UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA

DIEGO ARMANDO SANTOS ALVES

ESTUDO DOS PROCESSOS DE BIORSORÇÃO E DESSORÇÃO DE ÍONS METÁLICOS DE Cu^{2+} E Zn^{2+} EM SOLUÇÃO SINTÉTICA ATRAVÉS DE COLUNA DE LEITO FIXO.

São Paulo
2020

DIEGO ARMANDO SANTOS ALVES

ESTUDO DOS PROCESSOS DE BIOSSORÇÃO E DESSORÇÃO DE ÍONS METÁLICOS DE Cu^{2+} E Zn^{2+} EM SOLUÇÃO SINTÉTICA ATRAVÉS DE COLUNA DE LEITO FIXO.

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (POLI-USP) como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciência.

Área de Concentração: Engenharia Química

Orientador: Profº Dr. Jorge Alberto Soares Tenório

Co-Orientadora: Dr. Marcela dos Passos Galluzzi Baltazar

**São Paulo
2020**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, _____ de _____ de _____

Assinatura do autor: _____

Assinatura do orientador: _____

Catálogo-na-publicação

Alves, Diego Armando Santos

Estudo dos processos de bioadsorção e dessorção de íons metálicos de Cu^{2+} e Zn^{2+} em solução sintética através de coluna de leito fixo. / D. A. S. Alves – versão corr. – São Paulo, 2020.
135 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1.Adsorção 2.Isoterma 3.Biorremediação 4.Consórcio microbiológico 5.Eluição ácida I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II.t.

Dedicatória

*Dedico essa jornada ao esforço, dedicação, paciência e amor de Lucinda, Antonio
e Anna Carolina.*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, pelo amor incondicional e pelo esforço de seguir o objetivo, nunca disperso, de poderem deixar a maior herança que eles poderiam me fornecer, minha educação. Amo muito vocês. Além da minha avó Didi por toda dedicação e ao meus tios Sonia e Nelson pelo incentivo.

À minha namorada, Anna Carolina, sempre ao meu lado me acompanhando em todos os momentos da minha vida, sejam bons ou ruins. Que me ensina todo dia sobre cumplicidade, amor e humildade, ajudando a me tornar um ser humano melhor a cada dia, e, a seus pais e avós, que sempre me incentivaram, Izolina (*in memorian*), Antonio, Cilene e Rudnei.

Ao Profº Jorge Alberto Soares Tenório, pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal, pelo respeito e pelos momentos compartilhados de conhecimento técnico, de cobrança, mas também de descontração e de risadas, sempre soltando piadas para o seu aluno de Vicente de Carvalho. Agradeço também a compreensão nos momentos críticos e pelo grande coração que agrega tantos alunos no LAREX, dentro desse tabuleiro preto e branco que é a POLI-USP. À Profª Denise Espinosa, por ter me direcionado para o Grupo de pesquisa.

Aos colegas de CEPEMA-USP, Ingrid Avanzi, Elen Aquino, Bruno Karolski, Marcela Baltazar, Letícia Cardoso, Felipe Santana e Louise Gracioso pelos ensinamentos elementares da microbiologia e pela acolhida. Ao carinho e atenção de Neide, Lidiane, Claudia, Moacir, Jurandir e Maney (*in memorian*). Agradeço também a amizade, boas risadas e bons momentos de conversa e de experiência trocada com Mauro, Osmar, Vanessa, Rui, Luciano, Palmira, Davi, além do privilégio de dividir essa caminhada acadêmica com pessoas íntegras, inteligentes e com um potencial imensurável, ocasionalmente até desperdiçado, muito obrigado pela contribuição a minha vivência no mestrado e pelas discussões filosóficas, gastronômicas e qualquer outra aleatória que tivemos Rafaela Araujo, Nilson Roman, Daniel, Jefferson Gouveia, Gustavo Feijoo, Gustavo Brandão, Caroline Freixo e Bruna Santana.

Aos amigos do LAREX, que me ajudaram com favores e bate-papos descontraídos, esclarecedores e que ajudaram para que eu conseguisse achar o caminho das pedras, obrigado Solange Utimura, Carlos Rosário e Pedro Forastieri.

Agradeço aos irmãos que a vida me concedeu, Rafael Biazotto e Henrique Guimarães, pela força em SP no início do curso.

Agradeço as obras de Racionais, Emicida, Projota e Eminem, que me motivaram em instantes de desânimo e me lembravam do privilégio que eu tinha em estar onde eu estava e de quanto eu representava ali, além de servir de exemplo e, principalmente, de inspiração para outras pessoas que compartilham da mesma origem e ancestralidade que a minha.

Obrigado a todos aqui citados, que de uma forma ou de outra me deram força para concluir essa caminhada!

“Ubuntu, eu sou por que nós somos.”

Provérbio Africano

RESUMO

Os recursos hídricos propícios ao consumo humano vêm sofrendo com diversos casos de contaminação e desperdício ano após ano. Muitas dessas contaminações são originárias de processos industriais e de mineração, os quais têm uma participação negativa no meio ambiente através de efluentes e rejeitos contendo metais tóxicos. Motivando a indústria da mineração a investir em novas tecnologias práticas e economicamente viáveis para que possa reaproveitar o metal residual nos rejeitos, devolver ao meio ambiente uma água de melhor qualidade e que atenda as condições legais de despejo. A adsorção por biomassa vem se revelando uma boa forma de diminuir o teor de metais nesses efluentes de forma eficiente e acessível. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de bioadsorção e recuperação de íons de zinco e cobre de uma solução sintética, usando coluna de leito fixo e utilização de biomassa proveniente de consórcio de micro-organismos inativos do solo da cidade de Cubatão-SP. O consórcio foi cultivado em meio de cultura LB a agitação e temperatura controlada, com o crescimento microbiológico o consórcio foi separado do meio e submetido ao processo de liofilização, concomitante a isso colônias de duas das possíveis bactérias presentes no consórcio foram isoladas e identificadas por técnica de MALDI-TOF. Após isso a biomassa liofilizada foi empregada em ensaios numa coluna de leito fixo com a passagem de soluções metálicas. Nesta etapa foram realizados ensaios com o bombeamento de 20 mL das soluções sintéticas mono-elementar contendo os metais cobre e zinco, separadamente, com concentrações variando de 10 a 175 mg/L e a massa de bioadsorvente variando entre 0,5 g a 1 g, desse modo avaliou-se a influência dessas variáveis na bioadsorção. Posterior a etapa de bioadsorção foram bombeadas soluções 0,2 M de ácido clorídrico e ácido nítrico para determinar o melhor agente eluente na dessorção dos íons. Ensaios comparativos da etapa de adsorção com carvão ativado também foram realizados. Para a determinação da eficácia do processo, as soluções obtidas após passagem pela coluna foram analisadas para determinação da concentração dos metais estudados por técnica de espectroscopia de emissão atômica (ICP-OES). Os modelos de isothermas de Langmuir e Freundlich foram aplicados para determinar o comportamento do fenômeno da adsorção. Foi constatado que ambos os metais acompanham o modelo de Langmuir de adsorção. Através dos resultados obtidos, foi possível identificar as bactérias isoladas a partir do consórcio, sendo elas *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os dados do processo analisados indicaram as melhores taxas de remoção para o Zn^{2+} e Cu^{2+} de 89% e 82% respectivamente, ambos os resultados foram obtidos com soluções metálicas com concentração de 10 mg/L em contato com 1 g de bioadsorvente e capacidade teórica de remoção máxima de 200 mg de Zn^{2+} por grama de biomassa e de 164 mg de Cu^{2+} por grama de biomassa, nas mesmas condições. Já na recuperação do metal a porcentagem de eficácia ficou na faixa de 95% para o zinco e de 82% para o cobre com uso da solução de ácido nítrico, também na condição de 10 mg/L de íons metálicos e 1 g de bioadsorvente. Foi constatado que o carvão ativado obteve melhor desempenho para adsorver íons de cobre e a biomassa sobressaiu quando utilizada em contato com íons de zinco.

Palavras-chave: Adsorção, Isothermas, Biorremediação, Consórcio microbiológico, Eluição ácida.

ABSTRACT

The hydric sources suitable to human consumption have been suffering several contamination and waste cases, year after year. Many of these contaminations originate from industrial processes and mining, which have a negative participation in the environment through effluents containing toxic metals. The mining industry has invested in new practical and economically viable technologies, so that it can reuse the waste metal in the mining tailings and also return to the environment better quality water that meets the legal conditions of disposal. The adsorption by biomass has been revealed as a way to decrease the metal content in these effluents in an efficient and affordable manner. This work had the purpose to study the process of biosorption and recovery of zinc and copper ions from synthetic effluents in bed fixed column, using biomass from inactive soil microbial consortium from Cubatão-SP. The consortium was cultivated in controlled temperature and agitation, lyophilized and two of the possible microorganisms present in the consortium were isolated and identified by MALDI-TOF technique. The experiments were performed with the pumping of 20 mL of the mono-elemental synthetic solutions containing the copper and zinc metals separately, with concentrations ranging from 10 to 175 mg / L and the biosorbent mass ranging from 0.5 g to 1 g. After the biosorption step 0.2 M solutions of hydrochloric acid and nitric acid were pumped to determine the best eluting agent in desorption of ions. Comparative adsorption tests between activated carbon and the biomass were also performed. To determine the process effectiveness, the solution obtained after the passage through the column, was analyzed determining the concentration of metals studied by atomic emission spectroscopy technique (ICP-OES). The Langmuir and Freundlich models were applied to determine the phenomenon behavior. It was found that the process for both metals follow the Langmuir adsorption model, the presence of biopolymers on the surface of the biosorbent was identified. It was possible to identify the bacteria isolated from the consortium, namely *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*. With the process reaching maximum removal efficiency for ions of zinc and ions of copper of 89% and 82% respectively, in a condition of 10 mg/L of metallic ions and 1 g of biosorbent for both cases. The maximum theoretical uptake capacity found for zinc per unit of biomass was 200 mg/g and for copper 164 mg/g. In the recovery of the metal, the percentage of effectiveness was in the range of 95% for zinc and 82% for copper under the same optimum conditions of adsorption tests (10 mg/L $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ and 1 g of biosorbent). Activated charcoal was found to perform better for adsorbing copper ions and biomass excelled when used in contact with zinc ions.

Keywords: Adsorption, Isotherms, Bioremediation, Microbial consortium, Acid Elution.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1.2. GESTÃO DE RESÍDUOS DE MINERAÇÃO	23
1.3. PRODUÇÃO MINERAL.....	28
1.3.1. COBRE	28
1.3.1.1 COBRE NA ECONOMIA.....	31
1.3.2. ZINCO	33
1.3.2.1 ZINCO NA ECONOMIA	35
1.4. BIORREMEDIAÇÃO	36
1.4.1. BIOSSORVENTES.....	41
1.4.2. COLUNA DE ADSORÇÃO	45
1.5. ADSORÇÃO	47
1.5.1. ISOTERMAS	53
1.5.1.1. ISOTERMA DE LANGMUIR	55
1.5.1.2. ISOTERMA DE FREUNDLICH	59
1.5.2. SOMA DOS QUADRADOS DOS ERROS (SQE)	60
1.6. IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS POR MALDI-TOF	61
2. OBJETIVOS.....	64
3. MATERIAIS E MÉTODOS	65
3.1. COLETA DE SOLO.....	65
3.2. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES METÁLICA.....	66
3.3. CULTIVO DO CONSÓRCIO MICROBIANO.....	68
3.4. PREPARAÇÃO DA BIOMASSA.....	70
3.5. CARVÃO ATIVADO PARA ADSORÇÃO	71
3.6. CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA.....	72
3.6.1. ISOLAMENTO DE MICRO-ORGANISMO	72
3.6.2. IDENTIFICAÇÃO DE MICRO-ORGANISMO POR ESPECTROMETRIA DE MASSA MALDI TOF	73
3.6.3. MORFOLOGIA DA BIOMASSA.....	74
3.6.4. ANÁLISE DOS SÍTIOS ATIVOS DO BIOSSORVENTE	74
3.7. EXPERIMENTOS NA COLUNA.....	74
3.8. ETAPA DE ADSORÇÃO METÁLICA	77
3.9. ETAPA DE ELUIÇÃO ÁCIDA DOS METAIS	77
3.10. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO METÁLICA E DE BIOMASSA.....	78

3.11. INFLUÊNCIA DA ESPÉCIE ÁCIDA NA RECUPERAÇÃO IÔNICA.....	78
3.12. ANÁLISE DE AMOSTRAS (ICP-OES)	78
3.13. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....	79
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	80
4.1. IDENTIFICAÇÃO MICROBIAL DO CONSÓRCIO – MALDI-TOF	80
4.2. ANÁLISE DE MORFOLOGIA DO BIOSSORVENTE	85
4.3. CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO DO BIOSSORVENTER	87
4.4. EFICIÊNCIA DA ADSORÇÃO E DESSORÇÃO	96
4.4.1. ADSORÇÃO – ZINCO	97
4.4.2. DESSORÇÃO – ZINCO.....	99
4.4.3. ADSORÇÃO – COBRE	101
4.4.4. DESSORÇÃO – COBRE	102
4.5. VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO METÁLICA.....	104
4.6. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....	106
4.6.1. ZINCO	106
4.6.1.1. COMPARATIVO DE ISOTERMAS BIOMASSA/CARVÃO ATIVADO – Zn^{2+}	112
4.6.2. COBRE	114
4.6.2.1. COMPARATIVO DE ISOTERMAS BIOMASSA/CARVÃO ATIVADO – Cu^{2+}	120
5. CONCLUSÕES.....	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	124

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

Figura 1 – Mapa de distribuição das barragens de rejeitos no Brasil	24
Figura 2 – Pontos de exploração mineral no Estado do Pará – Brasil e respectivos teores metálicos.....	26
Figura 3 – Vista por satélite da mina do sossego/Canaã dos Carajás/PA.....	27
Figura 4 – Relação dos principais metais importados pelo Brasil.....	27
Figura 5 – Setores de aplicação de cobre no mercado mundial	30
Figura 6 – Uso global do zinco em 2018	34
Figura 7 – Principais mecanismos de tolerância a metais tóxicos nas bactérias	38
Figura 8 – Mecanismos de bio sorção relacionado com ação metabólica	41
Figura 9 – Estrutura de bactérias Gram-positiva e Gram-negativa.....	43
Figura 10 – Comparativo de adsorção de Cr(IV) por cepas de <i>B. sphaericus</i> , com micro-organismos mortos e vivos.....	45
Figura 11 – Sistema de recuperação de íons metálicos.....	47
Figura 12 – Esquema de porosidade em Carvão ativado granular.....	49
Figura 13 – Esquema de ligação entre moléculas de HCl.....	52
Figura 14 – Classificação de isothermas conforme IUPAC	54
Figura 15 – Esquema de análise MALDI-TOF.....	62
Figura 16 – Espectros de amostras MALDI-TOF	62
Figura 17 – Fluxograma do processo.....	65
Figura 18 – Local de coleta de amostra	66
Figura 19 – Diagrama de Pourbaix para solução de zinco 170 mg/L	67
Figura 20 – Diagrama de Pourbaix para solução de cobre 170 mg/L.....	67
Figura 21 – Preparação do cultivo microbiológico em presença de Cu^{2+} e Zn^{2+}	69
Figura 22 – Cultivo após 48 horas de incubação	69
Figura 23 – Equipamento de liofilização.....	70

Figura 24 – Biomassa liofilizada pré e após moagem	71
Figura 25 – Pó de carvão ativado utilizado nos experimentos comparativos.....	72
Figura 26 – Esquema de coluna de adsorção utilizada no estudo	75
Figura 27 – Sistema experimental com coluna de leito fixo.....	75
Figura 28 – Leito com biomassa e esferas de vidro	76
Figura 29 – Placa Petri com consórcio microbiano	80
Figura 30 – Micro-organismos analisados por MALDI-TOF.....	80
Figura 31 – Espectros da Bactéria A e da Bactéria B, obtido no MALDI-TOF BIOTYPER	81
Figura 32 – Resultado MALDI-TOF BIOTYPER, Bactéria A.....	82
Figura 33 – Resultado MALDI-TOF BIOTYPER, Bactéria B.....	82
Figura 34 – Dendograma da <i>Enterococcus faecalis</i> – BAC A	83
Figura 35 – Dendograma da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – BAC B.....	83
Figura 36 – Microscopia da Biomassa do consórcio após liofilização e moagem. Ampliação 410x e 1750x.....	85
Figura 37 – Região de biomassa do consórcio após liofilização e moagem, Ampliação 1750x.....	85
Figura 38 – Microscopia de Biomassa do consórcio após liofilização e moagem. Ampliação 400x	86
Figura 39 – Regiões regular e irregular na microscopia da Biomassa do consórcio após liofilização e moagem. Ampliação 1750x.....	86
Figura 40 – Espectro de infravermelho de antes e depois do ensaio de adsorção de Zn	88
Figura 41 – Espectros de infravermelho comparativo de antes e após do ensaio de biossorção de íons de cobre	90
Figura 42 – Espectros de infravermelho das amostras após dessorção do Zn^{2+} com HCl e HNO_3 comparado com amostra inicial.....	92
Figura 43 – Espectros de infravermelho das amostras após dessorção do Cu^{2+} com HCl e HNO_3 comparado com amostra inicial.....	94
Figura 44 – Curva padrão de concentração do zinco em H_2O como matriz	96
Figura 45 – Curva padrão de concentração do zinco em HCl como matriz	97

Figura 46 – Curva padrão de concentração do zinco em HNO_3 como matriz.....	97
Figura 47 – Porcentagem de adsorção do Zn^{2+} em contato com diferentes massas de adsorvente	98
Figura 48 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 1 g de biomassa e solução de HCl/HNO_3	99
Figura 49 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 0,8 g de biomassa e solução de HCl/HNO_3	100
Figura 50 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 0,5 g de biomassa e solução de HCl/HNO_3	100
Figura 51 – Porcentagem de adsorção do Cu^{2+} em contato com diferentes massas de adsorvente	102
Figura 52 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 1 g de biomassa e solução de HCl/HNO_3	103
Figura 53 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 0,8 g de biomassa e solução de HCl/HNO_3	103
Figura 54 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 0,5 g de biomassa e solução de HCl/HNO_3	104
Figura 55 – Porcentagem do processo de dessorção para o Zn^{2+} versus a remoção metálica no equilíbrio com aplicação de 1 g de biomassa.....	105
Figura 56 – Porcentagem do processo de dessorção para o Cu^{2+} versus a remoção metálica no equilíbrio com aplicação de 1 g de biomassa	105
Figura 57 – Isotermas de adsorção do Zn^{2+} em diferentes concentrações em contato com 0,5 g; 0,8 g e 1g de biossorvente.....	107
Figura 58 – Modelo linearizado Langmuir – 1, adsorção do Zn^{2+} / 1 g de biomassa	107
Figura 59 – Modelo linearizado Lineweaver-Burk, adsorção do Zn^{2+} / 1 g de biomassa	107
Figura 60 – Modelo linearizado Eadie-Hofstee, adsorção do Zn^{2+} / 1 g de biomassa	108
Figura 61 – Modelo linearizado Scatchard, adsorção do Zn^{2+} / 1 g de biomassa	108
Figura 62 – Modelo linearizado Freundlich, adsorção do Zn^{2+} / 1 g de biomassa.....	108
Figura 63 – Comparativo dos modelos de isotermas do Zn^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos	109

Figura 64 – Comparativo dos modelos de isothermas do Zn^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos	110
Figura 65 – Fator adimensional de Langmuir em função da concentração inicial de íon de Zn^{2+}	112
Figura 66 – Comparativo de capacidade de remoção de Zn^{2+} entre 1 g de biomassa e 1 g de carvão ativado.....	113
Figura 67 – Isothermas de adsorção do Cu^{2+} em diferentes concentrações em contato com 0,5 g; 0,8 g e 1g de biossorbente.....	114
Figura 68 – Modelo linearizado Langmuir – 1, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa .	115
Figura 69 – Modelo linearizado Lineweaver-Burk, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa	115
Figura 70 – Modelo linearizado Eadie-Hofstee, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa	115
Figura 71 – Modelo linearizado Scatchard, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa.....	115
Figura 72 – Modelo linearizado Freundlich, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa	116
Figura 73 – Comparativo dos modelos de isothermas do Cu^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos	116
Figura 74 – Comparativo dos modelos de isothermas do Cu^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos	117
Figura 75 – Fator adimensional de Langmuir em função da concentração inicial de íon de Cu^{2+}	119
Figura 76 – Comparativo da capacidade de remoção de Cu^{2+} entre 1 g de biomassa e 1 g de carvão ativado.....	120

LISTA DE TABELAS

PÁGINA

Tabela 1 – Composição química típica do rejeito de zinco.....	25
Tabela 2 – Composição química típica de escórias de cobre.....	25
Tabela 3 – Reservas globais de cobre, 2018.....	31
Tabela 4 – Reservas globais de zinco, 2018.....	35
Tabela 5 – Tecnologias de remoção de poluentes.....	37
Tabela 6 – Métodos de recuperação do metal adsorvido.....	46
Tabela 7 – Caracterização de poros	51
Tabela 8 – Comparação entre processos de adsorção	53
Tabela 9 – Modelo de Langmuir linearizado e suas variações	57
Tabela 10 – Fator adimensional de Langmuir e seu significado.....	59
Tabela 11 – Alíquotas para análise no ICP-OES	79
Tabela 12 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtido por análise do espectro de FTIR antes e após o contato com íons de zinco	89
Tabela 13 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtido por análise do espectro de FTIR antes e após o contato com íons de cobre.....	91
Tabela 14 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtido por análise do espectro de FTIR antes e após o contato com íons de zinco	93
Tabela 15 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtido por análise do espectro de FTIR antes e após o contato com íons de cobre.....	95
Tabela 16 – Comparativo do SQE dos modelos de isotermas para adsorção do Zn^{2+}	110
Tabela 17 – Parâmetros isotérmicos de Langmuir, suas variações, e Freundlich para o fenômeno de adsorção do zinco pela biomassa, utilizando 1 g de biomassa, concentração de 10 – 175 mg de Zn^{2+} /L.	111
Tabela 18 – Comparativo do SQE dos modelos de isotermas para adsorção do Cu^{2+}	117

Tabela 19 – Parâmetros isotérmicos de Langmuir, suas variações, e Freundlich para o fenômeno de adsorção do cobre pela biomassa, utilizando 1 g de biomassa, concentração de 10 – 150 mg de Cu^{2+} /L.....	118
--	-----

LISTA DE SIGLAS

ANA	Agência Nacional de Águas
ATP7B	Gene ATP fosfo-hidrolase de exporte de Cu ²⁺
BET	Teoria de Adsorção Brunauer – Emmett – Teller
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBO	Demanda biológica de Oxigênio
DQO	Demanda química de Oxigênio
FDA	Agência dos Estados Unidos para a Saúde e Serviços Humanos
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LB	Meio de cultivo bacteriano Lysogeny Broth
MALDI-TOF	Espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por matriz
MDIC	Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SNISB	Sistema Nacional de Informação sobre Segurança de Barragens
SQE	Soma dos Quadrados dos Erros
SX-EW	Extração por solvente e Eletrodeposição
TFA	Ácido Trifluoroacético
USGS	Serviço Geológico dos Estados Unidos

1. Introdução

A contaminação da água causada por poluentes como metais, hormônios e fármacos; é encarada como um dos principais problemas ambientais contemporâneos, junto com o desmatamento, aquecimento global e a degradação do solo, pois, traz consequências que impactam diretamente na população, por conseguinte reflete diretamente na qualidade de vida da mesma, já que todos poluentes citados são recalcitrantes [1].

A busca por meios de tratamento de efluentes para descontaminação da água e recuperação dos metais é tema do trabalho de diversos autores [2] [3] [4] [5], onde são citados métodos utilizados para remoção de metais presentes em meios aquosos, porém, além de serem custosos, alguns não atingem uma eficiência desejada para a recuperação do recurso natural, já que necessitam atuar numa faixa restrita de concentração e não são sustentáveis no âmbito ambiental por gerar um resíduo secundário.

Essa procura objetiva alcançar níveis mínimos para que efluentes gerados por indústrias, siderúrgicas e beneficiamento mineral sejam descontaminados antes de seu despejo final. Essas técnicas seguem sendo desenvolvidas e otimizadas para oferecer cada vez mais formas de minimizar o dano causado no meio ambiente, não menos importante é a cooperação de políticas públicas agindo com rigidez e sem morosidade ante descasos e atos imprudentes que sejam nocivos ao ecossistema [6].

A remoção/recuperação de metais tem despertado interesse em empresas de mineração como uma forma secundária de obtenção dos metais de interesse e, conseqüentemente, aportes financeiros em estudos de técnicas para otimização desse processo de remoção e recuperação estão sendo realizados [7].

Entre as técnicas de remoção de metais de efluentes se destacam a extração por solvente [8], métodos eletroquímicos [9] e os biossorventes [7].

O uso dos biossorventes tem se destacado por utilizar materiais para remoção dos metais, tais quais: bactérias, fungos e plantas em geral. Fazendo com que haja um apelo sustentável para a técnica, já que normalmente utiliza material orgânico abundante no meio e, às vezes, adaptado ao agente poluente, em sua própria remediação [7].

