

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TIAGO NUNES BILLERBECK

**REMOÇÃO DE METAIS DE EFLUENTE DE LABORATÓRIOS DE ANÁLISE
DE SOLO POR MEIO DA BIOSSORÇÃO COM RESÍDUO DE
*Saccharomyces cerevisiae***



CURITIBA

2013

TIAGO NUNES BILLERBECK

**REMOÇÃO DE METAIS DE EFLUENTE DE LABORATÓRIOS DE ANÁLISE
DE SOLO POR MEIO DA BIODISSORÇÃO COM RESÍDUO DE
*Saccharomyces cerevisiae***

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre, no Curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, da Universidade Federal do Paraná, Universität Stuttgart e SENAI Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mônica Beatriz Kolicheski

Coorientador: Dr. Jörg Wolfgang Metzger

CURITIBA

2013

Billerbeck, Tiago Nunes
B597 Remoção de metais de efluentes de laboratórios de análise de solo por meio da biossorção com resíduo de *Saccharomyces cerevisiae* / Tiago Nunes Billerbeck. Curitiba, 2013. 123f.

Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente Urbano e Industrial),
Universidade Federal do Paraná., Universität Stuttgart e SENAI Paraná
Orientadora: Profa. Dra. Mônica Beatriz Kolicheski. Coorientador: Jörg
Wolfgang Metzger.

1. Precipitação 2. Levedura. 3. Metais pesados.4. Cromo. I. Kolicheski,
Mônica Beatriz.II. Metzger, Jörg Wolfgang III. Universidade Federal do Paraná.
Mestrado em Meio Ambiente Urbano e Industrial. IV. Universität Stuttgart.
V.SENAI Paraná .VI.T.

CDD: 628.3

TERMO DE APROVAÇÃO

TIAGO NUNES BILLERBECK

REMOÇÃO DE METAIS DE EFLUENTE DE LABORATÓRIOS DE ANÁLISE DE SOLO POR MEIO DA BIOSSORÇÃO COM RESÍDUO DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Mestrado Profissional em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná em parceria com SENAI-PR e a *Universität Stuttgart*, Alemanha, pela seguinte banca examinadora:


Orientador(a):


Prof^a. Dr^a. **MÔNICA BEATRIZ KOLICHESKI**
PPGMAUI/UFPR


Prof. Dr. **MARCOS PILEGGI**
DEBIOGEM/UEPG


Prof^a. Dr^a. **PATRICIA CHARVET**
PPGMAUI/SENAI




Prof^a. Dr^a. **MARGARETE CASAGRANDE LASS ERBE**
Coordenadora do PPGMAUI-UFPR

Curitiba, 16 de dezembro de 2013.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Mônica Beatriz Kolicheski, pelo incentivo e paciência durante todo o processo de elaboração deste trabalho.

Ao Herus Schultz, proprietário da Cervejaria Schultz, pelo fornecimento da levedura utilizada nos testes.

À minha família pelo suporte.

RESUMO

O crescimento industrial gera o aumento de resíduos contaminados com metais pesados, que ao serem descartados fora dos limites estabelecidos pela legislação podem causar sérios danos a saúde e ao ambiente. Sistemas convencionais de tratamento de efluentes não permitem a total remoção dos metais e outros tratamentos, por como, a osmose reversa, resina de troca iônica, ultrafiltração não só requerem um alto custo de implantação e operação, e ainda podem gerar subprodutos de difícil disposição. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência do processo de biossorção como tratamento de efluentes do laboratório Interpartner (Ponta Grossa – PR) de análises químicas de solos. A metodologia adotada foi o tratamento clássico do efluente por redução e precipitação aliado a um sistema de polimento por biossorção que utilizou a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a remoção de metais pesados residuais. Na etapa de redução e precipitação foram removidos o ferro, o manganês e o zinco a níveis aceitáveis. Na etapa de polimento, este estudo permitiu a comparação da eficiência de biossorção simultânea de metais (cromo, cádmio, chumbo, ferro, cobre, manganês e zinco) para a levedura liofilizada (viva e morta) e resíduo de levedura da indústria cervejeira (viva e morta). As variáveis otimizadas foram concentração de biomassa, temperatura e pH e condições ótimas obtidas foram 1,5 g/ 100 mL, 6,0 e 25 °C, respectivamente. Pode-se destacar que os melhores resultados foram alcançados com a levedura liofilizada viva com 54,1% de remoção dos metais totais e bons resultados também foram observados com resíduo de levedura removendo 49,9% dos metais totais. Os metais que tiveram maior eficiência de remoção por biossorção foram o cromo com 71,4% de eficiência e o ferro com 81,2%. Outro resultado importante deste estudo foi o enquadramento do cromo, cádmio e chumbo por meio 1 etapa de redução e precipitação e de três etapas de biossorção de acordo com os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/11. Desta forma foi possível concluir que o tratamento proposto para a remoção de metais do efluente do laboratório de análises de solo, pelas simulações realizadas se mostrou eficiente pois utiliza uma metodologia simples, de baixo custo e permitindo o aproveitamento de um resíduo da indústria cervejeira.

Palavras-chave: Precipitação. Levedura. Metais Pesados. Cromo.

ABSTRACT

*Industrial growth leads to the increase of contaminated waste with heavy metals. When these metals are disposed in discordance with the established legislation they may cause serious damage not only to health, but also to the environment. Conventional wastewater treatment such as: reverse osmosis, ion exchange resins and, ultrafiltration demand a high cost for implantation and operation and can also generate problematic disposable byproducts. The aim of this research was to evaluate the efficiency of effluent treatment at the Interpartner Laboratory (Ponta Grossa – PR) resultant from chemical soil analysis. The methodology adopted for the study was the classical effluent treatment by reduction and precipitation associated with a polishing system called biosorption that uses *Saccharomyces cerevisiae* for the reduction of heavy metals. At the stage of reduction and precipitation, the treatment removed iron, manganese, and zinc to acceptable levels. At the polishing stage this study allowed a comparison of the efficiency of simultaneous biosorption of metals (chromium, cadmium, lead, iron, copper, manganese and zinc) for lyophilized yeast (alive and dead) and yeast waste of brewery industry (alive and dead). Optimal conditions were obtained with biomass concentration of 1,5 g/ 100m, pH 6,0 and temperature of 25° C. The best results were obtained with alive lyophilized yeast with 54,1% of total metal removal. Good results were also observed with yeast waste which removed 49,9% of total metals. The metals that were more efficiently removed by biosorption were chromium with 71,4% of efficiency and iron with 81,2%. Another important result of this study was the inclusion of chromium, cadmium and lead in three biosorption stages within the limits established by the current legislation (CONAMA 430/11). Therefore, it was possible to conclude that the treatment proposed for the removal of wastewater metals at the soil analysis laboratory by means of simulation was efficient as it requires a simple and low cost methodology using yeast waste of brewery industry.*

Keywords: *Wastewater Treatment. Yeast. Heavy Metals. Chromium.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Coloração da solução antes e após a reação de redução.....	50
Figura 2: Processo de secagem do precipitado de cromo e ferro.....	51
Figura 3: Eficiência da bioissorção simultânea de metais.....	56
Figura 4 – Cinética de bioissorção em batelada por biomassa liofilizada viva de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	57
Figura 5 - Cinética de bioissorção de cromo trivalente por <i>S. cerevisiae</i>	63
Figura 6: Cinética de bioissorção de cádmio por <i>S. cerevisiae</i>	64
Figura 7: Cinética de bioissorção de chumbo por <i>S. cerevisiae</i>	65
Figura 8: Cinética de bioissorção de ferro por <i>S. cerevisiae</i>	65
Figura 9: Cinética de bioissorção de cobre por <i>S. cerevisiae</i>	66
Figura 10: Cinética de bioissorção de zinco por <i>S. cerevisiae</i>	67
Figura 11: Cinética de bioissorção de manganês por <i>S. cerevisiae</i>	68
Figura 12: Cinética de bioissorção de metais por <i>S. cerevisiae</i> liofilizada viva..	72
Figura 13 – Resposta da eficiência total da bioissorção de metais por resíduo de levedura em relação ao pH e temperatura.	76
Figura 14 – Resposta da eficiência total da bioissorção de metais por resíduo de levedura em relação ao pH e biomassa.	77
Figura 15 – Resposta da eficiência total da bioissorção de metais por resíduo de levedura em relação à temperatura e biomassa.	77
Figura 16 – Respostas da eficiência total da bioissorção de cromo trivalente por resíduo de levedura viva	80
Figura 17 – Respostas da eficiência total da bioissorção de cádmio por resíduo de levedura viva	80
Figura 18 – Respostas da eficiência total da bioissorção de chumbo por resíduo de levedura viva	81
Figura 19 – Respostas da eficiência total da bioissorção de ferro por resíduo de levedura viva	81
Figura 20 – Respostas da eficiência total da bioissorção de cobre por resíduo de levedura viva	82
Figura 21 – Respostas da eficiência total da bioissorção de manganês por resíduo de levedura viva	82

Figura 22 – Respostas da eficiência total da bioissorção de zinco por resíduo de levedura viva	83
Figura 23 – Proposta de tratamento do efluente do laboratório de análise de solo por redução, precipitação e bioissorção.	88

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1: Limites máximos permitidos para lançamentos de efluentes segundo a Resolução CONAMA 430/11	22
Tabela 2: Alguns microorganismos bioSORVENTES de espécies de cromo	29
Tabela 3: Níveis e variáveis estudadas na otimização da bioSORÇÃO de metais pesados por <i>S. cerevisiae</i> usando um planejamento experimental fatorial 2 ³ ...	45
Tabela 4: Planejamento Experimental Fatorial 2 ³	45
Tabela 5: Caracterização do efluente bruto do laboratório de análise de solo .	49
Tabela 6: Concentração de cromo trivalente após a reação de precipitação em diferentes valores de pH	52
Tabela 7: Concentração dos metais após a precipitação em pH 7.....	53
Tabela 8: Eficiência da remoção de metais através das reações de redução e precipitação	54
Tabela 9: Concentração de cádmio e chumbo após a reação de precipitação em diferentes valores de pH	54
Tabela10: Determinação do pH ideal para a bioSORÇÃO de cromo por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	55
Tabela11 – BioSORÇÃO por levedura liofilizada viva para diferentes metais para diferentes concentrações de biomassa	58
Tabela12 – BioSORÇÃO por levedura liofilizada morta para diferentes metais para diferentes concentrações de biomassa	59

Tabela13 – Biossorção por resíduo de levedura de indústria cervejeira viva para diferentes metais para diferentes concentrações de biomassa	61
Tabela14 – Biossorção por resíduo de levedura de indústria cervejeira morta para diferentes metais para diferentes concentrações de biomassa.....	61
Tabela 15 – Comparação da eficiência de biossorção para a levedura liofilizada (viva e morta) e resíduo de levedura da indústria cervejeira (viva e morta)	62
Tabela 16 – Biossorção por levedura liofilizada viva para diferentes metais em diferentes temperaturas. pH = 6,0, C = 1,0 g/100mL	70
Tabela 17 – Eficiência da biossorção por levedura liofilizada viva para diferentes metais em diferentes temperaturas. pH = 6,0, C = 1,0 g/100mL	71
Tabela 18 – Acompanhamento cinético da biossorção de metais por <i>S. cerevisae</i>	72
Tabela 19 – Parâmetros do modelo cinético de primeira ordem ($-r_{bio} = k_i C_i$) .	74
Tabela 20: Experimentos realizados, os níveis adotados, concentração inicial do metal no efluente e concentração do metal após 4 horas de biossorção por resíduo de levedura de <i>S. cerevisae</i> de cervejaria em batelada	76
Tabela 21: Experimentos realizados, os níveis adotados e a eficiência da biossorção de metais com resíduo de levedura <i>S. cerevisae</i> obtida da indústria cervejaria	77
Tabela 22 – Comparação da eficiência de biossorção de metais para resíduo de levedura da indústria cervejeira: viva e otimizada	80
Tabela 23 – Capacidade de biossorção de metais para resíduo de levedura	

viva89

Tabela 24 – Simulação do tratamento proposto para remoção de metais por redução, precipitação e biossorção com resíduo de levedura viva93

Quadro 1 – Equações de modelagem da biossorção de metais por resíduo de *S. cerevisiae* viva em batelada.....88

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	JUSTIFICATIVA.....	15
1.2	OBJETIVOS.....	17
1.2.1	Objetivo Geral.....	17
1.2.2	Objetivos Especificos.....	17
2	REVISÃO BIBLIOGRAFICA	18
2.1	AGRICULTURA DE PRECISÃO.....	18
2.2	ANÁLISE DE MATÉRIA ORGÂNICA NO SOLO.....	19
2.3	LEGISLAÇÃO AMBIENTAL VIGENTE.....	21
2.4	TECNOLOGIAS DE REMOÇÃO DE METAIS DE EFLUENTE.....	22
2.5	BIOSSORÇÃO E BIOACUMULAÇÃO.....	24
2.5.1	Biossorção.....	25
2.5.2	Bioacumulação.....	26
2.6	BIOSSORVENTES.....	27
2.6.1	Mecanismos de biossorção e bioacumulação de metais por biomassa.....	31
2.6.1.1	Complexação.....	31
2.6.1.2	Quelação.....	32
2.6.1.3	Coordenação.....	32
2.6.1.4	Troca Iônica.....	32
2.6.1.5	Troca Catiônica.....	33
2.6.1.6	Troca Aniônica.....	33
2.6.1.7	Precipitação.....	34
2.6.1.8	Redução.....	34
2.7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	35
2.7.1	Uso do <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como biossorvente.....	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1	Efluente analisado.....	37
3.2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	38
3.2.1	Levedura liofilizada.....	38
3.2.2	Propagação e preparo de levedura liofilizada.....	38
3.2.3	Resíduo de levedura.....	39

3.3	Caracterização do efluente.....	40
3.4	Tratamento do efluente.....	40
3.4.1	Redução e precipitação do cromo hexavalente presente no efluente.....	40
3.5	Biossorção de metais do efluente por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	41
3.5.1	Avaliação da capacidade de biossorção simultânea por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	42
3.5.2	Determinação da faixa de pH ideal para a biossorção simultânea de metais por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	42
3.5.3	Determinação da faixa de concentração de biomassa ideal para a biossorção simultânea de metais por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
3.5.4	Determinação da faixa de temperatura ideal para a biossorção de metais simultânea por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
3.6	Cinética de biossorção simultânea de metais por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em processo em batelada	43
3.7	Otimização da biossorção em batelada.....	44
3.8	Metodologia analítica.....	46
3.8.1	Determinação de pH.....	46
3.8.2	Metais pesados (Cu, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb, Zn)	46
3.8.3	Análise de sulfato.....	47
3.8.4	Análise de fósforo total.....	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE.....	48
4.2	TRATAMENTO PRELIMINAR DO EFLUENTE POR REDUÇÃO E PRECIPITAÇÃO.....	49
4.2.1	Determinação do pH adequado para reação de precipitação de metais.....	52
4.3	AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOSSORÇÃO SIMULTÂNEA DE METAIS POR <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	55
4.3.1	Determinação da faixa de pH ideal para biossorção de metais por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	55
4.3.2	Cinética de biossorção de metais por <i>Saccharomyces</i>	

	<i>cerevisiae</i>	56
4.3.3	Determinação da faixa de concentração de biomassa ideal para a biossorção simultânea de metais por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	58
4.3.3.1	Cinética de biossorção de metais com diferentes tipos e estados de <i>S. cerevisiae</i>	63
4.3.4	Determinação da faixa de temperatura ideal para a biossorção de metais por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	70
4.3.4.1	Cinética de biossorção simultânea de metais utilizando levedura liofilizada viva.....	72
4.3.5	Otimização da biossorção em batelada.....	75
4.3.6	Determinação da capacidade de biossorção simultânea dos metais por resíduo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> viva	91
4.3.7	Proposta de tratamento para o efluente de laboratórios de análise de solos.....	92
5	CONCLUSÃO	97
	REFERENCIAS	
	BIBLIOGRÁFICAS	100
	ANEXO I	112
	ANEXO II	113
	ANEXO III - PROGRAMA MINITAB STATISTICAL VERSÃO 16.0	115

1 INTRODUÇÃO

O aumento da conscientização populacional relacionada aos danos socioambientais provocados pelo descarte inadequado de substâncias tóxicas no meio ambiente, aliado às legislações ambientais cada vez mais restritivas, tem impulsionado a adequação do gerenciamento de resíduos em laboratórios de solos. Os efluentes gerados na análise de matéria orgânica no solo possuem cargas consideráveis de metais tais como cromo, cobre, cádmio, chumbo, manganês, ferro e zinco, sendo a maioria destes metais pesados. Os que se apresentam em maior concentração são o cromo e o ferro, sendo que o cromo se encontra na forma hexavalente, que é altamente tóxica aos humanos e ao ambiente.

As análises de solo auxiliam no desenvolvimento tecnológico agrícola, buscando maiores lucros e produtividade. Dessa forma, a demanda para a utilização de serviços laboratoriais vem crescendo dia a dia assim como os resíduos gerados pelos mesmos.

Com o intuito minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte indiscriminado de contaminantes deve-se investigar meios para diminuir a concentração destes a níveis adequados no efluente para que se enquadre dentro da legislação ambiental vigente antes do descarte.

O tratamento clássico utilizado para efluentes contendo metais pesados é a precipitação química do metal na forma de hidróxidos. Este método possui eficiência de remoção superior a 95% dos metais dissolvidos, mas tendo em vista a alta concentração de metais nos efluentes de laboratórios de análises químicas, este, muitas vezes ainda não se enquadra nos padrões de lançamento de efluente exigidos pela legislação. Desta forma, este tipo de efluente necessita do emprego de técnicas complementares para realizar o polimento do mesmo, visando a remoção de metais que ainda se encontram em concentrações baixas mesmo após a etapa de precipitação.

Há diversas maneiras de fazer a remoção de metais em concentrações relativamente baixas e neste trabalho pretendeu-se mostrar que a biossorção é uma das técnicas promissoras que vem sendo estudada como uma alternativa viável.

Diversos tipos de biossorvente podem ser empregados neste processo,

tais como compostos orgânicos de origem vegetal, bactérias e fungos os quais podem ser utilizados *in natura*, vivos ou mortos.

No desenvolvimento deste trabalho o biossorvente utilizado foi o levedo *Saccharomyces cerevisiae*, pois apresenta boa capacidade biossortiva para uma vasta gama de metais e devido às instalações de indústrias cervejeiras na região de Ponta Grossa, é um material de fácil acesso e possibilita o reaproveitamento deste resíduo da indústria.

1.1 JUSTIFICATIVA

O incessante e acelerado crescimento e desenvolvimento industrial, torna a redução dos índices de poluição uma preocupação mundial, o que tem dado origem a novas tecnologias de tratamento de resíduos industriais. Na verdade, todos os setores da sociedade geram resíduos que, descartados inadequadamente podem não ser assimilados pelo ambiente, tornando-se poluentes.

Os resíduos industriais e alguns domésticos, como restos de tintas, solventes, aerossóis, produtos de limpeza, lâmpadas fluorescentes, medicamentos vencidos, pilhas e outros, contêm significativa quantidade de substâncias químicas nocivas. Muitos desses produtos contêm metais pesados, que podem se acumular em tecidos vivos, até atingir níveis perigosos para a saúde. Os efeitos da exposição prolongada do homem a essas substâncias ainda não são totalmente conhecidos.

Em alguns setores industriais, os metais pesados são utilizados como matéria prima para diversos produtos e aplicações. O cromo, por exemplo, é utilizado em curtumes, galvanicas, metalúrgicas, indústria de refratários, produção de tintas, vidro, explosivos, em análises químicas, dentre outros.

Os laboratórios de análises químicas, incluindo laboratórios de análises de solo, realizam a determinação da matéria orgânica por ataque químico com o dicromato de potássio em meio ácido, utilizando ácido sulfúrico para acidificação do meio. Desta forma, o efluente gerado em laboratórios de análises de solo apresentam grandes quantidades de sais de cromo hexavalente, gerando efluentes com altíssimos níveis desse poluente, podendo chegar a concentrações maiores que 2000 mg/L, além de conter outros metais

pesados tais como: cádmio, cobre, chumbo, ferro, manganês e zinco.

Muitos métodos têm sido estudados para a remoção de metais presente em efluentes de laboratórios de análise de solo, tais como: carvão ativado, precipitação química, evaporação, osmose reversa e troca iônica. Entretanto, estes métodos, em muitos casos, são limitados devido ao elevado capital e custo operacional envolvido e podem estar associados a geração de um resíduo secundário (BAKALIAN, 2012).

Assim, o desenvolvimento de métodos alternativos de tratamento de efluentes contendo metais pesados, que aliem índices cada vez menores de substâncias tóxicas e baixo custo, é de extrema importância.

Uma metodologia que pode atender estes dois requisitos é a biossorção, pois, certos tipos de biossorbentes podem reter grandes quantidades de íons metálicos por biossorção passiva ou ativa.

Dos diferentes tipos de biossorbentes, tanto de origem vegetal como microbiana as células de levedura *Saccharomyces cerevisiae* constituem uma boa alternativa para remoção de metais em efluentes líquidos (DE BORBA, 2010).

A biomassa de *S. cerevisiae* pode ser obtida facilmente em indústrias de bebidas e alimentos, pois, é um subproduto deste tipo de indústria sendo produzida em larga escala em boa parte do país. Apenas na indústria alcooleira estima-se uma produção de 450 mil toneladas/ano onde menos de 50% deste montante é reaproveitado sendo o restante simplesmente desprezado (PAOLIELLO, 2006). Desta forma o uso da biomassa de *S. cerevisiae* para o tratamento de efluentes de laboratório de análises de solo, com relação a remoção de metais pesados, pode também dar um destino adequado a levedura descartada na indústria alcooleira e de bebidas fermentadas.

Outros tipos de biomassa microbiana também podem ser adotados para a biossorção de metais pesados, porém precisam ser cultivadas em laboratório ou necessitam de estruturas específicas envolvendo processos tecnológicos de custos elevados os quais, muitas vezes, inviabilizam a utilização das mesmas.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência do tratamento de efluentes do laboratório Interpartner (Ponta Grossa – PR), proveniente de análises químicas de solos por meio da precipitação seguida de biossorção utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a redução de metais pesados.

1.2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar o efluente a ser tratado por precipitação e biossorção com *S. cerevisiae*.
2. Obter as melhores condições para a precipitação de metais para tratamento prévio do efluente.
3. Verificar a eficiência da biossorção com *S. cerevisiae* em relação a remoção de elementos metálicos (zinco, cobre, ferro, manganês, cromo, cádmio e chumbo) do efluente.
4. Obter a cinética de biossorção de metais para o efluente avaliado.
5. Otimizar o tratamento, em batelada, da biossorção de metais com *S. cerevisiae*.
6. Apresentar uma proposta de tratamento de forma que o efluente se enquadre nos limites exigidos pela legislação vigente, em relação aos metais analisados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AGRICULTURA DE PRECISÃO¹

O aumento da demanda mundial por alimento, de matéria prima para biocombustíveis, rações, entre outros, faz com que o desenvolvimento tecnológico agrícola seja inevitável. Os produtores rurais precisam produzir cada vez mais e muitas vezes utilizando a mesma metragem de área.

A agricultura de precisão surgiu há alguns anos como uma ferramenta de trabalho a fim de melhorar a produtividade de uma determinada área e garantir que ela seja a mais homogênea possível. Hoje em dia, para os grandes produtores, a utilização da agricultura de precisão é fundamental (COELHO, 2005).

A técnica baseia-se no gerenciamento localizado de sistemas agrícolas, utilizando recursos como mapeamento dos fatores de produção, ferramentas de suporte e a decisão e aplicação localizada de insumos. Em termos econômicos, a utilização desta tecnologia possibilita a priorização de investimentos em áreas onde o potencial de produção seja mais efetivo, garantindo maior retorno econômico. Do ponto de vista ambiental, a nacionalização e a redução do uso de insumos devem ser avaliadas como um dos principais benefícios da agricultura de precisão (ANTUNIASSI *et al.*, 2007).

Os fertilizantes adotados para melhorar a produtividade podem ser considerados contaminantes do solo, por causarem desvios na composição normal do ambiente. Além disso, os formulados com nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) podem lixiviar contaminando águas subterrâneas e causar a eutrofização de lagos e rios (MALAVOLTA, 1994).

É necessário decidir quais variáveis são as mais importantes a se analisar, ou seja, quais as variáveis que, em determinadas condições, mais afetam o crescimento e o desenvolvimento de uma cultura (COELHO, 2005).

¹ Agricultura de precisão é uma prática agrícola na qual utiliza-se tecnologia de informação baseada no princípio da variabilidade do solo e clima. A partir de dados específicos de áreas geograficamente referenciadas, implanta-se o processo de automação agrícola, para dosar-se principalmente adubo. Segundo ROZA (2000), a agricultura de precisão é uma maneira de gerir um campo produtivo metro a metro, levando em conta o fato de que cada pedaço da fazenda tem propriedades diferentes.

Dentre estas análises deve-se determinar o teor de macronutrientes primários (nitrogênio, fósforo e potássio), macronutrientes secundários (cálcio, magnésio e enxofre) e micronutrientes (boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco), bem como o pH, que está diretamente relacionado com a disponibilidade da maior parte dos nutrientes para serem utilizados pelas plantas (SERRAT *et al.*, 2002).

No que diz respeito às características do solo agrícola são, igualmente, importantes: a profundidade, o teor em matéria orgânica, a textura, a estrutura, a capacidade de retenção de água, a drenagem (interna e externa), a permeabilidade, a compactação, e a capacidade de troca catiônica. Embora um solo produtivo seja composto de menos de 5% de matéria orgânica esta determina em grande parte a produtividade do solo. A fertilidade está diretamente ligada à presença de matéria orgânica, seja ela viva ou morta. Essa matéria pode ser entendida como o que dá vida à terra, portanto, sem a sua existência, o solo não é capaz de sustentar lavouras ou qualquer outra atividade agrícola (SERRAT *et al.*, 2002).

A determinação do teor de matéria orgânica na agricultura de precisão, tem sua importância devido a sua relação com diversos fatores. Melhora a permeabilidade ao ar e água no solo, devido a formação de agregados; aumento da capacidade de retenção de água pelo solo; aumento da capacidade de troca catiônica e aniônica (CTC e CTA). Também pode estar associada a disponibilidade de macro e micronutrientes e controle do pH, pois permite o efeito tampão, assim como a produção de substâncias ativadoras e/ou inibidoras do crescimento de microrganismos (ANTUNIASSI *et al.*, 2007).

Contudo, o avanço destas tecnologias tem o seu preço, uma vez que a coleta de dados para a execução destes serviços gera efluentes com grandes concentrações de metais pesados altamente tóxicos. Sendo que, uma das principais fontes potencialmente poluidora em laboratórios de análise de solo é proveniente da análise de matéria orgânica.

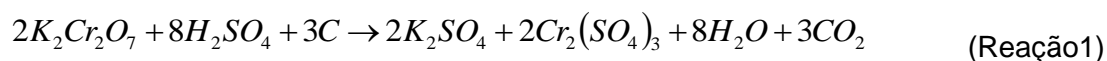
2.2 ANÁLISE DA MATÉRIA ORGÂNICA NO SOLO

O teor de matéria orgânica no solo é determinado utilizando sais de

cromo em meio fortemente ácido, este método é conhecido por queima úmida por dicromato ou método titrimétrico de Walkley-Black (GUIMARÃES *et al.*, 1970), e é descrito comumente nos textos de química de solos.

O carbono da matéria orgânica da amostra de solo é oxidado a CO₂, e o cromo (Cr) da solução é reduzido da valência +6 (Cr⁶⁺) à valência +3 (Cr³⁺). Na sequência, faz-se a titulação do excesso de dicromato de potássio pelo sulfato ferroso amoniacal. Tendo a reação como base, considera-se o dicromato reduzido equivalente ao carbono orgânico existente na amostra de solo, o excesso de dicromato titulado com íons Fe²⁺ são obtidos a partir de uma solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal (SILVA, 2009).

A oxidação da matéria orgânica que ocorre pode ser representada pela reação que segue:



Embora o método da solução sulfocrômica apresente uma boa exatidão e precisão, o uso desta solução contribui para a presença do cromo hexavalente (Cr⁺⁶) nos efluentes laboratoriais, representando um risco à qualidade ambiental e a saúde pública.

Vários métodos podem ser encontrados na literatura como opções para a análise da matéria orgânica sem utilizar compostos de cromo. Destas metodologias alternativas, duas são as que mais se destacam: a oxidação por peróxido de hidrogênio e a queima por ignição.

Na oxidação por peróxido de hidrogênio ocorre a oxidação do carbono com uma solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e posterior determinação gravimétrica. Esse método vem sendo utilizado como teste, desde 2010, na rede de laboratórios da Comissão Estadual de Laboratórios de Análise de Solo (CELA/PR) e, tem como principal característica o fato de não gerar resíduos que necessitem de tratamento especial (FARINE *et al.*, 2011).

O método da queima por ignição (PPI) tem sido utilizado em certos estados dos EUA e consiste na determinação gravimétrica do CO₂ (i. e., massa da amostra que é volatilizada), quando uma amostra de solo seco é submetida a uma alta temperatura de ignição. Até recentemente, este método não era

utilizado na maioria dos laboratórios de rotina de outros países, devido a certos inconvenientes operacionais, como o maior tempo e número de operações manuais envolvendo a pesagem das amostras. Assim, este método não era adequado em análise de rotina, ao contrário dos métodos de combustão úmida, os quais foram adequadamente adaptados para a análise de matéria orgânica do solo. Entretanto, a acentuada preocupação com a preservação ambiental tem estimulado a adaptação do método da PPI e sua automatização nos laboratórios de rotina em outros países, com o intuito de substituir os métodos que utilizam o dicromato (GALLIASSI, *et al.* 2002).

