplicação de tecnologias de processos quanto à geração de efluentes.

Na Tabela 2 encontram-se os valores máximos permissíveis, segundo a Resolução N^o 357 (17 de março de 2005) do CONAMA, de alguns metais pesados que são lançados por efluentes industriais.

TABELA 2 – Valores máximos permissíveis de alguns metais pesados para descarte em efluentes industriais

Metal	Valor Máximo Permissível (mg/L)
Cromo total (Cr)	0,50

Cádmio (Cd)	0,20
Chumbo (Pb)	0,50
Níquel (Ni)	2,00
Cobre (Cu)	1,00
Mercúrio (Hg)	0,01
Zinco (Zn)	5,00

Fonte: CONAMA Resolução 357 (17 de março de 2005)

A proteção do meio ambiente contra os agentes poluidores de origem industrial de natureza química, originada pela presença de metais pesados, é um problema complexo para os países em desenvolvimento. Sendo necessário um senso de perspectiva, de modo tal que o controle da poluição por despejos industriais possa fazer parte do contexto de uma economia planejada e de um desenvolvimento social (Gubulin & Pinto, 2000).

2.2.1 – Indústrias Petroquímicas

O petróleo é uma mistura complexa de compostos orgânicos e com alto conteúdo de energia (Rosato, 1997). A partir do seu refino, são extraídos diversos produtos, como gasolina, diesel, querosene, gás de cozinha, óleo combustível e lubrificante, parafina e compostos químicos que são matérias-primas para as indústrias de tintas, ceras, vernizes, resinas, extração de óleos e gorduras vegetais, pneus, borrachas, fósforos, chicletes, filmes fotográficos e fertilizantes.

O petróleo é normalmente percebido pelo grande público como sendo essencialmente fonte primária de combustíveis, seja para uso em meios de transporte na forma de gasolina, diesel ou mesmo gás, seja para geração de calor industrial por combustão em fornos e caldeiras. Todavia, o petróleo está presente também no processamento inicial que provêm às matérias-primas básicas de um dos pilares do sistema industrial moderno, a indústria petroquímica.

Partindo geralmente da nafta, que é uma fração líquida do refino do petróleo, ou do próprio gás natural tratado, os sofisticados processos petroquímicos são capazes de quebrar, recombinar e transformar as moléculas originais dos hidrocarbonetos presentes no petróleo ou no gás, gerando, em

grande escala, uma diversidade de produtos, os quais, por sua vez, irão constituir a base química dos mais diferentes segmentos da indústria em geral. Atualmente, é possível identificar produtos de origem petroquímica na quase totalidade dos itens industriais consumidos pela população tais como embalagens e utilidades domésticas de plástico, tecidos, calçados, alimentos, brinquedos, materiais de limpeza, pneus, tintas, eletro-eletrônicos, materiais descartáveis e muitos outros.

O petróleo, ou óleo cru contém hidrocarbonetos, que variam da simples molécula, como metano a moléculas com alto peso molecular. Quando a mistura contém uma maior porcentagem de moléculas pequenas seu estado físico é gasoso e quando a mistura contém moléculas maiores seu estado físico é líquido, nas condições normais de temperatura e pressão. A maioria dessas moléculas é composta de carbono e hidrogênio, mas a boa parte dos óleos contém uma pequena porcentagem de enxofre orgânico, traços de nitrogênio orgânico, oxigênio, metais e olefinas.

A multiplicidade de processos utilizados e de produtos obtidos na indústria de petróleo dá uma visão da complexidade de problemas dos efluentes nela gerados (Braile e Cavalcanti, 1993).

O controle da poluição de águas da indústria petroquímica depende do conhecimento dos processos industriais geradores do efluente, dos métodos disponíveis para projetar os tratamentos necessários e, finalmente, dos impactos no meio ambiente.

Em um Pólo Petroquímico é necessário que haja o tratamento dos efluentes e a disposição dos resíduos sólidos, pois não existem processos com descarga zero. O processamento da matéria-prima, e tratamento dos resíduos e outros fatores, devem ser inter-relacionados, com o objetivo de reutilização e reciclagem dos despejos (Braile e Cavalcanti, 1993).

Entre os diversos efluentes gerados na indústria de petróleo, encontram-se as águas de produção, que são misturas complexas de materiais orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos. Entre estes componentes, destacam-se os metais pesados, onde a sua concentração pode exceder limites permissíveis pela legislação em vigor, constituindo-se em um grave problema ambiental, pois a exposição e acúmulo desses contaminantes nos

ecossistemas causam grandes riscos à saúde dos seres vivos (Silva *et al.*, 2001).

O contato do petróleo com o meio ambiente, de forma indevida, pode ser considerado um grande problema de impacto ambiental, devido sua composição complexa, assim como as enormes moléculas compostas nos diferentes componentes do petróleo dependendo de suas propriedades físico-químicas.

Os vazamentos acidentais de petróleo e derivados, em dutos, embarcações e unidades industriais, na indústria de petróleo, são exemplos desses impactos ao meio ambiente.

Os compostos metálicos apresentam-se no petróleo de duas formas: como sais orgânicos dissolvidos na água emulsionada ao petróleo, facilmente removidos através do processo de dessalgação, e na forma de compostos organometálicos complexos, que tendem a se concentrar nas frações mais pesadas (Thomas, 2001).

A presença de metais pesados em efluente originados da indústria de petróleo é um fato de grande preocupação devido os metais permanecerem na água por um tempo indefinido. A indústria petrolífera tem construído, junto às unidades de refino de petróleo, grandes áreas para tratamento e recuperação das águas (Oliveira & Oliveira, 2000).

Os metais encontrados no petróleo são: cádmio, ferro, zinco, cobre, chumbo, molibdênio, cobalto, arsênio, manganês, cromo, sódio, níquel e vanádio.

2.2.3 – Indústrias de Baterias

As baterias de chumbo-ácido que são usadas como baterias de arranque e iluminação de automóveis, como fontes alternativas em *no breaks* e em máquinas elétricas foi inventada por Gaston Planté em 1860, período que remonta aos primórdios das células galvânicas. Durante estes anos, esta

bateria sofreu os mais diversos aprimoramentos tecnológicos possíveis, fazendo com que permanecesse com o título de bateria mais confiável do mercado, atendendo as mais diversas aplicações (Francalanza, 2000)

. As baterias comercializadas no país contêm em sua composição metais pesados altamente tóxicos como, por exemplo, o chumbo, e representam conseqüentemente, sérios riscos ao meio ambiente.

A composição básica da bateria é essencialmente, chumbo, ácido sulfúrico e materiais plásticos. O chumbo está presente na forma de chumbo metálico, ligas de chumbo, bióxido de chumbo e sulfato de chumbo. O ácido sulfúrico se encontra na forma de solução aquosa com concentrações variando de 27 a 37 % em volume (Diniz, 2001).

Problemas ambientais decorrentes da indústria de baterias, não se devem a falta de legislação. A legislação brasileira prevê certos cuidados com, a fabricação, armazenamento, transporte, acondicionamento e destinação final da bateria. No entanto não se tem notícia de que contaminação do trabalhador ou ambiental tenha ocorrido durante o transporte, o armazenamento, o acondicionamento ou a destinação final da bateria usada. Mas sim exclusivamente durante a sua produção industrial, ou quando da reciclagem do chumbo.

As quantidades de chumbo introduzidas no organismo humano diariamente tem um valor de 300 a 460 mg, que correspondem fundamentalmente aos alimentos, 220 a 400 mg, a água, 10 a 100 mg e ao ar urbano, 20 a 80 mg. Assim sendo o chumbo participa intensamente do meio em que o homem vive e sua concentração ambiental oscila de local para local (Larini, 1987 apud Freitas, 2004).

Segundo estimativas do Ministério do Meio Ambiente, 11 toneladas de baterias eram descartadas anualmente no país (dados de 2001), mas, devido à presença de metais pesados em sua composição, sua disposição deve ser controlada. Portanto, o acondicionamento de resíduos contendo esses elementos deve ser feito de forma segura ou receber algum outro destino industrial (Souza *et al.*, 2005).

Para tentar evitar danos ambientais, com as baterias, o governo do Brasil foi pioneiro, na América Latina, ao estabelecer a regulamentação para a gestão de baterias esgotadas, através da Resolução CONAMA 257, 30/06/99

que entrou em vigor a partir de 22/07/2000, complementada pela Resolução n.º. 263 de 12/11/99, que estabelece os limites dos teores de cada metal pesado na composição de pilhas e baterias e determina que seus fabricantes e importadores implantem sistemas de reutilização, reciclagem, tratamento ou disposição final delas (Jornal o Estadão, 2000). Com a entrada da resolução em vigor o IBAMA passou então a fiscalizar esses limites.

A reciclagem das baterias supera o papel e o vidro, chegando a atingir números próximos a 100% em alguns países. Em conformidade com a resolução 257 do CONAMA (2005), as baterias usadas jamais devem ser: lançadas à céu aberto, tanto em áreas urbanas como rurais; queimadas à céu aberto ou em recipientes e lançadas em corpos d'água. O destino final mais apropriada para baterias são os estabelecimentos que as comercializam. Esses serão responsáveis pelos procedimentos de reutilização, reciclagem, tratamento ou disposição final ambiental adequada para as baterias coletadas.

2.3 – BIOSORÇÃO

Dentre as diferentes alternativas usadas para o tratamento de efluentes líquidos contaminados com íons metálicos estão a precipitação, troca iônica, redução química, processos de separação com membranas e a adsorção com carvão ativado. No entanto estes processos revelam-se pouco eficientes e demasiadamente onerosos, sobretudo para as unidades industriais de pequena e média dimensão que proliferam em nosso país. Apesar de diluídos, esses efluentes tornam-se uma ameaça ambiental à escala local e cumulativa.

Na Tabela 3 são apresentadas algumas vantagens e desvantagens dos processos tradicionais para a remoção de metais pesados.

TABELA 3 – Vantagens e desvantagens dos métodos tradicionais de tratamentos de efluentes contendo íons metálicos

Métodos	Vantagens	Desvantagens
Precipitação química	- Simples - Baixo custo	- Para concentrações altas - Separação difícil - Não muito efetiva - Produz lamas
Troca iônica	- Efetivo - Possível recuperação do íon metálico	- Resinas de custo elevado - Sensível à presença de partículas
Redução química	- Mineralização	- Requer agentes químicos
Osiose reversa	- Efluente puro (para reciclagem)	- Altas pressões - Custo elevado
Adsorção com carvão ativado	- Sorventes convencionais	- Não efetivo para alguns íons metálicos
Evaporação	- Obtenção do efluente puro	- Custo elevado - Produz lamas

Fonte: Vásquez (2005)

Os graves problemas ambientais gerados pelo aumento considerável dos descartes de efluentes industriais contaminados com metais pesados nos rios e lagos aliados às leis ambientais cada vez mais rigorosas, estimularam as pesquisas nesta área, visando à obtenção de métodos alternativos de baixo custo e mais eficientes no tratamento de águas e despejos industriais (Aguiar *et al.*, 2002). Dentre as novas tecnologias de remediação ambiental, de baixo custo e fácil implementação, surge na década de 80, o processo de biossorção, que tem-se revelado bastante promissor na fixação de diferentes metais.

A biossorção é uma tecnologia inovadora que utiliza biomassa microbiana ou materiais de origem vegetal, para retenção seletiva de íons metálicos de soluções aquosas (Esposito *et al.*, 2002). Este processo alternativo é bastante útil para remoção de metais pesados de efluentes industriais.

Os estudos envolvendo biomassas para a remoção de íons metálicos de soluções aquosas tiveram seu início na década de 80. As primeiras pesquisas apresentaram uma grande variedade de materiais biológicos que poderiam ser utilizados para a remoção de metais pesados, baseados na capacidade de captação das biomassas ou seus derivados a um baixo custo e até mesmo em baixas concentrações (Vasquez, 2005).

Segundo Volesky & Kratochvil (1998), quando são comparados os modelos convencionais para remoção de metais pesados de efluentes industriais com o processo de biossorção, este último oferece a vantagem de baixo custo de operação, alta eficiência na desintoxicação de efluentes, não requer utilização de nutrientes, apresenta alta seletividade e possui potencial para regeneração da biomassa, possibilitando a reutilização em novas etapas de remoção, após a recuperação do metal.

Inúmeras pesquisas demonstraram que os microrganismos são substâncias valiosas em remover e recuperar metais pesados presentes nos efluentes industriais (Yu & Matheickal, 1999). A adsorção de íons metálicos em células microbianas, ou seja, a biossorção depende ou não da atividade metabólica. A Tabela 4 mostra a comparação de alguns tipos de microrganismos já estudados no processo de remoção dos íons metálicos cádmio e chumbo e suas respectivas capacidades de adsorção.

O desempenho da sorção de íons metálicos por um determinado biossorvente depende de alguns fatores que podem afetar sua capacidade. Presença de outros íons (que poderiam competir pelos mesmos sítios de ligação), de materiais orgânicos em solução (atuando como agentes complexantes) e de produtos metabólicos da célula em solução (que poderiam causar precipitação), o pH, a temperatura, concentração do metal e condições de biomassa (se viva ou morta, quantidade, tamanho, pré-tratamento).

TABELA 4 – Comparação da capacidade de alguns tipos de microrganismos na remoção dos íons de Pb²⁺ e Cd²⁺

Íons metálicos	Microrganismos	Capacidade (mg g ⁻¹)	Referências
Pb ²⁺	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	270,3	Ozer & Ozer (2003)
	<i>Cyanobacterial</i>	30,4	Gardea-Torresdey <i>et al</i> (1998)
	<i>Aspergillus flavus</i>	144,5	Kok <i>et al.</i> (2002)
	<i>Bacillus firmus</i>	1103	Salehizadeh & ShojaosadatI(2003)
	<i>Streptomyces rimosus</i>	137	Selatnia <i>et al.</i> (2004)
Cd ²⁺	<i>Rhizopus Oligosporus</i>	200	Aloysius <i>et al</i> (1999)
	<i>Coconut shell powder</i>	295,81	Pino <i>et al.</i> (2005)
	<i>Aspergillus niger</i>	21,162	Barros Junior (2001)
	<i>Botrytis cinerea</i>	17,03	Akar & Tunali (2005)
	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	15,2	Li <i>et al.</i> (2004)
	<i>Sargassum sp</i>	120	Cruz <i>et al.</i> (2004)
	<i>Cladophora fracta</i>	4,090	Lamai <i>et al.</i> (2005)

A biossorção de metais não é baseada num único mecanismo. Ela consiste de vários mecanismos que quantitativa e qualitativamente diferem de acordo com as espécies usadas, a origem da biomassa e seu processamento. As variações na composição das paredes celulares das células microbianas, podem resultar em variações consideráveis na capacidade.

Mecanismos complexos são envolvidos na biossorção, inclusive a troca iônica, a fisissorção (adsorção física) e o aprisionamento de íons em capilares inter e intrafibrilares, resultado do gradiente de concentração e difusão através da parede celular e membranas. Em várias espécies a biossorção pode ser a

proporção da retenção total. As variações na composição das paredes celulares das células microbianas, que podem ser influenciadas pelas condições de cultura, podem resultar em variações consideráveis na capacidade bioassortiva e permitir algum grau de acumulação seletiva (Gadd, 1990).

Embora células vivas e mortas sejam capazes de acumular metais, pode haver diferenças nos mecanismos envolvidos em cada caso, dependendo da extensão da dependência metabólica.

De acordo com Muraleedharan *et al.* (1991) os mecanismos pelos quais microrganismos removem metais de solução são:

- Acumulação extracelular/precipitação;
- Sorção na superfície celular ou complexação;
- Acumulação intracelular

O esquema apresentado na Figura 1 mostra os princípios básicos envolvidos na utilização tecnológica da capacidade de remoção de metais por biomassa microbiana e sua posterior recuperação.

A acumulação de metais pesados por mecanismos independentes (células mortas) do metabolismo celular ocorre quando existe interações físico-químicas entre o íon metálico e constituintes associados a membrana celular. Esta independência é ocasionada devido não haver necessidade de gasto energético por parte da célula microbiana.

A remoção de íons metálicos em mecanismos dependentes do metabolismo ocorre somente em células vivas, é usualmente mais lenta e pode acumular maiores quantidades dos íons. No entanto a temperatura, presença de inibidores metabólicos, luminosidade e fontes de energia afetam este tipo de acumulação (Gadd, 1990).

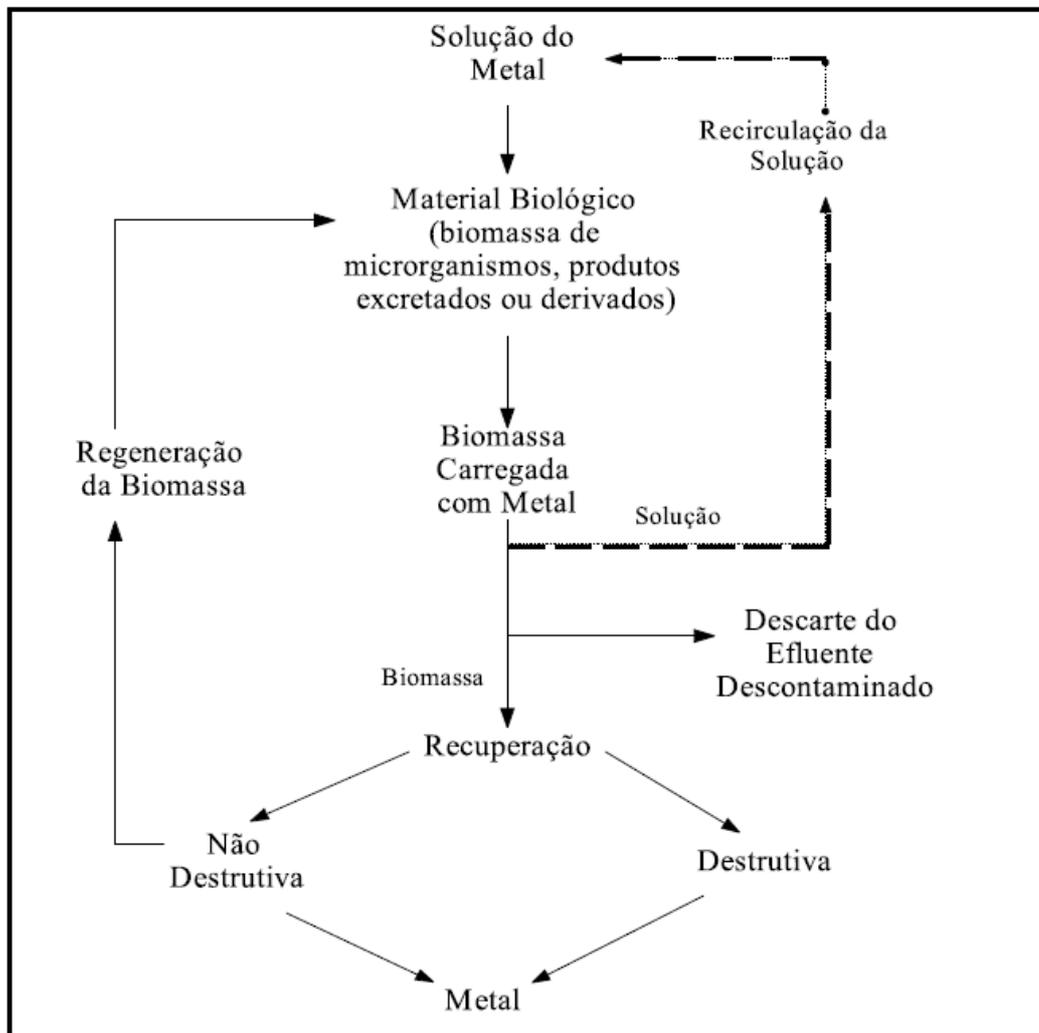


FIGURA 1 – Esquema básico envolvido na remoção e recuperação de metais em efluentes líquidos por microrganismos (Rizzo & Leite, 2004)

2.3.1 – Isotermas de Sorção

A sorção de metais sobre a parede celular tem sido tratada em termos de dois modelos: (a) adsorção, no qual o metal se liga a um dos vários sítios livres, sem mudanças adicionais neste sítio e (b) troca iônica, no qual um metal substitui outro íon num processo de sorção (Barros Junior, 2001).

A adsorção pode ser avaliada quantitativamente através de isotermas, as quais permitem avaliar a capacidade de adsorção e a força com a qual os metais se ligam a determinado adsorvente.

Isotermas de sorção são equações matemáticas usadas para descrever, em termos quantitativos, a adsorção de solutos por sólidos, à temperatura constante. Uma isoterma de sorção mostra a quantidade de um determinado soluto adsorvida por uma superfície adsorvente, em função da concentração de equilíbrio do soluto (Veglio *et al.*, 2003).

Segundo Santos (2000) a quantidade de soluto que pode ser retirada pelo sólido, ou seja, a determinação do equilíbrio estabelecido entre um fluido e um adsorvente, destaca-se como uma das etapas importantes e necessárias no estudo da adsorção.

De acordo com Basílio *et al.* (2005) as isotermas podem ser obtidas através de uma modelagem matemática. Os modelos empiricamente construídos procuram descrever os processos de adsorção baseados na associação entre a equação da lei das massas e os efeitos causados pelas variações nas cargas dos íons metálicos, ou seja, prever capacidades de remoção metálica e diferenças em remoção de metais entre várias espécies de biomassa em uma dada faixa de concentração.

A principal variável obtida da construção das isotermas corresponde à capacidade de adsorção, simbolizada pela letra “*q*”, a qual expressa a quantidade de íons metálicos adsorvidos por massa unitária de biomassa; esta variável é calculada mediante a seguinte expressão:

$$q = \frac{(C_0 - C)V}{B} \quad (1)$$

Sendo: *q* = quantidade de íons metálicos adsorvidos por unidade de massa (mg íon metálico / g de biossorvente); *C*₀ = concentração inicial de íons metálicos (mg/L); *C* = concentração dos íons metálicos no tempo *t* (mg/L); *V* = volume da solução (L) e *B* = massa do biossorvente (g).