Alguns estudos abordam o uso de diversas fontes de biossorventes, na busca do melhor material para cada tipo de poluente, entre os quais se destacam as cascas de frutas e sementes, lodo ativado de estações de tratamento de

esgoto, resíduos agrícolas e uma infinidade de micro-organismos, às vezes, *in natura* já em outras com tratamento prévio de ativação do bioissorvente na busca dos melhores resultados possível [10].

Com base nessas informações esse trabalho tem como justificativa avaliar se um bioissorvente composto por bactérias abundantes em um local com histórico de poluição, que no passado alcançou níveis alarmantes de poluição, como a cidade de Cubatão, possa ser cultivado e que apresente desempenho favorável tanto quanto os materiais preparados para serem aplicados na função de remover e recuperar íons metálicos, como o carvão ativado.

Os metais cobre e zinco foram os alvos do estudos por se apresentarem como metais estratégicos para o desenvolvimento econômico e também por serem bivalentes, já que juntos com níquel, ferro e cromo são os metais mais encontrados em efluentes industriais contaminados [11], apesar disso, por não apresentarem tantos riscos a saúde como cádmio, chumbo e mercúrios não possuem a devida atenção ao tratamento dos efluentes industriais despejados em que estão presentes [12].

1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A vida e o desenvolvimento no planeta dependem diretamente da oferta de água e dos fatores que influenciam essa oferta, atualmente ainda há uma parcela da população mundial que não tem acesso à água potável [13]. A água sempre foi primordial para o desenvolvimento das civilizações, desde as primeiras conhecidas, originárias do Crescente fértil, que a utilizavam principalmente para agricultura e consumo [14]. E, atualmente, nessa era antropocênica, onde o ser humano tem reflexo direto nas alterações que acontecem no meio ambiente, a água continua como fator central em assuntos impactantes, tais quais: Desenvolvimento econômico e social, êxodos populacionais e mudanças climáticas.

Como a demanda por esse bem mineral tende a acompanhar o crescimento populacional mundial, fatores estratégicos de geopolítica, como segurança alimentar e energética de um país estarão cada vez mais presentes nos debates entre as grandes potências mundiais. A quantidade disponível desse recurso já vem influenciando e influenciará cada vez mais na política e na economia mundial [15].

Por tal motivo seu uso deve ser gerido de forma ética, eficiente e responsável, com criação e aplicação de políticas públicas que visem à sustentabilidade do uso desse recurso. A água vem se tornando, se já não é, o recurso natural mais valioso que a humanidade tem e mesmo assim as ocorrências de poluição de corpos d'água ainda não detêm atenção necessária e continuam sendo uma constante [15].

O desafio de suprir uma demanda de água, que tende a triplicar em 20 anos, tem trazido preocupações a diversos países do mundo, pois todos sabem que essa conjuntura não será fácil de encarar já que poderá ser o estopim de crises políticas, migratórias, econômicas e epidêmicas em diferentes regiões que inevitavelmente irão impactar em tantas outras, culminando em milhões de pessoas sofrendo mortes prematuras em locais onde se encontra a escassez deste recurso como citado em Sustich, *et. al.* [16].

O Brasil aparentemente não sofre com a falta, entretanto a distribuição e a eficiência do uso do recurso aqui no país ainda possui muitas falhas. Exatamente por não haver um risco iminente de escassez à população, governantes e autoridades nunca deram muita importância para a conservação de mananciais e corpos hídricos. De acordo com o Anuário da Embrapa (2001) no Brasil cerca de 73% da água doce produzida se encontra na bacia Amazônica, onde somente 5%

da população está instalada e os 27% restante do recurso são utilizados por 95% da população brasileira [17].

As necessidades de um uso consciente e de uma melhor gestão dos recursos naturais são primordiais, segundo Ruhoff, o Brasil peca e abusa do descaso em relação à água, os principais acontecimentos são contaminações por esgoto doméstico, por defensivos agrícolas utilizados em excesso em áreas agrícolas e, principalmente, por resíduos industriais [18].

Com o aumento na demanda por produtos industrializados impulsionado pela expansão da população mundial para atender suas necessidades e/ou desejos de consumo, o setor industrial também cresceu e concomitante a esse crescimento seus rejeitos, tanto sólidos quanto líquidos e gasosos, acompanharam as taxas de produção potencializando e criando novas fontes de contaminações, impactando na saúde pública e nos ecossistemas que entram em contato com tais poluentes [19].

A poluição de corpos d'águas pode ocorrer de modo indireto ou direto [20]:

- Indireto – quando há contaminação de solos e lençóis freáticos ocorrida após a utilização de agrotóxicos e pesticidas que percolam a um nível além da capacidade de saturação do solo; em situações de degelo da neve que carregou poluentes da atmosfera e também no caso do arraste de substâncias contaminantes presentes no solo pelas águas pluviais para os corpos hídricos.
- Direto – caracterizado pelos despejos de rejeitos industriais e/ou domésticos em locais inapropriados ou sem o tratamento necessário para que não causem impactos ambientais que contenham substâncias danosas, tais quais: metais, corantes, materiais radioativo, detergentes, medicamentos além vazamento de óleo no mar.

Os setores de siderurgia, mineração, manufatura e têxtil são algumas das áreas que mais trazem conforto à sociedade, em compensação contribuem com lançamento de efluentes que contam com o tratamento deficiente que liberam contaminantes tóxicos que afetam o bem-estar dos seres humanos e do restante da biodiversidade [21] [22].

Os metais apresentam característica acumulativa chegando a debilitar o funcionamento de órgãos vitais e até o transporte de nutrientes essenciais a vida,

os hormônios podem causar disfunções endócrinas e os fármacos contribuem diretamente para a formação de bactérias super resistentes na natureza [1].

Na mineração há investimentos para que seja possível transpassar as barreiras imposta pelas condições operacionais como a moagem e a extração; contudo, a importância da água é deixada em segundo plano e, por consequência, sua influência no beneficiamento do metal. É despendida uma atenção à água no que tange manter a qualidade de saída para que haja uma reutilização no processo, em razão da escassez no local ou por exigências ambientais, longe de ser um uso consciente e racional [23].

Para que esse reaproveitamento seja satisfatório é imprescindível a aplicação de processos de tratamento significantes para devolver à água a qualidade necessária para seu reuso, assim também, diminuindo o tamanho das barragens de rejeitos [23].

O impacto da contaminação metálica ao ambiente é permanente, pois uma vez presente no ambiente, passa a interagir com matérias abióticas e bióticas, sendo danosos para esse último, por não ser degradável. A maneira encontrada para remoção é concentrando-os para tornar mais viável sua recuperação e reutilização através das tecnologias disponíveis no mercado, como membranas e solventes, entretanto essas soluções costumam gerar resíduos tão problemáticos quanto às substâncias a serem tratadas, formando um problema secundário [2] [3].

Levando em conta esses pontos negativos, iniciou-se uma busca por materiais naturais ou micro-organismos, que trouxesse uma solução para o problema originado pela poluição, chamada de biorremediação. Objetivando uma possível atenuação, remoção ou até, no caso dos metais, reaproveitamento dos poluentes associados aos efluentes; ocasionando uma nova geração de receitas. Essa prática atenderia a legislação ambiental e contribuindo para a conservação do patrimônio ambiental para o bem estar da futuras gerações, seguindo desse modo o princípio do desenvolvimento sustentável [13].

Alguns trabalhos científicos têm investigado uma categoria da biorremediação, a bioissorção, que possibilita o uso de resíduos industriais (lodo ativado), agroindustriais (grãos, serragem, sementes) e/ou de micro-organismos (bactérias, fungos, microalgas) no objetivo de agir como material adsorvente desses metais danosos [2] [3] [4] [13] [24] [25] [26] [27] [28] [29] [30].

Estas alternativas naturais apresentam vantagens econômicas em relação aos outros métodos tradicionais por terem custos de \$5 a \$40 USD/tonelada que chega a ser 13 vezes mais barato, por advirem de fonte renovável, terem

aplicabilidade para os metais de interesse e utilizarem materiais biodegradáveis que seriam descartados em aterros ou incinerados caso não fossem utilizados [24] [31].

Ambos os íons metálicos abordados nessa proposta, cobre e zinco, são bivalentes, usualmente presente em efluentes, mas também essenciais para a vida humana, além de participar da metabolização de enzimas que atuam no sistema imunológico. Contudo em excesso (faixa de 500 mg/dia) se tornam tóxicos, isso é devido a sua característica de formar radicais livres e substituir metais essenciais em enzimas impactando assim no seu funcionamento normal [4] [28] [32] [33].

Mesmo com essas funções essenciais à vida, detém condições limites para emissões em efluentes, legislado pela resolução nº 430 do Conselho Nacional de Meio Ambiente de 2011 (CONAMA nº 430/2011). De acordo com a resolução o zinco total no lançamento de efluente deve ser no máximo de 5 mg/L, já no caso do cobre não deve passar a taxa de 1mg/L do metal, caso não seja atendido essas especificações o efluente necessita passar por tratamento prévio antes do despejo [34].

1.2. GESTÃO DE RESÍDUOS DE MINERAÇÃO

A mineração possui importante papel na contribuição para o bem estar da população. Diversos objetos que fazem parte do cotidiano da sociedade são produzidos a partir de metais, todo processo de beneficiamento na mineração gera quantidade considerável de rejeito, poeiras e gases tóxicos; isso sem contar com os impactos peculiares à atividade extrativa como: construção de barragem, erosão do solo e desmatamento da área de interesse [35].

As barragens de rejeito são depósitos do que sobra no processo de extração, de acordo com a Norma Brasileira NBR/ABNT 13028/2006 [36], a definição de rejeito é “todo e qualquer material não aproveitável economicamente, gerado durante o processo de beneficiamento de minérios”; consideradas causadoras de impactos ambientais significantes e, quando não recebida a atenção necessária, um perigo iminente para as vidas ao redor, despejando volumes consideráveis de efluentes nocivos no meio ambiente [37].

Dois dos maiores desastres ambientais ocorridos no Brasil, foram a ruptura da barragem de Mariana (MG), da empresa Samarco, com uma estimativa de 62 milhões de metros cúbicos de rejeito despejado, suficiente para destruir a cidade e contaminar o Rio Doce até a foz no Estado de Espírito Santo [38]; e, o

rompimento da barragem de rejeitos de operação da empresa Vale, no mesmo estado, em Brumadinho (MG), onde houve mais de uma centena de vítimas fatais, destruição de parte da cidade e contaminação do Rio Paraopeba. Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Segurança de Barragens (SNISB), subordinada a Agência Nacional de Águas (ANA), há no Brasil 671 barragens com o uso principal voltado aos rejeitos de mineração, com larga superioridade em números para o estado de Minas Gerais (figura 1) [39].

Figura 1 – Mapa de distribuição das barragens de rejeitos no Brasil, adaptado de [39].

Dentre essas barragens supracitadas, mais de 85% possuem volume maior que 3 bilhões de litros de rejeitos, esses valores são justificados pela quantidade de água usada no beneficiamento dos metais. Conforme informação da empresa Vale, são utilizados cerca de 330 mil litros de água para cada tonelada de cobre produzido, já para a produção do alumínio o consumo chega a 1,5 milhão de litros de água [40].

O grande volume de água utilizado por tonelada de metal correlacionado aos baixos teores dos metais presentes nos minerais resulta em um volume de rejeito cada vez maior. De Brito, em seu trabalho sobre rejeitos de mineração de zinco, detectou a presença de aproximadamente 16% do metal alvo do beneficiamento no resíduo, conforme Tabela 1, outros elementos marcaram presença, ou seja, numa grande produção tais elementos sobressalentes provavelmente seriam direcionados para os rejeitos, alguns inclusive de interesse

para o mercado, mas que sem a devida recuperação se tornarão novas fontes de poluição [41].

Tabela 1 – Composição química típica do rejeito de zinco [41]

Composição química do rejeito de mineração de zinco (%)	
Umidade	18,00
Sulfato total	10,06
SiO ₂	10,95
Zn	15,97
Cu	0,001
Zn	15,97
Pb	3,00
Cd	0, 001
Cr	0,03
Al	3,90
Ti	0,40

O cobre segue lógica semelhante, além das reservas possuírem teores modestos do metal, estima-se que cerca de 9,5% da quantidade contida no minério de entrada segue para os rejeitos [42]. Os resíduos do beneficiamento por pirometalurgia (*slag*), contém em média 0,5 a 1,5% de Cu em massa [42].

Tabela 2 - Composição química típica de escórias de cobre [42].

Composição química da escória de cobre (%)	
Ferro	42
Fe ₃ O ₄	≤ 5
SiO ₂	30 – 33
Ca	22 – 25
Cu	0,5 – 0,8
Zn	0,57
Pb	0,05
Ni	0, 012
Cr	< 0,25
Co	< 0,033

Na pirometalurgia os métodos para recuperação são a flotação por espuma e tratamento da escória em pequenos fornos elétricos, onde os rejeitos são reduzidos. Já na hidrometalurgia, utilizando lixiviação ácida, o nível de cobre em massa nos resíduos fica na faixa de 0,05% [43].

Aqui no Brasil foi divulgado um plano de mineração para a região dos Carajás no estado do Pará, onde a maior parte dos pontos sondados apresenta teor do metal menor que 1% (figura 2), mesmo assim a oportunidade se apresenta como um projeto interessante do ponto de vista econômico para a empresa, pois a dificuldade de encontrar reservas com alto teor é cada vez maior para as empresas mineradoras [44].

Figura 2 – Pontos de exploração mineral no Estado do Pará – Brasil e respectivos teores metálicos, [44].

A lagoa de rejeitos da Mina de Cobre do Sossego em Canaã dos Carajás-PA (figura 3) possui área de aproximadamente 4 km² da lagoa que represa 90 milhões de toneladas de rejeitos com um teor de cobre de 0,07% [44]. Como o cobre é o metal mais importado pelo país, segundo dados do Ministério da Indústria e Comércio Exterior (MDIC) (figura 4), qualquer oportunidade de obtenção do metal é vista com bons olhos pelas empresas [45].

Figura 3 – Vista por satélite da Mina do Sossego/ Canaã dos Carajás, PA [44].

Figura 4 – Relação dos principais metais importados pelo Brasil [45].

Empresas da área de mineração apresentam planos de investimento em pesquisa para a identificação de micro-organismos para a recuperação desse metal, já que essa ação retornaria num valor financeiro de aproximadamente US\$ 1,4 bilhão. Algumas espécies resistentes a altas concentrações do metal já foram identificadas e estão sendo estudada sua aplicação na biomineração [46].

1.3. PRODUÇÃO MINERAL

1.3.1. Cobre

Metal de coloração avermelhada apresenta como características físicas a maleabilidade, resistência a corrosão e ductilidade, tornando o material ideal para produção de lâminas e fios. É o terceiro metal mais utilizado no mundo atrás do ferro e do alumínio. Presente na crosta terrestre, principalmente nos minérios de calcopirita (CuFeS_2) e calcosita (Cu_2S) [47].

Trata-se de um metal essencial nos processos fisiológicos e bioquímicos no metabolismo humano, mas que pode causar problemas para pessoas que possuem a doença de Wilson (degeneração hepatolenticular), uma doença hereditária autossômica recessiva que aflige pessoas que possuem alteração no alelo ATP7B (Gene ATP fosfo-hidrolase de exporte de Cu^{2+}), que resulta no acúmulo do metal no fígado e outros órgãos, principalmente na córnea e no cérebro. Os sintomas são: peso anormal no lado direito do corpo, causada pela dilatação do fígado; coloração amarelada da pele, efeito cascata da alteração bioquímica sofrida pelo fígado (por causa desse sintoma a doença é confundida com hepatite e/ou cirrose); manifestações distônicas (tremores) nas mãos; há também a precipitação do metal nas córneas (Anéis de Kayser–Fleischer) e, se não tratada a tempo, destruição do fígado e de tecido nervoso [48] [49].

Nos últimos anos vêm sendo relacionado com a Doença de Alzheimer. Foi constatado que a presença de cobre livre no sangue em quantidade maior que a capacidade excretora dos rins, o torna tóxico para o cérebro e prejudicial para a cognição causando danos neurológicos [49].

A descoberta também mostra que a incidência da doença em países desenvolvidos é maior devido a presença do metal na água de consumo final, já que esses países costumam possuir mais tubulações de cobre para transporte de água potável do que países subdesenvolvidos, resultando numa lixiviação do metal presente na tubulação. Além disso, o uso de suplemento polivitamínico/polimineral, o consumo de frutas que tiveram contato com pesticidas e o consumo de carne vermelha também são indicados com fontes de cobre causador da doença em questão [49].

Na China o estudo de Shen *et. al.*, demonstrou que há uma correlação positiva entre a concentração de cobre no solo e a maior presença da Doença de Alzheimer nas províncias estudadas. Eles exemplificam que a frequência da doença é 2,6 vezes maior numa localização com concentração de cobre no solo de 60 a 80 mg/L, comparado a outra localização com concentração na faixa de 20 a 40 mg/L de cobre [50].

Para o beneficiamento do metal, o minério recolhido passa por uma etapa de moagem e flotação, onde é possível separar a parcela com maior composição do metal de interesse. Em seguida, no caso do processo pirometalúrgico, o concentrado é direcionado para uma sequência de fornos de conversão e refino, na presença de oxigênio, conforme equações 1 e 2, podendo alcançar a concentração de 99,9% de Cu após a refinação eletrolítica [51].

Etapa 1:

Etapa 2:

Já no processo hidrometalúrgico, uma alternativa inovadora para o processo pirometalúrgico, é recente e foi implantado a pouco mais de 30 anos atrás, é baseado a concentração licor lixiviado, produzido após a exposição do mineral a uma solução ácida e extraído por solventes orgânicos, sendo indicada para extração do metal em minérios de baixo teor [51].

O processo de lixiviação e eletrólise, chamado de SX-EW (Solvent extraction and electrowinning) é tão eficiente, chegando a atingir cátodos com 99,9% de pureza, que está bem estabelecido no contexto operacional e econômico da produção do metal puro nas indústrias de beneficiamento, além de ser menos poluente já que não libera gases poluentes como o dióxido de enxofre (SO₂), presente na rota pirometalúrgica [52].

Tanto no Brasil como no mundo, todos os aspectos da produção de cobre, que envolvem a mineração, lixiviação, moagem, fundição, refino e eletrólise, têm impactos potenciais de contaminação ao meio ambiente tanto na superfície quanto na qualidade da água subterrânea. Essas contaminações trazem uma preocupação crescente devido à característica de acumulação, podendo desencadear envenenamentos severos em toda cadeia alimentar [47].

O principal uso do metal está concentrado na produção de cabos e fios elétricos, essencial na infraestrutura nacional por fazer parte da rede de transmissão energética; utilizado também na fabricação de válvulas para indústria química, de tubulações e chapas para trocadores de calor e ar condicionado, levando em conta sua característica de bom condutor térmico. Na área de transporte é empregado principalmente na indústria naval por ser resistente a corrosão, sendo utilizado na composição de hélices, âncoras, além de estar

presente nas tintas anticorrosivas usadas nos cascos dos navios. Ele consta também na formação de ligas metálicas, bronze e latão, que são utilizadas na confecção de moedas e munições [53].

Na figura 5 é possível verificar a porcentagem de uso do metal em cada segmento no ano de 2017 de acordo com o Anuário Brasileiro do Cobre – ABCobre [54].

Figura 5 – Setores de aplicação de cobre no mercado mundial [54].

Segundo dados do USGS (Serviço Geológico dos Estados Unidos), os recursos de cobre presente nos continentes ultrapassam a barreira de 3 bilhões de toneladas do metal. Já os recursos minerais marinhos de cobre são estimados em, aproximadamente, 700 milhões de toneladas de cobre [55].

As reservas de cobre estão distribuídas por diversos países, entretanto uma grande concentração se apresenta em três países, Chile, Austrália e Peru, com destaque para o Chile com mais de 1/5 do montante global [55].

Na Tabela 3 estão descrito os principais países com reservas de cobre de mina no ano de 2018.

Tabela 3 – Reservas Globais de cobre, 2018 [55].

País	Reservas, (Mt de cobre)	Participação, %
Chile	170	21,9
Austrália	88	11,3
Peru	83	10,7
México	50	6,4
Estados Unidos	48	6,2
China	26	3,3
Rep. Dem. Congo	20	2,5
Zâmbia	19	2,4
Rússia	61	7,8
Outros países	210	27,5
TOTAL	775	100

1.3.1.1. Cobre na economia

Segundo o International Copper Study Group ICSG, a produção mundial de concentrado de cobre, em metal contido, alcançou no ano de 2018 uma quantidade de 20,5 milhões de toneladas de cobre. Quanto ao cobre refinado (primário e secundário), no mesmo ano, a produção mundial atingiu 24,1 milhões de toneladas [47].

O ICSG projetou que o consumo global de cobre refinado seria de aproximadamente 24 milhões de toneladas em 2019, um pouco maior do que a produção global refinada. A produção e o consumo de cobre refinado tiveram a expectativa de um ligeiro aumento em comparação com o ano de 2018, enquanto na produção foi estimada uma queda devido a interrupções de operação em várias minas de cobre, minérios com uma composição pobre no metal de interesse, além da falta geral de novos projetos e expansões de minas causadas pela crise financeira [56].

A China é o país que mais consome cobre refinado, em 2018 o uso foi de aproximadamente 11,7 milhões de toneladas. No país estão localizadas as maiores refinarias de cobre do mundo, destaque para a refinaria de Guixi, controlada pela empresa Jiangxi Copper Corporation, situada na província de Jiangxi, com capacidade de 900 Mt de produção anual [56].

O crescimento do país asiático arrasta consigo a demanda do cobre por estar diretamente relacionada às obras de infraestrutura, transmissão de energia e

tubulação de gases, sendo indispensável na expansão. Outro fator que contribui para o aumento da demanda é a revolução automobilística, que indicava que a produção de veículos elétricos e híbridos deveria ficar na faixa de 3 milhões em 2017 e com expectativa de alcançar números na casa dos 27 milhões de unidades em 2027, gerando uma demanda extra de até 1,75 milhões de toneladas nesse período de dez anos [57].

1.3.2. Zinco

O zinco é o 23º elemento mais abundante na crosta terrestre, possui cor branco-azulada e é o quarto metal mais utilizado no mundo, atrás do ferro, alumínio e do cobre. O sulfeto de zinco (ZnS), conhecido também por Esfarelita ou Blenda é o principal minério de zinco contendo cerca e 60% do metal. A maior parte do metal é aplicada na indústria da galvanização, devido a sua característica de alta resistência a corrosão, mas também há aplicação na indústria da borracha, química, explosivos, tintas e agricultura [58].

O zinco tem papel essencial no corpo humano, atua na atividade de mais de 200 metaloenzimas, estas são proteínas que utilizam o metal como catalisador na quebra de ligações químicas, entre elas a super óxido dismutase e a insulina. Todavia sua inalação na forma de óxido pode causar a febre de fumos metálicos desencadeando alterações no paladar, olfato, além de provocar febre e em casos extremos diabetes e acidente vascular cerebral. O excesso do metal também já foi relacionado pela FDA (Food and Drug Administration) com vômitos, diarreias e uma resistência a ação de antibióticos e outros medicamentos [59] [60].

Os dois processos disponíveis para efetuar a recuperação do zinco, o processo hidrometalúrgico e o processo pirometalúrgico, envolvem a ustulação (torrefação), ação química de remoção do enxofre do metal (Equação 3) [61].

Após essa etapa, no processo pirometalúrgico, o óxido é exposto a altas temperaturas e passa por um processo de redução em contato com o coque triturado (Equação 4), onde é volatilizado e condensado deixando para trás as impurezas [61].

Já no processo hidrometalúrgico, uma lixiviação ácida é aplicada ao óxido originário da ustulação (Equação 5), e após a lixiviação a solução passa para cubas eletrolíticas para que haja a eletrodeposição do zinco através de reações de oxiredução (Eq. 6 - 9) [61] [62] [63].

Semi-reações – oxidação (Equação 6) e redução (Equação 7 - 8):

Reação Global (Equação 9):

Os processos de enriquecimento e purificação do zinco contribuem para a poluição ao meio ambiente com porções de vapor de cádmio e dióxido de enxofre na atmosfera, este último principal agente da chuva ácida, além dos rejeitos líquidos de mineração, que usualmente contém em sua composição quantidades de zinco e outros metais, que podem ser capturados para reaproveitamento [64] [63].

A galvanização foi responsável por cerca de 50% do uso do metal no mundo em 2018 [64] na função de proteger de oxidação tubos e chapas de ferro e de aço e na produção de pilhas secas; também utilizado com outros metais em fundições para formação de ligas metálicas, as principais são latão (cobre) e bronze (cobre e estanho), que tem papel importante na indústria automobilística, produção de instrumentos musicais, cremes bloqueadores solares e até fertilizantes para enriquecimento mineral do solo, conforme figura 6 [64].

Figura 6 – Uso global do Zinco em 2018 [64].

De acordo com os dados do USGS, as principais reservas do metal estão na Austrália, seguida pela China e Peru, com 64, 41 e 28 milhões de toneladas, respectivamente. O total de reserva de zinco foi presumido em 230 milhões de toneladas em 2018 (Tab. 4) [55].

Tabela 4 – Reservas Globais de zinco, 2018 [55].