Mesmo assim, o método da queima úmida por dicromato é o mais utilizado nos laboratórios brasileiros por vários motivos dentre os quais se destacam a facilidade de execução, baixo custo de implantação, obtenção de resultados relativamente rápidos, facilidade de adequação à rotina dos laboratórios e resultados precisos (FARINE *et al.*, 2011).

Contudo, este método apresenta a desvantagem da presença de metais pesados, com destaque para o cromo hexavalente, em efluentes oriundos de laboratórios de análise de solo, o que caracteriza este efluente como resíduo perigoso, e o mesmo deve ser destinado de forma adequada (BAKALIAN, 2012).

Segundo Bakalian (2012), uma alternativa para evitar a geração destes resíduos é a recuperação do cromo hexavalente para reuso. O estudo mostrou que até 68% do cromo pode ser recuperado num processo de duas etapas. Primeiro, é realizado a oxidação do cromo trivalente por ozonização. Parte deste cromo permanece reduzido, sendo então precipitado utilizando hidróxido de sódio. O cromo hexavalente que é solúvel em pH alcalino, continua dissolvido no sobrenadante e é separado do lodo por filtração.

2.3 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL VIGENTE

A legislação que regulamenta o lançamento de efluentes em corpos hídricos é a Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) nº 430, de 13 de maio de 2011 (BRASIL, 2011). Esta Resolução dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão do lançamento de

efluentes em corpos de água receptores, alterando parcialmente e complementando a Resolução CONAMA nº 357, de 13 de junho de 2005.

A Tabela 1 apresenta os limites máximos de lançamento para alguns metais e pH de acordo com a Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011).

Tabela 1: Limites máximos permitidos para lançamentos de efluentes segundo a Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011)

PARÂMETRO	LIMITE MÁXIMO
pH	5,0 a 9,0
Cádmio Total	0,2 mg/L Cd
Chumbo Total	0,5 mg/L Pb
Cobre Dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo Hexavalente	0,1 mg/L Cr ⁺⁶
Cromo Trivalente	1,0 mg/L Cr ⁺³
Ferro Dissolvido	15,0 mg/L Fe
Manganês	1,0 mg/L Mn
Zinco Total	5,0 mg/L Zn

Em geral a concentração destes metais no efluente de laboratórios de análises de solo é muito superior aos limites exigidos pela legislação para o lançamento de deste em corpos hídricos. Portanto, este tipo de efluente precisa ser melhor estudado e necessita de tratamento para a remoção de metais antes do lançamento no meio ambiente.

2.4 TECNOLOGIAS DE REMOÇÃO DE METAIS DE EFLUENTES

A remoção dos metais pesados presentes em efluentes industriais pode ser feita por meio de diversos processos, tais como precipitação por via química, osmose reversa, coagulação e filtração, adsorção em carvão ativado ou alumina e oxirredução.

A seleção do tratamento mais adequado depende da concentração inicial do metal, dos componentes da água residual, do capital de investimento e custo operacional, da flexibilidade da planta e do impacto ambiental (KURNIAWAN *et al.*, 2006).

O método mais empregado para a remoção de espécies metálicas em altas concentrações é a precipitação química, devido à simplicidade do processo e o baixo custo de capital exigido. Entretanto, este método não é efetivo para a redução de metais quando a concentração destes se encontram na faixa de 1 a 100 mg/L (GUPTA e RASTOGI, 2009) e, desta forma não permite atingir os padrões exigidos pelas normas ambientais. De acordo com Hamza et al (2010) esta faixa de concentração permite a utilização da biossorção para a remoção de metais pesados de efluentes.

A precipitação química apresenta também como desvantagem o fato de que pode produzir grandes quantidades de lodo, gerando resíduos secundários de difícil tratamento (FU e WANG, 2011). Além do lodo, ainda se faz necessário a aplicação de um processo complementar para o polimento final do efluente antes do seu descarte nos corpos hídricos.

As resinas de troca iônica são muito utilizadas nas indústrias para a remoção de íons em água potável ou em águas de caldeira e na purificação de substâncias orgânicas e inorgânicas. Entretanto, a utilização desse material no tratamento de efluentes contendo metais pesados é economicamente inviável (FU e WANG, 2011; KURNIAWAN *et al.*, 2006).

As resinas precisam ser regeneradas frequentemente quando utilizadas para tratamento de efluentes gerando volumes expressivos de efluentes secundários tóxicos. Por este motivo e aliado aos custos elevados as resinas não podem ser utilizadas em larga escala (FU e WANG, 2011; KURNIAWAN *et al.*, 2006).

Assim como um sistema secundário e/ou de polimento, os efluentes podem ser tratados utilizando produtos de origem biológica por meio da biossorção e bioacumulação. Estas são soluções eficientes e úteis que foram encontradas pela observação dos processos naturais, pois tanto a biossorção como a bioacumulação participam do ciclo da matéria no meio ambiente (CHOJNACKA, 2010; REHMAN *et al.*, 2006).

A biossorção e bioacumulação podem ser adotados para diversos tipos de efluentes, incluindo: indústria metalúrgica, de galvanoplastia, acabamentos metálicos e fabricação de placas de circuito impressos, chorume, água de superfície e subterrânea (CHOJNACKA, 2010).

Existe uma vasta gama de biossorbentes (quitosana, bactérias, fungos

e leveduras, algas marinhas, resíduos agrícolas e industriais), assim como de metais que podem ser removidos por estes processos (alumínio, arsênio, cádmio, cromo, cobalto, cobre, chumbo, chumbo, manganês, mercúrio, molibdênio, níquel, ouro, prata, platina, selênio, telúrio, urânio, vanádio e zinco) (DITTERT, 2011; MIMURA, 2010; VELÁSQUEZ *et al.*, 2009; PRAKASHAM *et al.*, 1999; PARK *et al.*, 2005; LOUKIDOU *et al.*, 2004).

2.5 BIOSSORÇÃO E BIOACUMULAÇÃO

Os processos de bioissorção e de bioacumulação ocorrem permanentemente no meio ambiente e são realizados por todos os tipos de biomassas. E também ocorrem acidentalmente em estações de tratamento de efluente e em processos de biorremediação (REHMAN *et al.*, 2006).

No ambiente, o ser humano não é capaz de controlar estes processos, entretanto ele pode encontrar aplicações na prática industrial sob condições de operação controlada (REHMAN *et al.*, 2006).

Tanto na bioissorção como na bioacumulação se um produto químico solúvel está presente em um ambiente aquoso, onde a biomassa também pode ser encontrada, este produto (sorbato) interage com o material biológico (biossorvente), ficando preso na superfície da parede celular por bioissorção ou fica acumulado dentro da célula por bioacumulação (CHOJNACKA, 2010; REHMAN *et al.*, 2006).

A principal diferença entre a bioissorção e bioacumulação está no fato que no primeiro processo os poluentes ficam adsorvidos na superfície da parede celular e no segundo, além da adsorção, ocorre também o acúmulo do poluente no interior da célula (CHOJNACKA, 2010).

A bioissorção é um processo físico-químico análogo à adsorção convencional ou troca iônica. A diferença está na natureza do adsorvente ou sorvente, que neste caso, é um material de origem biológica. A bioissorção é um processo metabolicamente passivo e quando o equilíbrio é atingido o sorvente pode permanecer no sistema de tratamento ou ser removido, se o sorbato for reutilizado (CHOJNACKA, 2010).

Na bioacumulação, após o equilíbrio sistemático passivo, o processo

continua, ou seja, neste caso a bioissorção é o primeiro estágio e estágios subsequentes estão relacionados ao transporte para o interior da célula. Assim, quando ocorre a bioacumulação mais sítios de ligação para remoção dos poluentes estão disponíveis e níveis mais baixos de concentrações residuais podem ser atingidos. Porém, para que o processo ocorra, algumas condições precisam ser preenchidas, tais como fornecimento de fontes de carbono, nutrientes, oxigênio, dentre outras. A bioacumulação ocorre através do cultivo de organismos na presença de poluentes que devem ser removidos (CHOJNACKA, 2010).

Pelo fato de que a biomassa bioissorve ou bioacumula substâncias químicas poluentes, esta se torna tóxica. Assim deve ser realizada a recuperação e a regeneração da biomassa ou dar um destino adequado à mesma quando os processos de bioissorção e bioacumulação são adotados para a remoção de metais em efluentes.

2.5.1 Bioissorção

A bioissorção é definida como o processo de concentração do sorbato e o prefixo “bio” significa que o sorvente é de origem biológica, biomassa (MOREIRA, 2007).

Os primeiros relatos ao mecanismo de bioissorção foram citados em 1948 onde foram apresentadas evidências de que o urânio agia sobre a superfície celular de leveduras por complexação de grupos desconhecidos associados ao metabolismo de glucose (VOLESKY, 1990).

O material biológico carregado com o sorbato é regenerado e reutilizado e o sorbato é recuperado por um eluente. É importante escolher um desorvente cuidadosamente, para que todo sorbato seja removido da biomassa por um pequeno volume de solução e que o bioissorvente não seja destruído, mantendo suas propriedades de sorção, e possa ser utilizado em um novo ciclo de bioissorção (CHOJNACKA, 2010; ORHAN *et al.*, 2006).

A bioissorção é um processo efetivo no tratamento de efluentes diluídos e apresenta como vantagens a natureza seletiva e regenerável dos bioissorventes e baixos custos de operação. Porém os baixos custos só são

obtidos, quando um sorvente de baixo custo é utilizado, as quantidades de lodo de esgoto dispostos são baixas e a demanda química de oxigênio (DQO) do efluente não aumenta (ORHAN *et al.*, 2006).

A limitação da bioissorção está em um tempo de vida mais curto quando comparado com um adsorvente convencional (GADD, 2009).

O processo de bioissorção de metais não é baseado em um único mecanismo. Este processo consiste de vários mecanismos que quantitativa e qualitativamente diferem de acordo com as espécies usadas, a origem da biomassa e seu processamento. A bioissorção de metais segue mecanismos complexos, envolvendo troca iônica, quelação, absorção por forças físicas e o aprisionamento de íons em capilares inter e intrafibrilares e espaços da rede de polissacarídeos estruturais, como resultado do gradiente de concentração e difusão através da parede celular e membranas (VOLESKY e HOLAN, 1995).

Por ser um processo metabolicamente passivo, a bioissorção pode ser realizada por material de origem biológica, mas não necessariamente por biomassa viva, e, portanto, não existe o perigo de envenenamento por toxicidade da biomassa pelo sorbato (DITTERT, 2011).

A bioissorção compreende a ligação de metais à biomassa por um processo que não envolve energia metabólica ou transporte, embora tais processos possam ocorrer simultaneamente quando biomassa viva for usada, pois, a bioissorção pode ocorrer com a biomassa viva ou morta (TOBIN *et al.*, 1994).

O potencial industrial da bioissorção depende de muitos fatores, tais como: capacidade de bioissorção, eficiência e seletividade, facilidade de recuperação do metal e equivalência com processos tradicionais em desempenho, economia, imunidade a interferências de outros compostos do efluente ou condições de operação (COSSICH *et al.*, 2000).

No entanto, a bioissorção não substitui necessariamente as metodologias existentes, mas pode atuar como um sistema de polimento a processos que não são completamente eficientes e, neste caso, a concentração das substâncias em foco deve ser de apenas alguns miligramas por litro. (COSSICH *et al.*, 2000; TOBIN *et al.*, 1994).

2.5.2 Bioacumulação

A bioacumulação é definida como a acumulação intracelular de sorbato, que ocorre em dois estágios: o primeiro é idêntico a biossorção e ocorre rapidamente, o seguinte é mais lento e inclui o transporte do sorbato para o interior da célula, que ocorre normalmente por um sistema de transporte ativo, desta forma a bioacumulação é um processo de não equilíbrio (AKSU e DONMEZ, 2003)

Os mecanismos de transportes envolvidos na acumulação de metais pesados são poucos conhecidos. Uma das possibilidades seria a de que os metais pesados podem ser captados pelos sistemas de transporte de metais essenciais para o desenvolvimento microbiano e uma vez dentro da célula, os íons metálicos podem se localizar em organelas, ou ficar ligados a proteínas, deslocando os íons adequados de suas posições, prejudicando as funções metabólicas (GADD, 1992b; GADD, 1988).

A bioacumulação é metabolicamente ativa e é realizada somente por células vivas. Enquanto na biossorção não existe o perigo de envenenamento por toxicidade da biomassa pelo sorbato, na bioacumulação este risco existe (TOBIN *et al.*, 1994).

2.6 BIOSSORVENTES

Biossorventes são definidos como todo material que possui origem biológica e que são capazes de reter um sorbato por biossorção e/ou bioacumulação (CHOJNACKA, 2010).

Recentemente, alguns biossorventes emergiram como opção de materiais de baixo custo, eficientes e sustentáveis. Estes biossorventes incluem alguns resíduos agrícolas e industriais, fungos, algas, bactérias e leveduras. Estudos usando biossorventes têm mostrado que ambas as biomassas, vivas ou mortas, tem capacidade de biossorver íons metálicos e oferecer uma alternativa potencial de baixo custo aos adsorventes convencionais (DITTERT, 2011).

A capacidade da biomassa de concentrar e imobilizar, particularmente íons metálicos, pode ser mais ou menos seletiva. Esta seletividade depende do tipo de biomassa, da mistura da solução e do tipo de preparação da biomassa

(VOLESKY, 2001).

Devido a toxicidade dos metais, a maioria dos sistemas empregados com células vivas, tem sido usado para descontaminação de efluentes com concentrações de metais abaixo do nível tóxico. Para evitar este problema pode-se adotar o uso de uma mistura de microrganismos assim como de plantas superiores (VOLESKY, 2001).

As paredes de bactérias, algas, fungos e leveduras são eficientes bioissorventes de metais, onde as ligações covalentes e iônicas podem estar envolvidas na adsorção, tendo como principais constituintes estruturas protéicas e polissacarídicas. Em várias espécies, o fenômeno de adsorção ou bioissorção pode ser o maior responsável pela retenção total do metal. Isto é especialmente verdadeiro para metais pesados como chumbo e alumínio, e radioativos como urânio e tório (GADD1990),

Vários estudos têm avaliado bactérias que são capazes de acumular metais de ambientes aquáticos tais como *Pseudomonas* sp., *Zoogloea ramigera*, *Streptomyces* sp. e *Bacillus* sp. Entre elas, *Bacillus* sp. foi identificada com um alto potencial para a remoção de íons metálicos e foi usada na preparação de bioissorventes comerciais (DAS *et al.*, 2008).

Fungos e leveduras têm recebido atenção em relação à bioissorção de metais particularmente por que os resíduos de biomassa de fungos têm aumentado como um produto das indústrias de fermentação (GADD, 1988; VOLESKY, 1990).

Dentre os fungos, as leveduras são as mais exploradas cientificamente, pelo fato de serem organismos eucariontes de fácil manipulação, sendo consideradas um excelente modelo para o estudo de diversos problemas de relevância dentro da biologia (BROCK *et al.*, 1994).

Fungos e leveduras são utilizados para a remoção de cromo hexavalente de soluções aquosas por meio da bioissorção com diferentes tipos de biomassa. Esta remoção é frequentemente associada com a redução simultânea de Cr^{+6} a Cr^{+3} , assim, a biomassa de fungos inativados como por exemplo, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Penicillium chrysogenum* removem o Cr^{+6} de soluções aquosas, por redução a Cr^{+3} , quando em contato com a biomassa (HATZIKIOSEYIAN *et al.*, 2001;

DONGHEE *et al*, 2005).

Além de bactérias e fungos, a quitina contida em biomateriais foi reconhecida como um bioissorvente efetivo para metais. A quitina pode ser obtida a partir de fungos, insetos, lagosta, camarão, mas as fontes comerciais mais importantes são o exoesqueleto de caranguejos obtidos como resíduos de processamento de frutos do mar (NIU e VOLESKY, 2003).

Também foi avaliado o potencial de adsorção de flocos de quitosana, disponíveis comercialmente, na remoção simultânea de zinco, cobre, cádmio e chumbo. A adsorção de íons metálicos mostrou ser dependente do pH, com um máximo em pH 6 e 7. Os resultados obtidos com os estudos cinéticos e de equilíbrio demonstraram maior capacidade de adsorção de íons cobre por flocos de quitosana (BASSI *et al.*, 2000).

Algas marinhas também foram estudadas para a remoção de metais. As algas marinhas são uma biomassa natural, renovável e abundante nas zonas litorais do mundo e tem atraído especial atenção de muitos pesquisadores. Várias vantagens têm sido atribuídas, tais como ampla disponibilidade, baixo custo, alta capacidade de adsorção de metais (KURNIAWAN *et al.*, 2006, GADD, 1988; VOLESKY, 1994)

A Tabela 2 apresenta exemplos de microrganismos bioissorventes bem como o pH ótimo e capacidade de bioissorção de cromo em mg/L.

Tabela 2: Alguns microrganismos bioissorventes de espécies de cromo

Bioissorvente	pH ótimo	Bioissorção de cromo	
		Cr ³⁺ (mg/L)	Cr ⁶⁺ (mg/L)
<i>Aspergillus niger</i>	2	1,92	-
<i>Aspergillus sydoni</i>	2	9,07	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	2,5	60,50	-
<i>Bacillus subtilis</i>	2	14,54	-
<i>Basidiomycete</i>	6,5	83,33	-
<i>Chroococcus sp.</i>	3 – 4	21,36	-
<i>Aspergillus niger</i>	1	117,33	-
<i>Penicillium janthinellum</i>	2	9,35	-
<i>Pseudomonas sp.</i>	4	95	-
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1	143	-
<i>Streptomyces rimosus</i>	4,8	-	83

Fonte: Adaptado de SAHMOUNE (2010).

Cada biomassa possui características intrínsecas a sua composição e meios metabólicos utilizados específicos. Tendo especificidades como afinidade a um determinado metal, capacidade de retenção, tolerância a metais tóxicos, entre outros, diferentes entre si. Assim, muitas vezes, uma biomassa pode ser utilizada simultaneamente com outras para aumentar a gama de metais retidos.

Este uso simultâneo de biomassa é utilizado no sistema de tratamento de efluentes da mina de chumbo “Homestake” (Missouri, EUA). O tratamento consiste na passagem do efluente, contendo chumbo, cobre, zinco, manganês, níquel, ferro e cádmio, por um canal com cianobactérias, algas e plantas superiores. Os metais são removidos da água com uma eficiência superior a 99% (JENNETT e WIXSON, 1983; EHRLICH e BRIERLEY, 1990).

O entendimento do mecanismo exato do processo de biossorção é importante no sentido de desenvolver biossorbentes eficientes para aplicações comerciais no tratamento de efluentes. Porém, o mecanismo de biossorção é complexo e ainda não é completamente compreendido. Existe muita literatura sobre o assunto, bem como sobre a modelagem da biossorção referente a elementos específicos e linhagens microbianas.

Os fatores chave da caracterização e controle destes mecanismos são (TSEZOS et al., 2006):

- i. O tipo de ligantes biológicos disponíveis para o sequestro de metais.
- ii. O status da biomassa, viva ou morta.
- iii. As características químicas, estereoquímica e coordenação dos metais alvo e espécies metálicas.
- iv. As características da solução do metal como pH e a presença de outros íons.

Os mecanismos de biossorção e bioacumulação de metais estão descritos na sequência.

2.6.1 Mecanismos de bioabsorção e bioacumulação de metais por biomassa

Os microrganismos possuem grupos funcionais abundantes que podem bioabsorver íons metálicos passivamente, por diversos mecanismos não metabólicos, sendo: complexação, quelação, coordenação, troca iônica, precipitação e redução.

Exopolímeros microbianos tem recebido a maior parte da atenção em relação a ligação com metal, pois formam cápsulas ou camadas de lodo. A maioria deles são formados por polissacarídeos, glicoproteínas e lipossacarídeos, que podem estar associados com proteínas. Porém, interações potenciais com estes compostos têm sido revisada (GEESEY e JANG, 1990). A parede celular bacteriana também tem diversos componentes de ligação com metal que contribuem para o processo de bioabsorção.

2.6.1.1 Complexação

A formação de complexos de íons metálicos com moléculas orgânicas envolve centros de ligação nas espécies orgânicas, isto é, a presença de um átomo ou átomos possuindo um par de elétrons para doar. Nos biopolímeros estes são mais susceptíveis de serem átomos de nitrogênio neutro trivalente e átomos de oxigênio ou enxofre neutro divalente (BAI e ABRAHAM, 2003).

A complexação pode ser eletrostática ou covalente. O caso mais simples é a complexação com ligantes monodentados. Um ligante multidentado contém mais de um átomo de ligante disponível para ligação de espécies metálicas.

Os metais leves, tais como os metais preciosos: prata, ouro, platina, paládio estão covalentemente ligados à parede celular por ligações fracas que contêm nitrogênio ou enxofre. Este fato já foi confirmado por alguns pesquisadores, e, portanto, o mecanismo de bioabsorção de metais preciosos ocorre em duas etapas, em que a primeira compreende a ligação covalente e, em seguida, a redução *in situ* (BAI e ABRAHAM, 2003).

2.6.1.2 Quelação

As moléculas orgânicas que contêm mais de um grupo funcional, com pares de doadores de elétrons, podem simultaneamente doá-los a um átomo metálico. Isto pode resultar na formação de uma estrutura em anel que envolve o átomo do metal em um processo denominado de quelação.

Em geral, uma vez que um agente quelante pode se ligar a um íon metálico em mais de um local simultaneamente, são mais estáveis do que os complexos envolvendo ligantes monodentados. A estabilidade tende a aumentar com o número de sítios quelantes disponíveis no ligante. Assim, a quelação de metais por ligantes doadores de biopolímeros, conduz à formação de espécies estáveis (TSEZOS et al., 2006).

2.6.1.3 Coordenação

A coordenação química de espécies metálicas e as características estereoquímicas desempenham um papel importante para a sua fixação sobre os ligantes disponíveis por parte da célula microbiana. No entanto, a informação limitada de modelos de complexação, com base na teoria da química de coordenação de superfície, está disponível para descrever a bioissorção de metais. A coordenação química de espécies metálicas e características estereoquímicas devem ser levados em conta para explicar as capacidades observadas de bioissorção de metais e para elucidar os mecanismos de bioissorção (BAI e ABRAHAM, 2003; TSEZOS *et al.*, 1995).

2.6.1.4 Troca iônica

As bactérias gram-positivas, principalmente os membros do gênero *Bacillus* tem capacidade aumentada para a ligação com os metais, devido a uma densidade de carga negativa significativa. Isto é devido à estrutura da parede celular com ácidos teicóicos e teicurônicos ligados à rede de peptidoglicanos. Os fosfodiésteres de ácido teicóico e os grupos carboxílicos do ácido teicurônico contribuem assim a capacidade de troca iônica com a

parede celular (KAPOOR e VIRARAGHAVAN, 1995; VOLESKY, 1983).

Muitos exemplos têm demonstrado a existência de um mecanismo de troca iônica em remoção de íons metálicos por bioissorção. No entanto, tem sido sugerido por pesquisadores que a troca iônica não é nem o único nem o principal mecanismo para a bioissorção de metais (BRANDY e TOBIN, 1995).

2.6.1.5 Troca catiônica

O que se sabe até o presente é que os grupos mais prováveis se estarem envolvidos com a troca iônica em biopolímeros são o carboxílico, o fosfato orgânico e o sulfato orgânico.

Os grupos de ácidos carboxílicos são amplamente distribuídos em biopolímeros sendo mais comumente encontrados como constituintes de cadeia lateral de proteínas (TSEZOS et al., 2006).

As ligações fosfodiésteres conferem carga negativa ao esqueleto do ácido nucléico enquanto ambos, agrupamentos diésteres e monoésteres são encontrados mais comumente em polissacarídeos de bactérias e macromoléculas relacionados. Lipoproteína e lipopolissacarídeos também são suscetíveis de conter fosfodiésteres como parte da porção lipídica (TSEZOS et al., 2006).

Os sulfatos esterificados a grupos carboidrato hidroxilados é comum em tecido conjuntivo e polissacarídeos de algas e é na maioria dos casos susceptíveis de fornecer a maior densidade de carga negativa, a muito baixo pKa, entre os biopolímeros carregados (TSEZOS et al., 2006).

2.6.1.6 Troca aniônica

A troca aniônica em biopolímeros pode ocorrer em uma variedade de agrupamentos de nitrogênio de base orgânica. Nas proteínas, agrupamentos amino, imidazol e guanidina são centros comuns de carga positiva. Centros de carga positiva de ácidos nucléicos irão ocorrer em grupos amino na purina, anéis de pirimidina protonados ou onde o nitrogênio heterocíclico também é protonado (VEGLIÓ e BEOLCHINI, 1997).

Polissacarídeos são macromoléculas ácidas ou neutras com grupos

funcionais básicos, eles são raros e surgem como amino açúcares não acetilados. A quitina é um exemplo, onde a proporção de resíduos de glucosamina são relatados não-acetilados e que provê na desacetilação da quitosana com uma elevada proporção de centros de carga positivas protonizáveis (DAVIS *et al.* 2003).

2.6.1.7 Precipitação

A precipitação de metais também está envolvida na biossorção. Os precipitados podem ser formados e permanecem em contato no interior das células microbianas ou então, podem ser independentes da fase sólida da parede microbiana. Neste último caso, a presença da fase sólida da célula microbiana ou biofilme, também desempenha um papel favorável no fenômeno da precipitação (MOREIRA, 2007).

O termo precipitação, na maioria dos casos, refere-se à formação de metais inorgânicos insolúveis precipitados (MACASKIE *et al.*, 1994; REMOUNDAKI *et al.*, 1999).

O fenômeno de precipitação pode ser mais facilmente compreendido quando os metais são ligados a substâncias poliméricas extracelulares (EPS) excretadas por alguns microrganismos procariotas (bactérias, archaea) e eucarióticas (algas, fungos). Produtos purificados a partir de células isoladas tais como glucano, manana, e quitina acumulam maiores quantidades de cátions do que as células intactas, provando que biomoléculas podem formar precipitados de metais (TSEZOS *et al.*, 2006).

2.6.1.8 Redução

Metais leves como o ouro e paládio são os primeiros a ser adsorvidos aos sítios de ligação na parede e no interior da célula e nestes locais atuar como pontos de nucleação para a redução de metais e crescimento de cristais. Neste caso o mecanismo de biossorção é um processo em duas etapas: o início da biossorção em pontos discretos por ligação química, em seguida, a redução dos íons metálicos (BEVERIDGE e MURRAY, 1980; REMOUNDAKI *et*

al, 1999).

A remoção do cromo hexavalente de soluções aquosas também está associada com a redução de Cr^{+6} a Cr^{+3} , que é o caso de fungos e leveduras (HATZIKIOSEYIAN *et al*, 2001; DONGHEE *et al*, 2005).

2.7 *Saccharomyces cerevisiae*

O *Saccharomyces cerevisiae* faz parte do reino dos fungos e foi adaptado em vários aspectos importantes. Um deles é o fato de que são capazes de quebrar seu alimento tanto pela respiração aeróbica como pela fermentação anaeróbica. Podem sobreviver em um meio deficiente em oxigênio por longos períodos além de ter a capacidade de realizar tanto a reprodução sexuada como assexuada. Isso permite que esta espécie possa viver em muitos ambientes diferentes (MADIGAN, 2005).

É um dos mais importantes fungos na história da humanidade, sendo usado na produção de etanol em bebidas alcoólicas e na panificação. Existem duas formas que o *S. cerevisiae* quebra a glicose. Uma é através da respiração aeróbica e este processo requer a presença de oxigênio. Quando o oxigênio não está presente a levedura, passa a realizar a fermentação anaeróbica. O resultado disto é dois ATP, produzindo também dois subprodutos: dióxido de carbono e etanol. Ambos os processos utilizam células haplóides desta levedura para ocorrer. As leveduras para panificação, são linhagens em que a produção de dióxido de carbono é predominante em relação a de etanol e vice-versa para a fabricação de bebidas alcoólicas (MADIGAN, 2005).

As principais características, de acordo com Oura (1995), que tornam as leveduras microrganismos interessantes para processos industriais são:

- i. Capacidade de desenvolvimento em substratos baratos e facilmente disponíveis.
- ii. Facilidade de obtenção e de multiplicação.
- iii. Utilização de nutrientes nas suas formas mais simples.
- iv. Possibilidade de cultivo independente do ambiente.
- v. Pequena exigência de água e de área.
- vi. Formação de produtos de valor nutritivo.

2.7.1 Uso do *Saccharomyces cerevisiae* como bioissorvente

Existem diferentes tipos de biomassa que podem ser utilizadas para a bioissorção, dentre elas as células de levedura *S. cerevisiae* (FERREIRA *et al.*, 2007).

A levedura *S. cerevisiae* tem a capacidade de retirar metais pesados da água, podendo ser usada como bioacumulador desses metais, sendo uma ótima alternativa para a descontaminação ambiental (BAYAN *et al.*, 2001).

Embora a *S. cerevisiae* tenha sido denominada “medíocre” (valores de bioissorção medianos) como bioissorvente de metais pesados, seu estudo como bioissorvente é justificado devido ao intenso uso em fermentações de larga escala nas indústrias alimentícias e na produção de álcool, e, conseqüentemente da alta quantidade de resíduo gerado e que não é utilizado (ASHKENAZY *et al.*, 1999, VOLESKY, 1994).

Assim a levedura *S. cerevisiae* constitui uma boa alternativa de tratamento de resíduos líquidos, principalmente porque é geralmente reconhecida como um microrganismo seguro e pode ser usado sem preocupação, tem capacidade para acumular uma vasta gama de metais pesados em uma variedade de condições externas (WANG e CHEN, 2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O efluente usado neste estudo para a avaliação de bioadsorção de metais foi obtido do Laboratório de Análises Físico-Químicas Interpartner, situado no município de Ponta Grossa (PR), que trabalha para o setor agrícola, onde são realizadas análises de solo, controle de qualidade de empresas produtoras de fertilizantes, corretivos, adubos foliares, bem como do setor ambiental, onde são realizadas análises de água, efluentes e resíduos.

