

Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Engenharia e Arquitetura
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e
Ambiental

Andreia De Rossi

BIOSSORÇÃO DE METAIS TÓXICOS POR
Saccharomyces cerevisiae

Passo Fundo
2015

Andreia De Rossi

BIOSSORÇÃO DE METAIS TÓXICOS POR
Saccharomyces cerevisiae

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo, como requisito para obtenção do título de Mestre, sob a orientação da Prof.^a Dr. Luciane Maria Colla e co-orientação do Prof. Dr. Jeferson Steffanello Piccin.

Passo Fundo

2015

ANDREIA DE ROSSI

BIOSSORÇÃO DE METAIS TÓXICOS POR *Saccharomyces cerevisiae*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Luciane Maria Colla e coorientação do Prof. Dr. Jeferson Steffanello Piccin.

Data de aprovação: Passo Fundo, 23 de Fevereiro de 2015.

Os membros componentes da Banca Examinadora abaixo aprovaram a Dissertação.

Prof.^a Dr.^a Luciane Maria Colla

Orientadora

Prof. Dr. Jeferson Steffanello Piccin

Co-orientador

Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto

Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

Prof. Dr. Marcelo Hemkemeier

Universidade de Passo Fundo (UPF)

Prof. Dr. Vandr e Barbosa Bri o

Universidade de Passo Fundo (UPF)

Passo Fundo, 2015.

“Só é útil o conhecimento que nos torna melhores”

Sócrates

AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre ilumina e guia meu caminho.

À Prof^a. Dr^a. Luciane Maria Colla não apenas pela orientação, mas também pela paciência, amizade, carinho, compreensão, ensinamentos únicos dedicados desde a Graduação e principalmente por me fazer enxergar a vida de uma maneira diferente. Muito obrigada pela excelente orientação.

Ao Prof. Dr. Jeferson Steffanello Piccin a dedicação com que orientou o meu trabalho, a força e incentivos transmitidos. Sua ajuda foi essencial para a realização deste trabalho.

À Munise Zaparolli, pelos ensinamentos compartilhados, apoio e auxílio na elaboração deste trabalho e pelos dias de amizade que passamos juntas realizando os experimentos. Magali Rigon e Grazieli Rodigheri, obrigada pela ajuda e pelos risos.

A todos os companheiros da melhor turma de mestrado, os quais fazem parte da história da minha vida e principalmente fazem parte das boas recordações e de tempos bons de que terei saudades. Em especial as minhas companheiras: Danúbia, Denise, Deisi, Francieli, Raquel, Tainara e Taizi.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental pela colaboração e ensinamentos.

Ao Laboratório de Análises de Solo da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), por possibilitar a utilização do efluente para a realização deste trabalho, além das inúmeras análises de determinação de metais.

À todas (os) do Laboratório de Fermentações, vocês foram essenciais para tornar os dias de trabalho mais leves e divertidos. Nossas conversas me trouxeram muito conhecimento e também, muitas risadas. A responsável pelo laboratório da Engenharia Ambiental Marilda e Deisi, pela colaboração e ajuda.

Aos meus queridos João Carlos e Clarice do Laboratório de Aulas Práticas e Operações Unitárias da Engenharia de Alimentos, pela ajuda, amizade e auxílio prestado ao longo de todas as análises realizadas. Vocês são incríveis.

À minha amiga Mozara Benetti que torna minha vida mais feliz e agradável agradeço pelo apoio psicológico, por todas nossas conversas, por toda nossa união e por essa amizade única e sincera.

Ao meu noivo, a quem eu admiro muito, pela sua presença, ajuda e apoio constantes na minha vida, ao qual agradeço por me tornar mais feliz, Gilson, com todo meu amor.

Por fim, registro aqui minha gratidão maior para as pessoas que mais amo e admiro... Aos meus pais, pelo incentivo e exemplo de vida os quais me impulsionaram e auxiliaram para a realização desta conquista e também aos meus nonos, que toda segunda-feira me desejam uma ótima semana de estudos. Aos meus irmãos, pela amizade e apoio, vocês são o exemplo do meu caminho e também ao meu sobrinho, que me alegria. Ter vocês por perto é uma benção de Deus.

A Universidade de Passo Fundo, pela estrutura física e por propiciar ensino e pesquisa de qualidade.

A CAPES pelo auxílio financeiro.

RESUMO

A contaminação por metais tóxicos tem se tornado um grave problema ambiental. A biossorção com biomateriais é uma tecnologia de baixo custo, eficaz e de fácil aplicação. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um biossorbente promissor devido a sua natureza química e por ser produzida em grande escala, devido ser o microrganismo responsável pela fermentação alcoólica, processo utilizado nas indústrias de bebidas fermentadas e destiladas e na indústria alcoleira, sendo um resíduo ou subproduto destas indústrias. Apesar de inúmeros trabalhos relatarem o uso desta biomassa para biossorção de metais tóxicos, poucos estudaram os processos de encapsulação desta biomassa ou o uso de biossurfactantes como coadjuvantes do biossorção. Desta forma, objetivou-se utilizar a levedura *S.cerevisiae* como biossorbente de metais tóxicos. Primeiramente foram construídas isotermas para a biossorção de cromo (VI) utilizando levedura comercial, sendo esta submetida ou não aos tratamentos térmico ou químico com álcalis. Após foram realizados os ensaios de biossorção com o biossorbente obtido da indústria cervejeira encapsulado em alginato de sódio. E avaliada a influência da adição de biossurfactantes na biossorção. A caracterização do biossorbente antes e após os processos de imobilização foi realizada através da composição centesimal, da determinação do ponto de carga zero, além de caracterização química e morfológica. Posteriormente, foi realizado o estudo de pH para a adsorção dos metais cádmio, chumbo e cromo (VI) com construção das isotermas de adsorção. Para as condições que apresentaram os melhores resultados de adsorção para o cromo (VI), foi realizada a caracterização dos adsorventes antes e depois do processo através de MEV, FTIR e EDX. Em uma última etapa utilizou-se as melhores condições determinadas nos ensaios anteriores para a biossorção de cromo (VI) utilizando-se efluente real. No estudo inicial realizado com levedura comercial submetida a diferentes tratamentos para a biossorção de cromo (VI), observou-se que a levedura sem tratamento apresentou as maiores capacidades de adsorção, de 8,05 mg g⁻¹ em comparação com 7 mg g⁻¹ e 5 mg g⁻¹ para as leveduras tratadas com tratamento térmico e químico, respectivamente. O biossorbente apresentou capacidade de adsorção de 7,9 mg g⁻¹, em comparação com 14,9 mg g⁻¹, quando foi realizada a adição de biossurfactante obtido de biomassa comercial de *S. cerevisiae*, sendo este um aumento de 60 % na capacidade de biossorção em 24 h. No estudo de pH para o processo de biossorção com a levedura encapsulada em alginato e na presença de biossurfactante, os melhores pHs foram de 5,0 para os metais cádmio e chumbo e 2,0 para o cromo (VI). As capacidades de adsorção dos metais foram de: 178 mg g⁻¹ de chumbo, representado pelo modelo de isoterma de Langmuir; 38 mg g⁻¹ para o cádmio, representado pelo modelo de isoterma de BET. Nos estudos realizados com cromo (VI) a capacidade máxima atingida foi de 72 mg g⁻¹, a 25 °C. Em efluente real, a máxima capacidade de biossorção de cromo (VI) foi de 34,76 mg g⁻¹, sendo os dados de equilíbrio representados pelo modelo de isoterma de BET. Na análise morfológica e de composição química realizada confirmou-se a presença de cromo na superfície e no interior do biossorbente. A biossorção de íons metálicos pelo subproduto da indústria cervejeira, após encapsulação em alginato de sódio e utilizando-se biossurfactante obtido a partir do mesmo microrganismo como coadjuvante se mostrou eficiente, podendo ser aplicada em tratamento de efluentes.

Palavras-chave: cádmio, chumbo, cromo (VI), adsorção, manoproteínas, levedura *S.cerevisiae*.

ABSTRACT

Contamination by toxic metals has become one of the most serious environmental problems of today. The biosorption with biomaterials is a low-cost technology, effective and easy to apply. *Saccharomyces cerevisiae* is a promising biosorbent due to its chemical nature and being produced in large scale by the microorganism to be responsible for the alcoholic fermentation process used in industries for drinks and fermented and distilled alcoleira industry, waste or by-product being such industry. Although many papers have reported the use of biomass for biosorption of toxic metals, few have studied the encapsulation processes of biomass or the use of biosurfactants as supporting the biosorption. Thus, the aim was to use the yeast *S. cerevisiae* as biosorbent of toxic metals. First were built isotherms for chromium (VI) biosorption using commercial yeast, which is submitted or not to thermal or chemical treatments with alkalis. After the biosorption the tests with biosorbent obtained from beer industry encapsulated sodium alginate were performed. The biosorbent characterization before and after the immobilization process by chemical composition was performed, determining the point of zero charge, and chemical and morphological characterization. End the influence of the addition of biosurfactants in biosorption. Subsequently, the pH study for the adsorption of cadmium, lead and chromium (VI) ions to construct the adsorption isotherms was carried out. For the conditions that showed the best results for the adsorption of chromium (VI) was carried out to characterize the adsorbents before and after the process using SEM, FTIR and EDX. In a last step, it was used the best conditions determined in previous tests for the biosorption of chromium (VI) using real effluent. In the initial study of commercial yeast under different treatments for biosorption of chromium (VI), it was observed that the untreated yeast showed the highest adsorption capacity, 8.05 mg g^{-1} compared to 7 mg g^{-1} and 5 mg g^{-1} in the yeast treated with the chemical and thermal treatments, respectively. The biosorbent showed adsorption capacity of 7.9 mg g^{-1} , compared with 14.9 mg g^{-1} , where the addition of biosurfactant obtained from commercial biomass *S. cerevisiae* was performed, which is an increase of 60 % in biosorption capacity in 24 h. At pH study to biosorption process with alginate encapsulated yeast in the presence of biosurfactant, the best pHs were 5.0 to cadmium and lead and 2.0 to chromium (VI). The adsorption capacities of ions were 178 mg g^{-1} lead, represented by Langmuir isotherm model; 38 mg g^{-1} to cadmium, represented by BET isotherm model. In studies carried out with chromium (VI) the maximum capacity reached was 72 mg g^{-1} at $25 \text{ }^\circ\text{C}$. In real effluent, the maximum capacity of chromium biosorption (VI) was 34.76 mg g^{-1} , where in the equilibrium data were represented by BET isotherm model. In the morphological analysis and chemical composition performed confirmed the presence of chromium on the surface and inside of the biosorbent. The metallic ions biosorption by-product of beer industry after encapsulation in sodium alginate and using biosurfactant obtained from the same organism as an adjuvant is efficient and can be used in wastewater treatment.

Keywords: cadmium, lead, chromium (VI) adsorption, mannoproteins, yeast *S. cerevisiae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Classificação das isotermas de adsorção sugerida por Weber e Chakravorti (1974)	21
Figura 2 - Classificação das isotermas de adsorção segundo Giles et al.(1960). 22	
Figura 3 - Etapas desenvolvidas no projeto de bioadsorção de metais tóxicos	44
Figura 4 - Isotermas de bioadsorção de cromo (VI) por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> com tratamentos químico, térmico e sem tratamento	52
Figura 5 - Micrografias Eletrônicas de Varredura (MEV) (a; b) e Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDX) (c) do bioadsorvente e (d) pontual	57
Figura 6 - Micrografias Eletrônicas de Varredura (MEV) e Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDX) do biossurfactante	60
Figura 7 - Ponto de carga zero da levedura <i>S.cerevisiae</i> encapsulada.....	61
Figura 8 - Efeito do pH sobre a capacidade de bioadsorção de Cr (VI) da levedura encapsulada em alginato de sódio e com adição de biossurfactante	63
Figura 9 - Efeito do pH na capacidade de bioadsorção dos íons de Pb e Cd pelo bioadsorvente.....	65
Figura 10 - Isoterma de bioadsorção de cromo (VI) por <i>S.cerevisiae</i> encapsulada (bioadsorvente) e com a cápsula sem levedura (branco)	66
Figura 11 - Isotermas de bioadsorção de cádmio e chumbo por <i>S.cerevisiae</i> encapsulada.....	70
Figura 12 -Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície do bioadsorvente: a) antes da bioadsorção; b) depois da bioadsorção	73
Figura 13 - Espectroscopia de Dispersão por Raio-X depois da bioadsorção (a); presença de cromo na superfície (b); composição elementar na superfície (c)	74
Figura 14 - Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do bioadsorvente: a) superfície e corte do bioadsorvente após a bioadsorção; b) corte do bioadsorvente após a bioadsorção.....	76
Figura 15 -Espectroscopia de Dispersão por Raio-Xdo corte do bioadsorvente depois da bioadsorção (a); cromo na superfície (b);composição elementar pontual no corte (c).....	77
Figura 16 - Espectroscopia de infravermelho do branco e do bioadsorvente antes e após a bioadsorção... ..	79
Figura 17 - Isoterma de bioadsorção de cromo (VI) em efluente real	81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Principais fontes industriais de efluentes com metais tóxicos.....	25
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Padrões de emissões de efluentes para alguns metais em corpos de águas segundo CONAMA e CONSEMA.....	27
Tabela 2 -Valores dos parâmetros dos modelos de isoterma de biossorção de cromo (VI) pela <i>S.cerevisiae</i> com tratamento químico, térmico e sem tratamento.....	54
Tabela 3 -Composição centesimal do subproduto utilizado como biossorvente e do biossurfactante	56
Tabela 4 -Valores dos parâmetros dos modelos de isoterma de adsorção de cromo (VI) pelo biossorvente e o branco	67
Tabela 5 -Valores dos parâmetros dos modelos de isoterma de adsorção de cádmio e chumbo pela <i>S.cerevisiae</i> encapsulada	71
Tabela 6 -Valores dos parâmetros dos modelos de isoterma de biossorção de cromo (VI) em efluente pela <i>S.cerevisiae</i> encapsulada.....	82

Lista de Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas

Cr (VI)	cromo hexavalente
Cd	cádmio
Pb	chumbo

Dimensões de Unidades

M	Dimensional de massa
K	Dimensional de temperatura
L	Dimensional de comprimento
T	Dimensional de tempo

Símbolos Latins

C_e	Concentração média na fase líquida no equilíbrio (mg L^{-1})
C_o	Concentração inicial média na fase líquida (mg L^{-1})
C_f	Concentração final na fase líquida (mg L^{-1})
k_1	Coefficiente do modelo de BET (L mg^{-1})
k_2	Coefficiente do modelo de BET (L mg^{-1})
k_F	Constante de Freundlich (mg g^{-1}) (L mg^{-1}) ⁿ
k_L	Constante de Langmuir (L mg^{-1})
m	Massa do biossorvente (g)
n	Fator de heterogeneidade (Adm)
q_{BET}	Capacidade de adsorção na monocamada (mg g^{-1})
q_e	Capacidade de biossorção no equilíbrio (mg g^{-1})
q_m	Máxima capacidade de biossorção na monocamada (mg g^{-1})
t	Tempo (h; min; s)
V	Volume de solução (mL; L)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. Biossorção.....	17
2.1.1. Cinética de biossorção.....	19
2.1.2. Isotermas de biossorção	20
2.1.3. Modelos de isotermas.....	23
2.2. Metais Tóxicos.....	25
2.2.1. Cádmio	27
2.2.2. Chumbo	29
2.2.3. Cromo Hexavalente.....	30
2.3. Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31
2.3.1. Vantagens da biossorção pela <i>S. cerevisiae</i>	33
2.3.2. Mecanismos de biossorção pela <i>S. cerevisiae</i>	34
2.3.3. Condições ambientais.....	36
2.3.4. Pré-Tratamentos físico-químicos na levedura <i>S.cerevisiae</i> para biossorção	38
2.3.5. Biossurfactantes de <i>S.cerevisiae</i> na biorremediação.....	38
2.3.6. Encapsulação da <i>Saccharomyces cerevisiae</i> com alginato de sódio.....	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1. Etapa I: Estudos preliminares de biossorção de cromo (VI) por levedura comercial....	45
3.2. Etapa II: Biossorção com subproduto de cervejaria em efluente sintético	45
3.2.1. Coleta e tratamento do biossorvente	45
3.2.2. Encapsulação do biossorvente em alginato de cálcio.....	46
3.2.3. Obtenção do biossurfactante	46
3.2.4. Caracterização do biossorvente e do biossurfactante.....	47
3.2.5. Ensaio de biossorção.....	48
3.3. Etapa III: Biossorção de cromo (VI) em efluente real.....	50
3.4. Determinações analíticas	50
3.5. Tratamento dos resultados	50
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	52
4.1. Etapa I: Biossorção de cromo (VI) por levedura comercial	52
4.2. Etapa II: Biossorção com subproduto de cervejaria em efluente sintético	55

4.2.1. Composição centesimal dos biossorventes	55
4.2.2. Análises química e morfológica do biossorvente.....	57
4.2.3. Estudo do ponto de carga zero	61
4.2.4. Influência do pH e do biossurfactante sobre a adsorção	62
4.2.5. Isotermas de Biossorção	66
4.2.6. Caracterização do biossorvente depois da adsorção.....	73
4.3. Etapa III: Estudos de adsorção com efluente real.....	80
5. CONCLUSÃO	83

1. INTRODUÇÃO

Diversas indústrias enfrentam desafios relacionados com os problemas ambientais gerados pelos seus efluentes. O lançamento de efluentes contendo metais tóxicos vem afetando grande parte da população, visto que a maioria dos tratamentos realizados para a remoção destes metais não são eficientes para atingir os níveis exigidos e necessários para a conservação do meio ambiente.

Os metais tóxicos são liberados no ambiente pela disposição incorreta dos resíduos produzidos pelas indústrias. No Brasil são gerados 2,9 milhões de toneladas de resíduos perigosos industriais por ano, sendo que somente 22% recebem tratamento adequado, conforme estimativa da Associação Brasileira de Empresas de Tratamento, Recuperação e Disposição de Resíduos Especiais (ABETRE, 2012). O restante é depositado indevidamente sem qualquer tipo de tratamento. Exemplos disso são a disposição de resíduos sólidos e industriais no solo, vazamentos e derramamentos, atividades industriais (galvanoplastia e mineração), aplicação de fertilizantes e agroquímicos, disposição no solo de rejeitos agroindustriais e lodos de estação de tratamento de efluentes (WANG;CHEN,2006).

Estes metais têm a capacidade de acumular-se no solo e na água, podendo ser absorvidos pelo ser humano, seja por constituírem contaminantes em alimentos industrializados ou através da cadeia trófica. Por terem a característica de não serem sintetizados e nem destruídos pelo homem, os metais tóxicos bioacumulam, causando a inativação de enzimas devido a formação de ligações entre o metal e grupos funcionais das proteínas, causando danos irreversíveis em diversos organismos (VULLO, 2003). No corpo humano, os efeitos dos metais tóxicos são desde doenças de pele, como dermatite alérgica e, mais raramente, provocar ulcerações na pele formando cicatrizes, perfurações do septo nasal, distúrbios afetivos, irritação neuromuscular, cefaléia, náuseas e desmaios. Há também suspeitas de que possam afetar o sistema imunológico de seres humanos (SALGADO, 2003). Alguns desses metais são capazes de provocar efeitos tóxicos agudos e câncer (BATISTA; FREIRE, 2010).

Para Santos (2010), dentre os metais tóxicos, o chumbo, o níquel, o mercúrio, o cádmio e o cromo são os de maior preocupação devido à acumulação em solos e contaminação de águas subterrâneas, alterando a capacidade de auto-depuração, resultando no acúmulo destes contaminantes a níveis problemáticos ou até prejudiciais

(BORBA, 2010), provocando degradação ambiental em velocidade superior à de regeneração natural (HUAMÁN PINO, 2005).

Os efluentes contendo metais tóxicos são destinados a estações de tratamento de efluentes, que devem garantir que os padrões de lançamento segundo a legislação sejam atingidos antes de serem lançados ao corpo receptor. Porém, apesar das exigências legais, alguns tratamentos de efluentes não conseguem reduzir os níveis de metais tóxicos aos padrões exigidos. Desta forma, é imprescindível o desenvolvimento de tratamentos alternativos para a remoção dos metais tóxicos dos efluentes, que possam ser aplicados em escala industrial, minimizando o impacto destes efluentes sobre o meio ambiente.

Entre os tratamentos físico-químicos, tais como precipitação/neutralização, adsorção em carvão ativado, resinas de troca de íons, osmose inversa, extração de solvente e tecnologias eletroquímicas, têm sido utilizados para o tratamento de efluentes contendo metais tóxicos. No entanto, estes processos pode não serem amigos do ambiente, totalmente eficiente (precipitação/neutralização e tecnologias eletroquímicas) ou apresentam custos muito elevados (tecnologias de membranas e resinas de troca iônica) quando aplicada a grandes volumes de águas residuais contendo baixas concentrações de metal ($1-100 \text{ mg L}^{-1}$) (SOARES; SOARES, 2011). A adsorção apresenta-se como um dos métodos promissores para o tratamento de efluentes contaminados com metais tóxicos. Aliada ao uso de adsorventes não convencionais, especialmente aqueles oriundos de resíduos industriais, pode reduzir custos operacionais, viabilizando a aplicação da técnica para o tratamento de efluentes contaminados.

Biossorção é o termo utilizado para indicar um grande número de mecanismos independentes (adsorção química e ou física, interações eletrostáticas, troca iônica, complexação, quelação e microprecipitação) onde um determinado poluente interage com um adsorvente de origem biológica. Geralmente, os processos de biossorção possuem vantagens em relação aos processos convencionais, tais como, o baixo custo, grande disponibilidade, possibilidade de regeneração do bioadsorvente, seletividade e não geração de resíduos secundários (DOTTO et al., 2013).

A aplicação dessa tecnologia de tratamento depende do conhecimento da capacidade de adsorção dos biossorventes, sendo necessário o conhecimento das curvas de equilíbrio, denominadas isotermas. As isotermas são obtidas através de experimentos

em temperatura e agitação constantes em que se permite que um efluente contendo o metal estudado entre em equilíbrio químico com uma biomassa, acarretando na redução da concentração do metal livre no meio. O ajuste das curvas de equilíbrio a modelos físico-matemáticos de isotermas permitem suposições a respeito da ligação e disposição do adsorvato junto à biomassa. Além disso, os parâmetros desses modelos são fundamentais para a aplicação em escala industrial. O comportamento gráfico das isotermas pode apresentar-se de várias formas, auxiliando na identificação dos mecanismos de adsorção envolvidos no processo, através de parâmetros de ajustes obtidos de modelos matemáticos (VOLESKY, 2001; FERREIRA et al., 2007).

O estudo da biossorção de metais tóxicos com a biomassa *Saccharomyces cerevisiae* é justificado devido ao intenso uso em fermentações, em larga escala, nas indústrias alimentícias e na produção de álcool e, conseqüentemente, na alta quantidade de resíduos decorrentes dessas atividades (ALBERTINI et al., 2001). Como subproduto de fermentações industriais, a *Saccharomyces cerevisiae* pode ser obtida em grandes quantidades e a baixo custo, suprimindo uma fonte viável para aplicação em larga escala nos processos de remediação (BRADY; DUNCAN, 1994; VOLESKY, 1994).

Os biossurfactantes são compostos intracelulares ou extracelulares produzidos por microrganismos e que tem sido aplicados em inúmeros setores industriais, com mais relatos na biorremediação de resíduos de petróleo, nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Sabe-se da influência dos biossurfactantes na disponibilização de metais em solos, mas pouco é conhecido ainda sobre a ação dos biossurfactantes sobre processos de adsorção em meio líquido utilizando biossorventes.

Dentre os biossurfactantes conhecidos, as manoproteínas apresentam importância, visto serem obtidas a partir da extração da parede celular de biomassa de *S. cerevisiae*, que foi a biomassa escolhida como biossorvente neste trabalho.

A literatura aponta inúmeros trabalhos utilizando este microrganismo em processos de biossorção. Entretanto, um número menos expressivo utiliza esta biomassa encapsulada, e pouco se conhece acerca da influência de biossurfactantes como coadjuvantes de processos de adsorção de metais.

A temática de biossorção de metais tóxicos por microrganismos tem sido estudada na Universidade de Passo Fundo através do Curso de Engenharia Ambiental e do Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental desde 2010. Em 2012, um projeto nesta temática foi aprovado no Edital Pesquisador Gaúcho da Fapergs,

buscando estudar a bioissorção de metais tóxicos por microrganismos. Estudos de bioissorção de metais tóxicos foram realizados com microalgas, fungos e com a levedura utilizada no atual estudo.

Considerando-se que nos trabalhos mencionados essa levedura apresentou bons resultados de bioissorção, o objetivo geral foi utilizar a levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercial e o subproduto da indústria cervejeira como bioissorventes de metais tóxicos no pós-tratamento de efluentes contaminados, buscando reduzir o potencial poluidor destes efluentes.

Os objetivos específicos foram:

- a) Estudar a bioissorção de cromo (VI) pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercial com diferentes tratamentos - térmico e químico;
- b) Estudar a encapsulação da biomassa obtida de indústria de cerveja em alginato de sódio;
- c) Caracterizar o bioissorvente através de análises químicas e morfológicas (MEV, EDX, FTIR);
- d) Estudar a capacidade de bioissorção do bioissorvente em efluente sintético;
- e) Avaliar o efeito da adição de bioissorfactante de parede celular de levedura (manoproteínas) como coadjuvantes dos processos de bioissorção;
- f) Construir as isotermas de bioissorção de metais tóxicos (cádmio, cromo (VI) e chumbo) com o bioissorvente desenvolvido;
- g) Estudar a bioissorção utilizando o bioissorvente em efluente real.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biossorção

A biossorção é um processo no qual se emprega biomassa vegetal ou microbiana na retenção, remoção e recuperação de metais tóxicos em ambientes líquidos (VOLESKY, 2001). É baseada em vários mecanismos que diferem quantitativa e qualitativamente de acordo com as espécies usadas, a origem da biomassa e até mesmo o seu processamento (BORBA, 2010). Segundo Kapoor e Viraraghavan (1995), o sequestro de íons metálicos pelas paredes celulares ocorre por meio de dois mecanismos, um pela ligação direta nos grupos funcionais e o outro, pela interação físico-química, troca iônica e sorção química, pelo fenômeno conhecido por adsorção. Enquanto que a quelatação e a adsorção dependem de processos físico-químicos entre os íons metálicos e os grupos funcionais da superfície da célula, a acumulação intracelular é associada a uma etapa não metabólica de biossorção dos íons metálicos pelos sítios ligantes da estrutura celular. E outra, a qual estes íons passam pela membrana celular através de ciclos metabólicos celulares e, portanto é um processo mais lento e que necessita de células viáveis (MALIK, 2003).