País	Reservas, (Mt de zinco)	Participação, %
Austrália	64	28,9
China	44	19,9
Peru	21	9,5
México	20	9,0
Cazaquistão	13	5,8
Índia	11	4,9
EUA	11	4,9
Canadá	3	1,3
Suécia	1,4	0,7
Outros países	33	15,1
TOTAL	221,4	100

No Brasil as reservas estão principalmente no estado de Minas Gerais, nas cidades de Vazante e Paracatu, com uma produção anual de 166 mil toneladas métricas (ano de 2018), operada pela Votorantim Metais (Nexa) e purificada na usina de Três Marias (MG) [58] [65].

1.3.2.1. Zinco na economia

Em 2017 e 2018, o zinco teve seu consumo mundial maior que sua extração [47], de acordo com García *et. al.* [66] a demanda pelo metal e a sua produção crescem a taxas aproximadas de 4,7% e 2,7% ao ano, respectivamente, e com esses níveis a demanda atingirá 2,7 vezes a demanda atual até o ano de 2050.

O zinco possui uma taxa de reciclagem maior que 30%, isto é, cerca de um terço do metal consumido no mundo é proveniente de reciclagem, esse procedimento faz com que haja o prolongamento do prazo de esgotamento mineral. O aumento da taxa de reciclagem contrabalanceará o crescimento do consumo futuro, resultando em ações de exploração menos agressivas [64] [67].

Como esse metal tem sua aplicação em cerca de 50% da produção mundial voltada para a galvanização [68], que é uma indústria que despeja seus efluentes

contaminados com rejeitos de produção, obtemos uma conjuntura nada animadora para o futuro.

O maior produtor de zinco refinado também é a China, seguindo o mesmo fundamento do cobre, o metal serve como alicerce do crescimento econômico do país, demandado pela construção civil nas grandes cidades estimulado pela migração da população da área rural para a área urbana. Em 2017 a produção alcançou 5,1 milhões de toneladas, cerca de três vezes mais que o segundo maior produtor, o Peru, que produziu 1,4 milhões de toneladas [65] [68].

Comprovando esses dados, o país asiático também ocupa a posição de maior consumidor da produção mundial de zinco, consumindo cerca de 40% da produção total [65].

1.4. BIORREMEDIAÇÃO

O crescimento exponencial das taxas de produção alavancado pelo crescimento desenfreado da população resultou em novas fontes de contaminação, elevando a níveis críticos a poluição dos ecossistemas atmosféricos, aquáticos e também no solo; com isso potencializando os impactos no meio ambiente que reflete diretamente na saúde pública [33].

A necessidade de uma maior conscientização por parte da sociedade em geral aliada as rígidas políticas ambientais, tem estimulado a busca por alternativas que sejam cada vez mais eficientes e de baixo custo para aplicação na remediação de possíveis fontes contaminantes e também na descontaminação das áreas já afetadas [69].

Processos biotecnológicos de remediação nessas situações têm sido pesquisados com afinco pelos pesquisadores, por se tratar de alternativa viável às operações físico-químicas tradicionais de remediação de ambientes contaminados, além de ser vantajoso economicamente e ambientalmente, já que reutilizam os resíduos sólidos e efluentes industriais que seriam destruídos ou lançados em aterros. Com isso fica evidente a busca pelo princípio da sustentabilidade como diretriz das ações de remediação, já que preza pela preservação dos bens naturais para as futuras gerações e contribui para qualidade de vida em curto prazo [69].

As tecnologias desenvolvidas para extinguir ou abrandar a presença dos contaminantes no meio ambiente são numerosas, dentre elas a biorremediação é vista com entusiasmo da perspectiva econômica e ambiental quando comparada com as outras tecnologias, já que é um método alternativo que emprega micro-organismo e/ou outros materiais orgânicos, como plantas, resultando em

transformações de diferentes poluentes em substâncias com toxicidade reduzida ou de maior facilidade de remoção (Tabela 5) [13] [70] [71].

Tabela 5 – Tecnologias de remoção de poluentes [13] [70] [71].

Processo	Aplicações	Vantagens	Desvantagens
Precipitação química	Metais	Remoção de constituintes dissolvidos; baixa manutenção; fácil operação.	Emissões de voláteis; requer manuseio e armazenamento de reagentes; produção de rejeitos; difícil remoção seletiva.
Osmose Reversa	Baixa concentração	Remoção de constituintes dissolvidos; fácil operação; não produz rejeito; água pode ser reutilizada.	Alto custo de investimento e operação; difícil remoção efetiva; difícil manutenção e suscetível à formação de incrustações.
Extração líquido-líquido	Alguns metais	Remoção de constituintes dissolvidos; baixo custo de investimento; fácil operação.	Emissões voláteis; alto custo de energia; difícil manutenção; efluentes adicionais a serem tratados.
Biorremediação	Alguns metais	Remoção de constituintes dissolvidos; fácil operação, possível recuperação do metal.	Suscetível à formação de incrustações; odor; crescimento de bactérias; alto custo de operação.

A característica genética das bactérias de rápida adaptação quando expostas ao meio tóxico, faz com que elas adquiram resistência aos poluentes presentes nesse meio, o que comprova a viabilidade de utilizar esses micro-organismos no tratamento de diversos metais e substâncias tóxicas, propiciando a biorremediação ao local [72].

Tal atributo desses seres só é possível devido aos recursos de defesa como a bomba de efluxo, que transporta íons através da membrana citoplasmática para o lado externo quando a concentração destes está alta no lado interno, fazendo uso do gradiente osmótico, como os íons bivalentes não são diferenciados pelo

sistema protéico da membrana responsável pela absorção de íons pela célula, íons maléficis à célula como Cd^{2+} e Pb^{2+} são absorvidos tanto quanto os benéficos como Mg^{2+} e Ca^{2+} [73].

A complexação ou sequestro intracelular, ocorre quando o sistema de defesa da célula detecta agentes tóxicos dentro do citoplasma, ativando a liberação de compostos complexantes para isolar esses agentes e excretá-los. Ou, pode ocorrer o sequestro extracelular onde os compostos complexantes são liberados através da membrana celular e estes neutralizam a possível ameaça antes de entrar em contato com o material biológico. Todos esses mecanismos auxiliam na remoção dos metais do meio, consequentemente na remediação do meio contaminado por metais e atenuando sua toxicidade para tal [73] [74].

Esses mecanismos são ilustrados na figura 7, adaptada de Souza [75].

Figura 7 – Principais mecanismos de tolerância a metais tóxicos nas bactérias, adaptado de [75].

Por fazerem parte do próprio ambiente, terrestre ou aquático, a ser tratado; agride pouco o local, diferente de outros processos físicos mais drásticos como extração por solventes e escavação que não asseguram total resolução do problema e às vezes só o transfere para outro local [75] [76].

Os primeiros trabalhos com micro-organismos foram realizados em 1902 por Hecker com a aplicação do fungo *Ustilago crameri* para remoção de Cobre de solução aquosa e que Pichler e Wobler, já em 1922, também utilizaram para reproduzir estudos semelhantes voltados à retirada de prata, mercúrio e cério dos resíduos do processamento de milho e observaram que os micro-organismos

autoclavados apresentavam melhores resultados no processo de remoção dos metais do que quando vivos [5] [77] [78].

Já em 1971 Goodman e Roberts [79] utilizaram as características das bactérias para produzir um método confiável, barato e rápido de biomonitoramento de metais perigosos. Em 1982 a primeira patente utilizando a tecnologia de bioissorção foi registrada por B. Volesky e M. Tsezos, com aplicação de remoção de urânio e tório [5], já podendo ser notada a ampliação do foco de metais não só poluentes (Pb, Cd, Hg), mas estratégicos (Be, Co, Ge), preciosos (Pt, Au, Ag) e radioativos (U, Po, Th).

Diversos biomateriais vêm sendo utilizados nos estudos de adsorção: bactérias, fungos e vegetais. É claro que é levado em consideração também a abundância e o valor econômico dessa fonte de material, já que alguns são gerados como resíduos industriais em processos como fermentação e oxidação biológica [4] [20] [21] [26]. Um recurso biológico natural que vem sendo explorado e deve ser citado são as algas marinhas [20] [4].

Dentre os processos podem ser mencionados, o biosensoriamento que utilizam micro-organismos em suportes que agem na detecção e quantificação de poluentes, mesmo em baixa concentração. Quando ocorre o contato dos poluentes com os biosensores, desencadeiam-se sinais bioquímicos que são detectados por receptores elétricos [80].

E, também a bioprecipitação, onde metais solúveis são precipitados por agentes de complexação (sulfetos) formados microbialmente. Os sulfetos de metal apresentam produto de solubilidade muito baixo, de modo que os metais são precipitados eficientemente mesmo em baixas concentrações de sulfeto. A biolixiviação tem sido utilizada por empresas para uma maior eficiência na remoção de metais de resíduos de mineração, por exemplo. Quando o sulfeto de metal é oxidado para se obter seu sulfato, o metal é lixiviado para a solução de onde pode ser extraído. Dependendo do mineral, o ataque químico é feito por uma combinação de íons férricos e ácidos (prótons), lembrando que o papel dos micro-organismos é gerar íons férricos e íons H^+ [81].

Abaixo, as reações propostas por Shippers e Sans (Equações 10 e 11) [81] utilizando a pirita como exemplo:

No caso de mecanismos para polissulfetos, a solubilização do sulfeto metálico é feita pela combinação do ataque de íons férricos e ácido, gerando o enxofre elementar como o principal intermediário. Este enxofre elementar é relativamente estável, mas pode ser oxidado a sulfato por micro-organismos específicos. Abaixo as equações 12 – 14 ilustram o mecanismo para polissulfetos.

Isso explica porque bactérias enxofre-oxidantes, como a *A. thiooxidans*, são capazes de lixiviar alguns sulfetos e não outros [81].

Sendo assim, a ação dos micro-organismos sobre os metais tem se mostrado interessante como objeto de numerosos estudos, em virtude do seu potencial de aplicação, tanto para a detoxificação quanto para a recuperação de metais nas atividades da indústria de mineração, galvanoplastia e eletrônica para fins mais nobres [81].

1.4.1. BIOSORVENTES

O termo bioissorvente engloba toda a biomassa, sendo elas: ativas, que acumulam compostos intracelularmente (com atividade metabólica), conforme mecanismos supracitados; ou inativas, que executam a acumulação na parede celular (sem atividade metabólica) [2] [13] [20] [21] [22] [33].

A remoção de íons metálicos por massas inativas, como resíduos agrícolas, lodos ativados e bactérias desativadas, é estabelecida por processos físicos e químicos ocorridos sem gastos energéticos, já que são independentes do processo metabólico do micro-organismo e envolvem a afinidade entre sorvente e sorvato [82].

Na literatura científica está disponível uma diversidade de trabalhos [4] [13] [83] que citam os tipos de processos que ocorrem na superfície do material adsorvente, tais quais: quimissorção, troca iônica, complexação, quelação e precipitação de hidróxidos, além de contribuições com numerosos tipos de bioissorventes relacionados com metais alvos para descontaminação. Ambos os mecanismos de bioissorção, tanto o dependente quanto o independente dos processos metabólicos celulares, são sistematizados por Véglío e Beolchini [84] em seu estudo conforme adaptação presente na figura 8.

Figura 8 – Mecanismos de bioissorção relacionado com ação metabólica, adaptada de [84].

Gupta *et. al.* [85] fornecem valores de remoção praticada por bio sorventes encontrados na natureza em seus estados *in natura*, que empregados em determinadas condições de pH, massa de bio sorvente e tempo de contato têm capacidade semelhante ou superior quando comparadas com os materiais quimicamente modificados (resinas de troca iônica) utilizados no trabalho de Kratochvil [86], além de a apresentar dados sobre a quantidade de ciclos de dessorção aplicável a cada adsorvente por ele estudado, isto posto, demonstrando a viabilidade dessa tecnologia.

Os radicais com a presença de átomos eletronegativos, por exemplo, COO^- (acetato), OH^- (hidroxila) e PO_4^{-3} (fosfatos), normalmente inseridos em macromoléculas (resinas), são os mesmos presentes nas estruturas das paredes celulares dos bio sorventes e tem direta relação ao mecanismo de retenção de íons metálicos. Demirbas [87] sugere que esses grupos tendem a doar elétrons para o cátion metálico estabelecendo a ligação entre o íon metálico e o bio sorvente.

Bons adsorventes são aqueles que possuem um grande número de sítios ativos disponíveis para interação com o agente a ser adsorvido. Tais sítios estão localizados na superfície do material e são constituídos por um ou mais grupos funcionais químicos, na generalidade as paredes celulares possuem tais espécies que são atrativas aos metais. Essas superfícies também podem ser modificadas quimicamente visando aumentar o número de sítios e conseqüentemente a capacidade de sorção [82].

Demirbas [87] realizou estudos relacionados com a modificação química na biomassa analisando sua eficiência no processo de sorção em comparação com a biomassa *in natura*, constatando um aumento de 500% na capacidade de remoção de íons de Cu, Cd e Cr. Entretanto, um aumento considerável nesse procedimento elevaria o custo de preparo do bio sorvente sendo um empecilho para utilização no tratamento de efluente, além da possibilidade do reagente utilizado possuir características tóxicas, forte odor ou coloração, indo contra o conceito da química limpa.

A capacidade de atrair metais é atribuída à composição da parede celular das bactérias que contam com a presença de polímeros orgânicos chamados de EPS (extracellular polymeric polysaccharides). Essa estrutura é determinante quanto a classificação das bactérias em suas duas espécies: Gram-positiva e Gram-negativa [13].

Ambas contam com a presença de peptidoglicano, que é formado por aminoácidos e dois açúcares: poli-N-acetilglucosamina e ácido N-acetilmurâmico.

As Gram-positivas contam com cerca de 90% da sua parede celular composta de peptidoglicano, enquanto as Gram-negativas dispõem de somente 10% desse material em suas paredes. Nas bactérias Gram-negativas, o peptidoglicano situa-se entre a membrana interior e a membrana exterior da bactéria; já nas bactérias Gram-positivas, não existe membrana exterior, cumprindo o peptidoglicano esta função e tendo em geral uma espessura superior à encontrada em bactérias Gram-negativas, chegando a formar uma rede que cobre toda a célula [13] [21].

Além do aminoácido citado, há a presença de poliálcoois na composição estrutural celular Gram-positiva, são os ácidos teicóicos formados por monômeros de glicerol e ribitol, que são conectados através de ligações fosfodiésteres, essa interação provê uma carga negativa a toda região que permite o mecanismo de sequestro de cátions [13] [21].

A estrutura da parede celular dos micro-organismos Gram-negativos é mais complexa quando comparada à Gram-positiva, além de ser mais fina ela é formada por espaço periplasmático contendo enzimas, camada de peptidoglicanos, membrana externa, que consiste em uma dupla camada fosfolipídica e lipopolissacarídeos complexos que formam componentes da superfície externa. A natureza carregada de lipopolissacarídeo confere uma carga negativa global sobre parede celular Gram-negativa, a dificuldade em penetrar nesta camada externa é a razão pela qual alguns antibióticos são menos ativos contra as bactérias gram-negativas, tendo como exemplo a *Pseudomonas aeruginosa* [88].

Todas essas características dos dois tipos de bactérias descritas estão ilustradas pela figura 9, adaptada do trabalho de Vijayaraghavan [13].

Figura 9 – Estrutura de bactérias Gram-positiva e Gram-negativa, adaptado de [13].

Oposto à complexidade da bioacumulação que é baseada no metabolismo celular, a bioissorção traz algumas vantagens por trabalhar com bactérias mortas e/ou inativas, como a liberdade de poder variar propriedades físico-químicas sem a preocupação em afetar a suas funções vitais [27].

Vega [27] complementa sua exposição dizendo sobre a melhor eficiência de experimentos com micro-organismos mortos e os procedimentos de manuseio, enfatizando a liofilização que é a desidratação da matéria orgânica sob baixa temperatura e pressão, embasado na característica desse procedimento que não destrói a parede celular, região que irá realizar o processo de adsorção.

A liofilização junto com a criopreservação a base de nitrogênio líquido e o armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$; são os principais métodos de preservação e manutenção de micro-organismo a longo prazo [89].

As desvantagens da liofilização são: o custo financeiro, a necessidade de diluentes ultras puros para a reconstituição do material liofilizado evitando qualquer tipo de contaminação e a demora do procedimento. Entretanto, quando comparado as outras técnicas, apresenta maior praticidade pela facilidade de armazenamento e transporte do produto final, sendo usado amplamente nas indústrias farmacêuticas, alimentícia e na área genética [89] [90].

Alguns autores [5] [28] abordam em seus estudos a dificuldade quanto à viabilidade de aplicação em larga escala de sistemas com bactérias vivas pela necessidade de reposição de nutrientes para as bactérias, já que elas metabolizam o metal e somente ele não é suficiente para seu funcionamento orgânico, acarretando no aumento por demanda biológica e química de oxigênio no efluente, DBO e DQO, respectivamente.

O uso de organismos vivos não é visto como opção para processos contínuos, já que além da necessidade do controle de variáveis que impactam na viabilidade do processo, como: a toxicidade, o pH e a temperatura do efluente, ao realizarem a bioacumulação os micro-organismos secretam substâncias que ao longo do tempo tornam o meio saturado, paralisando o metabolismo da bactéria e resultando na morte e redução da matéria prima do processo, cenário não encontrado com a utilização de biomassa morta [13].

No trabalho de Salvadori *et. al.* [91] os autores apresentaram resultados que constaram melhores dados operacionais para os fungos mortos, tais quais: maior ponto de saturação de metais removidos e maior afinidade da biomassa pelo metal. O comportamento da parede celular também foi satisfatório em situações de variação de pH, que seriam prejudiciais aos fungos caso estivessem vivos. E,

no trabalho citado, em específico, apresentou melhores condições na formação de nanopartículas de cobre.

Velásquez *et. al.* [29], também demonstram em seu estudo (figura 10) o resultado de dois tipos de cepas de *Bacillus sphaericus* utilizadas para adsorção de cromo (IV), onde é possível observar a melhor eficácia das células mortas perante as vivas em ambos os experimentos. Os autores chamam a atenção para a diferença entre os resultados das amostras vivas, com as cepas OT4b31 e IV(4)10, com porcentagens de adsorção de 25% e 32%, respectivamente; e a semelhança entre as amostras mortas, com resultados de 44,5% e 45% entre as mesmas amostras citadas; reiterando o processo passivo realizado pelas células mortas [29] [33].

Figura 10 – Comparativo de adsorção de Cr(IV) por cepas de *B. sphaericus*, com micro-organismos mortos e vivos, adaptado de [29].

1.4.2. COLUNA DE ADSORÇÃO

Os ensaios de biossorção podem ser realizados por colunas de leito fixo ou por biorreatores. Normalmente são utilizadas colunas cilíndricas verticais, preenchidas com material reativo, na qual a solução iônica transpassa e os íons metálicos ficam retidos na biomassa presente no recheio das colunas. A coluna é saturada com água deionizada, em seguida, a solução sintética flui através do leito e em contato com o meio reativo, sofre o processo de adsorção, conforme a primeira etapa ilustrada na figura 11 [2].

Existem meios destrutivos e não destrutivos de recuperação do metal (tabela 6) que são aplicados a depender da complexidade do sistema. Quanto maior for a capacidade de regeneração não destrutiva do adsorvente mais

interessante ele se torna no quesito econômico, por tal motivo diversos agentes eluentes de características distintas são testados em estudos com essa finalidade, por exemplo: ácidos, solventes orgânicos, bases e até uso de agentes quelantes [5] [13] [33] [66].

Tabela 6 – Métodos de recuperação do metal adsorvido [5] [13] [33] [66].

Métodos não-destrutivos		Métodos destrutivos
Físicos	Químicos	
	Soluções ácidas diluídas (HCl, H ₂ SO ₄ , HNO ₃ , H ₃ PO ₄), Bases diluídas (NaOH, NH ₄ OH), solventes orgânicos (metanol, acetona) e outros (Na ₂ CO ₃ , EDTA, CaCl ₂).	Incineração, dissolução por mistura de ácidos ou base forte.
Micro-ondas, aquecimento.		

Eluindo a espécie depositada se cria uma alternativa para a recuperação do metal que foi retirado, implicando na produção de uma solução concentrada de material dessorvido, e assim, atraindo a atenção de empresas engajadas na despoluição, reciclagem e/ou tratamento de resíduos como fonte de renda [2] [13] [20] [22].

A etapa de eluição é ilustrada pela figura 11, adaptada do trabalho de Volesky [2], onde há o fluxo de tratamento do efluente na 1ª etapa, subsequente pela etapa de eluição para recuperação do metal removido, deixando-o disponível para novo uso comercial.

Figura 11 – Sistema de recuperação de íons metálicos, adaptada de [2].

O método de processo contínuo através de coluna é tido como útil e prático para os autores que realizaram experimentos tanto com coluna, como por batelada, pois esse procedimento apresenta vantagens numa etapa do trabalho onde se tem por objetivo aumentar a escala numa possível aplicação em processos industriais, já que demonstra ser mais fidedigno nos estudos de ampliação (scale-up) e maior praticidade para se detectar influências e respostas na variação de fatores no processo [5] [13] [30] [86].

1.5. ADSORÇÃO

A adsorção é um fenômeno de superfície caracterizada pela atração de moléculas, geralmente gasosas ou líquidas, por uma superfície sólida. Na prática, todos os sólidos têm capacidade de adsorver líquidos e gases, mas a intensidade que influencia nessa habilidade depende de fatores tais quais: pressão, afinidade eletrônica, porosidade e temperatura [25].

A concentração das substâncias, antes presente no fluido, na superfície do sólido é resultado da transferência de massa característica do fenômeno em estudo, oportunizando a separação de determinado componente dos outros presentes na solução. Nesse processo o sólido é denominado como adsorvente enquanto que o líquido ou o gás são chamados adsorvato. Como nem sempre é possível distinguir a adsorção que ocorre na superfície e a absorção que ocorre no interior das partículas sólidas, geralmente usa-se o termo sorção, esse fenômeno pode ser classificado como químico e físico, dependendo da natureza das forças superficiais [92] [93].

Na história os primeiros casos do uso da tecnologia de superfície são datados de 3.750 A.C. onde os egípcios utilizavam o carvão para retirada do odor de putrefação no processo de mumificação e os fenícios, em 460 A.C, utilizaram para a filtração de água para consumo próprio. Em 1794, na Inglaterra, o carvão foi utilizado na indústria alimentícia como agente clarificante de xarope de açúcar, no ano de 1903 o pesquisador botânico Mikhail Semenovitch Tswett, que durante um estudo sobre clorofila utilizou o princípio da adsorção para criar a análise cromatográfica, que utiliza uma coluna adsortiva para determinar os componentes presentes na amostra através da diferença de interação entre a fase estacionária, que faz o papel do adsorvedor, e a fase móvel, agindo como adsorvato, descoberta que revolucionou o campo químico [92].

Na Primeira guerra mundial (1911), houve a criação de fábricas para produção de máscaras de carvão destinada aos soldados e civis das cidades afetadas pelas batalhas, para diminuir o impacto dos gases tóxicos proveniente das ações bélicas já que estes causavam dano aos tratos respiratórios [94].

Desde então o carvão ativado vem sendo estudado e aplicado como material adsorvente por ter uma superfície de contato na escala de 1.500 metros quadrado por grama de material devido à presença de micro, meso e macroporos (figura 12) além de possuir diversos grupos funcionais em sua superfície que auxiliam na captação das espécies desejadas [95].

O carvão ativado está se tornando um componente essencial nas instalações de tratamento de água devido à sua capacidade de adsorver contaminantes presentes na água, tais quais: micropoluentes, compostos orgânicos e compostos inorgânicos, agindo também na eliminação de cores e odores indesejados [96] [97].

O carvão ativado na forma de grânulos (CAG) é relativamente barato e oferece a possibilidade de regeneração e reutilização [98]. Novos poluentes trazem os desafios de adaptação do material para aumentar a eficiência no processo de remoção, para melhorar essa afinidade, técnicas de sulfuração e amonificação são aplicados ao carvão [98].

Figura 12 – Esquema de porosidade em Carvão Ativado Granular (Adaptado de [98]).

Todas essas características fazem com que os estudos de adsorção de novos materiais adsorvente sejam comparados ao carvão ativado, pois ele serve como padrão referencial para essa área de estudo [99].

Em 1918, Irving Langmuir desenvolve pela primeira vez o conceito de monocamada de adsorção, relacionando esse comportamento com a cinética de adsorção. Estudando os fenômenos superficiais entre gases e sólidos, Langmuir percebeu que na superfície catalítica geralmente ocorria primeiro uma quimissorção e ocasionalmente a fisissorção, que toda superfície era energeticamente homogênea e ele interpretou a cinética da reação superficial tendo como guia a sua equação de monocamada. Com esse estudo ele foi laureado com o Prêmio Nobel de Química de 1932, pelas descobertas no campo da superfície química [94] [100].