A pesquisa foi realizada com o intuito do tratamento do efluente bruto proveniente das análises do teor de matéria orgânica realizados no laboratório de solos. O processo foi realizado por meio de redução e precipitação de metais, principalmente cromo e ferro, e na sequência foi avaliada a capacidade de bioadsorção (polimento do efluente) dos metais pesados residuais por levedura (*S. cerevisiae*), visando o descarte adequado deste resíduo.

3.1 Efluente analisado

O desenvolvimento deste trabalho utilizou amostras de resíduos coletados do descarte da análise do teor de matéria orgânica que contem altas concentrações de metais.

As amostras foram coletadas semanalmente durante um período de 4 meses (de março a junho de 2013), diretamente dos tambores de 50 L cheios onde os resíduos são armazenados para descarte adequado pelo laboratório. Cada amostra continha o volume de 2 L.

O efluente possui composição relativamente homogênea e constante, podendo variar apenas em função dos solos analisados, mas não de forma significativa. Por isso a amostragem foi realizada de forma simples e não composta, porém, para garantir a perfeita homogeneização a cada volume coletado foi realizada a mistura do efluente coletado.

3.2 *Saccharomyces cerevisiae*

3.2.1 Levedura liofilizada

A levedura selecionada para os testes preliminares foi da marca Fermentis, produzida na França e comprada liofilizada em pacotes de 11,5 g. Esta levedura é produzida para o mercado cervejeiro sendo composta de biomassa viva que pode ser ativada sempre que estabelecidas as condições ideais indicadas pelo fabricante.

3.2.2 Propagação e preparo de levedura liofilizada

A ativação da levedura liofilizada foi realizada utilizando como substrato extrato de malte. O cereal maltado utilizado para o preparo do extrato de malte foi a cevada. O procedimento adotado está descrito abaixo.

a) Preparo do extrato de malte

Os grãos de cevada foram moídos e colocados em infusão (em água) para a conversão do amido em açúcar. A moagem foi feita de forma a apenas expor o endosperma onde está contido o amido. Assim o produto final pode ser filtrado sem problemas de entupimento no momento da filtração.

Em um tanque com sistema de filtração embutido, foi acrescentado a água na proporção 3:1 (L de água por kg de malte) e foi aquecida a uma temperatura de 70 °C. Os grãos moídos foram acrescentados a água e nesta etapa a temperatura da água diminuiu para aproximadamente 65 °C, sendo essa mantida por uma hora. Passado este tempo o material foi filtrado, sendo que os primeiros 2 L foram recirculados para evitar que algum fragmento de casca fosse arrastado junto com o filtrado.

O filtrado foi transferido para outro tanque e aquecido por um período de 30 minutos a 100°C onde ocorreu a coagulação do excesso de proteínas chamado de *hot brake* (PALMER, 2006). As proteínas foram retiradas com o auxílio de uma escumadeira e o filtrado foi transferido, ainda quente, para um recipiente estéril, e armazenado sob refrigeração ($T \leq 4$ °C) até sua utilização.

Com o auxílio de um refratômetro a densidade do filtrado foi aferida.

b) Propagação de levedura

O extrato de malte foi diluído de forma que a densidade ficasse em torno de 1,040g/mL. A solução foi autoclavada a 121 °C durante 15 minutos para garantir a esterilização do meio. Em um erlenmeyer de 1000 mL foi adicionado 500 mL do extrato de malte, já resfriado, junto com a levedura (11,5 g). A suspensão foi incubada sob agitação por 24 horas a 20 °C.

Após esse período, o conteúdo do frasco com a levedura foi transferido para outro erlenmeyer maior, com capacidade de 4 L e com 2,5 L de extrato de malte estéril. O meio de cultivo foi incubado sob agitação por 24 horas a 20 °C. Esta etapa foi repetida várias vezes retirando-se alíquotas de 500 mL do meio com a levedura e inoculando em 2,5 L de extrato de levedura recém preparado até que a quantidade de levedura fosse suficiente para os testes.

c) Preparo da levedura (*S. cerevisiae*)

Após o período de incubação e término do crescimento, a levedura contida nos erlenmeyers foi transferida para um becker de 4 L e colocada sob refrigeração ($T \leq 4$ °C) para decantação por 24 horas. O sobrenadante foi descartado e a levedura lavada e filtrada com água destilada por 3 vezes para retirada do extrato de malte residual. Após a lavagem a levedura foi armazenada com água destilada sob refrigeração.

3.2.3 Resíduo de levedura

A fim de comparar a eficiência da levedura liofilizada e cultivada em laboratório, foi testada a levedura de descarte de uma microcervejaria. O resíduo de levedura foi cedido pela Microcervejaria Schultz, localizada em Ponta Grossa (PR). O material (biomassa) assim que recebido pelo laboratório, foi lavado com água destilada (três lavagens) para remoção do excesso de cerveja e armazenado sob refrigeração ($T \leq 4$ °C) até o momento do uso.

3.3 Caracterização do efluente

O efluente bruto foi caracterizado com relação ao pH, metais pesados (Cr, Cu, Fe, Zn, Cd, Mn, Pb), sulfatos e fósforo total. Os testes foram feitos em triplicata.

Os parâmetros escolhidos para serem quantificados foram definidos com base nos reagentes do protocolo analítico, bem de como os possíveis produtos formados durante as análises de matéria do solo.

A metodologia analítica foi realizada de acordo com o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (2012).

3.4 Tratamento do efluente

O efluente bruto do laboratório, por conter alto teor de cromo, foi inicialmente tratado por redução e precipitação do cromo hexavalente e na sequência por biossorção por *S. cerevisiae*. A metodologia adotada está apresentada a seguir.

3.4.1. Redução e precipitação do cromo hexavalente presente no efluente

A redução e precipitação do cromo foi realizada por um método clássico, utilizando bissulfito de sódio (NaHSO_3) P.A. (Vetec) como agente redutor e solução de hidróxido de sódio (NaOH) 45% (p/v) como agente precipitante.

As alíquotas semanais de 2 L retiradas dos tambores (50L) de armazenagem de efluente foram colocadas em béquer de 4 L. Foi adicionado 1mL do indicador difenilamina 0,5% (p/v em H_2SO_4) e acrescentado bissulfito de sódio até que a coloração do efluente mudasse de azul escuro para verde escuro. A mudança de coloração indica que todo o cromo hexavalente (Cr^{+6}) foi reduzido para cromo trivalente (Cr^{+3}), sua forma menos tóxica, dando-se sequência aos testes de precipitação.

O uso da difenilamina como indicador, teve o objetivo de diminuir o tempo e os custos do processo de tratamento do efluente. As amostras com

indicador, na presença de cromo hexavalente apresentam coloração azul escuro, mas se o cromo não estiver presente não ocorre a alteração de cor. Desta forma, quando a amostra se tornava azul seguia-se com a adição de bissulfito de sódio P.A. (99,0%) até a mudança de coloração para verde escuro, o que indica que o Cr^{+6} foi reduzido para Cr^{+3} .

Após a redução da amostra foi realizada a precipitação do Cr^{+3} . Os testes de precipitação foram realizados em bequer de 250 mL tomando-se alíquotas de 100 mL do efluente. Ao efluente foi adicionada a solução de NaOH de 45% (p/v) para atingir valores de pH. Com o objetivo de otimizar a etapa de precipitação foi avaliada a faixa de pH de 5 a 10.

Após o término da precipitação, amostras do sobrenadante foram retiradas para a quantificação do cromo e demais metais pesados por espectrofotometria de absorção atômica e posterior avaliação da eficiência do processo.

Determinado o pH ideal para a precipitação do cromo, a amostra foi filtrada para a separação e quantificação do precipitado em peso seco.

No laboratório Interpartner, quando o processo é executado em escalas maiores, o lodo (precipitado) é colocado em caixas plásticas de forma baixa sem tampa e deixadas secar naturalmente em ambiente externo protegido da chuva. O tempo de secagem varia bastante, pois depende da temperatura, umidade e demais fatores climáticos. Após a secagem, o resíduo seco é destinado para uma empresa especializada em resíduos classe I.

3.5 Biossorção de metais do efluente por *Saccharomyces cerevisiae* em batelada

A biossorção de metais foi realizada pelo método em batelada e os ensaios foram realizados com biomassa viva e morta. A morte celular tanto da levedura liofilizada como do resíduo de levedura, foi realizada por esterilização em autoclave a 121 °C, durante 20 minutos.

A biossorção em batelada foi realizada colocando-se o efluente em contato com o de biossorvente (*S. cerevisiae*) em erlenmeyer de 250 mL. Foram tomadas alíquotas de 100 mL de efluente com pH ajustado e mantidos sob agitação e temperatura constante durante os ensaios.

Em períodos de tempo pré-determinados, alíquotas foram retiradas e submetidas à filtração a vácuo utilizando membrana (UNIFILL) com poros de 0,45 µm para determinação de todos os metais encontrados na caracterização do efluente para avaliar a interação de cada um com a biomassa.

3.5.1 Avaliação da capacidade de bioadsorção simultânea de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

Para determinar as melhores condições de remoção dos metais por bioadsorção ou biorremediação em batelada, foram avaliados os seguintes parâmetros: temperatura e concentração da biomassa.

A capacidade de bioadsorção de metais foi avaliada com a realização de ensaios que determinaram o tempo para que a bioadsorção de metais por *S. cerevisiae* ocorresse. Desta forma, pelo acompanhamento cinético da bioadsorção pela *S. cerevisiae* viva foi obtida a concentração de metais no efluente em um período de 24 horas. As condições do ensaio foram: 0,5 g de biomassa, pH = 6,0 e temperatura de 30 °C.

Também foi realizada a otimização das condições de bioadsorção simultânea utilizando um planejamento fatorial completo onde os parâmetros avaliados foram: pH, temperatura e concentração de biomassa e se obteve como resposta a eficiência de bioadsorção para cada metal presente no efluente.

3.5.2 Determinação da faixa de pH ideal para a bioadsorção de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

Segundo Cossich (2000) o pH é um dos parâmetros de grande influência na bioadsorção de metais pesados por leveduras. Por este motivo, para verificar o efeito do pH na bioadsorção de metais por *S. cerevisiae*, o efluente teve o pH ajustado para os valores: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0. O ajuste de pH foi realizado utilizando soluções de NaOH (1 N) e HCl (1 N).

O efluente com o pH ajustado foi testado utilizando 0,5 g de biomassa viva e morta e pelo processo de bioadsorção em batelada, mantendo-se o

sistema sob agitação e temperatura constante (30 ± 1 °C). A concentração de metais presente no efluente foi avaliada após de 4 horas de tratamento.

3.5.3 Determinação da faixa de concentração de biomassa ideal para a biossorção simultânea de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

A quantidade de biomassa apresentada na literatura varia entre 0,01 e 2,00 g/100mL (FERREIRA, 2007 e DEL RIO, 2004) desta forma neste trabalho foram realizados testes com diferentes tipos de levedura (liofilizada e resíduo de cervejaria) e em diferentes estados (viva e morta) com quantidade variando de 0,5 g a 2,0 g/100mL.

A avaliação da concentração de biomassa foi realizada utilizando o pH ótimo obtido anteriormente e o sistema foi mantido sob agitação e temperatura constante (30 ± 1 °C). A concentração de metais presente no efluente foi avaliada após de 4 horas de tratamento.

3.5.4 Determinação da faixa de temperatura ideal para a biossorção de metais por *Saccharomyces cerevisiae*.

A otimização desta variável foi conduzida em testes conforme descrito no item anterior, cinco temperaturas diferentes foram avaliadas: 10, 20, 30, 40 e 50 °C.

As melhores condições de pH e concentração de biomassa foram utilizadas para a determinação da temperatura ideal. O sistema foi mantido sob agitação e temperatura constantes. A concentração de metais foi avaliada em períodos de 4 horas.

3.6 Cinética de biossorção simultânea de metais por *Saccharomyces cerevisiae* em processo em batelada

A cinética de biossorção de metais foi realizada utilizando 1,0 g de *S. cerevisiae* liofilizada viva, com pH 6,0 e temperatura de 30 ± 1 °C. Os sistemas efluente-biomassa foram mantidos a temperatura e agitação constante por

períodos de tempo pré-determinados. Alíquotas foram retiradas e submetidas à filtração a vácuo utilizando membrana (UNIFILL) com poros de 0,45 µm para determinação de todos os metais encontrados na caracterização do efluente para avaliar a cinética de biossorção de metais.

O modelo cinético avaliado foi de primeira ordem de acordo com a Equação 01.

$$-r_{bio} = k_i C_i \quad \text{Equação 01}$$

Na qual:

$-r_{bio}$ é a velocidade de biossorção do metal i (mg/L.min)

C_i é a concentração do metal i no tempo t (mg/L)

k_i é a constante de biossorção do metal i (min⁻¹)

3.7 Otimização da biossorção em batelada

Na otimização do processo em batelada foi utilizado o resíduo de levedura viva, sendo que a concentração de metais foi avaliada após 4 horas de biossorção. As condições experimentais de biossorção foram determinadas por meio de planejamento experimental fatorial 2³ e quatro repetições no ponto central, em regime batelada. As variáveis de entrada correspondiam a concentração de biomassa, temperatura e pH.

As Tabelas 3 e 4 mostram os níveis e os fatores utilizados no modelo experimental, com quatro repetições no ponto central.

Tabela 3: Níveis e variáveis estudadas na otimização da biossorção de metais pesados por *S. cerevisiae* usando um planejamento experimental fatorial 2³.

Níveis	-1	0	+1
pH	5,0	6,0	7,0
Temperatura	20	25	30
Massa (g)	1,0	1,5	2,0

Tabela 4: Planejamento Experimental Fatorial 2³.

Experimento	pH	Temperatura (°C)	Massa (g)
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

O planejamento fatorial determina que fatores têm efeitos relevantes na resposta e, também, como o efeito de um fator varia com os níveis dos outros fatores. Também permite medir as interações entre diferentes fatores. Essas interações são o principal componente de muitos processos de otimização. Sem o uso de planejamentos fatoriais de experimentos, importantes interações de fatores não são detectadas e a otimização máxima do sistema pode levar mais tempo para ser alcançada.

No tratamento dos dados, o programa estatístico Minitab Statistical Software versão 16.0 foi empregado para obtenção dos efeitos, coeficientes e desvio padrão dos coeficientes, gráficos das superfícies de respostas e de outros parâmetros estatísticos dos modelos ajustados.

A resposta avaliada foi a eficiência de bioissorção de cada metal quantificado no efluente bruto, sendo que a eficiência foi determinada como indica a Equação 02.

$$E_i = \frac{100(C_{o_i} - C_{t_i})}{C_{o_i}} \quad \text{Equação 02}$$

Na qual:

E_i é a eficiência de bioissorção do metal i (%)

C_{o_i} é a concentração inicial do metal i quando $t = 0$ (mg/L)

C_{t_i} é a concentração do metal i no tempo t (mg/L)

Nas condições ótimas foi simulada a quantidade de cada metal bioissorvido utilizando-se a Equação 03.

$$Q_i = \frac{V(C_{o_i} - C_{t_i})}{m} \quad \text{Equação 03}$$

Na qual:

Q_i é a capacidade de bioissorção do metal i (mg/g)

C_{o_i} é a concentração inicial do metal i quando $t = 0$ (mg/L)

C_{t_i} é a concentração do metal i no tempo t (mg/L)

V é o volume do efluente (L)

m é a massa do bioissorvente (base seca) (g).

3.8 Metodologia Analítica

3.8.1 Determinação de pH

O pH foi medido potenciométricamente (Denver, modelo UB-10) usando-se um eletrodo combinado de vidro e prata/cloreto de prata.

O potenciômetro foi calibrado com soluções tampão de pH 4,00, 7,00, e 10,00 conforme indicado pelo *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (2012).

3.8.2 Metais Pesados (Cu, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn)

Os metais pesados presentes no efluente bruto e tratado foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Agilent, modelo 55A). Foi realizada a digestão, sendo transferidos 50 mL de amostra ou quantidade apropriada, em um bequer, para chegar ao nível de concentração do metal desejado. Em uma capela de exaustão de gases, foram adicionados

5mL de HNO₃ 65% e coberto com um vidro de relógio para evitar contaminação. O béquer foi colocado na chapa aquecedora e levado a uma ebulição leve. A amostra foi reduzida para o menor volume possível (10 a 20 mL) sem deixar secar. Quando necessário foi adicionado HNO₃ 65% até que a digestão estivesse completa. Após a amostra esfriar foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e filtrada com papel qualitativo quando necessário.

Após a digestão da amostra foi realizada a leitura de absorção atômica. As curvas de calibração do espectrofotômetro de absorção atômica foram preparadas a partir de soluções padrões (Specsol) de 1.000 mg/L. A concentração dos pontos tinham 0,00; 0,50, 1,00, 3,00 e 5,00 mg/L de cada metal que foi analisado.

3.8.3 Análise Sulfato

A quantificação dos íons sulfato presentes no efluente bruto e tratado foram determinadas por espectrofotometria (Merck, modelo Pharo 100), pelo método turbidimétrico. O procedimento completo está descrito no ANEXO I.

3.8.4 Análise de Fósforo Total

A quantificação do fósforo total foi obtida por espectrofotometria (Merck modelo Pharo 100) após a digestão da amostra. O procedimento completo está descrito no ANEXO II.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou a possibilidade de tratamento do efluente gerado no Laboratório de Análises Físico-Químicas Interpartner (Ponta Grossa - PR) utilizando a redução e precipitação de metais seguida da bioadsorção desses utilizando a levedura *S. cerevisiae*. Estes metais se originam principalmente na análise de determinação do teor da matéria orgânica no solo.

As análises de matéria orgânica geram um efluente contendo altas concentrações de cromo. Por ano, o laboratório realiza em média 20.000

análises de solo de todas as regiões do Brasil. Para cada amostra é gerado 100 mL de efluente bruto somado com mais dois enxagues da vidraria com água, ou seja, de 200 mL a 250 mL por amostra totalizando 4 a 5 m³ de efluente por ano.

Desde 1994 os efluentes gerados contendo metais são segregados e armazenados temporariamente em tambores plásticos de 50 L. Os tambores são identificados e encaminhados para uma empresa especializada em tratamento de resíduos Classe I, de acordo com a ABNT NBR 10004.

Neste estudo, o efluente foi primeiramente caracterizado e, devido ao grande teor de metais encontrados, passou por um tratamento prévio, onde foi adotada redução e precipitação. Em seguida foi avaliada a capacidade de bioadsorção simultânea de metais por *S. cerevisiae*.

4.1. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

As análises realizadas para a caracterização do efluente foram selecionadas levando-se em conta principalmente os reagentes e soluções utilizados no procedimento de quantificação do teor de matéria orgânica no solo, tais como: cromo, ferro, sulfato e fosfato.

Além destas análises também foi avaliada a presença de outros metais pesados (chumbo, manganês, zinco, cobre e cádmio) devido a ocorrência natural em solos e para que uma avaliação de afinidade entre os metais e o bioadsorvente pudesse ser realizada.

A Tabela 5 mostra a caracterização do efluente bruto que foi obtida por meio de análises para a determinação da concentração de sulfato, fósforo e alguns metais presentes.

Tabela 5: Caracterização do efluente bruto do laboratório de análise de solo

Parâmetro	Concentração no efluente (mg/L)	Limite CONAMA 430/11 (mg/L)
pH	0,0	5,0 a 9,0
Fe	3040,0 ± 125,0	15,0
Cr ⁺³	1880,0 ± 112,0	1,0
Pb	1,23 ± 0,60	0,5
Mn	12,5 ± 3,25	1,0
Zn	10,5 ± 2,15	5,0
Cu	0,50 ± 0,32	1,0
Cd	0,32 ± 0,25	0,2
Fósforo Total	1800,0 ± 55,0	Não consta
Sulfato	32500,0 ± 250,0	Não consta

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 430/11.

A caracterização do efluente mostrou que a maioria dos compostos analisados (valores em negrito) estão acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011).

Os valores de pH, ferro e cromo são provenientes dos reagentes analíticos requeridos pelo protocolo analítico utilizado para a determinação da matéria orgânica no solo.

Os demais metais são naturais dos solos analisados e a variação dos resultados encontrados pode estar relacionada com o fato de que são analisados solos de diferentes regiões do território nacional.

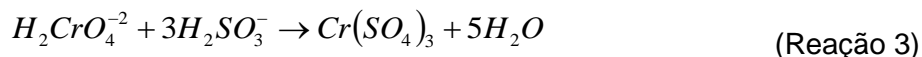
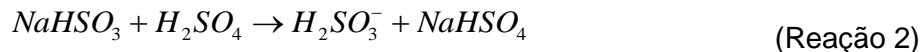
4.2. TRATAMENTO PRELIMINAR DO EFLUENTE POR REDUÇÃO E PRECIPITAÇÃO

Devido a grande quantidade de cromo presente no efluente, o mesmo sofreu um tratamento preliminar por meio da redução de cromo hexavalente ao cromo trivalente seguida da precipitação do cromo na forma de hidróxido.

Na redução do cromo hexavalente foi utilizado como indicador a difenilamina, ao invés da determinação da concentração do metal para posterior cálculo estequiométrico. Com o uso deste indicador é possível diminuir o tempo necessário bem como os custos do tratamento preliminar do

efluente.

A reação de redução ocorre apenas em meio ácido, como indicado nas reações 2 e 3, com valores de pH abaixo de 3,0.



No caso do efluente avaliado não foi necessário realizar a acidificação do meio, pois o processo de determinação de matéria orgânica no solo, que gera este efluente, utiliza ácido sulfúrico para a queima úmida por dicromato resultando em um efluente com pH 0,0.

Na presença do indicador ocorre a mudança da coloração do efluente como mostra a Figura 1. Antes de realizar a reação de redução com bissulfito de sódio a solução apresenta coloração azul escuro, na presença de difenilamina e após a reação de redução, observa-se que a coloração da solução é esverdeada e bem mais clara.

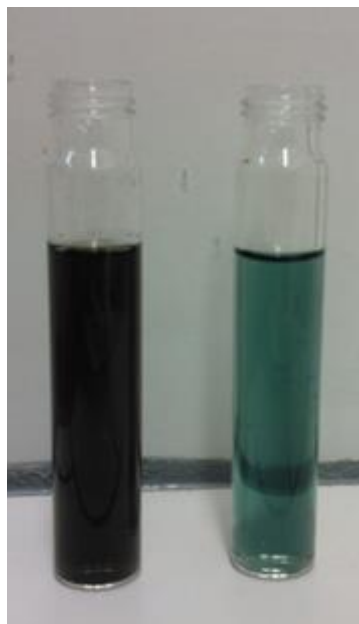
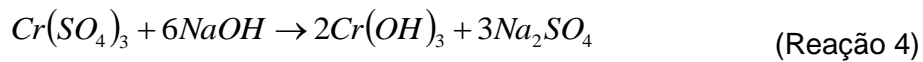


Figura 1: Coloração da solução antes e após a reação de redução. À esquerda: efluente bruto. À direita efluente após reação de redução.

Após a reação de redução foi realizada a reação de precipitação (Reação 4). O sulfato de cromo formado encontra-se solubilizado e apesar de estar em uma forma de menor toxicidade, não pode ser lançado diretamente nos corpos hídricos.



O lodo ou precipitado depositado ao fundo do recipiente apresentou coloração verde claro e o sobrenadante era translúcido levemente amarelado. O sobrenadante foi separado e armazenado para posterior utilização nos testes de biossorção.

O lodo resultante foi colocado em caixas plásticas e deixado secar naturalmente em ambiente externo protegido. A evaporação da água ocorreu de forma lenta e durou em torno de 90 dias para a secagem total. Somente com o resíduo sólido seco este foi encaminhado para destinação final por empresa especializada. A Figura 2 ilustra o processo de secagem natural do lodo com imagens após 30, 60, 75 e 90 dias de secagem.

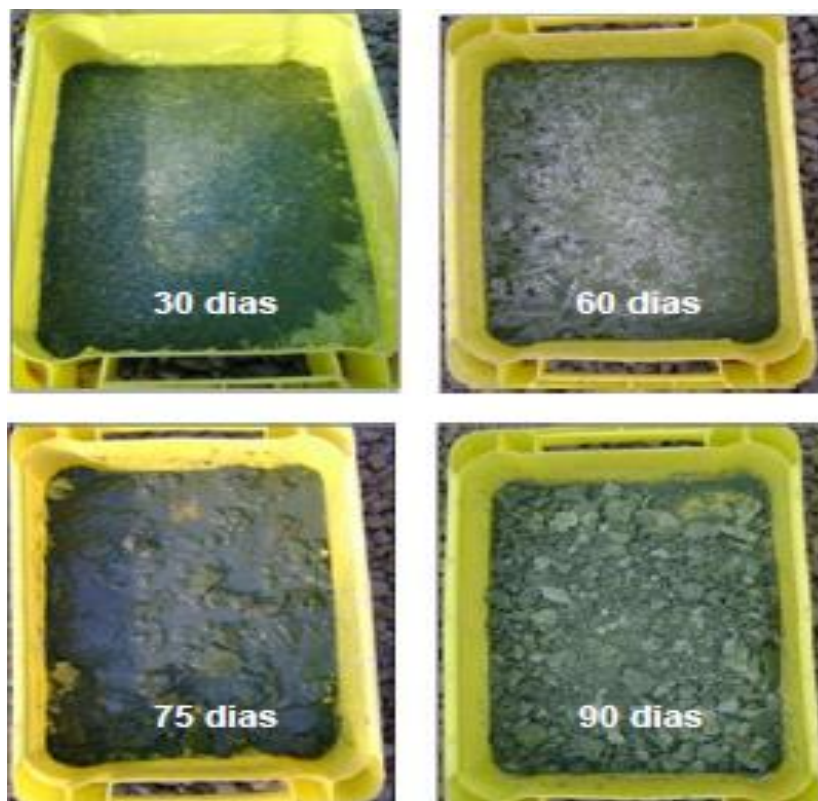


Figura 2: Processo de secagem do precipitado de cromo e ferro

4.2.1. Determinação do pH Adequado para a Reação de Precipitação de Metais

Na avaliação do pH ideal para a reação de precipitação foram realizados ensaios com diferentes valores de pH, de 5 a 10, sendo que o pH foi ajustado com soluções de NaOH 1N e HCL 1 N.

A concentração de cromo trivalente foi determinada após a redução do cromo hexavalente e precipitação do cromo trivalente. As análises foram realizadas em amostras do sobrenadante e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Concentração de cromo trivalente após a reação de precipitação em diferentes valores de pH

pH na reação de precipitação	Concentração de cromo trivalente no efluente tratado (mg/L)
5,0	54,60 ± 0,43
6,0	3,55 ± 0,08
7,0	1,29 ± 0,06
8,0	3,37 ± 0,07
9,0	9,85 ± 0,11
10,0	35,77 ± 0,22

Obs: O valor em negrito indica o pH com maior eficiência para a precipitação de metais.

Segundo Class e Maia, (1994) a reação de precipitação do cromo trivalente ocorre entre pH 8,0 a 8,5, sendo que em valores menores, ainda encontra-se $Cr(SO_4)_3$ em solução e a valores maiores (acima de 9,0) ocorre a formação de “cromito” (CrO_2), o qual também é solúvel. De acordo com Matsumoto (2006) em resíduos de galvanoplastia o pH ótimo para precipitação do cromo é de 9,70, ou seja, valores elevados de pH favorecem a precipitação do cromo trivalente.

Contudo, como indicado na Tabela 6, para o efluente analisado, o pH mais efetivo para a precipitação do cromo trivalente foi o neutro, ou seja, pH 7,0. Para valores de pH 8 e 9 a concentração residual de cromo trivalente foram de 3,37 mg/L e 9,85 mg/L, respectivamente. Estes valores foram significativamente maiores do que quando a precipitação ocorreu em pH 7

(1,29 mg/L).

De acordo com Bakalian (2012), o pH alcalino é mais adequado para a precipitação do lodo, porém neste estudo observou-se que o pH 7 foi mais eficiente, este fato pode estar relacionado a presença de outros metais no meio reacional.

Entretanto, mesmo otimizando o pH para a realização da reação de precipitação, a concentração do cromo no efluente ainda se encontrava acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente. A Tabela 7 mostra a concentração dos metais avaliados após a precipitação em pH 7 confrontando os resultados com os valores estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011).

Tabela 7: Concentração dos metais após a precipitação em pH 7.

Parâmetro	Concentração no efluente (mg/L)		Limite CONAMA 430/11 (mg/L)
	Bruto	Após redução e precipitação	
pH	0,0 ± 0,0	7,00 ± 0,05	5,0 a 9,0
Fe	3040,0 ± 125,0	1,49 ± 0,03	15,0
Cr ⁺³	1880,0 ± 112,0	1,29 ± 0,05	1,0
Pb	1,23 ± 0,60	1,20 ± 0,08	0,5
Mn	12,5 ± 3,25	0,12 ± 0,02	1,0
Zn	10,5 ± 2,15	0,15 ± 0,01	5,0
Cu	0,50 ± 0,32	0,19 ± 0,02	1,0
Cd	0,32 ± 0,25	0,30 ± 0,03	0,2

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 430/11.

No ensaio o pH foi ajustado para 7,00, dessa forma este parâmetro estava em conformidade com a legislação, como também foi possível verificar que o ferro, o manganês e o zinco se enquadraram dentro dos limites máximos permitidos, devido a eficiência do processo de precipitação, como mostrado na Tabela 8.

Tabela 8: Eficiência da remoção de metais através das reações de redução e precipitação.

Metal	Eficiência (%)
Cr ⁺³	99,93
Cd	6,25
Pb	2,44
Fe	99,95
Cu	62,00
Mn	99,04
Zn	98,57

Porém, os metais cromo, chumbo e cádmio ainda continuaram com níveis elevados, acima do permitido pela legislação, o que já era esperado pois de acordo com Gupta e Rastogi (2009) este método não é efetivo para concentrações fora da faixa de 1 a 100 mg/L.