Desta forma, a biossorção surge como um processo alternativo ou complementar em decorrência de características como o preço reduzido do material biossorvente, aplicação em sistemas com capacidade de detoxificar grande volume de efluente com baixo custo operacional, possível seletividade e recuperação da espécie metálica (HAN, 1998; ROCHA; MARCATO; COSSICH, 2005).

Dhamkhar e Hooda (2011) definem a bioacumulação como a remoção de toxicantes por células vivas; o toxicante pode ser transportado para dentro da célula e acumular intracelularmente, cruzando a membrana celular através do ciclo metabólico celular. O processo ativo de biorremoção também requer fornecimento de nutrientes adequados, aeração e temperaturas para o crescimento dos microrganismos. Dessa forma, o processo de adsorção mostra-se, de fato, economicamente mais vantajoso. No entanto, se a combinação de absorção e adsorção aumentarem a eficiência do processo de remoção do metal tóxico, a relação custo-benefício seria beneficiada e tal processo seria mais vantajoso (PALLU, 2006).

O uso de biomassas mortas parece ser uma alternativa preferencial para a remoção de metais. Isso se deve a ausência de problemas relativos à toxicidade dos metais, ausência de requerimentos de crescimento e nutrientes e o fato que metais biossorvidos podem ser recuperados e a biomassa regenerada pode ser reutilizada (WASE; FOSTER, 1997).

O processo de biossorção envolve uma fase sólida (biossorvente: material biológico) e uma fase líquida (sorvente: normalmente água) contendo as espécies a serem sorvidas (sorvato: íons de metais). O sorvato é atraído pelo sólido e capturado por diferentes mecanismos; o processo continua até atingir o equilíbrio entre os íons capturados e os íons dissolvidos (DAS et al., 2008; DHAMKHAR; HOODA, 2011).

O entendimento dos mecanismos pelos quais os biossorventes acumulam metais é importante para o desenvolvimento de processos de concentração, remoção e recuperação de metais de soluções aquosas (DAS et al., 2008; DHAMKHAR; HOODA, 2011).

Os mecanismos de biossorção de metais são complexos e, geralmente, baseados nas interações físico-químicas entre os íons de metais e grupos funcionais presentes na superfície das células, como interações eletrostáticas, trocas iônicas e complexação. Os principais fatores operacionais que afetam o processo de biossorção de metais são: tipo e natureza da biomassa, concentração inicial do soluto, concentração da biomassa na solução, fatores físico-químicos como temperatura, pH e força iônica (DHAMKHAR; HOODA, 2011; DAS et al., 2008).

As maiores vantagens da biossorção em relação aos métodos convencionais de tratamento são (MOHANTY et al., 2006 apud PAMUKOGLU; KARGI, 2007):

- a) Baixo custo;
- b) Elevada eficiência de remoção de metal em soluções diluídas;
- c) Ausência de requisitos nutricionais adicionais;
- d) Capacidade de regeneração do biossorvente;
- e) Possibilidade de recuperar o metal;
- f) Adsorção seletiva de íons metálicos;
- g) Condições de operação apropriadas para uma larga gama de condições ambientais.

Muitos requisitos devem ser estabelecidos para a implementação de uma tecnologia de biossorção de metais tóxicos, para que o processo apresente

competitividades técnica e econômica. A biomassa deve ter capacidade de acumulação elevada, da ordem de 70 mg g^{-1} a 100 mg g^{-1} ; a adsorção deve ser rápida e eficiente; o material biológico deve apresentar baixo custo, ser reutilizável, e ser adaptável à diferentes configurações de reatores e a separação do metal retido deve ser fácil e de baixo custo (PALLU, 2006).

A pesquisa sobre biossorção tem como foco os três principais campos: os biossorventes, os mecanismos de biossorção e a sua aplicação em larga escala. Os primeiros relatos descreveram os biossorventes como abundantes materiais biológicos, que poderiam ser utilizados para remover até pequenas quantidades de metais tóxicos de efluentes industriais, a muito baixo custo (VIEIRA; VOLESKY, 2000), dentre eles, estão os diversos materiais naturais ou de origem biológica, incluindo bactérias, fungos, leveduras, algas, e outros (BORBA, 2010).

De um modo geral, o processo de biossorção de metal pelas células vivas é considerado como um processo de duas etapas. Em primeiro lugar, os íons metálicos são adsorvidos à superfície de células por interações entre os grupos funcionais do metal indicadas na superfície das células, tais como carboxila, fosfato, hidroxila, amina, enxofre, sulfureto, o grupo funcional thiol. A primeira etapa, também chamada de biossorção passiva, se caracteriza por ser metabolismo independente e prossegue rapidamente em poucos minutos por qualquer um ou uma combinação dos seguintes mecanismos de metal de ligação: coordenação, complexação, troca iônica, adsorção física (por exemplo eletrostática) ou microprecipitação inorgânica. Bioadsorção passiva é um equilíbrio dinâmico de adsorção-dessorção reversível. Os íons metálicos ligados na superfície podem ser eluídos por outros íons, agente quelante ou ácidos. No segundo processo, os íons metálicos penetram a membrana celular e entram nas células, também chamadas de biossorção ativa (VOLESKY, 1990; MADRID; CÂMARA, 1997; VEGLIO; BEOLCHINI, 1997; WANG et al., 2000).

2.1.1. Cinética de biossorção

Para a seleção do material adsorvente, não só é necessária a informação da quantidade de material que pode ser adsorvida, que é obtida através das isotermas de adsorção, mas também a taxa de adsorção e dos mecanismos envolvidos na transferência de massa (CRINI; BADOT, 2008). Através da análise das cinéticas, pode

ser estabelecido o tempo de residência para que o processo de adsorção seja concluído. Além disso, o comportamento cinético serve como informação a respeito dos mecanismos de transferência de massa, além de ser um indicativo do desempenho de sistemas em leito fixo ou qualquer outro sistema de adsorção (QIU et al., 2009; ANNADURAI et al., 2008).

Os modelos cinéticos podem ser úteis para compreender melhor os mecanismos de bioadsorção de metais e para avaliar o desempenho de bioadsorventes para remoção de metal.

A determinação da taxa de adsorção do metal pelo bioadsorvente baseia-se frequentemente no estado de equilíbrio do sistema de adsorção. A taxa de adsorção, q , é normalmente expressa em miligramas de metais adsorvido por grama de sorvente (a base seca para os cálculos de engenharia de processo de equilíbrio de massa) (KRATOCHVIL; VOLESKY, 1998).

2.1.2. Isotermas de bioadsorção

O equilíbrio de bioadsorção é geralmente descrito pelas isotermas de bioadsorção, elas descrevem como os poluentes interagem com o material bioadsorvente e, portanto, são essenciais para aperfeiçoar o uso do mesmo (AKSU, 2005).

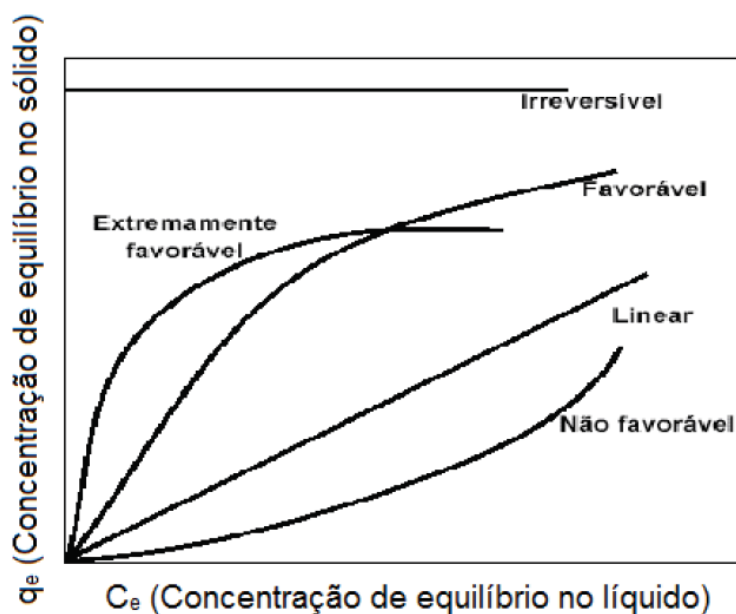
Os estudos de equilíbrio fornecem informação sobre a capacidade de remoção de metais tóxicos. As isotermas de adsorção dependem de vários fatores e expressam as propriedades da superfície e a afinidade da biomassa pelos íons (VOLESKY, 2004). O valor da máxima capacidade de adsorção é uma característica importante para conhecer o desempenho da biomassa a altas concentrações do sorvente e ter sua caracterização.

As isotermas de equilíbrio descrevem quanto de massa de contaminante (adsorvato) pode ser adsorvida por determinado bioadsorvente (adsorvente) (q_e), em função da concentração de equilíbrio da fase fluida (C_e), e constituem parâmetros críticos na otimização de sistemas de adsorção. O modo mais comum de obter uma isoterma de adsorção é determinar a concentração da solução antes e depois da adsorção, em várias concentrações iniciais de bioadsorvente, buscando encontrar a quantidade correta de bioadsorvente necessário para a remoção do material solúvel (ANNADURAI et al., 2008).

O cálculo da quantidade de metal capturado baseia-se em um balanço de massa do sistema de sorção. A expressão gráfica da isoterma é geralmente uma hipérbole com o valor da captura da biomassa e uma aproximação do valor da completa saturação do material adsorvido a altas concentrações (VOLESKY, 2004).

Uma das formas de se classificar as isotermas de adsorção é dada por Weber e Chakravorti (1974), e relaciona o equilíbrio entre a concentração do adsorvato na solução e a concentração do adsorvato nas partículas do adsorvente, a uma dada temperatura. Nesta classificação a adsorção é estudada em meio aquoso. A adsorção pode ter tanto caráter físico quanto químico, e a forma gráfica que a isoterma apresenta dá indícios da natureza de adsorção (Figura 1).

Figura 1 - Classificação das isotermas de adsorção sugerida por Weber e Chakravorti (1974)

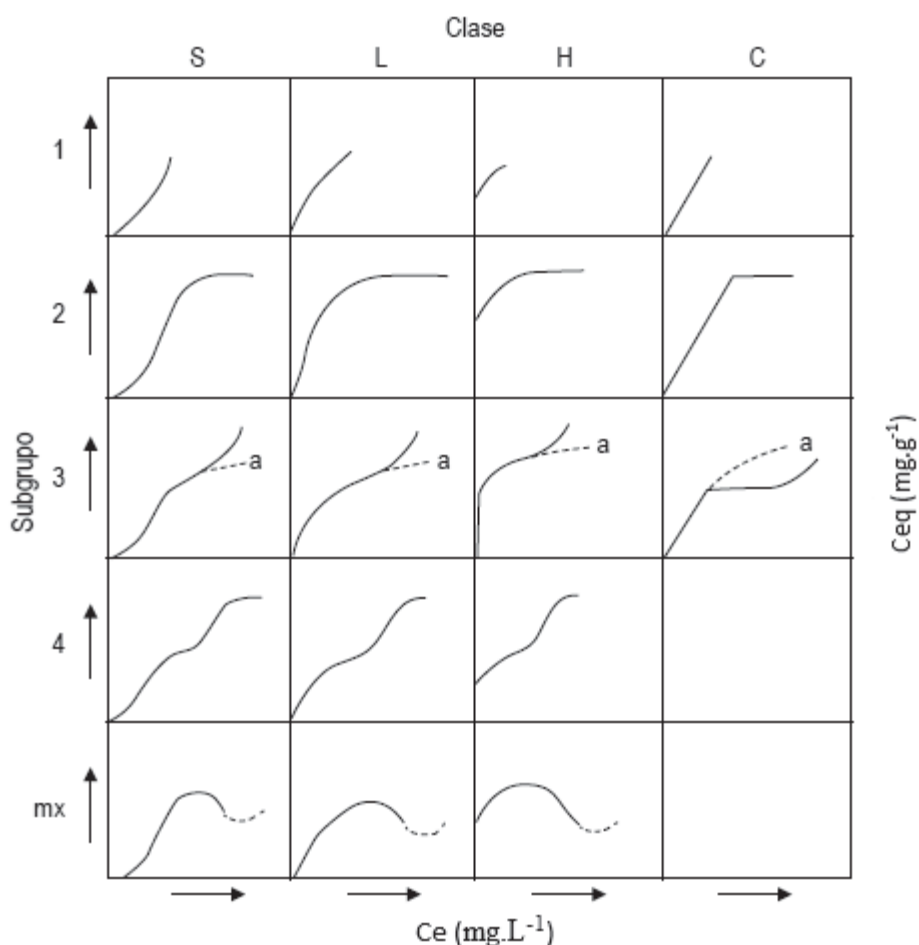


Fonte: Weber e Chakravorti (1974)

Portanto, a forma de uma curva de isoterma não só provê informação sobre a afinidade entre as moléculas, mas também reflete o possível modo de interação entre as moléculas. Então, a correlação de dados de equilíbrio através de equações teóricas ou empíricas, é essencial para o projeto prático e operação dos sistemas de adsorção. Para aperfeiçoar o projeto de um sistema de adsorção é importante estabelecer a correlação mais apropriada para as curvas de equilíbrio (WONG et al., 2004).

Giles et al. (1960) dividiram as isotermas de adsorção em quatro principais classes, de acordo com sua inclinação inicial e, cada classe, por sua vez, em vários subgrupos, baseados na forma das partes superiores da curva. As quatro classes foram nomeadas de isotermas do tipo S (“*Spherical*”), L (“*Langmuir*”), H (“*High affinity*”) e C (“*Constant partition*”), conforme apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Classificação das isotermas de adsorção segundo Giles et al.(1960)



Fonte: adaptado de Giles et al. (1960)

Isotermas do tipo S: este tipo de isoterma tem inclinação linear e convexa em relação à abscissa. A adsorção inicial é baixa e aumenta a medida que o número de moléculas adsorvidas aumenta. Isto significa que houve uma associação entre moléculas adsorptivas chamadas de adsorção cooperativa (FALONE; VIEIRA, 2004). Esse tipo de isoterma possui um ponto de inflexão, gerando uma curva em forma sigmoideal. Esse fato sugere que a interação adsorbato-adsorbato é mais forte do que a interação

adsorbato-adsorvente. Essa condição favorece a adsorção de moléculas na superfície devido à forte atração com outras moléculas adsorvidas (ANNADURAI et al., 2008).

Isotermas do tipo L: na isoterma do tipo L a relação entre a concentração do composto restante na solução e a quantidade adsorvida na superfície sólida, diminui quando a concentração do soluto aumenta, fornecendo uma curva côncava (MAGALHÃES, 2007). A forma L possui inclinação não linear e côncava em relação à abscissa. Nesse caso, há uma diminuição da disponibilidade dos sítios de adsorção quando a concentração da solução aumenta (FALONE; VIEIRA, 2004).

Isotermas do tipo H: é um caso particular da isoterma do tipo L. Esse tipo de isoterma indica alta afinidade entre o soluto e o adsorvente (RODRIGUEZ et al., 2009). Geralmente, nesse tipo de isoterma é observado um declive inicial muito acentuado (ANNADURAI et al., 2008).

Isotermas do tipo C: são isotermas lineares onde se mantém em equilíbrio a massa de soluto na solução aquosa e a massa de soluto adsorvida no adsorvente, sem que se possa especificar os mecanismos de adsorção entre o soluto e o adsorvente (RODRIGUEZ et al., 2009). Esta isoterma admite que a relação entre a quantidade adsorvida na superfície e a concentração em equilíbrio é a mesma em toda a faixa de concentração (MAGALHÃES, 2007).

Para Silvas (2010) modelos de isotermas de equilíbrio são geralmente classificados em equações empíricas e modelos mecanicistas, com base no mecanismo de biossorção de íons metálicos. As equações de Langmuir e Freundlich são os modelos de isotermas mais utilizados, descrevendo o equilíbrio não linear entre o poluente adsorvido nas células e os poluentes em solução a uma temperatura constante.

2.1.3. Modelos de isotermas

2.1.3.1. Isoterma de Langmuir

O modelo de isoterma de Langmuir (LANGMUIR, 1918) assume que um adsorvente possui sítios específicos, homogêneos e energeticamente idênticos de adsorção. Dessa forma, quando uma molécula atinge determinado sítio nenhuma adsorção adicional pode ocorrer naquele local. Tendo o adsorvente uma capacidade

finita de adsorver determinada substância, a saturação da monocamada (com $C_e \rightarrow \infty$) pode ser representada pela Equação 1 (WONG et al., 2004):

$$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (1)$$

Sendo

q_m a máxima capacidade de adsorção na monocamada (mg g^{-1});

k_L a constante de Langmuir (L mg^{-1}).

2.1.3.2. Isoterma de Freundlich

A isoterma de Freundlich (FREUNDLICH, 1926) foi um dos primeiros modelos empíricos utilizados para correlacionar dados de adsorção. Baseado na não idealidade da lei de Henry, válida para gases perfeitos em sistemas homogêneos, a heterogeneidade do sistema é caracterizado pelo fator $1/n$ (Eq. 2):

$$q_e = k_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad (2)$$

Sendo

k_F a constante de Freundlich ($\text{mg g}^{-1}(\text{L mg}^{-1})^n$);

n o fator de heterogeneidade.

2.1.3.3. Isoterma de BET

A isoterma de BET foi postulada por Brunauer-Emmett-Teller (BRUNAUER et al., 1938) para a adsorção de gases em multicamadas. Esta isoterma é uma extensão clássica do modelo de Langmuir, considerando que o calor de sorção da monocamada é idêntico às demais multicamadas formadas (EBADI et al., 2009; KELLER; STAUDT, 2005). A isoterma de BET é representada pela Equação 3:

$$q_e = \frac{q_{BET} k_1 C_e}{(1 - k_2 C_e)(1 - k_2 C_e + k_1 C_e)} \quad (3)$$

Sendo

q_{BET} a capacidade de adsorção da monocamada (mg g^{-1});

k_1 idêntico a k_L da Equação de Langmuir (Eq. 1) (L mg^{-1});

k_2 o inverso da concentração em que a capacidade de adsorção tende ao infinito (L mg^{-1}).

2.2. Metais Tóxicos

O grande desenvolvimento industrial ocorrido nas últimas décadas tem sido um dos principais responsáveis pela contaminação das águas e dos solos, seja pela negligência no seu tratamento antes de despejá-las nos rios ou por acidentes e descuidos cada vez mais frequentes, que propiciam o lançamento de muitos poluentes nos ambientes aquáticos e terrestres (KAWAI et al., 2012).

Os metais tóxicos estão entre os principais poluentes encontrados, que constituem um grupo de aproximadamente quarenta elementos. Um metal é considerado tóxico quando, em sua forma elementar, apresentar uma densidade igual ou superior a 5 g cm^{-3} ou quando seu número atômico for maior que 20.

A ação dos metais tóxicos na saúde humana é muito diversificada e profunda. Entre os mais perigosos estão o mercúrio, o cádmio, cromo e o chumbo. Os metais tóxicos diferem de outros agentes tóxicos porque não são sintetizados nem destruídos pelo homem (KAWAI et al., 2012).

Segundo Dhankhar e Hooda, (2010) existem diversas fontes pontuais antrópicas de liberações de metal para o meio ambiente, entre estes os quatro a seguir aparecem como os alvos prioritários, particularmente no mundo industrializado:

- a) drenagem ácida de mina (DAM) – associada às operações de mineração;
- b) lixiviados de aterros de resíduos perigosos (Classe I);
- b) soluções para os resíduos do setor de galvanoplastia (crescimento indústria);
- c) geração de energia à base de carvão (taxa de transferência de enormes quantidades de carvão);
- d) a mineração de urânio para a geração de energia nuclear (processamento e geração de resíduos especiais).

Os efluentes contaminados com metais tóxicos são gerados a partir de diversos processos industriais, os principais processos geradores e metais estão apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 - Principais fontes industriais de efluentes com metais tóxicos

Metal	Fontes Principais
Chumbo	Indústria de baterias automotivas, chapas de metal semi-acabado, tubulações de metal, aditivos em gasolina, munição; Indústria de reciclagem de baterias automotivas para reutilização de chumbo;
Cádmio	Fundição e refinação de metais como zinco, chumbo e cobre; Derivados de cádmio são utilizados em pigmentos e pinturas, baterias, processos de galvanoplastia, solda, acumuladores, estabilizadores de PVC, reatores nucleares;
Mercúrio	Mineração e o uso de derivados na indústria e na agricultura; Células de eletrólise do sal para produção de cloro;
Cromo	Curtição de couros, galvanoplastias;

Fonte: o autor

Como observado no Quadro 1, são inúmeras as indústrias que geram efluentes contaminados com metais tóxicos. Reforçando a importância de estudos relacionados à estes metais devido aos seus intensos efeitos tóxicos ao homem e outros seres vivos, assim como pela sua ampla liberação no ambiente. Os metais tóxicos também podem afetar a fertilidade dos solos e no caso de aquíferos e águas superficiais, pode ocorrer um sério comprometimento do uso deste recurso como fonte de água para o consumo humano (HUAMÁN PINO, 2005).

Na Tabela 1 são apresentados os padrões de emissão de efluentes para alguns metais nos corpos d'água, de acordo com o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente, Res. 357 de 2005 e Res. 397 de 2008) e com o CONSEMA (Conselho Estadual do Meio Ambiente, Res. 128 de 2006).

Tabela 1 - Padrões de emissões de efluentes para alguns metais em corpos da águas segundo CONAMA e CONSEMA

Elemento	Limite CONAMA	Limite CONSEMA
Arsênio	0,5 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹
Cromo (III)	1,0 mg L ⁻¹	
Cromo (VI)	0,1 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹
Cádmio	0,2 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹
Chumbo	0,5 mg L ⁻¹	0,2 mg L ⁻¹
Níquel	2,0 mg L ⁻¹	1,0 mg L ⁻¹
Zinco	5 mg L ⁻¹	2,0 mg L ⁻¹

Fonte: CONAMA n°357/2005; CONSEMA n°128/2006

A toxicidade dos metais tóxicos acontece através do bloqueio de atividades biológicas, especificamente pela inativação enzimática devido à formação de ligações entre o metal e alguns grupos funcionais das proteínas, causando danos irreversíveis em diversos organismos (VULLO, 2003).

Geralmente os efeitos causados pelos metais tóxicos são difíceis de serem distinguidos e perdem em especificidade, pois podem ser provocados por outras substâncias tóxicas ou por interações entre vários agentes químicos. A manifestação dos efeitos tóxicos está associada à dose e pode distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando os processos bioquímicos, organelas e membranas celulares (KAWAI et al., 2012).

Os metais tóxicos cádmio, cromo VI e chumbo foram estudados no processo de biossorção com o objetivo de removê-los de efluentes contaminados.

2.2.1. Cádmio

O cádmio é um elemento químico relativamente raro, que não se encontra em estado livre na natureza. O cádmio se apresenta geralmente como mineral combinado com outros elementos, como o oxigênio, cloro e enxofre. Ele é geralmente obtido durante a produção de outros metais (zinco, cobre e chumbo) e oxida-se com facilidade (ATSDR, 2013).

Na indústria, o cádmio está presente no revestimento de metais, na fabricação de plásticos, nas tintas pra pintar plásticos. A galvanoplastia é um dos processos industriais que mais utiliza o cádmio (entre 45 a 60% da quantidade produzida por ano). Na agricultura, uma fonte direta de contaminação pelo cádmio é a utilização de fertilizantes fosfatados, sendo que a captação de cádmio pelas plantas é maior quanto menor o pH do solo (CAMPOS, 2014).

Os resíduos da fabricação de cimento, da queima de combustíveis fósseis e lixo urbano e de sedimentos de esgotos que contem cádmio, quando liberados para a atmosfera são precipitados e se depositam no solo agrícola, podendo se acumular nas plantas ou serem carregados para os rios, contaminando o meio ambiente (CAMPOS, 2014).

Entre os usos comerciais do cádmio podem ser citados o emprego como cobertura para prevenir a corrosão, em baterias níquel-cádmio, como reagente químico e pigmento (ATSDR, 2013). O cádmio procedente das indústrias de produção de zinco, minérios de fosfato e produção de fertilizantes fosfatados artificiais, termina geralmente nas águas residuais. Ele pode atingir também o solo ou o ar através da queima de resíduos urbanos ou da queima de combustíveis fósseis (ATSDR, 2013).

O cádmio é um elemento de vida biológica longa (10 a 30 anos) e de lenta excreção pelo organismo humano, sendo a principal forma de contaminação por inalação. Os efeitos tóxicos provocados pelo cádmio compreendem principalmente distúrbios gastrointestinais, hepáticos (fígado), diminuição da absorção de cálcio, aumento da excreção do cálcio e depleção de zinco, tendo como órgão alvo primário nas exposições a longo prazo o rim (CAMPOS, 2014).

O cádmio é adsorvido pelos seres humanos através de certos alimentos ricos neste elemento, como patê, cogumelos, mariscos, cacau e algas secas. O cádmio pode produzir em seres humanos efeitos na saúde como diarreias, dor de estômago e vômitos severos, fratura de ossos, problemas de reprodução, danos ao sistema nervoso central, danos ao sistema imunológico, desordens psicológicas, possível dano no DNA e câncer (ATSDR, 2013).

2.2.2. Chumbo

O chumbo não é um elemento abundante e a principal aplicação do chumbo ocorre na fabricação de baterias elétricas para veículos automotivos. A existência de diversas ligas de chumbo permite a sua ampla utilização na indústria, bem como no revestimento de certos cabos elétricos (LEMOS et al., 2008).

Compostos de chumbo são adsorvidos por via respiratória e cutânea. Os chumbos tetraetila e tetrametila também são adsorvidos através da pele intacta, por serem lipossolúveis. O chumbo é utilizado principalmente nas indústrias extrativa, petrolífera, de baterias, tintas e corantes, cerâmica, cabos, tubulações e munições (CAMPOS, 2014).

De um modo geral, os compostos de chumbo são nocivos para os animais. Porém, o chumbo e o sulfato de chumbo são pouco adsorvidos, sendo considerados praticamente inócuos. No entanto, alguns dos seus sais solúveis, como cloreto, nitrato e acetato, são venenosos. A principal causa de intoxicação com chumbo é a exposição a vapores e poeiras dos seus compostos. Os sintomas de intoxicação são: desconforto intestinal, fortes dores abdominais, diarreia, perda de apetite, náuseas, vômitos e câibras (LEMOS et al., 2008).