As isotermas de adsorção refletem um processo de equilíbrio, onde o íon metálico ligado ao biossorvente se encontra num estado de equilíbrio com suas espécies iônicas que ainda estão presentes na solução. Este equilíbrio é atingido com o passar do tempo. Uma vez obtido, o sistema de biossorção permanece teoricamente em estado estável, com certa quantidade de espécies

metálicas seqüestradas, ligadas e imobilizadas na fase sólida, enquanto que a outra porção do metal se encontra dissolvida na solução (McCABE *et al.*, 2001).

Várias são as formas em que as isotermas podem ser apresentadas, onde cada forma fornecerá informações essenciais sobre os mecanismos de adsorção e esses comportamentos irão depender de alguns fatores como: tipo do bioadsorvente, concentração dos íons metálicos, das propriedades físicas da solução, como temperatura, pH, forças iônicas e etc. A isoterma linear passa pela origem e a quantidade adsorvida é proporcional à concentração do fluido. Isotermas convexas são favoráveis, pois grandes quantidades adsorvidas podem ser obtidas com baixas concentrações de soluto. Isotermas côncavas são desfavoráveis, pois altas concentrações de fluido são necessárias para baixas concentrações de adsorvato no sólido (Barros *et al.*, 2001).

As isotermas teóricas e empíricas mais conhecidas em processos de sorção são: Langmuir, Freundlich, Henry, Temkin, Giles e BET (Brunauer, Emmett, Teller). O modelo em monocamada de Langmuir e o modelo de Freundlich são os mais usados e representam apropriadamente os dados de equilíbrio para a biossorção.

2.3.1.1 – Isoterma de Langmuir

Langmuir foi o primeiro a formular uma teoria quantitativa fenomenológica para a adsorção. A isoterma de Langmuir é o modelo mais simples entre as isotermas de sorção, é a mais conhecida curva isotérmica e a mais frequentemente usada para representar a adsorção de um soluto em uma solução líquida (Santos, 2005). Corresponde a um tipo de adsorção altamente idealizada. Este modelo assume as seguintes considerações:

- A adsorção ocorre em um número definido de sítios da superfície;
- Cada sítio pode abrigar somente uma molécula de adsorvato;

- Não existem forças de interação entre moléculas adsorvidas adjacentes, o que implica que a habilidade de uma molécula adsorver em um dado sítio é independente da ocupação dos sítios vizinhos;
- A energia de adsorção, ou seja, a força de ligação gerada entre a superfície e as moléculas de adsorbato, é a mesma em todos os sítios.

A forma geral do modelo de Langmuir é dado por:

$$q = \frac{q_{\text{máx}} b C}{1 + b C} \quad (2)$$

Sendo: b é a constante de Langmuir que relaciona a energia de adsorção/dessorção (L/mg de íons metálico); C a concentração no fluido, q a quantidade adsorvida por massa de adsorvente e $q_{\text{máx}}$ é a capacidade máxima de biossorção (mg do íon metálico/g de biossorvente).

Os dois parâmetros (b e $q_{\text{máx}}$) refletem convenientemente a natureza do material adsorvente e podem ser usados para comparar o desempenho da biossorção.

A isoterma de Langmuir prediz a saturação da superfície sólida ($q = q_{\text{máx}}$) para altos valores de C e uma adsorção linear para baixos valores de C .

Quando dados experimentais não se ajustam ao modelo de Langmuir, considera-se geralmente que a adsorção ocorreu em multicamadas.

Apesar de algumas limitações do modelo de Langmuir ele tem sido muito utilizado nos estudos de bioadsorção devido à sua facilidade de obtenção e conveniência na determinação da capacidade máxima de sorção. O modelo de Langmuir não é apropriado para baixas concentrações de soluto, pois a inclinação e o intercepto mudam com a concentração nesta região, por causa da reação reversa com o íon de troca, não considerada no modelo (Cossich, 2000).

2.3.1.2 - Isoterma de Freundlich

Freundlich, estudando a adsorção sobre alguns sistemas, propôs que os dados de equilíbrio fossem ajustados segundo a relação:

$$q = KC^{1/n} \quad (3)$$

onde K = constante relacionada a capacidade do biossorvente e $1/n$ = constante relacionada a intensidade da adsorção.

A isoterma de Freundlich é uma equação empírica, que considera a existência de uma estrutura em multicamadas, e não prevê a saturação da superfície baseada no processo de adsorção, mesmo sendo restrita aos casos em que as reações forem rápidas, em relação à velocidade de fluxo, e reversíveis, é largamente utilizada, pois, as maiorias dos casos de transporte de poluentes enquadram-se nestas hipóteses (Freeze, 1979). Ela corresponde a uma distribuição exponencial de vários sítios de adsorção com energias diferentes, além disso, o modelo de Freundlich não torna-se linear em baixas concentrações, mas permanece côncavo ao eixo da concentração.

O modelo de Freundlich é bastante usado nos trabalhos de adsorção pela simplicidade e facilidade na determinação das constantes. Sua utilização está limitada a uma estreita faixa de concentrações. Os resultados do modelo de Freundlich não podem ser extrapolados, por se tratar de um modelo empírico e ajustar os dados apenas nas faixas limitadas.

2.3.1.3 – Lei de Henry

Para a adsorção física numa superfície homogênea, em concentrações baixas, a isoterma de equilíbrio pode ser aproximada por uma relação linear, como mostra a Equação 3. A lei de Henry representa à situação onde a fase líquida se encontra diluída sem competição na superfície dos sítios nem interações significantes entre as moléculas adsorvidas.

$$q = kC \quad (4)$$

onde k = constante de Henry que representa o equilíbrio termodinâmico relacionada com a temperatura pela relação de Van't Hoff.

2.3.2 – Biossorventes

A procura de materiais e processos que possam atuar na destruição de poluentes é de grande interesse para a sociedade.

A metodologia usada para a limpeza de efluentes líquidos baseada nos processos de sorção através de biossorventes é muito atrativa, visto o baixo custo de sua implantação e pelo grande leque de materiais sorventes disponíveis.

Define-se como biossorventes todo material biológico que tem habilidade biossortiva, ou seja, são biomassas que apresentam o mecanismo de biossorção.

O uso de biossorventes como efetivos meios para o acúmulo de espécies metálicas é favorecido pelo amplo espectro de potenciais vias de sorção e o baixo custo na produção. Entre suas principais vantagens encontram-se a diversidade de sítios ativos, a uniformidade e tamanho das partículas das biomassas, assim como não estarem sujeitos à interferência de metais alcalinos e alcalino-terrosos, o que geralmente ocorre em resinas convencionais de troca iônica.

O sucesso da remoção de metais empregando-se biomassas vai depender, principalmente, da possibilidade de recuperação do metal e da regeneração do biossorvente, que deve ser usado em múltiplos ciclos de biossorção-dessorção. A reutilização da biomassa vai depender da forma de recuperação do metal captado, que por sua vez está relacionada ao elemento em questão e ao mecanismo de captação.

Recentemente a atenção maior às pesquisas no campo da adsorção está sendo direcionada à busca de bioadsorventes de metal mais eficientes e de baixo custo. Para este propósito, muitos biomateriais como: palha de milho, serragem, polpa de beterraba, bagaço de cana-de-açúcar, quitinas de camarão, células bacterianas, fungos e algas, tem sido testados como biossorventes para a biossorção de metais pesados (Liu *et al.*, 2003).

Capacidade, seletividade, regenerabilidade, compatibilidade e baixo custo são os critérios mais procurados em um biossorvente, mas dificilmente a biomassa será ótima em todos esses aspectos. Segundo Barros Júnior (2001) a capacidade é a quantidade de adsorbato retido pelo adsorvente, por unidade de massa ou volume, e é normalmente uma das mais importantes características de um adsorvente, pois a mesma está associada ao custo capital. O biossorvente deve ser capaz de adsorver grandes quantidades de soluto. Já a regenerabilidade é essencial para todas as unidades de adsorção, pois o adsorvente pode operar em ciclos seqüências com desempenho uniforme.

O primeiro, e maior, desafio nos estudos sobre biossorção é selecionar os tipos mais promissores de biomassa de um conjunto relativamente grande de biomateriais disponíveis e de baixo custo. Embora esta etapa não tenha sido completamente concluída, um bom número de tipos de biomassa já foi testado em sua capacidade de ligação sob várias condições. Embora todo material biológico apresente habilidade para adaptação de metais, várias pesquisas vêm sendo direcionadas para o uso de sistemas microbianos.

O uso potencial de microrganismos no tratamento de efluentes para remoção de metal pesado é de especial importância (Kaçar *et al.*, 2002). Uma grande variedade de microrganismos (bactérias, fungos, leveduras e algas) podem se ligar a metais, mas há diferenças nas respostas das espécies microbianas quando expostas a soluções metálicas, somente aquelas com capacidade de ligação e seletividade razoavelmente alta para metais são viáveis para o uso em processos de alta escala. A capacidade de remoção, assim como os mecanismos de acumulação, pode variar amplamente de acordo com a espécie microbiana ou até mesmo a linhagem. As paredes celulares dos microrganismos, em geral, apresentam diferentes polissacarídeos e estruturas aniônicas devido à presença de grupos ionizáveis tais como carboxilas, hidroxilas e fosfatos. Desta forma a parede celular apresenta grande potencial para captação de metais pesados (Rizzo & Leite, 2004).

Aplicação da biomassa microbiana como adsorvente, para a remoção de metais pesados de águas contaminadas, se apresenta como uma nova área no campo da biotecnologia. De acordo com Kaçar *et al.* (2002) é evidente que determinados tipos de biomassas são mais apropriados do que outros para

determinadas aplicações no campo da bioissorção. A afinidade dos materiais bioissorventes para um determinado íon metálico só poderá ser comprovada através de experimentos. Diversos microrganismos têm sido testados no sentido de se aprofundar os conhecimentos dos mecanismos que contribuem ou estão na origem do processo de bioissorção.

A Tabela 5 apresenta exemplos de diferentes tipos de biomassas microbianas capazes de remover diferentes tipos de íons metálicos pesados.

TABELA 5 – Exemplos do acúmulo de metais por microrganismos

Tipo	Microrganismo	Metal	Referências
Bactéria	<i>Bacillus subtilis</i>	Cádmio / Manganês / Ouro	Volesky & Holan (1995), Mesquita (1993)
	<i>Zooglea sp.</i>	Cobalto / Cobre / Urânio	
	<i>Citrobater sp..</i>	Urânio / Chumbo	
Alga	<i>Chlorella vulgaris</i>	Cádmio / Zinco	Ting <i>et al.</i> (1989), Leite <i>et al.</i> (1993)
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Cádmio / Zinco	
Fungo	<i>Aspergillus niger</i>	Cádmio / Cobre / Ouro / Lantâneo	Kapoor & Viraraghavan (1995)
	<i>Penicillium sp.</i>	Alumínio / Chumbo / Estanho	
	<i>Rhizopus arrizus</i>	Cromo / Manganês / Mercúrio	
Levedura	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cádmio / Cobre / Urânio	Kapoor & Viraraghavan (1995)

Fonte: Pinto *et al.* (2002)

A acumulação seletiva de íons metálicos por microrganismos é determinada pela competição interiônica e a quantidade total de íons adsorvidos por diferentes células microbianas difere muito de espécie para espécie.

Células vivas ou mortas podem ser empregadas nos processos de captação de metais. A Tabela 6 apresenta algumas vantagens e desvantagens associadas ao uso de cada sistema.

TABELA 6 – Vantagens e desvantagens em utilizar células vivas ou mortas nos processos de remoção de íons metálicos de efluentes líquidos

	Células Vivas	Células Mortas
Vantagens	<ul style="list-style-type: none"> • Manipulação genética para melhoramento da linhagem • O metal é menos sensível a dessorção espontânea; • O sistema é auto-abastecido, devido ao crescimento celular, não havendo sítios de saturação. 	<ul style="list-style-type: none"> • Produção de biomassa independente, não havendo limitações toxicológicas; • Não necessita disposição de produtos do metabolismo; • Captação rápida e eficiente; • O sistema pode ser modelado matematicamente.
Desvantagens	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicidade do metal; • Necessidade de nutrientes para o crescimento e metabolismo; • Após a interiorização do metal, o potencial de recuperação é limitado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Saturação dos sítios interativos; • Processo sensível ao pH e a espécie metálica; • Não há potencial para degradação de compostos organometálicos.

Fonte: Pinto *et al.* (2002).

A bioacumulação de íons metálicos por microrganismos vivos não é fácil por causa da toxicidade do metal, que geralmente inibe o crescimento microbiano enquanto que a utilização da biomassa morta elimina o problema de toxicidade e os aspectos econômicos referentes ao suprimento de nutrientes e manutenção da cultura. A separação dos estágios de propagação da biomassa e biossorção do metal é uma solução para este problema, e tem levado ao desenvolvimento de materiais biossorventes inativos. A

concentração de metais pode também ser feita utilizando resíduos de biomassa, bem como células imobilizadas.

A biomassa microbiana inativa e/ou morta pode servir como uma base para o desenvolvimento de materiais bioissorventes que podem ser usados para captura e recuperação de metais pesados. Desde que estes novos bioissorventes possam ser regenerados, reutilizados, seletivos, eficientes, baratos e competitivos com produtos artificiais, e que apresentem a aplicação potencial no controle ambiental dos metais e nas operações de recuperação metálica (Volesky, 1989).

Por outro lado, Gadd (1990) é de opinião que as células vivas têm uma maior capacidade de acumular metais intracelularmente do que as células mortas e que podem também precipitar metais na parede celular ou no meio exterior devido a vários produtos do metabolismo. Os microrganismos inativos não necessitam de substrato e por isso tornam-se mais econômicos.

Microrganismos vivos tem sido mais aplicados na descontaminação de esgotos e águas residuais, ocorrendo além da biodegradação de resíduos orgânicos e nitrogenados, a remoção de algumas formas solúveis de metais pesados que se encontram em baixos níveis de concentração.

As paredes de bactérias, algas e fungos são eficientes bioissorventes metálicos, e em muitos casos a ligação inicial pode ser seguida pela deposição inorgânica de quantidades crescentes de metal. Ligações covalentes e iônicas podem estar envolvidas na bioissorção (Barros Junior, 2001).

As leveduras são fungos unicelulares e importantes sistema-modelo para a pesquisa básica na biologia de células eucarióticas. A *Saccharomyces cerevisiae* é um tipo de levedura muito utilizada pelo homem

A biomassa pode ser utilizada em seu estado natural ou modificada por tratamentos físicos e/ou químicos, de modo a aumentar a eficiência da adsorção.

A remoção de metais pesados de soluções aquosas, por microrganismos, pode envolver três tipos de mecanismos, que são:

- I) Acumulação intracelular - O transporte de íons metálicos para dentro das células microbianas é inibido por ausência de fontes de energia,

temperaturas baixas e inibidores metabólicos. Esse mecanismo necessita da atividade microbiana.

- II) Sorção na superfície celular – A acumulação não impede o funcionamento normal da célula, mesmo em concentrações alta de metais pesados. A maneira mais comum na qual os microrganismos absorvem os metais é acumulando-os em sua superfície. Mecanismos desse tipo podem acontecer utilizando biomassas vivas ou mortas.
- III) Acumulação extracelular – A remoção por acumulação extracelular tem sido muito estudada. O aprisionamento físico de metais precipitados na matriz polimérica é uma importante forma de remoção de metais em soluções aquosas. Tal processo pode ser facilitado por microrganismos vivos.

Para a determinação de uma nova tecnologia de acumulação de metais pesados, como a biossorção, uma série de requisitos deve ser estabelecida para a competitividade técnica e econômica do processo (Barros Junior, 2001):

- A biossorção e a dessorção devem ser rápidas e eficientes;
- O material biológico deve apresentar baixo custo;
- O material biológico deve ser reutilizável;
- A separação do metal retido deve ser fácil e de baixo custo.

A remoção de um metal pode ser influenciada pela presença de outros metais. Uma vez que os efluentes industriais possuem várias espécies de compostos poluentes, sistemas multicomponentes necessitam de estudos mais detalhados.

2.3.3 – A Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Sendo o Brasil o maior produtor mundial de álcool etílico via processo fermentativo (Silva, 1998), utilizando-se da *Saccharomyces cerevisiae* (levedura) como o microrganismo agente da fermentação, é prática comum nas indústrias de produção de álcool etílico, no Brasil, a sangria do creme de levedura, este procedimento consiste em retirar parte do creme do processo

por centrifugação. Desta forma, a *Saccharomyces cerevisiae* é uma fonte excedente do processo de fermentação que pode ser utilizada, como por exemplo, bioadsorvente em processos de separação física.

Já é de conhecimento que diversos microrganismos possuem capacidade de acumular alguns tipos de metais pesados, a *Saccharomyces cerevisiae* não é exceção. A *Saccharomyces cerevisiae* possui um elevado poder de remoção e seletividade de certos metais pesados (Ferraz et al., 2004).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um fungo unicelular bastante conhecido e utilizado pelo homem nas várias indústrias de fermentação, alimentícia e de bebidas, além de possuir a capacidade de retirar metais pesados em meios aquosos podendo ser usada como bioacumulador desses metais, tornando-se assim uma ótima alternativa para descontaminação ambiental. Ela apresenta parede celular rígida e altamente complexa, que representa um sítio adicional de bioadsorção, em relação às células desprovidas de parede. O seqüestro de íons metálicos pelas paredes celulares é constituído por duas fases, a primeira constitui uma ligação direta nos grupos funcionais e a segunda composta por uma interação físico-química, que é chamada de fenômeno de adsorção (Del Rio, 2004). Segundo Gadd (1990) a composição das paredes celulares pode ser influenciada pelas condições de cultura, o que resulta em variações consideráveis na capacidade de bioadsorção.

Estudos já realizados demonstraram que a biomassa viva ou morta de *Saccharomyces cerevisiae* diferem em relação à capacidade de acumular íons. Segundo Domingos (1997) existe uma maior eficiência no uso da biomassa *Saccharomyces cerevisiae* inativa (morta) na remoção de íons de metais pesados assim como também uma fácil recuperação posterior da mesma.

Células vivas de *Saccharomyces cerevisiae* seqüestram íons metálicos através de um mecanismo bifásico, dessa forma constituindo uma rápida ligação superficial precedida de uma lenta absorção intracelular (Huang & Morehart, 1990).

O estudo da utilização de biomassa microbiana residual, produzida industrialmente, pode ser uma via econômica de material adsorvente de metal. Como produto residual de fermentações industriais, a *Saccharomyces*

cerevisiae pode ser obtida em grandes quantidades e a baixo custo, suprimindo uma fonte viável para aplicação em larga escala nos processos de remediação.

2.3.4 – Estado da arte em Biossorção

King *et al.* (2006) mostraram a eficiência de remoção dos íons Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{3+} e Cd^{2+} em soluções aquosas através *Syzygium cumini* L, afirmando que capacidade de adsorção desse microrganismo aumentou com o aumento da concentração inicial dos íons metálicos e diminuiu com o tamanho das partículas do biossorvente.

Tsui *et al.* (2006) fizeram um estudo comparativo da biossorção de oito íons metálicos (prata, cádmio, cobalto, manganês, níquel, cromo, chumbo e zinco) pela biomassa *Sargassum hemiphyllum* tratada com Ca^{2+} . Nesse estudo os autores demonstraram que o biossorvente apresentou uma eficiente remoção para um elevado número de íons metálicos, em soluções aquosas sintéticas, preparadas para cada tipo de íon metálico estudado.

Bayramoglu *et al* (2006) utilizaram a alga *Chlamydomonas reinhardtii* imobilizada com alginato para o estudo da biossorção dos íons Hg^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} em soluções aquosas e verificaram um bom desempenho desse biossorvente. Observaram também que a concentração dos íons metálicos e o pH foram variáveis que influenciaram no processo, por outro lado a faixa de temperatura estudada nesse caso, entre 5 - 40° C, não obteve nenhum efeito significativo nesse estudo. Os valores das quantidades máximas adsorvida por unidade de massa imobilizada para os íons metálicos obtidos foram de 106,6 mg g⁻¹, 79,7 mg g⁻¹ e 380,7 mg g⁻¹ para Hg^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} respectivamente.

A capacidade de remoção do íon metálico de chumbo pela alga *Cladophora fascicularis* foi estudada por Deng *et al* (2006). O estudo mostrou que esse tipo de alga, que é facilmente disponível a baixo custo, pode ser usada como uma eficiente biomassa nos processos de remoção de Pb^{2+} . A taxa de remoção foi considerada rápida nos primeiros 30 minutos. As isotermas

de adsorção seguiram o modelo de Langmuir e Freundlich e a quantidade máxima adsorvida foi de 198.5 mg g⁻¹ em 298K no meio com pH 5.0.

Akar & Tunali (2006) estudaram o processo de biossorção do Cu²⁺ e Pb²⁺ pelo fungo *Aspergillus flavus* e encontraram valores máximos de biossorção equivalentes a 13,46 mg g⁻¹ para o Pb²⁺ e 10,82 mg g⁻¹ para o Cu²⁺ em um tempo de equilíbrio de 2h. Os dados da biossorção obtidos foram melhores descritos pelo modelo da isoterma de Freundlich.

Kumar *et al* (2006) trabalhando em processos de biossorção com *Tectona grandis* concluíram que essa biomassa possuía uma boa capacidade de remoção dos íons de Cu²⁺. O modelo que melhor ajustou esse processo foi o de Langmuir, com uma quantidade máxima de adsorção igual a 15,43 mg g⁻¹. A biossorção aumentou à medida que aumentou a concentração dos íons e diminuiu o tamanho da biomassa.