A metodologia adotada para o ensaio de redução e precipitação é específica para o cromo hexavalente, e para tentar melhorar a remoção destes metais, um novo teste de precipitação em diferentes valores de pH foi realizado novamente, de forma a quantificar a concentração de chumbo e cádmio após o tratamento preliminar do efluente. Estes resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Concentração de cádmio e chumbo após a reação de precipitação em diferentes valores de pH

pH	Cádmio (mg/L)*	Chumbo (mg/L)**
5,0	0,19	1,15
6,0	0,21	1,15
7,0	0,21	1,15
8,0	0,21	1,15
9,0	0,21	1,15
10,0	0,22	1,15

*Concentração inicial de Cd: 0,23 mg/L ** Concentração inicial de Pb: 1,17 mg/L de Pb

Os resultados mostraram que não ocorreu a remoção dos metais cádmio e chumbo na faixa de pH avaliada. Como alternativa também foram realizados ensaios utilizando hipoclorito de sódio a 10% em várias dosagens

para a precipitação do chumbo, mas mesmo com quantidades elevadas de reagente não foi observada redução na concentração destes metais no efluente.

Por este motivo, nos demais ensaios, o pH adotado foi de 7,0.

4.3. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOSSORÇÃO SIMULTÂNEA DE METAIS POR *Saccharomyces cerevisiae*

4.3.1. Determinação da faixa de pH ideal para a bioissorção de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

Ao avaliar o comportamento da bioissorção simultânea de metais por *S. cerevisiae* foram realizados ensaios preliminares com a levedura liofilizada e cultivada em laboratório.

Nestes ensaios foi utilizada a levedura viva e o processo de bioissorção em batelada em diferentes valores de pH. Os resultados obtidos após 24 horas de bioissorção estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Determinação do pH ideal para a bioissorção de cromo por *Saccharomyces cerevisiae*

Concentração (mg/L)	Efluente		pH					
	Bruto	Tratado	3	4	5	6	7	8
Zn	10,5	0,21	0,13	0,12	0,12	0,14	0,15	0,18
Cu	0,40	0,19	0,10	0,16	0,15	0,17	0,15	0,15
Fe	3020,0	1,32	1,00	0,56	0,39	0,32	0,94	0,95
Mn	12,6	0,21	0,25	0,25	0,24	0,23	0,21	0,23
Cr ⁺³	1860,0	1,06	0,93	0,52	0,31	0,26	0,38	0,44
Cd	0,50	0,33	0,33	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Pb	1,77	1,10	0,94	0,88	0,92	0,81	0,81	0,85

Obs.: Os valores em negrito são a concentração mínima de cada metal obtida nos diferentes valores de pH. C = 1,0 g/100 mL; T = 30 °C

De acordo com Chojnacka (2010), os metais zinco, cobre, ferro, manganês, cromo, cádmio, chumbo além de outros metais podem ser removidos por bioissorção e/ou bioacumulação utilizando diferentes tipos de biomassa. Neste estudo como mostra a Tabela 10, ocorreu a remoção de todos

os metais estudados exceto do cádmio. Porém os resultados apresentados na Tabela 10 eram preliminares e as condições não estavam otimizadas.

Na Tabela 10 pode-se observar que não houve apenas um valor de pH que fosse ideal para a bioissorção de todos os metais pesados, pois para cada metal há um valor específico. Em negrito estão destacados os valores de concentração mais baixos obtidos após 24 horas de contato da levedura com o efluente e na Figura 3 é mostrada a eficiência de bioissorção simultânea dos metais presentes no efluente.

Os dados tanto da Tabela 10 como da Figura 3 indicam que a faixa ótima de pH para a bioissorção de metais se encontra entre 5,00 e 7,00, porém em pH 6,00 três dos sete metais analisados atingiram o ponto ótimo de bioissorção, com uma eficiência total de bioissorção de 48,64%. Isto demonstra que neste valor de pH um maior número de metais pode ser removido do efluente, quando comparado com outros valores de pH (Figura 3). Por este motivo, o pH 6 foi escolhido para dar sequência nos testes realizados.

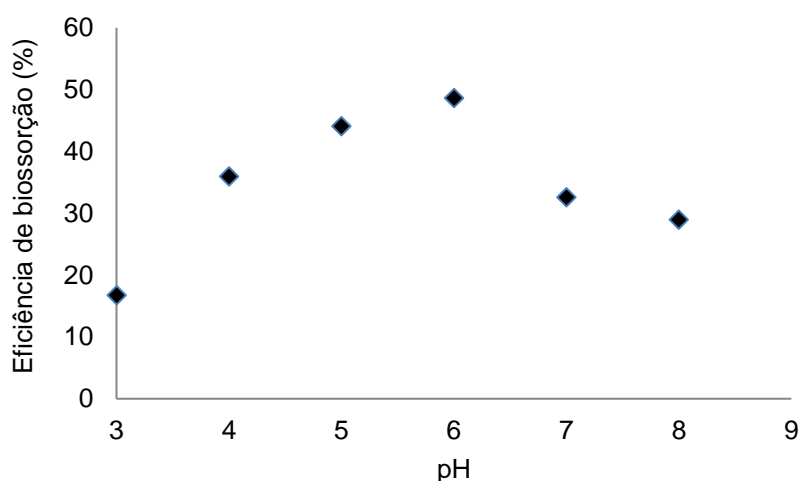


Figura 3: Eficiência da bioissorção simultânea de metais

4.3.2. Cinética de bioissorção de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

Além do ensaio para obtenção do melhor pH para a bioissorção de metais, foi realizado um ensaio cinético utilizando 1 g de levedura viva para 100mL de efluente para avaliar o tempo necessário para a bioissorção de metais em batelada.

O ensaio foi realizado por 24 horas e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4, a qual indica que na primeira hora de contato do efluente com a levedura a concentração de metais foi reduzida, e após 3 horas a concentração de metais presente no efluente não sofreu mais alterações, indicando que o equilíbrio foi atingido.

Desta forma o tempo de 4 horas foi escolhido para dar sequência nos testes realizados de forma a garantir que o processo de biossorção de metais por *S. cerevisiae* fosse efetivamente realizado.

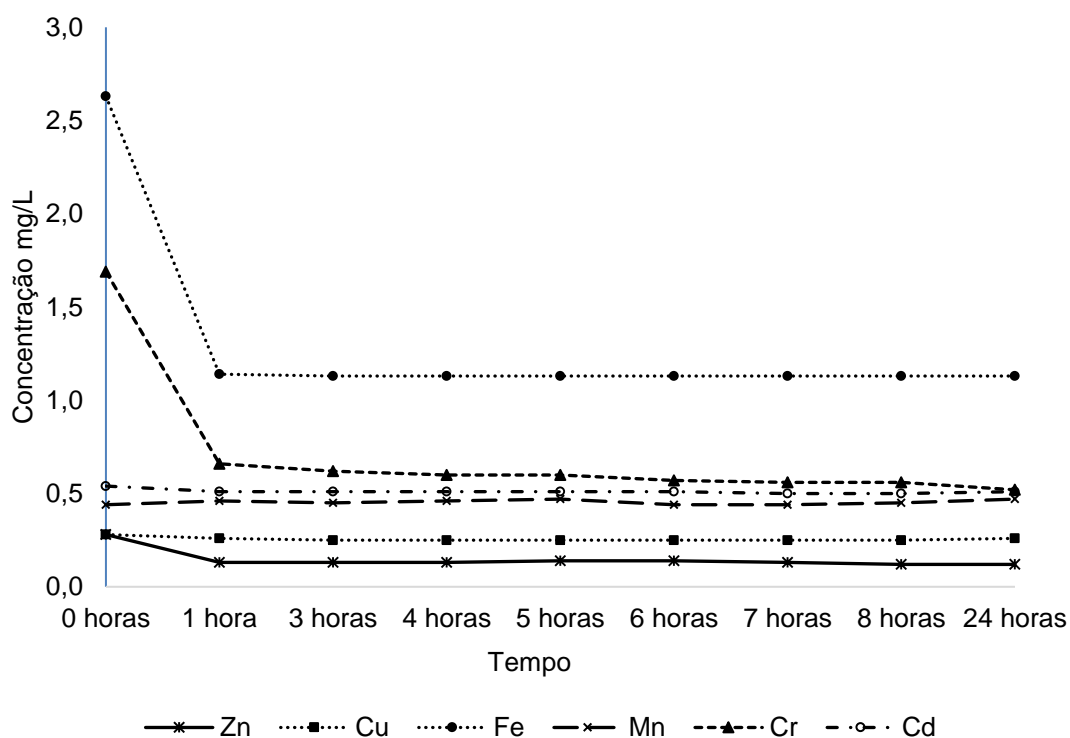


Figura 4 – Cinética de biossorção em batelada por biomassa liofilizada viva de *S. cerevisiae* (C = 1,0 g/ 100 mL; pH = 6,0; T = 30 °C)

Os ensaios para se obter o melhor pH e da cinética de biossorção serviram de base para avaliar a capacidade de biossorção simultânea de metais por *S. cerevisiae*.

Bassi et al. (2000) e Cossich (2000) também avaliaram estes parâmetros para a biossorção de metais, porém utilizaram como biomassa flocos de quitosana e alga marinha (*Sargassum sp*), respectivamente.

4.3.3. Determinação da faixa de concentração de biomassa ideal para a bioissorção simultânea de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

Estabelecida a melhor faixa de pH e o tempo necessário para a bioissorção por *S. cerevisiae* em batelada foi avaliada a capacidade de bioissorção com diferentes quantidades de biomassa. Neste ensaio dois tipos de leveduras foram avaliados: levedura liofilizada e resíduo de levedura de indústria cervejeira. Os ensaios também foram realizados com a levedura viva e morta.

A quantidade de biomassa adotada foi de 0,5 g e de 1,0 g de levedura viva e morta por 100 mL do efluente estudado. Os resultados obtidos para a bioissorção simultânea de metais em batelada para levedura liofilizada, viva e morta, estão apresentados nas Tabelas 11 e 12, respectivamente.

Estes resultados indicam a concentração do metal no efluente após a etapa de redução e precipitação (concentração inicial) e após 4 horas de bioissorção, bem como a eficiência de bioissorção.

Tabela 11 – Bioissorção por levedura liofilizada viva para diferentes metais utilizando diferentes concentrações de biomassa

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Concentração após 4 horas de bioissorção (mg/L)		Eficiência da bioissorção (%)	
		0,5 g*	1,0 g *	0,5 g*	1,0 g*
Cr ⁺³	1,28	0,59 ± 0,01	0,37 ± 0,02	53,9	71,4
Cd	0,30	0,23 ± 0,01	0,18 ± 0,01	23,3	40,0
Pb	1,20	0,88 ± 0,01	0,82 ± 0,01	26,7	31,7
Fe	1,49	0,50 ± 0,01	0,28 ± 0,01	66,4	81,2
Cu	0,19	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,01	21,1	36,8
Mn	0,12	0,11 ± 0,00	0,10 ± 0,01	8,3	16,7
Zn	0,15	0,19 ± 0,01	0,30 ± 0,01	-	-

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela

Resolução CONAMA 430/11

* massa de *S. cerevisiae* /100 mL de efluente. pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Os resultados (Tabela 11) obtidos com a levedura liofilizada viva mostraram que houve a remoção dos metais cromo, cádmio, chumbo, ferro e cobre, e que uma maior quantidade de biomassa proporcionou uma melhor eficiência de bioissorção para todos os metais analisados exceto para o zinco.

O cromo e o ferro, metais com as concentrações mais altas no efluente, foram os que tiveram melhor afinidade com a levedura, portanto, a maior eficiência de remoção, 71,4 % e 81,2 %, respectivamente.

Os resultados (Tabela 12) para a bioissorção com levedura liofilizada morta mostraram que também houve a remoção dos metais cromo, cádmio, chumbo, ferro e cobre, porém com uma eficiência inferior quando comparada com a levedura liofilizada viva.

Tabela 12 – Bioissorção por levedura liofilizada morta para diferentes metais para diferentes concentrações de biomassa

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Concentração após 4 horas de bioissorção (mg/L)		Eficiência da bioissorção (%)	
		0,5 g*	1,0 g *	0,5 g*	1,0 g*
Cr ⁺³	1,28	0,74 ± 0,01	0,55 ± 0,01	42,2	57,0
Cd	0,30	0,23 ± 0,00	0,17 ± 0,00	23,3	43,3
Pb	1,20	1,14 ± 0,02	1,07 ± 0,02	5,00	10,8
Fe	1,49	0,65 ± 0,01	0,37 ± 0,01	56,4	75,2
Cu	0,19	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,01	26,3	42,1
Mn	0,12	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,00	0,00
Zn	0,15	0,19 ± 0,01	0,32 ± 0,01	-	-

* massa de *S. cerevisiae* /100 mL de efluente. pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011).

Existem diferenças na capacidade de remoção de metais entre o estado da biomassa viva e morta, de acordo com Volesky e Holan (1995) este processo consiste de vários mecanismos complexos (troca-iônica, quelação, absorção, aprisionamento de íons) e quando a levedura estava vida diferentes mecanismos podem ter ocorrido, pois, cada caso tem suas especificidades.

Segundo Del Rio (2004) em ambiente controlado e amostras de efluentes sintéticos, o cádmio é bioissorvido melhor com a levedura morta, o que não foi observado neste estudo.

Este fato pode ter ocorrido devido ao método escolhido para a morte celular, autoclavação a 121°C por 20 minutos, pode ter influenciado no processo por causa da temperatura elevada e pressão, que pode ter causado alguma mudança ou dano na estrutura celular.

Nos trabalhos de Del Rio (2004) e Volesky et al. (1992), a bioissorção com levedura morta apresentou melhores resultados, porém nestes estudos a morte celular foi realizada em estufa a 60°C por 48 horas, o que pode ter mantido a integridade da estrutura celular.

Em relação ao manganês e zinco, não houve remoção, tanto para levedura liofilizada viva tanto como morta. A concentração do zinco aumentou tanto para levedura liofilizada viva e morta, sendo que a concentração aumentou em até 113,33 %. Este aumento na concentração de zinco não ocorreu com o resíduo de levedura (Tabelas 13 e 14), indicando que estes metais poderiam estar presentes na levedura obtida da *Fermentis*.

Assim foi realizada uma análise da levedura liofilizada para quantificar os níveis totais de zinco, ferro, manganês e cobre, a metodologia foi a mesma usada para quantificar os metais no efluente. Os resultados encontrados foram a presença de 233,0 mg/Kg de Zinco 31,5 mg/Kg de Ferro; 6,0 mg/Kg de Manganês e 2,5 mg/Kg de Cobre.

A concentração elevada de alguns metais, principalmente do zinco, está relacionada com a reativação da levedura. O zinco é um nutriente importante por isso um excesso deste elemento é adicionado ao levedo para que quando em condições adequadas ele se desenvolva corretamente (PALMER, 2006).

Segundo De Nicola et al (2007) as leveduras exigem uma gama de metais para um crescimento ótimo, para o metabolismo e para o desempenho

de fermentação, mas o zinco parece ser um cofator para inúmeras enzimas biosintéticas, metabólicas, glicolíticas e álcool desidrogenases. O zinco também é conhecido por modular as respostas de estresse do levedo e ter algum efeito na estabilidade e dinâmica das membranas celulares. Em cervejarias, o zinco é ativamente assimilado do mosto pelo levedo.

A mesma quantidade de biomassa adotada para a levedura liofilizada foi adotada para o resíduo de levedura de indústria cervejeira. Os resultados obtidos para a bioissorção simultânea de metais em batelada para resíduo de levedura, viva e morta, são mostrados nas tabelas 13 e 14, respectivamente.

Tabela 13 – Bioissorção por resíduo de levedura de indústria cervejeira viva para diferentes metais para diferentes concentrações de biomassa

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Concentração após 4 horas de bioissorção (mg/L)		Eficiência da bioissorção (%)	
		0,5 g*	1,0 g *	0,5 g*	1,0 g*
Cr ⁺³	1,28	0,66 ± 0,00	0,45 ± 0,01	48,4	64,8
Cd	0,30	0,25 ± 0,01	0,22 ± 0,01	16,7	26,7
Pb	1,20	0,94 ± 0,02	0,86 ± 0,01	21,7	28,3
Fe	1,49	0,67 ± 0,00	0,56 ± 0,03	55,0	62,4
Cu	0,19	0,17 ± 0,01	0,12 ± 0,01	10,5	36,8
Mn	0,15	0,10 ± 0,00	0,08 ± 0,01	33,3	46,7
Zn	0,12	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,01	16,7	33,3

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 430/11.

* massa de *S. cerevisiae* /100 mL de efluente. pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Tabela 14 – Bioissorção por resíduo de levedura de indústria cervejeira morta para diferentes metais e para diferentes concentrações de biomassa.

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Concentração após 4 horas de bioissorção (mg/L)		Eficiência da bioissorção (%)	
		0,5 g*	1,0 g *	0,5 g*	1,0 g*
Cr ⁺³	1,28	0,80 ± 0,01	0,63 ± 0,01	37,5	50,8

Cd	0,30	0,25 ± 0,00	0,21 ± 0,01	16,7	30,0
Pb	1,20	1,16 ± 0,01	1,10 ± 0,01	3,33	8,30
Fe	1,49	0,74 ± 0,01	0,58 ± 0,01	50,3	61,1
Cu	0,19	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01	5,26	10,5
Mn	0,15	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,00	13,3	26,7
Zn	0,12	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01	16,7	25,0

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 430/11.

* massa de *S. cerevisiae* /100 mL de efluente. pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Os ensaios de bioissorção utilizando o resíduo da levedura da indústria cervejeira também apresentaram resultados positivos removendo parcialmente todos os metais, inclusive manganês e zinco. Também foi verificada uma melhor eficiência quando foi utilizada uma maior quantidade de biomassa para todos os metais analisados.

Porém a eficiência de bioissorção foi inferior quando comparada ao processo de bioissorção com levedura liofilizada, exceto para o manganês e o zinco. A Tabela 15 compara a eficiência de bioissorção para os dois tipos de levedura (liofilizada e resíduo da indústria cervejeira) adotados tanto viva como morta, utilizando-se 1,0 g de biomassa/100 mL de efluente.

Tabela 15 – Comparação da eficiência de bioissorção para a levedura liofilizada (viva e morta) e resíduo de levedura da indústria cervejeira (viva e morta).

Metal	Eficiência da bioissorção (%)			
	Levedura viva		Levedura morta	
	Liofilizada	Resíduo	Liofilizada	Resíduo
Cr ⁺³	71,4	64,8	57,0	50,8
Cd	40,0	26,7	43,3	30,0
Pb	31,7	28,3	10,8	8,3
Fe	81,2	62,4	75,2	61,1
Cu	36,8	36,8	42,1	10,5
Mn	16,7	46,7	0,0	26,7
Zn	-	33,3	-	25,0

Total	54,1	49,9	42,7	38,9
-------	------	------	------	------

C = 1,0 g /100 mL; pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Os dados apresentados na Tabela 15 mostram que a eficiência da bioissorção foi, em geral, melhor quando se utilizou a levedura liofilizada. O uso de levedura liofilizada viva, exceto para o cádmio e cobre, apresentou melhor eficiência da bioissorção fato que pode estar relacionado com os mecanismos de retenção envolvidos, reserva de nutrientes e/ou com o método de morte celular adotado.

Analisando a Tabela 15, pode-se perceber que o cobre e o cádmio foram os únicos metais que apresentaram melhores resultados de remoção utilizando a levedura morta. Nestes casos, a taxa de remoção foi um pouco superior do que com a levedura viva. Desta forma o uso da levedura viva elimina uma etapa do processo diminuindo o custo do tratamento.

O uso da levedura cervejeira permite realizar o tratamento do efluente por bioissorção com menor custo e sem a necessidade de ativação da levedura liofilizada. Quando se utilizou o resíduo de levedura a eficiência da bioissorção foi inferior ao uso da liofilizada, porém o aproveitamento de um resíduo para tratar o efluente estudado apresenta vantagens ambientais e foi este o foco deste trabalho.

4.3.3.1 Cinética de bioissorção de metais com diferentes tipos e estados de *S. cerevisiae*

Simultaneamente ao estudo para a determinação da faixa de concentração de biomassa ideal para a bioissorção de metais foi realizada uma avaliação da cinética de bioissorção para cada metal avaliado, e, os resultados estão apresentados nas Figuras 5 a 11 para 0,5 g e 1,0 g de levedura viva e morta para cada 100 mL de efluente.

Os dados cinéticos obtidos para a bioissorção do cromo trivalente (Figura 5) mostraram que a bioissorção foi mais efetiva para a levedura viva. Para este metal, tanto para a levedura viva como morta, ocorreu uma queda acentuada da concentração do cromo trivalente nos primeiros 30 minutos, para

a levedura viva a concentração de cromo trivalente reduziu até atingir, em 60 minutos, valores inferiores a 0,40 mg /L (1,0 g/100 mL) e a partir deste ponto não ocorreu alteração significativa. Para a levedura morta a partir de 30 minutos a concentração de cromo trivalente praticamente se manteve constante sendo que o valor de cromo residual foi, aproximadamente, 0,50 mg/L (1,0 g/100 mL).

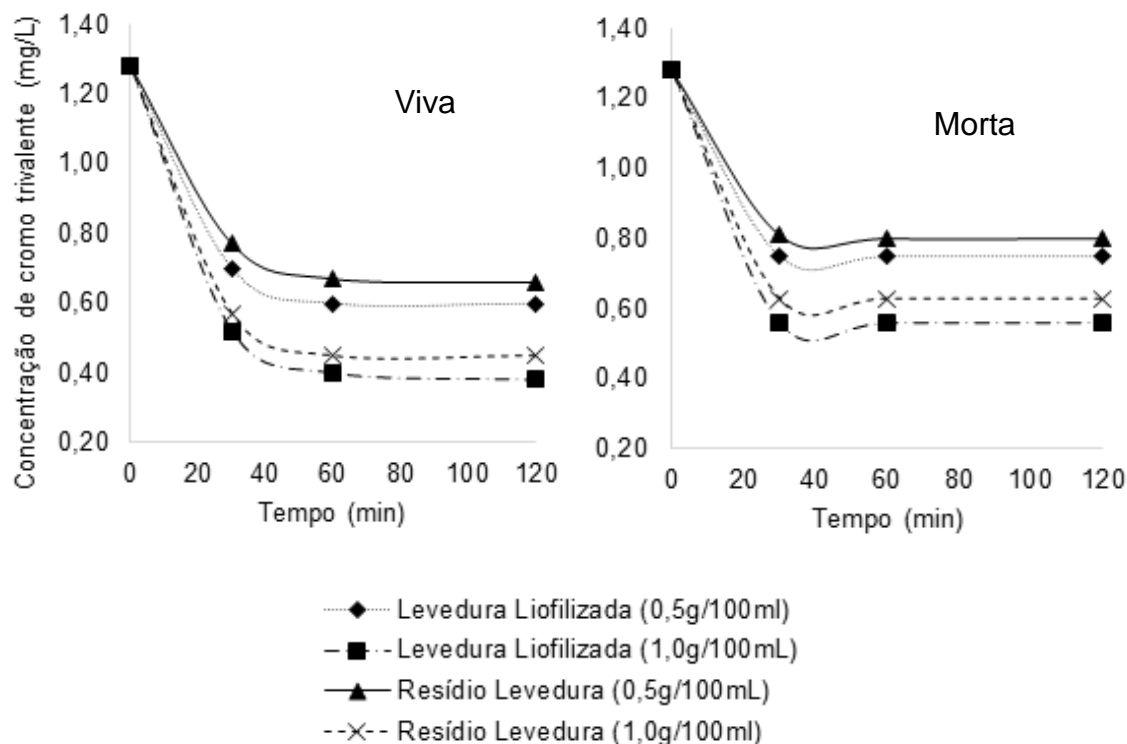


Figura 5: Cinética de biossorção de cromo trivalente por *S. cerevisiae*.
pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Gupta *et al.* (2001) obteve uma eficiência de biossorção do cromo hexavalente (concentração inicial de 1mg/L) utilizando a alga *Spyrugira sp* de aproximadamente 23% e Cossich (2000) obteve uma eficiência de biossorção do cromo trivalente (concentração inicial de 161,92 mg/L) utilizando a alga *Sargassum sp* de aproximadamente 50%. Neste estudo a eficiência de biossorção de cromo trivalente foi de aproximadamente 70%, o que indica que a concentração inicial, o tipo de biomassa e o metal a ser biossorvido influenciam no processo.

A Figura 6 apresenta os dados cinéticos da biossorção do cádmio, nesta figura pode-se observar que tanto a biomassa liofilizada quanto o resíduo

de levedura tiveram baixa efetividade de bioissorção em relação a remoção do cromo trivalente. A remoção deste metal foi um pouco melhor com a levedura viva do que com a levedura morta e em ambos os casos a maior queda foi registrada nos primeiros 30 minutos. Após o período de 60 minutos de contato da levedura com o efluente não houve mudança na concentração do metal que estabilizou em, aproximadamente, 0,20 mg/L.

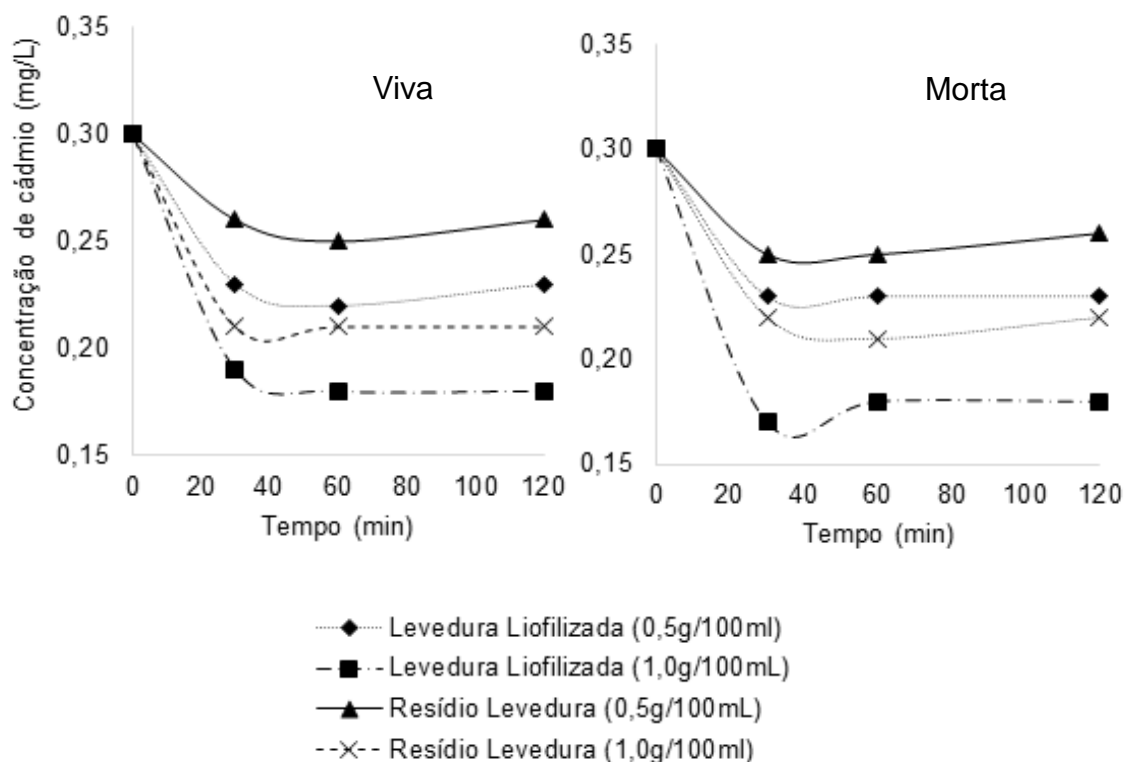


Figura 6: Cinética de bioissorção de cádmio por *S. cerevisiae*.
 pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

As cinéticas de bioissorção do chumbo (Figura 7) mostram, que o comportamento cinético de bioissorção entre a levedura liofilizada e o resíduo de levedura foram semelhantes. As leveduras no estado morto tiveram uma eficiência inferior, no mínimo 50%, do que para as leveduras vivas. A maior parte da bioissorção ocorreu nos primeiros 30 minutos e os níveis alcançados após 2 horas foram de, aproximadamente, 0,80 mg/L com a levedura viva e 1,10 mg/L com a levedura morta.

O chumbo foi o único metal que ficou com concentração acima dos níveis estabelecidos pela legislação vigente. De acordo com Mattuschka e Straube (1993) a capacidade de bioissorção do cromo pelo *Streptomyces*

noursei é maior que a do chumbo, fato também observado neste estudo com a *S. cerevisiae*.

O ferro foi o cátion, com a maior interação com a biomassa exceto para o resíduo de levedura vivo. Os dados cinéticos de bioissorção (Figura 8) mostram que a biomassa viva removeu poucos miligramas de ferro a mais que a levedura morta e o processo foi similar tanto para a levedura liofilizada como para o resíduo de levedura.