Atualmente o processo adsortivo é utilizado em indústrias e em diversos outros campos, por exemplo, na desumidificação de gases, recuperação de vapores de solventes arrastados pelos gases, remoção de umidade e enxofre da gasolina, desodorização do gás carbônico e das bebidas, na remediação de solos contaminados, remoção de contaminantes orgânicos (pesticidas, antibióticos, fenóis) de água e na remoção de odor, cor e aroma de água para consumo humano, além da aplicação mais importante dentre as presentes na ciência de superfície, a de catálise que está presente em aproximadamente 90% das reações químicas das indústrias estabelecidas, trazendo uma importância inclusive para o setor estratégico de um país. Indústrias com relevâncias locais e mundiais que contribuem para o bem estar da população usualmente tem um processo catalítico em alguns de seus processos de transformação [94] [100], por exemplo:

- Indústria Petroquímica – Obtenção de combustível, orgânicos leves, resinas a partir do petróleo ou gás natural;
- Indústria Farmacêutica – Utilização ativa na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, além da produção em grandes escalas para suprir a necessidade do mercado;
- Indústria da Química Fina – Um setor da química que desenvolve substâncias de alto valor agregado, fornecendo produtos essenciais para as indústrias farmacêuticas e cosméticas, por exemplo. Atualmente incluindo também nanocompostos com aplicações específicas em inúmeras áreas;
- Indústria Biotecnológica – Na busca e descoberta de recursos biológicos industrialmente proveitosos, pode-se citar, enzimas proveniente de micro-organismos vivos que são utilizadas nas indústrias de cervejas e vinho (fermentação em geral), produção de biodiesel entre outras aplicações;
- Indústria de Fertilizante – Produção de amoníaco, substância valiosa e essencial para encarar o aumento da demanda por alimentos da população, como o Brasil é considerado um grande exportador de material agrícola, esse é considerado um setor estratégico, sendo o 4º maior produtor de fertilizante do planeta. O amoníaco também é utilizado na fabricação de explosivos e em outras aplicações;
- Produção de Ácido Nítrico – Um importante ácido, que é utilizado na produção de corante, fertilizantes, medicamentos e explosivos. Seu processo industrial é baseado pela ação de um catalisador de platina, que se liga a moléculas de hidrogênio, para formar o ácido nítrico;
- Indústria de polímeros – Constituem um dos grandes domínios de aplicação da química orgânica e ocupam um lugar de destaque na nossa vida cotidiana. Como exemplo, temos inúmeros objetos, materiais (da caneta esferográfica à carroçaria de um automóvel), tintas, revestimentos diversos, pneus, tecidos entre outros.

Durante as últimas décadas novas classes de sólidos adsorventes têm sido desenvolvidas, tais como: fibras de carbono, biochar, fulerenos, vidros micro porosos e materiais com nano poros, essas nanoestruturas se tornaram populares na área da ciência e da tecnologia pela suas características de sorção, catalítica, magnética, ótica e térmica [94].

A fisissorção foi descrita por Ruthven [101] como um fenômeno que ocorre a baixa temperatura, rapidamente atinge o equilíbrio e é reversível. Todavia, em materiais que apresentam microporos, a fisissorção ocorre numa velocidade menor, pois o evento é limitado pela taxa de difusão intraparticular. De acordo com a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) [102] e baseado principalmente no método BET (teoria de adsorção Brunauer – Emmett – Teller) para caracterizar a porosidade do material, as categorias de porosidade seguem a tabela 7:

Tabela 7 – Caracterização de poros [102].

Categorias	Dimensões
Microporos	0 a 2 nm (0 a 20 Å)
Mesoporos	2 a 50 nm (20 a 500Å)
Macroporos	>50 nm (0,05 µm)

No campo da termodinâmica, o autor afirma que esse é um processo terminantemente exotérmico, no contexto molecular prova-se que pode haver várias camadas de moléculas simultaneamente sobre a superfície do adsorvente, sendo que as camadas mais externas sofrem cada vez uma força de menor intensidade atrativa do adsorvente, assim esse é um tipo de adsorção que ocorre em operações de transferência de massa [101].

É comportamento característico desse processo a baixa interação entre as partes envolvidas, as forças encontradas aqui são da mesma ordem de grandeza das forças de Van der Waals – London, análogas às forças que mantém unidas as moléculas de HCl (figura 13). Essa energia é originária da interação dipolo – dipolo e dipolo induzido que leva a polarização de uma região a uma carga pela diferença de eletronegatividade entre as espécies, identificadas pelos sinais $\delta +$ e $\delta -$ na figura 13 [101].

Figura 13 – Esquema de ligação entre moléculas de HCl, adaptado de [101].

Ao contrário da sorção física, a quimissorção é conduzida à alta temperatura e pode ser irreversível, nela as atrações entre as partes é tão intensa que formam ligações covalentes, princípio dos catalisadores [94].

Por acontecer uma reação química na superfície a quimissorção acontece em monocamada, caso haja adsorção de multicamadas as demais camadas apresentam comportamento de fisissorção, portanto, há somente atração eletrostática entre o adsorvente e adsorvato. A entalpia é da ordem de $100 \text{ kcal.mol}^{-1}$, equivalente a de uma reação, quando ocorre a dissociação da molécula e completa mobilidade bidimensional, causando o aumento do grau de liberdade e valores positivos para entropia podendo até ser endotérmica [103].

Existem dois tipos de quimissorção: ativada, onde a taxa de adsorção é relacionada com temperatura e com a energia de ativação, descrita pela equação de Arrhenius; e a não ativada, onde o processo ocorre rapidamente, pois a energia de ativação é praticamente nula [100].

Para os fins visados nas operações unitárias de transferência de massa, só a adsorção física apresenta interesse. Em contraposição, só a adsorção ativa é importante nos processos catalíticos. Na tabela 8 estão relacionadas às características entre os dois tipos de sorções supracitados no trabalho [100].

Tabela 8 – Comparação entre processos de adsorção [100].

SORÇÃO FÍSICA	SORÇÃO QUÍMICA
Baixo calor de sorção	Calor de sorção na ordem de entalpias de reação
Não específica	Altamente específica
Mono ou multicamadas	Somente monocamada
As moléculas sorvidas não sofrem dissociação	Pode ocorrer dissociação das moléculas
Ocorre a baixas temperaturas	Ocorre a altas temperaturas
Não precisa de ativação, é rápida e reversível	Precisa de ativação e pode ser irreversível
Não há transferência de elétrons, mas pode ocorrer polarização do sorvato	Há a transferência de elétrons, levando a formação de ligação química

Gadd [104], também especifica outros fatores e evidencia as influências que podem causar alterações nesse fenômeno, como: o tempo de contato entre sorvente e sorvato, o qual pode ser otimizado através da utilização de um sistema de agitação, a massa de sorvente que pode aumentar a probabilidade de associação das partículas, a concentração inicial de íons metálicos nas mediações da superfície do bioadsorvente que pode gerar força motriz de difusão e ajudar a conduzir os íons até os sítios de sorção.

O pH tem a importância ressaltada em relação ao bioadsorvente, pois ele pode ativar ou desativar os sítios ativos presentes alterando a forma com a qual ele irá interagir com o metal, no caso dos íons metálicos, a elevação do pH pode gerar a formação de hidróxidos insolúveis do metal que não reagem com o bioadsorvente.

Quando o adsorvente está saturado ou quase saturado, existe um equilíbrio entre o adsorvato nas duas fases, como um sólido iônico em uma solução saturada com corpo de fundo. Podem-se utilizar as mesmas premissas de equilíbrios químicos para se estudar o fenômeno de forma quantitativa e se encontrar as isotermas de adsorção que relacionam a quantidade de moléculas adsorvidas em função das variáveis do fluido em contato [25].

1.5.1. ISOTERMAS

As isotermas de adsorção são relações de equilíbrio entre a concentração na fase fluida e a concentração nas partículas adsorventes a uma dada temperatura, através de seu formato pode ser determinado o comportamento do fenômeno da adsorção no estudo realizado mediante ajustes obtidos em modelos

matemáticos, com tal conhecimento é possível prever o comportamento da interação entre espécies de interesse, indicando a quantidade máxima teórica de remoção, pontos de saturação e afinidade entre diferentes substâncias [105].

A maior parte dos modelos é empírica, sendo assim, dependentes de dados obtidos em experimentos para auxiliar a constatar informações referentes à cinética de adsorção, perfil de formação de camadas na superfície adsorviva e equilíbrio entre adsorvente e adsorvato [105].

A IUPAC [102] publicou uma classificação das isotermas (figura 14), baseada na relação entre a capacidade de adsorção, Q_e (mg adsorvida/g de adsorvente), e a concentração final do íon metálico na solução, C_e (mg/L), onde uma isoterma é considerada favorável quando se comporta apresentando grandes remoções em baixas concentrações da espécie a ser removida da solução, atingindo a estabilidade após a saturação dos sítios ativos, característica do modelo de Langmuir que adota sítios limitados (monocamada adsorviva). A isoterma indica um processo desfavorável quando ocorre o contrário da citada anteriormente, com baixas taxas de remoção mesmo a concentrações baixas. Já a linear mantém uma taxa de remoção constante independente da concentração de trabalho, característica do modelo descrito por Hebert Freundlich, onde é descrito um material adsorvente com sítios infinitos (formação de multicamadas de adsorção). E, por último, a isoterma que apresenta comportamento irreversível demonstra alta taxa de adsorção com independência do fator concentração.

Figura 14 – Classificação de isotermas conforme IUPAC, adaptado de [102].

Presentes na literatura estão alguns dos modelos para descrever o equilíbrio adsorvente-adsorbato: Temkin, Redlich-Peterson, Dubinin-Radushkevich,

Langmuir e Freundlich, com destaque para os dois últimos que são os mais aplicados em estudos de adsorção.

1.5.1.1. ISOTERMA DE LANGMUIR

O modelo de Langmuir foi desenvolvido para representar a quimissorção, proposto para superfície homogênea e baseia-se nessas hipóteses:

- Cada sítio só pode ser ocupado por uma molécula, decorrendo num número finito de moléculas adsorvidas;
- Adsorção ocorre somente em monocamada;
- Todos os sítios de adsorção são energeticamente equivalentes;
- A capacidade de adsorção de uma molécula independe da ocupação dos sítios vizinhos.

Por haver um número limitado de sítios, a taxa de adsorção aumenta proporcionalmente com a concentração do soluto e mantém um valor constante quando próxima ao número máximo de sítios disponíveis, isto é, alcançado a condição de equilíbrio onde a taxa de dessorção e adsorção no sistema se igualam e estabilizam. Tal modelo perfila melhor com os dados experimentais que outros modelos, quando há formação de monocamadas [25].

Como esse processo de adsorção segue uma premissa de números definidos de sítios [100] [106], podemos adotar que a parcela adsorvida da molécula M, a uma determinada temperatura e concentração estabelecida, é a descrita na Equação 15:

$$\theta_M = \frac{n_{Ads}}{n_m} \quad \text{Eq. 15 [100]}$$

Onde, θ_M seja a fração ocupada por M e, conseqüentemente, $1 - \theta_M$ sendo a parcela de sítios desocupados;

n_{Ads} , seja o valor de M adsorvido; e

n_m , seja o valor de uma monocamada completa.

A taxa da adsorção de M é diretamente relacionada com a concentração de M e o número de sítios prontos para serem ocupados, essa relação é denominada constante de adsorção, K_m (Equação 16).

$$r_{ads} = K_m \cdot C_M \cdot (1 - \theta_M) \quad \text{Eq. 16 [100]}$$

Concomitante à adsorção, ocorre a dessorção da espécie adsorvida, e a taxa referente a esse processo é proporcional ao número de sítios ocupados, chamada de constante de dessorção, K_D (Equação 17).

E, como já citado no texto, na condição de equilíbrio a taxa de adsorção e dessorção se equivalem, pois com sítios limitados, para que haja uma nova ocupação será necessária uma nova vacância (Equação 18).

$$r_{des} = K_D \cdot \theta_M \quad \text{Eq. 17 [100]}$$

$$r_{ads} = r_{des} \quad \text{Eq. 18 [100]}$$

Ou seja, se for adotado que em determinado momento de hipotético recobrimento integral da superfície, a formação da monocamada é equivalente a complementação de ambas as taxas, adsorção e de dessorção (Equação 19), e em vista disso a fração dos sítios ocupados resulta na equação 20.

$$n_M = K_D + K_m \cdot C_M \quad \text{Eq. 19 [100]}$$

$$\theta_M = \frac{K_m \cdot C_M}{K_D + K_m \cdot C_M} \quad \text{Eq. 20 [100]}$$

Aplicando o conceito da constante de equilíbrio de adsorção-dessorção, também chamada de constante de Langmuir (Equação 21), K_L , podemos chegar à equação de Langmuir para adsorção (Equação 22).

$$K_L = \frac{K_m}{K_D} \quad \text{Eq. 21 [100]}$$

$$\theta_M = \frac{K_L \cdot C_M}{1 + K_L \cdot C_M} \quad \text{Eq. 22 [100]}$$

Para trazer praticidade aos cálculos converte-se a fração dos sítios ocupados para massa adsorvida por quantidade de adsorvente, assim a equação 22 resulta na equação 22a e após ajuste, 22b:

$$\frac{q_e}{Q_{max}} = \frac{K_L \cdot C_M}{1 + K_L \cdot C_M} \quad \text{Eq. 22a [100]}$$

$$q_e = \frac{Q_{max} \cdot K_L \cdot C_M}{1 + K_L \cdot C_M} \quad \text{Eq. 22b [100]}$$

É comum encontrar outras deduções da equação de Langmuir (Eq.22b) em formas linearizada, as três mais divulgadas em estudos científicos são as de Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee e Scatchard, essas regressões lineares resultam em diferentes estimativas de parâmetros dependendo de qual das formas linearizadas os resultados estiverem ajustados, já que cada uma dessas variações altera a ordem de distribuição de erro original, melhorando ou piorando essa distribuição [107] [108].

A escolha do “melhor” ajuste é discutida em pesquisas na área da bioquímica, pois tais equações provenientes da isoterma de Langmuir são importantes para descrever o comportamento das ligações de fármacos e da cinética enzimática, como em casos onde a afinidade entre substratos e enzimas determina a concentração de drogas necessária para que a reação desejada ocorra [109]. Os ajustes citados estão na tabela 9, as formas linearizadas são mais práticas para os cálculos por permitirem o uso da regressão linear.

Tabela 9 - Modelo de Langmuir linearizado e suas variações [107] [108].

Isoterma		Forma Linear	Y vs. X
Langmuir	$q_{eq} = \frac{Q_{max} \cdot K_L \cdot C_{eq}}{1 + K_L \cdot C_{eq}}$	$\frac{C_{eq}}{q_{eq}} = \frac{1}{Q_{max}} \cdot C_{eq} + \frac{1}{Q_{max} \cdot K_L}$	$\frac{C_{eq}}{q_{eq}}$ vs. C_{eq}
Lineweaver-Burk		$\frac{1}{q_{eq}} = \frac{1}{Q_{max}} + \left(\frac{1}{K_L \cdot Q_{max} \cdot C_{eq}} \right)$	$\frac{1}{q_{eq}}$ vs. $\frac{1}{C_{eq}}$
Eadie-Hofstee		$q_{eq} = Q_{max} - \left(\frac{1}{K_L} \right) \cdot \frac{q_{eq}}{C_{eq}}$	q_{eq} vs. $\frac{q_{eq}}{C_{eq}}$
Scatchard		$\frac{q_{eq}}{C_{eq}} = K_L \cdot Q_{max} - K_L \cdot q_{eq}$	$\frac{q_{eq}}{C_{eq}}$ vs. q_{eq}

Sendo que $Q_{\max}$ é a capacidade máxima de íons adsorvidos por massa de adsorvente em mg/g, K_L é a constante de Langmuir associada à energia de adsorção e a constante de equilíbrio em L/mg, q_{eq} é a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio em mg/g e C_{eq} é a concentração do soluto na fase fluida em mg/L também no equilíbrio.

A quantificação da adsorção (q) é calculada com a aplicação da equação 23:

$$q = \frac{(C_f - C_i) \cdot V}{m_a} \quad \text{Eq. 23 [107]}$$

Onde C_f é a concentração final ou de equilíbrio, C_i é a concentração inicial, V é o volume da solução e m_a representando a massa de adsorvente usada.

O ajuste realizado por Lineweaver-Burk é citado por mascarar desvios nos resultados de soluto adsorvido (q_{eq}^{-1}) e do soluto presente na solução em condição de equilíbrio (C_{eq}) forçando uma reta com dados característicos de uma curva [85].

Dowd e Riggs [110] citam em seu trabalho a preferência pelo uso forma original da equação de Langmuir frente ao ajuste feito por Eadie-Hofstee, pois o segundo ajuste tende a realçar desvios experimentais destacando *outliers*, consequentemente, superestimando valores finais. Esse modelo também sofre pela presença do termo referente à massa de soluto adsorvido (q_{eq}^{-1}) em ambos os lados da equação, criando uma correlação e potencializando erros experimentais.

Já o modelo de Scatchard é o menos utilizado por possuir uma hipótese restrita quando comparada a equação original de Langmuir, onde se presume que um pequeno número de diferentes tipos de sítios ativos no adsorvente estejam disponíveis para atuar na adsorção, sem interação entre eles, hipótese de mais fácil aplicação para adsorção em materiais sintéticos preparados para a adsorção como resinas quelantes [111].

A forma original de Langmuir e o ajuste feito por Lineweaver-Burk são as mais usuais, contudo, a qualidade do modelo adotado para descrever o comportamento é indicada pelo valor mais próximo da unidade do coeficiente de correlação (R^2), já que se trata de uma regressão linear.

A princípio, com os dados empíricos plota-se uma curva com os eixos indicados no formato Lineweaver-Burk, escolhido a título de exemplo, com os pontos é possível construir uma reta onde a inclinação representará o termo

$\frac{1}{K_L \cdot Q_{max}}$, e o termo $\frac{1}{Q_{max}}$ será representado pelo ponto de interceptação do eixo y.

Com essas informações adquiridas da reta encontram-se os valores dos parâmetros K_L e Q_{max} .

As características essenciais da isoterma de Langmuir podem ser explicadas pela constante de separação adimensional R_L , que define se o processo é ou não favorável, conforme demonstrado na tabela 10 [112].

Tabela 10 - Fator adimensional de Langmuir e seu significado [112].

R_L	Significado
$R_L > 1$	Desfavorável
$R_L = 1$	Isoterma linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$R_L = 0$	Irreversível

Este cálculo é efetuado utilizando-se a equação 24 para definir o comportamento do processo.

$$R_L = \frac{1}{(1 + K_L \cdot C_0)} \quad \text{Eq. 24 [112]}$$

Sendo K_L a constante de Langmuir e C_0 em mg/L a concentração inicial de adsorvato.

1.5.1.2. ISOTERMA DE FREUNDLICH

O modelo de isoterma proposto por Freundlich é uma equação empírica (Equação 25) que assume um número quase infinito de sítios de adsorção, devido a uma superfície heterogênea no quesito de energias adsorptivas. Em resposta aos inúmeros sítios é adotado nesse modelo que os íons são infinitamente acumulados na superfície do adsorvente, formando multicamadas de adsorção [106]. A equação 25 é descrita na forma linear pela equação 26.

$$q_{eq} = K_F \cdot C_{eq}^{\frac{1}{n}} \quad \text{Eq. 25 [106]}$$

$$\log(q_{eq}) = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_{eq} \quad \text{Eq. 26 [106]}$$

Sendo que K_F é a constante de Freundlich, que indica a capacidade de adsorção em $\left(\frac{mg}{g}\right) \cdot \left(\frac{L}{mg}\right)^{\frac{1}{n}}$;

n é a constante relacionada à heterogeneidade da superfície;

q_{eq} é a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio em $\frac{mg}{g}$; e

C_{eq} é a concentração do soluto em equilíbrio na fase líquida em $\frac{mg}{L}$.

Normalmente, num caso de adsorção favorável o valor de n (constante de Freundlich), tende a um valor entre 1 e 10, já que a dimensão desse valor é proporcional à interação do adsorvente com o adsorvato. Caso n seja igual a 1, indica que todos os sítios são energeticamente idênticos, logo, ocorre uma adsorção de perfil linear. Entretanto, se n for menor que 1, indica que o adsorvente tem maior afinidade com o solvente do que com o adsorvato [106].

1.5.2. SOMA DOS QUADRADOS DOS ERROS (SQE)

Como citado anteriormente na explicação dos ajustes à equação de Langmuir, o ponto negativo de aplicar a linearização numa equação não linear é uma possível perda de preceitos peculiares ao modelo, consequentemente influenciando no modelo em si e na sua distribuição de erro, ou seja, os erros já considerados são relacionados às condições de normalidade, homogeneidade e independência da variância, já no modelo linearizado tais erros podem não atender as condições citadas [106].

Para corroborar os dados encontrados com o devido modelo de isotermas, a Soma dos Quadrados dos Erros (SQE) pode ser aplicada utilizando os resíduos de cada ponto, ou seja, pontos próximos a curva adquirem maior peso dos que os pontos mais distantes diminuindo os efeitos dos desvios experimentais sobre os parâmetros de ajuste. A fórmula da SQE é dada pela equação 27 e quanto menor o valor de SQE mais ajustado ao modelo os valores estão.

$$SQE = \frac{1}{n} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (Q_{exp.} - Q_{calc.})^2} \quad \text{Eq. 27 [106]}$$

Onde, n é o número de amostras analisada no estudo, e Q a é a capacidade de íons metálicos adsorvidos por massa de adsorvente em mg/g.

1.6. IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS POR MALDI-TOF

A busca por um meio de identificação rápido, acessível e assertivo de bactérias vem de longa data. O procedimento de identificação é necessário para que se conheçam melhor os micro-organismos com que se está trabalhando e, por questão de segurança, evitar o contato ou a aplicação de qualquer bactéria patogênica no processo de biorremediação, o que seria mais uma causa de impacto no meio ambiente do que uma ação benéfica [95].

As tentativas de usar a espectrometria de massa com pirólise resultavam em diversos fragmentos de picos que não apresentavam um padrão satisfatório para a análise conclusiva dos micro-organismos, já que dependiam das condições de cultivo das culturas e da sensibilidade do equipamento utilizado, tais fatores interferiam na intensidade dos picos tornando as bibliotecas de identificação obsoletas em curto prazo [113].

Tal análise foi revolucionada com o desenvolvimento da técnica de espectrometria de massa MALDI-TOF, acrônimo de Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight, desenvolvida em 1988 por Hillenkamp, Karas e Koichi Tanaka, este último ganhador do prêmio Nobel de Química em 2002 [113].

Esse método se baseia na geração de um espectro de massa após a ionização de uma matriz orgânica que está em contato com o material biológico a ser identificado, a radiação emitida pelo equipamento dentro de um tubo a vácuo induz a molécula a uma aceleração provocando a vaporização da amostra, com os dados que relacionam os valores da razão massa/carga (m/z) e o tempo de voo gasto até que a amostra atinja o detector do equipamento, é possível obter as características específicas do material proteico da amostra (figura 15) [95] [113].

Figura 15 – Esquema de análise MALDI-TOF, adaptado de [95].

O espectro gerado é baseado majoritariamente em proteínas ribossomais, que são as mais abundantes e também as mais conservadas nesses micro-organismos no quesito genético. Esse é um fator importante já que as bactérias passam por diversas mutações de modo dinâmico, desse modo, tais proteínas, também chamadas de “Proteínas ID”, concedem a cada tipo de bactéria uma “impressão digital” (*fingerprinting*) possibilitando uma identificação confiável das espécies através de comparação dos perfis espectrométricos com um banco de dados existente no *software* do equipamento (figura 16) [95] [114].

Figura 16 – Espectros de amostras MALDI-TOF, adaptado de [95].

Por ser um método rápido, eficiente, econômico e confiável está sendo utilizado amplamente em hospitais para identificação de bactérias patogênicas ou clinicamente interessantes, no controle de qualidade em produção de alimentos, na indústria farmacêutica e cada vez mais são publicados estudos com aplicação para fungos, ácaros, leveduras e diversos tipos de bactérias [113].

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo estudar o processo de bioadsorção e dessorção dos íons metálicos Cu^{2+} e Zn^{2+} presentes em solução sintética, em coluna de leito fixo e em contato com biomassa obtida de um consórcio de micro-organismos existente no solo de região industrial. Para isso foram realizadas as seguintes etapas:

- Cultivar e preparar a biomassa proveniente do consórcio de micro-organismos advindo do solo;
- Caracterizar o consórcio usado, com possível identificação das espécies envolvidas, e avaliar a aplicação da biomassa no processo como material adsorvente;
- Analisar o fenômeno da adsorção metálica aplicando isoterms de equilíbrio Freundlich e Langmuir, e confrontar os resultados da biomassa com carvão ativado;
- Identificar os grupos funcionais presentes nos sítios ativos envolvidos na atração metálica;
- Estudar a influência da concentração metálica e da massa de adsorvente no processo adsorptivo;
- Avaliar a dessorção utilizando soluções ácidas de 0,2 M de ácido clorídrico e ácido nítrico e identificar o melhor agente para o procedimento de eluição focado na obtenção de uma solução final com os íons dessorvidos.

3. Materiais e métodos

Nesse capítulo a sequência das atividades realizadas durante o estudo serão detalhadas de acordo com o esquema no fluxograma abaixo.