Selatnia *et al.* (2004) concluíram que a biomassa *Streptomyces rimosus* morta e tratada com NaOH (0,1M) possuía uma grande capacidade de adsorver íons metálicos de chumbo (Pb²⁺).

Dursun *et al.* (2003) estudaram a biossorção dos íons metálicos Cu²⁺ e de cádmio (Cd²⁺) pelos microrganismos *Rhizopus arrhizus* e *Aspergillus niger*, e perceberam que o *Rhizopus arrhizus* é capaz de acumular mais os íons metálicos estudados, principalmente os do cádmio, em todas as concentrações.

Goyal *et al.* (2003) fizeram um estudo de comparação entre três diferentes tipos de microrganismos (*Streptococcus equisimilis*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus niger*) na biossorção dos íons metálicos Cr⁶⁺ e Fe³⁺ e chegando a conclusão que o comportamento dos microrganismos diferem consideravelmente na biossorção e que o fungo *Aspergillus niger* se apresentou como o mais eficiente em adsorver, em concentrações mais elevadas, os íons metálicos.

O fungo *Mucor rouxii* tratado com NaOH foi testado na biossorção dos íons metálicos Pb²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺ e Zn²⁺, em soluções aquosas, por Yan & Viraraghavan (2003) e apresentou uma boa capacidade na adsorção em sistemas de multicomponentes.

Segundo Duta *et al.* (2002) a biomassa de *Sargassum* sp. destaca-se como uma alternativa eficaz para a remoção de cádmio, cobre, zinco e

manganês, apresentando a biomassa *in natura*, capacidade média de acumulação de metais maior do que a biomassa regenerada.

Costa & Duta. (2001) estudaram a acumulação dos íons metálicos Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} e Pb^{2+} por bactérias do gênero *Bacillus*. As distintas linhagens de *Bacillus* testadas apresentaram variáveis capacidades de carregamento de íons metálicos, sendo os melhores resultados àqueles obtidos com o emprego de *B. subtilis* com bioacumulação máxima de $5,9 \text{ mol.g}^{-1}$ para o cobre, $5,0 \text{ mol.g}^{-1}$ para o zinco, $9,5 \text{ mol/g}$ para o cádmio e $1,8 \text{ mol.g}^{-1}$ para o chumbo.

Amorim *et al.* (1999) mostraram que a biomassa de *Sargassum*, destaca-se como um bom bioadsorvente para Cr^{6+} , tendo observado também que o pH crítico de remoção do cromo hexavalente está entre 2 e 3, sendo o pH 3,0 o limite para que ocorra a troca iônica do metal com a biomassa.

Schneider (1995) realizou estudos de sorção em batelada com soluções sintéticas dos metais pesados (Ni, Cu, Zn e Pb) por macrófitos aquáticos e constatou que, dentre as espécies estudadas, o *Potamogeton lucens* foi a que apresentou maior capacidade de sorção desses metais pesados. As espécies *Salvinia herzogii* e *Eichhornia crassipes* também se apresentaram eficientes.

2.3.5 – Planejamento Experimental e Otimização do Processo

É possível observar que boa parte dos problemas ocorridos nas indústrias se baseia na caracterização, desenvolvimento e melhoramento dos processos de produção. Portanto as metodologias de pesquisa experimental estão sendo cada vez mais utilizadas para se estabelecer critérios científicos e estatísticos de um determinado processo.

Em processos industriais de desenvolvimento e de pesquisa, é comum a existência de vários fatores ou variáveis que afetam a qualidade global do produto final.

A tarefa de otimização pode ser prolongada e dispendiosa se uma ferramenta adequada não for utilizada. A metodologia de Planejamento Experimental e Análise de Superfície de Resposta vêm sendo consideradas como uma ferramenta eficaz e imprescindível para o desenvolvimento de

processos, principalmente quando um grande número de variáveis está envolvido (Box *et al.*, 1978).

Ao profissional cabe, então, investir mais tempo na compreensão do processo, definindo as variáveis relevantes a serem estudadas e as respostas desejadas. Assim, é possível aperfeiçoar as condições de processo, maximizando rendimentos, produtividades e viabilidade comercial, minimizando custos, ou mesmo conduzindo o processo à obtenção de um produto com as especificações desejadas, com o uso da metodologia de Planejamento Experimental e Análise de Superfície de Resposta, obtendo resultados com altos índices de confiabilidade.

O planejamento experimental é a especificação detalhada das operações experimentais que devem ser realizadas, se refere ao procedimento de planejar um experimento de forma que dados apropriados sejam coletados em tempo e custo mínimo. A análise destes dados por meio de técnicas estatísticas resultará em conclusões confiáveis (Werkema & Aguiar, 1996). O planejamento experimental, baseado nos fundamentos estatísticos, é sem dúvida alguma, uma ferramenta poderosa para se chegar às condições otimizadas de um processo dentro das especificações desejadas ou simplesmente para avaliar os efeitos ou impactos que os fatores têm nas respostas desejadas.

Segundo Santos (2005) o emprego do planejamento experimental fornece algumas vantagens para o pesquisador, entre estas vantagens, pode-se citar:

- I. Realização de um número mínimo de experimentos, sem prejuízo para o pesquisador;
- II. Determinação da confiabilidade dos resultados;
- III. Estudo simultâneo de vários fatores (variáveis de resposta) e seus respectivos efeitos individuais sobre a variável resposta;
- IV. Seleção das variáveis de entrada que mais influenciam as variáveis de saída, com um número mínimo de experimentos;
- V. Representação do processo estudado através de expressões matemáticas;

VI. Elaboração de conclusões a partir de resultados qualitativos

Quando se trabalha com planejamento experimental um dos primeiros passos a seguir é estabelecer uma lista de variáveis que poderão interferir no processo, que são normalmente chamadas de variáveis de entrada, as quais emitirão uma resposta experimental. A resposta irá depender das características do sistema.

De acordo com Barros Júnior (2001) a ordenação das informações aplicadas no planejamento experimental dá-se, em geral, na forma codificada de matrizes experimentais.

Para planejar de modo adequado a coleta de dados deve ser levada em consideração dois princípios básicos, que são:

- Réplica - São repetições do experimento feitas sob as mesmas condições experimentais. Em um experimento, a realização de réplicas é importante, pois permitem avaliar a variabilidade devida ao erro experimental presente nos dados coletados e também detectar efeitos produzidos pelas diferentes condições experimentais.
- Aleatorização - Se refere a ordem segundo os ensaios individuais do experimento serão realizados. São determinados ao acaso. A aleatorização permite que os efeitos de fatores não-controlados, sejam balanceados entre todas as medidas. Este balanceamento evita possíveis confundimentos na avaliação dos resultados (Werkema & Aguiar, 1996).

Um outro passo a ser dado no planejamento é definir claramente que objetivo se pretende alcançar com os experimentos, porque isso determinará que tipo de planejamento experimental deve ser utilizado (Ferreira, 2001).

Existem dois métodos de planejamento experimental mais conhecidos para otimização de processo, são eles:

- Simplex Seqüencial;
- Planejamento Fatorial e Análise de Superfície de Resposta.

2.3.5.1 - Simplex Seqüencial

O método Simplex necessita do conhecimento da resposta da etapa imediatamente anterior para a continuação dos ensaios seguintes, limitando este método a realização de um experimento de cada vez. Como consequência desta limitação, o método Simplex só otimiza uma resposta de cada vez (Silva, 1998). O Simplex tem a característica de termo seqüencial, tornando-o mais adequado para experimentos de respostas rápida (Barros Neto *et al.*, 1995).

2.3.5.2 - Planejamento Fatorial e Análise de Superfície de Resposta

O planejamento fatorial tem sido muito aplicado em pesquisas básicas e tecnológicas e é classificado como um método do tipo simultâneo, onde as variáveis de interesse que realmente apresentam influências significativas na resposta são avaliadas ao mesmo tempo.

O planejamento fatorial é indicado quando se deseja estudar o efeito de duas ou mais variáveis sobre o sistema experimental (Santos, 2005).

De acordo com Silva (1998) o principal objetivo do planejamento fatorial é relacionar empiricamente as variáveis dependentes (respostas) com as variáveis independentes (variáveis de entrada), além de se poder determinar estatisticamente o efeito de cada variável na(s) resposta(s) desejada(s).

No planejamento fatorial, precisa-se inicialmente especificar os níveis, ou seja, os valores dos fatores que irão ser utilizados nos experimentos. Neste tipo de planejamento é necessária a elaboração de diversos experimentos para todas as possíveis combinações de níveis. Este método é classificado como um método simultâneo, sendo utilizado na etapa de otimização propriamente dita. Sua aplicação permite selecionar a combinação de níveis ótimos na obtenção da melhor resposta para uma dada situação. Costuma-se identificar os níveis como superior e inferior com os sinais (+) e (-), respectivamente. Se n fatores estão contidos no estudo, o planejamento fatorial necessitará da realização de 2^n ensaios diferentes, cobrindo todas as combinações possíveis.

Para o cálculo do erro experimental é importante e necessário realizar no mínimo dois ensaios no ponto central, ponto este equivalente a exatamente a média aritmética dos níveis -1 e +1 (Barros Neto *et al.*, 1995).

No método da análises de superfície de resposta são realizados planejamentos fatoriais, para cujos resultados são ajustados modelos matemáticos. Estas etapas, conhecidas como etapa de deslocamento e modelamento, respectivamente, são repetidas várias vezes, mapeando a superfície de respostas obtidas na direção da região ponto de ótimo desejado. A modelagem normalmente é feita ajustando-se os modelos mais simples, como o linear e o quadrático.

2.3.6 – Imobilização de Leveduras

A imobilização é um termo que descreve as muitas formas das células serem encapsuladas ou aprisionadas. Pesquisas na área de imobilização de células têm aumentado consideravelmente no setor da biotecnologia (Bofo *et al.*, 2005).

O aprisionamento de células em matrizes poliméricas é amplamente utilizado para a imobilização celular. São utilizados polímeros naturais como alginato, carragena, agar, quitosana entre outros, e polímeros sintéticos como polyacrilamida, polyacrilato e poliuretano . Polímeros naturais apresentam baixa resistência mecânica e durabilidade, embora não sejam tóxicos aos microrganismos. Por outro lado, os polímeros sintéticos apresentam elevada resistência mecânica e durabilidade, mas são freqüentemente tóxicos às células.

A imobilização de células viáveis em gel de alginato, que é uma técnica extensamente utilizada, é um dos mais simples métodos de imobilização, proporcionando a imobilização em suaves condições para provocar o mínimo de alterações nas células durante o processo. Tal imobilização de célula foi utilizada desde os anos cinqüenta e é explorado hoje em dia para aplicações industriais, agrícolas e farmacêuticos (Almeida *et al.*, 2005).

Nessa perspectiva, a utilização de células de leveduras imobilizadas em suporte inerte e de baixo custo é hoje um dos enfoques para muitas aplicações como processos fermentativos, enzimáticos e de bio sorção (Ferreira *et al.*, 2005).

2.3.7 – Voltametria

A voltametria é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, realizadas durante a eletrólise dessa espécie em uma cela eletroquímica constituída de pelo menos dois eletrodos, sendo um deles um microeletrodo (o eletrodo de trabalho) e o outro um eletrodo de referência (Aleixo, L.M.; acesso 2004).

Os primeiros estudos de voltametria foram realizados em 1922, e a primeira técnica voltamétrica desenvolvida foi utilizando um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho e, como de referência, um eletrodo de calomelano saturado, técnica denominada de polarografia.

Segundo Cantane (2004) atualmente, existem várias técnicas de voltametria que são utilizadas, dentre elas: voltametria de redissolução anódica (ASV – “*anodic stripping voltammetry*”), voltametria de redissolução com adsorção (AdSV – “*adsorptive stripping voltammetry*”), voltametria cíclica (CV – “*cyclic voltammetry*”), voltametria de pulso duplo diferencial (DDPV – “*doubled differential pulse voltammetry*”), eletrodo gotejante de mercúrio (DME – “*dropping mercury eletrodo*”), voltametria de pulso normal diferencial (DNPV – “*differential normal pulse voltammetry*”), voltametria de pulso diferencial (DPV – “*differential pulde voltammetry*”), voltametria de pulso normal (NPV – “*normal pulse voltammetry*”) e voltametria de onda quadrada (SWV – “*squarshaped wave voltammetry*”) entre outras.

Os experimentos de voltametria e polarografia determinam espécies numa solução aquosa que podem ser eletroquimicamente oxidados e reduzidos. Nestes experimentos um potencial é aplicado na amostra via um eletrodo trabalho, que esta imerso na solução. O potencial que é o responsável pela reação redox, é scaneado para a região de interesse, assim como o comprimento de onda da luz é scaneado numa medida espectroscópica. Para um determinado potencial, uma espécie na solução é oxidada ou reduzida, então quando isto acontece, uma corrente irá fluir pelo eletrodo trabalho. O potencial em que ocorre a redução ou oxidação é característico da espécie e a quantidade de corrente produzida é proporcional a concentração da espécie

em solução. A corrente medida na polarografia é semelhante a medida da absorbância nas técnicas espectroscópicas.

Os métodos polarográficos/voltamétricos encontram inúmeras aplicações nos campos de análise inorgânica e orgânica, envolvem a utilização de diversos materiais e talvez sejam os métodos mais versáteis de análise de traços (Aleixo *et al.*, 2001).

Dentre as várias técnicas de voltametria a mais utilizada na determinação de íons metálicos é a voltametria de redissolução anódica (ASV), uma vez que vários deles podem ser depositados no eletrodo de mercúrio através de eletrólise de soluções de seus íons. valor de um potencial anódico praticamente igual ao do potencial catódico para um sistema reversível. A corrente de pico obtida é proporcional à concentração do íon metálico, sendo um sinal analítico correspondente a uma concentração que estaria abaixo do limite de detecção na medida voltamétrica/polarográfica direta. A pré-concentração faz com que a concentração, na gota de mercúrio, devido ao seu volume minúsculo, seja muito maior que na (Aleixo, L.M. ;acesso 2004).

Capítulo 3

Materiais e Método

Neste capítulo são apresentados os materiais e a metodologia utilizada, para a obtenção dos dados experimentais relevantes, para a compreensão do processo de bioacumulação dos íons metálicos de cádmio e chumbo pela biomassa *Saccharomyces cerevisiae*.

3.1 – Materiais

3.1.1 - Biomassa

Foi utilizado nesse trabalho, como biomassa, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* proveniente do fermento comercial da Fleischmann Royal® com umidade de 72% (base úmida) e proteína bruta igual a 45% (base seca).

Para poder comparar a capacidade de bioacumulação nos experimentos realizados utilizou-se a biomassa em três estados: *in natura*, morta (seca em estufa a 70 °C por 24 horas) e imobilizada (morta), como mostra a Figura 2. Para verificação da viabilidade celular da biomassa foram feitas análises microscópicas de coloração utilizando o azul de metileno. A biomassa foi conservada em um dessecador de vidro durante os experimentos.

A quantidade de biomassa variou de acordo com cada etapa realizada.

Com o objetivo de expressar os resultados em base seca, a umidade da biomassa foi determinada em estufa a 105 °C por 24h e calculada de acordo com a Equação 5.

$$U_{bs} = \frac{m_i - m_f}{m_f} \quad (5)$$

sendo: U_{bs} umidade em base seca (após 24h); m_i é a massa inicial e m_f a massa final da levedura.



FIGURA 2 – A biomassa *Saccharomyces cerevisiae* nos três estados de estudo: (a) morta; (b) viva e (c) imobilizada

3.1.1.1 – Imobilização da Levedura

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi imobilizada com alginato de sódio 2% em suspensão na solução de cloreto de cálcio também a 2%.

Em um becker de 400 mL adicionou-se 9 g de levedura (inativa) dissolvida em 50 ml de água destilada, agitou-se para homogeneizar e em seguida misturou-se com 100 ml da solução de alginato de sódio (2%) preparado à quente (Papageorgiou *et al.*, 2006). Em outro Becker preparou-se uma solução de 100 ml de cloreto de cálcio a 2 %. Esta solução foi submetida à agitação suave pelo agitador magnético.

Após a homogeneização da levedura na solução do alginato de sódio esta foi gotejada, com ajuda de uma bomba peristáltica, na solução de cloreto de cálcio, com agitação suave e constante. Foram obtidas esferas de gel com células de *Saccharomyces cerevisiae* aprisionadas, através do gotejamento da mistura de alginato de sódio e a levedura na solução de cloreto de cálcio (Figura 3).

As esferas formadas foram lavadas com água destilada e mantidas por 24h a 4°C em cloreto de cálcio (Ferreira *et al.*, 2005).



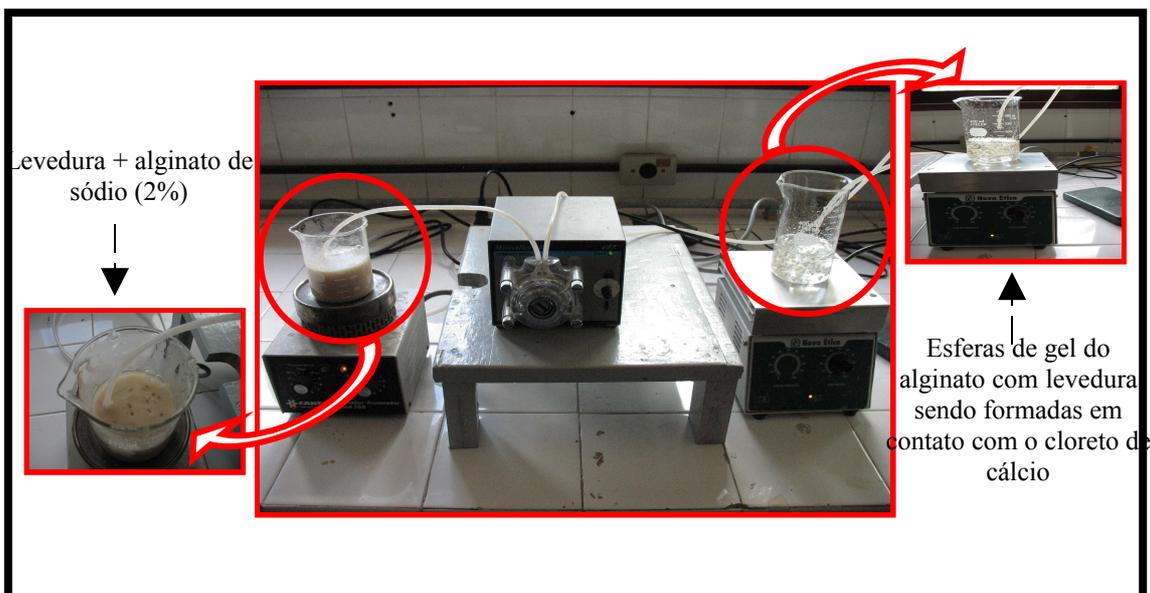


FIGURA 3 – Esquema experimental da imobilização da levedura

3.1.2 – Efluentes Sintéticos

Os ensaios foram realizados com efluentes sintéticos preparados com água deionizada e a partir de soluções padrões titrisol (Merck) de cloreto de CdCl_2 PbCl_2 diluídas de cádmio e chumbo.

3.2 – Metodologia Experimental

3.2.1 - Determinação do teor de íons metálicos

As concentrações dos íons metálicos presentes nas amostras foram analisadas e quantificadas pela técnica de polarografia ASV (Anodic Stripping Voltammetry) utilizando um Polarógrafo modelo POL 150 (Figura 4) acoplado a uma célula de mercúrio modelo MDE 150, em uma célula de três eletrodos, sendo o eletrodo de mercúrio o eletrodo de trabalho, o eletrodo de Ag/AgCl , KCl saturado. o eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O polarógrafo foi conectado à um microcomputador PC com sistema operacional Windows 95®, onde utilizou-se o programa Trace Master X9737-2.03, da Radiometer, para a realização das medições experimentais.

As análises para determinação do teor de íons metálicos foram realizadas no Laboratório de Engenharia Eletroquímica (LEQ) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).



FIGURA 4 - Polarógrafo modelo POL 150.

As análises foram realizadas em uma célula polarográfica na qual foi adicionada 10 mL do eletrólito de suporte (água deionizada), 1 mL de ácido clorídrico 30% supra puro (Merck) e por último, adicionava-se à célula polarográfica um volume adequado da amostra a ser analisada. A determinação da concentração foi feita através do método de adição padrão, pelo qual registrava-se inicialmente o polarograma da amostra contida na célula polarográfica. Em seguida adicionava-se, com a ajuda de uma micropipeta, um volume apropriado de uma amostra de solução padrão com concentração conhecida de cádmio ou chumbo, registrando-se o polarograma da amostra mais o padrão. Seguindo-se com este procedimento, foram feitas mais duas adições de padrão, registrando-se o respectivo polarograma correspondente a cada adição. Para cada determinação, portanto, foram feitas três adições de padrão.

3.2.2 – Estudo Cinético

O procedimento mais comum na prática de medidas cinéticas consiste no acompanhamento com o tempo da transferência de sorbato da fase fluída para o interior do sólido adsorvente.

O tempo de contato necessário para que o equilíbrio entre as fases seja atingido é função de vários fatores, entre eles o tipo de biomassa (quantidade e tipos de sítios envolvidos na bioadsorção), tamanho e forma da biomassa, estado da biomassa (ativa ou inativa, livre ou imobilizada), além do metal envolvido no sistema de bioadsorção. O modo de contato entre as fases, por exemplo, agitação ou escoamento do fluido exerce também influência importante sobre o tempo necessário para que o equilíbrio seja atingido. Para se saber o período em que o sistema alcance o equilíbrio foi necessário fazer um estudo cinético.