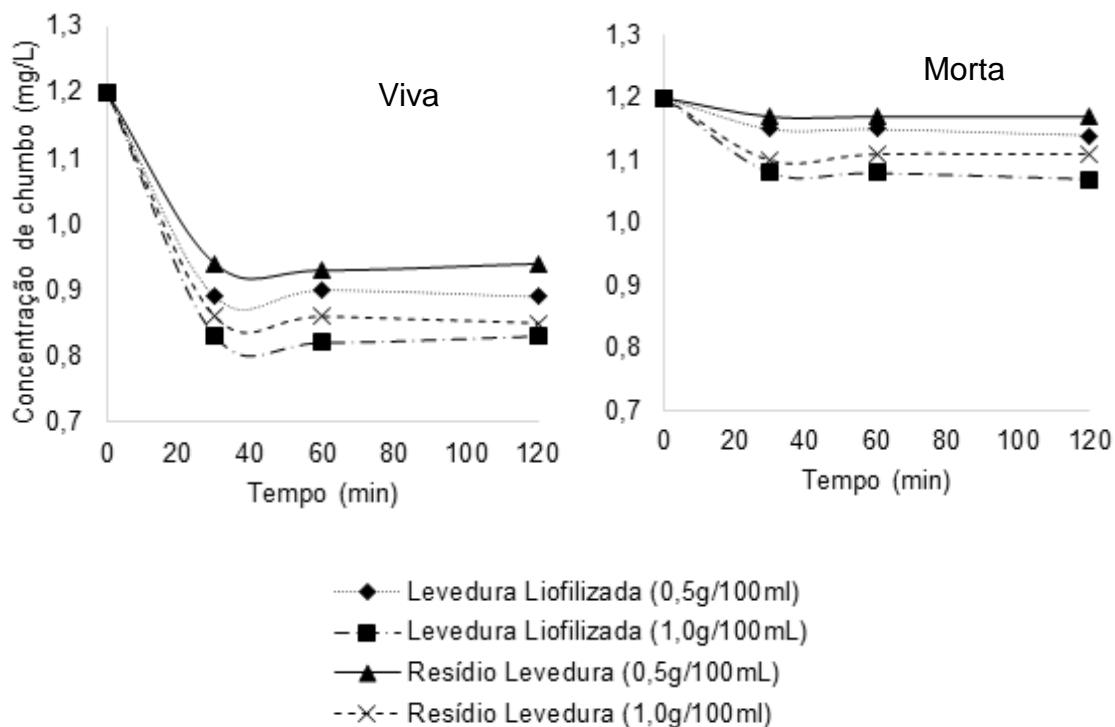
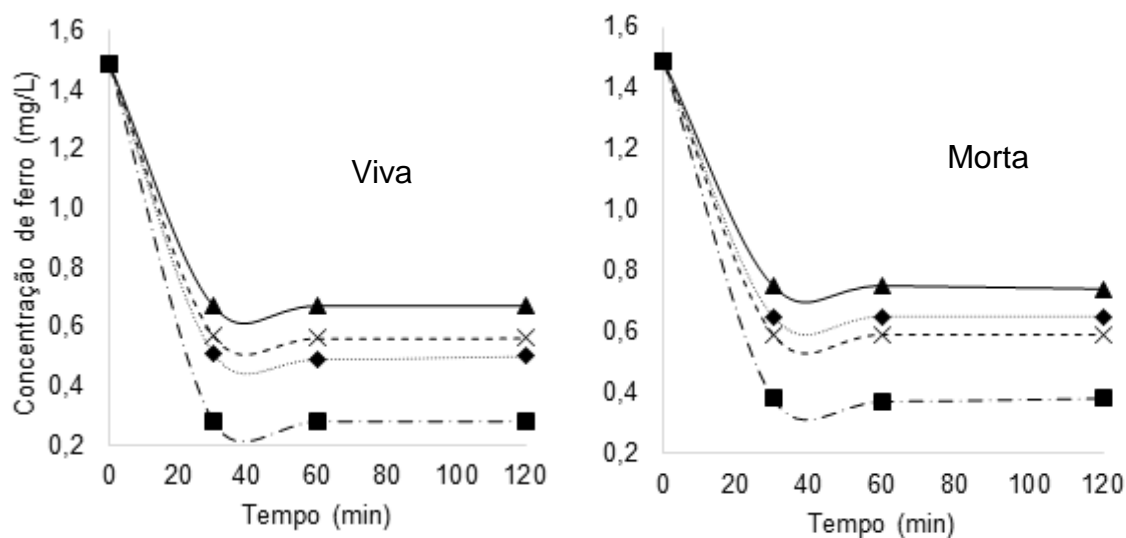


Figura 7: Cinética de bioissorção de chumbo por *S. cerevisiae*.

pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C



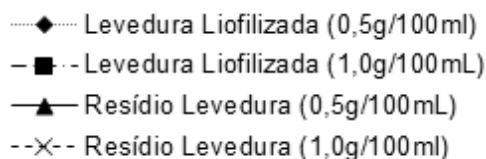


Figura 8: Cinética de bioissorção de ferro por *S. cerevisiae*.

pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Para a bioissorção do ferro, após 30 minutos de contato do efluente com a biomassa, a concentração não sofreu alteração e após 60 minutos o sistema estava praticamente em equilíbrio. A concentração residual de ferro ao se atingir o equilíbrio do sistema foram de, aproximadamente, 0,40 mg/L e 0,60 mg/L para a levedura viva e morta, respectivamente.

A Figura 9 apresenta os dados cinéticos da bioissorção do metal cobre. Para o cobre os melhores resultados foram alcançados com a levedura liofilizada morta, ao contrário dos outros metais. Dentre os ensaios com a biomassa viva, os dois tipos de levedura apresentaram a mesma eficiência, tendo a maior remoção dos metais nos primeiros 30 minutos. Os níveis mais baixos encontrados para este metal foram de aproximadamente 0,10 mg/L para ambas as leveduras. Após 60 minutos de contato entre a biomassa e o efluente o sistema não teve mudanças significativas.

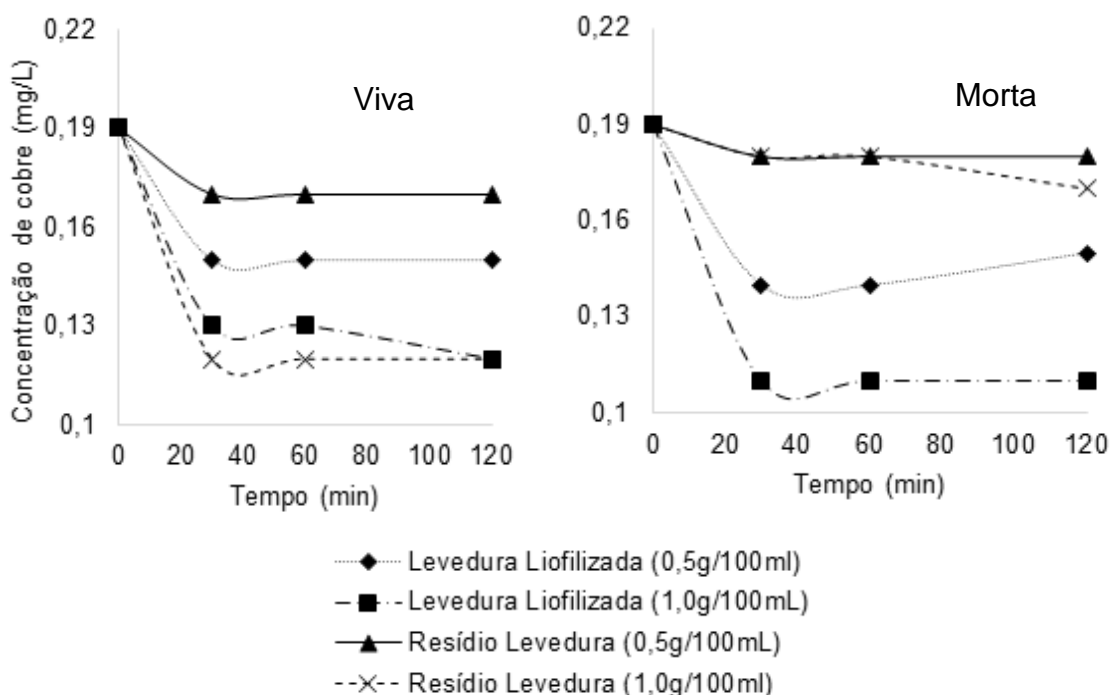


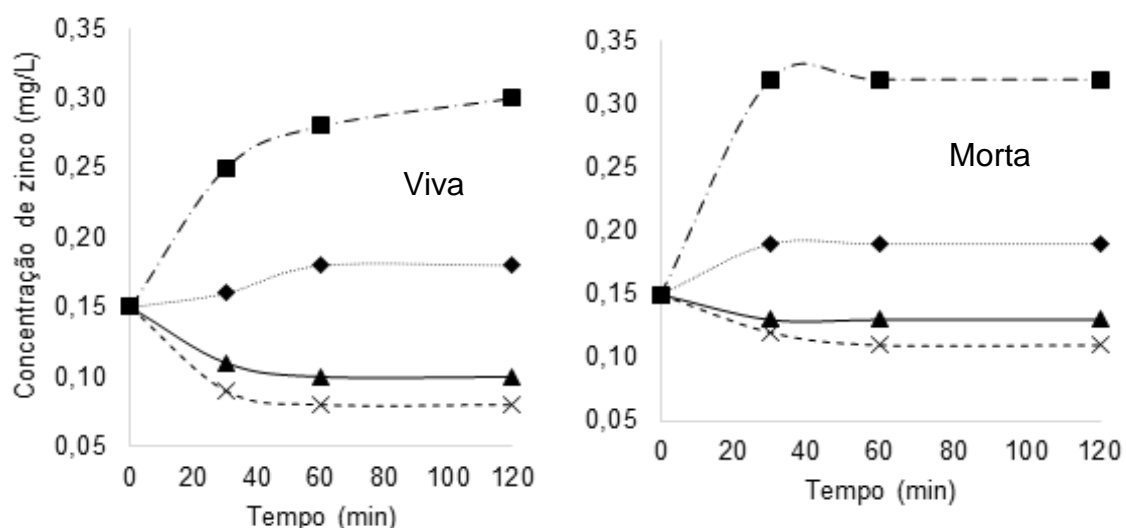
Figura 9: Cinética de bioissorção de cobre por *S. cerevisiae*.

pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

De acordo com Mattuschka e Straube (1993) a capacidade de bioissorção do cobre pelo *Streptomyces noursei* é menor que a do chumbo, porém a afinidade de bioissorção destes metais pelo *S. cerevisiae* foi inversa, ou seja, a capacidade de bioissorção do cobre foi maior que a do chumbo.

A Figura 10 apresenta a cinética de bioissorção para o zinco. Neste caso, o comportamento cinético para a levedura liofilizada viva e morta, foi diferente de todos os demais metais estudados. A concentração do zinco, ao invés de diminuir, aumentou de 0,15 mg/L para aproximadamente 0,30 mg/L. Como explicado anteriormente, o zinco estava presente na levedura liofilizada e é um nutriente importante para a reativação da biomassa.

O resíduo de levedura apresentou um comportamento similar aos outros metais. A eficiência foi um pouco melhor para o resíduo de levedura viva, 33%, contra 25% para o resíduo de levedura morta, indicando uma baixa taxa de remoção. A maior parte da bioissorção ocorreu nos primeiros 30 minutos e após 60 minutos o sistema estava praticamente em equilíbrio. Os menores níveis alcançados do metal zinco foram de aproximadamente 0,10 mg/L.



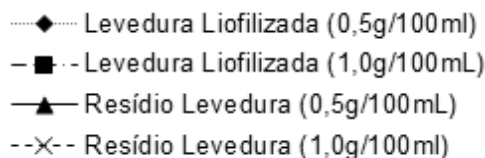


Figura 10: Cinética de bioissorção de zinco por *S. cerevisiae*.

pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Os dados cinéticos obtidos para o manganês (Figura 11) mostraram que a bioissorção ocorreu para ambas as leveduras no estado vivo, mas no estado morto ela só foi efetiva para o resíduo de levedura. Neste caso, com a utilização da levedura liofilizada, não houve alteração na concentração inicial do manganês. A concentração residual de manganês alcançada foi de, aproximadamente, 0,10 mg/L

A bioissorção do manganês no geral foi baixa e a maior parte da remoção ocorreu nos primeiros 30 minutos. Após 60 minutos o sistema chegou ao equilíbrio não havendo alterações após esse período. Parvathi, et al. (2007) obtiveram o equilíbrio da bioissorção de manganês em 20 minutos indicando que o processo de remoção é rápido.

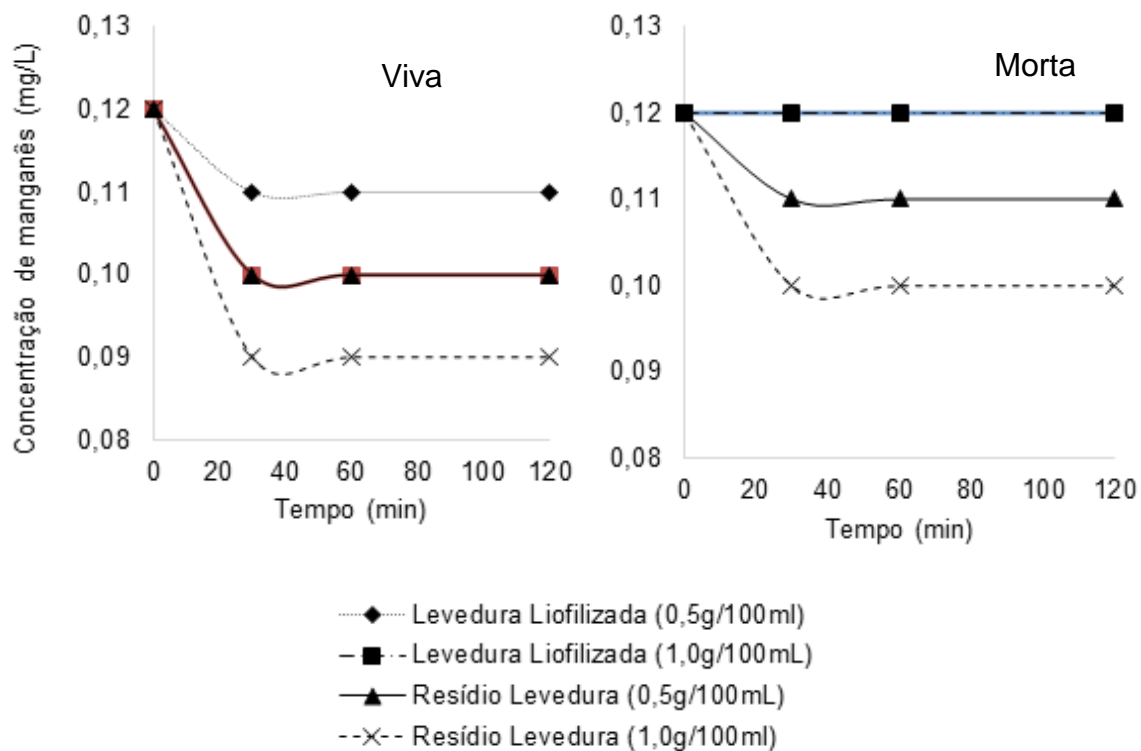


Figura 11: Cinética de bioissorção de manganês por *S. cerevisiae*.

pH = 6,0; T = 30 ± 1 °C

Com o estudo cinético foi possível observar que a velocidade de bioadsorção para os metais presentes no efluente tratado é um processo que ocorre em menos de 60 minutos, indiferente do tipo de levedura adotada (liofilizada ou resíduo de levedura) bem como do seu estado (viva ou morta).

O fato da bioadsorção ser um processo relativamente rápido permite que o efluente seja tratado em um curto intervalo de tempo, com uma pequena área necessária para o tratamento.

4.3.4. Determinação da faixa de temperatura ideal para a bioadsorção de metais por *Saccharomyces cerevisiae*

A temperatura também é um fator que exerce influência na bioadsorção, por este motivo foi realizada a otimização desta variável, assim determinadas as melhores condições de pH, tempo de bioadsorção e quantidade da biomassa, foram realizados ensaios para estabelecer a condição ideal de temperatura. A faixa de temperatura avaliada foi de 10 a 50 °C em intervalos de 10 °C.

Determinadas as melhores condições de pH, tempo de bioadsorção e quantidade da biomassa, foram realizados ensaios para estabelecer a condição ideal de temperatura. A faixa de temperatura avaliada foi de 10 a 50 °C em intervalos de 10 °C.

A obtenção da faixa ótima de temperatura para a bioadsorção de metais por *S. cerevisiae* foi realizada com a levedura liofilizada viva. O pH do meio foi ajustado para 6,0 e a quantidade de biomassa utilizada foi de 1,0 g para cada 100mL de efluente, pois com estas condições foram alcançados os melhores resultados nos testes de bioadsorção para determinação do pH e concentração de biomassa.

Os resultados obtidos após 4 horas de bioadsorção simultânea do efluente em batelada estão apresentados na Tabela 16.

Com os dados da Tabela 16 foi possível determinar a eficiência da bioadsorção para cada temperatura avaliada e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 16 – Biossorção por levedura liofilizada viva para diferentes metais em diferentes temperaturas. pH = 6,0, C = 1,0 g/100mL

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Concentração após 4 horas de biossorção (mg/L)				
		10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
Cr ⁺³	1,67	0,61	0,53	0,52	1,12	1,32
Cd	0,21	0,14	0,13	0,12	0,21	0,21
Pb	1,15	1,04	0,86	0,85	1,12	1,12
Fe	1,85	0,65	0,60	0,58	1,03	1,22
Cu	0,31	0,23	0,24	0,23	0,29	0,29
Mn	0,15	0,13	0,13	0,10	0,15	0,15
Zn	0,18	0,32	0,33	0,34	0,75	0,86

Obs.:

C = 1,0 g/100mL; pH = 6,0

Os valores obtidos com as melhores taxas de remoção de metais foram na temperatura de 30°C, observa-se na Tabela 16 que acima de 40°C existe uma tendência na redução na eficiência de remoção dos metais estudados.

Todos os resultados na faixa de temperatura de 10 °C a 30°C, exceto para o chumbo, encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 430/11(BRASIL, 2011).

Com relação ao zinco, nas temperaturas analisadas houve um aumento na concentração deste metal. A origem do zinco, como já foi descrito anteriormente, vem da própria levedura liofilizada.

Tabela 17 – Eficiência da biossorção por levedura liofilizada viva para diferentes metais em diferentes temperaturas. pH = 6,0, C = 1,0 g/100mL

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Eficiência da biossorção (%)				
		10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
Cr ⁺³	1,67	63,5	68,3	68,9	32,9	21,0
Cd	0,21	4,2	4,8	5,4	0,0	0,0
Pb	1,15	6,6	17,4	18,0	1,8	1,8
Fe	1,85	71,9	74,9	76,0	49,1	37,7

Cu	0,31	4,8	4,2	4,8	1,2	1,2
Mn	0,15	1,2	1,2	3,0	0,0	0,0

C = 1,0 g/100mL; pH = 6,0

Analisando os resultados mostrados na Tabela 17, foi possível verificar que a melhor eficiência de bioissorção, para todos os metais, foi obtida na temperatura de 30°C, acima desta temperatura ocorre uma diminuição da eficiência. Porém com a temperatura de 20°C os resultados obtidos foram similares aos da temperatura de 30°C, dessa forma a faixa de 20°C a 30°C pode ser considerada como ótima para a bioissorção de metais.

Temperaturas superiores a 30°C reduzem, significativamente a capacidade de bioissorção de metais pela levedura, sendo que para o cádmio e manganês a bioissorção não ocorreu, devido as características do processo de bioissorção.

4.3.4.1 Cinética de bioissorção simultânea de metais utilizando com levedura liofilizada viva

O acompanhamento cinético da bioissorção simultânea de metais foi realizado com o objetivo de se estabelecer o tempo ótimo para o processo e a determinação dos parâmetros cinéticos considerando que a bioissorção segue uma cinética de primeira ordem. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Acompanhamento cinético da bioissorção de metais por *S. cerevisiae*.

Tempo (minutos)	0	15	30	60	240
Cr ⁺³ (mg/L)	1,67	0,72	0,53	0,52	0,52
Cd (mg/L)	0,21	0,13	0,12	0,12	0,12
Pb (mg/L)	1,15	1,04	0,86	0,85	0,85
Fe (mg/L)	1,85	0,59	0,60	0,58	0,58
Cu (mg/L)	0,31	0,24	0,23	0,23	0,23

Mn (mg/L)	0,15	0,13	0,11	0,10	0,10
T = 30 ± 1 °C; pH = 6,0, C = 1,0 g/100mL					

Com os dados apresentados na Tabela 18 foi possível observar que o tempo de bioadsorção foi de aproximadamente 30 minutos e, a partir deste tempo de contato da levedura com o efluente a redução da concentração de metais foi insignificante. Com base nestas informações foi obtido o gráfico da Figura 12, no qual a redução da concentração foi avaliada somente pelo período de 30 minutos, para melhor avaliar o comportamento cinético da bioadsorção.

A Figura 12 mostra que a cinética de bioadsorção ocorre de forma diferente para dois grupos de metais. A cinética de bioadsorção para o cromo trivalente e do ferro apresentaram um comportamento similar, estes metais apresentam maior afinidade com a biomassa e, portanto, a remoção dos mesmos ocorre em maior proporção. Hamza et al (2010) utilizaram a *S. cerevisiae* para a bioadsorção do cádmio, zinco e cobre, e a cinética de bioadsorção para o cobre apresentou um perfil compatível com o obtido neste estudo (Figura 12).

Em função disto os valores da constante cinética foram similares (Tabela 19) e uma cinética de primeira ordem representa o comportamento cinético para o cromo trivalente ($R^2 = 0,93$). Contudo, considerando que a cinética de bioadsorção do ferro seja de primeira ordem o ajuste para este modelo foi baixo e apresentou um R^2 de 0,74.

O modelo de primeira ordem apresentou um ajuste desfavorável, pois a redução da concentração de ferro após 15 minutos de bioadsorção foi praticamente constante (0,60 mg/L) indicando que o equilíbrio foi atingido antes de 30 minutos (Tabela 18). Seria necessário reavaliar a cinética da bioadsorção do ferro em intervalos de tempo menores.

O segundo grupo de metais que apresentou um comportamento similar foi composto pelo cádmio, chumbo, cobre e manganês. Ferreira et al (2007) estudaram a cinética de bioadsorção do chumbo e obtiveram para a concentração inicial de 3,40 mg/L um comportamento cinético muito próximo ao apresentado na Figura 12, quando os autores utilizaram concentração inicial de 0,282 mg/L a cinética de bioadsorção apresentou um perfil com as mesmas

características da bioissorção de cromo e ferro apresentadas na Figura 12. Hamza et al (2010) estudaram a bioissorção do cádmio e os resultados obtidos mostraram que a capacidade de bioissorção do cádmio é praticamente constante confirmando os resultados apresentados na Tabela 18.

Para o cádmio, chumbo, cobre e manganês a constante de bioissorção foi de aproximadamente $0,01 \text{ min}^{-1}$. Assim o modelo de primeira ordem representa o processo de bioissorção do manganês ($R^2 = 0,998$) e chumbo ($R^2 = 0,9693$). Porém para o cádmio e cobre o ajuste foi de aproximadamente $R^2 = 0,85$, pois a bioissorção destes metais após 15 minutos foi baixa e muito próximo do equilíbrio.

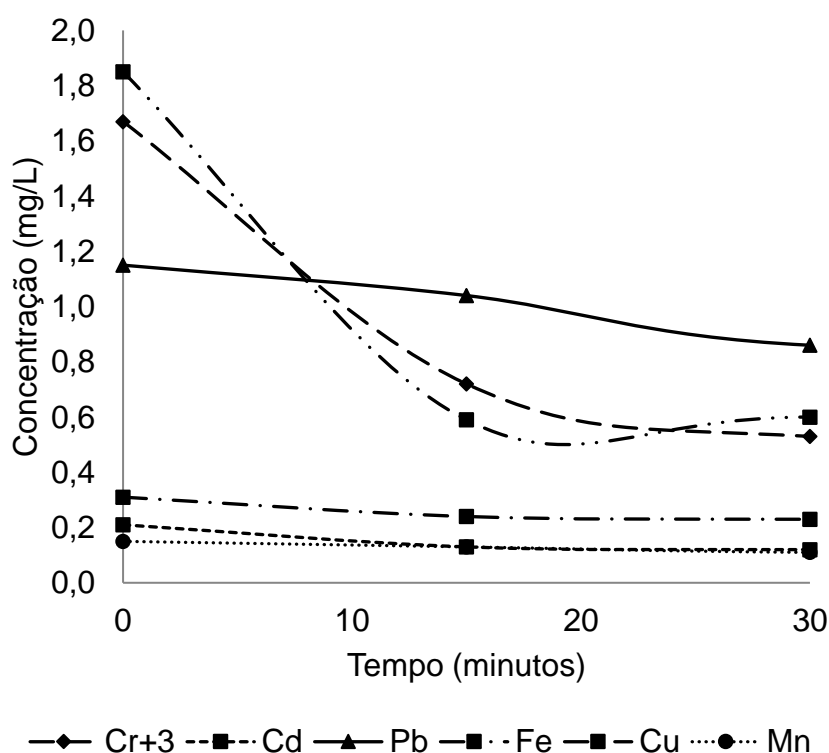


Figura 12: Cinética de bioissorção de metais por *S. cerevisiae* liofilizada viva.

$T = 30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 6,0$, $C = 1,0 \text{ g/100mL}$

Tabela 19 – Parâmetros do modelo cinético de primeira ordem ($-r_{bio} = k_i C_i$)

Metal	k_i (min^{-1})	R^2
Cr ⁺³	0,0383	0,9325
Cd	0,0187	0,8548
Pb	0,0097	0,9693

Fe	0,0375	0,7388
Cu	0,0099	0,8545
Mn	0,0103	0,9980

T = 30 °C; pH = 6,0, C = 1,0 g/100mL

A cinética de bioissorção do zinco ficou comprometida neste estudo, porém de acordo com Hamza et al (2010) a capacidade de bioissorção do zinco varia de 1,03 a 3,46 mg/g em função do pH adotado.

4.3.5. Otimização da bioissorção em batelada

Com o objetivo de se obter as condições ideais para o tratamento do efluente por bioissorção em batelada com *S. cerevisiae* no efluente testado realizou-se um estudo de otimização. Para tal foi realizado um planejamento experimental fatorial 2³ e quatro repetições no ponto central e tendo como resposta a eficiência de bioissorção total e de cada metal avaliado.

Os níveis adotados para cada variável analisada foram definidos com base nos resultados obtidos para as melhores faixas de pH, concentração de biomassa e temperatura. Para o pH foi definido como ponto central o pH 6, a concentração de biomassa foi de 1,0 g/100 mL e este valor foi considerado como o nível -1. A faixa de temperatura avaliada foi de 20°C a 30°C, pois nesta faixa foram obtidas as melhores eficiências de bioissorção de metais, esses valores, foram considerados como os níveis -1 e +1, respectivamente.

O processo de bioissorção em batelada foi otimizado utilizando o resíduo de levedura viva obtido de indústria cervejeira. Apesar deste resíduo, nos estudos preliminares, apresentar uma eficiência menor que a levedura liofilizada, o mesmo apresenta menor custo e permite o uso deste resíduo antes do seu descarte final minimizando possíveis impactos ambientais.

As Tabelas 20 e 21 apresentam os experimentos realizados, os níveis adotados, as concentrações residuais dos metais após 4 horas de bioissorção com resíduo de *S. cerevisiae* em batelada e a eficiência da bioissorção para cada metal e total as quais foram obtidas pela Equação 02.

Os experimentos foram realizados em três blocos (três dias) em função das temperaturas dos ensaios, ou seja, todos os experimentos que de acordo com o planejamento seriam realizados a 20 °C foram realizados no primeiro dia, os ensaios a 25 °C no segundo dia e finalmente no terceiro dia foram realizados os ensaios a 30 °C.

Tabela 20: Experimentos realizados, os níveis adotados, concentração inicial do metal no efluente e concentração do metal após 4 horas de biossorção por resíduo de levedura de *S. cerevisiae* de cervejaria em batelada

				Concentração (mg/L)						
				Cr ⁺³	Fe	Pb	Cu	Zn	Mn	Cd
Concentração inicial (mg/L)				1,73	0,98	1,08	0,15	0,45	0,17	0,18
Experimento	pH	Temperatura (°C)	Massa (g/100mL)							
1	5,0	20	1,0	0,45	0,26	0,89	0,13	0,38	0,14	0,17
2	7,0	20	1,0	0,47	0,56	0,83	0,13	0,36	0,11	0,15
3	5,0	30	1,0	0,44	0,24	0,89	0,13	0,37	0,14	0,17
4	7,0	30	1,0	0,47	0,56	0,83	0,13	0,36	0,11	0,15
5	5,0	20	2,0	0,34	0,13	0,85	0,10	0,30	0,10	0,16
6	7,0	20	2,0	0,37	0,31	0,78	0,10	0,28	0,07	0,13
7	5,0	30	2,0	0,32	0,12	0,85	0,09	0,29	0,10	0,16
8	7,0	30	2,0	0,36	0,29	0,78	0,09	0,26	0,07	0,13
9	6,0	25	1,5	0,21	0,08	0,80	0,11	0,34	0,09	0,16
10	6,0	25	1,5	0,20	0,08	0,80	0,11	0,34	0,09	0,16
11	6,0	25	1,5	0,21	0,08	0,82	0,11	0,33	0,09	0,16

12 6,0 25 1,5 0,19 0,08 0,81 0,12 0,34 0,09 0,15

Tabela 21: Experimentos realizados, os níveis adotados e a eficiência da bioissorção de metais com resíduo de levedura *S. cerevisiae* obtida da indústria cervejeira

Experimento	pH	Temperatura (°C)	Massa (g/100mL)	Eficiência da bioissorção (%)							
				Cr ⁺³	Fe	Pb	Cu	Zn	Mn	Cd	Total
1	5,0	20	1,0	73,99	73,47	17,59	13,33	15,56	17,65	5,56	48,95
2	7,0	20	1,0	72,83	42,86	23,15	13,33	20,00	35,29	16,67	44,94
3	5,0	30	1,0	74,57	75,51	17,59	13,33	17,78	17,65	5,56	49,79
4	7,0	30	1,0	72,83	42,86	23,15	13,33	20,00	35,29	16,67	44,94
5	5,0	20	2,0	80,35	86,73	21,30	33,33	33,33	41,18	11,11	58,23
6	7,0	20	2,0	78,61	68,37	27,78	33,33	37,78	58,82	27,78	56,96
7	5,0	30	2,0	81,50	87,76	21,30	40,00	35,56	41,18	11,11	59,28
8	7,0	30	2,0	79,19	70,41	27,78	40,00	42,22	58,82	27,78	58,23
9	6,0	25	1,5	87,86	91,84	25,93	26,67	24,44	47,06	11,11	62,45
10	6,0	25	1,5	88,44	91,84	25,93	26,67	24,44	47,06	11,11	62,45
11	6,0	25	1,5	87,86	91,84	24,07	26,67	26,67	47,06	11,11	62,24
12	6,0	25	1,5	89,02	91,84	25,00	20,00	24,44	47,06	16,67	62,03

De acordo com Chojnacka (2010), os metais zinco, cobre, ferro, manganês, cromo, cádmio e chumbo além de outros metais podem ser removidos por bioabsorção e/ou bioacumulação utilizando diferentes tipos de biomassa. Neste estudo como mostra a Tabela 21 foi possível obter uma eficiência total de remoção destes metais em condições otimizadas 62,4%. Porém, cada metal avaliado apresentou condições específicas ótimas para a sua remoção, por exemplo, a melhor eficiência de remoção do cromo foi com pH 6,00, 1,5g/100 mL e temperatura de 25°C, para o manganês a melhor eficiência de remoção é com pH 7,00, 2,0g/100 mL e temperatura de 30°C.