Figura 17 – Fluxograma do processo

A figura 17 apresenta fluxograma do processo seguido no estudo separado por etapas. Iniciando pela obtenção da amostra de solo *in situ*, sucedido pela fase de cultivo, envolvendo o crescimento microbiológico. Após o crescimento, houve a obtenção e acúmulo da biomassa através de lavagem e centrifugação da mesma. Já o preparo da biomassa é atribuído a etapa de liofilização, autoclavagem e moagem. A etapa dos experimentos foi baseada nos ensaios de adsorção e eluição com encaminhamento das soluções resultantes nos ensaios para análise no ICP e obtenção dos resultados.

3.1. COLETA DE SOLO

Foi realizada a coleta de amostras de solo na cidade de Cubatão, estado de São Paulo, numa área no Centro de Pesquisa em Meio Ambiente (CEPEMA – POLI/USP) como fonte de material biológico para cultivo do consórcio microbiano. A localização de GPS do local é 23°53'13"S 46°26'15"W e a indicação do local da coleta de amostras está presente na figura 18, detalhe "A" ilustra a região da Baixada Santista com destaque para Cubatão (balão vermelho) e o detalhe "B" é a aproximação do mapa com indicação do exato local de coleta ("X" branco).

Figura 18 – Local de coleta de amostra (Adaptado Google Maps).

O local das amostras é situado numa cidade que é conhecida por sua área industrial que durante anos impactou diretamente na qualidade do ar, de corpos hídricos e do solo, através da poluição gerada pelas atividades industriais e pela negligência ao meio ambiente [103]. Esse fator influenciou na decisão de coletar micro-organismos do local para o estudo.

Duas amostras foram coletadas no mês de março/2017, foram coletados cerca de 80 gramas de solo após cavar 10 cm de profundidade. Com uso de luvas e auxílio de uma espátula de metal o material foi recolhido, foi armazenado em dois tubos tipo Falcon de 50 mL esterilizados, identificados e estocados em câmara fria a 4 °C [115].

3.2. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES METÁLICAS

As soluções metálicas monoelementares contendo Zn^{2+} e Cu^{2+} , utilizadas nos ensaios foram obtidas de sais de sulfato de zinco hepta hidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) e sulfato de cobre ($CuSO_4$), respectivamente, diluídas com água deionizadas e armazenada em balão volumétrico de 100 mL com concentração de 10 g/L.

Para obter as soluções metálicas com as concentrações para o trabalho (10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 125 mg/L, 150 mg/L e 175 mg/L) foram realizadas diluições a partir da solução estoque de 10 g/L, toda água deionizada utilizada para as diluições foi obtida do equipamento destilador Milli-Q Millipore, com resistividade de 18,2 MΩ.cm a 25 °C.

Durante todo o trabalho o pH manteve valor de $5,4 \pm 0,1$ para as soluções com zinco e com cobre, os ajustes quando necessários foram realizados com

soluções de HCl e NaOH, ambas a 1 M. Os valores de pH foram baseados em diagramas de Pourbaix de soluções com concentrações de 175 mg/L dos sais obtidos em software HYDRA-Medusa [116], em que há a indicação dos compostos formados de acordo com a concentração e o pH da solução. Os diagramas podem ser observados na figura 19 para o zinco e na figura 20 para o cobre.

Figura 19 – Diagrama de Pourbaix para solução de zinco 170 mg/L (Hydra-Medusa).

Figura 20 – Diagrama de Pourbaix para solução de cobre 170 mg/L (Hydra-Medusa).

Nos gráficos é possível observar que a partir de pH 7 para o zinco e pH 6,5 para o cobre, ocorre a formação de cristais de óxidos, o que não é interessante ao estudo, pois tais cristais envolvendo os íons metálicos poderiam sofrer a filtração física durante os experimentos, ao invés de serem adsorvidas.

3.3. CULTIVO DO CONSÓRCIO MICROBIANO

Foram utilizados 5 g do solo coletado no cultivo das células do consórcio, a massa foi depositada em dois erlenmeyers de 250 mL junto com 100 mL de meio LB (Lysogeny Broth – Caldo de lisogenia) [117], composto de Peptona 10 g/L; Extrato de levedura 5 g/L; Cloreto de sódio 10 g/L que foi autoclavado por 20 min a 121 °C, esse meio foi utilizado por ser rico em nutrientes, oferecendo condições de crescimento aos micro-organismos por possuir fonte de aminoácidos essenciais, oferecer fontes orgânicas, além do sódio, útil para o equilíbrio osmótico na membrana celular. Concomitante a isso, um erlenmeyer de 250 mL com 100 mL de meio LB sem amostra de solo também foi preparado para controle da qualidade do meio, resultando em negativo para contaminações externas.

De acordo com trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa [95] [118], soluções concentradas de metais foram utilizados para obtenção da concentração de 100 mg/L dos metais estudados (cobre e zinco) no meio de cultura para que na fase de crescimento do consórcio os micro-organismos se adaptassem aos metais, para isso a equação de diluição de soluções foi aplicada conforme equação 28.

$$C \times V = C' \times V' \quad \text{Eq. 28}$$

Onde C é a concentração inicial da solução metálica concentrada em mg/L, V o volume utilizado em L da solução metálica concentrada necessária para alcançar a concentração C', que é a concentração desejada de íons metálicos na solução final do meio de cultura, que no caso é 100 mg/L e V' o volume da solução final do meio LB utilizado em L.

Os planos iniciais de trabalho envolviam o estudo de comparação entre a atividade metabólica na adsorção metálica (bioacumulação) e a adsorção física, que independe do metabolismo, entretanto durante os estudos houve uma mudança de direção do trabalho seguindo os testes somente com as bactérias mortas.

O consórcio foi mantido em constante agitação num agitador orbital a 180 rpm, a 28 ± 2 °C por 48 horas, tempo para o crescimento biológico do cultivo (solução turva), conforme figura 21 é possível observar os erlenmeyers durante o preparo do cultivo e na figura 22 a solução após as 48 horas.

Figura 21 – Preparação do cultivo microbiológico em presença de Cu^{2+} e Zn^{2+} .

Figura 22 – Cultivo após 48 horas de incubação.

Após a detecção visual de crescimento do consórcio, amostras de 20 mL do cultivo inicial foram adicionadas em três erlenmeyers de 1 L, cada um contendo 700 mL de meio LB para obtenção de biomassa. A cada 48 horas foi aplicada a técnica de repique, também conhecida como subcultivo, onde 5 mL era retirado do erlenmeyer de 1 L após o período de crescimento celular e depositado em um novo erlenmeyer de 1 L, com 700 mL de meio LB nas mesmas características iniciais, para uma nova reprodução celular até a obtenção de biomassa para realização dos ensaios de adsorção. Para evitar perda do consórcio e conservar a cultura utilizada no experimento, quatro amostras de 0,5 mL do consórcio, após crescimento, adicionados a 0,5 mL de glicerol estéril a 60% v/v como crioprotetor, foram armazenadas em microtubos Eppendorf de 2 mL de acordo com procedimento de conservação de cepas por período maior que 3 semanas, sugerido por Spencer e Spencer [119] e estocadas em ultra freezer a -80°C .

Para coletar e armazenar a biomassa produzida foram utilizados tubos de centrífuga 250PP de 250 mL, que eram preenchidos com alíquotas de 200 mL do meio de cultura contidas nos erlenmeyers de 1 L e centrifugados a 10.000 rpm numa ultra centrífuga CR 22N marca HITACHI, num rotor com raio de 15 cm (16800 RCF) por 5 minutos.

Após a separação do material (sólido-líquido), o sobrenadante foi descartado e a biomassa passou por um processo de lavagem com uma nova

fase de centrifugação com presença de uma solução salina contendo 0,9 % de cloreto de sódio. A centrifugação de lavagem foi realizada para retirar o excesso de meio de cultura impregnado na biomassa e evitar a lise celular durante o processo de liofilização. Depois da lavagem a solução salina foi descartada e uma nova solução salina com as mesmas características da solução de lavagem foi adicionada ao tubo com a biomassa e estocada no freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [120].

3.4. PREPARAÇÃO DA BIOMASSA

A preparação da biomassa para os ensaios de biossorção se configurou pelas etapas de liofilização, cominuição e autoclavagem. A biomassa de consórcio celular obtido na centrifugação foi acondicionada a temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas em um ultra freezer e em seguida a amostra foi exposta ao processo de liofilização por 72 horas, o equipamento Liobrás LioTop – L101 (figura 23) foi utilizado no procedimento, nesse procedimento a temperatura e a pressão atingiram respectivamente, $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $< 500\text{ mmHg}$, fazendo com que houvesse a sublimação da água no material biológico.

Figura 23 – Equipamento de Liofilização.

Após essa etapa as amostras foram cominuídas com almofariz e pistilo até assumir uma característica de pó (figura 24), essa etapa objetivou a transformação de macro partículas do material liofilizado em partículas menores, já que a adsorção é diretamente proporcional a área de superfície de contato do material adsorvente [13] [22].

Figura 24 – Biomassa liofilizada pré e pós moagem.

Em seguida a etapa de cominuição, a biomassa liofilizada passou pelo processo de autoclavagem, sob temperatura de 121 °C por 20 minutos de acordo com manual do fabricante do equipamento, após isso o material foi levado para a estufa a 105 °C para secagem por 24 horas e então resfriado a temperatura ambiente até alcançar o equilíbrio térmico. Após o resfriamento foi armazenado em frasco de vidro borossilicato pronto para uso em experimentos na coluna de adsorção.

A autoclavagem é um procedimento usual em estudos de adsorção quando há comparação entre material biológico vivo e morto como apresentado por Chubar et. al. [121] em seu trabalho de adsorção de Cu^{2+} e Zn^{2+} por *Shewanella putrefaciens*.

3.5. CARVÃO ATIVADO PARA ADSORÇÃO

O carvão ativado foi utilizado como comparativo a biomassa por ser utilizado em processo de adsorção de metais, compostos orgânicos, gases e vapores, conforme descrito na revisão bibliográfica. E, por ser o adsorvente comercial mais usual e acessível, quando comparado com resinas [122].

O pó de carvão utilizado foi de alta pureza para análises laboratoriais (P.A.) (figura 25), sem nenhum tratamento químico ou térmico antes da aplicação dele no experimento de adsorção.

Figura 25 – Pó de carvão ativado utilizado nos experimentos comparativo.

3.6. CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

3.6.1. ISOLAMENTO DE MICRO-ORGANISMO

A partir de amostras coletadas de erlenmeyers durante o crescimento do consórcio, foi executado o isolamento microbiano adaptando o protocolo de isolamento proposto por Avanzi *et. al.* [123] em seu trabalho com *Pseudomonas* na degradação de compostos fenólicos.

A etapa de isolamento de cepas para identificação envolveu a observação dentre a diversidade microbiana presente no consórcio de características detectáveis como coloração, formato e tipo de colônia [124] cultivada em meio sólido de cultura, como a fórmula do meio LB se apresentou favorável ao crescimento microbiológico do consórcio estudado, ela foi utilizada com adição de 15 g de ágar-ágar, essa solução também foi autoclavada a 121°C por 20 minutos para a solidificação do meio em placa de Petri [117].

O meio foi adicionado em placas de Petri e após a solidificação foi feito a inoculação dos micro-organismos, a incubação das amostras em estufa durou de 24 a 48 horas a temperatura de 37 °C. Passado o período de incubação, o objetivo foi buscar placas com crescimento de colônias que mesmo coexistindo na mesma placa tivessem um espaço físico entre elas, assim, com auxílio de hastes plásticas estéreis, amostras dessas colônias foram coletadas com cuidado para que não houvesse contato direto com outras colônias presentes na mesma placa e foram depositadas em um novo erlenmeyer com meio de cultura para crescimento dessa colônia alvo, para um novo ciclo de crescimento em agitação e temperatura controlada, 180 rpm e 28 °C. A cada 48 horas de crescimento, uma

nova alíquota era coletada desse novo erlenmeyer com meio de cultura para passar por outro ciclo de plaqueamento.

A cada repetição do procedimento de plaqueamento as colônias alvo do isolamento apresentavam maior dominação na placa Petri após o período de incubação em estufa, até o momento em que se obteve uma colônia homogênea indicando uma possível cultura pura, que foi confirmada pela identificação do micro-organismo.

Em todas as etapas de isolamento houve o preparo de uma placa de Petri com meio de cultura seguindo os mesmos procedimentos, mas sem alíquota do consórcio, para servir como controle de contaminação de procedimento, não havendo crescimento biológico em nenhuma delas indicando a ausência de contaminação por fatores externos, tais quais: instrumentos, contaminação cruzada com experimentos de outros pesquisadores no mesmo laboratório ou meio de cultura comprometido durante o trabalho.

3.6.2. IDENTIFICAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS POR ESPETROMETRIA DE MASSA – MALDI TOF (Time Of Flight)

A etapa de identificação dos micro-organismos presentes na biomassa foi realizada pela técnica de espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser, MALDI-TOF, modelo Microflex LT, marca Bruker Daltonics.

A partir das colônias isoladas numa placa de Petri com meio de cultura sólido, as amostras foram retiradas e transferidas para a placa de aço polido do equipamento e em cada amostra foi adicionado 1 µL da solução matriz, que é composta por uma solução saturada de ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico em 50% de acetonitrila, 47,5% de água ultra pura e 2,5% de ácido trifluoracético (TFA) conforme procedimento de análise proposto por Bruker Daltonics [114]. Após secagem a amostra foi inserida no equipamento e submetida à radiação do laser.

Após as análises, os espectros resultantes foram importados para a plataforma Biotyper (versão 3.0, Bruker Daltonics) onde ocorreu imediatamente a comparação com os espectros da biblioteca do software FlexControl (versão 3.0, Bruker Daltonics) e então foi apresentada uma tabela de resultados de acordo com uma classificação proposta pelo fabricante que não divulga maiores detalhes da forma de obtenção desses dados. Segundo a Bruker Daltonics, a classificação é baseada em pontuações que expressam a confiabilidade da identificação, que varia de 0 a 3, onde valores menores que 1,55 são considerados como baixo perfil de identificação com a referência da biblioteca de espectros, pontuações variando

de 1,55 a 1,9 indicam a compatibilidade com o gênero , e quando os valores são maiores que 1,9 é considerado que o espectro analisado tem identificação confiável para a espécie.

3.6.3. MORFOLOGIA DA BIOMASSA

Foi realizada análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da biomassa, para tanto foi necessário o tratamento de recobrimento da amostra (sputtering) com uma camada de ouro para que o feixe de elétrons emitido pelo equipamento não destruísse a amostra, conforme procedimento de Vickerman e Gilmore [125].

Esse tratamento foi realizado com auxílio do equipamento Ions Sputter, modelo SDC 040, marca Balzers Union, a uma temperatura de 21,8 °C, pressão negativa de 0,08 mbar e corrente de 3 mA em presença de Argônio.

As amostras foram analisadas em escalas de ampliação de 400x e de 1750x, para que assim fosse possível visualizar a superfície da biomassa, fator importante no fenômeno de adsorção.

3.6.4. ANÁLISE DOS SÍTIOS ATIVOS DO BIOSSORVENTE

As análises de espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram feitas por equipamento Bruker Tensor 27 IR, para realização dos experimentos as amostras foram secas em estufa a 22 °C por 24 horas. As análises foram feitas para identificar as espécies moleculares envolvidas na adsorção metálica através dos espectros de absorbância das amostras da etapa de antes dos ensaios, após a passagem da solução com metal e após a etapa de eluição com solução ácida.

3.7. EXPERIMENTOS NA COLUNA

Foram utilizadas colunas de vidro com 25 cm de altura, 5 cm de diâmetro externo e 2 cm de diâmetro interno, conforme as figuras 26 e 27. Contando também com conexão para depósito de placa porosa, grampo metálico para fixação das duas partes da coluna e membranas de nitrato de celulose de 0,45 µm, marca Sartorius Biotech Stedim, como barreira filtrante da solução final.

Figura 26 – Esquema de coluna de adsorção utilizada no estudo.

Figura 27 - Sistema experimental com coluna de leito fixo

Legenda:

- 1 – Solução a ser tratada;
- 2 – Bomba Peristáltica;
- 3 – Coluna de vidro;
- 4 – Sistema de filtração (membrana e placa porosa);
- 5 – Amostra tratada e coletada para análise.

Em cada experimento as colunas, sustentadas por suportes universais e garras, foram carregadas primeiramente com 60 esferas de vidro de 4 mm de diâmetro para que houvesse maior porosidade no leito de passagem e uma melhor superfície de contato, conforme figura 28; essa quantidade de esferas foi a ideal para evitar a total obstrução do fluxo da solução pela biomassa, que foi usada como bioissorvente no experimento. Após isso eram feitos os carregamentos com quantidades pré-definida de biomassa (1 g; 0,5 g e 0,8 g) com o auxílio de balança analítica (precisão de 5 casas decimais), espátula, béquer e funil. Depois dessa etapa, utilizando a bomba peristáltica com vazão constante de 2,5 mL/min., foram transpassadas na coluna com auxílio de mangueiras de silicone 20 mL das soluções metálicas com concentrações definidas previamente.

Figura 28 – Leito com biomassa e esferas de vidro.

Após a passagem da solução metálica, o volume foi recolhido em um tubo tipo Falcon para preparo e análise no ICP-OES (Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente) e assim partindo para a etapa de determinação da concentração final do ensaio conforme próximo tópico.

3.8. ETAPA DE ADSORÇÃO METÁLICA

A primeira etapa dos experimentos foi direcionada para a adsorção dos íons metálicos (cobre e zinco) presentes na solução sintética passada através da coluna pela biomassa e pelo carvão ativado. Os resultados obtidos foram usados na fórmula da concentração adsorvida e na eficácia do processo, seguindo as equações 29 e 30:

$$Conc. Adsorvida = Conc. Inicial - Conc. Final \quad \text{Eq. 29}$$

$$Ads. \% = \left(\frac{Conc. Inicial - Conc. Final}{Concentração Inicial} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 30}$$

Após obtenção da solução final do ensaio, as amostras eram filtradas em filtro Millipore 0,45 µm de polipropileno.

Para controle, foi realizada análise sem uso dos materiais adsorventes para constatar algum nível de adsorção dos íons metálicos por parte do sistema de bombeamento, mangueiras e coluna de vidro, mas verificou-se ausência de interação entre as partes do equipamento na adsorção.

3.9. ETAPA DE ELUIÇÃO ÁCIDA DOS METAIS

Após a etapa de adsorção foram usados 20 mL de solução ácida (HCl 0,2M; pH = 0,7) sem presença de íons metálicos, também passada pela coluna sob vazão constante de 2,5 mL como eluente para avaliar a eficiência da recuperação dos íons metálicos.

Em seguida, um novo ensaio de adsorção era realizado e o processo de recuperação era repetido, só que utilizando a solução de HNO₃ 0,2 M nas mesmas condições de vazão, pH e volume, assim a comparação era feita para determinar a influência do uso de cada uma das soluções ácidas no procedimento.

As soluções resultantes dessa etapa foram recolhidas para análise no ICP e seguindo o mesmo procedimento de comparação com uma curva padrão os resultados foram obtidos, porém com uma curva específica para essa etapa do estudo, onde a matriz usada para realizar a curva foi a solução ácida ao invés de água deionizada, como na fase de adsorção. Os cálculos de recuperação e eficácia da dessorção seguiram as equações 31 e 32:

$$Concentração Recuperada = Conc. na recuperação \quad \text{Eq. 31}$$

$$\text{Rec. \%} = \frac{\text{Conc. na recuperação}}{\text{Conc. Adsorvida}} \times 100 \quad \text{Eq. 32}$$

Os resultados obtidos nos ensaios de adsorção e eluição foram usados nos cálculos de isotermas para determinar o comportamento do fenômeno de adsorção dos íons de cobre e zinco e a eficácia da dessorção deles.

3.10. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO METÁLICA E DE BIOMASSA

Os ensaios para estudo da influência da concentração metálica no fenômeno foram feitos com as concentrações variando de 10 mg/L a 175 mg/L, para as soluções contendo zinco e de 10 mg/L a 150 mg/L, para as soluções contendo cobre, concentrações em que a saturação foi alcançada para os metais.

As concentrações foram divididas pelos seguintes valores: 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 125 mg/L, 150 mg/L e 175 mg/L.

Para determinar a influência da massa de biomassa no processo foram realizados experimentos com massas variadas, sendo elas: 0,5 g; 0,8 g e 1 g, (massa seca).

3.11. INFLUÊNCIA DA ESPÉCIE ÁCIDA NA RECUPERAÇÃO IÔNICA

Para determinar a influência do ácido utilizado na recuperação dos íons metálicos, foram realizados experimentos com soluções de 0,2 M de HCl e 0,2 M de HNO₃. As concentrações foram definidas para que não ocorresse destruição química da biomassa ou o cisalhamento das mesmas, já que o ideal era manter a forma inicial da biomassa após a passagem da solução ácida.

3.12. ANÁLISE DE AMOSTRAS (ICP-OES)

Para a determinação da concentração final de íons metálicos dos ensaios foram feitas análises de Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), modelo 720-ES, marca Varian. Para as análises eram preparadas curvas padrões da mesma matriz das amostras (água deionizada e solução ácida), minimizando os erros de análise e fazendo com que os valores achados fossem baseados em características fiéis as da curva a que eram comparadas, específicas para diferentes matrizes, ou seja, quando as amostras eram dos ensaios de adsorção a matriz usada na curva padrão era água deionizada e quando as amostras eram da eluição foram utilizados o HCl/HNO₃ como matriz da curva padrão.

As amostras analisadas continham as seguintes alíquotas presentes na tabela 11:

Tabela 11 – Alíquotas para análise no ICP-OES.

ORIGEM	ALÍQUOTA
Amostra do Ensaio	3 mL
Matriz do ensaio (Água Deionizada/ Solução ácida)	1,5 mL
Ácido Nítrico P.A.	0,5 mL

Tanto as curvas de matriz ácida, quanto a curva de matriz aquosa foram preparadas e analisadas em concentrações que variaram de 25 a 175 mg/L dos íons metálicos, que era a faixa de análise da adsorção.

3.13. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Os resultados obtidos nos experimentos foram utilizados para construir as isotermas de adsorção, aplicando as equações dos modelos de Langmuir e Freundlich que foram apreciadas no tópico 1.4.1. – ISOTERMAS.

Após essa etapa a soma dos quadrados dos erros foi aplicada no resultado obtendo maior nível de confiabilidade no modelo escolhido para descrever o processo de adsorção ocorrido no estudo.

4. Resultados e discussões

4.1. IDENTIFICAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS DO CONSÓRCIO – MALDI-TOF

O consórcio microbiano foi cultivado em placas de meio LB-ágar para que fosse possível o isolamento de dois dos possíveis micro-organismos presentes no consórcio, a análise foi baseada na diferença de morfologia, coloração e aspecto da colônia, sendo possível uma identificação através do equipamento MALDI-TOF.

O consórcio obtido apresentou algumas colônias com propriedades características, principalmente de cor e formato (figura 29), sendo esse o parâmetro para início do isolamento e dentre os possíveis micro-organismos presentes no consórcio, duas bactérias foram isoladas e identificadas.

A primeira apresentou coloração branco-leitosa (A) e a outra amarelo-esverdeada (B) (figura 30), que foram submetidas à análise espectrométrica.

Figura 29 – Placa Petri com consórcio microbiano.

Figura 30 – Micro-organismos analisados por MALDI-TOF.

Foram obtidos os espectros (figura 31) tendo maioria das leituras com pontuação acima de 2,0 (figuras 32 e 33), indicando confiabilidade na determinação da espécie analisada, segundo o manual do equipamento [114] e trabalho realizado de comparação entre métodos de Avanzi *et. al.* [118], onde bactérias de rejeitos de mineração foram isoladas e identificadas por método de amplificação do gene ribossomal 16S (16S rDNA) e pelo método de MALDI-TOF alcançando resultados similares entre ambos.

De acordo com a biblioteca do equipamento Biotyper, as bactérias analisadas foram *Enterococcus faecalis* (A) e *Pseudomonas aeruginosa* (B), ambas amplamente encontradas no solo, que foi a origem do material biológico para o estudo.

Figura 31 – Espectros da Bactéria A e da Bactéria B, obtido no MALDI-TOF BIOTYPER.

<div> F 2 B 2017-05-03T15:22:43.380 BDAL, Filamentous Fungi Library 1.0, Mycobacteria Library 1.0 (bead method), IVD, Listeria </div>			
Posição (Qualidade)	Padrão Correspondente	Valor de Pontuação	Identificador NCBI
1 (++)	Enterococcus faecalis 104575 LDW	2,284	1351
2 (++)	Enterococcus faecalis 20247_4 CHB	2,282	1351
3 (++)	Enterococcus faecalis ATCC 7080 THL	2,246	1351
4 (++)	Enterococcus faecalis DSM 20409 DSM	2,194	1351
5 (++)	Enterococcus faecalis ATCC 29212 CHB	2,148	1351
6 (++)	Enterococcus faecalis DSM 6134 DSM	2,096	1351
7 (++)	Enterococcus faecalis DSM 20478T JUG	2,055	1351
8 (++)	Enterococcus faecalis DSM 20371 DSM	2,045	1351
9 (++)	Enterococcus faecalis DSM 2570 DSM	2	1351
10 (-)	Enterococcus faecalis 105652 LDW	1,633	1351

Figura 32 – Resultado MALDI-TOF BIOTYPER, Bactéria A.