O sistema nervoso, a medula óssea e os rins são considerados órgãos críticos para o chumbo, que interfere nos processos genéticos ou cromossômicos e produz alterações na estabilidade da cromatina em cobaias, inibindo reparo de DNA e agindo como promotor do câncer. Por isso está ligado ao câncer de pele e/ou pulmão (CAMPOS, 2014).

Sabe-se que algumas plantas têm a capacidade de absorver e acumular chumbo, que se mostra inofensivo às mesmas. Desta forma, os animais que se alimentam destas plantas podem ingerir o chumbo e, neste caso, sofrer uma intoxicação. Por esta razão, não se utilizam compostos de chumbo em pesticidas ou inseticidas (LEMOS et al., 2008).

2.2.3. Cromo Hexavalente

O cromo se encontra em rochas, animais, plantas, solo, pó e gases vulcânicos e as formas mais comuns do cromo são a forma metálica, trivalente e hexavalente. O cromo (III) pode ser encontrado naturalmente no ambiente e é um elemento essencial. O cromo (VI) e o cromo (0) são produzidos geralmente em processos industriais (ATSDR, 2013).

O cromo (VI) presente no meio ambiente é, geralmente, o resultado de aplicações de fabricação de produtos químicos, têxteis e eletro-pintura. Por ser instável o Cr (VI) tem sua oxidação favorecida em pH menor que 5, o que torna preocupante a presença deste íon em efluentes (MICHALAK et al., 2007). A maior toxicidade do Cr (VI) se deve às elevadas solubilidades e mobilidades em água (DONG et al., 2009).

O cromo (VI) é relativamente estável no ar, mas é reduzido ao estado trivalente em contato com matéria orgânica do solo e água. No ar, os compostos de cromo estão presentes principalmente como partículas do pó depositando-se no solo e na água. O cromo pode se aderir fortemente ao solo, sendo que pouca quantidade pode vir a se dissolver na água e assim passar a camadas de solo mais profundas e depósitos de águas subterrâneas.

O metal que atinge as águas dos rios, seja pelo ciclo natural ou por intervenção humana, pode atingir os oceanos e depositar nos sedimentos. O cromo (VI) é acumulado em espécies aquáticas por difusão passiva (CETESB, 2012).

A exposição ao cromo (VI) pode ocorrer, geralmente, através da inalação, contato com a pele e ingestão. A exposição também pode ocorrer através do trabalho nas indústrias metalúrgicas e têxteis e através da respiração num ambiente de trabalho contaminado. Há registros de reações alérgicas e lesões na pele após a exposição e inalação de elevadas concentrações de cromo (VI) além de causar a grave irritação do trato respiratório superior (KODAK, 2012).

Outros potenciais efeitos adversos para a saúde incluem lesões ao nível do fígado e dos rins. Os potenciais efeitos do cromo (VI) variam principalmente com as espécies e as quantidades absorvidas na corrente sanguínea, a duração da exposição e a rota de exposição (KODAK, 2012).

O cromo (VI) encontra-se na maior parte das listas nacionais e internacionais de materiais de elevada toxicidade. Nos Estados Unidos, o cromo (VI) é regulamentado

como uma substância perigosa, perigoso poluente do ar, químico tóxico e um poluente prioritário ao abrigo da lei de salubridade da água. O elemento integra a listagem da EPA (Agência Ambiental dos EUA) dos 129 poluentes mais críticos (KODAK, 2012).

Os compostos de Cr (VI) são classificados pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) como cancerígenos para o ser humano (CETESB, 2012). Essa categoria comumente é usada para agentes para os quais a evidência de câncer é inadequada no ser humano e inadequada ou limitada em animais de experimentação.

2.3. Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras são organismos pertencentes ao reino fungi, possuindo características típicas dos fungos como presença de parede celular rígida, núcleo organizado com membrana nuclear (célula eucariótica), nutrição heterotrófica através de absorção dos nutrientes (KURTZMAN; FELL, 1998 apud FUENTEFRÍA, 2007). Elas se diferenciam dos fungos, pois possuem um talo predominantemente unicelular e se reproduzem assexuadamente, por brotamento, do qual resultam células-filhas inicialmente menores que a célula mãe. Apresentam membrana celular bem definida, pouco espessa em células jovens e rígidas em células adultas (ALVES, 2008).

As leveduras são, na sua maioria, aeróbias obrigatórias, com exceção de algumas leveduras fermentadoras anaeróbias facultativas que podem se desenvolver em ambiente com oxigênio reduzido ou mesmo na ausência deste elemento (SILVA, 2009). O pH ideal do meio de cultivo das leveduras varia entre 3 e 8, mas normalmente toleram pH ácido (NASCIMENTO, 2012). São organismos mesófilos, ou seja, a fermentação pode ocorrer dentro de uma faixa de 10 °C até 35 °C e dentro deste intervalo, quanto maior a temperatura maior será a velocidade do processo fermentativo (RODRIGUES et al., 2005 apud KLEIN, 2006).

A temperatura ótima da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é de 25 °C e o pH ótimo é entre 5,5 a 6,0 (OLIVEIRA, 2008). A parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* é uma estrutura elástica que proporciona proteção osmótica e física que determina a forma da célula. A camada interna da parede é, em grande parte, responsável pela resistência mecânica da parede e também fornece os locais de ligação para as proteínas que formam a camada exterior da parede. A camada externa de proteína também limita a permeabilidade da parede celular, protegendo a membrana

plasmática de um ataque por enzimas de membrana externa e compostos perturbadores. É importante salientar que a composição e organização molecular da parede celular podem variar consideravelmente. Por exemplo, a incorporação de muitas proteínas da parede celular é temporal e, especialmente, controlada e depende fortemente das condições ambientais. Do mesmo modo, a formação de proteínas específicas na parede celular de polissacarídeos complexos é fortemente afetada por condições externas (KLIS et al., 2002).

O gênero *Saccharomyces* tem passado por inúmeras mudanças desde a sua descoberta, há 150 anos. Quando a primeira publicação sobre taxonomia de leveduras foi compilada por Guilliermond, em 1912, o gênero *Saccharomyces* compreendia 46 espécies, divididas em seis grupos, separados de acordo com a atividade fermentativa sobre os açúcares. Entretanto, várias outras divisões ocorreram e outras novas espécies foram descritas, principalmente o grupo *Saccharomyces sensu stricto*, obtendo-se como resultado, em 1970, 41 espécies dentro do gênero *Saccharomyces* (GUMARRÃES, 2005).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é responsável pela produção dos principais produtos de fermentação (em termos de tonelagem mundial por ano), isto é, 60 milhões de toneladas de cerveja, 30 milhões de toneladas de vinho, 800.000 toneladas de proteína microbiana e 600.000 toneladas de fermento de pão (PRETORIUS; TOIT; RENSBURG, 2003).

Por ser um microrganismo não patogênico, e devido a sua longa história de aplicação na produção de produtos consumíveis, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é bastante atrativa na produção de alimentos, bebidas alcoólicas e processos biotecnológicos (OSTERGAARD et al., 2000).

Os sistemas que aplicam a biotecnologia de leveduras são responsáveis por uma gama de processos e produtos que movimenta atualmente uma fração considerável da economia tanto no mercado interno quanto no externo. O desenvolvimento desses processos tem despertado interesse nos meios empresariais induzindo a busca de novas investigações científicas com o objetivo de ampliar o leque de novos produtos. A sua utilização envolve desde a área de alimentos, saúde, até a ambiental, colocando-o dentro das tendências mercadológicas como um produto de altíssima demanda (ALVES, 2008).

A *S.cerevisiae* apresenta características muito interessantes para aplicação na biotecnologia, porque o DNA de outra espécie pode ser diretamente colocado em posição específica em seu genoma. Além desses fatores, vale ressaltar que a levedura não é patogênica, ou seja, não é normalmente causadora de doenças. Assim, sua manipulação é mais segura, mesmo quando feita em grandes quantidades, em relação à de outros organismos microscópicos usados em pesquisa de laboratório (OSTERGAARD et al., 2000).

A levedura *S.cerevisiae* também é utilizada em tratamento de rejeitos líquidos e sólidos contendo metais tóxicos, pois ela é reconhecida como um microrganismo seguro e pode ser usado sem preocupação além de possuir capacidade de acumular uma vasta gama de metais tóxicos em uma variedade de condições externas (WANG; CHEN, 2006).

2.3.1. Vantagens da bio sorção pela *S. cerevisiae*

De acordo com Wang e Chen (2006), dentre as vantagens da utilização da levedura *S. cerevisiae* na bio sorção de metais tóxicos pode-se citar:

a) Fácil cultivo em larga escala, a levedura pode ser facilmente cultivada usando técnicas de fermentação e meios de culturas baratos (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995). Além disso, o rendimento da biomassa também é elevado.

b) A biomassa de *S. cerevisiae* podem ser obtidos a partir de várias indústrias alimentares e de bebidas. A *S.cerevisiae* como um subproduto, é mais fácil obter a partir da indústria de fermentação, em comparação com outros tipos de biomassa microbiana de resíduos.

c) A *S.cerevisiae* é geralmente considerada como segura. Portanto, bio sorventes feitos a partir desta levedura podem ser facilmente aceitos pelo público quando aplicados na prática.

d) A *S. cerevisiae* é um organismo modelo ideal para identificar o mecanismo de bio sorção na remoção de íons metálicos, especialmente para investigar as interações dos metais no microrganismo a nível molecular. O conhecimento acumulado sobre a biologia molecular da levedura é muito útil para identificar os mecanismo de remoção de íons metálicos (EIDE, 1997, 1998).

As primeiras pesquisas realizadas sobre a bio sorção de metais tóxicos foram realizadas com células vivas. No entanto, as células mortas foram estudadas e apresentaram ter a mesma ou maior capacidade de absorção de íons de metal, em comparação com as células vivas. Isso pode ser explicado já que as células mortas podem superar alguns limites que as células vivas não podem, como: demanda nutrição, sensibilidade ao valor de pH extremo ou concentração de íons de metal superior, entre outros (MALIK, 2004).

2.3.2. Mecanismos de bio sorção pela *S. cerevisiae*

O mecanismo de bio sorção de metais é complicado e não é totalmente compreendido. O estado da biomassa (viva ou morta), os tipos de biomateriais, propriedades químicas da solução do metal, condições ambientais e/ou ambientais, tais como pH, irão influenciar o mecanismo de bio sorção de metais (WAN; YANG, 1996).

Os dois tipos de sequestro de metal são o modo passivo, por células mortas ou inativas de *S. cerevisiae*, e modo ativo por células vivas. O modo passivo é independente de energia, principalmente por meio de grupos funcionais químicos do material, compreendendo a parede celular e em particular de células. A adsorção passiva de metal pode ocorrer quando a célula é metabolicamente ativa. Modo ativo é o metabolismo dependente e relacionado ao transporte e deposição de metal (VOLESKY, 1990). O uso de biomassa morta elimina os problemas de toxicidade e favorece os aspectos econômicos referentes ao suprimento de nutrientes e manutenção da cultura.

Os mecanismos pelos quais os organismos removem metais de soluções são: (a) acumulação intracelular, (b) sorção/complexação na superfície celular e (c) acumulação/precipitação extracelular. O processo (b) pode ocorrer em células vivas ou mortas, o processo (a) requer atividade microbiana, enquanto que o processo (c) pode ser facilitado por microrganismos vivos (COSSICH, 2000).

a) Acumulação intracelular

Este fenômeno é dependente do metabolismo celular, ocorrendo nas células vivas. O processo está geralmente associado ao sistema de defesa dos organismos, que reagem à presença de metais (VEGLIO; BEOLCHINI, 1997). Os íons metálicos transportados através da membrana celular são transformadas em outras espécies ou

precipitadas no interior da célula por células ativas. Depois de entrar na célula, os íons metálicos são compartimentalizados em diferentes organelas (WANG; CHEN, 2006).

A acumulação intracelular também pode ocorrer quando a concentração extracelular de íons metálicos for maior do que a de intracelular, os íons metálicos podem penetrar na célula, através da parede da célula e na membrana da biomassa através de difusão livre. Os íons metálicos também podem entrar na célula se a parede celular foi rompida pela força natural (por exemplo, autólise) ou força artificial (força mecânica ou tratamento alcalino, etc.). O processo acima é independente do metabolismo (WANG; CHEN, 2006).

b) Sorção/complexação na superfície celular

No mecanismo de sorção/acumulação na superfície celular podem ocorrer de forma simultânea: quimiossorção (permuta iônica, complexação, coordenação, quelatação), adsorção física e micro-precipitação (GAVRILESCU, 2004). A ocorrência de reações de oxidação/redução no bioissorvente também são prováveis (VOLESKY, 2001).

O termo adsorção refere-se a ligações do metal a centros ativos que inicialmente não estavam ocupados por outro cátion. Se os centros ativos estiverem inicialmente ocupados por outros cátions, os quais são libertados para permitir a ligação de outro cátion (de maior afinidade), ocorre a permuta iônica. A adsorção física é efetuada através de forças eletrostáticas (com energias entre $2-40 \text{ kJ mol}^{-1}$) ou forças de London-Van der Waals. Na permuta iônica podem apresentar-se dois tipos de interações entre a biomassa e o metal: ligações covalentes e iônicas (VOLESKY, 2004).

c) Acumulação/precipitação extracelular

Na acumulação ou precipitação extracelular, alguns microrganismos procarióticos (bactérias, arqueobactérias) e eucarióticos (algas, fungos) podem produzir ou excretar substâncias poliméricas extracelular (EPS), tais como polissacáridos, lipopolissacáridos, glicoproteína, péptidos solúveis, etc. Estas substâncias possuem uma quantidade substancial de grupos funcionais aniônicos que podem adsorver íons metálicos (WANG; CHEN, 2006; VEGLIO; BEOLCHINI, 1997), auxiliando na remoção de metais tóxicos de efluentes contaminados.

2.3.3. Condições ambientais

Para biossorção de íons de metais tóxicos, o pH é um dos fatores ambientais mais importantes. O valor de pH da solução influencia fortemente não apenas a dissociação local da superfície da biomassa, mas também a solução química dos metais tóxicos: a hidrólise, complexação por ligantes orgânicos e/ou inorgânicos, redox, reações de precipitação, e da disponibilidade de especiações dos metais tóxicos (ESPOSITO et al., 2002; WANG, 2002).

A capacidade de biossorção de cátions metálicos aumenta com o aumento do pH do sistema de adsorção. Por outro lado, o valor de pH elevado pode causar a precipitação de complexos de metais, por isso, deve ser evitada durante as experiências. Para o sistema de biossorção de diferentes íons de metal, o pH ótimo é diferente (WANG; CHEN, 2006).

A temperatura tem também uma influência sobre a biossorção de íons metálicos, mas de forma limitada sob uma determinada gama de temperatura, o que indica que o mecanismo de troca iônica em biossorção existe em alguma extensão. O processo de biossorção geralmente não é utilizado a alta temperatura, porque vai aumentar o custo operacional (WANG, 2002).

As reações de adsorção são normalmente exotérmica, por isso a capacidade de bioabsorção aumenta com diminuição de temperatura (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1997). Na gama de 15-40 °C, a capacidade máxima de biossorção de equilíbrio para o Pb(II), Ni (II) e Cr (VI) por íons inativos de *S. cerevisiae* foi obtido à temperatura de 25 °C. A energia do sistema facilita a fixação de Cr (VI), na superfície da célula em algum grau. Quando a temperatura é muito alta, existe uma diminuição na adsorção de metal devido à distorção de alguns sítios de superfície celular disponíveis para a biossorção de metais (WANG; CHEN, 2006).

De um modo geral, a capacidade de bioabsorção e da eficiência de remoção de íons metálicos por *S. cerevisiae*, tornou-se maior com o prolongamento do tempo de contato. No entanto, na prática, é necessário otimizar o tempo de contato, tendo em conta a eficiência da dessorção e regeneração da biomassa.

A biossorção de metais é realizada principalmente por meio do modo passivo. Para Malik (2004), os estudos de biossorção curtos têm pouca possibilidade de observar e avaliar a acumulação intracelular e, portanto, a maioria desses estudos concluiu com a

adsorção do metal na superfície. Estudos recentes têm demonstrado que, apesar da baixa taxa de crescimento aparente, células em crescimento são capazes de remover íons metálicos de forma contínua, através de mecanismos de desintoxicação interna (MALIK, 2004). O modo ativo pode contribuir significativamente para a remoção de íons metálicos para a levedura (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1997).

A taxa de adsorção do íon metálico irá aumentar juntamente com o aumento da concentração inicial, se a quantidade da biomassa é mantida inalterada. Contrariamente a isso, a capacidade de bioadsorção dos íons metálicos é inversamente proporcional à concentração inicial da biomassa, quando a concentração inicial de íons de metal é mantido constante. O aumento da concentração da biomassa do sistema de bioadsorção pode resultar no aumento das interações dos sítios de sorção. Quando a concentração de biomassa é baixa, os íons metálicos na solução que não só ser adsorvida na superfície da biomassa, mas também entra em parte intracelular, facilitando o gradiente de concentração do íon metálico (WANG, 2002).

A idade celular da biomassa tem uma influência sobre a bioadsorção de metais. Normalmente, as células na fase de latência ou fases iniciais de crescimento tem uma capacidade mais elevada para bioadsorção de íons metálicos do que a de fase estacionária (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1997).

As células de leveduras mortas por condições químicas e físicas extremas também podem apresentar propriedades muito diferentes para a acumulação de metal, em comparação com o da levedura inicial (LU; WILKINS, 1996). Vários métodos de pré-tratamento podem ser usados com as células da levedura *S. cerevisiae*. Os métodos físicos incluem vácuo e liofilização, calor de ebulição em autoclave, e ruptura mecânica. Os métodos químicos incluem o tratamento com vários reagentes orgânicos e inorgânicos, tais como ácido e alcalino, metanol e formaldeído. Estes métodos estão disponíveis para melhorar a bioadsorção de metais (WANG, 2002; WANG et al., 2000; KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1997).

Devido ao papel importante da parede celular na bioadsorção de metais pelas células não-viáveis, a bioadsorção de metais pode ser aumentada pelo calor ou por esterilização química ou por esmagamento. Assim, as células degradadas podem oferecer uma superfície de área maior e expor os componentes intracelulares e mais locais de ligação de superfície devido à destruição das membranas celulares (ERRASQUÍN; VÁZQUEZ, 2003).

2.3.4. Pré-Tratamentos físico-químicos na levedura *S.cerevisiae* para biossorção

Os pré-tratamentos são formas de melhorar o desempenho dos processos através de tratamentos físicos e químicos. Tratamentos físicos geralmente são térmicos, incluindo autoclavagem, vácuo, calor, vapor, ruptura mecânica e morte por congelamento. Já os químicos incluem o uso de ácidos, alcális, metanol, substâncias corrosivas, reagentes orgânicos e inorgânicos. Para a biomassa fúngica, o tratamento alcalino tem aumentado a biossorção de metal consideravelmente, enquanto o ácido não teve influência segundo WANG (2006). Várias hipóteses são levantadas para elucidar isto. Uma possibilidade é a remoção de impurezas na superfície do adsorvato e quebra da membrana celular que tornou possível a ligação de metal com as estruturas antes enclausuradas dentro da célula. Ou que o tratamento alcalino pode destruir enzimas autolíticas que causam a degradação da biomassa e a remoção de lipídeos e proteínas que escondem locais de ligação, além de poder liberar polissacarídeos que tem grande afinidade com alguns metais. Compostos alcalinos também são encontrados em surfactantes, podendo ser este o motivo de que tratamentos a base de surfactantes aumentaram a biossorção (WANG, 2006; ZHANG et al., 2009).

2.3.5. Biossurfactantes de *S.cerevisiae* na biorremediação

Os biossurfactantes constituem um grupo diverso de moléculas tensoativas, as quais são subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras. Eles apresentam pelo menos uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica, e devido a isso se acumulam na interface óleo-água e superfície. Como resultado, os surfactantes reduzem as forças de repulsão entre fases diferentes na interface ou superfície e permitem que as duas fases se misturem mais facilmente. Dessa forma, os biossurfactantes são definidos como compostos microbianos que exibem alta atividade surfactante e atividade emulsificante (MATSUURA, 2004).

Os biossurfactantes possuem propriedades físico-químicas similares às dos surfactantes sintéticos, entretanto oferecem vantagens sobre eles: são compostos biodegradáveis e não tóxicos ao meio ambiente; podem ser sintetizados a partir de fontes renováveis e resíduos agroindustriais; possuem maior seletividade e atividade

específica sob condições extremas de pH, temperatura e salinidade; ocorrem naturalmente no solo, o que os faz aceitáveis sob o ponto de vista ecológico e social. No entanto, sua entrada no mercado em larga escala ainda está limitada, devido ao seu alto custo de produção quando comparados aos sintéticos (MARQUEZ et al., 2009 apud ACORSSINI, 2010).

Os biossurfactantes classificam-se segundo sua composição química com base no seu grupo funcional e quanto à origem microbiana, ou seja, seu microrganismo produtor (ACORSSINI, 2010). Eles possuem uma estrutura comum: uma porção lipofílica usualmente composta por cadeia hidrocarbônica de um ou mais ácidos graxos, que podem ser saturados, insaturados, hidroxilados ou ramificados, ligados à uma porção hidrofílica, que pode ser um éster, um grupo hidróxi, fosfato, carboxilato ou carboidrato.

Os biossurfactantes aumentam a biodisponibilidade dos contaminantes presentes no meio contaminado. Com os metais tóxicos, os biossurfactantes formam complexos na interface do meio contaminado, a qual é seguida de dessorção do metal e a remoção a partir da superfície do meio que conduz ao aumento da concentração de íons metálicos e a sua biodisponibilidade na solução do meio contaminado. Desta forma, o uso de microrganismos resistentes aos metais tóxicos e capazes de produzir biossurfactantes para aumentar a eficiência da remoção de metais é importante para o processo de biossorção de metais (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011).

Os biossurfactantes acumulam na interface entre dois fluidos imiscíveis, ou entre um líquido e um sólido. Ao reduzir a tensão superficial (sólido-líquido) e a tensão interfacial (líquido-líquido) reduzem as forças de repulsão entre as duas fases diferentes e permitem a estas fases se misturar e interagir mais facilmente (SOBERÓN-CHÁVEZ; MAIER, 2011). Bodour, Drees e Maier (2003) demonstraram que de 21 tipos de solos, contaminados ou não contaminados com hidrocarbonetos, metais ou ambos, 20 continham ao menos um microrganismo produtor de biossurfactante.

O potencial de aplicação de compostos de superfície ativa produzidos a partir de microrganismos é baseado em suas propriedades funcionais, que incluem: emulsificação, separação, umedecimento, solubilização, deemulsificação, inibição de corrosão, redução de viscosidade de líquidos e redução da tensão superficial. Essas propriedades são aplicadas em campos diversos da agricultura, construção e nas indústrias alimentícias, de bebidas, papel, metal, têxtil, farmacêuticas e de cosméticos

(NITSCHKE; PASTORE, 2002; MULLIGAN et al., 2001; BANAT et al., 2000; BOGNOLO, 1999; FIECHTER, 1992).

Uma das áreas de maior aplicação de biossurfactantes é a indústria petrolífera, pois são efetivos em reduzir a tensão interfacial entre óleo e água nos poços de petróleo, além de reduzirem sua viscosidade, facilitando a remoção ou recuperação antes do processamento. Outra aplicação importante é na biorremediação de locais contaminados, tornando os poluentes biodisponíveis à biodegradação. Na agricultura, biossurfactantes encontram grande aplicação em controle biológico.

A remoção de metais, que geralmente inclui a ação de ácidos, álcalis, complexantes, solventes solúveis em água, pode ser realizada pela ação de biossurfactantes. A surfactina, os raminolipídios e os soforolipídeos são capazes de remover cobre e zinco de solos contaminados com hidrocarbonetos, devido ao caráter aniônico destes surfactantes. A surfactina apresentou uma remoção de cobre de 70 % e de hidrocarbonetos de 50 %, comparados com valores de 20 e 30 % de remoção de cobre e hidrocarbonetos por um surfactante químico (MULLIGAN et al., 2001).

A influência da presença de biossurfactantes durante os processos de biossorção de metais tóxicos por microrganismos não tem sido relatada na literatura. Encontraram-se relatos de estudos de verificação de cepas produtoras de biossurfactantes e resistentes a metais, conforme demonstrado nas citações a seguir, além de estudos de toxicidade dos metais durante a produção de biossurfactantes, entre outros:

a) Lakshmipathy et al. (2010): demonstraram que um actinomiceto marinho denominado *Streptomyces spp.* VITDDK3 possuía a capacidade de produção de biossurfactantes e a resistência a soluções de metais tóxicos, sendo mais resistente ao cádmio e ao chumbo;

b) Mariano da Silva et al. (2009): estudaram a sensibilidade da levedura *S. cerevisiae* PE-2 ao cádmio, verificando que fatores como o decréscimo da concentração de extrato de levedura e o incremento na concentração de dextrose no meio de cultivo aumentaram a susceptibilidade da levedura ao cádmio. Neste estudo a produção de biossurfactantes não foi avaliada.

2.3.6. Encapsulação da *Saccharomyces cerevisiae* com alginato de sódio

O alginato de sódio é um copolímero linear obtido a partir da extração do ácido algínico encontrado em algas marrons e algumas bactérias, utilizando-se álcali diluído (LIMA, 2006). Sua fórmula química empírica é $C_6H_7NaO_6$.

Entre suas características principais está a de formar géis termicamente irreversíveis com a maioria dos cátions bivalentes, com exceção do magnésio (TEIXEIRA; ARAÚJO, 1996; NAYAK; LAHIRI, 2005).

Quando uma solução de alginato de sódio é gotejada numa solução contendo íons metálicos bivalentes, são formadas esferas de alginato de cátions insolúveis em água. O cálcio é o cátion mais utilizado na preparação de esferas para uma ampla aplicação: principalmente para imobilizar células que são utilizadas em biocatalisadores ou para imobilizar biomoléculas como pesticidas, drogas, e outras (VELINGS; MESTDAGH, 1995; IBAÑEZ; UMETSU, 2004).

Após a formação das esferas de alginato com íons de cálcio, a estrutura particular deste biopolímero deixa livre grupos carboxílicos que reagem com os íons metálicos (IBAÑEZ; UMETSU, 2002). Os poros da matriz são menores que as células contidas no interior (PRADELLA, 2001).

A imobilização serve para melhorar as características físicas da biomassa para uso em reatores, permite a reutilização das substâncias (VOLESKY, 1990) e facilita o processo de separação das células do rejeito líquido (DAS et al., 2002).