Os resultados da eficiência da bioabsorção (Tabela 21) foram analisados com auxílio do programa *Minitab Statistical*, versão 16.0, com um intervalo de confiança de 95 %. Assim foi possível obter os efeitos, coeficientes e desvio padrão, gráficos de contorno de respostas e as equações que modelam o processo de bioabsorção em batelada para cada metal em termos de eficiência, e também a eficiência total da bioabsorção por *S. cerevisiae*.

Os principais resultados da análise estatística estão apresentados na sequência e os resultados completos estão apresentados no Anexo III.

Avaliando os resultados da eficiência total da bioabsorção simultânea de metais pelo resíduo de levedura viva foi possível obter os gráficos de contorno de resposta com relação ao pH e temperatura (Figura 13), pH e biomassa (Figura 14) e temperatura e biomassa (Figura 15).

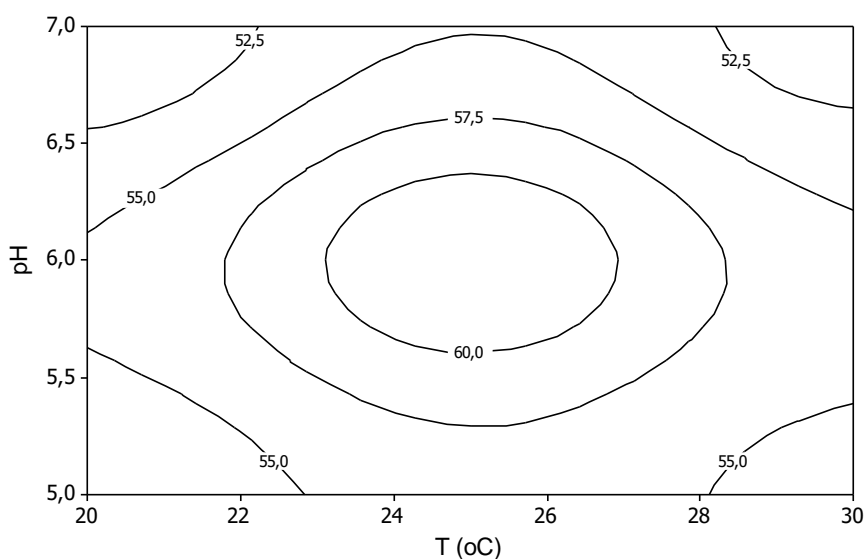


Figura 13 – Resposta da eficiência total da bioissorção de metais por resíduo de levedura em relação ao pH e temperatura.

Com a otimização das condições de bioissorção em batelada (Figura 13), a eficiência total de bioissorção foi de 60 %, sendo que esta foi obtida quando se utilizou o resíduo de levedura viva para a bioissorção simultânea de metais nas seguintes condições: pH 6,0, temperatura de 25 ± 1 °C e com uma concentração de 1,5 g /100 mL de efluente.

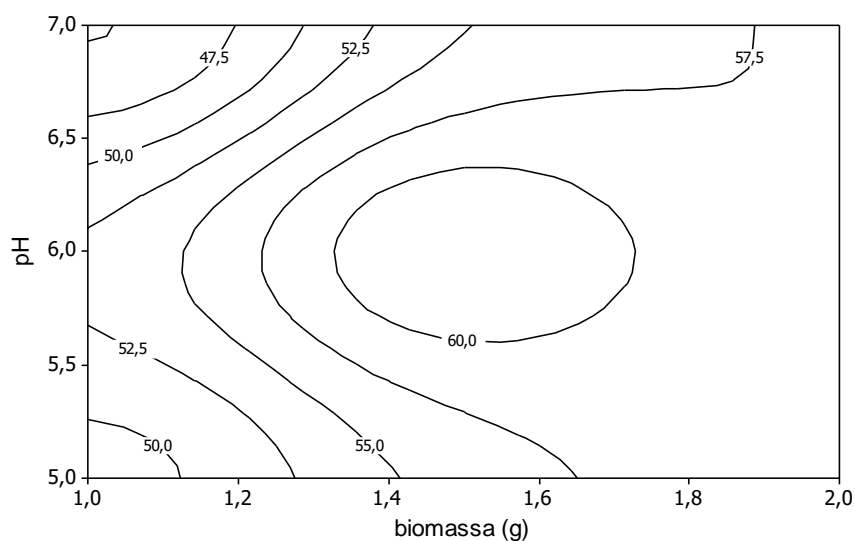


Figura 14 – Resposta da eficiência total da bioissorção de metais por resíduo de levedura em relação ao pH e biomassa.

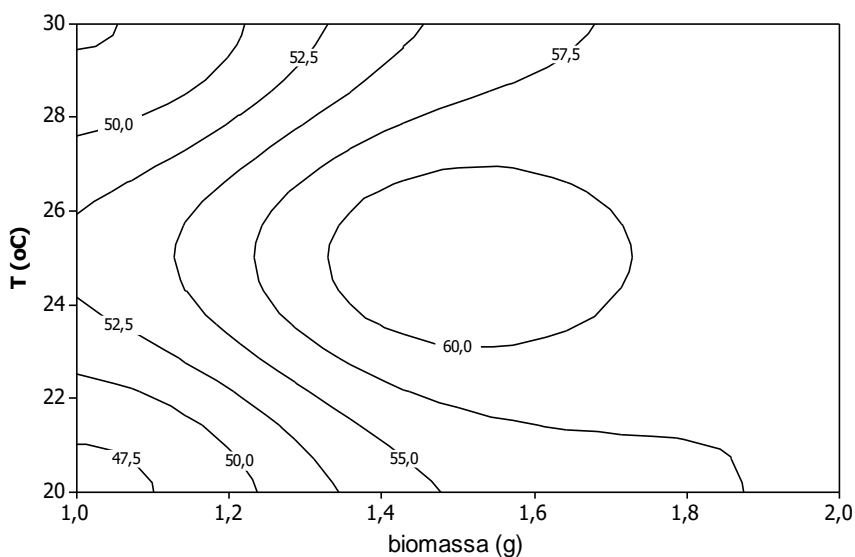


Figura 15 – Resposta da eficiência total da bioissorção de metais por resíduo de levedura em relação à temperatura e biomassa.

O ajuste dos dados experimentais conduziu a um R^2 de 99,91 %, o que garante a confiabilidade dos resultados obtidos. Contudo, uma alta eficiência total da bioissorção não garante que as condições estão otimizadas para todos os metais analisados. Desta forma, foi realizada a otimização para cada metal individualmente. Os gráficos para cada metal estão apresentados nas Figuras de 16 a 22, estas figuras permitiram a obtenção da Tabela 22.

Tabela 22 – Comparação da eficiência de bioissorção de metais para resíduo de levedura da indústria cervejeira: viva e otimizada

Metal	Eficiência da bioissorção (%) com resíduo de levedura viva		pH	T (°C)	Biomassa (g/100 mL)
	Condições não otimizadas*	Condições otimizadas			
Cr ⁺³	64,8	87,5	5,75 – 6,25	24 - 26	1,4 – 1,6
Cd	26,7	25,0	>7,00	20 - 30	> 2,0
Pb	28,3	26,0	>7,00	20 - 30	> 2,0
Fe	62,4	90,0	5,75 – 6,25	24 - 26	1,4 – 1,6
Cu	36,8	35,0	5,00 -7,00	> 30	> 2,0
Mn	46,7	50,0	> 7,00	20 - 30	> 2,0
Zn	33,3	35,0	> 7,00	20 - 30	> 2,0

*C = 1,0 g /100 mL; pH = 6,0; T = 30 °C

Como mostra a Tabela 22, a eficiência da bioissorção em condições otimizadas foi maior para o cromo e ferro em comparação com as condições não otimizadas, ou seja, obtidas variando apenas um parâmetro e resumidas na Tabela 15. Para os demais metais a eficiência para as condições otimizadas e não otimizadas foi praticamente a mesma.

Isto indica que, se a bioissorção de metais do efluente estudado for realizada com 1,4 a 1,6 g de resíduo de levedura viva por 100 mL de efluente, com pH entre 5,75 e 6,25 e mantendo-se o efluente sob temperatura entre 24 a 26 °C e agitação constante durante 60 minutos, a eficiência de remoção do

cromo trivalente será de 87,5% e do ferro de 90,0%.

Após as etapas de tratamento do efluente por reações de redução e precipitação, a concentração de ferro se enquadra na legislação vigente, porém, o mesmo não ocorre com a concentração de cromo trivalente. O efluente tratado apresentou 1,29 mg/L, quando deveria estar com no máximo 1,0 mg/L. Nas condições otimizadas, com uma eficiência de remoção de 87,5% a concentração de cromo trivalente é reduzida para 0,16 mg/L e, portanto, o efluente está dentro dos limites permitidos pela Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011).

A eficiência de biossorção para o cádmio, chumbo, cobre, manganês e zinco, os resultados indicam que as condições de pH, temperatura e concentração de biomassa não atingiram o seu ponto ótimo. Desta forma novos ensaios poderiam ser realizados visando atingir as melhores condições de biossorção para o metal que se deseja remover do efluente.

Os resultados mostraram que a faixa de temperatura avaliada para o cádmio e manganês é a ótima, porém melhores eficiências (Figuras 17 e 21) poderiam ser obtidas nos níveis máximos para o pH e concentração de biomassa, 7,0 e 2 g/100 mL, respectivamente.

A faixa de pH entre 6,0 e 7,0 com relação ao cobre, foi definida como ótima (Figura 20), contudo as condições de e concentração de biomassa não atingiram o ótimo e ensaios adotando temperaturas superiores a 30 °C concentração de biomassa acima de 2 g/100 mL poderiam permitir obter uma eficiência de biossorção acima de 35%.

A eficiência de biossorção do zinco também poderia ser superior a 35 % se uma nova otimização fosse realizada adotando como nível -1 uma concentração de biomassa de 2 g/100 mL, o pH do meio 7,0 e temperatura da biossorção em batelada de operando a 30 °C.

Contudo, as concentrações de cádmio, cobre, manganês e zinco após a etapa de redução e precipitação já se encontravam abaixo dos limites exigidos pela legislação e, portanto, a etapa de biossorção permite obter níveis ainda menores destes metais pesados no efluente a ser lançado no corpo receptor.

Porém, o chumbo merece atenção, pois sua concentração no efluente

tratado era de 1,20 mg/L quando o permitido é de no máximo 0,5 mg/L.

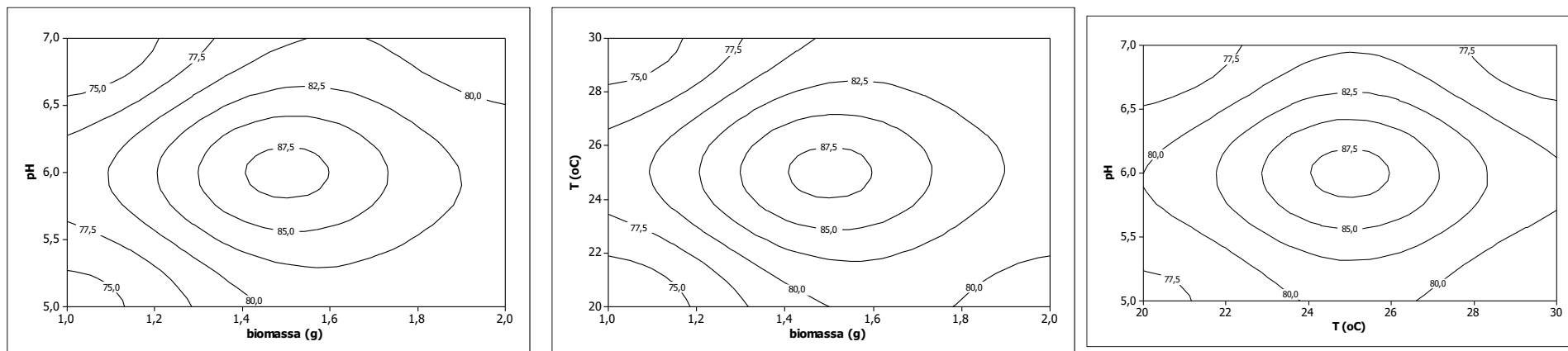


Figura 16 – Respostas da eficiência total da bioissorção de cromo trivalente por resíduo de levedura viva

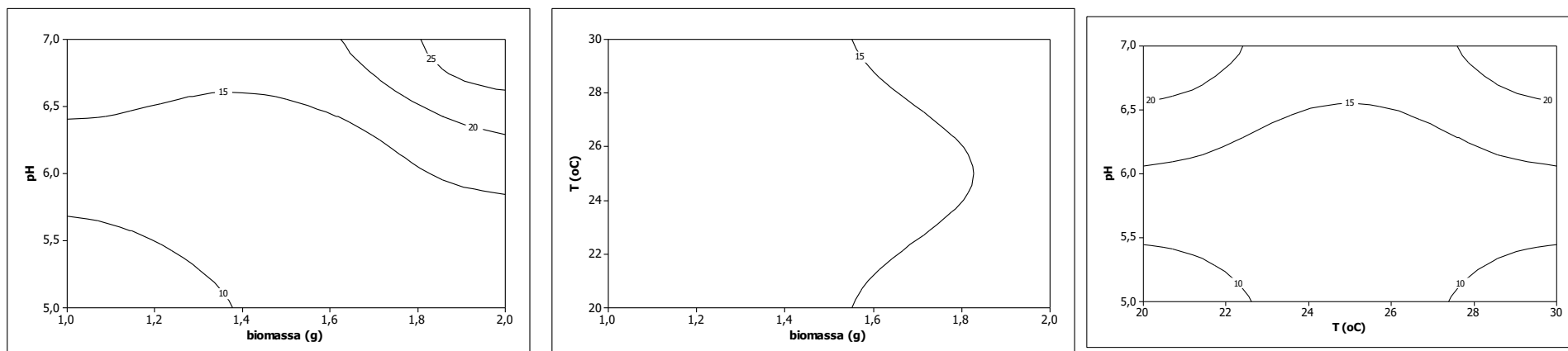


Figura 17 – Respostas da eficiência total da bioissorção de cádmio por resíduo de levedura viva

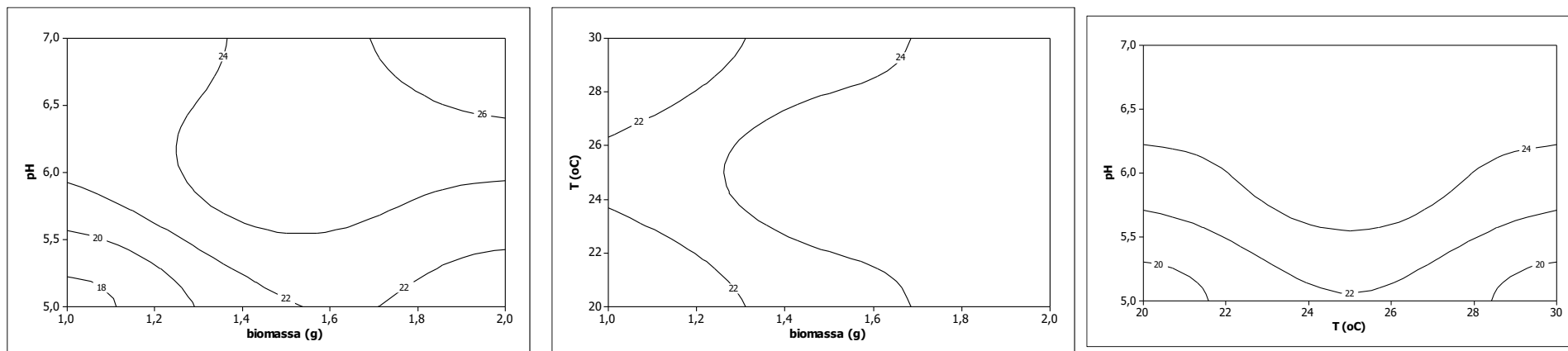


Figura 18 – Respostas da eficiência total da bioissorção de chumbo por resíduo de levedura viva

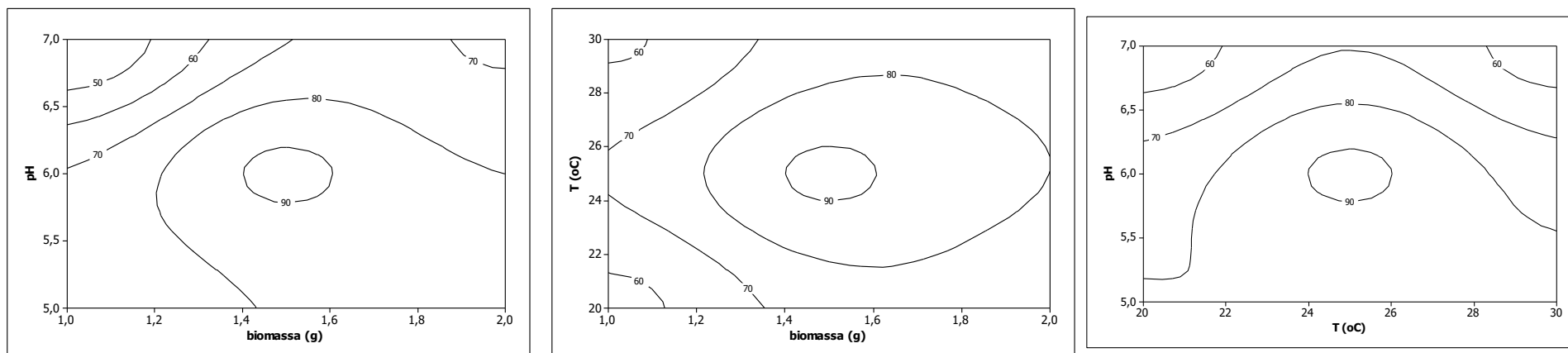


Figura 19 – Respostas da eficiência total da bioissorção de ferro por resíduo de levedura viva

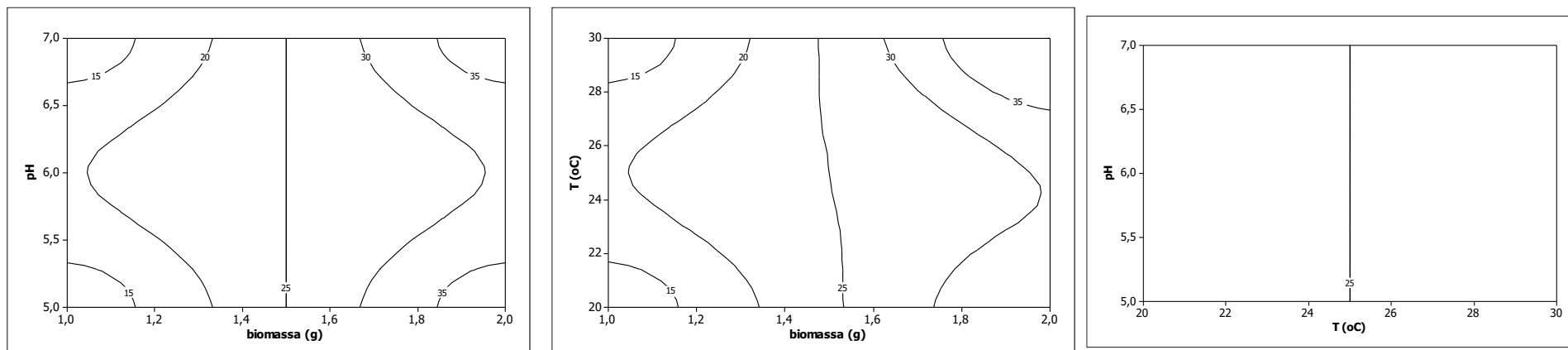


Figura 20 – Respostas da eficiência total da bioacumulação de cobre por resíduo de levedura viva

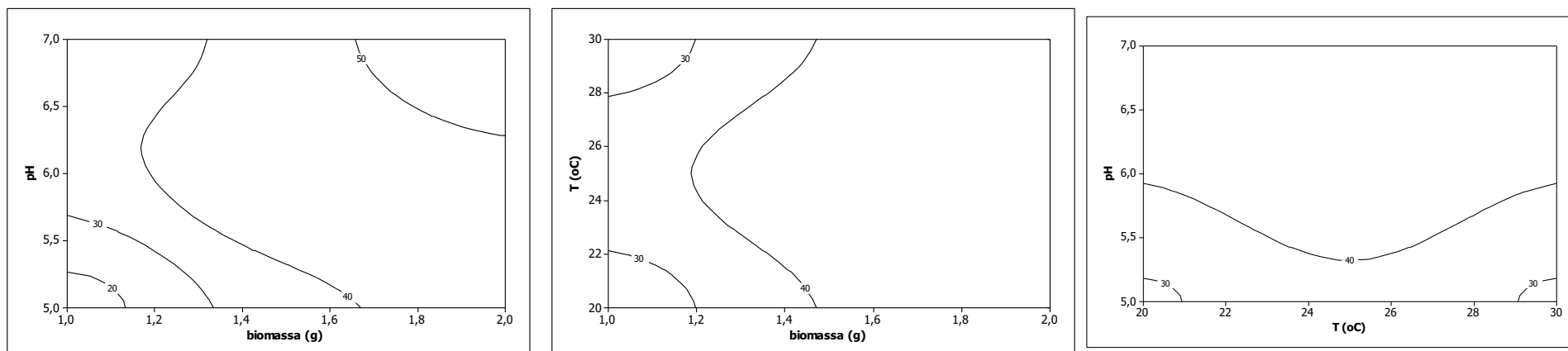


Figura 21 – Respostas da eficiência total da bioacumulação de manganês por resíduo de levedura viva

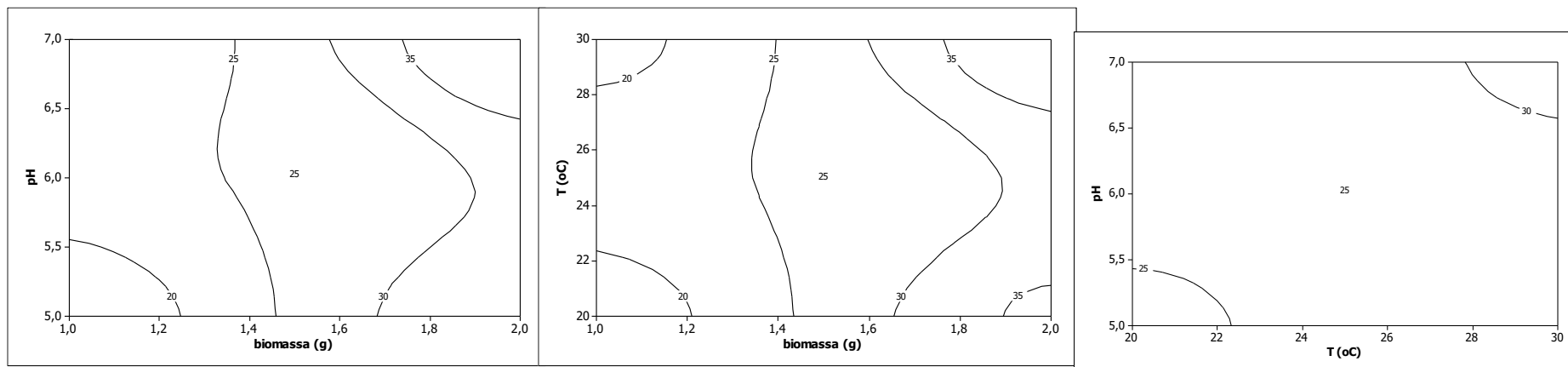


Figura 22 – Respostas da eficiência total da bioacumulação de zinco por resíduo de levedura viva

A eficiência de biossorção para o chumbo, mesmo com a otimização, foi de apenas 26,0%, porém os resultados indicaram que as condições de temperatura atingiram um ótimo, mas o pH e a concentração de biomassa poderiam ser melhor avaliados, pois esta eficiência foi obtida quando se adotou os valores máximos de pH e concentração de biomassa estudados (7,0 e 2,0 g/100 mL, respectivamente), ou seja, estudos com valores de pH acima de 7,0 e maiores concentrações de biomassa poderiam conduzir a melhores eficiências.

Para cada metal avaliado observou-se que as condições ótimas e específicas de pH, temperatura e concentração de biomassa podem ser obtidas. Hamza et al. (2010) estudaram a biossorção de cádmio, zinco e cobre e obtiveram que para remoção de zinco e cobre o pH ótimo foi de 6,0 e para o cádmio o pH ótimo foi de 8,5.

Tarangini e Satpathy (2009) testaram a biossorção de cromo por *Bacillus sp* e *Pseudomonas sp* utilizando tanto as biomassas isoladas como também misturadas. O pH ótimo foi de 2,5 e 4,0, respectivamente e quando atuam em conjunto pH 3,0. A temperatura ideal foi de 32 °C e a concentração de biomassa teve um crescente de retenção até atingir a concentração máxima de 1 mg/mL para todos os casos estudados pelos autores.

Contudo, um efluente, como o deste estudo, que contém vários metais em sua composição não permite obter um ótimo ideal para todos os metais presente. Desta forma deve-se avaliar a remoção máxima total ou a remoção do elemento mais poluente e em desacordo com a legislação.

Os resultados obtidos neste trabalho, mostraram que devido a baixa eficiência de biossorção do chumbo presente no efluente este passaria de 1,20 mg/L para 0,9 mg/L ficando, mesmo após a etapa de biossorção, fora dos limites estabelecidos pela legislação.

Foi possível obter, para cada metal caracterizado no efluente bruto, as equações que estimam a eficiência da biossorção (E_i) por resíduo de *S. cerevisiae* viva, com relação ao pH (H), temperatura (T) e concentração de biomassa (C_{bio}). Estas equações estão apresentadas no Quadro 1.

Analisando as equações obtidas, e os resultados estatísticos apresentados

no Anexo III, percebe-se que os efeitos das interações de segunda e terceira ordem não afetam as equações e quando estão presentes são em geral baixos. Desta forma, os coeficientes com valores iguais ou muito próximos de zero foram desconsiderados nas equações apresentadas no Quadro 1.

Para o cádmio, chumbo e manganês a temperatura não influencia na bioissorção destes metais quando se utilizou resíduo de levedura viva e, portanto, este efeito não aparece nas equações. Para bioissorção de cobre o pH não afetou a bioissorção deste metal. A bioissorção dos demais metais avaliados foi influenciada pelos três efeitos estudados: pH, temperatura e concentração de biomassa.

As equações apresentadas no Quadro 1 permitem fazer uma estimativa da eficiência da bioissorção em condições diferentes das estudadas, porém a faixa adotada para cada variável não deve ser extrapolada, porque esta otimização foi baseada apenas em dados experimentais.

Metal	Equação de eficiência da bio sorção	R ²	
Cr ⁺³	$E_{Cr^+} = 66,185 + 0,289H + 0,144T + 6,647C_{bio} - 0,029H.T - 0,289H.C_{bio} + 0,0578T.C_{bio}$	0,9924	Equação 04
Cd	$E_{Cd} = -13,889 + 2,778H - 8,333C_{bio} + 2,778H.C_{bio}$	0,8546	Equação 05
Pb	$E_{Pb} = 2,315 + 2,315H + 1,389C_{bio} + 0,463H.C_{bio}$	0,9338	Equação 06
Fe	$E_{Fe} = 135,714 - 16,326H + 1,582T - 0,255H.T + 3,061H.C_{bio} - 0,867T.C_{bio} + 0,153H.T.C_{bio}$	1,0000	Equação 07
Cu	$E_{Cu} = 6,667 - 0,667T + 6,667C_{bio} + 0,667T.C_{bio}$	0,8952	Equação 08
Mn	$E_{Mn} = -50 + 8,823H + 23,529C_{bio}$	1,0000	Equação 09
Zn	$E_{Zn} = -51,111 + 8,889H + 1,889T + 40C_{bio} - 0,333H.T - 4,444H.C_{bio} - 1,111T.C_{bio} + 0,222H.T.C_{bio}$	0,9829	Equação 10
Total	$E_{Total} = +45,781 - 1,477H + 0,538T + 7,278C_{bio} - 0,095H.T + 0,316H.C_{bio} - 0,243T.C_{bio} + 0,053H.T.C_{bio}$	0,999	Equação 11

Quadro 1 – Equações de modelagem da bio sorção de metais por resíduo de *S. cerevisiea* viva em batelada

Limites: *H* (pH): 5,0 – 7,0 - *T* (temperatura): 20 °C – 30 °C - *C_{bio}* (concentração de bio massa): 1,0 g/100 mL – 2,0 g/100 mL

4.3.6. Determinação da capacidade de bioadsorção simultânea dos metais por resíduo de *S. cerevisiae* viva

Nas condições ótimas de bioadsorção do cromo e ferro (T = 25 °C, pH = 6,0 e concentração de biomassa = 1,5 g/100 mL) foi determinada a capacidade de bioadsorção para cada metal. Para determinar a capacidade de bioadsorção foi utilizada a Equação 03 e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 23.

$$Q_i = \frac{V(C_{o_i} - C_{t_i})}{m} \quad \text{Equação 03}$$

Na qual:

Q_i é a capacidade de bioadsorção do metal i (mg/g)

C_{o_i} é a concentração inicial do metal i quando $t = 0$ (mg/L)

C_{t_i} é a concentração do metal i no tempo t (mg/L)

V é o volume do efluente (L)

m é a massa do bioadsorvente (base seca) (g).