<div> F 2 A 2017-05-03T15:22:43.445 BDAL, Filamentous Fungi Library 1.0, Mycobacteria Library 1.0 (bead method), IVD, Listeria </div>			
Posição (Qualidade)	Padrão Correspondente	Valor de Pontuação	Identificador NCBI
1 (+++)	Pseudomonas aeruginosa DSM 1117 DSM	2.424	2
2 (++)	Pseudomonas aeruginosa 8147_2 CHB	2.266	287
3 (++)	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 THL	2.179	2
4 (++)	Pseudomonas aeruginosa DSM 50071T_QC DSM	2.167	287
5 (++)	Pseudomonas aeruginosa DSM 50071T HAM	2.146	2
6 (++)	Pseudomonas aeruginosa LMG 8029 LMG	2.05	287
7 (++)	Pseudomonas aeruginosa DSM 1128 DSM	2.034	287
8 (++)	Pseudomonas aeruginosa A07_08_Pudu FLR	2.005	2
9 (+)	Pseudomonas aeruginosa 19955_1 CHB	1.907	287
10 (-)	Pseudomonas nitroreducens LMG 20221T HAM	1.282	95031

Figura 33 – Resultado MALDI-TOF BIOTYPER, Bactéria B.

Também por meio da biblioteca Biotyper, foi possível obter o dendograma de similaridade genotípicas da bactéria do estudo com outras espécies presentes no banco de dados [114], tanto da bactéria A (figura 34) quanto da bactéria B (figura 35).

Figura 34 – Dendograma da *Enterococcus faecalis* – Bac. A (Biotyper).

Figura 35 – Dendograma da *Pseudomonas aeruginosa* – Bac. B (Biotyper).

Enterococcus faecalis é uma bactéria gram-positiva que está presente em águas pluviais, no solo e no intestino de mamíferos, são patogênicas e quando encontram um organismo debilitado causam infecções e diarreias. São bactérias indicadoras para o nível de contaminação de corpos d'água junto com a *E. coli*, além de ser resistente a variações ambientais e a alguns medicamentos [126].

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa, presente principalmente nos solos, é um micro-organismo oportunista causador de

infecções no sistema respiratório e é a principal causadora de infecção do ouvido (otite) [127].

Por serem abundante no ambiente, de fácil adaptação e terem característica de produzirem biofilme, ambas as bactérias foram utilizadas em estudos de adsorção de metais. Cui et.al. realizaram estudo de biorecuperação de íons de paládio por *E. faecalis* numa condição de pH 3, temperatura de 40 °C e 30 minutos de contato, atingindo uma remoção de 189 mg/g de Pd (II), devido também as características da membrana celular que conta com a presença de peptidoglicanos, como já foi citado na revisão da literatura desse trabalho [127].

Já Karimpour et.al. utilizaram no seu trabalho *Pseudomonas aeruginosa* vivas e mortas para biossorção de cádmio e chumbo, atingindo maior eficiência de adsorção para Cd e Pb, 87% e 98,5% respectivamente, sob massa de células mortas de 125 mg, pH 7, temperatura de 35 ° C e tempo de contato de 90 min., dados que demonstram a capacidade de remoção da bactéria em estudo [128].

4.2. ANÁLISE DA MORFOLOGIA DO BIOSSORVENTE

Com o recobrimento da amostra por uma camada de ouro realizado e a fixação em fita adesiva foi possível realizar análise no microscópio eletrônico de varredura (MEV), assim foi possível observar as características morfológicas da biomassa do consórcio microbiano liofilizado, utilizando ampliações de 410x e 1750x, conforme figuras 36 - 39.

Figura 36 – Microscopia de Biomassa do consórcio após liofilização e moagem.
Ampliação 410x e 1750x.

Figura 37 – Região de Biomassa do consórcio após liofilização e moagem.
Ampliação 1750x.

Figura 38 – Microscopia de Biomassa do consórcio após liofilização e moagem.
Ampliação 400x.

Figura 39 – Regiões irregular (“A”) e regular (“B”) na microscopia da Biomassa do consórcio após liofilização e moagem. Ampliação 1750x.

Pelas microscopias pode-se observar que mesmo havendo pontos de superfície irregular e porosa, indicadas pelo “A”, ainda constam locais de morfologia regular, indicadas pelo “B” nas figuras e também regiões

intermediárias, onde há morfologia porosa e regular co-existindo, conforme figura 37.

Esse aspecto regular não ajuda no fenômeno da adsorção metálica, já que a adsorção é dependente da superfície de contato, ou seja, tendo a porosidade como fator de interesse para a ocorrência dela. Isso sugere que com a diminuição dessas regiões com superfícies regulares (“B”) ocorreria o aumento da eficácia do processo adsorptivo, conforme Park *et. al.* [5] mencionam em seu estudo, onde relacionam fatores físicos que influenciam na eficiência da adsorção, como a porosidade, temperatura, concentração do poluente e força iônica.

4.3. CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO DO BIOSSORVENTE

A Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), junto com a Ressonância magnética nuclear (RMN) e mais raramente a Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (ESR), é uma análise usada para caracterização dos sítios ativos presentes na amostra, auxiliando na identificação dos grupos funcionais presentes na superfície do adsorvente que participam do mecanismo de interação com o adsorbato [5] [100].

As análises de FTIR foram realizadas nas amostras da biomassa liofilizada antes do contato com a solução metálica de zinco e após o contato com a solução, conforme figura 40. Desse modo foi possível identificar os grupos funcionais e seu comportamento após o contato com os íons metálicos.

Figura 40 – Espectros de infravermelho de antes e depois do ensaio de adsorção de Zn.

De acordo com a figura 40, a espectroscopia da biomassa antes do contato com a solução de zinco indicou presença de picos de absorbância na faixa de 540 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} indicando possíveis correlações com os grupos funcionais descritos na Tabela 12.

Conforme os picos presentes no espectro da biomassa autoclavada e descritos na Tabela 12, há a presença de grupos funcionais como: aminas, ácidos carboxílicos, cetonas e fosfatos, compostos que fazem parte da composição de proteínas e polissacarídeos [121].

Tabela 12 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtidos por análise do espectro de FTIR antes e após contato com íons de zinco.

Número de onda (cm^{-1})	Vibração da ligação	Grupo funcional	Referências
540	Presença de Fósforo e Enxofre/ Estiramento/ Vibração de - CH_2 -	Polissacarídeos/ Fosfatos e enxofre	
1080	Alongamento de -OH	Álcool/ Ác. Carboxílico	[121]
1250	Deformação de $\text{C}=\text{O}$	Ác. Carboxílico	[129]
1540	Bandas de -NH	Aminas (aminoácidos)	
1640	Alongamento de $\text{C}=\text{O}$	Ác. Carboxílico	
3300	Alongamento de -OH/ Presença de -NH	Álcool/ Aminas	

Picos na região de 540 cm^{-1} indicam a presença de moléculas com enxofre e também rastro da vibração de CH_2 dos polissacarídeos, já os picos de 1080 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} sugerem a vibração de espécies com hidroxilas presentes em alcoóis e ácidos carboxílicos [129]. Ligações de moléculas de carbono com oxigênio, usuais em vibrações de grupos funcionais como cetonas e ácido carboxílicos são detectáveis nos picos localizados em faixas de 1250 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} presentes no espectro da amostra, já picos em regiões de 1500 cm^{-1} a 1600 cm^{-1} indicam aminas que compõem proteínas e peptídeos [121].

No caso dos íons de cobre, as espectroscopias comparativas apresentaram picos nas regiões de 500 cm^{-1} e entre 1070 cm^{-1} a 1650 cm^{-1} , após isso houve ruídos de análise até a aparição dos picos de 2935 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} , como é possível observar na figura 41.

Figura 41 – Espectros de infravermelho comparativo de antes e após do ensaio de bioadsorção de íons de cobre.

As espectroscopias de infravermelho da biomassa na presença de Cu^{2+} mostraram que os grupos funcionais (aminos e carboxílicos, hidroxílicos) podem ser as principais espécies químicas envolvidas no fenômeno de adsorção do metal. Na tabela 13 são descritos esses grupos existentes nos sítios ativos do bioadsorvente.

Tabela 13 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtidos por análise do espectro de FTIR antes e após contato com íons de cobre.

Número de onda (cm ⁻¹)	Vibração da ligação	Grupo funcional	Referência
500	Presença de Fósforo e Enxofre/ Estiramento/ Vibração de - CH ₂ -	Polissacarídeos/ Fosfatos e enxofre	[121] [129]
1070	Alongamento de -OH	Álcool/ Ác. Carboxílico	
1240	Deformação de C=O	Ác. Carboxílico	
1400	Bandas de fosfatos Deformação de -OH	Fosfodiésteres/ Álcool	
1550	Bandas de Aminas	Aminas (aminoácidos)	
1650	Alongamento de C=O	Ác. Carboxílico	
2935	Vibração de -CH ₂ - e/ou -CH ₃	Cadeia Carbônica	
3300	Alongamento de -OH	Álcool	

Assim como no caso dos íons de zinco, houve detecção de picos na faixa de 500 cm⁻¹ indicando possível presença de polissacarídeos e vibrações de hidrocarbonetos, além da formação dos picos característicos de hidroxilas, carbonilas, aminas e carboxilas. Tais grupos funcionais correspondem aos mesmos presentes nos biopolímeros, que fazem parte das paredes celulares, como sacarídeos e peptídeos (celulose, lignina e pectina) [13] o que sugere o papel crucial desse material para o fenômeno. É possível perceber que há indicativos de maiores vibrações dessas espécies antes da adsorção quando comparado com o espectro de depois da atividade adsortiva, comportamento similar ao encontrado por Calfa e Torem em seu trabalho [130] onde foram

utilizados íons de ouro em contato com fungos autoclavados de *Saccharomycetaceae cerevisiae* a temperatura de 30 °C e pH 3 e citado também por Vijayaraghavan e Yun em seu trabalho de revisão do estado da arte [13].

A figura 42 apresenta análises comparativas dos espectros de antes do processo de biossorção e da biomassa após passar pela etapa de regeneração com soluções ácidas de HNO₃ e HCl, ambas com concentração de 0,2 M. Essa etapa consistiu na eluição pelas soluções ácidas dos íons metálicos de zinco retidos pela biomassa na fase de adsorção.

Figura 42 – Espectros de infravermelho das amostras após dessorção do Zn²⁺ com HCl e HNO₃ comparado com amostra inicial.

As espectroscopias de infravermelho da biomassa passadas pelo processo de regeneração indicam alterações de absorbância nos mesmos pontos envolvidos na etapa de adsorção: na região de 500 cm⁻¹, na faixa de 1080 cm⁻¹ a 1640 cm⁻¹ e na região de 3300 cm⁻¹. A tabela 14 correlaciona esses picos com os possíveis grupos funcionais.

Tabela 14 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtidos por análise do espectro de FTIR antes e após contato com íons de zinco.

Número de onda (cm ⁻¹)	Vibração da ligação	Grupo funcional	Referência
500	Presença de Fósforo e Enxofre/ Estiramento/ Vibração de - CH ₂ -	Polissacarídeos/ Fosfatos e enxofre	[121] [129]
1080	Alongamento de -OH	Álcool/ Ác. Carboxílico	
1250	Deformação de C=O	Ác. Carboxílico	
1350	Vibração de CH ₃	Cadeia carbônica	
1540	Bandas de -NH	Aminas (aminoácidos)	
1640	Alongamento de C=O	Ác. Carboxílico	
3300	Alongamento de -OH	Álcool	
3380	Ligações simples de carbono com nitrogênio	Aminas (aminoácidos)	

Na figura 43, são apresentados os espectros da regeneração da biomassa utilizada na adsorção dos íons de cobre e na sequência a tabela 15 indicando os principais grupos funcionais envolvidos.

Figura 43 – Espectros de infravermelho das amostras após dessorção do Cu^{2+} com HCl e HNO_3 comparado com amostra inicial.

A partir dos espectros das biomassas utilizadas para os diferentes metais é possível identificar que há semelhança entre os grupos funcionais envolvidos no processo de adsorção e dessorção, presença de picos de 1540 cm^{-1} e 3380 cm^{-1} (aminas) [129], região de 1380 cm^{-1} e 1070 cm^{-1} (hidroxilas), ocorrendo variação da intensidade da absorbância entre eles, sugerindo que houve a eluição do metal e que as vibrações moleculares nos sítios ativos voltaram ao estado inicial [121]. As espectroscopias das biomassas após o processo de dessorção realizado com HCl e HNO_3 (figuras 42 e 43), apresentaram indícios do ácido nítrico como melhor meio de dessorção do metal dentre as soluções eluentes utilizadas no estudo.

Tabela 15 – Grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente liofilizado obtidos por análise do espectro de FTIR antes e após contato com íons de cobre.

Número de onda (cm ⁻¹)	Vibração da ligação	Grupo funcional	Referência
520	Presença de Fósforo e Enxofre/ Estiramento/ Vibração de - CH ₂ -	Polissacarídeos/ Fosfatos e enxofre	[121] [129]
1070	Alongamento de -OH	Álcool/ Ác. Carboxílico	
1240	Deformação de C=O	Ác. Carboxílico	
1380	Bandas de fosfatos Deformação de -OH	Fosfodiésteres/ Álcool	
1550	Bandas de Aminas	Aminas (aminoácidos)	
1650	Alongamento de C=O	Ác. Carboxílico	
2935	Vibração de -CH ₂ - e/ou -CH ₃	Cadeia Carbônica	
3300	Alongamento de -OH	Álcool	

Quando comparado ao espectro da amostra inicial é possível verificar que o espectro da amostra tratada por ácido nítrico tem suas características moleculares mais semelhantes do que a amostra tratada com ácido clorídrico, como é possível observar na região de 3300 cm⁻¹ nas figuras 42 e 43. Isso evidencia que, após a dessorção dos íons de cobre e zinco, a estrutura e as propriedades dos sítios ativos permaneceram estáveis, sugerindo até uma possibilidade de reaplicação do bioissorvente numa nova fase de adsorção de modo eficaz, fator que ajuda no quesito econômico da técnica. Zhang e Wang constataram comportamento semelhante de regeneração do material adsorvente na utilização de solução de 0,2 M de HNO₃ para eluição de íons de níquel adsorvidos por lignocelulose, que

manteve consistência de remoção metálica por cinco ciclos de adsorção/dessorção [131].

4.4. EFICÁCIA DA ADSORÇÃO E DESSORÇÃO

Nessa etapa do estudo foi avaliada a eficácia tanto do processo de adsorção metálica quanto o de dessorção (recuperação) do metal que foi atraído pela biomassa, sendo que no segundo procedimento há o uso de dois agentes eluentes para determinar o que melhor se adéqua ao objetivo do estudo.

Foram preparadas curvas padrão dos íons de cobre e do zinco para cada matriz a ser analisada no ICP, o objetivo disso foi verificar se havia interferência das soluções eluentes na leitura dos ensaios, e de acordo com os valores encontrados, percebeu-se que a influência do HCl e do HNO₃ é mínima, entretanto os resultados das concentrações encontradas nos ensaios foram calculados através da equação da reta de cada resultado, já que essas equações apresentaram uma correlação próxima de 1, conforme figuras 44 – 46 (referente as análises com o zinco).

Figura 44 – Curva padrão de concentração do zinco em H₂O como matriz.

Figura 45 – Curva padrão de concentração do zinco em HCL como matriz.

Figura 46 – Curva padrão de concentração do zinco em HNO₃ como matriz.

4.4.1. ADSORÇÃO – ZINCO

A figura 47 contém dados dos experimentos de adsorção aplicados aos íons metálicos Zn^{2+} presentes na solução a ser tratada em concentração inicial variando de 10 mg/L a 175 mg/L em contato com massas de adsorvente variando de 0,5 g a 1 g.

Figura 47 – Porcentagem de adsorção do Zn²⁺ em contato com diferentes massas de adsorvente.

Na figura 47, é possível observar a tendência de queda na remoção metálica com o aumento da concentração inicial do ensaio, independente da massa observada, sugerindo que a quantidade de sítios ativos disponíveis e necessários para o fenômeno vão sendo ocupados e a oferta desses sítios não acompanha o aumento da demanda de íons livres na solução [85], já indicando que possivelmente haja um número finito de sítios disponíveis.

Bhattacharya *et. al.* [4] também relataram tal comportamento em seu trabalho, onde realizaram a remoção de íons de zinco com concentração de 3 a 50 mg/L, utilizando diferentes materiais adsorventes (cinza de casca de arroz, alumina ativada e lodo clarificado). Os autores explicam que o aumento da razão entre a concentração metálica inicial e a massa de adsorvente faz com que os sítios energéticos saturem, sobrando sítios de baixa energia de atração resultando numa queda de eficácia na remoção.

Os dados também mostram que em baixas concentrações iniciais os valores entres os experimentos são bem aproximados, sugerindo que não é uma região de saturação da operação. Por exemplo, na faixa de 10 mg/L a remoção realizada por 0,5 g; 0,8 g e 1 g são respectivamente 84%; 87% e 89% um intervalo de 5 pontos percentuais. Já na maior concentração estudada (175 mg/L) tal intervalo chega nos 22 pontos percentuais (0,5 g = 43%; 1 g = 65%) indicando que os experimentos com a quantidade de biomassa menor já entraram numa faixa de saturação de remoção metálica.

Numa comparação dos resultados obtidos é observado que os ensaio em que os íons tiveram contato com 1 g de bioissorvente o rendimento foi superior aos outros dois, a partir da concentração inicial de 100 mg/L de Zn^{2+} , podendo indicar a zona de saturação do material nos experimentos com 0,5 g e 0,8 g.

4.4.2. DESSORÇÃO – ZINCO

Nas figuras 48 – 50 os resultados dos ensaios de dessorção ácida são apresentados. Tais ensaios foram realizados numa etapa seguinte a etapa de adsorção, onde uma solução ácida de HCl ou HNO_3 , sem a presença de íons metálicos, foi utilizada para quantificar a taxa de recuperação dos íons retidos na primeira etapa através de análise de ICP.

Figura 48 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn^{2+} , com aplicação de 1 g de biomassa e solução de HCl/ HNO_3 .

Figura 49 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn²⁺, com aplicação de 0,8 g de biomassa e solução de HCl/HNO₃.

Figura 50 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn²⁺, com aplicação de 0,5 g de biomassa e solução de HCl/HNO₃.

Os rendimentos de dessorção com as taxas mais altas, na casa de 95% (10 mg/L de Zn²⁺ e 1 g de biomassa), ficam evidentes em concentrações iniciais mais baixas, tal qual 10 mg/L, já que a quantidade de metal retido nesse caso é menor e o volume necessário de ácido para atingir os sítios ocupados é proporcional a quantidade de metal a ser recuperado. Diferente de maiores concentrações

iniciais, onde possivelmente o volume de ácido utilizado não alcance todos os sítios ocupados pelos íons.

Corroborando os ensaios de FTIR, o ácido nítrico se apresentou como melhor espécie eluente para recuperação do metal retido na primeira etapa do ensaio. O ácido nítrico também foi identificado como melhor agente eluente no trabalho de Shawabkeh *et. al.* [132], onde os autores usaram ácido nítrico, clorídrico e sulfúrico a concentração de 5 molar para tratar cinzas de óleo de xisto com presença de íons de zinco e cobre, e também no estudo de Yaylali *et. al.* [133] que utilizaram os mesmos agentes ácidos do trabalho citado anteriormente mas com a intenção de lixiviar cobalto, cobre, ferro e zinco da pirita, ambos os estudos citam as características do ácido nítrico frente a outros agentes por atuar no eletromagnetismo dos sítios ativos, liberando íons H^+ na solução, em consequência disso enfraquecendo a força de atração entre metal e biossorvente já que a competição por sítios ativos aumenta. Além de causar oxidação das moléculas disponíveis na superfície do material adsorvente, ambos os fatores são citados na literatura [106] como aspectos que auxiliam na remoção do metal adsorvido no biomaterial, situação que é vista com bons olhos para a indústria mineradora e que é o objetivo da aplicação da bioadsorção por ela nos efluentes.

4.4.3. ADSORÇÃO – COBRE

Os ensaios para adsorção e dessorção do cobre, demonstrados nas figuras 51 – 54 obtiveram resultados mais modestos tanto na eficácia de remoção, como na eficácia de recuperação do metal em todas as situações quando comparado ao processo com o zinco.

Nos ensaios de adsorção do Cu^{2+} (figura 51) o processo alcançou remoção máxima de 82%, equivalente a uma remoção de 8,2 mg/L de Cu^{2+} numa solução com 10 mg/L de Cu^{2+} ($Q_e = 8,2$ mg/g) na presença de 1 g de biomassa.

Figura 51 – Porcentagem de adsorção do Cu²⁺ em contato com diferentes massas de adsorvente.

Dentre as variações de massa inicial de bioissorvente, foi obtida a mesma tendência dos ensaios com zinco, já que os experimentos com maior massa de bioissorvente (1 g) alcançaram maiores níveis de adsorção dos íons cúpricos.

4.4.4. DESSORÇÃO – COBRE

A faixa de recuperação metálica com uso de 1 g de biomassa ficou entre a faixa porcentual de 82% - 58% (figura 52) quando comparado com o ensaio de zinco na mesma condição se encontra uma eficácia na faixa de 95% - 79%, com isso é evidente que os íons de zinco interagem melhor com a biomassa que os íons de cobre na fase de adsorção e também reagem melhor na fase dessortiva.

Figura 52 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn²⁺, com aplicação de 1 g de biomassa e solução de HCl/HNO₃.

Figura 53 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn²⁺, com aplicação de 0,8 g de biomassa e solução de HCl/HNO₃.

Figura 54 – Porcentagem de dessorção no processo para diferentes concentrações de Zn²⁺, com aplicação de 0,5 g de biomassa e solução de HCl/HNO₃.

4.5. VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO METÁLICA

Durante o estudo da influência da concentração inicial de íons metálicos foram utilizadas concentrações iniciais de trabalho que variaram entre 10 mg/L e 175 mg/L nos estudos do Zn²⁺ e entre 10 mg/L e 150 mg/L para Cu²⁺, concentrações suficientes para saturação do sistema estudado.

Nas figuras 55 e 56, o comportamento de decaimento na porcentagem de remoção dos íons metálicos acontece simultaneamente ao aumento da taxa de adsorção (Q_e). Tanto para o zinco quanto para o cobre, tal ação é justificada pelo fato de que com a concentração iônica baixa para a massa de biossorvente estudada de 1g, a captação acompanha a disponibilidade de sítios para ocupação dos íons da solução. Esse decaimento na porcentagem de remoção acompanha o aumento da concentração de íons metálicos, já que a quantidade de metal na solução aumenta, porém a quantidade de sítios ativos se mantém inalterada, dando indícios do comportamento do processo de adsorção com sítios finitos, conforme descrito por Langmuir em sua teoria.

Figura 55 – Porcentagem do processo de dessorção para o Zn^{2+} versus a remoção metálica no equilíbrio com aplicação de 1 g de biomassa.

Figura 56 – Porcentagem do processo de dessorção para o Cu^{2+} versus a remoção metálica no equilíbrio com aplicação de 1 g de biomassa.

Por outro lado, com o aumento da concentração inicial de íons, os valores de Q_e tendem a crescer, já que com maior quantidade de Zn^{2+} e Cu^{2+} na solução aumentam as probabilidades das moléculas encontrarem um sítio ativo para

acomodação, conseqüentemente resultando em valores de Q_e superiores até alcançar a saturação, representada por um efeito estacionário nos resultados (constância do valor de Q_e).

Os íons de cobre quando em concentração de 25 mg/L e em contato com 1 g de biomassa, teve uma eficiência de adsorção igual a 81% e Q_e com valor de 20 mg de Cu^{2+} /g de biomassa. Entretanto, quando em concentração inicial de 125 mg/L e mesma massa de adsorvente, os valores de remoção e Q_e foram de 65% e 81 mg de Cu^{2+} /g de biomassa.

A ocorrência desse comportamento caracterizada pela elevação da taxa de sorção relacionada ao aumento da concentração é descrito em estudos de biossorção [134] [135], onde os autores alertam para um possível efeito dissimulativo que se assemelha ao de afinidade entre adsorvente/adsorbato, mas que é causado pela variação de concentração, fenômeno também conhecido como gradiente de difusão.

4.6. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Os dados encontrados nos experimentos foram utilizados para criação das isotermas de adsorção e assim achar o modelo que melhor descreve o fenômeno ocorrido e as capacidades máximas teóricas de adsorção. Os modelos de Freundlich e Langmuir com suas variações foram os utilizados para isso.

4.6.1. ZINCO

As isotermas do estudo foram montadas, sendo utilizadas como variáveis a massa de biossorvente e a concentração inicial dos íons metálicos, além da aplicação dos valores das concentrações de equilíbrio, obtido após o experimento ser concluído. Os dados relacionados com $Q_e \times C_{eq}$ foram expostos na figura 57 para identificar qual a condição otimizada de remoção metálica.

Figura 57 – Isotermas de adsorção do Zn²⁺ em diferentes concentrações em contato com 0,5 g; 0,8 g e 1g de biossorvente.

Na figura 57, os dados estão alinhados com os resultados encontrados na porcentagem de remoção, ilustrando que para as mesmas concentrações a massa de 1 g de biossorvente alcança uma concentração final (Ceq) menor quando comparado aos números dos experimentos utilizando outras massas, portanto, os dados da condição descrita de trabalho foram utilizados para a sequência dos cálculos.