Além disso, as células imobilizadas em matriz hidrofílicas podem ser protegidas de condições inadequadas de pH, temperatura, solventes ou qualquer composto que iniba o desenvolvimento celular presente no meio. Como principais desvantagens pode-se citar: o pequeno volume disponível para a contenção das células imobilizadas, a perda de células para o meio durante o processo de utilização e a instabilidade dos suportes normalmente utilizados, que limita a utilização dos agregados por longos períodos (PRADELLA, 2001).

As vantagens como baixo custo, grande disponibilidade no mercado, possibilidade de ampliação em escala de produção e a aceitação das substâncias utilizadas para a imobilização (alginato e cloreto de cálcio), além da característica de serem os grânulos de alginato degradados naturalmente após 120 dias, quando utilizados para inocular microrganismos no solo (PETHKAR; PAKNIKAR, 2002).

Entre as desvantagens, o uso desse polímero como suporte destaca-se a instabilidade química na presença de agentes quelantes dos íons de cálcio (fosfato, lactato e citrato), a tendência das esferas em sofrer dilatação na presença de cátions monovalentes e as limitações impostas à transferência de substratos e produtos.

Tam et al. (1998) utilizaram a alga *Chlorella vulgaris* imobilizada em gel de alginato para a recuperação de cobre em ambientes aquáticos. Eles observaram que a alga imobilizada foi capaz de adsorver o cobre da solução e ainda resistir a quatro ciclos subsequentes de forma estável, ou seja, sem desmanchar. A matriz de alginato contribuiu significativamente para a ligação do cobre às células quando comparada à eficiência de células livres que tiveram valores bem inferiores aos grânulos de alginato e alga.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada nesta dissertação buscou estudar o desenvolvimento de adsorventes para o tratamento de efluentes contaminados com metais tóxicos. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Fermentações do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo, utilizando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Estudos prévios realizados utilizando a levedura *S.cerevisiae* pelo nosso grupo de pesquisa estudaram as variáveis que apresentavam influência no processo de biossorção de cromo (VI) pela levedura utilizando técnicas de planejamento experimental (Deon, 2012). Neste estudo as variáveis estudadas foram a realização de pré-tratamento térmico da biomassa, o pH, a concentração inicial de cromo (VI), a agitação, o tempo reacional e a concentração de biossorvente. Os resultados demonstraram que as melhores remoções foram obtidas com pH 5,0, e que quanto maior o tempo reacional e a concentração de cromo (VI) inicial, maior era a remoção do metal, atingindo remoções superiores a 99 % de cromo (VI).

A partir destes resultados foi dada continuidade aos estudos desta dissertação utilizando levedura comercial e posteriormente a levedura obtida da indústria cervejeira.

O fluxograma da Figura 3 apresenta a sequência dos ensaios realizados. Ensaios preliminares foram realizados com levedura comercial obtida no comércio local (fermento liofilizado Saf-Instant). A levedura comercial liofilizada foi submetida aos tratamentos térmico e químico, e posteriormente utilizou-se o adsorvente obtido para a construção de isotermas de adsorção de cromo (VI). Os ensaios foram realizados com solução de dicromato de potássio como fonte de cromo (VI).

Na segunda etapa dos ensaios utilizou-se como biossorvente a levedura *S.cerevisiae* oriunda da indústria cervejeira. Nesta etapa, realizou-se a encapsulação do biossorvente em alginato de cálcio. A caracterização do biossorvente antes e após os processos de imobilização foi realizada através das determinações de carboidratos, proteínas, lipídios, cinzas e umidade. A determinação do ponto de carga zero, além de caracterização química e morfológica, também foram realizadas no biossorvente imobilizado.

Posteriormente, foi realizado o estudo de pH para a adsorção dos metais cádmio chumbo e cromo (VI) com construção das isotermas de adsorção. Nesta etapa, incluiu-se o estudo da influência da adição de biossurfactantes no processo de biossorção dos

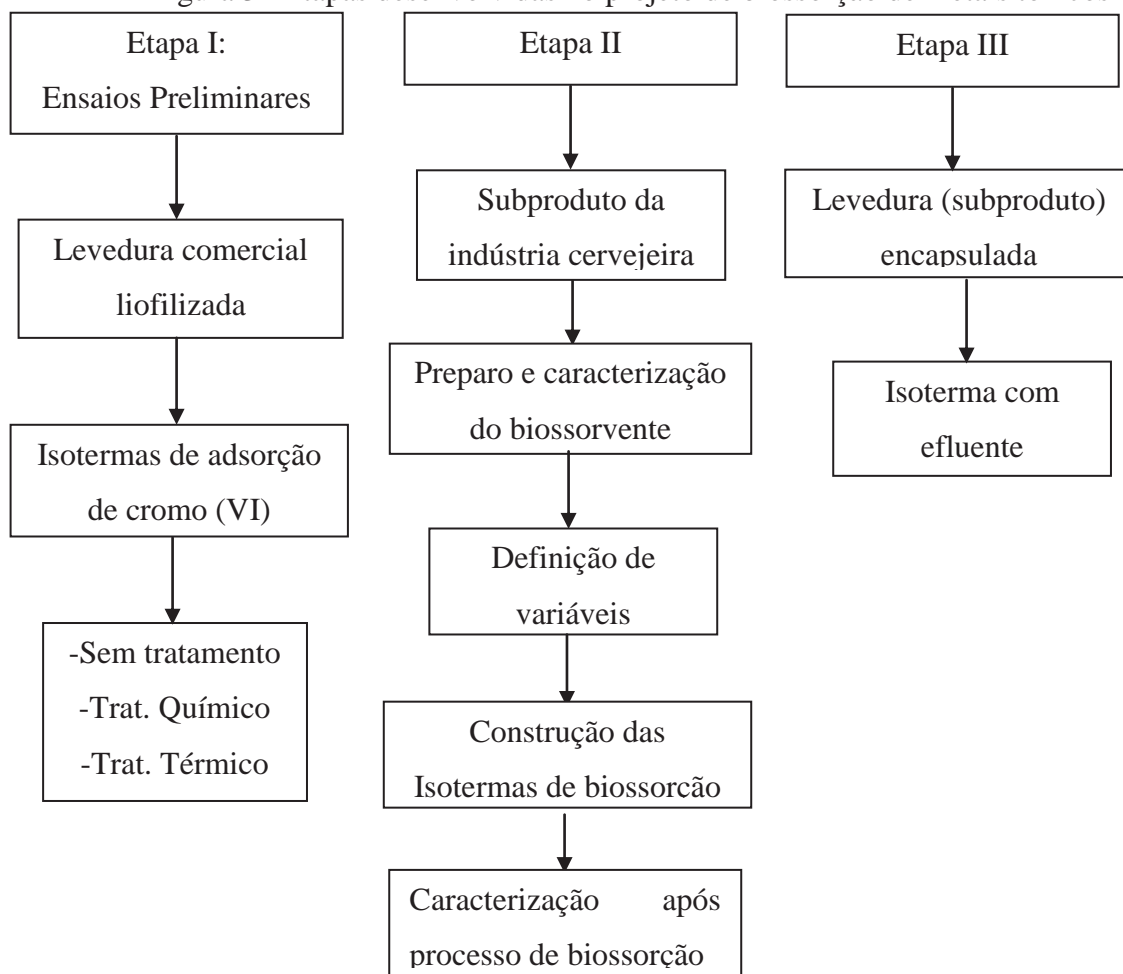
metais. O biossurfactante utilizado foi extraído de biomassa liofilizada de *S. cerevisiae*. Para as condições que apresentaram os melhores resultados de adsorção para o cromo (VI), foi realizada a caracterização dos adsorventes antes e depois do processo através de MEV, FTIR e EDX.

A terceira etapa envolveu o uso do melhor adsorvente para a biossorção de cromo (VI) em efluente real.

Todos os sais para o preparo das soluções-padrão foram pesados em balança analítica, dissolvidos em água destilada e mantidos em frascos até sua utilização. Essas soluções foram preparadas a partir de reagentes P.A.

As soluções contendo cromo (VI) foram preparadas com $K_2Cr_2O_7$ (dicromato de potássio). As soluções de cádmio foram preparadas com nitrato de cádmio - $Cd(NO_3)_2 \cdot H_2O$, e as soluções de chumbo foram preparadas com nitrato de chumbo - $Pb(NO_3)_2$. Os reagentes apresentavam pureza superior a 99 %.

Figura 3 - Etapas desenvolvidas no projeto de biossorção de metais tóxicos



3.1. Etapa I: Estudos preliminares de biossorção de cromo (VI) por levedura comercial

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento liofilizado) comercial (Saf-Instant) foi utilizada como biossorvente.

A biomassa foi submetida aos tratamentos térmico e químico. O tratamento térmico foi realizado em autoclave (autoclave vertical marca Primatec, modelo CS, Brasil), durante 30 min, a 121 °C; após, a levedura foi colocada em placas de Petri e levadas para a estufa a 60 °C, por 24 h, até atingir massa constante.

O tratamento químico foi realizado por imersão em solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ por 30 min, com posterior centrifugação por 5 min à 5862 g e lavagens sucessivas com água deionizada (YAN; VIRARAGHAVAN, 1999). Após lavagem e centrifugação a biomassa foi submetida à secagem em estufa a 60 °C por 24 h, com posterior trituração.

Para obtenção das isotermas de biossorção de cromo (VI) foram utilizados 100 mL de solução de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇), com 100 mg L⁻¹, colocados em erlenmeyers de 300 mL, contendo diferentes concentrações de biossorvente (0,5 g L⁻¹ a 40 g L⁻¹). A mistura foi agitada à 100 rpm (agitador orbital OXYLAB, modelo OXY-305, Brasil), temperatura constante de 25 °C e pH 5,0, ajustado com ácido sulfúrico e hidróxido de sódio. Alíquotas do sobrenadante foram retiradas a cada 24 h, após o início do processo de biossorção, para determinação de cromo, sendo que o equilíbrio foi definido quando a variação da concentração da solução apresentou coeficiente de variação inferior a 5% em três medidas consecutivas.

3.2. Etapa II: Biossorção com subproduto de cervejaria em efluente sintético

3.2.1. Coleta e tratamento do biossorvente

Foi utilizado como adsorvente o subproduto de uma indústria cervejeira da cidade de Passo Fundo-RS, o qual foi coletado após o processo fermentativo e armazenado à 4 °C.

O subproduto foi lavado três vezes com água destilada, com centrifugação a 3965 g/15 min. Após a centrifugação, foram separados os sólidos residuais do processo fermentativo, a levedura e o meio líquido. A parcela contendo a levedura foi centrifugada até atingir-se concentração de sólidos de 18 % e conservada à 4 °C.

3.2.2. Encapsulação do bioissorvente em alginato de cálcio

Após o preparo do bioissorvente, a encapsulação da levedura (subproduto) utilizando-se alginato de sódio foi realizada segundo metodologia modificada de Pashova et al. (1999). Uma solução de alginato de sódio ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) 2 % (p/v) foi preparada em solução tampão fosfato 1 mol L⁻¹ pH 7,0, aquecido a 95 °C e em seguida, resfriada a 40 °C. A seguir, 50 mL de levedura com concentração de sólidos de 18% foram adicionados em 50 mL da solução de alginato de sódio, sendo homogeneizados e a mistura gotejada sobre uma solução de CaCl_2 2,0 % (p/v), permanecendo em repouso por 2 h a 4 °C. Após três lavagens sucessivas das esferas de polímero de alginato de cálcio/levedura com água destilada estéril e levadas para estufa à 50 °C até atingir massa constante. Após as esferas foram utilizadas nos ensaios de bioissorção.

3.2.3. Obtenção do biossurfactante

Os biossurfactantes utilizados nos ensaios foram obtidos através da extração dos biossurfactantes das células de leveduras *S.cerevisiae*(levedura comercial). As células foram suspensas a 20 % (massa úmida por volume) em solução de citrato de sódio 0,1 mol L⁻¹ e metabissulfito de potássio 0,02 mol L⁻¹ em pH 7,0. A mistura foi autoclavada por 2 h a 121 °C e centrifugada a 3304 g por 10 min a temperatura ambiente. Para o preparo dos biossurfactantes, três volumes de etanol 95 % contendo 1 % de ácido acético (v/v) foram adicionados ao sobrenadante por 16 h a 4 °C. O precipitado foi coletado por centrifugação a 3304 g, liofilizado e moído. Em seguida o biossurfactante foi colocado em recipiente vedado e armazenado a temperatura ambiente para o uso nos processos de bioissorção.

3.2.4. Caracterização do biossorvente e do biossurfactante

A levedura encapsulada em alginato de cálcio, a levedura *in natura* (subproduto), as cápsulas de alginato sem levedura (branco) e o biossurfactante foram caracterizados através das determinações de proteínas, lipídios, cinzas e umidade, obtendo-se carboidratos por diferença. Também foi realizada a caracterização morfológica e o estudo do ponto de carga zero do biossorvente encapsulado.

2.3.6.1. Composição centesimal

O teor de lipídios foi determinado através do método de extração contínua em aparelho tipo Soxhlet, baseado na quantificação gravimétrica do material extraído com solvente, conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

A determinação do teor de umidade foi realizada através do método gravimétrico que se baseia na determinação da umidade através da perda de massa do produto, submetido a aquecimento a 130 °C, conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

O método de Kjeldahl foi utilizado para determinar do teor de proteína, conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Este método fundamenta-se na destruição da matéria orgânica com ácido sulfúrico concentrado em presença de catalisador à altas temperaturas para a obtenção do nitrogênio protéico na forma de sulfato, o qual é tratado com solução alcalina para obtenção do nitrogênio amoniacal, posteriormente separado por destilação, absorvido em solução de ácido bórico e finalmente determinado por titulação.

E a determinação do teor de cinzas, foi realizada utilizando-se o método gravimétrico que se fundamenta na perda de massa do material submetido a aquecimento a 550 °C, conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.3.6.2. Ponto de carga zero do biossorvente

A identificação do ponto de carga zero (pHzpc) do biossorvente foi determinado utilizando um experimento dos onze pontos (HAO et al., 2004), adaptado para a *S. platensis* por ÇELEKLI et al. (2010) e Dotto et al. (2012). Primeiramente, 25 mg do

biossorvente foram adicionados em 50 mL de água destilada sob onze diferentes condições de pH inicial, variando de 1,0 até 11,0. O ajuste do pH foi realizado com H_2SO_4 e NaOH, com soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, a mistura foi agitada a 100 rpm durante 24 h. Os valores de pH inicial e final foram mensurados através de um peagâmetro (Digimed, Brasil)

Os resultados foram expressos por meio de um gráfico de pH final versus pH inicial, sendo que o ponto de carga zero corresponde ao valor em que o pH final se mantiver constante, independentemente do pH inicial.

2.3.6.3. Caracterização química e morfológica

O biossorvente e o biossurfactante foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura - MEV (TESCAN VEGA3 LMU, Republica Tcheca) e espectroscopia de energia dispersiva de raios-X - EDX (TESCAN VEGA3 LMU, Oxiford, Republica Tcheca). Para isso, as amostras foram adicionadas sobre um suporte metálico (*Stub*) e fixadas nele com fitas dupla face de carbono. A metalização das amostras foi realizada por evaporação de ouro a alto vácuo. Foram utilizadas acelerações de voltagem de 5 e 10 kV (10 kV no caso da EDX) e faixa de magnificação variando de 500 a 5000 vezes. A técnica de EDX foi utilizada ainda, para a determinação semi-quantitativa da composição elementar.

Para identificar os grupamentos funcionais presentes no biossorvente, antes e após a biossorção, foi utilizada análise de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As amostras foram submetidas à determinação espectroscópica na região do infravermelho (450-4500 nm) (PRESTIGE 21, 210045, Japão) usando a técnica de refletância atenuada total (MUZZARELLI et al., 2004).

3.2.5. Ensaio de biossorção

Esta etapa foi dividida em estudos das influências do pH e da adição de biossurfactante, e realização das isotermas de biossorção em solução aquosa.

2.3.6.4. Influências do pH e adição de biossurfactante

Os estudos de pH foram realizados para a verificação inicial da capacidade de biossorção da levedura encapsulada em alginato, na presença e ausência de biossurfactante. A partir destes testes foi definido o pH ideal dos testes posteriores.

Nestes ensaios, o pH de uma solução contendo 50 mg L^{-1} de metal (Cr, Cd ou Pb) foi ajustada para valores de 2 a 10, com soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 e NaOH em érlenmeyer com 50 mL de solução. Após, foi misturado 0,10 g de biossorvente a solução. A mistura foi mantida em agitador orbital à 100 rpm com temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h, quando alíquotas do sobrenadante foram retiradas para a quantificação do metal. Nos testes usando biossurfactante, 1 mL de uma solução mãe com 50 g L^{-1} de biossurfactante era adicionada a mistura contendo a solução de metal e o biossorvente.

2.3.6.5. Isotermas de biossorção

Nas melhores condições observadas nos testes anteriores, item 3.2.5.1., foram construídas as isotermas de biossorção para os metais cádmio, cromo (VI) e chumbo. Essa etapa foi realizada em erlenmeyers de 300 mL contendo 100 mL de soluções dos metais, com concentrações variando entre $37,5 \text{ mg L}^{-1}$ e 300 mg L^{-1} (sendo estas concentrações obtidas por diluições sucessivas de soluções mãe com 300 e 200 mg L^{-1}) adicionando-se 0,1 g do biossorvente e 1 mL da solução de biossurfactante. Os ensaios foram mantidos em agitador orbital (marca OXYLAB, modelo OXY-305, Brasil) a 100 rpm e temperatura constante de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. A cada 24 h a concentração do metal era avaliada em uma alíquota do sobrenadante. O equilíbrio foi definido quando a variação da concentração de metal inferior a 5 % em duas medidas consecutivas.

Para o metal cromo (VI) foi realizado estudo para analisar o efeito da elevação da temperatura na capacidade de biossorção do biossorvente. Foi utilizada a temperatura de $35 \text{ }^\circ\text{C}$, a concentração do metal variou de $37,5 \text{ mg L}^{-1}$ à 300 mg L^{-1} , com 0,1 g de biossorvente e 0,005 g de biossurfactante, mantidos à 100 rpm em agitador orbital.

3.3. Etapa III: Biossorção de cromo (VI) em efluente real

O efluente real utilizado nos ensaios de biossorção foi proveniente do Laboratório de Análises de Solo da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF). O efluente foi coletado por amostragem simples no pico de gerações de efluentes contaminados por cromo (VI). A coleta foi realizada após a caixa separadora de sólidos, existente no sistema de efluentes do laboratório. O efluente foi transportado em recipiente plástico até o laboratório e armazenados em refrigerador a 4 °C até a caracterização e/ou uso. O efluente foi caracterizado quanto ao pH, demanda química de oxigênio (DQO) e concentração de cromo (VI), seguindo a metodologia descrita em APHA(2000).

A partir do efluente real foi construída a isoterma de biossorção em condição semelhante à obtida nos experimentos anteriores (item 3.2.5.2., isotermas com solução aquosa). Nesta etapa, para evitar a diluição de interferentes que poderiam afetar a biossorção, a isoterma foi construída pelo método de variação da massa de biossorvente usando de 0,02 g a 0,2 g de biossorvente em 100 mL de efluente. Da mesma forma, a mistura foi mantida em agitador orbital a 100 rpm e temperatura constante de 25 °C.

3.4. Determinações analíticas

O cromo (VI) foi determinado pelo método da 1,5- difenilcarbazida (APHA, 2000). As amostras com cádmio e chumbo foram determinadas através do método 3050B (U. S. Environmental Protection Agency) e as concentrações determinadas através de absorção atômica (espectrofotômetro Analyst 200-Perkin Elmer, Estados Unidos), no Laboratório de Solos da Universidade de Passo Fundo.

3.5. Tratamento dos resultados

A capacidade de biossorção (q_e) foi determinada de acordo com a Equação 4, e os resultados obtidos foram analisados segundo os modelos de isotermas de Langmuir, Freundlich e BET, de acordo com as equações 1, 2, 3 apresentadas no Capítulo 2-Revisão Bibliográfica.

$$q_e = \frac{C_o - C_f}{m} V \quad (4)$$

onde, C_o e C_f são as concentrações inicial e final na fase líquida (mg L^{-1}), m é a massa de biossorbente (g) e V é o volume da suspensão (L).

Os modelos sugeridos foram ajustados aos dados experimentais usando o método de regressão não-linear do software Statistica 6.0 (Statsoft, USA), utilizando o algoritmo de Levenberg–Marquardt (PICCIN, 2013). Este método interpola entre métodos clássicos, como Gauss-Newton e gradiente descendente, e teve como objetivo a minimização da soma dos quadrados dos erros (função objetivo, Eq. 5).

$$SQ = \sum (y_{exp} - y_{mod})^2 \quad (5)$$

onde, SQ é a soma dos quadrados, y_{exp} é o valor experimental e y_{mod} é o valor modelado da variável dependente. Após os cálculos dos coeficientes dos modelos, foram determinados o Erro relativo médio (Erro) e o coeficientes de regressão (R^2), pelas Equações 6 e 7, respectivamente.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_{mod}^i - y_{exp}^i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_{exp}^i - \bar{y}_{exp})^2} \quad (6)$$

$$Erro = \frac{100(\%)}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|y_{mod}^i - y_{exp}^i|}{y_{exp}^i} \quad (7)$$

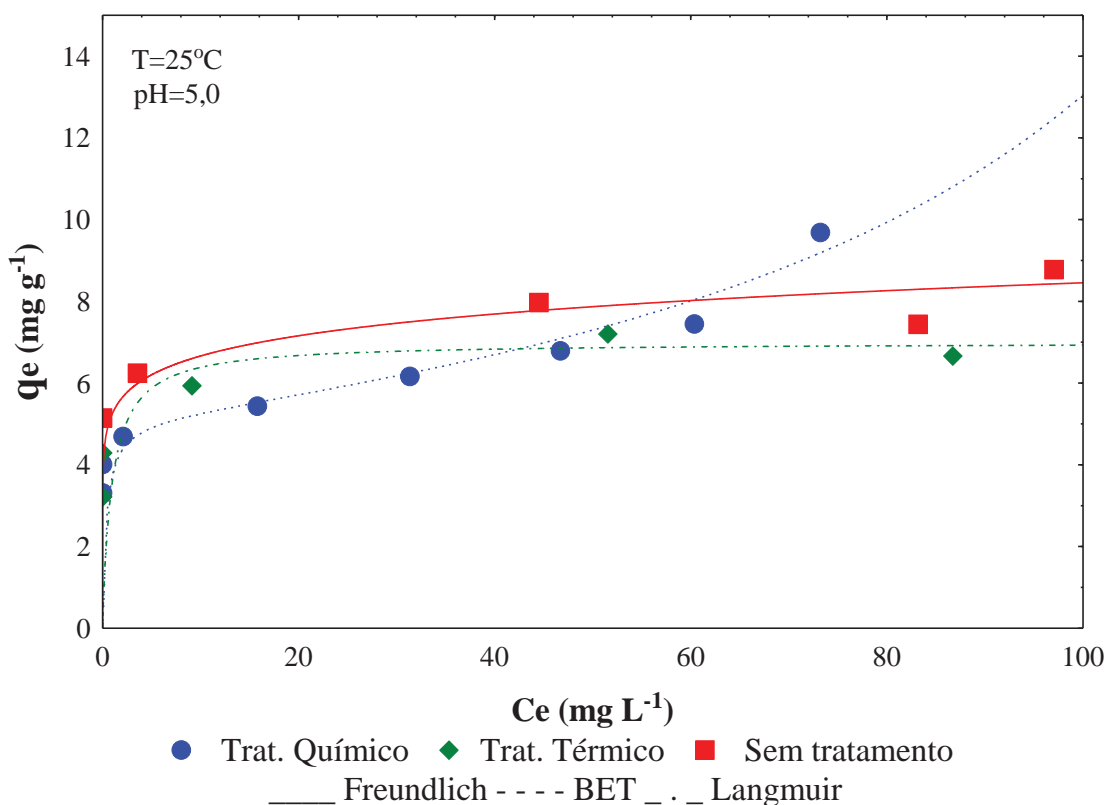
Sendo y_{exp}^i a média do valor experimental observado nos n dados experimentais e n o número de pontos avaliados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Etapa I: Biossorção de cromo (VI) por levedura comercial

Os ensaios de equilíbrio de biossorção para os tratamentos foram realizados m pH 5,0 (DEON, 2012) e temperatura constante de 25 °C. O equilíbrio de adsorção foi atingido (coeficiente de variação entre os percentuais de remoção inferior a 5%) nas biomassas com e sem o tratamento térmico após 12 dias de contato. Para a biomassa tratada quimicamente o equilíbrio foi observado aos 5 dias de contato. As linhas sólidas apresentadas na Figura 4 representam o ajuste desses modelos aos dados experimentais de biossorção de cromo (VI) para os tratamentos estudados.

Figura 4 - Isotermas de biossorção de cromo (VI) por *Saccharomyces cerevisiae* com tratamentos químico, térmico e sem tratamento



As isotermas apresentaram elevadas capacidades de adsorção mesmo em baixas concentrações de equilíbrio (início da curva) (Figura 4). Conforme Giles et al.(1960) essa característica é observada quando tem-se alta afinidade entre o adsorbato e o adsorvente. Ainda, segundo o mesmo autor e de acordo com a Figura 2, as isotermas

classificam-se como H2, para a levedura sem tratamento e tratada termicamente, e H3 para a isoterma da levedura tratada quimicamente. Enquanto a classificação H corresponde a isotermas de alta afinidade, a subclasse 2 corresponde a uma curva de equilíbrio que atinge um determinado patamar de capacidade, correspondente a máxima capacidade de adsorção da monocamada. Já a subclasse 3 corresponde a uma curva de equilíbrio que após atingir um determinado patamar a capacidade de adsorção volta a aumentar, devido a formação de multicamadas, por processos de saturação ou precipitação superficial (PICCIN et al., 2013). Em uma determinada concentração, atinge-se a concentração de saturação superficial, fazendo com que a curva tenha uma assíntota vertical, com a capacidade de adsorção que tende ao infinito. Em gases, e alguns sólidos solúveis, esta concentração corresponde a concentração de saturação (ou condensação do gás), mas pode ser alterada devido a interações adsorbato-adsorbato ou adsorbato-adsorvente (EBADI, et al., 2009; PICCIN et al., 2013).

A partir das curvas de equilíbrio obtidas e os modelos propostos na revisão bibliográfica desse trabalho, os modelos foram ajustados aos dados experimentais. A Tabela 2 apresenta os valores dos parâmetros dos modelos ajustados aos dados experimentais, sendo que os modelos empíricos para sistemas de soluto simples usados para descrever o equilíbrio da biossorção são os modelos de Langmuir, Freundlich e Brunauer-Emmett-Teller (BET).