Os estudos da cinética de bioadsorção dos íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* foram realizados em duas etapas, a fim de se comparar a capacidade de adsorção da biomassa tanto no seu estado natural (*in natura*) como imobilizada, além do tempo de contato necessário para atingir o equilíbrio nessas duas condições. Durante a realização desse estudo utilizou-se 0,01 g da biomassa em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de solução do íon metálico. As concentrações utilizadas com a levedura *in natura* foram para os íons de cádmio de 0,435 mg/L, 2,47 mg/L e 4,5 mg/L e para os íons de chumbo foram de 0,282 mg/L e 3,4 mg/L. Já para etapa utilizando a levedura imobilizada, as concentrações dos íons metálicos foram: 0,39 mg/L e 4,72 mg/L para Cd^{2+} e 0,48 mg/L e 1,61 mg/L para Pb^{2+} . O critério utilizado para as concentrações definidas nesse estudo foi preparar efluentes sintéticos com níveis de íons metálico superiores ou próximos aos estabelecidos pela resolução do CONAMA 357 (2005).

Na primeira etapa, utilizando a biomassa *in natura*, os Erlenmeyers foram mantidos, em repouso, a uma temperatura de 30°C. As amostras foram preparadas em duplicata e as alíquotas das soluções dos metais foram retiradas em diferentes intervalos de tempo (24, 48, 72 e 96 h), centrifugadas a

uma velocidade de 1000 rpm por aproximadamente 10 min e analisadas por técnica de polarografia ASV (Ferreira *et al.*, 2005).

Na segunda etapa, com a levedura imobilizada, os ensaios foram realizados em tanques agitados como mostra a Figura 5. Os tanques foram representados por tubos os quais possuíam em seu interior 10 ml de solução dos íons metálicos mais 0,01 g da biomassa imobilizada. Os tanques foram agitados através de um agitador rotativo que mantinha a agitação constante a 70 rpm. Os experimentos foram realizados por um tempo total de 120 minutos em uma câmara termostatazada mantida a temperatura constante de 35 °C.

A quantidade de íons metálicos adsorvido por unidade de massa do adsorvente foi calculada com auxílio da Equação 1.

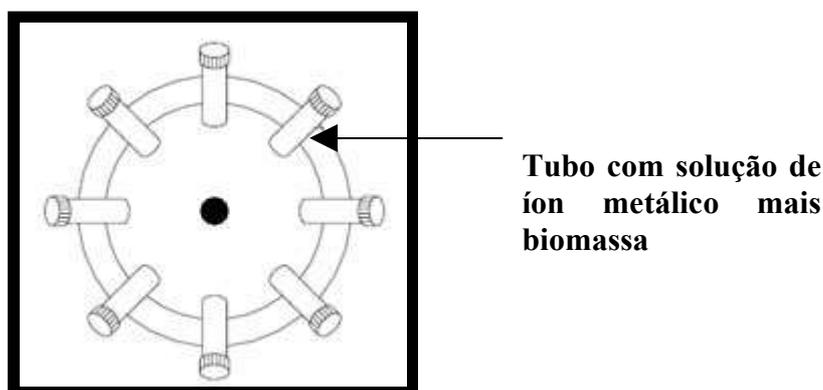


FIGURA 5 – Esquema dos tubos para a obtenção dos dados

3.2.3 - Estudo da influência da quantidade de biomassa, concentração inicial do metal na solução e temperatura sobre o processo

A bioadsorção depende de parâmetros como concentração do íon, concentração de biomassa, temperatura, pH e estado da biomassa (Kapoor & Viraraghavan, 1995).

A influência das variáveis quantidade de biomassa (B), concentração inicial de metal (C) e temperatura (T) foi estudada utilizando a técnica de planejamento fatorial, com o objetivo de avaliar as variáveis que apresentam

efeitos significativos na resposta e que podem ser ajustadas para melhorar a eficiência do processo.

Elaborou-se uma matriz de planejamento para cada tipo de metal, com as variáveis de entrada: quantidade de biomassa (B), concentração de metal (C_0) e a temperatura (T). Nesse estudo foram escolhidos os níveis para cada variável, conforme os seguintes critérios: os valores de concentração inicial de metal foram superiores aos estabelecidos pelo CONAMA (resolução 357), com o intuito de abranger uma faixa suficientemente larga de modo a contemplar diversos efluentes encontrados na indústria, como por exemplo, efluentes de indústrias de baterias que possuem níveis altíssimo de chumbo como é o caso do Grupo Acumuladores Moura S.A., com sede no estado de Pernambuco (Brasil), onde já foi encontrado concentração de 4,9 mg/L desse metal tóxico (Lisboa & Rocha, 1997). O critério utilizado para quantificar o nível (+1) foi preparar soluções com concentrações, em média, 10 vezes superiores as do nível (-1). O intervalo de temperatura representa os extremos encontrados na região Nordeste. Quanto aos níveis de concentração de biomassa, foram definidos com base em dados obtidos na literatura (Seletnia *et al.*, 2004). Os níveis utilizados para essa matriz de planejamento estão apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 – Níveis das variáveis do planejamento fatorial completo 2^3 para o chumbo e cádmio

Variáveis		Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (+1)
B _{base seca} (g)		0,0028	0,14	0,28
C ₀ (mg/L)	Cd ²⁺	0,55	2,38	4,1
	Pb ²⁺	0,44	2,97	5,5
T (°C)		27	35	43

Os valores dos dados experimentais das respostas foram ajustados por uma regressão linear através do programa computacional Statistica, versão 5.0 onde a partir dos resultados foi possível verificar a influência de cada uma das

variáveis de entrada (B, C_0 e T) sobre o sistema, e com isso a possibilidade de otimizar o processo.

3.2.4 – Avaliação do efeito do pH e estado da biomassa na biosorção

Valores muito elevados de pH tendem a danificar a estrutura do material biosorvente como também causar a precipitação dos complexos metálicos. O pH ótimo de adsorção é diferente para cada íon metálico e microrganismo estudado.

Outro fator importante no processo de biosorção de íons metálicos é o estado em que a biomassa microbiana se encontra, em função das diferenças na estrutura e composição das paredes celulares. Tanto a biomassa ativa (viva) como a inativa (morta) poderá ser utilizada nos processos de biosorção. A diferença entre a biosorção da biomassa morta ou viva pode ser evidenciada na toxidez das células microbianas provocadas pela presença dos íons metálicos (Salehizadeh & Shojaosadati, 2003). Portanto é importante estudar o estado da biomassa (viva ou morta), em função das diferenças na estrutura e composição das paredes celulares dos biosorventes, visto que interfere no processo de biosorção. O tratamento de morte e subseqüentes alterações da parede celular podem afetar positiva ou negativamente a eficiência da biosorção.

O efeito do pH e do estado da biomassa (viva ou morta) sobre a bioadsorção dos íons metálicos em estudo foram avaliados através da elaboração de dois planejamentos fatoriais completos 2^2 . Nos experimentos variou-se o pH entre 2,0 e 6,0 e a biomassa entre viva ou morta, enquanto que as outras variáveis do sistema foram mantidas constantes em duas condições: minimizada e maximizada. As condições das variáveis: concentração inicial do íon metálico (C_0), quantidade de biomassa (B) e temperatura (T) foram: 0,4 mg/L, 1 g e 30°C para o primeiro planejamento (condições minimizadas) e 4 mg/L, 0,01g e 30°C para o segundo (condições maximizadas), respectivamente encontradas em trabalho anterior (Ferreira *et al.*, 2004). As condições minimizadas e maximizadas correspondem a menor e maior valor de q na faixa estudada.

Na Tabela 8 é possível verificar os níveis das variáveis do planejamento fatorial completo 2^2 para os íons metálicos.

TABELA 8 – Níveis das variáveis do planejamento fatorial completo 2^2

Variáveis	Nível (-1)	Nível (+1)
pH	2	6
Tipo de biomassa	morta	viva

Foram utilizadas soluções de hidróxido de sódio (0,1 M) e ácido clorídrico (0,1 M) para ajustar o pH no valor desejado. O controle do pH foi feito durante todo o ensaio, com medidas realizadas, aproximadamente, a cada 2 horas em um pHmetro da marca Tecnal.

3.2.5 - Estudo da Capacidade máxima de biosorção dos íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*

O estudo do equilíbrio foi realizado por método estático (Figura 6), utilizando-se efluentes sintéticos para determinação do efeito da concentração do metal na quantidade de íon metálico bioadsorvido.

As condições experimentais adotadas para a obtenção das isotermas foram: temperatura constante em 35 °C, pH 6, concentração de biomassa igual a 0,01 g , uma vez que foi verificado em trabalhos anteriores (Ferreira, 2004 e Del Rio, 2004) que a interação entre a bioadsorção e a concentração de biomassa pode apresentar efeitos antagônicos, assim podendo encontrar maiores remoções de íons metálicos com o emprego de pequenas quantidades de biomassa. As concentrações iniciais dos íons metálicos variaram de 1,5 a 112,2 mg/L para Cd^{2+} e de 0,36 a 79 mg/L para Pb^{2+} com a biomassa inativa. Nessa etapa também foram realizados ensaios com leveduras inativas imobilizadas com o intuito de comparar a capacidade de remoção das leveduras em dois estados diferentes.

A mistura (solução de íons metálicos mais a biomassa) foi mantida na estufa por um período de 72 horas. As concentrações finais do íon metálico

presente nas amostras foram analisadas e quantificadas com o auxílio do Polarógrafo e a quantidade adsorvida foi calculada utilizando-se a Equação 1.

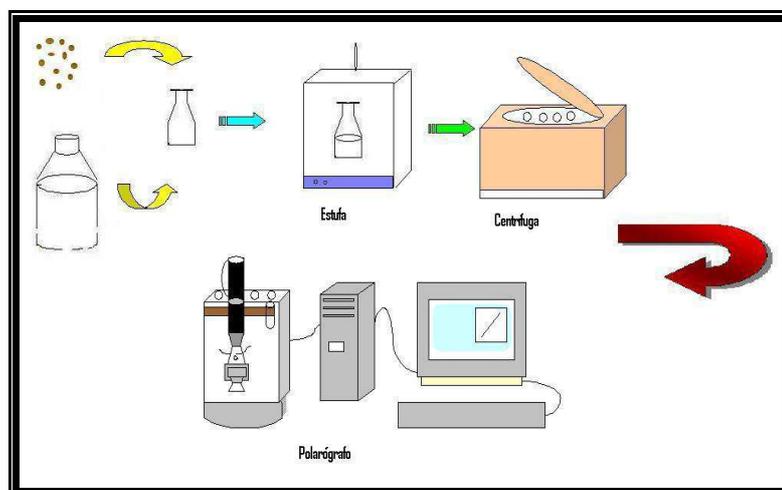


FIGURA 6 - Modelo experimental do estudo do equilíbrio pelo método estático

3.2.6 – Caracterização dos Grupos Funcionais da *Saccharomyces cerevisiae*

O fenômeno de biossorção ocorre devido à presença de diversos grupos funcionais que constituem a biomassa.

Os grupos funcionais existentes na parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, responsáveis pela afinidade entre os íons metálicos foram analisados e identificados através da técnica de espectroscopia no infravermelho. A espectroscopia no infravermelho é uma técnica aplicada para determinação quali-quantitativa de espécies moleculares de todos os tipos.

A estrutura da superfície do biosorvente foi analisada pelo espectrofotômetro de infravermelho tipo Bomem, com varredura de 4000-400 cm^{-1} do Centro de Ciências Exatas da Natureza (CCEN) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). A análise foi realizada utilizando-se 1 mg da levedura viva e 1 mg da morta, mais 50 mg de KBr, para a preparação da pastilha. Os dados foram analisados com o auxílio do programa Origin 6.0 que transforma os valores obtidos em gráficos facilitando a interpretação.

3.2.7 – Testes Preliminares de Funcionamento da Coluna de Leito Fixo

O desenvolvimento de uma tecnologia competitiva para a recuperação de metais pesados depende de uma série de fatores relacionados às características da biomassa e ao sistema operacional.

Foi montado um sistema de leito fixo convencional (Figura 7) composto de uma coluna de vidro com altura de 30 cm e diâmetro interno de 2,94 cm, na qual partículas da biomassa eram colocadas em contato com a solução sintética contendo íons metálicos.

Inicialmente tentou-se fazer um estudo hidrodinâmico do leito fixo utilizando como recheio a levedura livre (*in natura* e morta), mas observou-se que a biomassa, mesmo passando por uma etapa de secagem, se aderiu nas paredes da coluna, dificultando assim a passagem do fluido e empacotando todo o leito. Diante dessa dificuldade foi necessário utilizar a levedura imobilizada para facilitar a passagem do fluxo dentro do leito.

Para verificar o funcionamento da coluna de leito fixo utilizando a biomassa *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada, foi realizado um teste com uma solução sintética contendo íons de chumbo a uma concentração inicial de 59 mg/L. No topo da coluna foram coletadas amostras de 10 ml da solução a cada 10 segundos até atingir um tempo final de 120 segundos. Em seguida as amostras coletadas foram analisadas e quantificadas, através do Polarógrafo modelo MDE 150 da marca Radiometer Analytical (Figura 4). O sistema operou com uma vazão de 2,5 cm³/s, baseado nos dados de Santos (2005) que estudou no mesmo equipamento a adsorção de contaminantes orgânicos com diversos tipos de biomassas celulósicas.

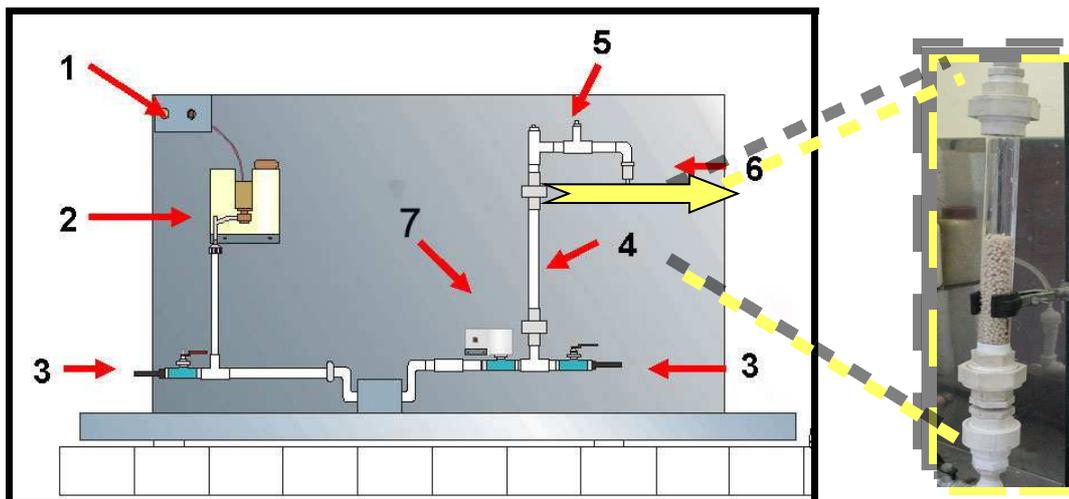


FIGURA 7 – Coluna de Leito Fixo

A Figura 7 mostra o esquema do equipamento onde:

1. Válvula de controle de vazão
2. Tanque de armazenamento
3. Válvulas para a retirada da emulsão remanescente
4. Coluna de leito fixo
5. Recipiente para a retirada de alíquotas
6. Saída da solução do leito fixo
7. Válvula de regulagem fina que impede a passagem da emulsão antes do experimento

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos ao longo da pesquisa referentes ao estudo preliminar para verificação da potencialidade de bioadsorção dos íons Cd^{2+} e Pb^{2+} pela *Saccharomyces cerevisiae*, estudo da cinética da bioadsorção, à influência da concentração dos íons metálicos, quantidade de biomassa, temperatura, pH e estado da biomassa nesse processo. Também serão mencionados resultados correspondentes ao teste preliminar da coluna de leito fixo e a caracterização dos grupos funcionais presentes na biomassa.

4.1 - Estudo Preliminar

Esta etapa do trabalho teve o objetivo de verificar se a biomassa *Saccharomyces cerevisiae* possuía potencial de adsorver os íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} . Esse estudo foi realizado em duas temperaturas (25 °C e 30 °C) e o tempo final de coleta das amostras foi de 72 h. A quantidade de biomassa utilizada foi de 5 g.

As Figuras 8 e 9 apresentam os resultados experimentais da quantidade adsorvida dos íons por quantidade de biomassa referentes aos ensaios preliminares com 5 g de levedura.

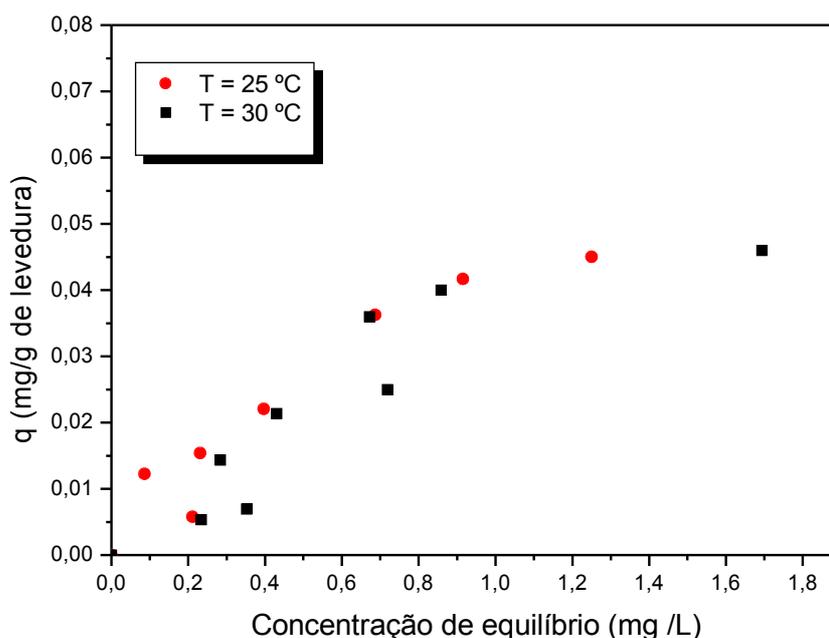


FIGURA 8 – Isoterma de adsorção do íon Cd^{2+} nos ensaios preliminares

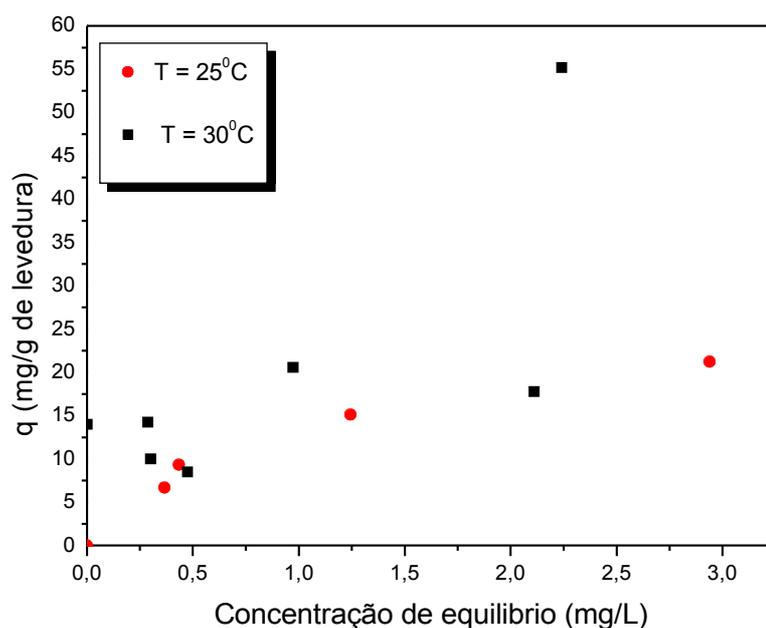


FIGURA 9 – Isoterma de adsorção de íon Pb^{2+} nos ensaios preliminares.

Nestes ensaios preliminares foram obtidos valores de q_{max} bem inferiores aos encontrados por Barros Junior (2001). O autor trabalhou com o fungo *Aspergillus niger* como adsorvente na remoção de íons de cádmio e quantidade de biomassa variando de 0,03 a 0,05g, obtendo valor médio de q_{max} de 20 mg g⁻¹. A discrepância, pode ser atribuída a uma maior capacidade de adsorção da biomassa utilizada por Barros Junior (2001); pode também estar associada aos níveis elevados da relação biomassa/adsorbato utilizados no presente trabalho. Kok *et al.* (2001) observaram que a quantidade adsorvida por unidade de massa pelo fungo *Aspergillus flavus* de íons de cádmio diminui com o aumento da quantidade de biomassa, fato esse também observado por Albertini *et al* (2001) que utilizando 1g da biomassa *Saccharomyces cerevisiae* na adsorção de íons de Cd^{2+} encontraram valor máximo de adsorção igual a 0,98 mg g⁻¹.

A quantidade de biomassa é um fator importante, porque se estiver em excesso, poderá dar resultados anômalos de capacidade de adsorção aparentemente muito baixas. Segundo Del Rio (2004) a interação entre a biossorção e a concentração de biomassa pode apresentar efeitos antagônicos, portanto pode acontecer de menores remoções de íons metálicos

com a utilização de grandes quantidades de biomassa devido às interações eletrostáticas dos grupos funcionais na superfície celular, diminuindo a área celular superficial da biomassa em contato com a solução de sal.

4.2 – Cinética da bioadsorção através da *Saccharomyces cerevisiae*

Através do estudo preliminar de adsorção dos metais Cd^{2+} e Pb^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* e observando-se a literatura (Lamai *et al.*, 2005), fixou-se o tempo de 72 h, considerando que este tempo seria suficiente para alcançar o equilíbrio quando utilizando o processo estático. Na segunda etapa do estudo da cinética, quando se utilizou o processo dinâmico com tanques agitados, fixou-se o tempo de 120 min (Dursun, 2003).