As figuras 58, 59, 60, 61 e 62 apresentam os dados relacionados aos modelos linearizados de Langmuir e Freundlich.

Figura 58 – Modelo linearizado Langmuir, adsorção do Zn²⁺/1 g de biomassa.

Figura 59 – Modelo linearizado Lineweaver-Burk, adsorção do Zn²⁺/1g de biomassa.

Figura 60 – Modelo linearizado Eadie-Hofstee, adsorção do Zn^{2+} /1g de biomassa.

Figura 61 – Modelo linearizado Scatchard, adsorção do Zn^{2+} /1g de biomassa.

Figura 62 – Modelo linearizado Freundlich, adsorção do Zn^{2+} /1g de biomassa.

Observando as figuras anteriores é possível verificar que os dados se ajustaram melhor ao modelo de Lineweaver-Burk ($R^2 = 0,9955$), que ao modelo de Freundlich ($R^2 = 0,9270$), com R^2 (coeficiente de regressão linear) se aproximando mais da unidade.

Entretanto, para confirmar a informação obtida nos modelos linearizados, foram construídas curvas comparativas entre os dados experimentais e os obtidos pelas equações de cada modelo utilizado, figura 63 e 64, podendo ser feita uma confirmação visual do ajuste dos resultados aos modelos.

Nas figuras 63 e 64, os dados originários dos modelos teóricos, baseados na regressão linear apresentado nas figuras 58 – 62 estão ilustrados por linhas

contínuas e os dados empíricos pelo marcador (♦), ficando evidente o melhor ajuste ao modelo Lineweaver-Burk e indicando um possível fenômeno ocorrendo em monocamada, onde os sítios são igualmente energéticos e não interferem no sítio vizinho, assim como os resultados encontrados nos trabalhos de Lin e Lai [3] onde bactérias imobilizadas de *Pseudomonas aeruginosa* também foram aplicadas para adsorver íons bivalentes, no caso o Pb^{2+} e regenerados com HCl 0,1 M; e da mesma forma no estudo de Bhattacharya, Mandal e Das [4], onde os pesquisadores utilizaram resíduo de siderurgia e alumina ativada para adsorver Zn^{2+} numa solução com concentração de 10 g/L e pH variando de 5 a 7.

A figura 63 foi montada com o melhor ajuste entre as variações matemáticas da equação de Langmuir, no caso o ajuste de Lineweaver-Burk e o modelo de Freundlich, para um confronto entre as teorias multi e monocamada.

Figura 63 – Comparativo dos modelos de isotermas do Zn^{2+} na forma não-linearizada com os dados empíricos.

Figura 64 – Comparativo dos modelos de isotermas do Zn^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos.

Para confirmar o ajuste ao modelo do resultado encontrado, o método estatístico da Soma dos Quadrados dos Erros (SQE) foi aplicado, resultando na tabela 16, onde o menor valor encontrado indica o modelo melhor ajustado aos valores encontrados nos ensaios.

Tabela 16 – Comparativo do SQE dos modelos de isotermas para adsorção do Zn^{2+} .

MODELOS	SQE
Langmuir	6,541
Lineweaver-Burk	3,273
Eadie-Hofstee	4,461
Scatchard	5,053
Freundlich	10,323

Novamente, após análise dos resultados da SQE, é apontado o melhor ajuste dos resultados encontrados ao modelo Lineweaver-Burk para o processo de adsorção do Zn^{2+} pela biomassa utilizada.

A seguir na tabela 17, estão apresentados os parâmetros determinados para cada modelo aplicado ao estudo, além das montagens das equações de cada modelo.

Tabela 17 – Parâmetros isotérmicos de Langmuir, suas variações, e Freundlich para o fenômeno de adsorção do zinco pela biomassa, utilizando 1 g de biomassa, concentração de 10 – 175 mg de Zn^{2+} /L.

MODELOS	PARÂMETROS Zn^{2+}		EQUAÇÃO DO MODELO
Langmuir	K_L (L/mg)	0,0526	$Q_e = \frac{161,29 \times 0,0526 \times C_e}{1 + 0,0526 \times C_e}$
	Q_{max} (mg/g)	161,29	
	R^2	0,9508	
Lineweaver-Burk	K_L (L/mg)	0,0555	$Q_e = \frac{200,3 \times 0,0555 \times C_e}{1 + 0,0555 \times C_e}$
	Q_{max} (mg/g)	200,3	
	R^2	0,9955	
Eadie-Hofstee	K_L (L/mg)	0,0493	$Q_e = \frac{167,94 \times 0,0493 \times C_e}{1 + 0,0493 \times C_e}$
	Q_{max} (mg/g)	167,94	
	R^2	0,6984	
Scatchard	K_L (L/mg)	0,0344	$Q_e = \frac{210,78 \times 0,0344 \times C_e}{1 + 0,0344 \times C_e}$
	Q_{max} (mg/g)	210,78	
	R^2	0,6984	
Freundlich	$K_F ((mg/g).(L/mg)^{1/n})$	9,0740	$Q_e = 9,0740 \times C_e^{1/1,3937}$
	n (mg/g)	1,3937	
	R^2	0,9270	

Os dados encontrados de $Q_{máx}$ indicam os valores máximos teóricos de remoção metálica, o modelo Lineweaver-Burk apresenta um valor de 200,3 mg de Zn^{2+} / g de biomassa.

O valor do coeficiente n encontrado no modelo de Freundlich, também indica a espontaneidade do processo, onde essa constante maior que 1 indica que o processo é espontâneo [112].

Já os valores de R_L tendo como base os experimentos com Zn^{2+} , expostos na figura 65, todos entre 0 e 1 indicam um sistema favorável ao acontecimento do fenômeno da adsorção.

Figura 65 – Fator adimensional de Langmuir em função da concentração inicial de íon de Zn^{2+} em contato com 1 g de bioissorvente.

A figura 65 mostra que o processo é favorável do ponto de vista termodinâmico, e, quanto maior a concentração metálica inicial, a tendência para a ocorrência de um processo irreversível também aumenta, pois os valores de R_L vão se aproximando de zero (curva tendendo à zero em maiores concentrações inicial de íons metálicos). Esse comportamento se deve a força de difusão intraparticular dos íons nos poros do bioissorvente que é proporcional ao aumento da concentração de íons na solução, forçado pelo gradiente de difusão, força resultante do diferencial da concentração dos íons metálicos na solução e dentro do adsorvente, ou seja, os íons estão sofrendo influência de força de atração e de dessorção pelo sistema “bioissorvente – solução” de acordo com a concentração da solução metálica [112].

4.6.1.1. COMPARATIVO DE ISOTERMAS BIOMASSA/CARVÃO ATIVADO – Zn^{2+}

Na intenção de fazer um comparativo com uma espécie adsorvente conhecida foi feito um experimento nas mesmas condições com a substituição da biomassa por cartão ativado para adsorver Zn^{2+} , o resultado obtido foi confrontado com o resultado obtido pelo estudo da aplicação da biomassa, conforme figura 66.

Figura 66 – Comparativo de capacidade de remoção de Zn²⁺ entre 1 g de biomassa e 1 g de carvão ativado.

Analisando os dados obtidos das isotermas aplicando 1 g da biomassa e 1 g do carvão ativado e comparando-os entre si é possível perceber a vantagem tanto no quesito captação metálica (Q_e) quanto na concentração final da solução tratada pela biomassa, já que a concentração final de uma solução de 175 mg/L de Zn²⁺ tratada pelo carvão atinge um valor final de 100 mg/L de Zn²⁺ e quando tratada pela biomassa chega a concentração de 60 mg/L de Zn²⁺. Esse desempenho tão destoante não é tão sensível em concentrações iniciais mais baixas, indicando uma possível influência da superfície de contato dos materiais que nessa faixa ainda não foi saturado pelos íons metálicos. Corroborando com isso, é possível observar o início da formação de um platô quando a taxa de remoção metálica chega próximo ao valor de 60 mg de Zn²⁺/g biomassa nos experimentos com carvão ativado, reação retardada no caso da biomassa, que inicia esse comportamento na faixa de 110 mg de Zn²⁺/g biomassa.

Segundo Ramos [136], que alcançou uma taxa de remoção de 50 mg de Zn²⁺/g de carvão ativado em seu trabalho a uma condição de pH abaixo de 7, que é o caso desse estudo, há a criação de uma condição de repulsa entre o carvão e os íons de zinco, pois com o pH abaixo do ponto isoelétrico (ponto de equilíbrio das cargas positivas e negativas entre as espécies envolvidas na interação), é possível que os casos de retenção dos íons tenham acontecido devido a atração

química e não a atração eletrostática, que é a interação de interesse desse estudo.

4.6.2. COBRE

Na figura 67 as isotermas foram construídas para o processo de adsorção do Cu^{2+} , semelhante ao realizado anteriormente com o Zn^{2+} . As curvas representam os experimentos tendo como variável a massa de bioissorvente, relacionando os valores da concentração de equilíbrio com a quantidade de metal removido por massa de material adsorvente ($Q_e \times C_{eq}$).

Figura 67 – Isotermas de adsorção do Cu^{2+} em diferentes concentrações em contato com 0,5 g; 0,8 g e 1g de bioissorvente.

Assim como nos ensaios com zinco, a massa de 1 g se mostrou mais vantajosa na função de remoção metálica, atingindo a concentração de 70 mg de Cu^{2+} /L, no experimento com concentração inicial de 150 mg de Cu^{2+} /L, e uma taxa de remoção por massa de 80 mg de Cu^{2+} / g de biomassa. O comportamento foi o mesmo para todas as concentrações analisadas, como é possível verificar na figura 67.

As figuras apresentadas a seguir (figuras 68 – 72) mostram os modelos linearizados de Langmuir e Freundlich aplicado à adsorção do Cu^{2+} .

Figura 68 – Modelo linearizado Langmuir, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa.

Figura 69 – Modelo linearizado Lineweaver-Burk, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa.

Figura 70 – Modelo linearizado Eadie-Hofstee, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa.

Figura 71 – Modelo linearizado Scatchard, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa.

Figura 72 – Modelo linearizado Freundlich, adsorção do Cu^{2+} / 1 g de biomassa.

Os modelos em sua forma linearizada indicaram um melhor ajuste dos resultados da adsorção de Cu^{2+} em 1g de biomassa ao modelo de Langmuir ($R^2 = 0,9908$) enquanto o modelo de Freundlich obteve um valor do coeficiente de regressão linear (R^2) igual a 0,9478.

Nas figuras 73 e 74 foram construídas as curvas dos modelos teóricos confrontadas com os dados empíricos.

Figura 73 – Comparativo dos modelos de isotermas do Cu^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos.

Figura 74 – Comparativo dos modelos de isotermas do Cu^{2+} na forma não-linearizada com dados empíricos.

Os dados provenientes dos experimentos, representados pelo marcador (▲) estão bem congruente às curvas dos modelos de Langmuir, coincidentemente igual ao processo de adsorção do Zn^{2+} , mesmo comportamento encontrado no estudo de Silva et. al. [137], que empregaram o micro-organismo *Pseudomonas aeruginosa* nas biosorções de cobre e zinco e que também seguiram melhor o modelo de Langmuir.

Importante apontar a combinação de fatores ao ajuste do modelo de Langmuir – 1, que apresenta melhor adequação visual de coeficiente de regressão linear assim como menor valor de SQE ($\text{SQE}_{\text{Langmuir1}} = 1,229$) conforme tabela 18, sugerindo que o fenômeno tem atividade formadora de monocamada de adsorção.

Tabela 18 – Comparativo do SQE dos modelos de isotermas para adsorção do Cu^{2+} .

MODELOS	SQE
Langmuir	1,229
Lineweaver-Burk	2,046
Eadie-Hofstee	1,320
Scatchard	1,446
Freundlich	4,309

A seguir a tabela 19 mostra os valores dos parâmetros determinados para cada modelo aplicado ao estudo, além das montagens das equações de cada modelo.

Tabela 19 – Parâmetros isotérmicos de Langmuir, suas variações, e Freundlich para o fenômeno de adsorção do cobre pela biomassa, utilizando 1 g de biomassa, concentração de 10 – 150 mg de Cu²⁺/L.

MODELOS	PARÂMETROS Cu ²⁺		EQUAÇÃO DO MODELO
Langmuir	K _L (L/mg)	0,0568	$Q_e = \frac{164,16 \times 0,0568 \times C_e}{1 + 0,0568 \times C_e}$
	Q _{max} (mg/g)	164,16	
	R ²	0,9908	
Lineweaver-Burk	K _L (L/mg)	0,0403	$Q_e = \frac{126,58 \times 0,0403 \times C_e}{1 + 0,0403 \times C_e}$
	Q _{max} (mg/g)	126,58	
	R ²	0,9798	
Eadie-Hofstee	K _L (L/mg)	0,0487	$Q_e = \frac{112,39 \times 0,0487 \times C_e}{1 + 0,0487 \times C_e}$
	Q _{max} (mg/g)	112,39	
	R ²	0,9470	
Scatchard	K _L (L/mg)	0,0461	$Q_e = \frac{115,88 \times 0,0461 \times C_e}{1 + 0,0461 \times C_e}$
	Q _{max} (mg/g)	115,88	
	R ²	0,9470	
Freundlich	K _F ((mg/g).(L/mg) ^{1/n})	7,3164	$Q_e = 7,3164 \times C_e^{1/1,5835}$
	n (mg/g)	1,5835	
	R ²	0,9478	

Assim como citado anteriormente, valores encontrados de Q_{máx} indicam os valores máximos teóricos de remoção metálica. O modelo Langmuir, melhor ajuste, apresenta um valor de 164,16 mg de Cu²⁺/ g de biomassa.

O valor do coeficiente *n* encontrado no modelo de Freundlich, também indica a espontaneidade do processo, com valor de 1,5835.

O fator adimensional de Langmuir (R_L) no caso da adsorção de Cu²⁺ indica uma tendência termodinamicamente favorável no sistema, indicado pelo valor próximo a 0,18 para as concentrações de 125 e 150 mg/L de Cu²⁺(figura 75), entretanto não sugere que se torne um processo irreversível, já que aparenta ter tido uma estabilização da força de atração no sistema, ou seja, as forças de

adsorção e de dessorção entraram em equilíbrio no sistema “biossorvente – solução” [112].

Figura 75 – Fator adimensional de Langmuir em função da concentração inicial de íon de Cu^{2+} em contato com 1 g de biossorvente.

4.6.2.1. COMPARATIVO DE ISOTERMAS BIOMASSA/CARVÃO ATIVADO – Cu^{2+}

O estudo comparativo entre a adsorção de 1 g de biomassa e 1 g de carvão ativado para remoção dos íons de cobre também foi realizado, e os resultados obtidos estão na figura 76.

Figura 76 – Comparativo da capacidade de remoção de Cu^{2+} entre 1 g de biomassa e 1 g de carvão ativado.

Com a análise comparativa dos dados de isotermas nas condições descritas, é possível identificar uma zona de baixa concentração inicial onde a biomassa apresenta rendimentos melhores que os do carvão ativado.

A partir dos experimentos com concentração metálica de 50 mg/L, o carvão exibiu números mais interessantes no tratamento da solução que a biomassa. Com o aumento da quantidade de metal dissolvida, o carvão evidenciou valores mais otimizados comparado aos da biomassa, alcançando valores na condição de 150 mg/L de concentração inicial de $Q_e = 102,29$ mg de Cu^{2+} / g de carvão, e $C_e = 47,71$ mg/L de Cu^{2+} , comparado aos números encontrados no experimento usando biomassa, $Q_e = 79,88$ mg de Cu^{2+} / g de biomassa, e $C_e = 70,12$ mg/L de Cu^{2+} , fica claro a vantagem de usar carvão ativado a partir de determinada concentração de operação.

Monser e Adhoum em seu estudo de adsorção de Cu, Zn e Cr por carvão ativado em efluente industrial de beneficiamento de metais também encontraram maiores taxas de remoção para o cobre em relação ao zinco e cromo, com valores de 49,3 mg/g; 9,9 mg/g e 6,84 mg/g de cobre, zinco e cromo respectivamente, utilizando 2,5 g de carvão ativado. Eles citam uma maior afinidade entre os grupos funcionais, presentes na superfície do carvão que são formados durante a ativação do material pelos íons de cobre como justificativa dessa diferença de captação [138]. Entretanto, essa mesma condição só poderia ser relacionada aos resultados comparativos entre a biomassa desse estudo e o carvão ativado utilizado através de análises complementares.

5. Conclusões

A partir das informações obtidas nos experimentos foi possível constatar que:

1) A biomassa estudada foi caracterizada e foi detectada a presença de poros, o que auxilia no aumento da área superficial do bioissorvente e na ocorrência da adsorção;

2) Os micro-organismos provenientes e isolados do consórcio utilizado foram identificados pela técnica MALDI-TOF e as espécies encontradas foram *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, entretanto isso não limita a presença de outras espécies microbiológicas não isoladas e não identificadas na biomassa;

3) Assim como descrito na literatura, essas espécies citadas *E. faecalis* (Gram positiva) e a *P. aeruginosa* (Gram negativa) apresentam em suas membranas celulares biopolímeros essenciais à remoção metálica da solução tratada, indícios de tais espécies também foram encontrados nas análises de dos sítios ativos através de análise de FTIR;

4) Embasados nos dados obtidos do FTIR também foi permitido ter indicativos de que o ácido nítrico foi melhor agente de eluição para recuperação do metal adsorvido, corroborado pelos valores de taxas de remoção analisados posteriormente;

5) Através das isotermas de equilíbrio e acompanhados por dados da comparação gráfica, coeficiente de regressão linear e soma dos quadrados dos erros, o modelo de Langmuir mostrou melhor validação dos dados experimentais para ambos os metais,;

6) As taxas teóricas de remoção máxima pelo modelo de Langmuir foram de 200 mg/g de biomassa para o zinco e de 164 mg/g de biomassa para o cobre;

7) As porcentagens de remoção do processo adsorativo foram de 89% para o zinco e de 82% para o cobre, ambas na condição de 1 g de bioissorvente e concentração inicial de 10 mg/L do metal, já para a recuperação do metal adsorvido as porcentagens alcançaram 95% para o zinco e 82% para o cobre, nas mesmas condições ótimas da remoção, 1 g de bioissorvente e 10 mg/L de metal;

8) O fator adimensional de Langmuir (R_L) indicou que para os dois metais estudados o processo adsorptivo tende a ocorrer de forma espontânea;

9) A influência da concentração metálica inicial se mostrou importante tanto na taxa de remoção quanto na eficácia do processo, diferente da massa de bioissorvente usada, que não apresenta alto grau de interferência nos resultados, principalmente em baixas concentrações metálicas;

10) No estudo comparativo entre a biomassa frente ao carvão ativado, o procedimento para adsorção de zinco revelou-se mais vantajoso com a aplicação da biomassa no processo. Oposto ao resultado encontrado na adsorção do cobre, onde o carvão apresentou vantagens quando confrontado aos resultados da aplicação da biomassa.

Sendo assim, esse trabalho apresentou uma alternativa para biorremediação de efluentes contaminados com íons metálicos de Cu^{2+} e Zn^{2+} , e de outro modo de captação de metais além da mineração direta, expondo condições de interesse ambiental e comercial. Não menos importante, também poderá servir como orientação de um desenvolvimento sustentável para a sociedade alicerçando futuros trabalhos de busca por novas tecnologias de biorremediação e biomineração.

Referências bibliográficas

- [1] FICK, J., SÖDERSTRÖM, H., LINDBERG, R. H., PHAN, C., TYSKLIND, M., LARSSON, D. G. J.; Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 28, No. 12, pág. 2522–2527, 2009.
- [2] VOLESKY, B.; Biosorption and Me, *Water Research*, n° 41, pág. 4017 – 4029, 2007.
- [3] LIN, C.; LAI, Y.; Adsorption and recovery of Lead (II) from aqueous solution by immobilized *Pseudomonas Aeruginosa* PU21 beads, *Journal of Hazardous Materials*, n° A137, pág. 99 – 105, 2006.
- [4] BHATTACHARYA, A.; MANDAL, S.; DAS, S.; Adsorption of Zn(II) from aqueous solution by using different adsorbents, *Chemical Engineering Journal*, n° 123, pág. 43 – 51, 2006.
- [5] PARK, D.; YUN, Y. S.; PARK, J. M., The Past, Present, and Future Trends of Biosorption, *Biotechnol. and Bioproc. Engineering* n°15, pág. 86 – 102, 2010.
- [6] CHANAN, A.; KANDASAMY, J.; VIGNESWARAN, S.; SHARMA, D.; A gradualist approach to address Australia's urban water challenge, *Desalination*, n° 249, pág. 1012 – 1016, 2009.
- [7] BALTAZAR, M. P. G.; AVANZI, I. R.; KAROLSKI, B.; TENÓRIO, J. A. S.; NASCIMENTO, C. A. O.; PERPETUO, E. A.; Copper biosorption by *Rhodococcus erythropolis* isolated from Sossego Mine – PA – Brazil, *Journal of Materials Research and Technology*, Vol. 8 Issue 1, pág. 475 – 483, 2019. DOI: 10.1016/j.jmrt.2018.04.006.
- [8] ALIPRANDINI, P.; CORREA, M. M. J.; TENÓRIO, J. A. S.; ESPINOSA, D. C. R.; Recovery of Nickel and Cobalt from a Waste Zone of Nickel Laterite Ore Using a Mixture of Extractants in Solvent Extraction Technique, *Energy Technology* *in press*, 2018. DOI:10.1007/978-3-319-72362-4_39.
- [9] CHOU, Y. H.; YU, J. H.; LIANG, Y. M.; WANG, P. J.; LI, C. W.; CHEN, S. S.; Recovery of Cu(II) by chemical reduction using sodium dithionite. *Chemosphere*, n° 141, pág. 183 – 188, 2015. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.07.016.
- [10] DEMIRAL, H.; GÜNGÖR, C.; Adsorption of copper(II) from aqueous solutions on activated carbon prepared from grape bagasse. *Journal of Cleaner Production*, n° 124, pág. 103 – 113, 2016. DOI:10.1016/j.jclepro.2016.02.084.

- [11] AL-SAYDEHA, S. A.; EL-NAASA, M. H.; ZAIDI, S. J.; Copper removal from industrial wastewater: A comprehensive review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, n° 56, pág. 35 – 44, 2017. DOI:10.1016/j.jiec.2017.07.026.
- [12] CAROLIN, C. F.; KUMAR, P. S.; SARAVANAN, A.; JOSHIBA, G. J.; NAUSHAD, M.; Efficient Techniques for the Removal of Toxic Heavy Metals from Aquatic Environment: A Review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Vol. 5 (3), pág. 2782 – 2799, 2017. DOI:10.1016/j.jece.2017.05.029.
- [13] VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y.; Bacterial biosorbents and biosorption – *Biotechnology Advances*, n° 26, Pág. 266 – 291, 2008.
- [14] MANCUSO, P. C. S., DOS SANTOS, H.F. – Reúso de água, Ed. Manole, p. 580, 2003.
- [15] EXAME BRASIL – Unesco discute recursos hídricos no forum mundial da água. Disponível em <<https://exame.abril.com.br/brasil/unesco-discute-recursos-hidricos-no-forum-mundial-da-agua/>> Acessado em 15/07/18.
- [16] SUSTICH, SHANNON, PIANFETTI. Introduction: Water Purification in the Twenty-First Century — Challenges and Opportunities. *Nanotechnology applications for Clean Water*. W.A Ed. Pag. 31 – 40, 2009.
- [17] EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Anuário EMBRAPA Cerrados – n. 33 pág. 1 – 46, 2001.
- [18] RUHOFF, A. L., Dissertação de Mestrado – Gerenciamento de Recursos Hídricos em Bacias Hidrográficas: Modelagem ambiental com a simulação de cenários preservacionistas. UFSM – RS, 2004.
- [19] UNITED NATIONS, Water for industrial use. Economic and Social Council. Report E/3058STECA/50, United Nations, New York, 1958.
- [20] VIJAYARAGHAVAN, K.; BALASUBRAMANIAN, R.; Is biosorption suitable for decontamination of metal-bearing wastewaters? A critical review on the state-of-the-art of biosorption processes and future directions, *Journal of Environmental Management*, n° 160, pág. 283 – 296, 2015.
- [21] WANG, J.; CHEN, C.; Biosorbents for heavy metals removal and their future, *Biotechnology Advances*, n° 27, pág. 195 – 226, 2009.
- [22] CHOJNACKA, K.; Biosorption and bioaccumulation – The prospects for practical application, *Environment International*, n° 36, pág. 299 – 307, 2010.
- [23] CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL (Ministério de Ciência e Tecnologia), CETEM/MCT. Tratamento de minérios, 5ª Ed., 965 p., 2010.