Para os estudos de biossorção de cromo (VI) realizados com a levedura *S.cerevisiae* sem tratamento, observa-se que os modelos que apresentaram ajuste satisfatório aos dados foram as isotermas de Freundlich e BET. O modelo de Freundlich apresentou elevado fator de heterogeneidade (n_f), o qual pressupõe que o metal ao se adsorver forme monocamadas e que a superfície apresente heterogeneidade (ANNADURAI, 2002) ou ainda que exista interação entre as moléculas da camada adsorvida.

Para os estudos realizados com a levedura após o tratamento térmico, a isoterma apresentou ajuste satisfatório aos modelos de Langmuir e BET. O modelo ajustado segundo BET apresentou valores de k_2 próximos de zero, que simplifica matematicamente a equação, que se torna igual ao modelo de Langmuir. Este comportamento indica que são observadas capacidades de adsorção elevadas na fase sólida com baixas concentrações de soluto na fase líquida, devido à alta afinidade entre as moléculas de cromo (VI) e a superfície da célula (PICCIN et al., 2013).

Tabela 2 - Valores dos parâmetros dos modelos de isotermas de biossorção de cromo (VI) pela *S.cerevisiae* com tratamento químico, térmico e sem tratamento

Parâmetros	Sem Tratamento	Térmico	Químico
Langmuir			
k_L (L mg ⁻¹)	1,574	1,044	1,074
q_m (mg g ⁻¹)	8,050	7,008	6,842
R^2	0,774	0,929	0,625
Erro (%)	7,122	7,064	11,344
Freundlich			
k_f (mg L ^{1/n} g ⁻¹ mg ^{-1/n})	5,251	4,019	3,546
n_f	9,669	7,839	5,192
R^2	0,890	0,894	0,827
Erro (%)	4,398	8,418	10,879
BET			
k_1 (L mg ⁻¹)	3,298	1,194	2,664
k_2 (L mg ⁻¹)	0,002	$7,38 \cdot 10^{-4}$	0,006
q_m (mg g ⁻¹)	6,696	6,601	5,009
R^2	0,906	0,937	0,942
Erro (%)	3,565	6,198	6,711

No modelo de Langmuir as capacidades de adsorção foram equivalentes tanto em baixas quanto em elevadas concentrações de equilíbrio. Ainda de acordo com este modelo o adsorvente possui sítios específicos, e quando uma molécula atinge determinado sítio nenhuma adsorção adicional pode ocorrer naquele local, possuindo capacidade limitada de adsorção. Sendo assim, o tratamento térmico expôs os sítios específicos, ao romper as células, facilitando a biossorção do metal, mas com capacidade limitada devido a sua especificidade, não atingindo a máxima capacidade de adsorção de 8,05 mg g⁻¹ de cromo (VI) obtida com a levedura sem tratamento, atingindo um valor inferior de 7 mg g⁻¹.

Para a levedura tratada quimicamente, o modelo de isoterma BET foi a que apresentou maior ajuste dos dados experimentais, classificada por Giles et al. (1960) como H3, pressupõe que o metal adsorva a biomassa como a de isoterma de Langmuir, mas a partir da saturação da monocamada forme multicamadas entre si, adsorvendo

mais metal. Neste caso, observou-se uma capacidade da monocamada de 5 mg g^{-1} , que é inferior aos demais. Entretanto, verifica-se na Figura 4 que em concentrações superiores a 60 mg L^{-1} a capacidade de adsorção da biomassa com tratamento químico supera às demais, devido a formação de multicamadas.

Este aumento na capacidade de adsorção devido ao tratamento químico pode estar relacionado a facilidade de remoção de polissacarídeos da parede celular (ZHANG et al., 2010), possibilitando a ligação do metal à biomassa nos grupos funcionais carboxil, hidroxil e fosforil devido a destruição das enzimas autolíticas (LU; WILKINS, 1996). Isto resulta em uma maior liberação desses grupos funcionais e, conseqüentemente, uma maior adsorção, já que além dos grupos presentes na parede celular, após o tratamento estão disponíveis também sítios de ligação antes enclausurados dentro da célula, como reportado por Zhang (2010), Lu e Wilkins (1996), Göksungur et al. (2005). A remoção destes grupos funcionais diminui fortemente a capacidade de adsorção da biomassa (PARVATHI et al., 2007).

Analisando-se os resultados obtidos com os tratamentos térmico e químico, observa-se que as capacidades de biossorção não superaram a obtida com a levedura sem tratamento, não justificando a utilização dos tratamentos. Além disso, os tratamentos são complicados de serem realizados e agregam custos ao processo de remoção de metais, dificultando a sua utilização industrial no tratamento de efluentes. Para os três modelos de isotermas ajustados aos dados de equilíbrio, a capacidade máxima foi atingida com a levedura sem tratamento, isso demonstra o potencial da levedura *S.cerevisiae* de ser usada na sua forma *in-natura*. Desta forma, na sequência dos ensaios experimentais, o resíduo da indústria cervejeira foi utilizado como biossorvente sem a realização de tratamento químico e térmico.

4.2. Etapa II: Biossorção com subproduto de cervejaria em efluente sintético

4.2.1. Composição centesimal dos biossorventes

A Tabela 3 apresenta os resultados da caracterização do subproduto utilizado como biossorvente, na sua forma *in-natura* e encapsulado em alginato de sódio, além do branco (água encapsulada em alginato de sódio) e do biossurfactante.

Tabela 3 - Composição centesimal do subproduto utilizado como bioissorvente e do bioissorfactante

	Lipídios	Umidade(%)	Cinzas(%)	Proteínas	Carboidratos
Levedura cervejeira	0,93±0,07	82,19±0,01	0,57±0,01	7,26±0,02	9,04±0,01
Cápsulas de alginato	-	94,86±0,01	2,40±0,01	-	2,74±0,01
Levedura encapsulada	0,78±0,25	12,06±0,01	12,17±0,01	15,27±0,30	59,72±0,02
Bioissorfactante	0,67±0,04	22,44±0,02	11±0,01	39,2±1,94	26,67±0,04

Média ± desvio padrão, n=3

Os resultados apresentados na Tabela 3 demonstram que os elevados percentuais de umidade obtidos no subproduto. Em estudos realizados por Darpossolo (2010), com a levedura *S.uvarum*, subproduto de indústria cervejeira, a concentração de sólidos encontrada foi de 18 %, mesmo valor obtido neste estudo, mostrando que os subprodutos destas indústrias apresentam características semelhantes. Em diversos estudos realizados para determinar a composição centesimal da levedura cervejeira *Saccharomyces sp.*, observou-se em média, em base seca, 40-50 % de proteínas, 3-5 % de lipídios, 30-50 % de carboidratos e 4-8 % de cinzas (CABALLERO-CÓRDOBA et al., 1997; SGARBIERI et al., 1999; THAMMAKITI et al., 2004), valores semelhantes aos obtidos neste estudo, se calculados em base seca, onde obteve-se 5 % de lipídios, 3 % de cinzas, 41 % de proteínas e 51 % de carboidratos.

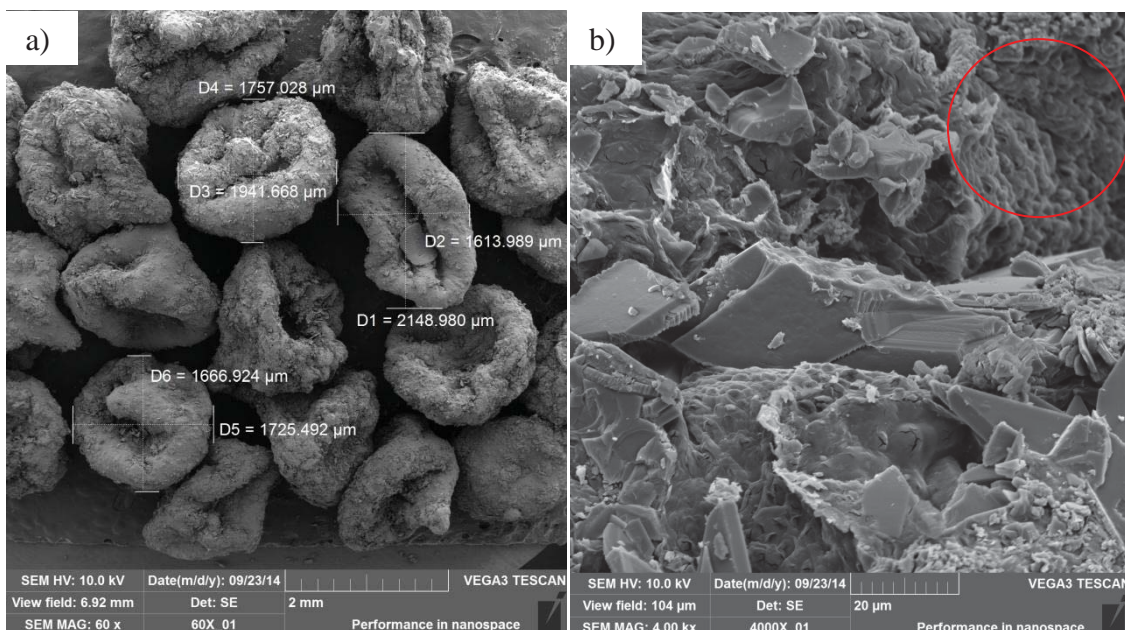
A levedura encapsulada (bioissorvente) após processo de secagem a 50 °C durante 8 h, conforme era utilizada nos ensaios de bioissorção, apresentou elevação no teor de devido a presença de cálcio e potássio no meio de encapsulação utilizado, pois são minerais que não são degradados no processo de queima da matéria orgânica.

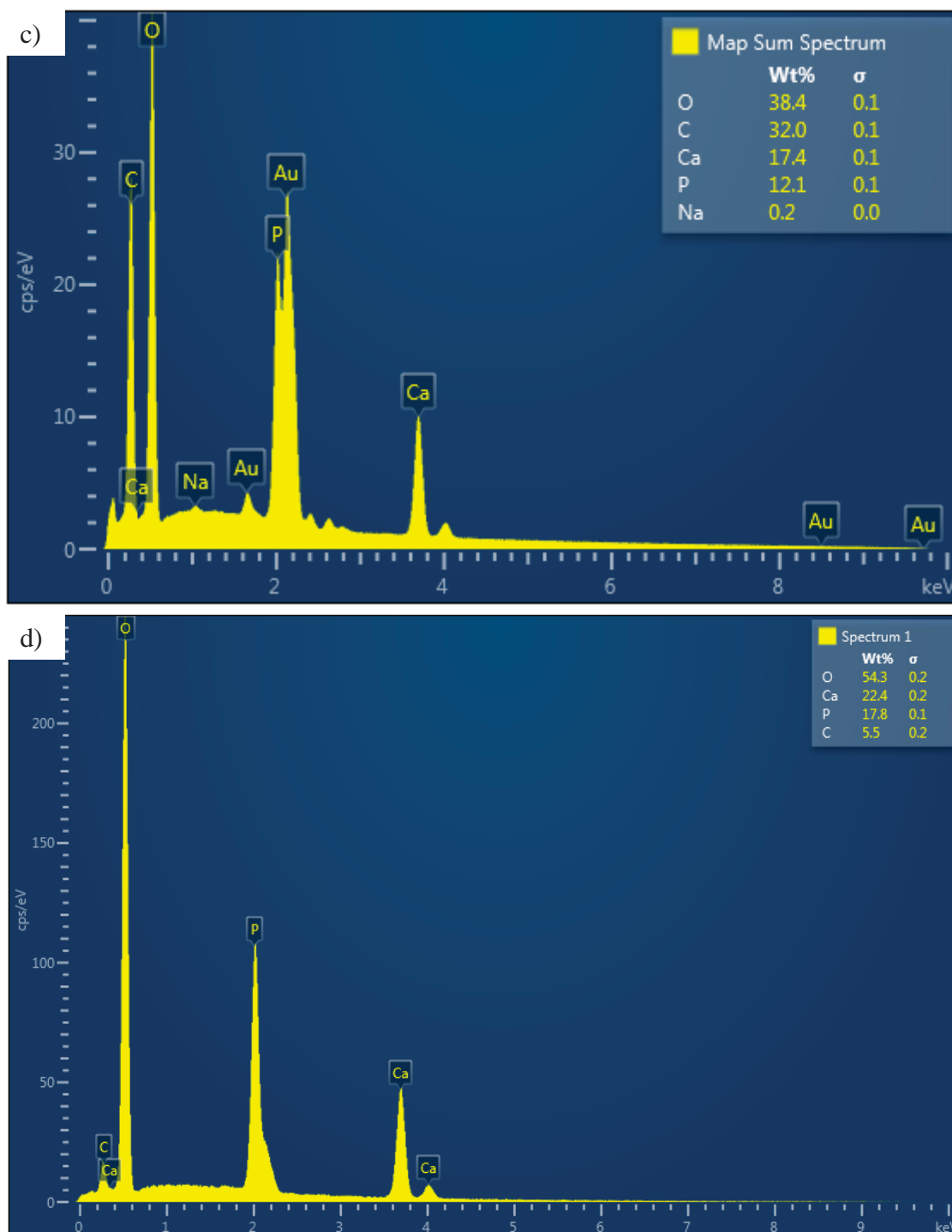
A presença de alto teor de cinzas na caracterização do bioissorfactante provavelmente se deve a presença de resíduos da parede celular que não foram eliminados durante o processo de obtenção, sendo que o valor esperado é em torno de 4 % (SGARBIERI et al., 1999).

4.2.2. Análises química e morfológica do biossorbente

A Figura 5 mostra imagens do biossorbente antes do processo de biossorção, analisados por MEV e EDX. As micrografias por MEV mostram as superfícies das cápsulas de alginato com a levedura *S. cerevisiae*, onde pode-se observar que o tamanho médio das partículas é de $1,81 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$ (Figura 5a). Após o aumento de 4000 vezes observa-se que a cápsula do biossorbente apresenta superfície irregular, com pequenas elevações que pode estar associadas à presença de resíduos do processo fermentativo industrial, permanecendo após o processo de preparação do biossorbente (Figura 5b- Spectrum 1). Ainda, analisando a Figura 5b, a cápsula apresenta uma superfície regular e porosa, onde não são observados resíduos do subproduto, identificado no canto superior direito.

Figura 5 - Micrografias Eletrônicas de Varredura (MEV) (a; b) e Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDX) (c) do biossorbente e (d) pontual





A Figura 5c mostra os resultados relativos à caracterização semi-quantitativa obtida através da técnica de EDX, verificando a presença de oxigênio (38,4 %), carbono (32 %), cálcio (17,4 %), fósforo (12,1 %) e uma pequena quantidade de sódio (0,2 %). A presença de cálcio, fósforo e sódio é justificada devido ao uso do alginato de sódio e cloreto de cálcio no encapsulamento. O fósforo além de ser adicionado como tampão fosfato durante o encapsulamento, é um macronutriente presente nas células de

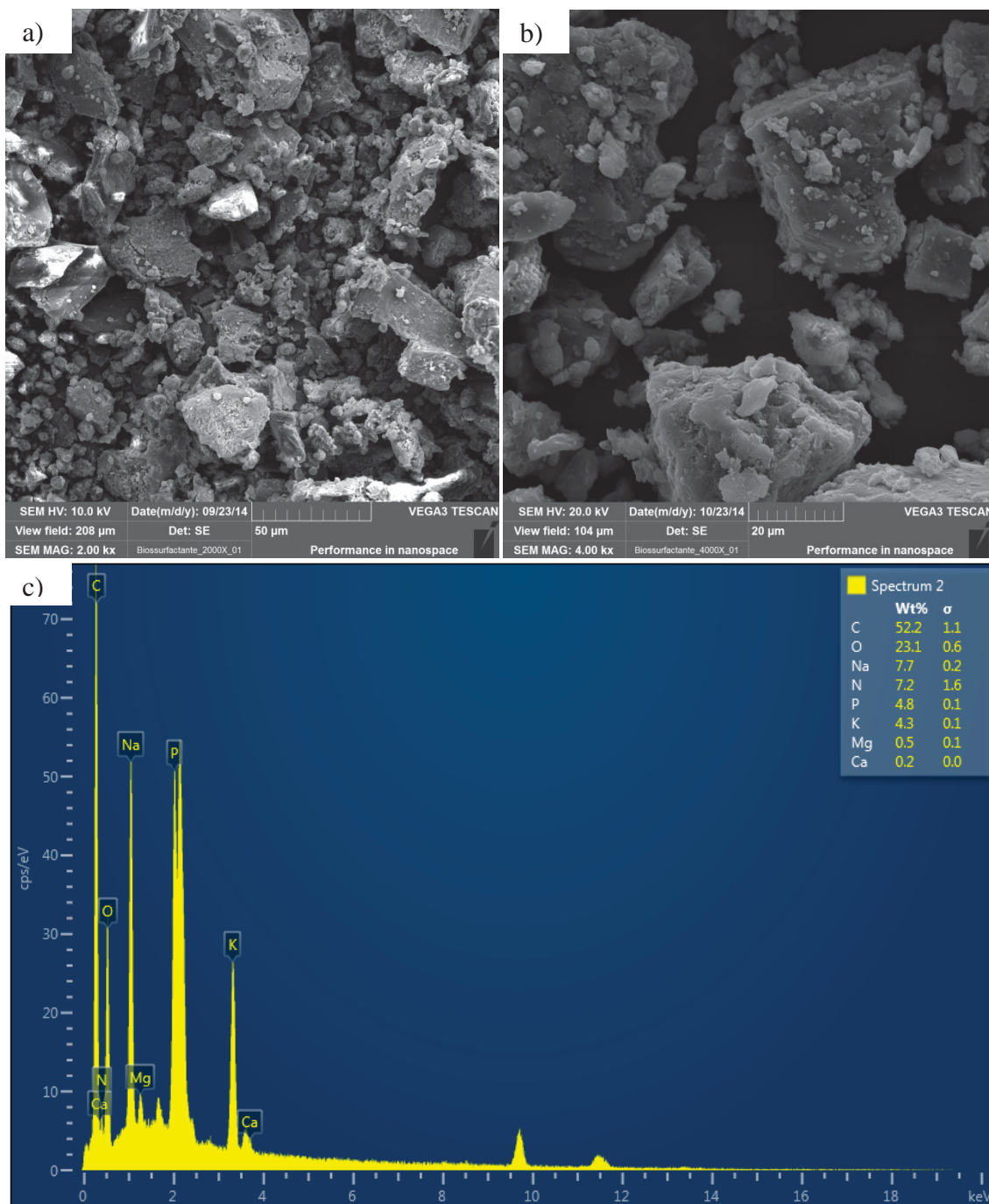
leveduras, assim como o nitrogênio, hidrogênio e enxofre, sendo que estes últimos não foram identificados na análise por possuírem bandas próximas a outros elementos, ou quantidades muito pequenas e ainda por estarem no interior da cápsula.

Os valores da composição molecular obtido neste trabalho são um pouco diferentes, inicialmente por ser uma caracterização semi-quantitativa e também pelo fato que a composição das leveduras varia em função de diversos fatores, como o substrato no qual é cultivada, a espécie da levedura, o método de fermentação, o modo e as condições de secagem e a idade das células (DESMONTS, 1968). Além destes fatores, citam no processo de obtenção da levedura de recuperação, as lavagens sucessivas com água, com o objetivo de eliminar as impurezas do processo fermentativo, podem ocasionar mudanças no que se refere à composição das leveduras (GUIRALDINI; ROSSELL, 1997).

Na Figura 5d observa-se o espectro de EDX pontual, sendo realizado em pontos específicos do bioissorvente, como as irregularidades da superfície da cápsula. Nesta análise química pontual, observou algumas mudanças nos elementos químicos presentes e em sua quantidades, como é o caso do carbono que apresentou apenas 5,5 % da composição total, muito abaixo da encontrada na análise completa da superfície do bioissorvente. Também observou-se a elevada concentração de cálcio (22,4 %) que pode estar ligada ao meio encapsulante, que não conseguiu realizar todas as ligações possíveis com o alginato, devido ao excesso de cálcio presente no solução de cloreto, solução de gotejamento da levedura misturada com o alginato de sódio. É provável que ao longo do processo de bioissorção ele se desprenda da cápsula, isto foi verificado na análise de MEV realizada após o processo de bioissorção, o que será apresentado posteriormente.

A Figura 6 mostra imagens do bioisurfactante, analisadas por MEV e EDX. Observa-se que as partículas do bioisurfactante apresentam grandes variações no tamanho das partículas, mas são pequenas, o que pode auxiliar no processo de bioissorção pela sua adesão a cápsula da levedura e pela sua capacidade de formar complexos com metais. Os metais que estão em solução são desorvidos para a solução aquosa devido à redução da tensão superficial formando o complexo metal-bioisurfactante, que podem formar moléculas com tamanhos maiores, tornando-se mais fáceis de serem adsorvidas, por possuírem cargas iônicas capazes de realizar ligações.

Figura 6 - Micrografias Eletrônicas de Varredura (MEV) e Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDX) do biossurfactante



O biossurfactante produzido e extraído da levedura *S.cerevisiae* é conhecido como manoproteína. As manoproteínas representam de 20 a 23 % do peso seco da parede celular (KLIS, 1994) e são compostas por cadeias curtas de manose ou cadeias longas com alta concentração de manoses fosforiladas, unidas a proteínas por ligações tipo O ou tipo N, respectivamente (KITAGI et al., 1997).

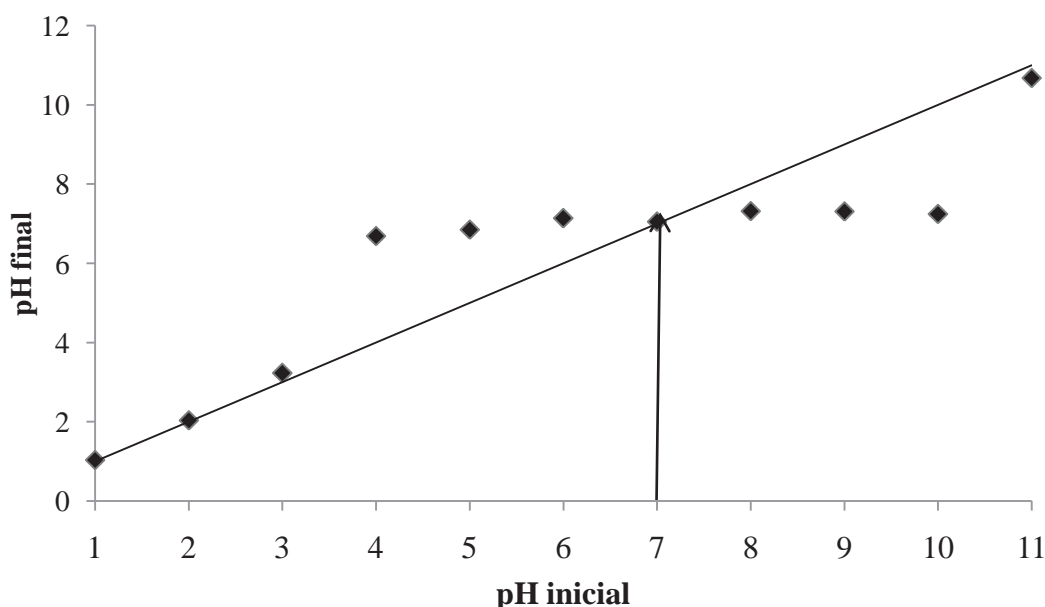
Com a análise de EDX realizada, Figura 6c, foi possível gerar a caracterização semi-quantitativa do biossurfactante, onde foram encontradas quantidades de carbono (52,2 %), oxigênio (23,1 %), sódio (7,7 %), nitrogênio (7,2 %), fósforo (4,8 %), potássio (4,3 %), magnésio (0,5 %) e cálcio (0,2 %), demonstrando a grande variedade de nutrientes presentes na manoproteína, e concordando com os resultados obtidos por Costa et al.(2012) com o extrato da manoproteína da levedura *Saccharomyces sp.* descartada em cervejaria.

Utilizando o fator de conversão de nitrogênio em proteína ($7,2 \times 6,25$), obteve-se um percentual de 45 % de proteínas, valor próximo ao encontrado na determinação de proteínas do biossurfactante da composição centesimal (Tabela 3).

4.2.3. Estudo do ponto de carga zero

A Figura 7 apresenta o gráfico do pH final em relação ao pH inicial, o qual foi utilizado para a determinação do ponto de carga zero (pH_{Zpc}) da *S.cerevisiae* encapsulada em alginato de sódio.

Figura 7 - Ponto de carga zero da levedura *S.cerevisiae* encapsulada



Como pode ser observado na Figura 7, o ponto de carga zero (pH_{Zpc}) da levedura *S.cerevisiae* (subproduto) encapsulada em alginato foi pH_{Zpc}=7,0, o que significa que neste pH a superfície do biossorbente tem carga neutra, sendo assim, pode-

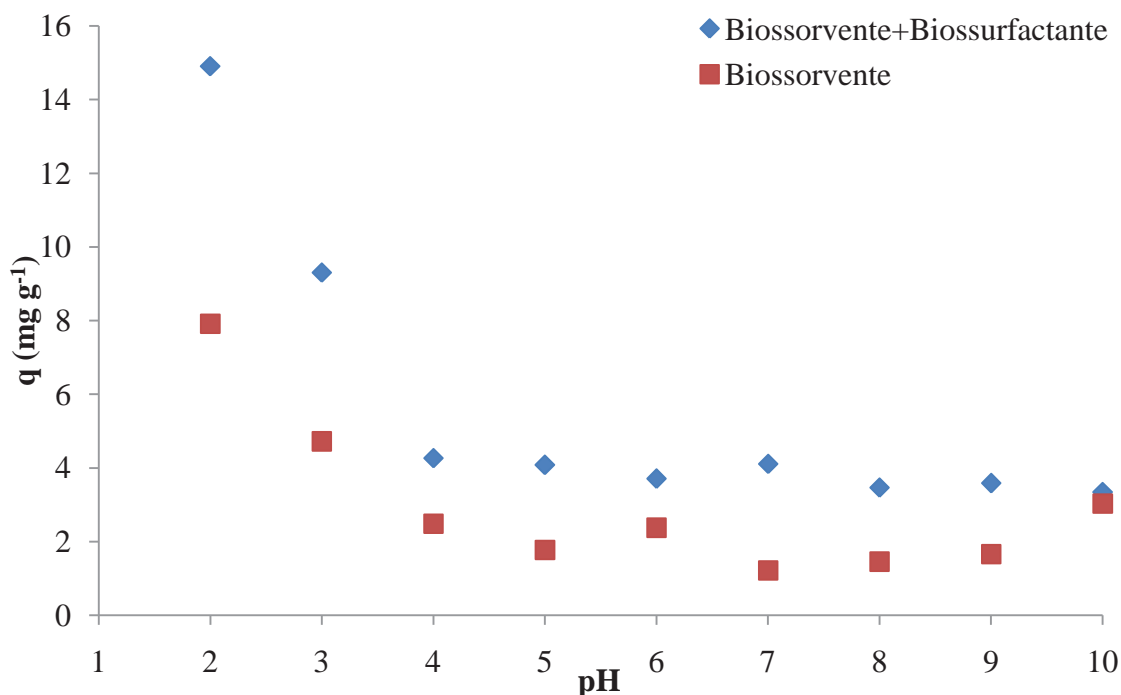
se dizer que em valores de pH maiores do que 7,0, a levedura encapsulada possui carga negativa, devido a interação de íons OH^- com o adsorvente, enquanto que, em valores de pH menores de 7,0, o encapsulado está carregado positivamente, devido a presença de H^+ (HAO et al., 2004; ÇELEKLI et al., 2010). Assim, para os estudos com cádmio e chumbo, a adsorção das espécies metálicas presentes em solução na forma positiva será favorecida no pH em que espécies negativas predominem na superfície do biossorvente, entretanto muitas espécies metálicas podem sofrer hidrólise e precipitarem tanto no meio da solução como na superfície do adsorvente.