Este estudo teve por objetivo determinar o tempo de contato necessário para que o equilíbrio entre a biomassa e a solução de íon metálico fosse atingido, ou seja, verificar se o tempo fixado seria suficiente para alcançar o equilíbrio do sistema. O estudo do processo em batelada foi realizado com concentrações iniciais para íon metálico Cd^{2+} de 0,435; 2,47 e 4,5 mg/L e para o íon metálico Pb^{2+} de 0,282 e 3,4 mg/L, a temperatura de 35 °C utilizando 0,01 g da levedura *in natura*. O processo dinâmico foi realizado com concentrações iniciais para íon metálico Cd^{2+} de 0,39 e 4,72 mg/L e para o íon metálico Pb^{2+} de 0,48 e 1,61 mg/L, a temperatura de 35 °C utilizando 0,01 g da levedura imobilizada.

As Figuras 10 e 11 apresentam os resultados obtidos para a biomassa *in natura* em concentrações iniciais distintas dos dois íons metálicos no processo batelada.

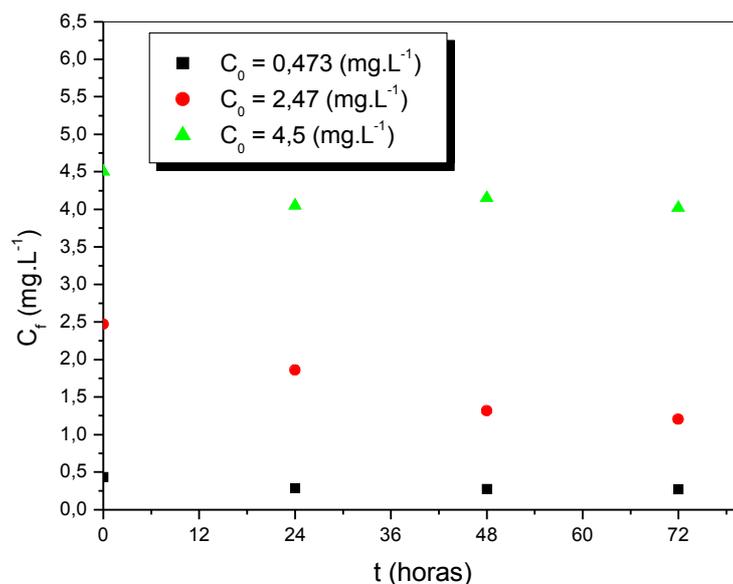


FIGURA 10 – Cinética estática de bioadsorção do íon metálico Cd²⁺ pela levedura *Saccharomyces cerevisiae in natura* (T = 35°C).

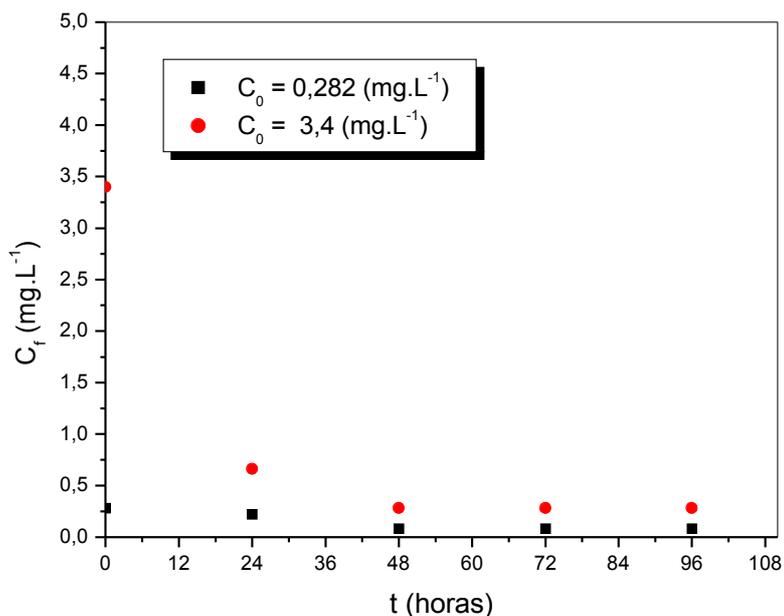


FIGURA 11 – Cinética estática de bioadsorção do íon metálico Pb²⁺ pela levedura *Saccharomyces cerevisiae in natura* (T = 35°C).

As Figuras 12 e 13 apresentam os resultados obtidos no processo de adsorção com tanques agitados e biomassa imobilizada no intervalo de tempo de 120 min.

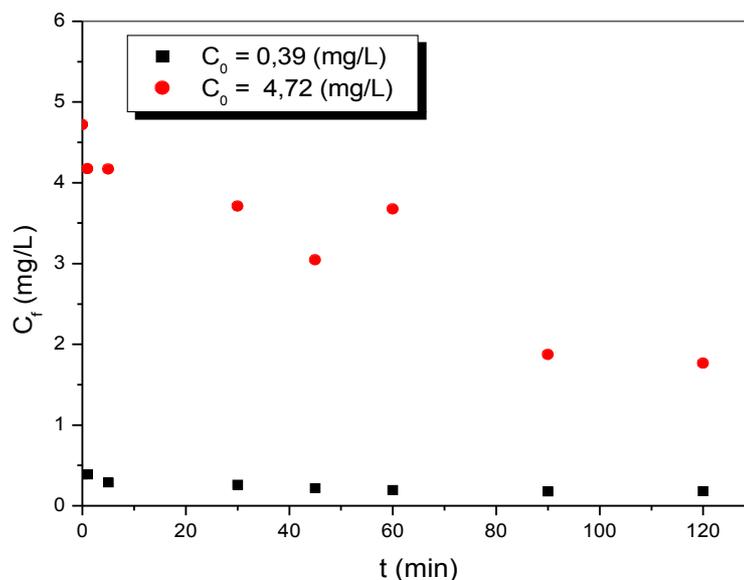


FIGURA 12 – Cinética de bioadsorção do íon metálico Cd^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada ($T = 35^{\circ}\text{C}$) no processo de tanques agitados.

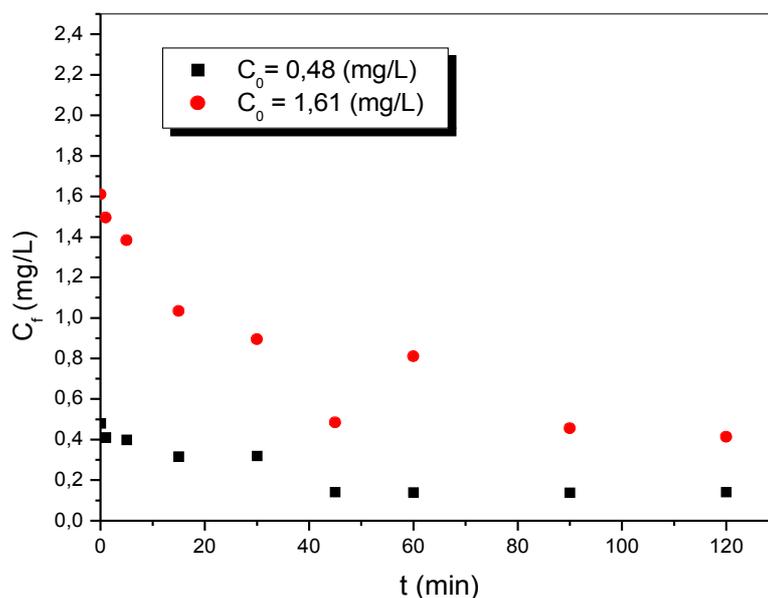


FIGURA 13 – Cinética de bioadsorção do íon metálico Pb^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada ($T = 35^{\circ}\text{C}$) no processo de tanques agitados.

É possível verificar pelos resultados obtidos que, independentemente da concentração inicial, o tempo necessário para atingir o equilíbrio em condições estáticas (Figuras 10 e 11) foi de 48 h. O tempo de contato de 72 horas,

definido na metodologia para o levantamento das isotermas foi mais que suficiente para que o sistema alcançasse o equilíbrio.

Embora alguns processos industriais utilizem condições estáticas, a grande maioria dos sistemas de tratamento de efluentes opera em condições dinâmicas, onde os tempos de processamento são bem menores, fato esse que pode ser observado nas Figuras 12 e 13 onde a partir de 90 min não ocorre mais alteração no valor da concentração final dos dois íons metálicos, portanto, sendo este tempo suficiente para o sistema alcançar o equilíbrio num sistema operando em condições dinâmicas e nas respectivas condições de processo.

4.3 – Efeitos da quantidade de biomassa, concentração inicial do metal na solução e temperatura

Com a utilização do planejamento experimental fatorial foi possível fazer um estudo mais abrangente das variáveis independentes, realizando de maneira mais organizada uma quantidade mínima de experimentos (Box *et al.*, 1978; Barros Neto *et al.*, 1995). Foram realizados 11 ensaios para os metais em estudo, sendo 3 deles repetições no ponto central.

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos do planejamento com a resposta (quantidade adsorvida por unidade de massa do adsorvente) em cada combinação de níveis para as variáveis: quantidade de biomassa, concentração de metal e temperatura.

A partir dos resultados obtidos nos planejamentos foi realizada uma regressão linear, dos dados experimentais. Sua aplicação permite selecionar a combinação de níveis maximizados na obtenção da melhor resposta para cada situação.

TABELA 9 - Matriz do Planejamento experimental fatorial 2³ para os íons de cádmio e chumbo

Quantidade de Biomassa (g)	Concentração de metal (mg/L)	Temperatura (°C)	q (mg de íons metálicos/g de levedura)	
			Cd ²⁺	Pb ²⁺
+1	+1	+1	0,870	1,830
+1	+1	-1	0,873	1,960
+1	-1	+1	0,240	0,160
+1	-1	-1	0,058	0,053
-1	+1	+1	53,60	160,14
-1	+1	-1	43,78	159,46
-1	-1	+1	0,68	15,71
-1	-1	-1	0,46	12,64
0	0	0	0,37	1,390
0	0	0	0,46	1,460
0	0	0	0,26	1,920

Os modelos codificados da regressão com apenas os coeficientes estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança, dos dados experimentais, para os íons de cádmio e de chumbo estão representados nas Equações 6 e 7 respectivamente:

$$q = 9,24 - 12,06B + 12,2 C - 11,9BC \quad (6)$$

$$q = 32,28 - 43,2B + 36,65C - 36,2BC - 0,68BT - 0,53CT \quad (7)$$

Na Tabela 10 encontram-se os parâmetros da análise de variância (ANOVA) para os dois íons metálicos nas condições maximizadas e minimizadas.

TABELA 10 - Análise da variância para o ajuste do modelo linear (ANOVA) para os dois íons metálicos

	Cd ²⁺	Pb ²⁺
% variância explicada	90,3	90,3
Coefficiente de correlação	0,95	0,95
Teste F (calculado)	21,8	9,3
F tabelado para 95% de confiança	4,4	5,05
F calculado/F tabelado	5,0	1,84

Pela Tabela 10 observa-se que os coeficientes de correlação foram de aproximadamente 0,95 para ambos os metais. O coeficiente de correlação indica a comparação da variância dos pontos experimentais em relação ao modelo ajustado. Com relação ao teste F, verificou-se que o modelo é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, pois o $F_{\text{calculado}}$ foi maior que o F_{tabelado} para os dois metais (Barros Neto et al., 1995).

As superfícies de resposta foram construídas para todas as possíveis combinações de variação de duas variáveis, mantendo a outra fixada. Nas Figuras 14, 15, 16 e 17 são apresentados os gráficos referentes às superfícies de resposta do planejamento realizado para os íons metálicos Cd²⁺ e Pb²⁺ respectivamente.

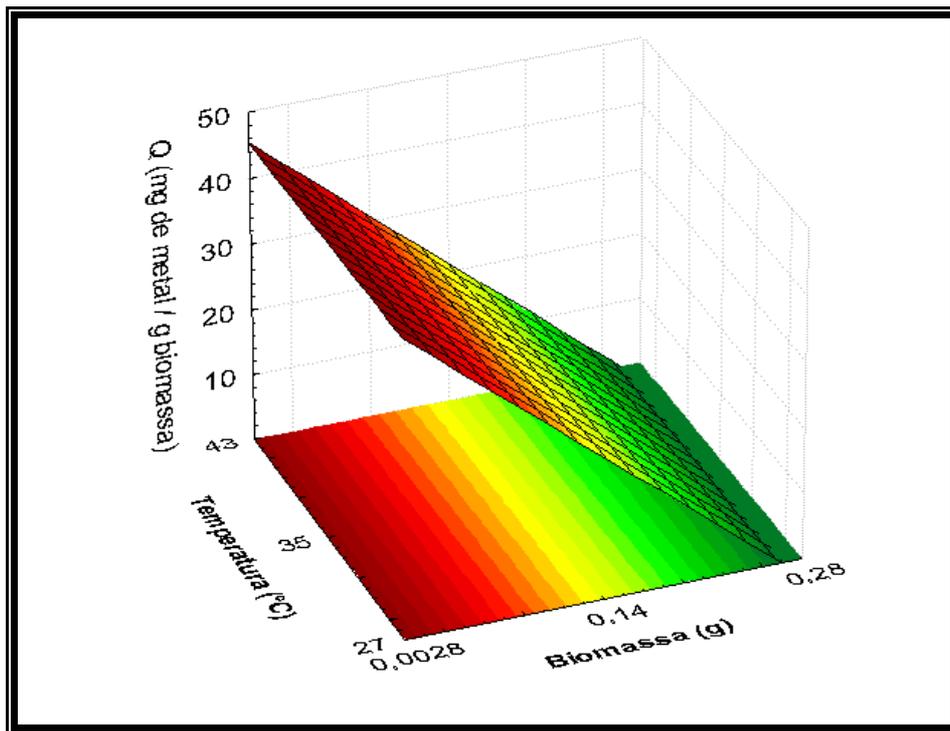


FIGURA 14 – Efeito da quantidade de biomassa e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons Cd^{2+} .

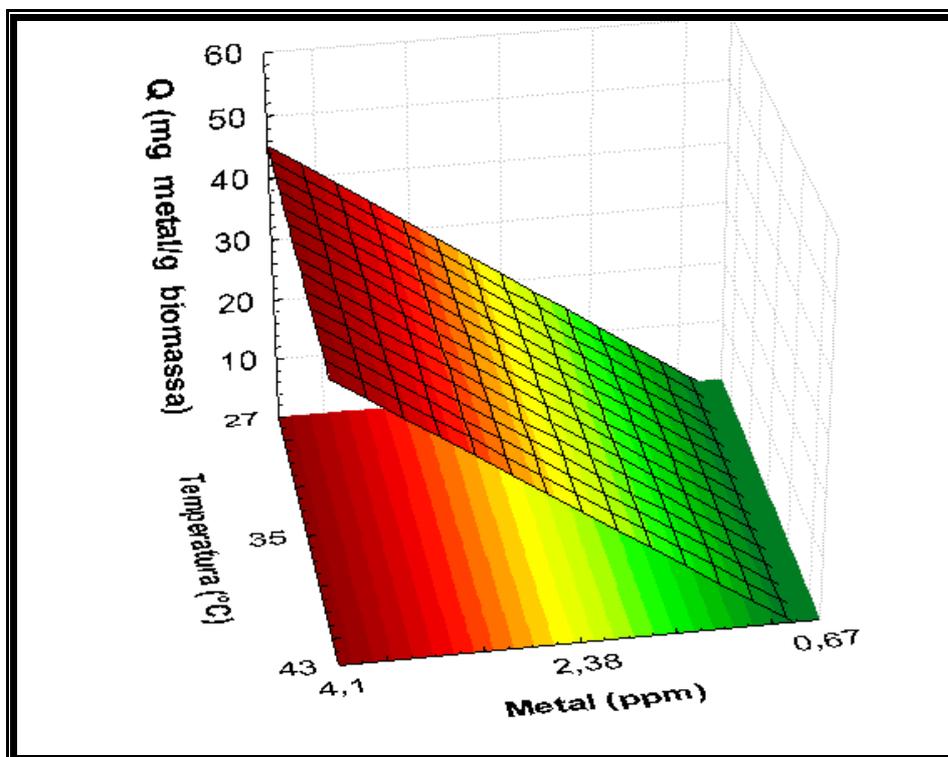


FIGURA 15 – Efeito da concentração e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons de Cd^{2+} por unidade de massa do adsorvente.

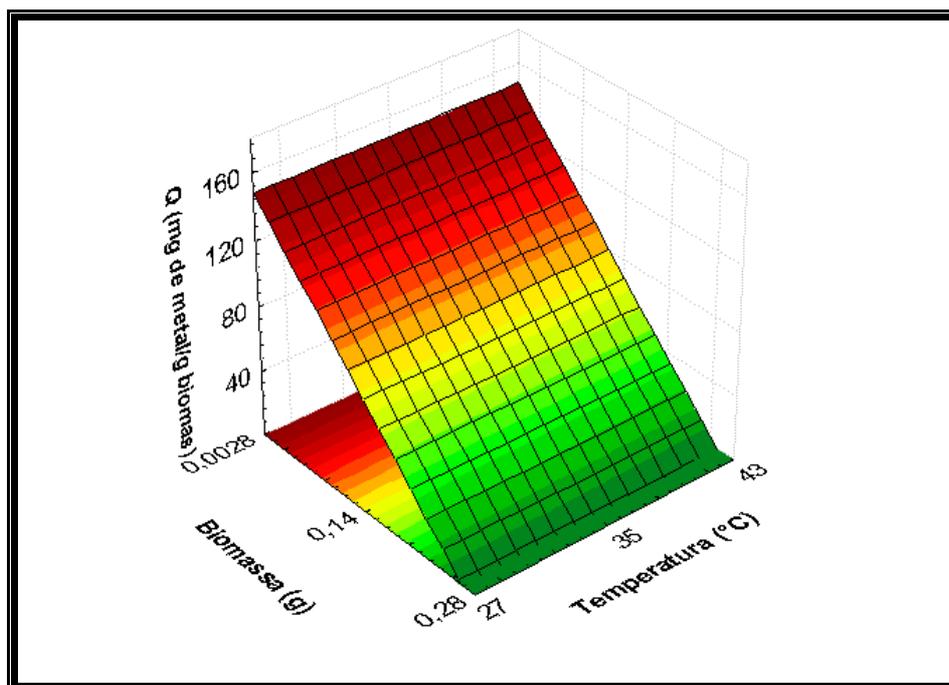


FIGURA 16 – Efeito da quantidade de biomassa e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons de Pb^{2+} por unidade de massa do adsorvente

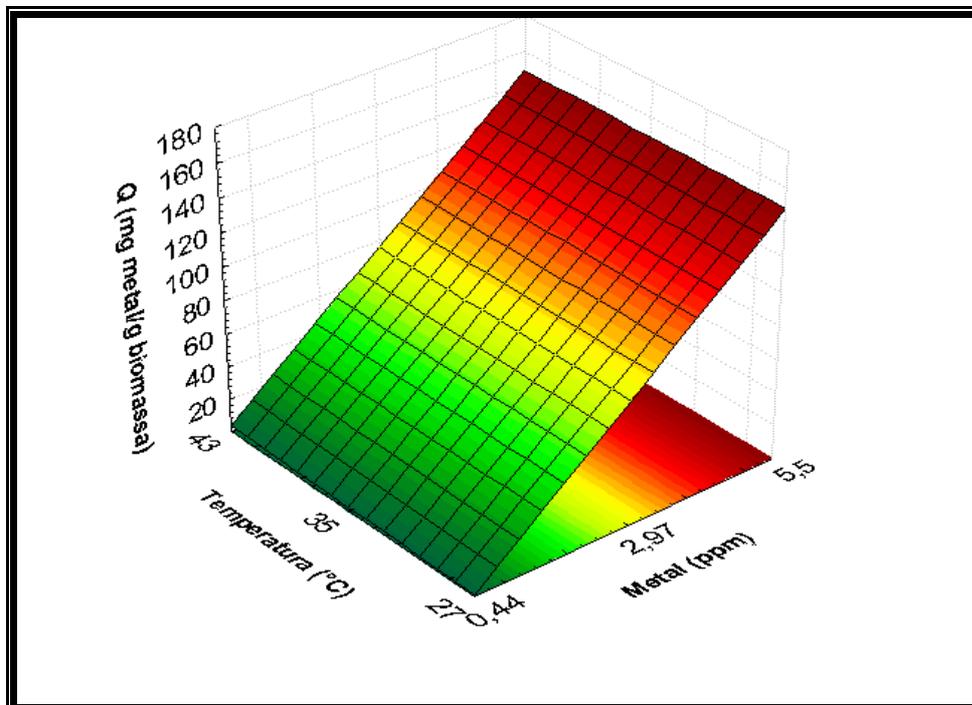


FIGURA 17 – Efeito da concentração do metal e da temperatura sobre a quantidade adsorvida de íons de Pb^{2+} por unidade de massa do adsorvente

Através das Figuras 14, 15, 16 e 17 pode-se verificar que com a diminuição da quantidade de biomassa e aumento da concentração inicial do metal aumenta-se o valor da quantidade de metais adsorvidos por unidade de massa de adsorvente, obtendo-se valores de q de aproximadamente 45mg g^{-1} e até 160mg g^{-1} em base úmida, nas condições operacionais estudadas neste trabalho para os íons metálicos Cd^{2+} e o Pb^{2+} respectivamente.

4.3 - Efeito do pH e estado da biomassa na bioadsorção

O efeito do pH e as condições da biomassa podem afetar a sorção dos íons metálicos. O pH ótimo de adsorção é diferente para cada metal e microrganismo estudado, ele afeta a especiação do íon metálico na solução, ocorrendo um decréscimo de solubilidade dos complexos metálicos com o seu aumento. Nesse sentido foi realizado um estudo com auxílio do planejamento experimental fatorial, para verificar o efeito do pH e da viabilidade da biomassa (morta e viva) no processo de bioadsorção dos íons Cd^{2+} e Pb^{2+} pela *Saccharomyces cerevisiae*.