- [24] RODRIGUES, R. F.; TREVENZOLI, R. L.; SANTOS, L. R. G.; LEÃO, V. A.; BOTARO, V. R., Adsorção de Metais Pesados em Serragem de Madeira Tratada com Ácido Cítrico. Engenharia Sanitária e Ambiental, n° 11(01), pág. 21-26, 2006.
- [25] BONIOLO, M. R.; Biossorção de Urânio nas Cascas de Banana. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, USP, São Paulo, 2008.
- [26] RAMTEKE, L. P.; GOGATE, Treatment of water containing heavy metals using a novel approach of immobilized modified sludge biomass based adsorbents, Separation and Purification Technology, n° 163, pág. 215–227, 2016.
- [27] VEGA, M.; Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas Putida*, Anal. Bioanal. Chem., n° 376, pág. 26 – 32, 2003.
- [28] ANDRES, Y.; MACCORDICK, H.J.; HUBERT, J.C.; Adsorption of several actinide (Th, U) and lanthanide (La, Eu, Yb) ions by *Mycobacterium smegmatis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. n° 39, pág.413 – 417, 1993.
- [29] VELÁSQUEZ, L.; DUSSAN, J.; Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*, Journal of Hazardous Materials, n°167, pág. 713 – 716, 2009.
- [30] ACHEAMPONG, M. A., KANNAN, P., ANNACHHATRE, A. P., LENS, P. N. L., Removal of Cu(II) by biosorption onto coconut shell in fixed-bed column systems, Journal of Industrial and Engineering Chemistry n° 19, pág. 841 – 848, 2013.
- [31] NG, K. S.; HEAD, I.; PREMIER, G. C.; SCOTT, K.; YU, K.; LLOYD, J.; SADHUKHAN, J.; A multilevel sustainability analysis of zinc recovery from wastes, Resources, Conservation and Recycling , n° 113, pág. 88–105, 2016.
- [32] MUTHUSAMY, S.; VENKATACHALAM, S.; JEEVAMANI, P. M. K.; RAJARATHINAM, N., Biosorption of Cr (VI) and Zn(II) ions from aqueous solution onto the solid biodiesel waste residue: mechanistic, kinetic and thermodynamic studies. Environmental Scientific Pollution Resource, n° 21, pág. 593 - 608, 2014.
- [33] DAS, N.; VIMALA, R.; KARTHINA, P. Biosorption of heavy metals—An overview, India Journal of Biotechnology, n° 7, pág. 159 – 169, 2008.

- [34] Conselho Nacional de Meio Ambiente. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes. Resolução CONAMA Nº 430/2011, Diário Oficial da União, nº 89, 2011.
- [35] PEREIRA, R. S. – Poluição Hídrica: Causas e consequências. Revista Eletrônica, IPH – UFRGS, v. 1 n. 1 p 20 – 36, 2004.
- [36] ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT/CEE-220. Elaboração de Projetos para Disposição de Rejeitos e Estéreis em Mineração, p. 16, 2017.
- [37] DUARTE, A. P., Dissertação de mestrado, UFMG, Classificação das Barragens de contenção de rejeitos de mineração gerais em relação ao potencial risco, UFMG, 2008.
- [38] JORNAL O GLOBO – Acidente em Mariana, o maior da história com barragens de rejeitos. Disponível em <<https://oglobo.globo.com/brasil/acidente-em-mariana-o-maior-da-historia-com-barragens-de-rejeitos-18067899>> Acessado em 17/07/2018.
- [39] Sistema Nacional de Informações sobre Segurança de Barragens (SNISB) / Agência Nacional de Águas (ANA). Disponível em <http://painel2.ana.gov.br/viewer/publicdashboard?dashboardguid=3d338526-4286-43de-a947-80c1c235a80e&v=636033399356969532&style=Default> Acessado em 17/07/2018.
- [40] Instituto Brasileiro de Mineração (IBRAM) e Agência Nacional de Águas (ANA) – A gestão dos recursos hídricos e a mineração. Brasília, 334 pág., 2006.
- [41] DE BRITO, C. B., Análise de Rejeito de Mineração de Zinco: Ensaios de Adensamento e Compressão Simples, Monografia – Departamento de Geologia, UFPR, 2015.
- [42] HABASHI, F., Textbook of pyrometallurgy, Canada: Métallurgie Extractive Québec, 2002.
- [43] SOUZA, A.C., LIMA, L.R.P. A., LIXIVIAÇÃO ÁCIDA DE ESCÓRIA DE COBRE - XXVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa Poços de Caldas-MG, 2015.
- [44] Estudo de Viabilização da Mina de Cobre do Salobo - Do Estratégico ao Tático, Companhia Vale, 2012
- [45] MDIC – Ministério da Indústria e Comércio Exterior. Disponível em <<http://www.mdic.gov.br/index.php/balanca-comercial> > Acessado em 09/09/2018.

- [46] Revista FAPESP – Bactérias mineradoras. Disponível em <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2012/10/11/bacterias-mineradoras/>> Acessado em 09/09/2018.
- [47] International Copper Study Group – ICSG – Copper: Report 2018, p. 2, 2018. Disponível em <<https://www.icsg.org/index.php/component/jdownloads/finish/114/2947?Itemid=>>> Acessado em 09/07/2019.
- [48] PRADO, A. L. C., DA FONSECA, D. C. B. R. P.; Uma Revisão sobre a Doença de Wilson – Relato de caso. Saúde, Vol. 30 (1-2): 69-75, 2004.
- [49] BREWER, G. J.; Copper-2 Ingestion, Plus Increased Meat Eating Leading to Increased Copper Absorption, Are Major Factors Behind the Current Epidemic of Alzheimer's Disease, Nutrients, n° 7(12), pág. 10053-10064, 2015.
- [50] SHEN, X.L.; YU, J.H.; ZHANG, D.F.; XIE, J.X.; JIANG, H.; Positive relationship between mortality from Alzheimer's disease and soil metal concentration in mainland China. Journal of Alzheimers Diseases, n° 42, pág. 893–900, 2014.
- [51] Departamento Nacional de Produção Mineral – DNPM. Balanço Mineral Brasileiro – Cobre – 2001. Disponível em <<http://www.dnpm.gov.br/dnpm/paginas/balanco-mineral/arquivos/balanco-mineral-brasileiro-2001-cobre>> Acessado em 09/09/2018.
- [52] MASSON, I. O. C., SOARES, P. S. M.; Recuperação do cobre do minério oxidado de Caraíba por extração por solvents em escala semi-piloto. CETEM/DNPM/CPRM, 1981.
- [53] Relatório Técnico Cobre – Ministério de Minas e Energia, 80 p., 2010. Disponível em <http://www.mme.gov.br/documents/1138775/1256652/P37_RT63_Perfil_do_Cobre.pdf/68976b6f-13e9-4f1a-adde-c435aacbb009> Acessado em 10/07/2019.
- [54] Brazilian Copper Yearbook 2018 – ABCobre (Associação Brasileira de Cobre). 88 p., 2018. Disponível em <<http://www.abcobre.org.br/>> Acessado em 10/07/2019.
- [55] USGS- U.S. Geological Survey. Mineral Commodity Summaries 2019 - 204 p. Site institucional. Disponível em <https://prd-wret.s3-us-west-2.amazonaws.com/assets/palladium/production/atoms/files/mcs2019_all.pdf> Acessado em 10/07/2019.
- [56] International Copper Study Group – ICSG – The World Factbook 2017, p. 64, 2017. Disponível em

<<http://www.icsg.org/index.php/component/jdownloads/finish/170/2462>>

Acessado em 15/07/18.

- [57] BBC Mundo - Como o preço do cobre disparou - e o que a China e os carros elétricos têm a ver com isso. Disponível em <<https://www.bbc.com/portuguese/geral-42560695>> Acessado em 01/08/2018.
- [58] Departamento Nacional de Produção Mineral – DNPM. Sumário Mineral – Zinco, p. 15, 2001.
- [59] Food and Drug Administration – FDA. Warning letter. Disponível em <<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm166059.htm>> Acessado em 15/08/18.
- [60] COOPER, R. G.; Zinc toxicology following particulate inhalation. Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine, n° 12(1), pág. 10–13. 2008. <http://doi.org/10.4103/0019-5278.40809>.
- [61] Notas de aula – Metalurgia extrativa dos não ferrosos – PMT2509 – Escola Politécnica/USP - Professor Flávio Beneduce.
- [62] DE BRITO, C. B., Análise de Rejeito de Mineração de Zinco: Ensaios de Adensamento e Compressão Simples, Monografia – Departamento de Geologia, UFPR, 2015.
- [63] FERREIRA, L. C. A.; SALES, L. L.; MALAQUIAS, C. P.; REZENDE, P. H. S.; OLIVEIRA, B. L.; TEIXEIRA, G. F., Eletrólise do Zinco: Eficiência do Processo, Multiverso vol.1 n°1, pág. 37-45, 2016.
- [64] Natural Resources Canada – NRCAN. Disponível em <<https://www.nrcan.gc.ca/mining-materials/facts/zinc/20534>> Acessado em 15/02/2019.
- [65] Nexa – Mining Report 2018 <<https://ri.nexaresources.com/listgroup.aspx?idCanal=Ny3+tGR+zKsY3DSJghT06w==>> Acessado em 09/07/2019.
- [66] GARCÍA, J. D. G.; THOMAZ, R. S.; SÁNCHEZ, R. M. Bio-recovery of non-essential heavy metals by intra- and extracellular mechanisms in free-living microorganisms, Biotechnology Advances, n° 34, pág. 859 – 873, 2016.
- [67] Instituto de Metais não ferrosos – ICZ. Disponível em <www.icz.org.br> Acessado em 20/08/2018.
- [68] International Lead and Zinc Study Group – ILZSG. Disponível em <<http://www.ilzsg.org/static/enduses.aspx?from=3>> Acessado em 16/01/2018.
- [69] FARIAS, Y. M. M.; Biossorção de metais pesados pelo fungo *Penicillium corylophilum* - Dissertação de mestrado, UFRJ, 96 pág., 2014.

- [70] BELHATECHE, D. H.; Choose Appropriate Wastewater Treatment Technologies. Chemical Engineering Progress, p.32, 1995.
- [71] GADD, G. M.; Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation, Geoderma, n°122, pág. 109-119, 2004.
- [72] AVANZI, I. R.; Estudo da atividade microbiana na biorremediação de metais tóxicos na Região Amazônica – Tese de Doutorado, USP, 176 p., 2016.
- [73] CHARRIER, T.; DURAND, M.J.; AFFI, M.; JOUANNEAU, S.; GEZEKEL, H.; THOUAND, G. – Bacterial bioluminescent biosensor characterisation for on-line monitoring of heavy metal pollutions in waste water treatment plant effluents. In: Serra, P.A. Biosensors, pág.179–206, 2010.
- [74] ABDELALEY, L.M.; KHALIL, W.K.B.; ALI, T.A.; MAHROUS, K.F. – Heavy metal resistance and gene expression analysis of metal resistance genes in Gram-positive and Gram-negative bacteria present in Egyptian soils. Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation, n°6, pág. 201–211, 2011.
- [75] SOUZA, A. F. C.; Caracterização molecular e avaliação de Resistência a chumbo e cádmio em bactérias isoladas de rizosferas de plantas coletadas em Santo Amaro (BA), Dissertação de mestrado, 2013.
- [76] RAJKUMAR, M.; SANDHYA, S.; PRASAD, M.N.V.; FREITAS, H. – Perspectives of plants associated microbes in heavy metal phytoremediation. Biotechnology Advances, n° 30, pág.1562–1574, 2012.
- [77] HANSDA, A.; KUMAR, V.; ANSHUMALI, Biosorption of Copper by Bacterial Adsorbents: A review, Research Journal of Environmental Toxicology n° 9, pág., 45 – 58, 2015.
- [78] MURALEEDHARAN, T. R.; IYENGAR, L.; VENKOBACHAR, C., Biosorption: An attractive alternative for metal removal and recovery, Current Science, n° 61, pág. 379 – 385, 1991.
- [79] GOODMAN, G. T.; ROBERTS, T. M., Plants and soil as indicators of metals in the air, Nature, n° 231, pág. 287 – 292, 1971.
- [80] BRAGA, M. S. – Sistemas optoeletrônicos portáteis para detecção de gases, oxigênio dissolvido e de metais pesados aplicados no controle ambiental. Tese de Doutorado, USP, 2016.
- [81] SCHIPPERS, A.; SAND, W., Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. Applied Environmental Microbiology, n°65, pág. 319–321, 1999.
- [82] GAAD, G. M., Microbial control of heavy metal pollution. Microbial Control of Pollution, 58th Symposium of the Society for General Microbiology, 1992.

- [83] VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R.; Biosorption of Heavy Metals Biotechnology Progress n° 11, pág. 235 – 250, 1995.
- [84] VEGLIO, F.; BEOLCHINI, F.; Removal of metals by biosorption: a review, Hydrometallurgy, n° 44, pág. 301-316, 1997.
- [85] GUPTA, V. K.; NAYAK, A.; AGARWAL, S. Bioadsorbents for remediation of heavy metals: Current status and their future prospects. Environmental Engineering Research n° 20, pág. 1 – 18, 2015.
- [86] KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B., Advances in the biosorption of heavy metals, Trends in Biotechnology n° 16, pág. 291 – 300, 1998.
- [87] DEMIRBAS, A. Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review, Journal of Hazardous Materials, n° 157, pág. 220 – 229, 2008.
- [88] MEDZHITOV, R.; JANEWAY Jr., C; Innate immunity. New England Journal of Medicine, n° 343, pág. 338–344, 2000.
- [89] KUMAR, G. P.; PRASHANTH, N.; KUMARI, B. C.; Fundamentals and applications of lyophilization. Journal of Advanced Pharmaceutical Research, n° 2 (4), pág. 157 – 169, 2011.
- [90] KESKINTEPE, L.; PACHOLCZYK, G.; MACHNICKA, A.; NORRIS, K.; CURUK, M. A.; KHAN, I.; BRACKETTE, B. G.; Bovine blastocyst development from oocytes injected with freeze-dried spermatozoa. Biology of Reproduction, n° 67, pág. 409 – 415, 2002.
- [91] SALVADORI, M. R.; LEPRE, L. F.; ANDO, R. A.; DO NASCIMENTO, C. A. O.; CORRÊA, B. Biosynthesis and Uptake of Copper Nanoparticles by Dead Biomass of *Hypocrea lixii* Isolated from the Metal Mine in the Brazilian Amazon region. PLoS ONE, n° 8 (11), 2013.
- [92] SHAW, D. Introdução À Química dos Colóides e de Superfícies. São Paulo, SP, Ed. Edgard Blucher, cap 5, A Interface Sólido-Gás. p.75-89, 1975.
- [93] GOMIDE, R.; Operações com Fluidos – Operações Unitárias, Vol. 2 - 449 p. 1997.
- [94] DABROWSKI, A.; Adsorption – from theory to practice, Advances in colloid and interface science, n° 93, pág. 135 – 224, 2001.
- [95] RIVERA-UTRILLA, J.; SÁNCHEZ-POLO, M.; GÓMEZ-SERRANO, V.; ÁLVAREZ, P. M.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; DIAS, J. M.; Activated carbon modifications to enhance its water treatment applications. An overview. Journal of Hazardous Materials, n° 187 (1-3), pág 1 – 23. 2011. DOI:10.1016/j.jhazmat.2011.01.033.

- [96] GARCÍA-MATEOS, F. J.; RUIZ-ROSAS, R.; MARQUÉS, M. D.; COTORUELO, L. M.; RODRÍGUEZ-MIRASOL, J.; CORDERO T.; Removal of paracetamol on biomass-derived activated carbon: modeling the fixed bed breakthrough curves using batch adsorption experiments. *Chemical Engineering Journal*, n° 279, pág. 18 – 30, 2015. DOI: 10.1016/j.cej.2015.04.144.
- [97] GIL, R. R.; RUIZ, B.; LOZANO, M. S.; MARTÍN, M. J.; FUENTE, E.; VOCs removal by adsorption onto activated carbons from biocollagenic wastes of vegetable tanning. *Chemical Engineering Journal*, n° 245, pág. 80 – 88, 2014. DOI: 10.1016/j.cej.2014.02.012.
- [98] KUMAR, P. S.; PROT, T.; KORVING, L.; KEESMAN, K. J.; DUGULAN, I.; VAN LOOSDRESCHT, M. C. M.; WITKAMP, G. J.; Effect of pore size distribution on iron oxide coated granular activated carbons for phosphate adsorption – Importance of mesopores. *Chemical Engineering Journal*, n° 326, pág. 231 – 239, 2017. DOI:10.1016/j.cej.2017.05.147.
- [99] ARAUJO, D. M.; YOSHIDA, M. I.; STAPELFELDT, F.; CARVALHO, C. F.; DONNICI, C. L.; KASTNER, G. F.; Estudos comparativos entre carvão ativado e resina de troca iônica para adsorção de ouro, cobre e ferro. *Revista Escola de Minas*, n° 62 (4), 2009. DOI: 10.1590/S0370-44672009000400008.
- [100] SCHMAL, M.; *Catalise Heterogênea*. Ed. Synergia, 376p., 2011.
- [101] RUTHVEN, D. M. *Principles of adsorption and processes*. Alche Journal, 453p., 1984.
- [102] IUPAC, *Recommendations for the characterization of porous solids – Pure & Appl. Chem.*, vol. 66, n° 8, 1739-1758, 1994.
- [103] SCHEER, A. *Desenvolvimento de um sistema para simulação e otimização do processo de adsorção para avaliação da separação de misturas líquidas*. Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas, 204 p., 2002.
- [104] GADD, G. M.; Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, n° 84, pág. 13 – 28, 2009.
- [105] FERREIRA, R. V.; SAKATA, S. K.; ISIKI, V.L.K.; MIYAMOTO, H.; BELLINI, M. H.; LIMA, L. F. C.; MARUMO, J. T.; Influence of americium-241 on the microbial population and biodegradation of organic waste. *Environmental Chemistry Letters*, 2007.

- [106] NASCIMENTO, R. F.; LIMA, A. C. A.; VIDAL, C. B.; MELO, D. Q.; RAULINO, G. S. C., Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais, 256 p., Ed. Imprensa Universitária, 2014.
- [107] YUH-SHAN H.; Isotherms for the Sorption of Lead onto Peat: Comparison of Linear and Non-Linear Method. Polish Journal of Environmental Studies, Vol. 15, N°1, p. 81-86, 2006.
- [108] KINNIBURGH, D. G.; General Purpose Adsorption Isotherms. Environmental Science & Technology, n° 20, pág. 895 – 904, 1986.
- [109] YONG-SOON, C.; HYEONG-SEOK, L.; Comparison of varios estimation methods for the parameters of Michaelis–Menten equation based on *in vitro* elimination kinetic simulation data. Translation & Clinical Pharmacology, n° 26 (1), pág. 39 – 47, 2018. DOI: 10.12793/tcp.2018.26.1.39.
- [110] DOWD, J. E.; RIGGS, D. S.; A comparison of estimates of Michaelis–Menten kinetic constant from various linear transformations. Journal of Biological Chemistry, n° 240, pág. 863 – 869, 1965.
- [111] PARMEGGIANI, A. C.; MASINI, J. C.; Evaluating Scatchard and Differential Equilibrium Functions to study the binding properties of Cu(II) to the surface of mixed species of lyophilized *Spirulina* (Cyanobacteria). Journal of the Brazilian Chemical Society, n° 14 (3). Pág. 416 – 424, 2003. DOI:10.1590/S0103-50532003000300013.
- [112] WEBER, T. W.; CHAKRAVORTI, R. K.; Pore and solid diffusion models for fixed-bed adsorbents. AIChE Journal, n° 20 (2), pág. 228 – 238, 1974.
- [113] SCHUMANN, P.; MAIER, T. – MALDI-TOF Mass Spectrometry Applied to Classification and Identification of Bacteria. Method in Microbiology, Vol. 41, pág. 275 – 306, 2014.
- [114] MALDI-TOF/TOF Mass Spectrometry – An Introduction, Versão 101115, Bruker Daltonics.
- [115] U.S. Environmental Protection Agency and U.S. Geological Survey. USEPA/USGS Sampling, Laboratory and Data Consideration for Microbial Data Collected in the Field - Surface Soil; U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC, 2018. EPA/600/R-18/164.
- [116] PUIGDOMENECH, I.; Hydrochemical Equilibrium-Constant Database version 2009.
- [117] BERTANI, G.; Studies on lysogenesis - The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. Journal of Bacteriology, n° 62, pág. 293 – 300, 1951.

- [118] AVANZI, I. R.; GRACIOSO, L. H.; BALTAZAR, M. P. G.; KAROLSKI, B.; PERPETUO, E. A.; DO NASCIMENTO, C. A. O.; Rapid bacteria identification from environmental mining samples using MALDI-TOF MS analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 10 p., 2016.
- [119] SPENCER, J. F.; SPENCER, D. M.; Maintenance and cultura of yeasts. *Methods in Molecular Biology*, n° 53, pág. 5 – 15, 1996. DOI:10.1385/0-89603-319-8:5.
- [120] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI - formerly NCCLS) – Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test For Bacteria That Grow Aerobically, M07- 10th Edition., Villanova, PA, 2015.
- [121] CHUBAR, N.; BEHRENDT, T.; VAN CAPPELEN, P.; Biosorption of metals (Cu^{2+} , Zn^{2+}) and anions (F^- , H_2PO_4^-) by viable and autoclaved cells of the Gram-negative bacterium *Shewanella putrefaciens*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, n° 65, pág. 126 – 133, 2008. DOI:10.1016/j.colsurfb.2008.03.006.
- [122] BANGASH, F. K.; ALAM, S.; Adsorption of Acid Blue 1 on activated carbon produced from the wood of *Ailanthus altissima*, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, n° 26 (2), pág. 275 – 285, 2009.
- [123] AVANZI, I. R.; GRACIOSO, L. H.; PERPETUO, E. A.; Isolamento e identificação de bactéria degradadora de fenol da zona industrial de Cubatão (SP), através da técnica de amplificação do 16S. *Revista Ceciliana*, n°1 (2), pág. 66 – 70, 2009.
- [124] STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J.; Principles of Fermentation Technology Book, 2nd Edition, 1995.
- [125] VICKERMAN, J. C.; GILMORE, I. S.; Surface Analysis: The Principal Techniques 2nd Edition, 686 p., Ed. Wiley, 2009.
- [126] YU, J.; ZHANG, D.; REN, W.; LIU, B.; Transport of *Enterococcus faecalis* in granular activated carbon column: Potential energy, migration, and release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, n° 183, pág. 1104 - 1110, 2019. DOI:10.1016/j.colsurfb.2019.110415.
- [127] CUI, J.; ZHU, N.; KANG, N.; HA, C.; SHI, C.; WU, P.; Biorecovery mechanism of palladium as nanoparticles by *Enterococcus faecalis*: From biosorption to bioreduction. *Chemical Engineering Journal*, n° 328, pág. 1051 – 1057, 2017. DOI: 10.1016/j.cej.2017.07.124.
- [128] KARIMPOUR, M.; ASHRAFI, S. D.; TAGHAVI, K.; MOJTAHEDI, A.; ROOHBAKHSH, E.; NAGHIPOUR, D.; Adsorption of cadmium and lead onto

- live and dead cell mass of *Pseudomonas aeruginosa*: A dataset. Data in Brief, n° 18, pág. 1185 – 1192, 2018. DOI:10.1016/j.dib.2018.04.014.
- [129] COLTHUP, N.; DAL, L. H.; WIBERLEY, S. E.; Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy – 3rd Edition, p. 536, 1990.
- [130] CALFA, B. A.; TOREM, M. L.; Biorreagentes – aplicação na remoção de metais pesados contidos em efluente líquidos por biosorção/bioflotação. Revista da Escola de Minas, n° 60(3), pág. 537–542, 2007.
- [131] ZHANG, X.; WANG, X.; Adsorption and Desorption of Nickel(II) Ions from Aqueous Solution by a Lignocellulose/Montmorillonite Nanocomposite. PLoS ONE, n° 10(2), e0117077, 2015. DOI:10.1371/journal.pone.0117077.
- [132] SHAWABKEH, R.; AL-HARAHSEH, A., AL-OTOOM, A.; Copper and zinc sorption by treated oil shale ash. Separation and Purification Technology, n° 40, pág 251 – 257, 2004.
- [133] YAYLALI, B.; YAZICI, E. Y.; CELEP, O.; DEVECI, H.; Extraction of cobalt from a flotation tailings in different mineral acids under oxidative conditions. 15th International Mineral Processing Symposium, Istanbul-Turkey. Pág. 726 – 736, 2016.
- [134] VELI, S.; ALYÜZ, B.; Adsorption of copper and zinc from aqueous solutions by using natural clay. Journal of Hazardous Materials, n° 149 (1), pág. 226 – 233, 2007.
- [135] LU, W. B.; SHI, J. J.; WANG, C. H.; CHANG, J. S.; Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance. Journal of Hazardous Materials, n° 134 (3), pág. 80 – 86, 2006.
- [136] RAMOS, R. L.; (2002). Adsorption of zinc (II) from an aqueous solution onto activated carbon. Journal of Hazardous Materials, n° 90(1), pág. 27 – 38, 2002. DOI:10.1016/S0304-3894(01)00333-8.
- [137] SILVA, R. M. P.; RODRÍGUEZ, A. A.; DE OCA, J. M. G. M.; MORENO, D. C.; Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum. Bioresource Technology, n° 100, pág 1533 – 1538, 2009.
- [138] MONSER, L.; ADHOUM, N.; Modified activated carbon for the removal of copper, zinc, chromium and cyanide from wastewater. Separation and Purification Technology, n° 26 (2-3), pág. 137 – 146, 2002. DOI:10.1016/S1383-5866(01)00155-1.