Ainda com base nos resultados obtido através do estudo de ponto de carga zero, a adsorção dos íons metálicos que estão presentes no meio aquoso na forma de cátions depende da presença de grupos aniônicos na superfície do biossorvente. Considerando que a superfície do biossorvente apresentou um pH_{zpc} igual a 7,0; espera-se que para valores de pH menores que este os grupos superficiais ionizáveis estarão protonados, gerando uma carga líquida positiva que pode causar repulsão entre a superfície e os cátions em solução, favorecendo a adsorção de metais com carga negativa, como é o caso do cromo (VI), que se dissocia na forma aniônica, mas desfavorece a adsorção de metais que se dissociam com cargas positivas como é o caso do cádmio e chumbo. Ao contrário, para valores de pH mais altos, predomina a presença de grupos com carga negativa na superfície do biossorvente, favorecendo a aproximação dos cátions metálicos (MIMURA et al., 2010), como o Cd^{2+} e Pb^{2+} .

4.2.4. Influência do pH e do biossurfactante sobre a adsorção

Na Figura 8, estão apresentados os efeitos do pH sobre a capacidade de biossorção de cromo (VI) após 24 h de ensaio com biossorvente na presença e ausência do biossurfactante. Desta forma, a levedura encapsulada com alginato de sódio foi comparada com ela mesma adicionada de biossurfactante.

Figura 8 - Efeito do pH sobre a capacidade de biossorção de Cr (VI) da levedura encapsulada em alginato de sódio e com adição de biossurfactante



Verifica-se em ambas as curvas um aumento na remoção de cromo (VI) em pH baixos, devido a maior disponibilidade de sítios de ligação na superfície das células, facilitando assim a biossorção do cromo (VI), enquanto em pHs elevados os metais podem precipitar na forma de colóides de hidróxido, resultando na diminuição das taxas de biossorção, sendo o pH 2,0 o que apresentou os melhores resultados.

Isso ocorre pois a medida que o pH diminui, a carga da parede celular torna-se positiva, inibindo a aproximação de íons positivos e favorecendo a aproximação dos íons negativos, aumentando assim, a capacidade de biossorção desses íons, conforme observado por Wase e Forster (1997). Este efeito pode ser explicado pelo aumento da ligação dos prótons aos sítios ativos, tornando a superfície carregada positivamente atraindo os ânions; como o cromo hexavalente apresenta-se como um cromato, na forma aniônica ($\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$), a carga positiva na superfície do adsorvente favorece a ligação com o cromo (VI).

Outros estudos realizados por Hlihor et al. (2013); Anandkumar e Mandal (2011), também obtiveram resultados semelhantes para a capacidade máxima de biossorção de cromo (VI) a pH baixos, próximos de 2,0.

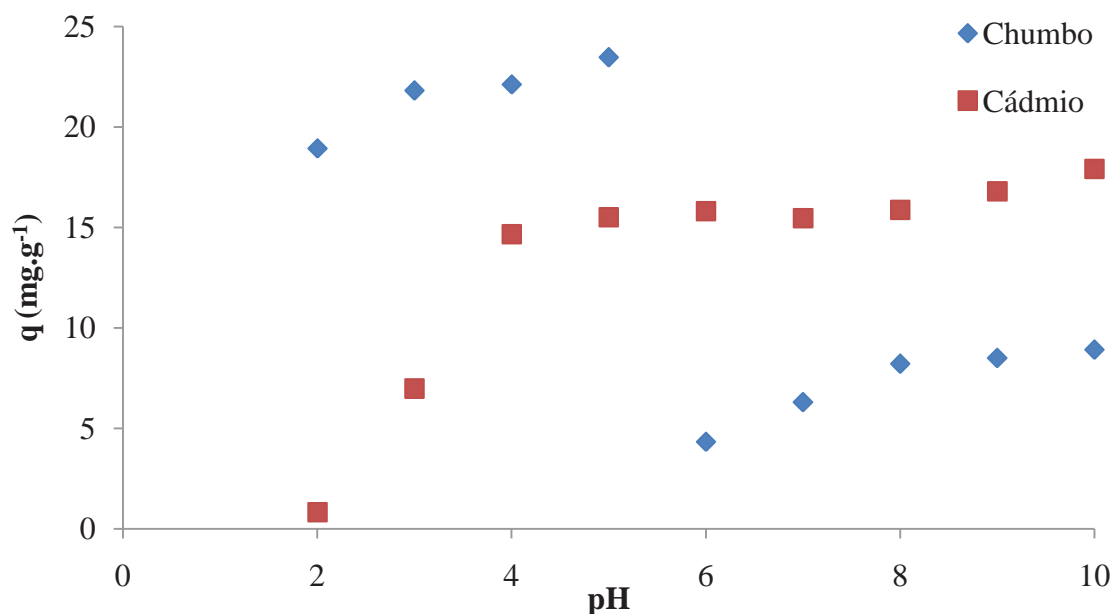
A capacidade de biossorção do cromo (VI) pela levedura encapsulada foi de 14,9 mg g⁻¹ em pH 2,0 quando o biossurfactante foi adicionado. Nos ensaios com pH acima de 2,0, a carga positiva sobre a superfície do adsorvente é diminuída e, em decorrência, reduz a capacidade de adsorção do adsorvente carregado negativamente (CrO₄²⁻), outros autores como MOHAMED, 2004 e BARAL et al. 2006 obtiveram resultados semelhantes.

Em comparação com a capacidade de adsorção nos ensaios sem biossurfactante, observou-se uma elevação na capacidade de biossorção de cromo (VI) de 7,9 mg g⁻¹ para 14,9 mg g⁻¹. Este aumento é justificado pela interação do biossurfactante com a superfície da célula o que aumenta a hidrofobicidade da superfície permitindo que substratos hidrofóbicos possam se associar mais facilmente com o material adsorvente. Ao diminuírem a tensão superficial entre o metal e o efluente, este torna-se mais disponível para a adsorção, conforme também foi observado por MULLIGAN; GIBBS (2004).

Assim o biossorvente quando imobilizado em alginato apresenta vantagens, em relação às células livres, para o tratamento de resíduos, uma vez que a maior parte das águas residuais contaminadas por metais tóxicos tem um pH ácido (PARK et al., 1997), o que causaria a desnaturação das células das leveduras e comprometendo sua capacidade de biossorção.

O pH ótimo de biossorção é diferente para cada metal estudado, nesse sentido foi realizado um estudo para cada um dos metais cádmio e chumbo. Como os resultados anteriores com cromo (VI) demonstraram a importância da adição de biossurfactante, o estudo do pH para o cádmio e o chumbo foi realizado somente nesta condição. Na Figura 9 estão apresentados os resultados de capacidade de biossorção em função do pH para estes metais. Visto que o efeito de pH é uma das variáveis mais importantes do processo quando se considera o tratamento de águas residuais contaminadas com metais tóxicos, por causa da sua influência sobre a solubilidade do metal ou do grau de dissociação de grupos funcionais localizados sobre a superfície adsorvente.

Figura 9 - Efeito do pH na capacidade de biossorção dos íons de Pb e Cd pelo biossorvente



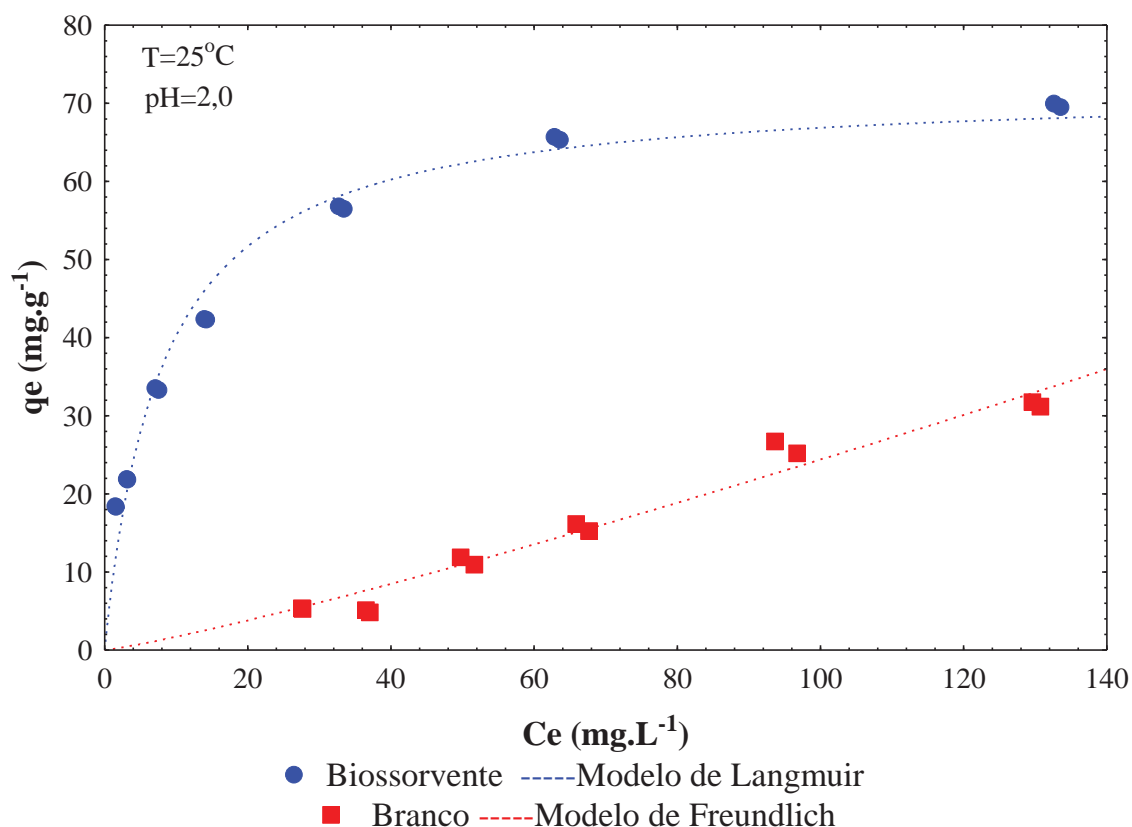
Na Figura 1, para o cádmio, observou-se um aumento na capacidade de biossorção a medida que o pH foi sendo elevado, sendo que os melhores resultados foram obtidos em valores de pH superiores a 4,0, mantendo-se igual até o pH 10. O pH 5,0 foi escolhido para a construção da isoterma de biossorção apresentando capacidade de biossorção de 15,5 mg g⁻¹. Para Jiang et al., (2012) e Pino; Torem (2011) que realizaram estudos semelhantes, o pH 5,0 se mostrou o mais adequado para a realização dos ensaios de biossorção de cádmio, pois a superfície do biossorvente já apresenta cargas aniônicas permitindo a ligação com o cátion de Cd.

Para a adsorção de chumbo, o estudo de pH indicou que a capacidade máxima de biossorção 23,4 mg g⁻¹ foi atingida em pH 5,0, diminuindo a medida que o valor do pH foi se tornando básico, este resultado foi encontrado de forma semelhante por Lee et al. (2009), Eker et al. (2008), Gong et al.(2005) e Ferreira et al. (2011). Com base nestes resultados, foi escolhido o pH 5,0-5,5 para a construção das isotermas de cádmio e chumbo, por este pH favorecer a dissociação de grupos funcionais, e, em seguida, a ligação dos íons metálicos na superfície da célula, evitando a precipitação destes metais.

4.2.5. Isotermas de Biossorção

Para avaliar o potencial de biossorção da levedura encapsulada em alginato de sódio na presença de biossurfactante e pH 2,0, foi realizada a construção das isotermas de adsorção de cromo (VI) com a levedura encapsulada (biossorvente) e com a cápsula de alginato sem a levedura (branco). O equilíbrio da adsorção para o branco foi atingido após 14 dias de contato, enquanto que a levedura encapsulada o equilíbrio foi atingido após 11 dias de contato. A Figura 10 apresenta os dados de equilíbrio do biossorvente e das cápsulas de alginato.

Figura 10 - Isoterma de biossorção de cromo (VI) por *S.cerevisiae* encapsulada (biossorvente) e com a cápsula sem levedura (branco)



Na Figura 10 a isoterma com o biossorvente apresenta alta capacidade de adsorção mesmo em baixas concentrações de equilíbrio, resultado este devido à alta afinidade do biossorvente pelo cromo (VI). Para a isoterma realizada com o branco, observa-se baixas capacidades de adsorção iniciais, mantendo-se paralelo com a concentração inicial, aumentando à medida que a mesma aumenta. Além disso, a

isoterma do branco é classificada por Webber e Chara (1974) como sendo desfavorável ao processo de adsorção. Se comparado às capacidades de adsorção, na faixa de estudo o bioissorvente proposto teve maior capacidade que o branco, demonstrando que a presença de levedura é fundamental para o aumento da capacidade de adsorção.

A Tabela 4 apresenta os valores dos parâmetros dos modelos ajustados aos dados experimentais, sendo que os modelos empíricos para sistemas de soluto simples usados para descrever o equilíbrio da bioissorção são os modelos de Langmuir, Freundlich e BET.

Tabela 4 - Valores dos parâmetros dos modelos de isotermas de adsorção de cromo (VI) pelo bioissorvente e o branco

Parâmetros	Bioissorvente	Branco
Langmuir		
k_L (L mg ⁻¹)	0,126	-
q_m (mg g ⁻¹)	72,171	-
R^2	0,97	-
Erro (%)	8,87	-
Freundlich		
k_f (mg L ^{1/n} g ⁻¹ mg ^{-1/n})	19,215	0,12
n_f	3,57	0,867
R^2	0,95	0,964
Erro (%)	9,92	6,4
BET		
k_1 (L mg ⁻¹)	0,164	$3,78 \cdot 10^{-6}$
k_2 (L mg ⁻¹)	0,00097	0,001
q_{BET} (mg g ⁻¹)	64,12	$5,591 \cdot 10^4$
R^2	0,979	0,959
Erro (%)	7,23	7,473

Analisando-se os parâmetros obtidos através dos modelos de isotermas (Tabela 4), observa-se que para os dados de equilíbrio do bioissorvente, levedura encapsulada, todos os modelos apresentaram ajuste satisfatório aos dados. O modelo de Freundlich e BET apresentam erro superior ao modelo de Langmuir, além do modelo de BET

apresentar k_2 próximo de zero, o que simplifica sua equação para Langmuir. Desta forma, sugere-se que o modelo de Langmuir seja suficiente para representar os dados experimentais, onde a adsorção ocorre sobre uma superfície simples e infinita. Esse modelo admite que a superfície do sólido seja coberta por um grande número de sítios, sendo que cada sítio pode ser ocupado por uma molécula ou íon adsorvido (RADHIKA; PALANIVELU, 2006).

Ao analisar a Figura 10, observa-se este comportamento, pois no início da isoterma com o bioissorvente, a adsorção inicial é elevada, e continua ocorrendo até todos os sítios de ligação do bioissorvente estarem ocupados, mostrando a alta afinidade entre o bioissorvente e o metal. Quando a concentração inicial passa de 40 mg L^{-1} , as ligações tornam-se mais fracas e com menor afinidade, atingindo a concentração de equilíbrio, com capacidade máxima de 72 mg g^{-1} .

Para as partículas de alginato sem bioissorvente (branco) observa-se que o modelo de Freundlich apresentou ajuste satisfatório aos dados de equilíbrio (Tabela 5). Este modelo considera que a adsorção ocorra em superfícies heterogêneas, ou em superfícies com sítios de ligação com afinidades diferentes para o adsorbato. O bioissorvente apresenta sítios de ligação mais fortes que são ocupados em primeiro lugar, e que a força de ligação diminui com o aumento do seu grau de ocupação.

Na isoterma com o branco, que também apresentou ajuste satisfatório ao modelo de Freundlich, observa-se que não ocorreram as ligações fortes nos sítios de ligação, caracterizando a isoterma como não favorável, representado pelo valor de $1/n$ maior que 1, e mostrando que ao encapsularmos a levedura em alginato, são criados sítios de ligações, que não estão presentes na cápsula de alginato. Por esse motivo, a comparação das linhas de isotermas demonstra claramente um aumento expressivo da capacidade de adsorção das cápsulas com bioissorvente, comparando com o branco.

Desta forma, ao uma molécula se ligar a determinado sítio de ligação, impossibilita que outras ligações ocorram, podendo diminuir a capacidade do material adsorvente, branco. Este efeito pode ser observado na Figura 10, onde a capacidade de bioissorção do branco é linear com o aumento da concentração inicial, mostrando que há uma possível seleção para ligação dos sítios mais fortes com o metal.

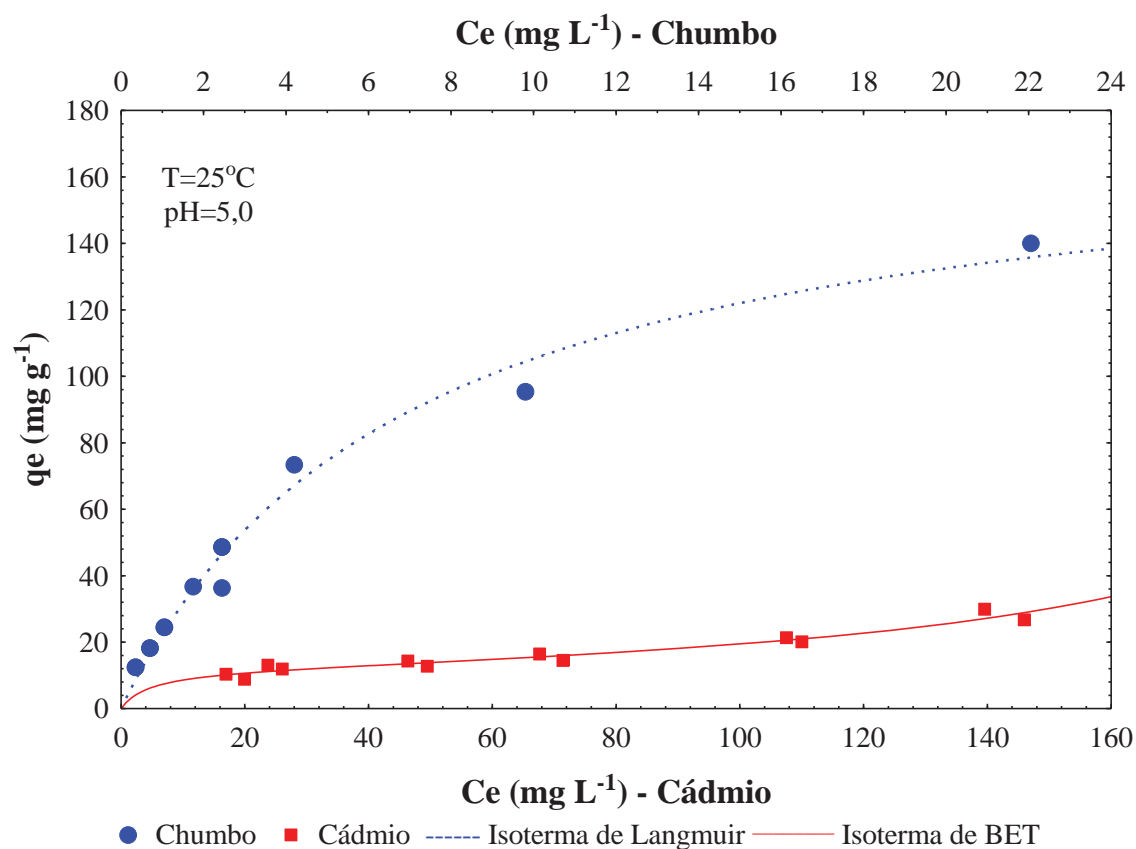
No processo de formação das esferas de alginato com íons de cálcio, a estrutura particular deste biopolímero deixa livre grupos carboxílicos que reagem com os íons metálicos (IBANEZ; IMETSU, 2002) auxiliando na adsorção, mas apresentando

capacidade limitada de adsorção, como observado para a isoterma com o branco. Sendo assim é importante frisar que a adsorção de metais tóxicos também tem sido beneficiada pelo uso de microrganismos imobilizados, visto que em determinadas condições o suporte também serviu como adsorvente (COSTA; FRANÇA, 1996), além de facilitar a separação entre o bioissorvente e o efluente e manter o microrganismo inerte as alterações do sistema de adsorção.

Levando-se em consideração os resultados obtidos na etapa I onde foi utilizada a levedura comercial sem tratamento como bioissorvente com capacidade máxima de 8 mg g^{-1} e com os resultados obtidos com a levedura(subproduto) encapsulada observa-se um aumento expressivo na capacidade de bioissorção, atingindo 72 mg g^{-1} , mesmo considerando-se que 30 mg g^{-1} de cromo (VI) foi adsorvido pelo alginato.

Os dados de equilíbrio de bioissorção para os íons cádmio e chumbo pela levedura encapsulada na presença de biossurfactante foram avaliados a pH 5,0 e temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Na Figura 11 estão apresentados os dados de bioissorção que apresentaram melhor ajuste ao modelo de isoterma de Langmuir para o íon chumbo e ao modelo de isoterma de BET para o íon cádmio. Sendo que os valores de concentração inicial (C_e) para o chumbo estão no eixo auxiliar (topo).

Figura 11 - Isotermas de bioissorção de cádmio e chumbo por *S.cerevisiae* encapsulada



A Tabela 5 apresenta os valores dos parâmetros dos modelos de isotermas de cádmio e chumbo pela levedura *S.cerevisiae* encapsulada, estes valores refletem a natureza do material adsorvente e podem ser usados para comparar o desempenho da bioissorção.

O modelo de Langmuir representa um dos tratamentos teóricos de sorção não linear e sugere que a captação ocorre em uma superfície homogênea por sorção em monocamada sem interação entre as moléculas adsorvidas. O modelo assume que é, também, uniforme a energia de adsorção sobre a superfície e que não ocorre transmigração do sorbato (BUENO et al., 2009). A constante de Langmuir, q_m , representa a saturação da monocamada para o equilíbrio ou a capacidade total de captação dos íons de chumbo por *S.cerevisiae* encapsulada.

A teoria Langmuir tem como pressuposto básico que a adsorção ocorre em sítios homogêneos no adsorvente, e que uma vez que uma molécula de metal ocupe um local, nenhuma adsorção adicional pode ocorrer ali (LANGMUIR, 1918; RUTHVEN, 1984).

Este comportamento indica que são observadas capacidades de adsorção elevadas na fase sólida com baixas concentrações de soluto na fase líquida, devido à alta afinidade entre as moléculas de chumbo e a superfície da levedura encapsulada.

Tabela 5 - Valores dos parâmetros dos modelos de isotermas de adsorção de cádmio e chumbo pela *S.cerevisiae* encapsulada

Parâmetros	Cádmio	Chumbo
Langmuir		
k_L (L mg ⁻¹)	0,013	0,143
q_m (mg g ⁻¹)	38,111	178,73
R ²	0,804	0,982
Erro (%)	15,767	8,174
Freundlich		
k_f (mg L ^{1/n} g ⁻¹ mg ^{-1/n})	1,884	27,277
n_f	0,527	0,538
R ²	0,876	0,975
Erro (%)	11,404	14,642
BET		
k_1 (L mg ⁻¹)	0,219	0,166
k_2 (L mg ⁻¹)	0,004	0,005
q_m (mg g ⁻¹)	11,827	152,91
R ²	0,945	0,984
Erro (%)	5,946	12,61

Na Tabela 5 também se encontram os coeficientes de correlação obtidos para os modelos utilizados. Em relação aos dados de equilíbrio de biossorção do chumbo, pode-se observar que os modelos de isotermas de Langmuir e BET apresentam valores satisfatórios do R² e erro relativo médio. Para este metal, o modelo de BET apresenta valores de k_2 igual a zero, que simplifica matematicamente a equação do modelo de Langmuir. Desta forma o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o modelo de Langmuir, com capacidade máxima (q_m) 178,73 mg g⁻¹, sendo necessário um tempo de contato de 24 h para que o equilíbrio fosse alcançado.

Em relação à k_L , observa-se que estes valores, quando comparados a biossorção de cromo são inferiores, mostrando que o cromo possui mais afinidade pelo biossorvente. Isso ocorre, pois os valores de k_L são inversamente correlacionados à concentração de equilíbrio em que a capacidade de adsorção atinge 50% da máxima capacidade da monocamada. Logo, valores maiores de k_L observada para as isotermas de cromo, indica que o adsorvente é saturado mais facilmente em baixas concentrações, o que é necessário nos sistemas de tratamento de efluente.

Para os dados de equilíbrio obtidos para o cádmio, o modelo de isoterma de BET demonstrou melhor ajuste, com uma capacidade máxima de biossorção na monocamada de $11,83 \text{ mg g}^{-1}$. Pressupõe-se que, pelo ajuste satisfatório deste modelo, a biomassa adsorva o metal como a isoterma de Langmuir, mas a partir da saturação da monocamada forme multicamadas entre si, adsorvendo mais metal (GILES et al., 1960; PICCIN et al., 2013). A formação de múltiplas camadas pode ocorrer devido a uma alteração na forma de organização das moléculas de cádmio dispostas na superfície do adsorvente, de horizontal para alinhamento vertical ou, devido à redução de solubilidades superficiais causadas por interações hidrofóbicas entre o adsorvato e o adsorvente (GILES et al., 1960; EDGEHILL et al., 1998; GRAINGER et al., 2011; EBADI et al., 2011).