Tabela 23 – Capacidade de bioadsorção de metais para resíduo de levedura viva

Metal	Concentração inicial (mg/L)	Concentração após 4 horas (mg/L)	Q (mg/g)
Cr ⁺³	1,73	0,20 ± 0,010	0,1018
Cd	0,18	0,16 ± 0,005	0,0015
Pb	1,08	0,81 ± 0,010	0,0182
Fe	0,98	0,08 ± 0,000	0,0600
Cu	0,15	0,11 ± 0,005	0,0025
Mn	0,17	0,09 ± 0,000	0,0053
Zn	0,45	0,34 ± 0,005	0,0075

C = 1,5 g /100 mL; pH = 6,0; T = 25 °C

Estes resultados indicaram que para a bioadsorção simultânea de metais a levedura *S. cerevisiae* apresentou a seguinte ordem: Cr > Fe > Pb >

Zn > Mn > Cu e Cd.

Mattuschka e Straube (1993) utilizaram um resíduo de biomassa da indústria farmacêutica, *Streptomyces noursei*, para a bioissorção de metais e os resultados obtidos levaram a seguinte ordem de capacidade de bioissorção de metais: Cr > Pb > Cu > Zn > Cd. Neste estudo a ordem foi similar para o cromo, chumbo e cádmio, porém para o cobre e zinco a ordem foi invertida. Como citado por Volesky (2001) e também observado neste estudo, esta seletividade depende do tipo de biomassa, da mistura da solução e do tipo de preparação da biomassa.

Mattuschka e Straube (1993) também observaram que para a bioissorção seletiva, quando todos os íons metálicos foram misturados numa solução, sorção do cromo foi diminuída quando chumbo estava presente, possivelmente por um efeito de competição

Neste estudo os melhores resultados foram obtidos com a levedura viva e para que isso fosse possível o efluente analisado precisou passar por um tratamento prévio adequando a concentração dos metais a níveis em que a levedura seja efetiva. Nestas condições foi possível obter uma capacidade de bioissorção total de aproximadamente 0,20 mg/g de *S. cerevisiae*, que apesar de ser uma capacidade baixa permitiu a remoção dos metais do efluente analisado por um método simples, de baixo custo e com o reaproveitamento de um resíduo industrial.

4.3.7. Proposta de tratamento para o efluente de laboratórios de análise de solos

Baseado no estudo realizado foi possível apresentar uma proposta de tratamento do efluente de análise de matéria orgânica de solos utilizando inicialmente reações de precipitação e redução e na sequência a bioissorção por resíduo de *S. cerevisiae* viva, sendo este resíduo obtido de indústrias cervejeiras.

Foi proposto uma etapa química e uma física utilizando *S. cerevisiae* como bioissorvente para que o efluente possa ser tratado adequadamente, além de etapas de separação de sólidos como mostra a Figura 23.

Na etapa química ocorrem as reações de redução do cromo hexavalente a trivalente e de precipitação do cromo trivalente. Como o pH do efluente é ácido não é necessário realizar o ajuste do mesmo. Após a redução do cromo hexavalente o pH deve ser ajustado em 7,0 para que a precipitação dos metais ocorra com boa eficiência, exceto o cádmio e chumbo.

Na etapa de bioadsorção, como o efluente apresenta baixas concentrações de metais, porém ainda superiores ao exigido pela legislação, o efluente passa por três etapas de bioadsorção. As etapas de bioadsorção ocorrem nas condições em que a eficiência de remoção do chumbo foi favorecida, ou seja, com pH 7,0, concentração de biomassa de 2,0 g/100 mL e temperatura de 30 °C.

Ao realizar este tratamento gera-se um resíduo sólido ao final das etapas de precipitação e bioadsorção. Após a etapa de precipitação foi proposto o uso de filtração, no qual pode ser adotado um filtro prensa. O uso deste resulta num lodo de baixa umidade reduzindo o tempo de separação, porém a separação do lodo também pode ser realizada por decantação, sendo que o tempo de decantação deve ser em torno de 24 horas.

As etapas de bioadsorção apresentam como resíduo sólido a biomassa propriamente dita. Para a separação da biomassa do efluente foi proposto o uso de decantação. A quantidade de efluente é relativamente baixa, em torno de 4m³ ano e, portanto não se justifica o uso da filtração. O lodo e a biomassa gerados no tratamento, por conterem metais pesados, são destinados a aterro Classe I.

Com este tratamento é possível reduzir a concentração de metais no efluente e atender a legislação. A Tabela 24 simula duas etapas biológicas subsequentes da concentração do efluente após o tratamento proposto. A eficiência das etapas de bioadsorção foi obtida através das equações desenvolvidas neste estudo e apresentadas no Quadro 1.

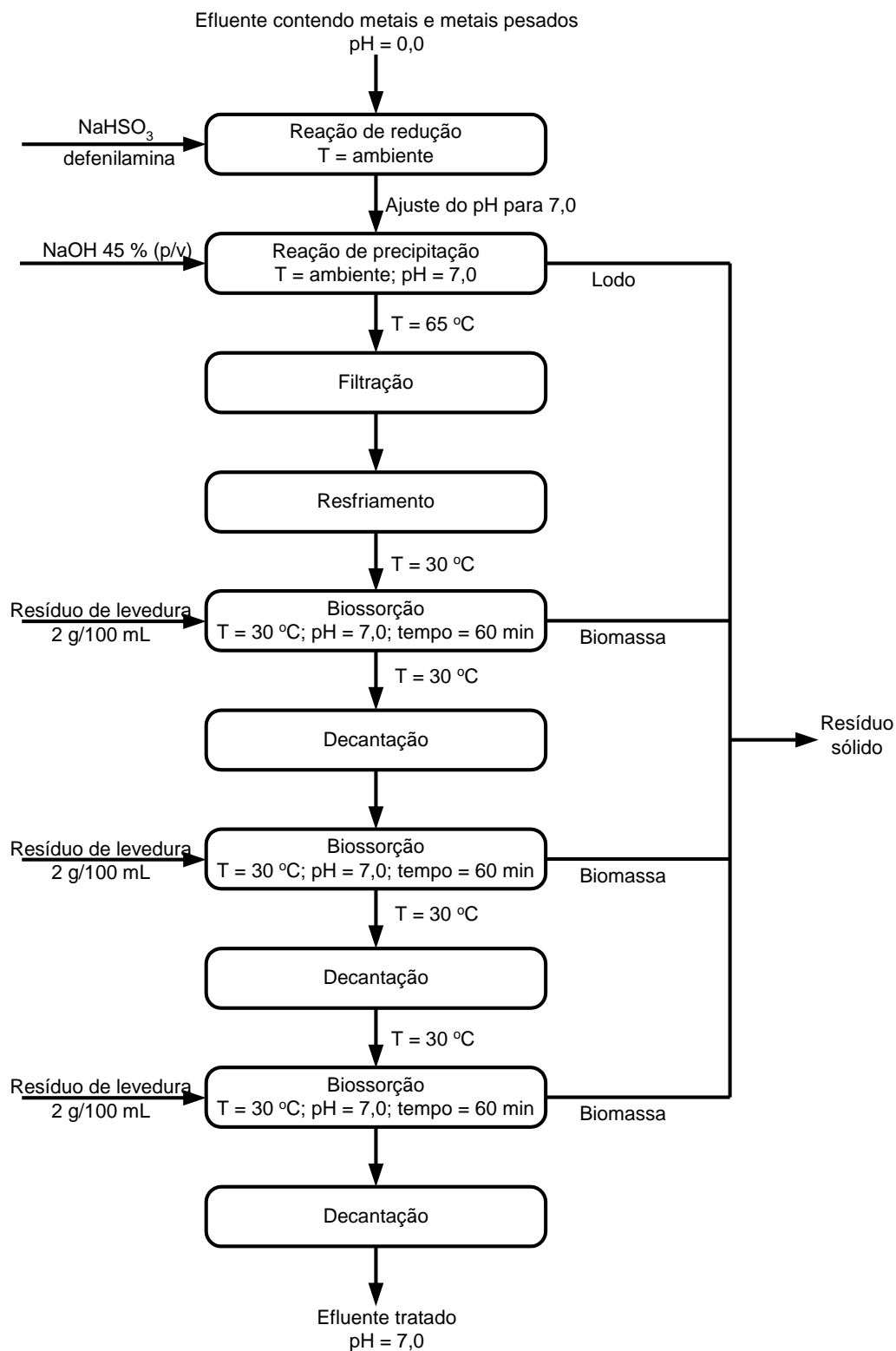


Figura 23 – Proposta de tratamento do efluente do laboratório de análise de solos por redução, precipitação e biossorção.

Tabela 24 – Simulação do tratamento proposto para remoção de metais por redução, precipitação e bioissorção com resíduo de levedura viva

Metal	Eficiência		Concentração do metal no efluente (mg/L)				Limite (mg/L)	
	quim.	bio.	bruto	quim.	bio. I	bio.II		bio. III
Cr ⁺³	99,93	79,19	1880,00	1,29	0,27	0,06	0,01	1,0
Cd	6,25	27,78	0,32	0,30	0,22	0,16	0,11	0,2
Pb	2,44	27,78	1,23	1,20	0,87	0,63	0,45	0,5
Fe	99,95	70,41	3040,00	1,49	0,44	0,13	0,04	15,0
Cu	62,00	40,00	0,50	0,19	0,11	0,07	0,04	1,0
Mn	99,04	58,82	12,50	0,12	0,05	0,03	0,02	1,0
Zn	98,57	42,22	10,50	0,15	0,09	0,05	0,03	5,0

Obs.: Os valores em negrito indicam os parâmetros estão acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 430/11.

*C = 2,0 g /100 mL; pH = 7,0; T = 30 °C

quim. – etapa química

bio. – etapa de bioissorção

Os dados da Tabela 24 mostram que com o tratamento proposto seria possível obter um efluente de acordo com o exigido pela legislação em vigor. Após a etapa química a redução de ferro, cobre, manganês e zinco estão abaixo do exigido pela Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011). Após a primeira etapa de bioissorção com o resíduo de levedura, como a eficiência de bioissorção do cromo trivalente foi de 79,19 % a concentração deste metal seria reduzida de 1,29 mg/L para 0,27 mg/L, e assim estaria com um valor inferior ao limite legal.

O cádmio e chumbo apresentam uma eficiência de remoção bem mais baixa do que a do cromo trivalente. Estes metais não se enquadram nos limites legais após a primeira etapa sendo necessárias mais duas etapas de bioissorção. Na simulação, o cádmio já na segunda etapa de bioissorção, a concentração deste metal no efluente seria adequada. Porém, para o chumbo, como a concentração deste metal no efluente era elevada, uma terceira etapa de bioissorção seria necessária para atingir os limites legais.

Ao final do tratamento a concentração total de metais no efluente seria inferior a 1 mg/L, indicando a boa eficiência do tratamento. Contudo, esta proposta deve ser testada antes da sua implantação para confirmar a eficiência

do tratamento proposto, bem como a viabilidade econômica do mesmo.

Também seria possível avaliar o uso de concentrações mais elevadas de biomassa, pois uma maior quantidade de biomassa, de acordo com os ensaios de otimização, poderia permitir uma melhor eficiência da bio sorção do chumbo e a probabilidade de se adotar apenas duas etapas de bio sorção com resíduo de *S. cerevisiae* viva seria possível.

5. CONCLUSÃO

A remoção de metais presentes em efluentes de laboratórios de análises químicas de solo deve ser eficiente e segura de forma a tratar o efluente para que a legislação seja cumprida.

Com a caracterização do efluente do laboratório Interpartner (Ponta Grossa – PR) foi possível identificar que, exceto para o cobre os demais parâmetros analisados (Fe, Cr+3, Pb, Mn, Zn e Cd) estavam acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/11.

A concentração de fósforo total e sulfatos obtida foi elevada 1.800 mg/L e 32.500 mg/L contudo estes parâmetros não são regulamentados por esta Resolução. Os metais com maior concentração no efluente foram o cromo hexavalente e o ferro que estavam presentes em concentrações aproximadas de 2000 mg/L e 3500,0 mg/L respectivamente. A legislação permite o lançamento em corpos hídricos de apenas 0,5 mg/L de cromo hexavalente e 15 mg/L de ferro.

Com a caracterização do efluente do laboratório de análises de solo foi observado a necessidade de um processo eficiente para o tratamento deste efluente.

O uso de precipitação química permitiu a redução da concentração da maioria dos metais presentes no efluente com uma eficiência de remoção elevada (superior a 98,60%), exceto para o chumbo (2,40%) e cádmio (6,25%), porém mesmo com uma eficiência de remoção elevada para o cromo a sua concentração (1,29 mg/L) ainda se encontrava acima do permitido pela legislação (1,0 mg/L). Nos ensaios preliminares de bioissorção com levedura liofilizada foi observado que não apenas um valor de pH é efetivo para a remoção de metais, mas que em um deles, o pH 6, mais espécies metálicas são removidas. Por este motivo, o pH 6,0 foi escolhido para os testes subsequentes.

A avaliação da cinética de bioissorção indicou que na primeira hora de contato com a levedura a concentração de metais foi reduzida de 4,73 mg/L para 2,17 mg/L e que após três horas os valores não se alteram indicando que o equilíbrio foi atingido.

Os testes realizados com a levedura liofilizada viva e morta mostraram que houve remoção dos metais cromo trivalente, cádmio, chumbo, ferro e cobre com uma eficiência um pouco melhor do que para a levedura viva.

O uso de resíduo de levedura também apresentou resultados positivos, removendo todos os metais com uma eficiência mínima de 38,9%. Porém, a eficiência foi inferior quando comparada com a levedura liofilizada, exceto para o manganês e zinco. Contudo, os resultados indicaram que o resíduo de levedura da indústria cervejeira pode ser aproveitado para a biossorção de metais do efluente avaliado.

A temperatura, pH e concentração de biomassa influenciaram no processo de biossorção simultânea de metais. Com a otimização destas condições obteve-se um ótimo em pH 6,0, temperatura de 25 °C e usando 1,5 g de biomassa para cada 100 mL de efluente. Utilizando o resíduo de levedura, nas condições ótimas, a eficiência total de remoção de metais foi de até 60%. As condições otimizadas para uma maior remoção total de metais não significa que as mesmas se aplicam para cada metal individualmente.

Os resultados da biossorção simultânea por resíduo de *S. cerevisiae* mostrou que esta foi mais seletiva para o cromo trivalente, ferro e chumbo. Os melhores resultados foram obtidos com a levedura viva, com capacidade total de biossorção de 0,20 mg/g de *S. cerevisiae*. Mesmo com uma baixa capacidade de retenção de metais, este resíduo permitiu que o efluente fosse tratado por um método simples, de baixo custo e com reaproveitamento de um resíduo industrial.

Conhecendo-se as condições ótimas para o processo de biossorção foi proposto um tratamento para o efluente de laboratório de análise de solo em duas etapas: com a precipitação química dos metais seguida da biossorção com *S. cerevisiae*. Na primeira ocorre a redução do cromo hexavalente, sem nenhum ajuste de pH e a temperatura ambiente. Após a redução o pH deve ser ajustado a 7,00 a fim de permitir a precipitação máxima de metais, seguida da separação do lodo. Na segunda etapa o efluente deve ser colocado em contato com a biomassa por três vezes consecutivas usando-se em cada etapa de biossorção 2,0 g de biomassa por 100 mL de efluente, pH 7,00 e mantendo-se o meio com temperatura (30 °C) e agitação constantes. A fase sólida gerada no

tratamento (lodo e biomassa) é separada e encaminhada para aterro Classe I.

Os resultados deste estudo mostraram que, se confirmado o êxito do tratamento proposto para o efluente de um laboratório de análise químicas de solo, este permite atender os limites exigidos pela Resolução CONAMA 430/11 para todos os parâmetros avaliados, utilizando uma metodologia simples (precipitação e biossorção), de baixo custo e permitindo o aproveitamento de um resíduo da indústria cervejeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, Z., DÖNMEZ, G. **A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye.** *Chemosphere*, v.50 (8), p.1075-1083, 2003.

American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), & Water Environment Federations (WEF). Standard methods for the examination of water and wastewater (22st ed.). Washington: APHA, AWWA, WEF. (2012).

ANTUNIASSI, U. R, BAIO, F. H. R., SHARP, T. C. **Algodão no cerrado do Brasil.** 1. ed. Brasília, DF: ABRAPA, p.934, 2007.

ASHKENAZY, R.; YANNAI, S.; RAHMAN, R. **Fixation of spent *Saccharomyces cerevisiae* biomass for lead sorption.** *Applied Microbiology Biotechnology*. v. 52, p. 608-611, 1999.

BAI, S. R., AND ABRAHAM, T. E., **Studies on chromium(VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass.** *Bioresource Technology*. v. 87, pp. 17-26, 2003.

BAKALIAN, A, C., **Caracterização e Tratamento do Eluente de Solução Sulfocrômica Utilizada em Análise de Solos**, 59 f. Dissertação (mestrado em Tecnologia Ambiental), Setor de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2012.

BASSI, R., PRASHER, S. O. and SIMPSON, B.K. **Removal of Selected Metal Ions from Aqueous Solutions Using Chitosan Flakes.** *Separation Science and Technology*. v. 35, p. 547-560, 2000.

BAYAN, Y. K., KESKINLER, B.; ÇAKICE, A.; LEVENT, M.; AKAY, G. **Removal**

of divalent heavy metal mixtures from water by *Saccharomyces cerevisiae* using crossflow microfiltration. *Water Resource*. v. 35, n. 9, p. 2191-2200, 2001.

BELAY, A. A. **Impacts of chromium from tannery effluent and evaluation of alternative treatment options.** *Journal of Environmental Protection*. v. 1, p. 53-58, 2010.

BEVERIDGE, T. J. and DOYLE, R. J. ***Metal Ions and Bacteria*.** J Wiley, New York, 1989.

BEVERIDGE, T. J.; MURRAY, R. G. **Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*.** *Journal of bacteriology*, v. 141, n. 2, p. 876-887, 1980.

BORTOLIN, M. A. e CASSOL, L. C. **Determinação da matéria orgânica do solo usando peróxido de hidrogênio: Uma metodologia ecologicamente correta.** *Actas do Fertbio 2010*. Guarapari, ES, Brasil (3 pgs em CD-ROM). 2010.

BRADY, J. M. and TOBIN, J. M. **"Binding Of Hard And Soft Metal-Ions To Rhizopus-Arrhizus Biomass"**, *Enzyme and microbial technology*, v.17, p. 791-796, 1995.

BRASIL, **Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA.** Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2010.-In Resoluções: 2010.

BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINCO, J. M. and PARKER, J. **Biology of Microorganisms.** 7ª ed. New Jersey, Prentice Hall, 1994.

CHOJNACKA, K., **Biosorption and bioaccumulation—the prospects for practical applications.** *Environment International*, v.36(3), p.299-307, 2010.

CLAAS, I. C., MAIA, R. A. M. **Manual Básico de Resíduos Industriais de Curtumes**. Porto Alegre: SENAI-RS, 1994.

COELHO, A. M. "**Agricultura de Precisão: manejo da variabilidade espacial e temporal dos solos e culturas**". 2005.

COHEN, M. D., KARGACIN, B., KLEIN, C. B., COSTA M. **Mechanisms of chromium carcinogenicity and toxicity**. *Critical Reviews in Toxicology*. v.23, p. 255–281, 1993.

COSSICH, E. S., **Biossorção de cromo (III) pela biomassa da alga marinha *Sargassum sp.*** Tese. Universidade de Campinas: Campinas, 2000.

DAS, N., VIMALA, R. and KARTHIKA, P. **Biosorption of heavy metals - An overview**. *Indian Journal of Biotechnology*. v. 7, p. 159-169, 2008.

DAVIS, T. A., VOLESKY, B., MUCCI, A. **A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae**. *Water research*, v.37 (18), p.4311-4330, 2003.

DE BORBA, T. R. **Estudo da Aplicação de Biossorbentes no Tratamento de Rejeitos Radioativos Líquidos Contendo Amerício-241**. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear). IPEN. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

DE FLORA, S., BAGNASCO, M., SERRA, D., ZANACCHI, P. (1990). **Genotoxicity of chromium compounds**. A review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, v.238(2), p. 99-172, 1990.

DE NICOLA, R., HAZELWOOD, L. A., DE HULSTER, E. A., WALSH, M. C., KNIJNENBURG, T. A., REINDERS, M. J., & DARAN-LAPUJADE, P. **Physiological and transcriptional responses of *Saccharomyces cerevisiae* to zinc limitation in chemostat cultures**. *Applied and environmental*

microbiology, 73(23), 7680-7692, 2007.

DEL RIO, D. T., **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae***, Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

DITTERT, I. M. **Remoção de espécies de cromo em águas contaminadas utilizando alga marinha como adsorvente**. Tese. Universidade Federal de Santa Catarina: Florianópolis, 2011.

DONGHEE, P., YEOUNG-SANG, Y. and MOON, P. J., **Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp.** Chemosphere, Vol. 60, pp. 1356-1364, September, 2005.

EHRlich, H. L., BRIERLEY, C. L., ***Microbial mineral recovery***. McGraw-Hill, Inc., 1990.

FARINE, E. L., MOREIRA, D. A., NARDO, A. E., CAMARGO, I. S.P., JORDÃO, L., GERMANO, M. G., KLEINERT, J., JUNIOR, A. O., **Comparação de dois métodos para determinação do teor de carbono orgânico do solo**. VI Jornada Acadêmica da Embrapa Soja Resumos expandidos, 2011.

FERREIRA, J. M., SILVA, F. L. H., ALSINA, O. L. S., OLIVEIRA, L. S. C., CAVALCANTI, E. B., and GOMES, W. C., **Estudo do equilíbrio e cinética da biossorção do pb²⁺ por *saccharomyces cerevisiae***. *Química Nova*, v.30(5), p.1188-1193, 2007.

FU, F. and WANG, Q. **Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review**. Journal of Environmental Management. v. 92, p. 407-418, 2011.

GADD, G. M. and WHITE, C., **Biosorption of radionuclides by yeast and fungal biomass**. J. Chem. Technol. Biotechnol. v. 49, p.331-343, 1990.

GADD, G. M. **Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 84.1, p.13-28, 2009.

GADD, G. M., **Accumulation of metals by microorganisms and algae.** In: *biotechnology*, Vol. 6b, Special microbial Processes, ed. H.-J. Rehm. VCH V, Weinheim, pp. 401-433, 1988.

GADD, G. M., **Microbial control of heavy metal pollution.** In: **Microbial Control of Pollution**, eds J. C. Fry, G. M. Gadd, R. A. Herbert, C. W. Jones and I. Watson-Craik. Cambridge University Press, Cambridge, p. 59-88, 1992a.

GALLIASSI, K., CALDEIRA, M. H., CERETTA, C. A., ALEXANDRE, P., **Análise da matéria orgânica do solo utilizando o método da perda de peso por ignição.** *REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO*, v.4, 2002.

GEESEY, G. and JANG, L. **Extracellular polymers for metal binding.** In: *Microbial Mineral Recovery*, New York, p. 223-247, 1990.

GIOVANNINI, J. G.; TAVARES, G. A.; BENDASSOLLI, J. A. **Avaliação das técnicas de precipitação química e encapsulamento no tratamento e destinação de resíduos líquidos contendo cromo e vidrarias de laboratório.** *Química Nova*. v. 31, p. 676-679, 2008.

GÖKSUNGUR, Y.; UREN, S.; GUVENÇ, U. **Biosorption of cooper ions by caustic treated waste baker's yeast biomass.** *Turkish Journal of Biology*, v. 27, p. 23 - 29, 2003.

GUIMARÃES, G. A.; BASTOS, J. B.; LOPES, E. C. **Métodos de análise física, química e instrumental de solos.** Livro, v. 1, n. 1. p.112-120. Belém: IPEAN, 1970.

GUPTA, V. K., RASTOGI, A., **Biosorption of hexavalent chromium by raw and acid-treated green alga *Oedogonium hatei* from aqueous solutions.** *Journal of Hazardous Materials*, V.163(1), P. 396-402, 2009.

GUPTA, V. K., SHRIVASTAVA, A. K., AND JAIN, N.. "**Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species.**"*Water Research* 35.17: 4079-4085, 2001.

HAMZA, S. M., AHMED, H. F., EHAB, A. M., AND MOHAMMAD, F. M. **Optimization of Cadmium, Zinc and Copper biosorption in an aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae*.** *Journal of American science*, 2010.

HATZIKIOSEYIAN, A., REMOUDAKI, E. AND TSEZOS, M. **Biosorption and biological reduction of chromium by microbial biomass in batch and pilot scale rotating biological contactor (RBC).** in International Biohydrometallurgy Symposium IBS 2001:Biohydrometallurgy Fundamentals, Technology and Sustainable Development. 2001.

JENNETT, J. C., WIXSON, B. G., **Geochemistry, mining and the environment.** *Minerals and the Environment*, v. 5(2-3), p.39-53, 1983.

PARVATHI, K., NARESHKUMAR, R., NAGENDRAN, R., **Biosorption of manganese by *aspergillus niger* and *saccharomyces cerevisiae*** *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, pp. 671–676, 2007.

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

KURNIAWAN, T. A., CHAN, G. Y. S., LO, W. H. and BABEL, S. **Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals.** *Chemical Engineering Journal.* v. 118, p. 83-98, 2006.

LEE, S. S., ROBINSON, F.M., WANG, H.Y. **Rapid determination of yeast viability.** Symposium Biotechnology and Bioengineering. v. 11 p. 641-649, 1981.

LOUKIDOU, M. X., ZOUBOULIS, A. I., KARAPANTSIOS, T. D., and MATIS, K. A., **Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by Aeromonas caviae.** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, p. 93-104, 2004.

MACASKIE, L. E., BONTRONE, K. M. and RAUCH, D. A. **Phosphatase - mediated heavy metal accumulation by Citrobacter sp. and related enterobacteria.** FEMS Microbiology Letters, v. 121, p.141-146, 1994.

MADIGAN, M., and MARTINKO, J. M. **Biology of Microorganisms.** International Microbiology; V. 8, pp. 149-150, 2005.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificações e fatos.** São Paulo: ProduQuímica, 1994.

MASCASKIE, L. E. and DEAN, A. C. R., **Microbial metabolism, desolubilization and deposition of heavy metals: uptake by immobilised cells and application to the treatment of liquid wastes,** p.150-201, 1989.

MATSUMOTO, T., GONÇALVES, G. A., YOGI, F. **Avaliação do pH de Precipitação do Cromo no Processo de Reciclagem.** XXX Congresso Interamericano de Engenharia Sanitaria y Ambiental, 2006.

MATTUSCHKA, B., STRAUBE, G.. **Biosorption of metals by a waste biomass.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 58(1), 57-63. 1993.

MIMURA, A. M. S., VIEIRA, T. V. A., MARTELLI, P. B., GORGULHO, H. F., **Aplicação da casca de arroz na adsorção dos íons Cu²⁺, Al³⁺, Ni²⁺ e Zn²⁺**. *Química Nova*, v.33, p.1279-1284, 2010.

MOREIRA, A. S., **Biossorção utilizando alga marinha (*Sargassum sp.*) aplicada em meio orgânico**, 2007.

MURALEEDHARAN, T. R., IYENGAR, L. and VENKOBACHAR, C. **Biosorption: an attractive alternative for metal removal and recovery**. *Current Science*. v. 61, n.6, p 379-385, 1991.

NIU, H. and VOLESKY, B. **Characteristics of anionic metal species biosorption with waste crab shells**. *Hydrometallurgy*, v. 71, p. 209-215, 2003.

ORHAN, Y., HRENOVIC, J. and BUYUKGUNGOR H. **Biosorption of heavy metals from wastewater by biosolids**. *Engineering in Life Sciences*, v.6, p. 399-402, 2006.

OURA, E. **Biomass from Carbohydrates**. In: REHM, H.J.; REED, G. *Biotechnology: a multi-volume comprehensive treatise*. Weimeim: Verlag Chemie, cap.1, v.3, p.3-41, 1995.

PALMER, J. J., ***How To Brew: Everything You Need To Know To Brew Beer Right the First Time***, Brewers Publications: Boulder, Cap.5, p. 235-240, 2006.

PAOLIELLO, J. M. M. **Aspectos ambientais e potencial energético no aproveitamento de resíduos da indústria sucroalcooleira** (Doctoral dissertation, UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA). 2006.

PARK, D., YUN, Y. S., HYE JO, J., PARK, J. M., **Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger***. *Water Research*, v. 39(4), p. 533-540, 2005.

PECHOVA, A. and L. PAVLATA. **Chromium as an essential nutrient: review.** *Veterinarni Medicina*, v.52, pp. 1–18, 2007.

PRAKASHAM, R. S., MERRIE, J. S., SHEELA, R., SASWATHI, N., RAMAKRISHNA, S. V., **Biosorption of chromium VI by free and immobilized *Rhizopus arrhizus***, *Environmental pollution*, v. 104(3), p. 421-427, 1999.