Com os dados obtidos através dos planejamentos fatoriais realizou-se uma regressão linear dos dados experimentais. As Equações 8, 9, 10 e 11 apresentam os modelos codificados das regressões dos dados experimentais para o cádmio e o chumbo, respectivamente, nas condições estudadas. Estão apresentados nessas equações apenas os coeficientes estatisticamente significativos, ao nível de 95% de confiança.

➤ Cádmio

– **Maximizado:**

$$q = 117,9 - 10,13\text{pH} - 15,27\text{pH B} \quad (8)$$

– **Minimizado:**

$$q = 0,076 + 0,039\text{pH} \quad (9)$$

➤ Chumbo

– Maximizado:

$$q = 93,99 + 23,76\text{pH} + 29,61\text{B} - 31,48\text{pH B} \quad (10)$$

– Minimizado:

$$q = 0,046 + 0,018\text{pH} \quad (11)$$

Na Tabela 11 encontram-se os resultados obtidos do primeiro e segundo planejamento fatorial elaborado, para os íons metálicos, com a resposta (quantidade adsorvida) em cada combinação de níveis das variáveis de entrada.

TABELA 11 - Matriz dos planejamentos experimentais fatorial 2^2 para os íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} – condições das variáveis fixas minimizadas (Min) e maximizadas (Max)

pH	B	q (mg de íons metálicos/g de levedura)			
		Cd^{2+}		Pb^{2+}	
		Min	Max	Min	Max
- 1 (2)	-1 (morta)	0,029	107,39	0,029	12,23
+ 1(6)	-1 (morta)	0,130	118,32	0,06	119,93
- 1 (2)	+1 (viva)	0,016	146,41	0,026	138,48
+ 1(6)	+1 (viva)	0,097	105,29	0,06	115,43
- 1 (2)	-1 (morta)	0,041	109,48	0,03	6,035
+ 1(6)	-1 (morta)	0,125	119,10	0,085	119,31
- 1 (2)	+1 (viva)	0,061	148,83	0,026	124,16
+ 1(6)	+1 (viva)	0,107	88,33	0,051	116,31

A Tabela 12 mostra os parâmetros da análise de variância (ANOVA) para o Cd^{2+} e Pb^{2+} nas condições minimizadas e maximizadas respectivamente.

TABELA 12 - Análise da variância para o ajuste dos modelos lineares (ANOVA) para os íons Cd^{2+} e Pb^{2+} nas condições minimizadas (Min) e (Max)

	Cd^{2+}		Pb^{2+}	
	Min	Max	Min	Max
% variância explicada	91,79	90,00	98,00	99,37
Coefficiente de correlação	0,958	0,950	0,989	0,997
Teste F (calculado)	14,9	22,5	294,7	212,2
F tabelado para 95% de confiança	6,59	5,79	5,99	6,59
F calculado/F tabelado	2,3	3,88	49,20	32,20

Observando-se os valores encontrados na Tabela 12 verifica de acordo com o teste F que, os modelos são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança, e são altamente preditivos, pois o $F_{\text{calculado}}$ foi maior que o valor de F_{tabelado} para ambas as condições (Box, 1978).

Sendo os modelos codificados (Equações 8 a 11) estatisticamente significativos, pode-se construir superfícies de resposta para verificar faixas das variáveis de entrada em estudo que maximizem a quantidade adsorvida dos íons metálicos.

As superfícies de resposta dos dois planejamentos fatorial experimental 2^2 realizados estão apresentadas nas Figuras 18 e 19 para o íon metálico de Cd^{2+} e Figuras 20 e 21 para o íon metálico de Pb^{2+} .

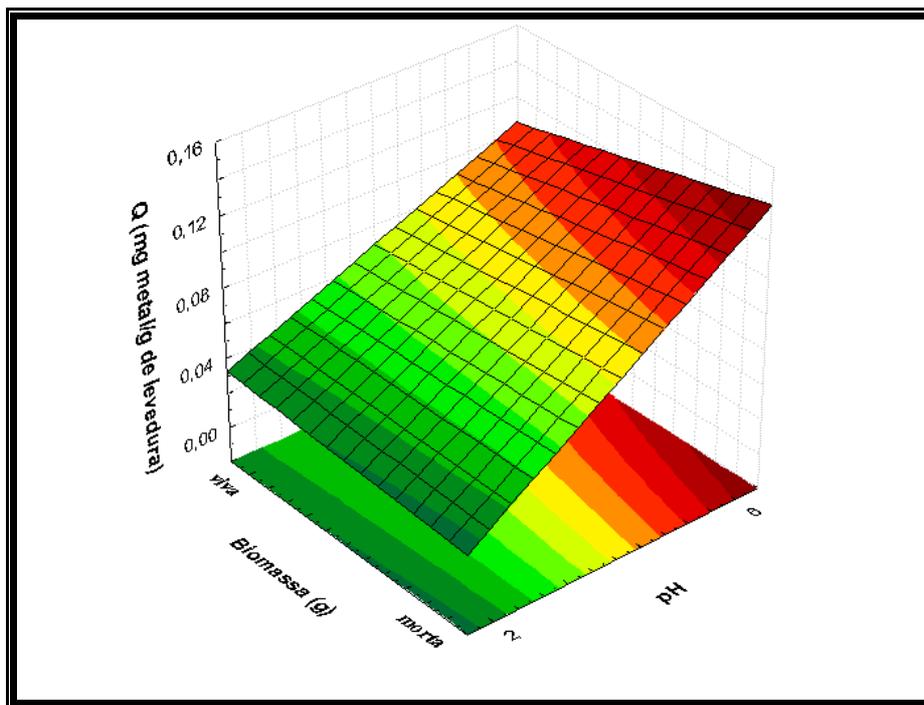


FIGURA 18 - Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Cd^{2+} na condição minimizada

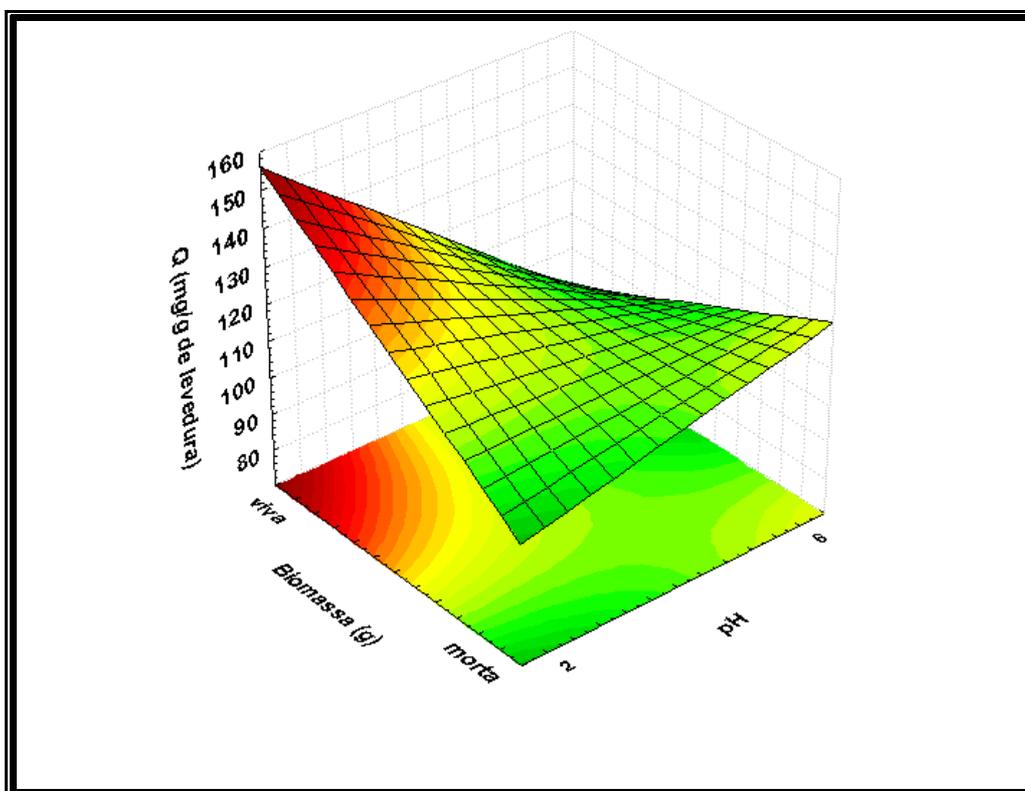


FIGURA 19 - Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Cd^{2+} na condição maximizada

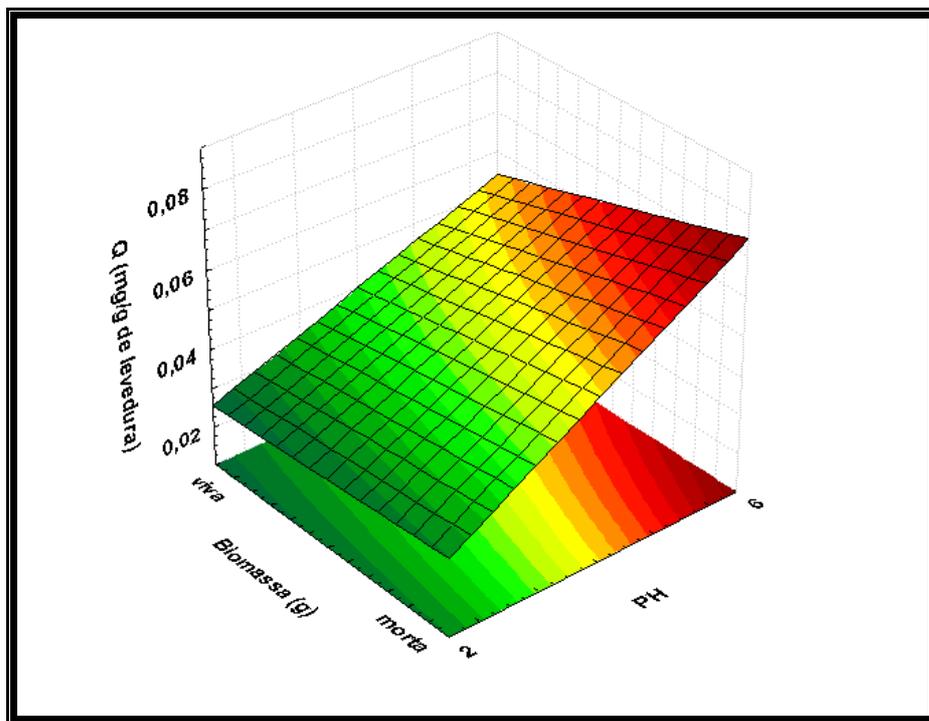


FIGURA 20 - Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Pb^{2+} na condição minimizada

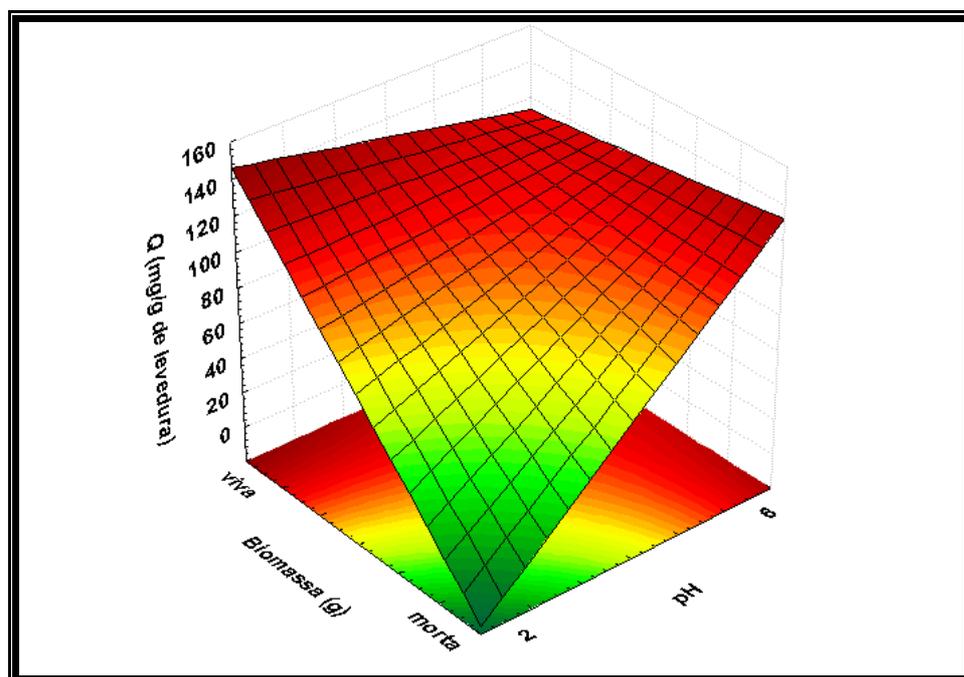


FIGURA 21 - Efeito do pH e tipo de biomassa sobre a quantidade adsorvida do íon metálico Pb^{2+} na condição maximizada

Analisando-se as Figuras 18 e 19 pode-se observar que com o aumento do pH de 2 para 6 e com a levedura morta obtém-se valores máximos de

quantidade adsorvida do íon metálico. Na Figura 19, verifica-se que com o pH igual a 2 e com a levedura viva o valor de q foi de aproximadamente 160 mg g^{-1} . Observando a Figura 20 percebe-se que com o aumento do pH de 2 para 6 e com a levedura no estado morta a quantidade adsorvida de íons de chumbo (q) foi de aproximadamente $0,06 \text{ mg g}^{-1}$ de levedura já na Figura 21 observa-se que, nas condições maximizadas estudadas, a maior quantidade adsorvida de chumbo (aproximadamente 140 mg g^{-1}) pela *Saccharomyces cerevisiae* se encontra na região onde o pH é igual a 2 e com a biomassa viva.

De acordo com estes resultados pode-se observar que o efeito das variáveis: quantidade de biomassa e concentração inicial de íons metálicos foram mais significativos quando comparado com o efeito do pH nas condições operacionais estudadas neste trabalho, fato esse que pode ter provocado o mascaramento do efeito do pH, que é uma variável importante no processo de bioissorção, mas que devido ao elevado efeito apresentado das variáveis B e C₀ nesse estudo apresentou efeitos aparentemente discretos e irrelevantes.

4.4 – Estudo da capacidade máxima de bioissorção dos íons metálicos Cd²⁺ e Pb²⁺ pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Diante dos resultados obtidos, foi possível verificar, na faixa estudada, que quanto menor a quantidade de biomassa maior a quantidade adsorvida do íon metálico, por unidade de massa do adsorvente, ou seja, um aumento no valor de q . Foi observado também que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta uma boa capacidade de adsorver os íons Cd²⁺ e Pb²⁺, quando comparada com outros tipos de biomassas já estudadas e encontradas na literatura (Tobin *et al.* 1984 e Basso *et al.*, 2002).

Em função dos dados apresentados nos testes preliminares e nos planejamentos fatoriais elaborados foram construídas isotermas para representar os dados de equilíbrio na bioissorção dos íons metálicos Cd²⁺ e Pb²⁺. Para o ajuste dos dados experimentais foram utilizados os modelos de Langmuir e Freundlich.

Os estudos das isotermas, para os dois íons metálicos, foram realizados fixando-se em aproximadamente $0,01 \text{ g}$ a quantidade de biomassa inativa

(base úmida). O sistema em batelada foi mantido a uma temperatura de 35 °C e pH 6.

Nessa etapa experimental foi também realizado um estudo comparativo entre a capacidade de adsorção da levedura inativa livre e com imobilização.

As Figuras 22, 23, 24 e 25 representam as isotermas do equilíbrio e os modelos aplicados para os íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} respectivamente.

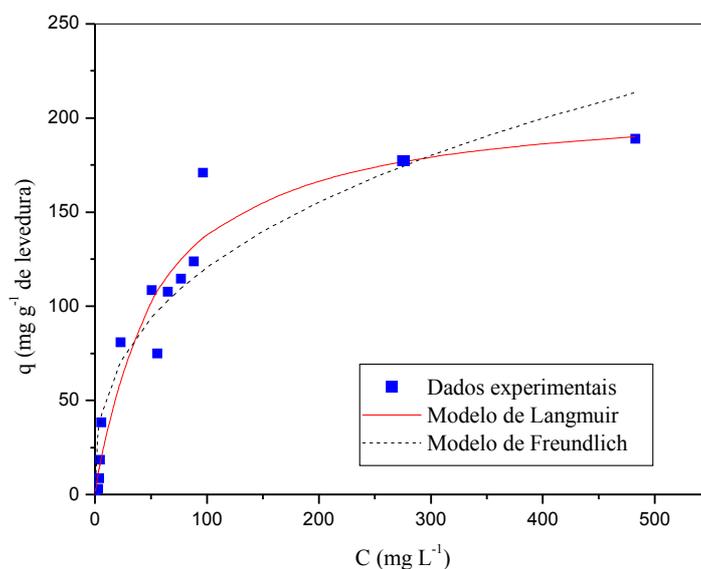


FIGURA 22 - Isotermas na temperatura de 35 °C para o íon metálico Cd^{2+} , em pH 6, utilizando a levedura morta (inativa)

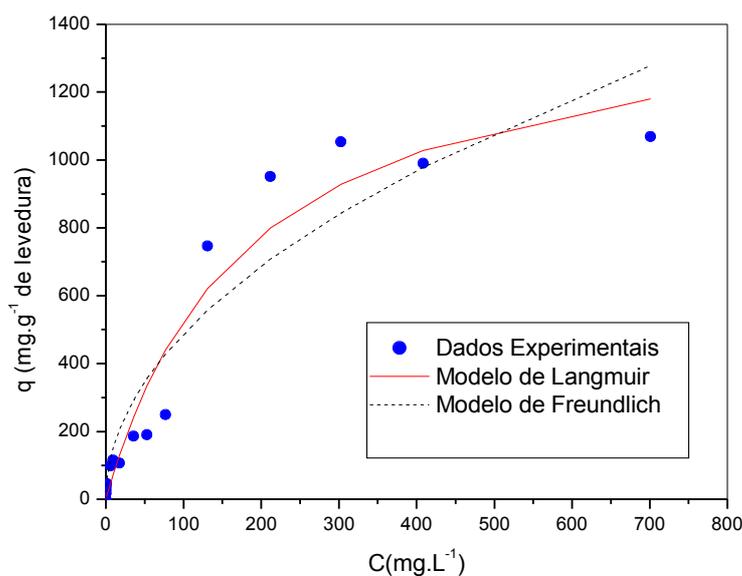


FIGURA 23 - Isotermas na temperatura de 35 °C para o íon metálico Pb^{2+} , em pH 6, utilizando a levedura morta (inativa)

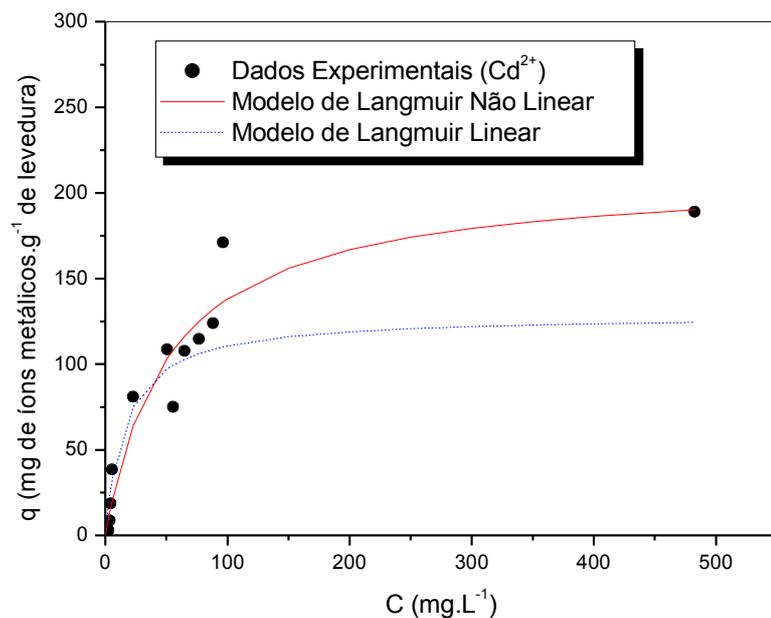


Figura 24 - Isotermas de adsorção do íon Cd^{2+} ajustadas pelo modelo de Langmuir não linear e linear utilizando a levedura morta ($T=35^{\circ}\text{C}$ e $\text{pH} = 6$)

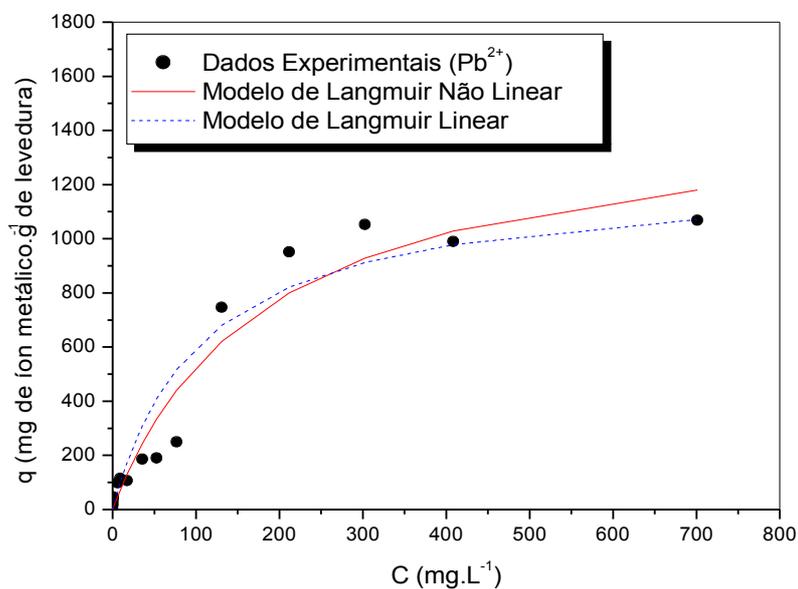


Figura 25 - Isotermas de adsorção do íon Pb^{2+} ajustadas pelo modelo de Langmuir não linear e linear utilizando a levedura morta ($T=35^{\circ}\text{C}$ e $\text{pH} = 6$)

Através das Figuras 22 e 23 é possível verificar que as isotermas são do tipo I de classificação BET, atingindo saturação para altas concentrações de Cd^{2+} e Pb^{2+} . Os modelos de Langmuir linearizado foram aplicados para os dados experimentais das isotermas dos íons Cd^{2+} e Pb^{2+} (Figuras 24 e 25). Observou-se que o modelo linearizado de Langmuir apresentou um péssimo ajuste com o íon Cd^{2+} (Figura 24), por outro lado quando se aplicou o modelo linear para o íon de Pb^{2+} (Figura 25) verificou-se que quando comparado com os dados experimentais, ou seja, observando-se na Figura 25, verifica-se que os 4 últimos pontos experimentais de q (quantidade adsorvida por unidade de massa do bioissorvente), valores acima de 200 mg/L de concentração de equilíbrio, estão praticamente no patamar de saturação, sendo em média de 1050,00 mg g⁻¹. O modelo de Freundlich linear não foi apresentado pois os dados obtidos não foram representativos.