Analisando os resultados da biossorção de cádmio e chumbo, observa-se que o chumbo apresentou maior capacidade de ser adsorvido. Isto pode ser justificado por este metal possuir maior massa atômica que o cádmio. Por esse motivo, quando uma molécula de chumbo ocupa um sítio de adsorção, a massa adsorvida por esse sítio é maior para aquela molécula que possui maior massa atômica.

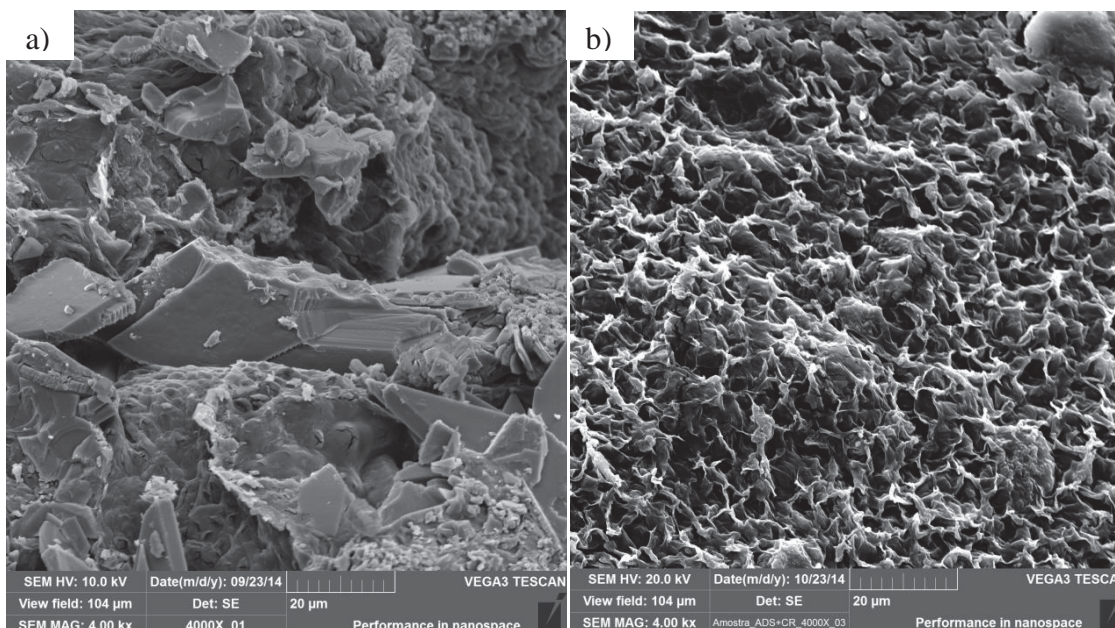
Para os resultados de biossorção com o cromo, cádmio e chumbo, observa-se valores diferentes de biossorção e diferentes afinidades, que podem ser explicadas pela forma iônica do metal. Assim, observa-se que como o cromo hexavalente apresenta-se na forma de ânion cromato, logo ele vai ocupar sítios carregados positivamente do biossorvente, enquanto o cádmio e o chumbo irão ocupar sítios com cargas negativas, por serem cátions. Logo, o número de sítios nessas duas condições pode não ser o mesmo, visto que os principais sítios positivos são as amins e amidas das proteínas, enquanto que sítios negativos estão presentes tanto nas proteínas (ácidos carboxílicos) como nos alinatos (aldeídos e cetonas). Desta forma, ao analisarmos a afinidade do

biossorvente pelos íons metálicos cádmio, cromo e chumbo, observa-se maior afinidade pelo cromo (VI) > chumbo > cádmio.

4.2.6. Caracterização do biossorvente depois da adsorção

Para avaliarmos o biossorvente antes e depois do processo de biossorção foram realizadas análises por microscopia eletrônica de varredura e por espectroscopia de dispersão por raio-X tendo como objetivo caracterizar o biossorvente. Nas Figuras 12 e 13 estão apresentadas as imagens da superfície do biossorvente.

Figura 12 - Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície do biossorvente: a) antes da biossorção; b) depois da biossorção



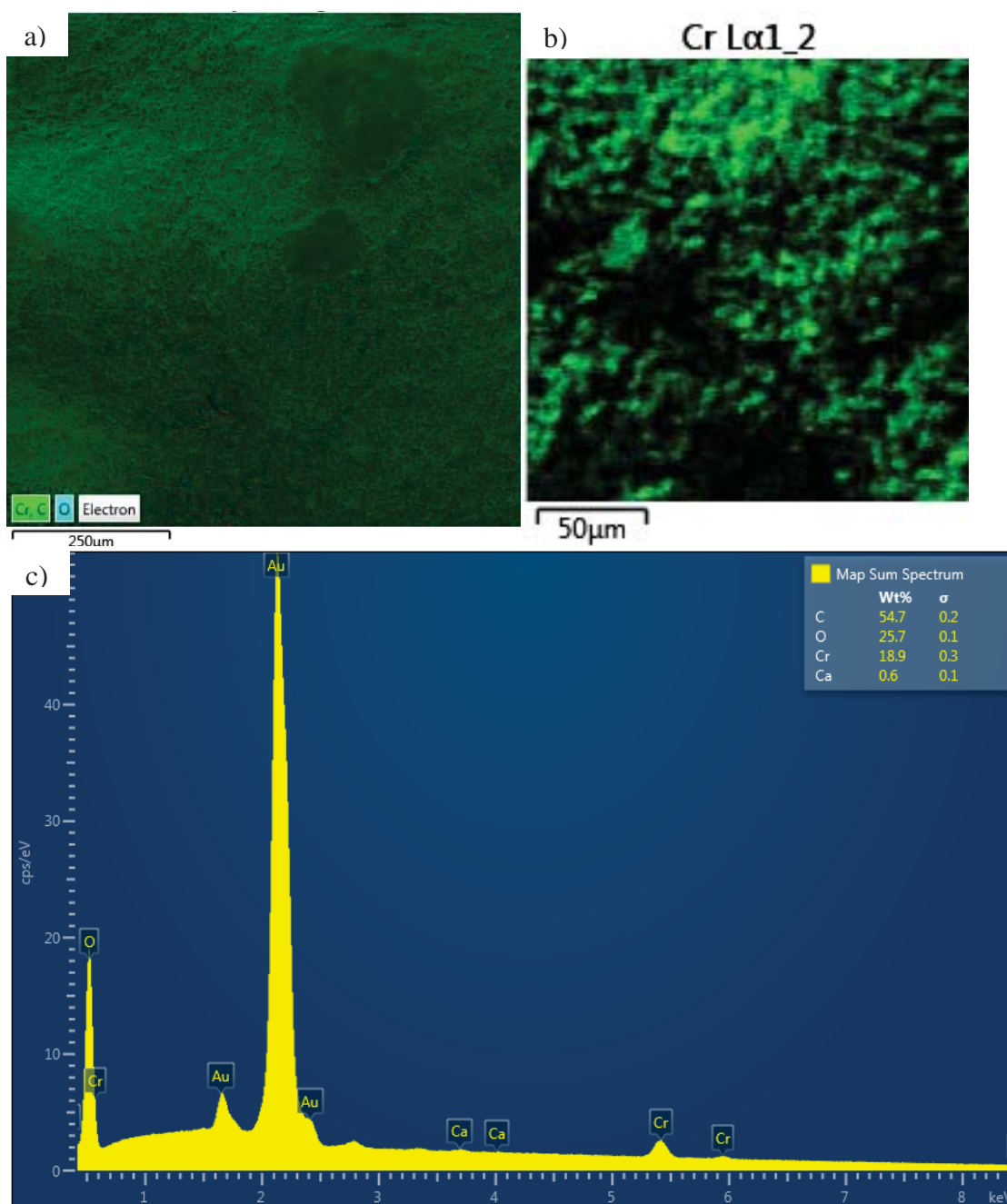
Na Figura 12a está apresentada a superfície do biossorvente antes do processo de biossorção, como descrito 4.2.2., onde se observa a superfície irregular do biossorvente. E na Figura 12b mostra-se a superfície do biossorvente após o processo de biossorção, onde se verifica a mudança ocorrida na superfície, tornando-a mais uniforme.

A mudança na superfície do biossorvente, após a biossorção, pode estar relacionada com a adsorção do metal, cromo (VI), e também com a adição do biossurfactante. Constata-se por comparação que a superfície tornou-se aparentemente porosa, permitindo a adsorção do metal na superfície e permitindo a sua entrada para o

interior da cápsula, sendo estas suposições confirmadas pela análise de EDX da Figura 13.

Ao analisar-se as Figuras 13a e 13b, é possível verificar a composição química da superfície do bioissorvente após a bioissorção. Os elementos químicos encontrados foram cromo, carbono e oxigênio. A presença da cor verde é associada com a presença de cromo, comprovando-se que o metal está aderido por toda a superfície.

Figura 13 - Espectroscopia de Dispersão por Raio-X depois da bioissorção (a); presença de cromo na superfície (b); composição elemental na superfície (c)



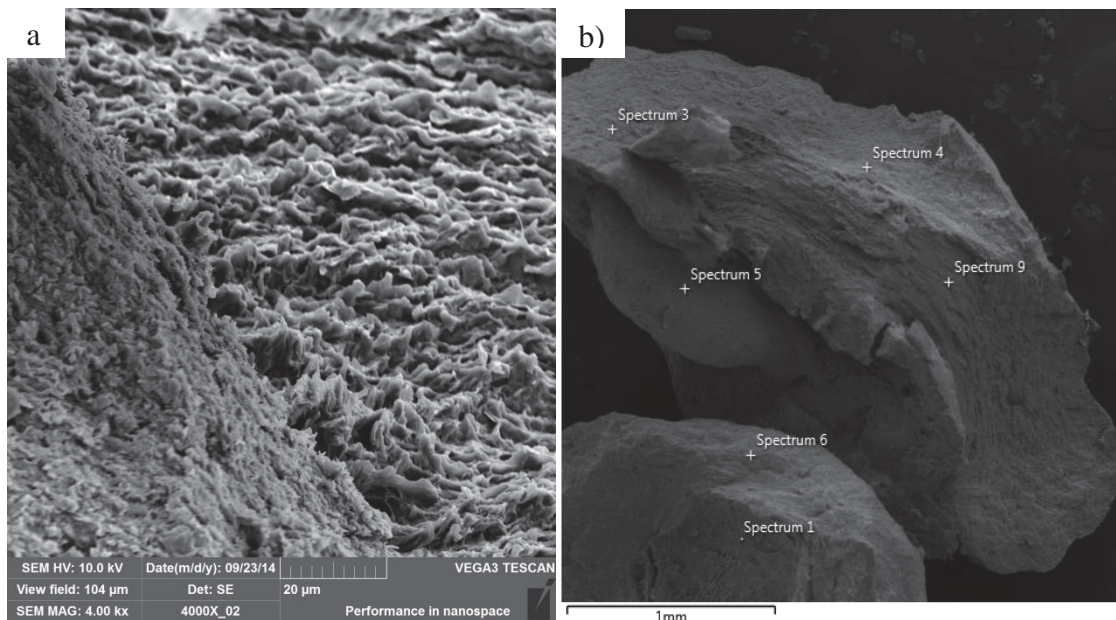
Na análise de EDX (Figura 13c) foi observada a presença de 0,6 % cálcio, valor bem inferior ao observado na análise realizada antes do processo de bioadsorção, que foi de 17,4 %. Essa diminuição pode estar associada às moléculas de cálcio que não se ligaram ao alginato durante o processo de encapsulação e que durante a bioadsorção se desprenderam da cápsula.

Para o carbono, houve um aumento no seu percentual, passando de 32 % para 54,7 %. Para o elemento oxigênio ocorreu o efeito contrário, diminuindo seu percentual de 38,4 % para 25,7 %. Estes resultados podem estar associados com a adição do biossurfactante que possui elevado percentual de carbono (52,2 %), que pode ter aderido à superfície do bioadsorvente.

Outro dado importante é a que na análise realizada antes da bioadsorção foram encontrados também fósforo e sódio no bioadsorvente e nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio e sódio no biossurfactante, e após o processo de bioadsorção nenhum destes elementos se mostrou presente na superfície do bioadsorvente. Isso pode estar relacionado com as ligações realizadas entre os aminoácidos das proteínas e o metal, ou seja, antes do processo de bioadsorção, as ligações realizadas na cadeia lateral eram com os componentes como nitrogênio, fósforo, potássio, sódio e magnésio, após o processo de bioadsorção estes foram substituídos pelas ligações com o cromo (VI), na sua forma aniônica (CrO_4^{2-}).

Na Figura 14 estão apresentadas as imagens obtidas através da microscopia eletrônica de varredura da superfície e corte do bioadsorvente, após o processo de bioadsorção.

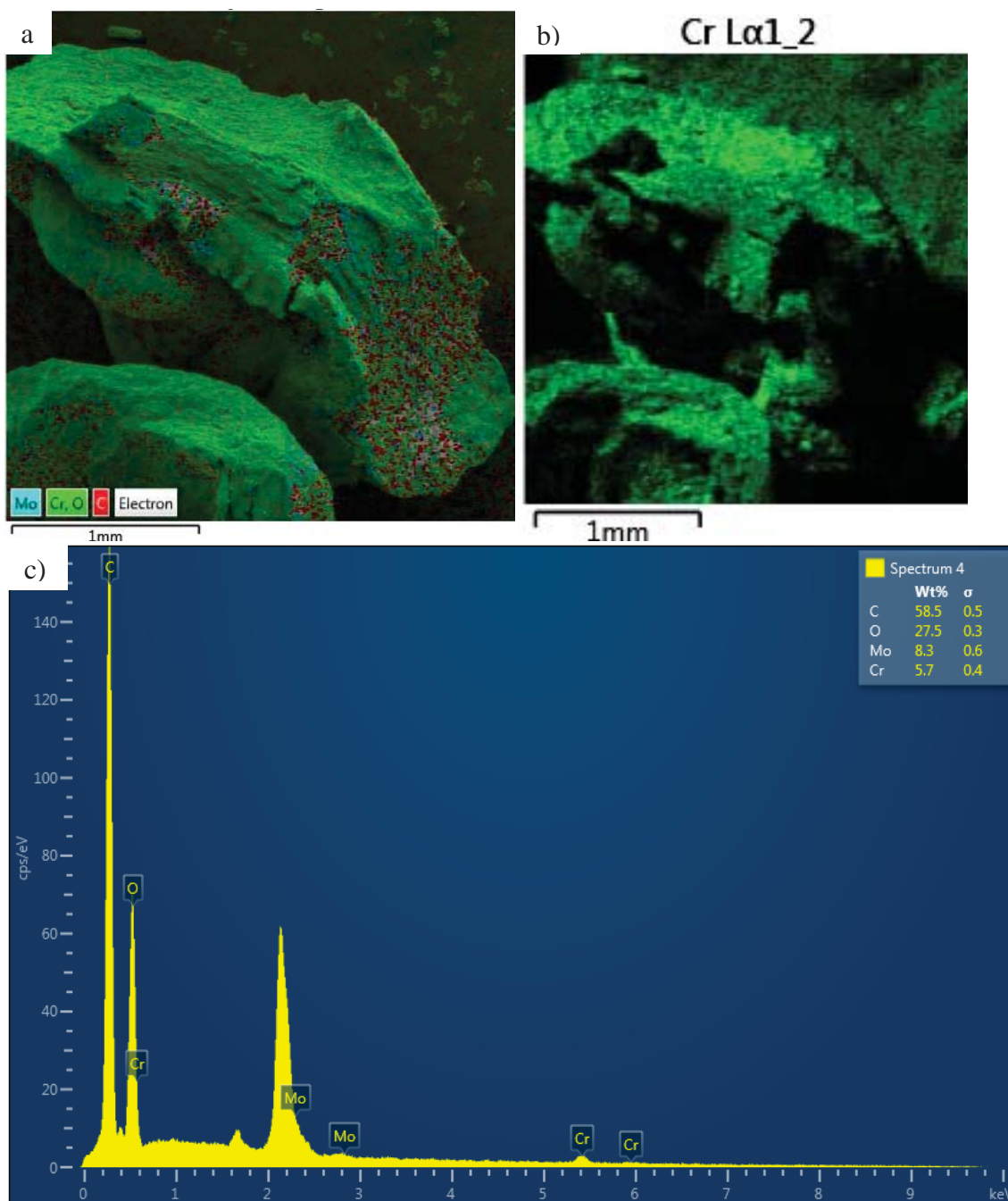
Figura 14 - Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do bioissorvente: a) superfície e corte do bioissorvente após a bioissorção; b) corte do bioissorvente após a bioissorção



Na Figura 14a, é possível observar a superfície do bioissorvente e o corte realizado na cápsula, sendo que no corte a superfície é homogênea e uniforme. Na Figura 14b, está apresentado o corte da cápsula do bioissorvente e os pontos de espectros onde foram realizadas as análises de EDX, para que pudéssemos avaliar a composição química no interior da cápsula do bioissorvente.

Na Figura 15 encontra-se os espectros de dispersão de raio-X do corte do bioissorvente após a bioissorção.

Figura 15 - Espectroscopia de Dispersão por Raio-Xdo corte do bioissorvente depois da bioissorção (a); cromo na superfície (b); composição elemental pontual no corte (c)

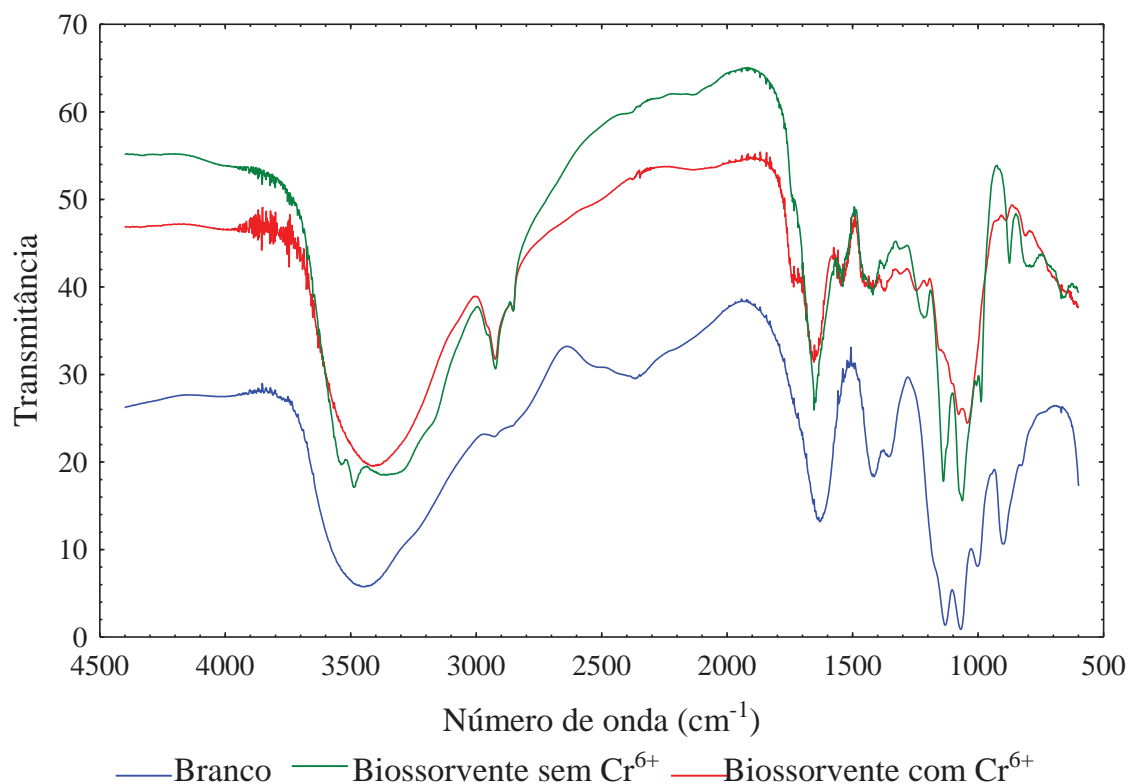


Ao analisarmos a Figura 15a, é possível verificar a presença do cromo (VI) por toda a superfície do bioissorvente, na superfície e no interior da cápsula. Na Figura 12b, onde está o corte do bioissorvente, pode-se perceber que o metal está distribuído de forma uniforme por todo o corte, isto pôde ser confirmado na análise de EDX da Figura 15c, realizado na parte interna da cápsula, que comprovou a presença de cromo (VI)

atingindo 5,7 %, sendo inferior ao valor encontrado na superfície (18,9 %), mas demonstrando que mesmo a levedura estando encapsulada e seca, o poro da cápsula permite a entrada do metal e a levedura consegue realizar as ligações do metal com seus sítios de ligação.

A Figura 16 apresenta os espectros de infravermelho por transformada de Fourier da cápsula de alginato (branco) e do bioissorvente antes e após o processo de adsorção. Observa-se, na região de 3500 cm^{-1} picos relativos ao estiramento da ligação O-H, em 1650 cm^{-1} picos relativos ao estiramento da ligação C=O, presente nos ácidos nucleicos, amidas de proteínas das proteínas e do ácido algínico do alginato de sódio e em próximo a 1100 cm^{-1} relativo da ligação C-O de aminoácidos residuais e do alginato de sódio. Para as cápsulas do bioissorvente desenvolvido, observa-se, além dos picos antes citados, a presença de picos próximos a 2950 cm^{-1} , relativos ao estiramento das ligações N-H e dos grupos $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2$ das proteínas da levedura, próximos a 1550 cm^{-1} , relativo a deformação simétrica da ligação C-N-H das amidas I e II e próximo a 1230 cm^{-1} relativo a interação da torção N-H e o estiramento C-N das proteínas. Após a adsorção observa-se alterações dos picos das ligações próximos a 1100 cm^{-1} (C-O), 1230 cm^{-1} (N-H e C-N) e 1550 cm^{-1} (C-N-H), demonstrando que esses grupos funcionais participam do processo de bioissorção.

Figura 16 - Espectroscopia de infravermelho do branco e do bioissorvente antes e após a bioissorção



Em geral as paredes celulares bacterianas são polieletrólitos que interagem com os íons em solução para manter a eletroneutralidade. Os mecanismos através dos quais os íons metálicos se ligam à superfície celular incluem interações eletrostáticas, forças de Van Der Waals, ligação covalente, interações redox, precipitação extracelular e alguma combinação destes processos (GAVRILESCU, 2004). As interações estequiométricas, tanto por troca iônica como por complexação, ocorrem entre os íons metálicos e os grupos funcionais como os fosfodiéster, fosfatos e carboxílicos (glicosídeos) e amino (amino- e peptido-glicosídeos ou proteínas) dos polímeros que constituem a parede celular (VOLESKY, 1986), sendo a sua identificação mais um contributo para esclarecer o mecanismo envolvido na interação metal-bioissorvente. A espectroscopia de infravermelho é frequentemente utilizada para detectar alterações na frequência de vibrações moleculares, oferecendo excelentes informações sobre a natureza das ligações presentes, permitindo a identificação de diferentes grupos funcionais da superfície celular (MURPHY et al., 2007).

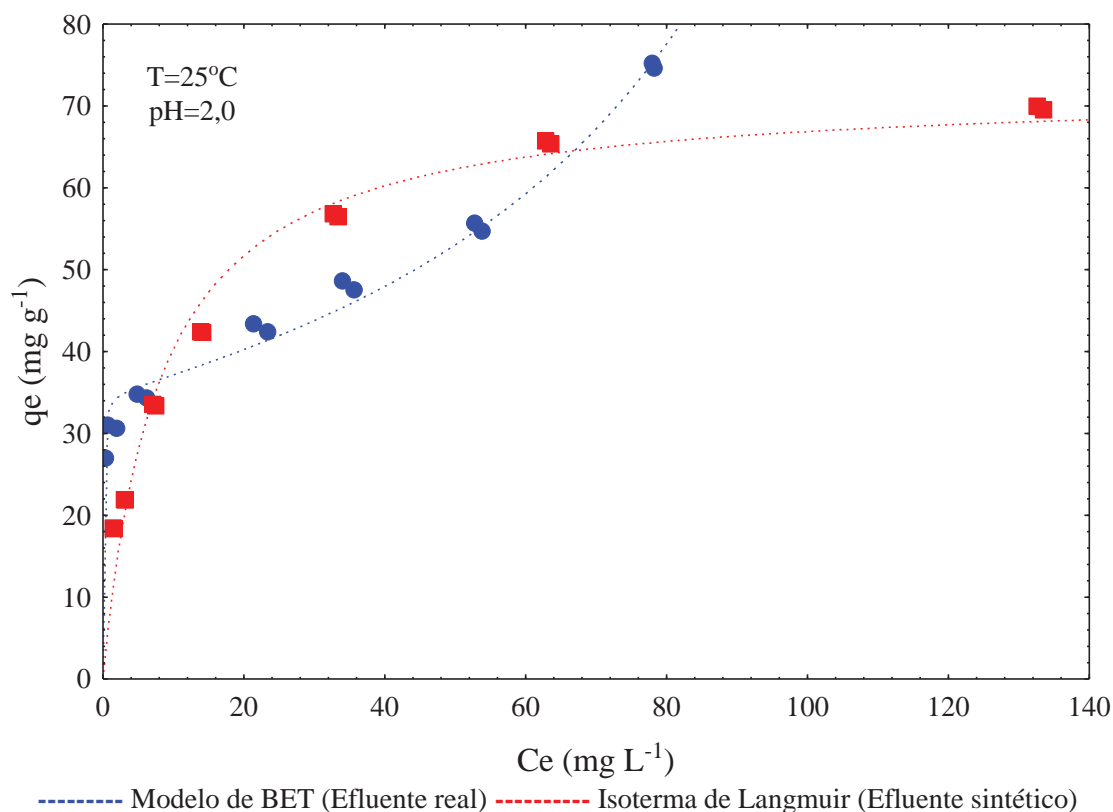
A diversidade de compostos orgânicos da parede celular das leveduras resulta da origem a espectros de infravermelho altamente complexos (PADMAVATHY et al.,

2003). Estes autores realizaram a análise FTIR a uma amostra de levedura de padeiro (*S. cerevisiae*), reportando numa tabela as diferentes bandas, divididas por três regiões: a dos açúcares: 790-1180 cm^{-1} , onde identificaram picos a 1040, 1079 e 1141 cm^{-1} ; a das proteínas: 1400-1700 cm^{-1} , com picos a 1456, 1553 e 1647 cm^{-1} ; e a dos ácidos nucléicos: 1200-1290 cm^{-1} , onde apenas foi identificado um pico a 1242 cm^{-1} . Os picos largos entre 3800 e 2500 cm^{-1} são devidos a grupos $-\text{OH}$ e $-\text{NH}$ e a pontes de hidrogênio. A banda larga observada na região 3800-2500 cm^{-1} , com um máximo a 3400 cm^{-1} pode ser atribuído à presença de grupos hidroxila, que estão ligados por pontes de H com grupos R-NH^+ das amidas secundárias (grupos (R-NHCOCH_3)) da quitina. A banda a 1540 cm^{-1} pode ser explicada pela presença da banda II de uma amida secundária provocada pela distensão N-H e C-N das amidas secundárias. As bandas dos anéis de glicose são observados entre 1040 cm^{-1} e 1160 cm^{-1} .