REHMAN, A., SHAKOORI, F. R., SHAKOORI, A.R., **Uptake of Heavy Metals by a Ciliate, *Tachysoma pellionella*, Isolated from Industrial Effluents and It's Potential Use in Bioremediation of Toxic Wastewater**, *Bull Environ Contam Toxicol*, v. 77, p.469-476, 2006.

REMOUNDAKI, E., M. TSEZOS, A. HATZIKIOEYIAN, and V. KARAKOUSSIS. **Mechanism of palladium biosorption by microbial biomass. The effects of metal ionic peciation and solution co-ions.** *Proceedings of INTERNATIONAL BIOHYDROMETALLURGY SYMPOSIUM, BIOHYDROMETALLURGY AND THE ENVIRONMENT TOWARD THE MINING OF THE 21ST CENTURY, Part B*, Edited by R. Amils, A. Ballester, IBS 99, Elsevier, pp 449-462, 1999.

RHEINHEIMER, D. S., CAMPOS, B., GIACOMINI, S., CONCEIÇÃO, PAULO C. BORTOLUZZI, E., (2008). **Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total no solo.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(1), 435-440. Retrieved December 07, 2013.

ROZA, D. **Novidade no campo: Geotecnologias renovam a agricultura.** *InfoGEO*. n 11. jan/fev, 2000.

SAHMOUNE, M. N., LOUHAB, K. and BOUKHIAR, A. **Advanced biosorbents materials for removal of chromium from water and wastewaters.** In *Environ. Prog. Sustainable Energy*.v. 30: pp. 284–293, 2011.

SERRAT, B. M., LIMA, M. R., GARCIAS, C. E., FANTIN, E. R., CARNIERI, I. M. R. S. A., E PINTO, L. S., **Conhecendo o Solo** - Curitiba: UFPR/Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, 2002.

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa, 2009.

STEARNS D.M., KENNEDY L.J., COURTNEY K.D., GIANGRANDE P.H.,PHIEFFER L.S., WETTERHAHN K.E., **Reduction of chromium (VI) by ascorbate leads to chromium DNA-binding and DNA strand breaks in vitro**. *Biochemistry*. v.34, pp. 910–919, 1995

SUZUKI, Y. and FUKUDA, K. **Reduction of hexavalent chromium by ascorbic acid and glutathione with special reference to the rat lung**. *Archives of Toxicology*.v. 64, pp.169–176, 1990.

TARANGINI, K., SATPATHY, G. R., **Optimization of heavy metal biosorption using attenuated cultures of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa***. *Journal of Environmental Research and Development*, Vol. 3 No. 3, 2009.

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

TOBIN, J., C ROUX, J., **Mucor biosorbent for chromium removal from tanning effluent**. *Water Research*, v.32(5), p.1407-1416, 1998.

TSEZOS M., REMOUNDAKI E. e ANGELATOU, V. A. **Systematic Study on Equilibrium and Kinetics of Biosorptive Accumulation**. The Case of Ag and Ni. *International Biodeterioration and Biodegradation*. v. 35, p.129-153, 1995.

TSEZOS, M., REMOUNDAKI, E., e HATZIKIOSEUIAN, A. **Biosorption-principles and applications for metal immobilization from wastewater streams**. Proceedings of EU-Asia. Workshop on Clean Production and Nanotechnologies, p. 23-33, 2006.

VASUDEVAN, P., PADMAVATHY, V. and CHINGRA, S.C. **Knetics of biosorption of cadmium on baker's yeast**. Biosource Technology. v. 89, p. 281-287, 2003.

VEGLIÓ, F. E and BEOLCHINI, F. **Removal of metals by biosorption: a review**. Hydrometallurgy. v. 44, pp. 301-316, 1997.

VELÁSQUEZ, L. and DUSSAN, J. **"Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*."** *Journal of hazardous materials*, v.167 p. 713-716, 2009.

VOLESKY, B. **Advances in biosorption of metals: selection of biomass types**. FEMS Microbiology Reviews. v.14, p.291-302, 1994.

VOLESKY, B. and HOLAN, Z, R. **Biossoption of heavy metals**. - Biotechnology progress, ACS Publications 1995.

VOLESKY, B. **Biosorption and me**. In Water Research, v. 41, pp. 4017-4029, 2007.

VOLESKY, B. **Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century**. Hydrometallurgy, v. 59, p. 203-216, 2001.

VOLESKY, B., HOLAN, Z. R., **Biosorption of heavy metals**. *Biotechnology progress*, v.11 (3), p. 235-250, 1992.

VOLESKY, B., SEARS, M. NEUFELD, R.J. and TSEZOS, M. **Recovery of Strategic Elements by Adsorption**. *Annals of the New York Academy of*

Sciences. ,1983.

WANG, J. and CHEN, C. **Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review.** *Biotechnology Advances.* v. 24, p. 427, 2006.

WHO. **Chromium. Environmental Health Criteria 61.** Geneva: International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, 1988.

ANEXO I - ANÁLISE DE SULFATO

Reagentes:

- 1. Solução Tampão A:** Dissolver 30 g de cloreto de magnésio, 5 g de acetato de sódio, 1 g de nitrato de potássio e 20 mL de ácido acético, em 500 mL de água destilada e completar o volume para 1000 mL.
- 2. Solução Tampão B** (requerido quando a concentração de sulfato for menor que 10 mg/L): Dissolver 30 g de cloreto de magnésio, 5 g de acetato de sódio, 1 g de nitrato de potássio, 0,111 g de sulfato de sódio e 20 mL de ácido acético em 500 mL de água destilada e avolumar para 1000 mL.
- 3. Cloreto de Bário:** Os cristais devem passar por uma malha de 20 – 30 *mesh*. Em padronização, a turbidez uniforme foi produzida com esta malha e o tampão apropriado.
- 4. Solução padrão de sulfato 100 mg/L de SO₄:** Dissolver 0,1479 g de sulfato de sódio anidro em 1000 mL de água destilada.

Procedimento:

Preparados os reagentes o teor de sulfato foi realizado através da formação de turvação de sulfato de bário: mediu-se 100 mL da amostra, ou uma porção apropriada e diluir para 100 mL, em um erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 20 mL da solução tampão com agitação. Enquanto agitava a solução foi adicionada uma colher cheia de cristais de cloreto de bário e iniciou-se a cronometragem do tempo imediatamente. Agitou-se por 60 segundos com velocidade constante.

Na sequência foi realizada a medida da turbidez de sulfato de bário: antes do período de agitação terminar, colocou-se a solução na cubeta do espectrofotômetro e realizou-se a leitura da turbidez em 5 minutos utilizando o comprimento de onda de 420 nm.

A curva de calibração foi obtida através do cálculo da concentração de SO₄ na amostra por comparação com a curva de calibração, preparada segundo o mesmo procedimento da amostra. Preparou-se a curva em espaços de 5 mg/L numa escala de 0 – 40 mg/L de SO₄. Valores acima de 40 mg/L de SO₄ perde a estabilidade e a amostra deve ser diluída, se necessário.

ANEXO II - ANÁLISE DE FÓSFORO TOTAL

Reagentes:

- 1. Indicador fenolftaleína 1%** (val. 2 anos): Dissolver 2,5 g de fenolftaleína em 150 mL de etanol absoluto e completar com 100 mL de água destilada em um balão de 250 mL. A fenolftaleína que foi preparada para análise de alcalinidade também pode ser utilizada para essa análise.
- 2. Ácido sulfúrico 30%** (val. 2 anos): Dissolver 300 mL de ácido sulfúrico concentrado em 700 mL de água destilada num balão de 1000 mL.
- 3. Persulfato de potássio 5%:** Dissolver 25 g de persulfato de potássio em 500 mL de água destilada **fervida** num balão.
- 4. Hidróxido de sódio 6 N** (val. 1 ano): Dissolver 120 g de hidróxido de sódio em 250 mL em água destilada.
- 5. Reativo misto** (Preparar na hora): Misturar 50 mL de ácido sulfúrico 5 N, 5 mL de tartarato de antimônio e potássio, 15 mL de molibdato de amônia e 30 mL de ácido ascórbico 0,1 N.
- 6. Ácido sulfúrico 5 N:** 140 mL de ácido sulfúrico concentrado em 900 mL de água destilada – esfriar e completar para 1 litro.
- 7. Tartarato de antimônio:** dissolver 0,6858 g em 250 mL de água destilada .
- 8. Molibdato de amônia:** dissolver 20 g em 500 mL de água destilada.
- 9. Ácido ascórbico:** dissolver 0,88 g em 100 mL de água destilada. Solução estável por uma semana, porém é preferível que o mesmo seja feito minutos antes de preparar o reativo misto.
- 10. Solução estoque de fósforo total 500 ppm (em P-PO₄₋₃):** Dissolver 2,1935 g de fosfato diácido de potássio (KH₂PO₄) em 1 L de água destilada ou deionizada.

Procedimento:

Com os reagentes prontos, foi tomado 50 mL da amostra em um erlemmeyer de 125 mL e adicionado 1 gota de fenolftaleína (não mais). Se ficasse rosa seria necessário adicionar algumas gotas (gota a gota até o desaparecimento da cor) de ácido sulfúrico 30% até descorar, e mais 0,5 mL do mesmo ácido. Depois foi adicionado 7,5 mL de persulfato de potássio 5%,

homogeneizado e coberto com papel alumínio e pôr fim a amostra foi digerida durante 30 minutos em autoclave.

Após a retirada do autoclave o volume foi aferido e ajustado para os 50 mL originais quando necessário. Posteriormente foi adicionado 1 gota de fenolftaleína para ajustar o pH utilizando hidróxido de sódio (NaOH 6 N) até que a amostra se tornasse alcalina (cor de rosa). Foi transferido 25 mL em proveta e adicionados 4 mL do reativo misto e após 15 minutos as amostras foram lidas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 880 nm. A cor azul é evidente quando a amostra contém fósforo.

As leituras devem ser feitas entre 10 e 30 minutos após colocar o reagente misto.

**ANEXO III - ANÁLISE ESTATÍSTICA: RESULTADOS OBTIDOS COM O
PROGRAMA MINITAB STATISTICAL VERSÃO 16.0**

Análise Fatorial: Eficiência Total (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Total (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		52,664	0,07141	737,44	0,000
pH	-2,795	-1,398	0,07141	-19,57	0,000
T (oC)	0,791	0,396	0,07141	5,54	0,012
biomassa (g)	11,023	5,512	0,07141	77,18	0,000
pH*T (oC)	-0,158	-0,079	0,07141	-1,11	0,349
pH*biomassa (g)	1,635	0,818	0,07141	11,45	0,001
T (oC)*biomassa (g)	0,369	0,185	0,07141	2,58	0,081
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,264	0,132	0,07141	1,85	0,162
Ct Pt		9,626	0,12369	77,82	0,000

S = 0,201989 PRESS = *

R-Sq = 99,98% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 99,91%

Analysis of Variance for % Total (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	259,902	259,902	86,634	2123,41	0,000
pH	1	15,628	15,628	15,628	383,05	0,000
T (oC)	1	1,252	1,252	1,252	30,68	0,012
biomassa (g)	1	243,022	243,022	243,022	5956,50	0,000
2-Way Interactions	3	5,669	5,669	1,890	46,32	0,005
pH*T (oC)	1	0,050	0,050	0,050	1,23	0,349
pH*biomassa (g)	1	5,347	5,347	5,347	131,05	0,001
T (oC)*biomassa (g)	1	0,273	0,273	0,273	6,68	0,081
3-Way Interactions	1	0,139	0,139	0,139	3,41	0,162
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	0,139	0,139	0,139	3,41	0,162
Curvature	1	247,069	247,069	247,069	6055,68	0,000
Residual Error	3	0,122	0,122	0,041		
Pure Error	3	0,122	0,122	0,041		
Total	11	512,902				

Unusual Observations for % Total

Obs	StdOrder	% Total	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	48,9451	48,9451	0,2020	-0,0000	* X
2	2	44,9367	44,9367	0,2020	0,0000	* X
3	3	49,7890	49,7890	0,2020	0,0000	* X
4	4	44,9367	44,9367	0,2020	0,0000	* X
5	5	58,2278	58,2278	0,2020	-0,0000	* X
6	6	56,9620	56,9620	0,2020	0,0000	* X
7	7	59,2827	59,2827	0,2020	0,0000	* X
8	8	58,2278	58,2278	0,2020	0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Total using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	45,7806
pH	-1,47679
T (oC)	0,537975
biomassa (g)	7,27848
pH*T (oC)	-0,0949367
pH*biomassa (g)	0,316456
T (oC)*biomassa (g)	-0,242616

pH*T (oC)*biomassa (g) 0,0527426
Ct Pt 9,62553

Análise Fatorial: Eficiência Cr⁺³ (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Cr (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		76,7341	0,1957	392,17	0,000
pH	-1,7341	-0,8671	0,1957	-4,43	0,021
T (oC)	0,5780	0,2890	0,1957	1,48	0,236
biomassa (g)	6,3584	3,1792	0,1957	16,25	0,001
pH*T (oC)	-0,2890	-0,1445	0,1957	-0,74	0,514
pH*biomassa (g)	-0,2890	-0,1445	0,1957	-0,74	0,514
T (oC)*biomassa (g)	0,2890	0,1445	0,1957	0,74	0,514
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,0000	0,0000	0,1957	0,00	1,000
Ct Pt		11,5607	0,3389	34,11	0,000

S = 0,553426 PRESS = *
R-Sq = 99,79% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 99,24%

Analysis of Variance for % Cr (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	87,541	87,541	29,180	95,27	0,002
pH	1	6,014	6,014	6,014	19,64	0,021
T (oC)	1	0,668	0,668	0,668	2,18	0,236
biomassa (g)	1	80,858	80,858	80,858	264,00	0,001
2-Way Interactions	3	0,501	0,501	0,167	0,55	0,685
pH*T (oC)	1	0,167	0,167	0,167	0,55	0,514
pH*biomassa (g)	1	0,167	0,167	0,167	0,55	0,514
T (oC)*biomassa (g)	1	0,167	0,167	0,167	0,55	0,514
3-Way Interactions	1	0,000	0,000	0,000	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	0,000	0,000	0,000	*	*
Curvature	1	356,399	356,399	356,399	1163,64	0,000
Residual Error	3	0,919	0,919	0,306		
Pure Error	3	0,919	0,919	0,306		
Total	11	445,360				

Unusual Observations for % Cr

Obs	StdOrder	% Cr	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	73,9884	73,9884	0,5534	0,0000	* X
2	2	72,8324	72,8324	0,5534	-0,0000	* X
3	3	74,5665	74,5665	0,5534	0,0000	* X
4	4	72,8324	72,8324	0,5534	0,0000	* X
5	5	80,3468	80,3468	0,5534	0,0000	* X
6	6	78,6127	78,6127	0,5534	0,0000	* X
7	7	81,5029	81,5029	0,5534	-0,0000	* X
8	8	79,1908	79,1908	0,5534	0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Cr using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	66,1850
pH	0,28902
T (oC)	0,144509
biomassa (g)	6,6474
pH*T (oC)	-0,028902
pH*biomassa (g)	-0,28902
T (oC)*biomassa (g)	0,057803
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,0000000
Ct Pt	11,5607

Análise Fatorial: Eficiência Pb (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Pb (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		22,4537	0,3134	71,64	0,000
pH	6,0185	3,0093	0,3134	9,60	0,002
T (oC)	0,0000	0,0000	0,3134	0,00	1,000
biomassa (g)	4,1667	2,0833	0,3134	6,65	0,007
pH*T (oC)	0,0000	0,0000	0,3134	0,00	1,000
pH*biomassa (g)	0,4630	0,2315	0,3134	0,74	0,514
T (oC)*biomassa (g)	-0,0000	-0,0000	0,3134	-0,00	1,000
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,0000	0,0000	0,3134	0,00	1,000
Ct Pt		2,7778	0,5429	5,12	0,014

S = 0,886507 PRESS = *

R-Sq = 98,19% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 93,38%

Analysis of Variance for % Pb (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	107,167	107,167	35,7225	45,45	0,005
pH	1	72,445	72,445	72,4451	92,18	0,002
T (oC)	1	0,000	0,000	0,0000	*	*
biomassa (g)	1	34,722	34,722	34,7222	44,18	0,007
2-Way Interactions	3	0,429	0,429	0,1429	0,18	0,902
pH*T (oC)	1	0,000	0,000	0,0000	*	*
pH*biomassa (g)	1	0,429	0,429	0,4287	0,55	0,514
T (oC)*biomassa (g)	1	0,000	0,000	0,0000	*	*
3-Way Interactions	1	0,000	0,000	0,0000	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	0,000	0,000	0,0000	*	*
Curvature	1	20,576	20,576	20,5761	26,18	0,014
Residual Error	3	2,358	2,358	0,7859		
Pure Error	3	2,358	2,358	0,7859		
Total	11	130,530				

Unusual Observations for % Pb

Obs	StdOrder	% Pb	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	17,5926	17,5926	0,8865	-0,0000	* X
2	2	23,1481	23,1481	0,8865	0,0000	* X
3	3	17,5926	17,5926	0,8865	-0,0000	* X
4	4	23,1481	23,1481	0,8865	0,0000	* X
5	5	21,2963	21,2963	0,8865	0,0000	* X
6	6	27,7778	27,7778	0,8865	0,0000	* X
7	7	21,2963	21,2963	0,8865	0,0000	* X
8	8	27,7778	27,7778	0,8865	0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Pb using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	2,3148
pH	2,31481
T (oC)	-0,00000
biomassa (g)	1,3889
pH*T (oC)	0,000000
pH*biomassa (g)	0,46296
T (oC)*biomassa (g)	-0,000000
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,000000
Ct Pt	2,77778

Análise Fatorial: Eficiência Fe (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Fe (coded units)

Term	Effect	Coef	SE		
			Coef	T	P
Constant		68,49	0	*	*
pH	-24,74	-12,37	0	*	*
T (oC)	1,28	0,64	0	*	*
biomassa (g)	19,64	9,82	0	*	*
pH*T (oC)	-0,26	-0,13	0	*	*
pH*biomassa (g)	6,89	3,44	0	*	*
T (oC)*biomassa (g)	0,26	0,13	0	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,77	0,38	0	*	*
Ct Pt		23,34	0	*	*

S = 0 PRESS = *
R-Sq = 100,00% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 100,00%

Analysis of Variance for % Fe (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	1999,56	1999,56	666,52	*	*
pH	1	1224,62	1224,62	1224,62	*	*
T (oC)	1	3,25	3,25	3,25	*	*
biomassa (g)	1	771,68	771,68	771,68	*	*
2-Way Interactions	3	95,14	95,14	31,71	*	*
pH*T (oC)	1	0,13	0,13	0,13	*	*
pH*biomassa (g)	1	94,88	94,88	94,88	*	*
T (oC)*biomassa (g)	1	0,13	0,13	0,13	*	*
3-Way Interactions	1	1,17	1,17	1,17	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	1,17	1,17	1,17	*	*
Curvature	1	1452,91	1452,91	1452,91	*	*
Residual Error	3	0,00	0,00	0,00		
Pure Error	3	0,00	0,00	0,00		
Total	11	3548,78				

Unusual Observations for % Fe

Obs	StdOrder	% Fe	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	73,4694	73,4694	0,0000	0,0000	* X
2	2	42,8571	42,8571	0,0000	-0,0000	* X
3	3	75,5102	75,5102	0,0000	0,0000	* X
4	4	42,8571	42,8571	0,0000	-0,0000	* X
5	5	86,7347	86,7347	0,0000	0,0000	* X
6	6	68,3673	68,3673	0,0000	-0,0000	* X
7	7	87,7551	87,7551	0,0000	0,0000	* X
8	8	70,4082	70,4082	0,0000	0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Fe using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	135,714
pH	-16,3265
T (oC)	1,58163
biomassa (g)	-2,98253E-14
pH*T (oC)	-0,255102
pH*biomassa (g)	3,06122
T (oC)*biomassa (g)	-0,867347
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,153061
Ct Pt	23,3418

Análise Fatorial: Eficiência Cu (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Cu (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		25,0000	1,179	21,21	0,000
pH	-0,0000	-0,0000	1,179	-0,00	1,000
T (oC)	3,3333	1,6667	1,179	1,41	0,252
biomassa (g)	23,3333	11,6667	1,179	9,90	0,002
pH*T (oC)	0,0000	0,0000	1,179	0,00	1,000
pH*biomassa (g)	-0,0000	-0,0000	1,179	-0,00	1,000
T (oC)*biomassa (g)	3,3333	1,6667	1,179	1,41	0,252
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,0000	0,0000	1,179	0,00	1,000
Ct Pt		0,0000	2,041	0,00	1,000

S = 3,33333 PRESS = *

R-Sq = 97,14% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 89,52%

Analysis of Variance for % Cu (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	1111,11	1111,11	370,37	33,33	0,008
pH	1	0,00	0,00	0,00	*	*
T (oC)	1	22,22	22,22	22,22	2,00	0,252
biomassa (g)	1	1088,89	1088,89	1088,89	98,00	0,002
2-Way Interactions	3	22,22	22,22	7,41	0,67	0,626
pH*T (oC)	1	0,00	0,00	0,00	*	*
pH*biomassa (g)	1	0,00	0,00	0,00	*	*
T (oC)*biomassa (g)	1	22,22	22,22	22,22	2,00	0,252
3-Way Interactions	1	0,00	0,00	0,00	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	0,00	0,00	0,00	*	*
Curvature	1	0,00	0,00	0,00	*	*
Residual Error	3	33,33	33,33	11,11		
Pure Error	3	33,33	33,33	11,11		
Total	11	1166,67				

Unusual Observations for % Cu

Obs	StdOrder	% Cu	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	13,3333	13,3333	3,3333	0,0000	* X
2	2	13,3333	13,3333	3,3333	0,0000	* X
3	3	13,3333	13,3333	3,3333	0,0000	* X
4	4	13,3333	13,3333	3,3333	0,0000	* X
5	5	33,3333	33,3333	3,3333	-0,0000	* X
6	6	33,3333	33,3333	3,3333	-0,0000	* X
7	7	40,0000	40,0000	3,3333	0,0000	* X
8	8	40,0000	40,0000	3,3333	0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Cu using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	6,667
pH	-0,0000
T (oC)	-0,66667
biomassa (g)	6,6667
pH*T (oC)	0,000000
pH*biomassa (g)	0,0000
T (oC)*biomassa (g)	0,66667
pH*T (oC)*biomassa (g)	-0,000000
Ct Pt	0,00000

Análise Fatorial: Eficiência Zn (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Zn (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		27,778	0,3928	70,71	0,000
pH	4,444	2,222	0,3928	5,66	0,011
T (oC)	2,222	1,111	0,3928	2,83	0,066
biomassa (g)	18,889	9,444	0,3928	24,04	0,000
pH*T (oC)	-0,000	-0,000	0,3928	-0,00	1,000
pH*biomassa (g)	1,111	0,556	0,3928	1,41	0,252
T (oC)*biomassa (g)	1,111	0,556	0,3928	1,41	0,252
pH*T (oC)*biomassa (g)	1,111	0,556	0,3928	1,41	0,252
Ct Pt		-2,778	0,6804	-4,08	0,027

S = 1,11111 PRESS = *

R-Sq = 99,53% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 98,29%

Analysis of Variance for % Zn (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	762,963	762,963	254,321	206,00	0,001
pH	1	39,506	39,506	39,506	32,00	0,011
T (oC)	1	9,877	9,877	9,877	8,00	0,066
biomassa (g)	1	713,580	713,580	713,580	578,00	0,000
2-Way Interactions	3	4,938	4,938	1,646	1,33	0,409
pH*T (oC)	1	0,000	0,000	0,000	*	*
pH*biomassa (g)	1	2,469	2,469	2,469	2,00	0,252
T (oC)*biomassa (g)	1	2,469	2,469	2,469	2,00	0,252
3-Way Interactions	1	2,469	2,469	2,469	2,00	0,252
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	2,469	2,469	2,469	2,00	0,252
Curvature	1	20,576	20,576	20,576	16,67	0,027
Residual Error	3	3,704	3,704	1,235		
Pure Error	3	3,704	3,704	1,235		
Total	11	794,650				

Unusual Observations for % Zn

Obs	StdOrder	% Zn	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	15,5556	15,5556	1,1111	0,0000	* X
2	2	20,0000	20,0000	1,1111	0,0000	* X
3	3	17,7778	17,7778	1,1111	0,0000	* X
4	4	20,0000	20,0000	1,1111	0,0000	* X
5	5	33,3333	33,3333	1,1111	-0,0000	* X
6	6	37,7778	37,7778	1,1111	-0,0000	* X
7	7	35,5556	35,5556	1,1111	0,0000	* X
8	8	42,2222	42,2222	1,1111	-0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Zn using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-51,1111
pH	8,88889
T (oC)	1,88889
biomassa (g)	40,0000
pH*T (oC)	-0,333333
pH*biomassa (g)	-4,44444
T (oC)*biomassa (g)	-1,11111
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,222222
Ct Pt	-2,77778

Análise Fatorial: Eficiência Mn (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Mn (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		38,2353	0	*	*
pH	17,6471	8,8235	0	*	*
T (oC)	0,0000	0,0000	0	*	*
biomassa (g)	23,5294	11,7647	0	*	*
pH*T (oC)	0,0000	0,0000	0	*	*
pH*biomassa (g)	0,0000	0,0000	0	*	*
T (oC)*biomassa (g)	-0,0000	-0,0000	0	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	0,0000	0,0000	0	*	*
Ct Pt		8,8235	0	*	*

S = 0 PRESS = *

R-Sq = 100,00% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 100,00%

Analysis of Variance for % Mn (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	1730,1	1730,10	576,70	*	*
pH	1	622,8	622,84	622,84	*	*
T (oC)	1	0,0	0,00	0,00	*	*
biomassa (g)	1	1107,3	1107,27	1107,27	*	*
2-Way Interactions	3	0,0	0,00	0,00	*	*
pH*T (oC)	1	0,0	0,00	0,00	*	*
pH*biomassa (g)	1	0,0	0,00	0,00	*	*
T (oC)*biomassa (g)	1	0,0	0,00	0,00	*	*
3-Way Interactions	1	0,0	0,00	0,00	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	0,0	0,00	0,00	*	*
Curvature	1	207,6	207,61	207,61	*	*
Residual Error	3	0,0	0,00	0,00		
Pure Error	3	0,0	0,00	0,00		
Total	11	1937,7				

Unusual Observations for % Mn

Obs	StdOrder	% Mn	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	17,6471	17,6471	0,0000	0,0000	* X
2	2	35,2941	35,2941	0,0000	0,0000	* X
3	3	17,6471	17,6471	0,0000	0,0000	* X
4	4	35,2941	35,2941	0,0000	0,0000	* X
5	5	41,1765	41,1765	0,0000	-0,0000	* X
6	6	58,8235	58,8235	0,0000	-0,0000	* X
7	7	41,1765	41,1765	0,0000	-0,0000	* X
8	8	58,8235	58,8235	0,0000	-0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Mn using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-50,0000
pH	8,82353
T (oC)	3,57941E-15
biomassa (g)	23,5294
pH*T (oC)	-2,95374E-16
pH*biomassa (g)	-8,71921E-15
T (oC)*biomassa (g)	-3,36938E-15
pH*T (oC)*biomassa (g)	3,80264E-16
Ct Pt	8,82353

Análise Fatorial: Eficiência Cd (%) versus pH; T (°C); biomassa (g)

Estimated Effects and Coefficients for % Cd (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
------	--------	------	---------	---	---

Constant		15,278	0,9821	15,56	0,001
pH	13,889	6,944	0,9821	7,07	0,006
T (oC)	-0,000	-0,000	0,9821	-0,00	1,000
biomassa (g)	8,333	4,167	0,9821	4,24	0,024
pH*T (oC)	0,000	0,000	0,9821	0,00	1,000
pH*biomassa (g)	2,778	1,389	0,9821	1,41	0,252
T (oC)*biomassa (g)	-0,000	-0,000	0,9821	-0,00	1,000
pH*T (oC)*biomassa (g)	-0,000	-0,000	0,9821	-0,00	1,000
Ct Pt		-2,778	1,7010	-1,63	0,201

S = 2,77778 PRESS = *
R-Sq = 96,04% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 85,46%

Analysis of Variance for % Cd (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	524,69	524,691	174,897	22,67	0,015
pH	1	385,80	385,802	385,802	50,00	0,006
T (oC)	1	0,00	0,000	0,000	*	*
biomassa (g)	1	138,89	138,889	138,889	18,00	0,024
2-Way Interactions	3	15,43	15,432	5,144	0,67	0,626
pH*T (oC)	1	0,00	0,000	0,000	*	*
pH*biomassa (g)	1	15,43	15,432	15,432	2,00	0,252
T (oC)*biomassa (g)	1	0,00	0,000	0,000	*	*
3-Way Interactions	1	0,00	0,000	0,000	*	*
pH*T (oC)*biomassa (g)	1	0,00	0,000	0,000	*	*
Curvature	1	20,58	20,576	20,576	2,67	0,201
Residual Error	3	23,15	23,148	7,716		
Pure Error	3	23,15	23,148	7,716		
Total	11	583,85				

Unusual Observations for % Cd

Obs	StdOrder	% Cd	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	1	5,5556	5,5556	2,7778	-0,0000	* X
2	2	16,6667	16,6667	2,7778	0,0000	* X
3	3	5,5556	5,5556	2,7778	-0,0000	* X
4	4	16,6667	16,6667	2,7778	0,0000	* X
5	5	11,1111	11,1111	2,7778	-0,0000	* X
6	6	27,7778	27,7778	2,7778	-0,0000	* X
7	7	11,1111	11,1111	2,7778	0,0000	* X
8	8	27,7778	27,7778	2,7778	-0,0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for % Cd using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-13,8889
pH	2,7778
T (oC)	-0,00000
biomassa (g)	-8,3333
pH*T (oC)	0,000000
pH*biomassa (g)	2,7778
T (oC)*biomassa (g)	0,00000
pH*T (oC)*biomassa (g)	-0,000000
Ct Pt	-2,77778