As Tabelas 13 e 14 apresentam os valores das constantes do modelo de Langmuir (q_{max} e b) e do modelo de Freundlich (K e $1/n$), para os Cd^{2+} e Pb^{2+} respectivamente, as quais refletem convenientemente a natureza do material adsorvente e podem ser usados para comparar o desempenho da biossorção. O parâmetro $1/n$ encontrado na equação de Freundlich mede a intensidade pela qual a biomassa adsorve os íons metálicos. Também se encontram nas Tabelas 13 e 14 os valores referentes aos coeficientes de correlação obtidos para os dois modelos utilizados. Os parâmetros foram utilizando-se do programa Statistica versão 5.0.

TABELA 13 - Parâmetros dos modelos de Langmuir e Freundlich para o íon metálico Cd^{2+}

Modelos	Langmuir			Freundlich		
	q_{max} (mg g ⁻¹)	b (L mg ⁻¹)	R	K (L g ⁻¹)	$1/n$	R
Linear	128,60	0,061	0,87			
Não Linear	210,85	0,019	0,970	22,63	0,36	0,93

TABELA 14 - Parâmetros dos modelos de Langmuir e Freundlich para o íon metálico Pb²⁺

Modelos	Langmuir			Freundlich		
	q _{max} (mg g ⁻¹)	b (L mg ⁻¹)	R	K (L g ⁻¹)	1/n	R
Linear	1233,00	0,0094	0,91	30,60	0,57	0,95
Não Linear	1486,88	0,005 5	0,98	52,24	0,50	0,95

Pelos parâmetros apresentados nas Tabelas 13 e 14 é possível verificar que o modelo de Langmuir não linear obteve um melhor ajuste para os dois íons metálicos estudados (Cd²⁺ e Pb²⁺). A quantidade máxima adsorvida por unidade de massa do bioissorvente encontrada para o cádmio pela *Saccharomyces cerevisiae* foi de 210,85 mg g⁻¹ aplicando o modelo não linear e 128,60 mg g⁻¹ com o modelo linear, enquanto que, para o chumbo o valor máximo de q ajustado pelo modelo de Langmuir não linear foi de aproximadamente 1486,88 mg g⁻¹ e para o modelo linear foi 1233,0 mg g⁻¹, valores superiores quando comparados com outros tipos de biomassas encontradas na literatura como a alga *Sargassum sp.* (Cruz et al., 2004), o fungo *Rhizopus oligosporus* (Aloysius et al., 1999) e o *Phanerochaete chrysosporium* (Li et al., 2004) s quais apresentaram capacidades máximas de bioissorção para o cádmio de 120 mg g⁻¹, 200 mg g⁻¹ e 15,2 mg g⁻¹ respectivamente e o fungo *Streptomyces rimosus* (Selatnia et al., 2004), o *Aspergillus flavus* (Kok et al., 2002) e *Bacillus firmus* (Salehizadeh et al., 2003) com capacidades máximas de bioissorção para o chumbo de 137 mg g⁻¹, 144,5 mg g⁻¹ e 1103 mg g⁻¹ respectivamente.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* mostrou uma afinidade maior em adsorver os íons de Pb²⁺, fato esse que pode ser comprovada também pela literatura (Ferraz et al., 1999).

De acordo com Tuzun et al. (2005), para entender a razão pela qual a capacidade de bioissorção de Pb²⁺ é mais elevada do que outros íons, é necessário estudos adicionais para explicar o mecanismo de bioissorção, fato esse que ocorre não só com a *Saccharomyces cerevisiae*, mas como também em outros casos como o do fungo *Mucor rouxii* (Yan et al, 2003) que tratado com NaOH em duas condições (ativa e inativa) foi estudado na bioissorção dos íons Cd²⁺ e Pb²⁺ e tendo sido observado que com pH 6 e a biomassa em seu

estado inativa (morta) foi obtida uma capacidade máxima de adsorção equivalente a $53,75 \text{ mg g}^{-1}$ para os íons de chumbo e $20,31 \text{ mg g}^{-1}$ de íons metálicos de cádmio. Tuzun *et al.* (2005) estudando a biossorção de Cd^{2+} e Pb^{2+} pela alga *Chlamydomonas reinhardtii* conseguiram, com a biomassa inativa e pH do meio igual a 6, valores de $96,3 \text{ mg g}^{-1}$ e $42,6 \text{ mg g}^{-1}$ de capacidade máxima adsorvida para o Pb^{2+} e Cd^{2+} respectivamente. A alga *Laminaria digitata* estudada por Papageorgiou *et al* (2006) conseguiu remover $372,38 \text{ mg g}^{-1}$ de íons de chumbo e $87,39 \text{ mg g}^{-1}$ de íons de cádmio em soluções aquosas com pH 4,5.

Uma vez que a capacidade biossortiva das biomassas pode ser modificada de acordo com o estado que se encontra, as Figuras 26 e 27 apresentam a comparação entre a capacidade de biossorção dos íons metálicos utilizando a biomassa livre e imobilizada.

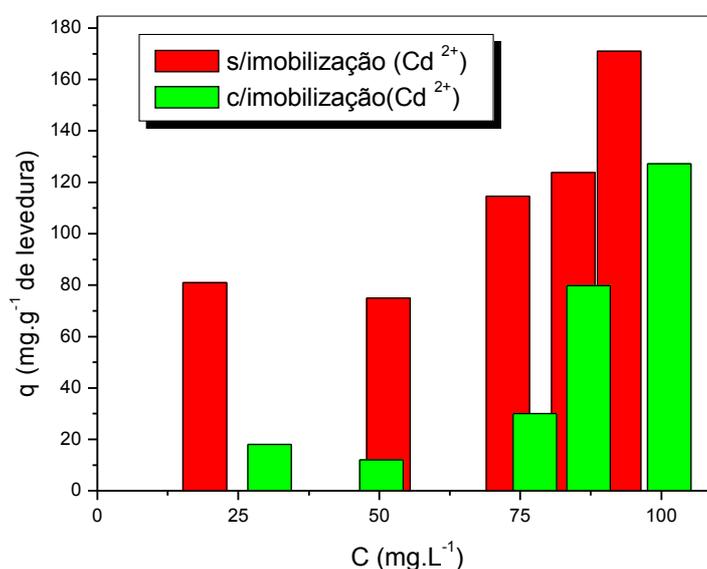


FIGURA 26 – Comparativo da quantidade adsorvida entre a levedura sem e com imobilização para os íons de Cd^{2+} a uma temperatura de 35°C e pH igual a 6

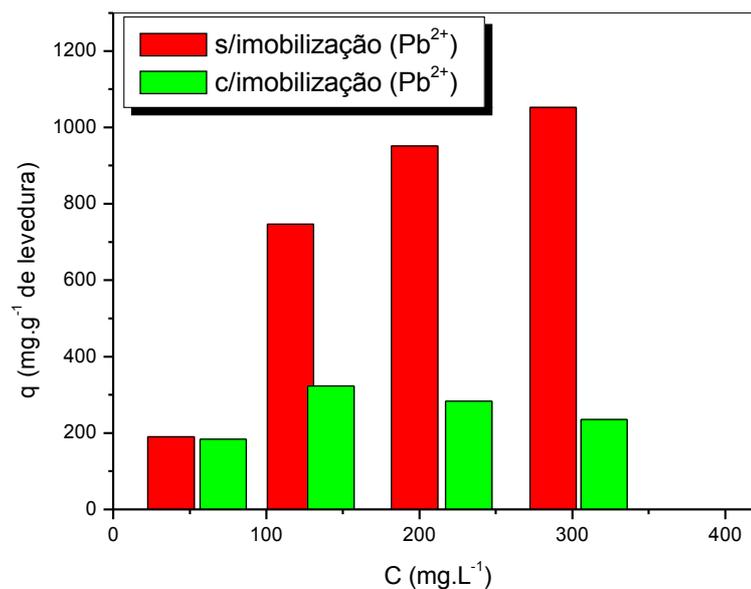


FIGURA 27 – Comparativo da quantidade adsorvida entre a levedura sem e com imobilização para os íons de Pb^{2+} a uma temperatura de $35^{\circ}C$ e pH igual a 6

Ao observar as Figuras 26 e 27 percebe-se um decréscimo referente a quantidade adsorvida por unidade de massa do biossorvente em todas as faixas de concentrações estudadas, quando utilizou-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada e comparada com a levedura livre, fato esse que pode ser atribuído a um provável baixo poder de adsorção do gel de alginato de sódio utilizado no processo para a imobilização da biomassa. Verificou-se uma redução média na eficiência de q de 78,5% para o Cd^{2+} na faixa de concentrações menores de 80 mg.L^{-1} e 73,92% para o Pb^{2+} com concentrações superiores a 150 mg.g^{-1} . Outros estudos encontrados na literatura (Tsezos & Deutschmann, 1990; Wu *et al.*, 2004) apresentam comportamentos semelhantes utilizando outros tipos de biossorventes e até outras matrizes de imobilização.

4.5 – Caracterização dos Grupos Funcionais da *Saccharomyces cerevisiae*

Com o intuito de descobrir quais funções são responsáveis pela adsorção dos íons metálicos chumbo e cádmio utilizando-se a *Saccharomyces cerevisiae* foi realizada uma análise por espectrofotometria infravermelho da biomassa no estado viva e morta. A espectrometria na região do infravermelho é uma técnica normalmente utilizada para identificar a presença de grupos funcionais. Na Figura 28 é possível verificar o resultado dessa análise.

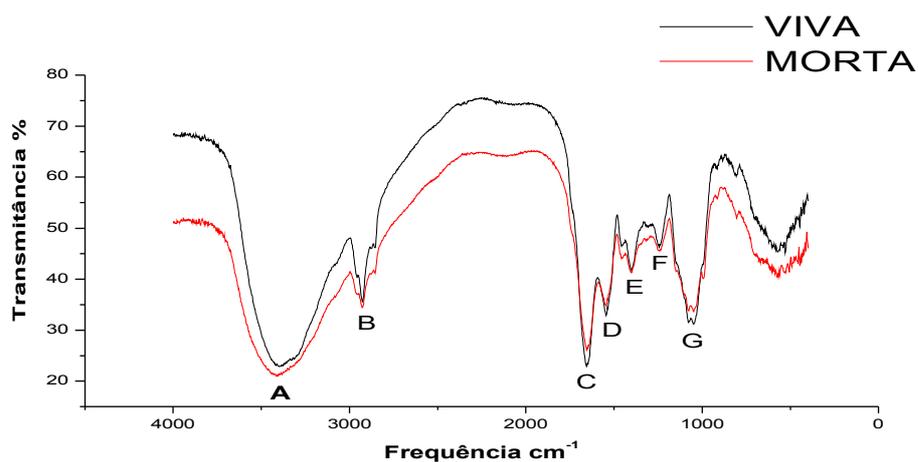


FIGURA 28 – Espectrofotometria infravermelha da levedura *Saccharomyces cerevisiae*

De acordo a Figura 28 é possível verificar a presença de grupos amino, carboxílicos, hidroxílicos e carbônicos. O grupo ácido carboxílico, quando ionizado, é capaz de estabelecer interações eletrostáticas com cátions metálicos. O pico A (3392 cm^{-1}) pode ser atribuído ao estiramento O-H ligado de álcoois e fenóis, o pico B (2925 cm^{-1}) representa o estiramento C-H de carbono sp^2 . O estiramento C=C anelar de compostos aromáticos são representados pelos picos C (1654 cm^{-1}) e D (1534 cm^{-1}). O pico E (1399 cm^{-1})

é atribuída a deformação simétrica C-H; grupos metila isolado. Os picos F (1263 cm^{-1}) e G (1069 cm^{-1}) são representantes do estiramento C-O de álcool e fenol.

Deve-se anotar que os resultados obtidos nesta etapa estiveram considerados suficientes para dar uma idéia sobre a presença de grupos funcionais presentes na biomassa.

4.6 - Testes Preliminares de Funcionamento da Coluna de Leito Fixo

A adsorção em leito fixo representa uma técnica amplamente utilizada nos processos de purificação e separação de misturas. Ao longo dos anos, esta técnica tem sido amplamente aplicada em processos em grande escala, como também, para estimar parâmetros em escala laboratorial. Com o interesse de verificar o funcionamento da coluna de leito fixo utilizando levedura imobilizada, uma vez que não foi possível o estudo com a mesma livre devido a sua aderência nas paredes da coluna ao entrar em contato com a solução aquosa, realizou-se um teste utilizando um efluente sintético contendo íons metálicos de Pb^{2+} em uma concentração de 59 mg/L.

Após o teste de funcionamento da coluna foi possível verificar que a mesma opera em boas condições e apesar da pequena altura leito observou-se que a concentração de saída foi 10% inferior a da entrada num tempo final de 120 segundos e utilizando como recheio a levedura imobilizada. Não foi possível verificar a saturação do leito, nesse intervalo, sendo assim o sistema poderá operar com um maior tempo de funcionamento do leito fixo sem que ocorra a saturação do mesmo.

Capítulo 5

Conclusões

5 – CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos permitiu chegar às seguintes conclusões:

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* se destaca, quando comparada com outros tipos de biomassa microbianas, pela sua eficiência na adsorção dos metais Cd^{2+} e Pb^{2+} .

O tempo de contato de 48 horas foi suficiente para atingir o equilíbrio fosse alcançado em um processo estático e de 60 min utilizando um processo dinâmico e biomassa imobilizada, conclusão esta obtida através da cinética de adsorção realizada dos íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} .

A quantidade adsorvida dos íons metálicos pela *Saccharomyces cerevisiae* foi influenciada pela quantidade de biomassa utilizada, dessa forma, a interação entre a bioadsorção e a concentração de biomassa podem apresentar efeitos antagônicos, com isso, observou-se que maiores quantidades de bioadsorção ocorreu com concentrações menores de biomassa na faixa estudada.

A faixa de temperatura e pH utilizada nesse trabalho exerceu menor influência sob o processo de bioadsorção, quando comparada com outras variáveis: concentração de íons metálicos e quantidade de biomassa.

Os dados de equilíbrio experimental da bioadsorção dos íons metálicos Cd^{2+} e Pb^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* em batelada foram melhores ajustados pelo modelo não linear da isoterma de adsorção de Langmuir.

As leveduras mortas apresentaram melhor capacidade na remoção dos íons que as vivas, nas condições maximizadas estudadas.

Observou-se uma perda na capacidade de bioadsorção dos íons metálicos estudados quando se utilizou a levedura imobilizada com o alginato de sódio a 2%, verificando uma redução média, em relação a levedura livre, na eficiência de q de 78,5% para o Cd^{2+} na faixa de concentrações menores de 80 $mg.L^{-1}$ e 73,92% para o Pb^{2+} com concentrações superiores a 150 $mg.g^{-1}$.

Para as condições experimentais aplicadas, a *Saccharomyces cerevisiae* apresentou maior afinidade para remoção dos íons Pb^{2+} em função da sua elevada capacidade de bioissorção equivalente a 1486,88 mg de íons/g de levedura quando comparada com a do cádmio que foi igual 210,85 a mg de íons/g de levedura.

Após o teste de funcionamento da coluna foi possível verificar que a mesma opera em boas condições e apesar da pequena altura do leito, observou-se que a concentração de saída foi 10% inferior a da entrada num tempo final de 120 segundos e utilizando como recheio a levedura imobilizada.

Capítulo 6

Sugestões

6 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A realização de pesquisas desta natureza pressupõe uma continuidade que objetiva a otimização das condições operacionais testadas e/ou a ampliação de escala do processo, com o intuito de futura transferência de tecnologia para o mercado industrial. Neste sentido, algumas sugestões são apresentadas para continuação do estudo iniciado neste trabalho:

- Realizar o estudo mais detalhado da dinâmica da biossorção dos íons de cádmio e chumbo pela *Saccharomyces cerevisiae* em coluna de leito fixo (Obtenção de curvas de ruptura);
- Estudar a eficiência da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em processo de adsorção com multicomponente;
- Fazer a análise da parede celular da levedura antes e depois do processo de biossorção, através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), para poder observar o fenômeno de adsorção nas condições experimentais;
- Através da espectrofotometria infravermelho verificar a presença dos grupos funcionais na biomassa, após o processo de biossorção;
- Estudar o emprego de outros suportes para imobilização, visando melhorias na capacidade de adsorção de íons metálicos pela *Saccharomyces cerevisiae*;
- Estudar o processo inverso de adsorção (dessorção), para recuperação dos metais adsorvidos;

- Realizar um estudo econômico para validar o processo de biossorção dos íons de Cd^{2+} e Pb^{2+} pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Capítulo 7

Referências Bibliográficas

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, M,R,M,P; NOVAES, A,C; GUARINO, A,W,S. –**Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos**. Revista Química Nova, v. 25, p 1145 – 1154, 2002.
- ALBERTINI, S.; CARMO, L.F; FILHO, L.G.P. **Isotermas de Adsorção de Cádmio por *Saccharomyces cerevisiae***. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 21 (2), p.134-138. 2001.
- ALOYSIUS, R.; KARIM, M.I.A; ARIFF, A.B. **Cadmium biosorption by free and immobilized live biomass of *Rhizopus oligosporus***. Journal of Biological Sciences, Texas, v.2, n.1, p.74-79, 1999.
- AKAR, T; TUNALI, S. **Biosorption performance of *Botrytis cinerea* fungal by-products form renewal of Cd (II) and Cu (II) ions from aqueous solutions**. Minerals Engineering. v 18, p. 1099-1109, 2005.
- AKAR, T.; TUNALI, S. **Biosorption characteristics of *Aspergillus flavus* biomass for removal of Pb(II) and Cu(II) ions from an aqueous solution**. Bioresource Technology 97 p 1780–1787, 2006.
- ALEIXO, L.M.; SITTON, M.; RIBEIRO, F.A.L. **Estudo Polarográfico Sobre A determinação de Fe(III) utilizando-se a Técnica da Polarografia de Pulso diferencial**. Química. Nova v. 24 n.6, São Paulo Nov./Dec. 2001.
- ALMEIDA, L.P; FERRI, P.H; PAULA, J.R; SANTIAGO, M.F. **Biotransformation of the 1,8–cineole for free and immobilized bacterias**. Revista Eletrônica de Farmácia Vol 2 (1), p 1-5, 2005.
- AMORIM, W.B; HAYASHI,A.M; PIMENTEL,.P.F; SILVA, M.G.C. – **Influência do pH na remoção de cromo hexavalente em algas marinhas**. II Congresso de Engenharia de Processos do Mercosul (EMPROMER`99) – Florianópolis – SC. 1999.
- BAI, R.; SUDHA, T.; ABRAHAM, E. **Studies on chromium(VI) adsorption–desorption using immobilized fungal biomass**. Bioresource Technology 87 p.17–26, 2003.
- BARROS, M.A.S.D; ARROYO, P.A.; AGUIAR, E.F.S. **Problemas Ambientais com soluções catalíticas**. CYTED – Ciência y Tecnología para el Desarrollo, 1º Edición, Madrid, Espanha, 2001.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**, Campinas : Editora. UNICAMP, 1995.

- BARROS JUNIOR, Laerte de Medeiros – **Biosorção de metais pesados presentes em águas de produção de campos de petróleo**. Dissertação de Mestrado, UFRN, Natal, 2001.
- BASÍLIO, M.S; FRIESE, K. LENA, J.C; JUNIOR, H.A.N; ROESER, M.P. **Adsorção de As, Cu, Pb e Cr na avaliação da capacidade de fixação de metais por resíduo de mineradoras de ferro**. Química Nova vol 28 n 3, 2005.
- BOSSO, S.T., ENZWEILER, J. **Evaluation of heavy metals removal from aqueous solution onto scolecite**. Water Research 36, p. 4795-4800. 2002.
- BAYRAMOĞLU, G.; TUZUN, I.; CELIK, G.; YILMAZ, M.; ARICA, M. Y. **Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by microalgae Chlamydomonas reinhardtii immobilized in alginate beads**. International Journal of Mineral Processing 81, p 35-43, 2006
- BRAILE, P.M; CAVALCANTI, J.E.W.A – **Manual de tratamento de águas residuais industriais**. CETESB, São Paulo, 1993.
- BOCCHI, N; FERRACIN, L.C; BLAGGLO, S. R. **Pilhas e Baterias: funcionamento e impacto ambiental**. Química Nova na Escola, n 11, 2000.
- BOFO, D.C.S; CASTRO, H.F; MEDEIROS, M.B. **Immobilization efficiency comparison between Saccharomyces cerevisiae CB-IX (osmotolerant) and S. cerevisiae ATCC 9763 yeasts in sugar cane bagasse**. Brazilian Journal of Food Technology, 5º SIPAL, março, 2005.
- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for Experimenters**, New York, 1978.
- CANTANE, D. A. **Tipos de Voltametria**. Universidade de São Paulo (USP). Instituto de Química de São Carlos (IQSC). Monografia de conclusão de curso, 2004.
- CLARISSE, M.D; AMORIM, M.C.V; LUCAS, E.F. **Despoluição ambiental: uso de polímeros na remoção de metais pesados**. Revista de Química Industrial, n. 715, 1999.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. 10 de outubro de 2005.

- COSSICH, E.S. **Biossorção de cromo(iii) pela biomassa da alga marinha SARGASSUM SP.** Tese de Doutorado. UNICAMP, Campinas, São Paulo. 2000.
- COSTA, C.A.; SCHNEIDER, I.A.H.; RUBIO J. - **Remoção de Metais Pesados por Sorção em Subproduto do Beneficiamento de Carvão.** Revista Saneamento Ambiental, v.59, pp 50-56, 1999.
- COSTA, A.C.A.; DUTA, F.P. **Bioacumulação do cobre, do zinco, do cádmio e da ligação por *Bacilo sp.*, *Bacilo cereus*, *Bacilo sphaericus* e por *Bacillus subtilis*.** Jornal Brazilian do Microbiology, vol 32, 2001.
- CRUSBERG, T.C; ASHBY, C.R; THOMPSON, S.A – **Bio-mineralization Of Copper: Solutions for Waste Remediation and Biomining** – Worcester Polytechnic Institute, Department of Biology and Biotechnology, Program One, May 21, 1997.
- CRUZ, C.C; COSTA, A.C; HENRIQUES, C.A; LUNA, A.S. **Kinetic modeling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead *Sargassum sp.* Biomass.** Bioresource Technology, Rio de Janeiro, v. 91, n. 3, p. 249-257, 2004.
- DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*.** Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” .USP, São Paulo, 2004.
- DIAS, E. R. A. **Preservação da água - questão de sobrevivência.** Jornal da Agricultura Orgânica. Julho 2000.
- DINIZ, F.B. – **Acumuladores Moura: Desenvolvimento tecnológico e meio ambiente.** Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Química Fundamental, 2001.
- DOMINGOS, R.N. **Acúmulo de cádmio por *Saccharomyces cerevisiae* fermentando mosto de melaço.** Dissertação de mestrado . Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1997.
- DUARTE, R P. S; PASQUAL, A - **Avaliação do cádmio (cd), chumbo (pb), níquel (ni) e zinco (zn) em solos, plantas e cabelos humanos** – Revista Energia na Agricultura, v. 15, n. 1, 2000.
- DURSUN, A.Y.; USLU, G.; TEPE, O.; CUCI, Y.; ELKIZ, H.I. **A comparative investigation on the bioaccumulation of heavy metal ions by growing *Rhizopus arrhizus* and *Aspergillus niger*.** Biochemical Engineering Journal 15 p.87–92. 2003.

- DUTA, F. P.; FRANÇA, F. P.; COSTA C. A. - **Tratamento de efluente sintético contendo metais pesados em biorreatores de leito fixo** – XIV Congresso brasileiro de engenharia química (COBEQ). Natal - RN, 2002.
- EIPHANIO, R; BIDOIA, E.D; CORSO, C.R. **Adsorção de íons ferro e floculação de células de *Saccharomyces Cerevisiae* durante o processo eletrolítico**. Arq. Inst.Biol., São Paulo, v.68, n.1, p. 51-54, 2001.
- ESPOSITO, A; PAGNANELLI, F; VEGLI, F. **pH-related equilibria models for biosorption in single metal systems**. Chemical Engineering Science, v. 57, pp. 307 –313, 2002.
- FERRAZ, A.I., TEIXEIRA, J.A. **The use of flocculating brewer's yeast for Cr (III) and Pb (II) removal from residual wastewaters**. Bioprocess Engineering 21 p.431 – 437, 1999.
- FERRAZ, A.I.; TAVARES, T.; TEIXEIRA, J.A. **Cr(III) removal and recovery from *Saccharomyces cerevisiae***. Chemical Engineering Journal 105 p.11–20. 2004
- FÉRIS, L.; COSTA, C.; RUBIO, J. **Estudo experimental da sorção-remoção de íons de metais pesados**. Anais do 2º Encontro Brasileiro sobre Adsorção. Florianópolis, Santa Catarina, 1998.
- FERREIRA, S.T.S; LOPES, K.F; CUNHA, M.A.A; SILVA,S.S. **Imobilização de *Candida Guilliermondii* em pva-criogel para bioprodução de xilitol a partir de bagaço de cana-de-açúcar**. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Unicamp, São Paulo, 2005.
- FERREIRA, J.M.; SILVA, F. L. H; ALSINA, O. L. S; CONRADO, L.S; VILAR, E.O; CAVALCANTI, E.B. **Estudo da remoção do Pb²⁺ por Biosorção utilizando a biomassa *Saccharomyces cerevisiae***. 5º Encontro Norte-Nordeste de Catalise., p. 208-209.Recife, 2004.
- FERREIRA, J.M. Estudo de condições ótimas pelo método de análise de superfície de resposta para eficiência da fermentação acética. **Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 2001.**
- FRANCALANZA, H. **Coleta e Reciclagem de baterias de chumbo: problemas ambientais e perspectivas** *Seminário de reciclagem de Metais Não Ferrosos – São Paulo-SP – outubro, 2000.*
- FREEZE, R. A. CHERRY, J. A. - **Groundwater**. Prentice Hall, Inc. U.S. p. 604 1979.

- FOUREST E, ROUX J.C. **Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-product: mechanism and influence of pH.** Appl Microbiol Biotechnol 1992;37:399–403. Citado por SALEHIZADEH, H.; SHOJAOSADATI, S.A. **Removal of metal ions from aqueous solution by polysaccharide produced from *Bacillus firmus*.** Water Research 37 p.4231–4235. 2003.
- GADD, G.M. –**Biosorption.** Chemistry & industry, v.2, p 421 – 426, 1990.
- GARDEA-TORRESDEY, J.L.; ARENAS, J.L.; FRANCISCO, N.M.C.; TIEMANN, K.J.; WEBB, R. **Ability of immobilized cyanobacteria to remove metal ions from solution and demonstration of the presence of metallothionein genes in Various strains.** Journal of Hazardous Substance Research, v. 1, p.1-18.1998.
- GOMES, N.C.M.; MENDONÇA-HAGLER, L.C.S.; SAVVAIDIS, I. **Metal Bioremediation by microorganisms.** Rev. Microbiol., São Paulo, v. 29, n. 2, pp. 85-92, 1998.
- GONZALES, A.M; VEIT, M.T; TAVARES, C.R.G; COSSICH, E.S; COSTA, S.M – **Isotermas de adsorção de cobre(II) sobre a biomassa fúngica morta.** IV Encontro Brasileiro sobre adsorção, Anais do Encontro Brasileiro sobre adsorção Rio de Janeiro, v.1, p 24-31, 2003.
- GOYAL, N.; JAIN, S.C.; BANERJEEU,C. **Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals.** Advances in Environmental Research 7 p. 311–319. 2003.
- GREENPEACE. **Crimes Ambientais Corporativos no Brasil.** Junho, 2002.
- GUBULIN, J. C.; PINTO, C.H.C. **Remoção de Cobre (II) presente em soluções aquosas Utilizando A Vermiculita – Estudo Cinético.** Anais do 2° Encontro Brasileiro sobre Adsorção. Florianópolis, Santa Catarina, 1998.
- HOLAN, Z.R.;VOLESKY, B. **Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae.** Biotechnol. Bioeng. 43 p.1001-1009, 1994.
- HUANG, C.P; MOREHART, A. **The removal of Cu (II) from dilute aqueous solutions by *Saccharomyces cerevisiae*.** Water Resource, v.24, p.433-439, 1990.
- JÄRUP, L.; BERGLUND, M.; ELINDER, C.G. **Health effects of cadmium exposure: a review of the literature and a risk estimate.** Scand J Work Environ Health 24 p 1–51,1998.
- JIMENEZ, R.S; BOSCO, S.M.D.; CARVALHO, W.A. **Remoção de metais pesados de efluentes aquosos pela zeólita natural escolcita –**

influência da temperatura e do pH na adsorção em sistemas monoelementares. Quimica. Nova, v. 27, n.1, 2004.

Jornal o Estadão, edição de Julho de 2000.

KAÇAR, Y.C., ARPA, Ç; TAN, S; DENIZLI, A; GENÇ, O; ARÝCA, M.Y. - **Biosorption of Hg(II) and Cd(II) from aqueous solutions: comparison of biosorptive capacity of alginate and immobilized live and heat inactivated *Phanerochaete chrysosporium*.** Process Biochemistry, n.37, p. 601–610, 2002.

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

KING, P.; RAKESH,N.; BEENALAHARI, S.; KUMAR, Y.P.; PRASAD, V.S.R.K. **Removal of lead from aqueous solution using *Syzygium cumini* L.: Equilibrium and kinetic studies.** Journal of Hazardous Materials p 1-8, 2006.

KOETZ, P.R.; FARIA, O.L.V.; NUNES, W.A – **Tratamento de efluentes homogeneizados de curtume por digestão anaeróbia em reatores de fluxo ascendente.** Revista Brasileira de Agrociência, v. 1, n. 1, Jan-Abr., 1995.

KOK, K.H.; KARIM, M.I.A.; ARIFF, A.B. **Bioremoval of Cadmium, Lead and Zinc Using Non-living Biomass of *Aspergillus flavus*.** Pakistan Journal of Biological Sciences 4 (7), p.849-853, 2001.

KOK, K.H.; KARIM, M.I.A.; ARIFF, A.B.; ABD-AZIZ, S. **Application of Live and Non-metabolizing Cells of *Aspergillus flavus* Strain 44-1 as Biosorbent for the Removal of Lead from Solution.** Pakistan Journal of Biological Sciences 5(3), p.332-334, 2002.

KUMAR, Y.P.; KING. P.; PRASAD, V.S.R.K. **Equilibrium and kinetic studies for the biosorption system of copper(II) ion from aqueous solution using *Tectona grandis* L.f. leaves powder.** Journal of Hazardous Materials B137 p 1211–1217, 2006

LAMAI, C.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P.; UPATHAM., E. S.; SOONTHORN SARATHOOL, V. **Toxicity and Accumulation of Lead and Cadmium in the Filamentous Green Alga *Cladophora fracta* (O.F. Muller ex Vahl) Kutzing: A Laboratory Study.** ScienceAsia 31, p. 121-127.2005

- LARINI, L; **Toxicologia 1**. Edição. São Paulo: Editora Manoele Ltda, 1987, p. 141 apud FREITAS, C.R. Caracterização qualitativa dos agentes poluentes da Indústria de baterias ortox e avaliação do seu Potencial poluente. Curitiba: Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Católica do Parana, Monografia (Graduação), 80p. 2004.
- LEITE, S. G. F *et al.* **Cadmium uptake and its effect on the growth of *Chlorella homosphaera* and *Scenedesmus quadricauda* cells in laboratory conditions**. Rev. Microbiol., São Paulo, v. 24, n. 1, p. 54-58, 1993.
- LI, Q., WU, S., LIU, G.; LIAO, X.; DENG, X.; SUN, D.; HU, Y.; HUANG, Y. **Simultaneous biosorption of cadmium (II) and lead (II) ions by pretreated biomass of *Phanerochaete chrysosporium***. Separation and Purification Technology, Hong Kong, v.34, n.1, p.135–142, 2004.
- LISBOA, M.; ROCHA, S. **Chumbo grosso: o caso das Baterias Moura**. São Paulo, Greenpeace e Aspan, 1997.
- LIU, Y; XU, H; YANG, S; TAY; J. - **A general model for biosorption of Cd⁺, Cu⁺ and Zn⁺ by aerobic granules**. Journal of Biotechnology, n. 102, p.233 –239, 2003.
- LO, W.; CHUA, H.; LAM, K.H; BI, S.P. **A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass**. Chemosphere. 39(15):p.2723-36, 1999.
- McCABE, W.L., SMITH, J.C., HARRIOT, P., “**Unit Operations of Chemical Engineering**”, McGraw-Hill International Ed., 6th ed., 2001.
- MESQUITA, L. M. S. **Remoção de ions cádmio de soluções por *Micrococcus luteus***. Dissertação de Mestrado. UFRJ, Rio de Janeiro, 1993.
- MURULEEDHARAN, T.R; IYENCAR,L.; VENKOBACHAR, C. – **Biosorption: na attractive alternative for metal removal and recovery**. Currient Science, n. 61, p. 379 – 385, 1991.
- OKADA, I. A; SAKUMA, A. M; MAIO, F. D; DOVIDAUSKAS, S; ZENEBON, O. **Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil**.Revista de Saúde Público 31 (2), p.140-143, 1997.
- OLIVEIRA, R.C.G; OLIVEIRA,, M.C.K. **Remoção de contaminantes tóxicos dos efluentes líquidos oriundos da atividade de produção de petróleo no mar**. Boletim. técnico. PETROBRAS, Rio de Janeiro, 43 (2): p 129-136, abr./jun. 2000.

- ÖZER A.; ÖZER D. **Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats.** Journal of Hazardous Materials B100, p.219–229, 2003.
- PALLU, A.P.S;. **Biossorção de Cádmiio por linhagens de *Aspergillus sp.*** Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.
- PAPAGEORGIU, S.K.; KATSAROS, F.K.; KOUVELO, E.P.; NOLAN, J. W; DEIT, H.L; KANELLOPOULOS, N.K. **Heavy metal sorption by calcium alginate beads from *Laminaria digitata*.** Journal of Hazardous Materials B137 p 1765–1772, 2006.
- PINO, G. H.; MESQUITA, L.M.S.; TOREM, M.L.; PINTO, G. A. S. **Biosorption of heavy metals by powder of coconut shell.** 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering, ENPROMER, Rio de Janeiro, 2005.
- PINTO, C.H.C; GUBULIN, J.C. **Remoção de Cobre (II) presente em soluções aquosas utilizando a vermiculita – Estudo cinético.** 2^o Encontro Brasileiro sobre Adsorção. Florianópolis, Santa Catarina, p. 327 – 335, 2000.
- PINTO, G.A.S; LEITE, S.G.F; CUNHA,C.D; MESQUITA. L.M.S. **Aplicação de microorganismos no tratamento de resíduos: a remoção de metais pesados de efluentes líquidos.** Methodus – Revista Científica e Cultural da Universidade Estácio de Sá. 2002.]
- PRADO-FILHO, L.G. SILVA, S.M.G. **Acúmulo de cádmio *Saccharomyces cerevisiae* fermentado mosto de caldo de cana.** Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola. São Paulo. USP. 1999.
- Revista do Couro. Edição 142. 2000
- RIZZO, A.C.L; LEITE; S.G.F. **Produção de sulfeto em reator do tipo UASB e sua potencial aplicação na remoção de metais pesados de efluentes.** Série Tecnologia Ambiental, n.32. CETEM / MCT. 2004.
- RODRIGUEZ, O.; GARDEA, T. J. L; HERNANDEZ, A ; TIEMANN, K.J. **Adsorption uptake and removal of toxic metal ions from solution by inactivated cells of *Larrea Tridentata* (creosote bush).** Journal of Hazardous Substance Research, v.1, 1998.
- ROSATO,Y.B. **Biodegração do Petróleo.** Microbiologia Ambiental, EMBRAPA – CNPMA, 1997.

- SALEHIZADEH, H.; SHOJAOSADATI, S.A. **Removal of metal ions from aqueous solution by polysaccharide produced from *Bacillus firmus***. *Water Research* 37, p. 4231–4235, 2003.
- SANTOS, E.G. **Estudo da adsorção de contaminantes orgânicos provenientes da água de produção do petróleo, em coluna de leito fixo, utilizando biomassas como adsorvente**. Tese de doutorado, UFCG, Campina Grande, 2005.
- SANTOS, E.G. **Estudo da dinâmica de adsorção do etanol e a co-adsorção do metanol-etanol com zeólitas 4A em uma coluna de leito fixo**. Dissertação de mestrado, UFPB, Campina Grande, 2000.
- SCHNEIDER, I.A. H. **Biossorção de metais pesados com a biomassa de macrófitos aquáticos**. Tese de doutorado, Rio Grande do Sul, UFRGS, 1995.
- SELATNIA, A.; BOUKAZOUL, A.; KECHID, N.; BAKHTI, M.Z.; **Chergui, A.; KERCHICH, Y. Biosorption of lead (II) from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass**. *Biochemical Engineering Journal* 19 p.127–135. 2004.
- SHUKLA, A.; ZHANG, Y, H. DUBEY, P.; MARGRAVE, J.L.; SHUKLA, S.S. **The role of sawdust in the removal of unwanted materials from water**. *Journal of Hazardous Materials* B95 p.137–152. 2002.
- SILVA, S.F; DUARTE, M.M.L; JUNIOR, L.M.B. **Remoção de metais pesados presentes nas águas de produção de campos de petróleo**. Departamento de Engenharia Química, UFRN, Natal, 2001.
- SILVA, M.G.C; HOMEM, E. M. – **Remoção de níquel por processo de adsorção em leito fluidizado**. Unicamp. Faculdade de Engenharia Química, Campinas –SP, 2000.
- SILVA, F.L.H. **Modelagem, Simulação e Controle de Fermentação Alcoólica Contínua Extrativa**. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, 1998.
- SILVEIRA, B.I.; MAGALHÃES, L.C.S.; DIAS, K.C.V; BATISTA, J.S. **Remoção de cromo de efluentes líquidos através de adsorção em géis poliméricos com células imobilizadas**. Anais do III Encontro Brasileiro sobre Adsorção. Recife – PE, 2000.
- SOUZA, R.M; LEÃO, V.A; PINA, P.S. **Remoção de metais pesados em resíduos sólidos: o caso das baterias de celular**. *Revista Escola de Minas, Ouro Preto*, v. 58 n.4, p 375-379, 2005.

- THOMAS, J.E. **Fundamentos de Engenharia de Petróleo**. Editora Interciência Ltda, Rio de Janeiro, 2001.
- TING, Y. P.; LOWSON, F.; PRINCE, I. G. **Uptake of cadmium and zinc by alga *Chlorella vulgaris*: Part 1**. Individual ion species. *Biotechnol. Bioeng.*, Nova York, v. 34, p. 990-999, 1989.
- TOBIN, J.M., COOPER, D.G., NEUFELD, R.J. **Uptake of metal ion by *Rhizopus arrihus* biomass**. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, p 821–824. 1984.
- TORRESDEY, J.L.G; HERNANDEZ, A.; TIEMANN, K.J.; BIBB. J.; RODRÍGUEZ, O. **Adsorption of toxic metal ions from solution by inactivated**. *Journal of Hazardous Substance Research*, v. 1, p. 747-752, 1998.
- TSEZOS, M., DEUTSCHMANN, A. **An investigation of engineering parameters for the use of immobilized biomass particles in biosorption**. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*., v.48, p.29-39, 1990.
- TSUI, M.T.K.; CHEUNG, K.C.; TAM, N.F.Y.; WONG, M.H. **A comparative study on metal sorption by brown seaweed**. *Chemosphere* 65 p 51–57, 2006.
- TUZUN, I.; BAYRAMOGLU, G.; YALCIN, E.; BASARAN, G.; CELIK, G.; Arica, M.Y. **Equilibrium and kinetic studies on biosorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae *Chlamydomonas reinhardtii***. *Journal of Environmental Management*, 77 p.85–92, 2005
- VALDMAN, E.; LEITE, S.G.F. **Biosorption of Cd, Zn and Cu by *Sargassum* sp. waste biomass**. *Bioprocess. Eng.*, Nova York, v. 22, p. 171-173, 2000.
- VASQUEZ, T. G.P. **Avaliação da Remoção de Cd e Zn de Solução Aquosa por Biossorção e Bioflotação com *Rhodococcus opacus***. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Dissertação de Mestrado, 2005.
- VEGLIO, F.; A. ESPOSITO, REVERBERI, A.P. **Standardisation of Heavy Metal Biosorption Tests: Equilibrium and Modelling Study**. *Process Biochemistry* 38 p. 953-961. 2003.
- VOLESKY, B. **Biosorption of heavy metals**. Montreal. Ed. CRC Press, McGill University, p. 396, 1989.
- YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. **Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii***. *Water Research* 11, p. 1-11, 2003
- YU, Q.; MATHEICKAL, J.T. **Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae**. *Bioresource Technology* 69, p.223-229.1999.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. **Biosorption of heavy metals**. Biotechnol. Prog. , Washington, v. 11, p. 235-250, 1995.

VOLESKY, B; KRATOCHVIL, D – **Advances in the biosorption of heavy metals**. Tibtech. July, v. 16, p 291 – 300, 1998.

WANG, Y.H.; LIN, S. H.; JUANG, R.S. **Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using various low-cost adsorbents**. Journal of Hazardous Materials B102, p. 291–302. 2003.

WERKEMA, M.C.C; AGUIAR, S. **Planejamento e Análise de Experimentos : Como Identificar as Principais Variáveis Influentes em um Processo**. Belo Horizonte, v 8, 1996.

WU, H.S.; ZHANG, A.Q.; WANG, L.S. **Immobilization study of biosorption of heavy metal ions onto activated sludge**. Journal of environmental sciences (China) 16 (4), p 640-645, 2004.

ANEXO A

Esquema da determinação da concentração dos íons metálicos realizada pelo método de adição padrão