4.3. Etapa III: Estudos de adsorção com efluente real

Na Figura 17 está apresentada a isoterma de biossorção de cromo (VI) em efluente pela levedura *S.cerevisiae* encapsulada. O equilíbrio do processo de biossorção foi alcançado aos 16 dias de experimento e a capacidade máxima de biossorção foi de 75,2 mg g^{-1} .

Figura 17 - Isoterma de biossorção de cromo (VI) em efluente real



Analisando-se a Figura 17, observa-se que a isoterma com efluente real apresenta uma capacidade inicial de biossorção alta, podendo ser classificada como um curva de alta afinidade (GILES et al., 1960), isso pode ter ocorrido pela presença do cromo (VI) associado a outros compostos químicos presentes no efluente real, que tornaram o tamanho da molécula grande ou de maior afinidade, favorecendo a troca para a superfície do biossorvente, ou facilitando a formação de multicamadas.

No ajuste de dados realizado, apresentado na Tabela 6, apenas o modelo de isoterma de BET apresenta ajuste satisfatório aos dados de equilíbrio do cromo (VI) em efluente real, neste caso a formação de múltiplas camadas pode ocorrer devido a uma alteração na forma de organização das moléculas de cromo (VI) dispostas na superfície do adsorvente, de horizontal para alinhamento vertical ou, devido à redução de solubilidades superficiais causadas por interações hidrofóbicas entre o adsorvato e o adsorvente (GILES et al., 1960; EDGEHILL et al., 1998; GRAINGER et al., 2011; EBADI et al., 2011).

Tabela 6 - Valores dos parâmetros dos modelos de isotermas de biossorção de cromo (VI) em efluente pela *S.cerevisiae* encapsulada

Parâmetros	Efluente Real
Langmuir	
k_L (L mg ⁻¹)	1,99
q_m (mg g ⁻¹)	52,47
R ²	0,722
Erro (%)	49,51
Freundlich	
k_f (mg L ^{1/n} g ⁻¹ mg ^{-1/n})	27,44
n_f	0,189
R ²	0,811
Erro (%)	13,256
BET	
k_1 (L mg ⁻¹)	18,67
k_2 (L mg ⁻¹)	0,006
q_{BET} (mg g ⁻¹)	34,761
R ²	0,98
Erro (%)	4,98

Analisando-se os resultados obtidos nas isotermas realizadas com efluente real e efluente sintético, observa-se que as linhas sólidas apresentam-se em paralelo, demonstrando variações apenas na parte inicial e final, estas variações podem ser explicadas pelos inúmeros compostos existentes no efluente real, que podem ter auxiliado na biossorção. Este resultado é extremamente positivo, pois comprova que o subproduto de cervejaria encapsulado e na presença de biossurfactante tem capacidade de remover cromo (VI), podendo ser aplicado no tratamento de efluentes contaminados.

5. CONCLUSÃO

Os ensaios de bioadsorção de cromo (VI) realizados com a levedura comercial sem tratamento e submetida aos tratamentos térmico e químico, demonstraram que a maior capacidade de adsorção foi obtida com a levedura sem tratamento, o que facilita a aplicação do bioadsorvente no tratamento de efluentes industriais.

A adição de biossurfactantes de parede celular de levedura (manoproteínas) auxilia os processos de adsorção pela levedura comercial, obtendo-se aumento de 60 % na capacidade de bioadsorção de cromo em 24 h, sendo as capacidades de adsorção de 7,9 mg g⁻¹ e 14,9 mg g⁻¹, na ausência e presença do biossurfactante, respectivamente.

A capacidade de bioadsorção de cromo pelo subproduto obtido da indústria cervejeira encapsulado em alginato de sódio foi de 72 mg g⁻¹ na presença de biossurfactante.

As maiores capacidades de adsorção obtidas com o subproduto encapsulado e com adição de biossurfactante foram em pH 5,0 para os metais cádmio e chumbo e 2,0 para o cromo (VI). As isotermas de adsorção destes metais apresentaram capacidades de adsorção da monocamada de: 178 mg g⁻¹ de chumbo, com ajuste satisfatório ao modelo de isoterma de Langmuir; 38 mg g⁻¹ para o cádmio, com ajuste ao modelo de isoterma de BET. Nos estudos termodinâmicos realizados com cromo (VI) a capacidade máxima atingida foi de 72 mg g⁻¹, a 25 °C, sendo o processo de bioadsorção exotérmico.

Na análise morfológica e de composição química realizada confirmou-se a presença de cromo na superfície e no interior do bioadsorvente. Além disso, pode-se observar que a superfície do bioadsorvente apresentou mudanças visuais e químicas após a bioadsorção.

Para os ensaios realizados em efluente real, a máxima capacidade de bioadsorção de cromo na monocamada foi de 34,76 mg g⁻¹ com ajuste ao modelo de isoterma de BET. Entretanto, a partir de 70 mg L⁻¹ a capacidade de bioadsorção do efluente real foi maior que a capacidade de bioadsorção da solução aquosa, devido a formação de multicamadas. Sendo assim, a bioadsorção de metais pela levedura *S.cerevisiae* encapsulada se mostrou eficiente, podendo ser aplicada no tratamento de efluentes.

A levedura *S.cerevisiae* obtida a partir da indústria cervejeira encapsulada em alginato de sódio e utilizando biossurfactantes como coadjuvantes do processo de

adsorção, apresentou-se como um excelente biossorvente para a remoção de cromo (VI), cádmio e chumbo.

A partir deste estudo, ficam as seguintes sugestões para trabalhos futuros:

- a) Ensaio de equilíbrio envolvendo multicomponentes;
- b) Ensaio cinético em batelada;
- c) Ensaio cinético em coluna de adsorção;
- d) Testes de regeneração e reuso do biossorvente desenvolvido;
- e) Testes de outras formas de encapsulamento do subproduto cervejeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABETRE (Associação Brasileira de Empresas de Tratamento de Resíduos). Disponível em: <http://www.universoambiental.com.br/novo/artigos_ler.php?canal=2&canallocal=2&canalsub2=4&id=39&pagina=2>. Acesso em: 17 de setembro de 2013.

ATSDR-AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Metales pesados**. Disponível em: www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts2.html. Acesso em 16/10/2013.

ALBERTINI, S.; CARMO, L. F.; PRADO FILHO, L. G.P. Isotermas de adsorção de cádmio por *Saccharomyces cerevisiae*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 21, 2, 134-138, 2001.

ALVES, M. F. **Potencialidades biotecnológicas da algaroba (*Prosopis juliflora Sw, DC*) para produção de fermento biológico**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Federal de Campina Grande–PB. 2008.

ANANDKUMARA, J.; MANDALB, B. Adsorption of chromium (VI) and Rhodamine B by surface modified tannery waste: Kinetic, mechanistic and thermodynamic studies. **Journal of Hazardous Materials**, 186 (2), 1088–1096, 2011.

ANJOS, F. S. C.; VIEIRA, E. F. S.; CESTARI, A. R. Interaction of Indigo Carmine dye with chitosan evaluated by adsorption and thermochemical data. **Journal of Colloid and Interface Science** 253 (2), 243-246, 2002.

ANNADURAI, G.; LING, L. Y.; LEE, J. F. Adsorption of reactive dye from an aqueous solution by chitosan: isotherm, kinetic and thermodynamic analysis. **Journal of Colloid and Interface Science** 152 (1), 337-346, 2008.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 ed. Washington, DC, 2000.

AKSU, Z.; AÇKEL, Ü.; KUTSAL, T. Application of multicomponent adsorption isotherms to simultaneous biosorption of iron(III) and chromium(VI) on *C. vulgaris*. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 70 (4), 368–78, 1997.

BAG, H.; LALE, M.; TURKER, A.R. Determination of Cu, Zn and Cd in water by FAAS after preconcentration by baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized on sepiolite. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 363 (3), 224–230. 1999.

BANAT, I. M.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 53(5) 495-508, 2000.

BARAL, S.S.; DAS, S.N.; RATH, P. Hexavalent chromium removal from aqueous solution by adsorption on treated sawdust. **Biochemical Engineering Journal**, 31 (3), 216–222, 2006.

BATISTA, F. G. A.; FREIRE, J. A. Avaliação dos níveis de metais pesados no corpo aquático do Açude Velho, Campina Grande – Paraíba. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, 7(4), 2010.

BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 152(1), 41-52, 1999.

BORBA T. R. **Estudo da aplicação de biossorventes no tratamento de rejeitos radioativos líquidos contendo amerício-241**. Dissertação de Mestrado. IPEN - Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

BRADY, D.; DUCAN, J.R. Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 41 (1), 149-154, 1994.

BRASIL. Resolução CONAMA – N° 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e da outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 2005.

BRASIL. Resolução CONAMA N° 397 de 03 de abril de 2008. Altera o inciso II do §4º e a Tabela X do § 5º, ambos do art. 34 da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA N° 357, de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Diário Oficial da União, Brasília, 2008.

BREWER, G. J. Risks of copper and iron toxicity during aging in humans. **Chemical Research in Toxicology**, 23 (2), 319-326, 2010.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**, 60 (2), 309-319, 1938.

BUENO, B. M.; MOLINA, F. F.; TOREM, M. L.; MESQUITA, L. M.; PINO G. A. H. Remoção de Pb(II) de soluções aquosas por Biossorção em *R. Opacus*. **REM: Revista Escola de Minas**, 62(4), 487-494, 2009.

CAMPOS, M. J. A; Cádmió. Departamento de Microbiologia. Universidade de São Paulo-SP. Disponível em: http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=49&lang=br. Acesso em outubro de 2014.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, J.B.A. Biocatalizadores imobilizados: uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, 36 (6), 48-57, 2006.

ÇELEKLI, A.; YAVUZATMAC, M.; BOZKURT, H. An eco-friendly process: Predictive modeling of copper adsorption from aqueous solution on *Spirulina platensis*. **Journal of Hazardous Materials**, 173, 123-129, 2010.

CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental). Ficha de informação técnica. Cromo e seus compostos. Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios./fit/cromio.pdf>>. Acesso em: 04 de outubro de 2013.

CONNERY, D.O. **Adsorption design for wastewater treatment**. CRC Press, 1998.

COSSICH, E. S. **Biossorção de Cromo(III) pela Biomassa da Alga Marinha *Sargassum sp.*** Tese (Doutorado) Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 147 p., 2000.

COSTA, A. C. A.; FRANÇA, F. P. The use of seaweeds as immobilization supports for microorganisms used in continuous cadmium biosorption. **Biotechnology Techniques**, 10(10), 761-766, 1996.

COSTA, A. G.; MAGNANI, M.; CASTRO-GOMEZ, R. J. H. Obtenção e caracterização de manoproteínas da parede celular de leveduras de descarte em cervejaria. DOI: 10.4025/actasciobiolsci. v34i1. 7124. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 34(1), 77-84.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. **Progress in Polymer Science**, 33(4), 399-447, 2008.

DAL MAGRO, C.; DEON, M. C.; THOMÉ, A.; PICCIN, J. S.; COLLA, L. M. Biossorção passiva de cromo (VI) através da microalga *Spirulina platensis*. **Química Nova**, 36(8), 1139-1145, 2013.

DAS, N.; VIMALA, R.; KARTHIKA, P. Biosorption of heavy metals - An Overview. **Indian Journal of Biotechnology**, 7, 159-169, 2008.

DEON, C. M. **Biossorção de Cromo através da levedura *Saccharomyces cerevisiae***. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Faculdade de Engenharia e Arquitetura. Universidade de Passo Fundo (UPF). Passo Fundo – RS. 2012.

DESAI, J. D.; DESAI, A. J. In *Biosurfactants: production, properties, applications*; Kosaric, N.; ed.; Marcel Decker: New York, cap. 3. 1993.

DESMONTS, R. Utilização do levedo na alimentação da criança. **Pediatria prática**, 39(7), 7-18, 1968.

DHANKHAR, R.; HOODA, A. Fungal biosorption – an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. **Environmental Technology**, 32(5), 467-491, 2011.

DONG, D.; ZHAO, X.; HUA, X.; LIU, J.; GAO, M. Investigation of the potential mobility of Pb, Cd and Cr(VI) from moderately contaminated farmland soil to groundwater in Northeast. **Journal of Hazardous Materials**, 162 (2), 1261-1268, 2009.

DOTTO, G.L. **Adsorção de corantes alimentícios pelo biopolímero quitosana**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, 2010.

DOTTO, G.L.; LIMA, E.C.; PINTO, L.A.A. Biosorption of food dyes onto *Spirulina platensis* nanoparticles: Equilibrium isotherm and thermodynamic analysis. **Bioresource Technology**, 103, 123-130, 2012.

DOTTO, G. L.; COSTA, J.A.V.; PINTO, L.A.A. Kinetic Studies on the Biosorption of Phenol by Nanoparticles from *Spirulina sp.* LEB 18. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 1(4), 1137-1143, 2013.

EBADI, A.; MOHAMMADZADEH, J.S.S.; KHUDIEV, A. What is the correct form of BET isotherm for modeling liquid phase adsorption?. **Adsorption** 15(1), 65-73, 2009.

EDGEHILL, R.U.; LU, G.Q. Adsorption characteristics of carbonized bark for phenol and pentachlorophenol. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 71(1), 27-34, 1998.

EIDE, D. Molecular biology of iron and zinc uptake in eukaryotes. **Current opinion in cell biology**, 9 (4) 573–577, 1997.

EIDE, D.J. The molecular biology of metal ion transport in *Saccharomyces cerevisiae*. **Annual Review of Nutrition**, 18 (1), 441–469, 1998.

EKER, A. S.; SHAHWAN, T.; EROGLU, A.E.; YILMAZ, S.; DEMIREL, Z.; DALAY M.C. Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies for the biosorption of aqueous lead(II), cadmium(II) and nickel(II) ions on *Spirulina platensis*. **Journal of Hazardous Materials**, 154, 973–980, 2008.

ERRASQUÍN, E.L.; VÁZQUEZ, C. Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. **Chemosphere**, 50, 137–43, 2003.

ESPÓSITO, A.; SILVA, F.L.H.; ALSINA, O.L.S.; OLIVEIRA, L.S.C.; CAVALCANTI, E.B.; GOMES, W.C. Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentration. **Hydrometallurgy**, 60 129 -141, 2001.

FALONE, S. Z.; VIEIRA, E. M. Adsorção/dessorção do explosivo tetril em turfa e em argissolo vermelho amarelo. **Química Nova**, 27(6), 849-854, 2004.

FIECHTER, A. Biosurfactants: moving towards industrial application. **Trends in biotechnology**, 10, 208-217, 1992.

FERREIRA, J. M. Estudo do equilíbrio e cinética da biossorção do Pb^{2+} por *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, 30(5), 1188-1193, 2007.

FERREIRA, L. S.; RODRIGUES, M. S.; CARVALHO, J. C. M.; LODI, A.; FINOCCHIO, E.; PEREGO P.; CONVERTI, A. Adsorption of Ni^{2+} , Zn^{2+} and Pb^{2+} onto dry biomass of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* and *Chlorella vulgaris*. I. Single metal systems. **Chemical Engineering Journal**, 173 (2), 326– 333, 2011.

FREITAS, O. M. M. **Eliminação de íons metálicos em solução aquosa por biossorção em macroalgas marinhas**. Dissertação de Mestrado. Universidade do Porto, 2007.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution. **Journal Physical Chemical**, 57, 385-471, 1926.

FUENTEFRIA, A. M. **Bioprospecção de leveduras killer com potencial para aplicação em biotipagem de microrganismos patogênicos humanos**. Tese de Doutorado em Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

GHIRALDINI, J.A.; ROSSELL, C.E.V. Caracterização e qualidade de levedura desidratada para alimentação animal. In: **Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal**, Campinas. Anais. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 27-48. 1997.

GILES, C.H.; MACEWAN, T.H.; NAKHWA, S.N.; SMITH, D. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society**, 3973-3993, 1960.

GONG, R.; DING, Y.; LIO, H.; CHEN, Q.; LIU, Z. Lead biosorption and desorption by intact and pretreated *Spirulina maxima* biomass. **Chemosphere**, 58, 125–130, 2005.

GRAINGER, S.; FU, G.Y.; HALL, E.R. Biosorption of colour-imparting substances in biologically treated pulp mill effluent using *Aspergillus niger* fungal biomass. **Water, Air, and Soil Pollution**, 217 (1-4), 233-244, 2011.

GUERRA, D.L.; AIROLDI, C.; LEMOS, V.P.; ANGÉLICA, R.S.; VIANA, R.R. Aplicação de Zr/Ti-PILC no processo de adsorção de Cu(II), Co(II) e Ni (II) utilizando modelos físico-químicos de adsorção e termodinâmica do processo. **Química Nova**, 31, 353-359, 2008.

GUIMARÃES, T. G. **Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elaboração de vinho**. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná, 2005.

HAN, J. Properties of nonwood fibers. In **Proceedings of the Korean Society of Wood Science and Technology Annual Meeting**, 3-12, 1998.

HLIHOR, R.M.; DIACONU, M.; FERTU, D.; CHELARU, C.; SANDU, I.; TAVARES, T.; GAVRILESCU, M. Bioremediation of Cr(VI) Polluted Wastewaters by Sorption on Heat Inactivated *Saccharomyces cerevisiae* Biomass. **Internacional Journal of Environmental Research**, 7(3), 581-594, 2013.

HUAMÁN PINO, G. A. Biossorção de Metais Pesados Utilizando Pó da Casca de Coco Verde (cocos nucifera) – Rio de Janeiro : PUC-Rio, Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia, 2005.

JIANG, W.; XU, Y.; LI, C.; LV, X.; WANG, D. Biosorption of Cadmium(II) from Aqueous Solution by Chitosan Encapsulated *Zygosaccharomyces rouxii*. **Environmental Progress & Sustainable Energy**. 32 (4), 1101-1110, 2012.

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

KAPOOR, A.; VARARAGHAVAN, T.; CULIMORE, D.R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, 70(11), 95-104, 1998.

KAWAI, B.; URIAS, C.; LEONEL, L.; ALMADO M.; **Poluição ambiental por metais**. Disponível em: <<http://www.fernandosantiago.com.br/met90.htm>>. Acesso em: 19 de setembro de 2012.

KELLER, J.; STAUDT, R. Gas adsorption equilibria: Experimental methods and adsorption isotherm. **Springer**, 2005.

KLEIN, T. Avaliação de aromas característicos produzidos por diferentes leveduras comerciais inoculadas no mosto da CV. Chardonnay. Trabalho de Conclusão de Curso (Viticultura e Enologia). Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves. 2006.

KLIS, F. M.; BOORSMA, A. E GROOT, P. W. J.; Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, 23(3), 185-202, 2006.

KODAK. Disponível em: <http://www.kodak.pt/ek/PT/pt/Cromo_hexavalente.htm>. Acesso em: 01 de outubro de 2012.

KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in the Biosorption of Heavy Metals. **Tibtech**, 16, 291-300, 1998.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal American Chemical Society**, 40, 1361-1403, 1918.

LEE, J.Y.; KWON, T.S.; BAEK, K.; YANG, J.W. Adsorption characteristics of metal ions by CO₂-fixing *Chlorella* sp. HA-1. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 15, 354-358, 2009.

LEMOS, J. L. S.; CARLOS, M. C.; FARIAS, Y. P.T. M. M.; SANTOS, R.L.C. **Revisão acerca da utilização de microrganismos na biorremediação de rejeitos industriais contendo metais pesados**. Série Tecnologia Ambiental, 2008.

LIU, Y. Is the free energy change of adsorption correctly calculated? **Journal of Chemical and Engineering Data**, 54(7), 1981-1985, 2009.

LOUKIDOU, M.; MATIS, K. A.; ZOUBOULIS, A. I. LIAKOPOULOUKYRIAKIDO, M.; Removal of As(V) from wastewaters by chemically modified fungal biomass, **Water Research**, 37, 4544-4552, 2003.

LU, Y.; WILKINS, E. Heavy metal removal by caustic treated yeast immobilized in alginate. **Journal of Hazardous Materials**.49, 165–179, 1996.

MADRID, Y.; CÁMARA, C. Biological substrates for metal pre concentration and speciation. **Trends in Analytical Chemistry**; 16:36–44, 1997.

MALIK, A. Metal bioremediation through growing cells. **Environment International**; 30:261–78, 2004.

MICHALAK, I.; ZIEKINSKA, A.; CHOJNACKA, K.; MATULA, J. Biosorption of Cr(II) by microalgae: equilibrium of the process. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, 2(4), 284-290, 2007.

MIMURA, A. M. S.; VIEIRA, T. V. A.; MARTELLI, P. B.; GORGULHO, H. F. Aplicação da casca de arroz na adsorção dos íons Cu^{2+} , Al^{3+} , Ni^{2+} e Zn^{2+} . **Química Nova**, 33(6), 1279-1284, 2010.

MOHAMED, M.M. Acid dye removal: comparison of surfactant modified mesoporous FSM-16 with activated carbon derived from rice husk. **Journal of Colloid and Interface Science**, 272, 28–34, 2004.

MOHANTY, K.; JAH, M.; MEIKAP, B.C.; BISWAS, M.N. Biosorption of Cr(VI) from aqueous solutions by *Eichhornia crassipes*. **Chemical Engineering Journal**, 117(1), 71-77, 2006.

MULLIGAN, C.N.; GIBBS, B.F. Types, production and applications of biosurfactants. **Proceedings- Indian National Science Academy**, 1, 31–55, 2004.

MUZZARELLI, C.; STANIC, V.; GOBBI, L.; TOSI, G.; MUZZARELLI, R.A.A. Spraydrying of solutions containing chitosan together with polyuronans and characterisation of the microspheres. **Carbohydrate Polymers**, 57, 73-82, 2004.

NASCIMENTO, J. S. Noções básicas sobre fungos. (2012). Disponível em: <http://www.cca.ufsc.br/labfitop/2011-1/Fungos%20-%20No%E7%F5es.pdf>. Acesso em: 15 de maio de 2013.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M.; Biosurfactantes: propriedades e aplicações. **Química Nova**, 25(5), 772-776, 2002.

OLIVEIRA, S. D.; LEMOS, J. L. S.; BARROS, C. A. e LEITE, S. G. F. **Emprego de Fungos Filamentosos na Biorremediação de Solos Contaminados por Petróleo: Estado da Arte**. CETEM/MCT, 2008.

OSTERGAARD, S.; OLSSON, L.; NIELSEN, J. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 64, 34-50, 2000.

ÖZER, A.; ÖZER, D. Comparative study of biosorption of Pb (II), Ni (II) and Cr (VI) ion onto *S. cerevisiae*: Determination of biosorption heats. **Journal of Hazardous Materials**, 100, 219-228, 2003.

PACWA-PLOCINICZAK, M.; PLAZA, GRAZYNA A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; CAMEOTRA, S. S. Environmental Applications of Biosurfactants: Recent Advances. **International Journal of Molecular Sciences**, 12, 633-654, 2011.

PALLU, A. P. S. **Biossorção de cádmio por linhagens de *Aspergillus* sp.** Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

PAMUKOGLU. Y.; KARGI, F. Biosorption of copper (II) ions onto powdered waste sludge in a completely mixed fed-batch reactor: estimation of design parameters. **Bioresource Technology**, 98 (6), 1155- 1162, 2007.

PARK, Y. H.; LIM, J.M.; PARK, C.R. New modified poly(ethylene terephthalate) (mpet)-based adsorbent for heavy metal ions. **Journal of Applied Polymer Science**, 63, 773– 778, 1997.

PARVATHI, K. R.; NARESHKUMAR, R. N. Efeito do pH na biossorção do cromo através da *Saccharomyces cerevisiae*. **Jornal da Investigação Científica e Industrial**, 66, 675-679. 2007.

PASHOVA, S. et al. Induction of polymethyl galacturonase biosynthesis by immobilized cells of *Aspergillus niger* 26. **Enzyme and Microbial Technology**. 24, 535-540, 1999.

PERUZO, L.C. **Influência de agentes auxiliares na adsorção de corantes de efluentes de indústrias têxteis em colunas de adsorção**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

PETHKAR, A.V.; PAKNIKAR, K.M. Thiosulfate biodegradation-silver biosorption process for treatment of photofilm processing wastewater. **Process Biochemistry**, London, 38(1), 855-860, 2002.

PICCIN, J.S.; FERIS, L.A.; COOPER, M.; GUTTERREZ, M. Dye adsorption by leather waste: mechanism diffusion, nature studies, and thermodynamic data. **Journal Chemical Engineering Data**, 58(4), 873–882, 2013

PICCIN, J.S.; DOTTO, G.L.; VIEIRA, M.L.G.; PINTO, L.A.A. Kinetics and mechanism of the food dye FD&C Red 40 adsorption onto chitosan. **Journal of Chemical Engineering and Data**, 56 (10), 3759-3765, 2011.

PICCIN, J.S. **Resíduo sólido da indústria coureira como adsorvente alternativo de corantes**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

PINO, G. H.; TOREM, M. L. Aspectos fundamentais da biossorção de metais não ferrosos – estudo de caso. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, 8(1), 2011.

PRADELLA, J.G.C. Reatores com células imobilizadas: biotecnologia industrial. São Paulo: **E.Blücher**, 372, 2001.

PRETORIUS, I.S.; TOIT, M. du; RENSBURG, P. van. Designer yeasts for the fermentation industry of the 21st century. **Food Technology and Biotechnology**, 41(1), 3-10, 2003

QIU, H.; LV, L.; PAN, B. C.; ZHANG, Q.J.; ZHANG, W. M.; ZHANG; Q. X. Critical review in adsorption kinetic models. **Journal of Zhejiang University Science**, 10(5), 716-724, 2009.

RIO GRANDE DO SUL. Resolução CONSEMA Nº 128 de novembro de 2006. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul.

ROCHA, E.R.L.; MARCATO, V.J.; COSSICH, E.S. Biossorção de cromo por biomassa de *Saccharomyces cerevisiae*. In: **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 5, Campinas, Anais... Campinas: UNICAMP, 5-10, 2005.

ROYER, B.; CARDOSO, N.F.; LIMA, E.C.; RUIZ, V.S.O.; MACEDO, T.R.; AIROLDI, C. Organofunctionalized kenyaite for dye removal from aqueous solution. **Journal of Colloid and Interface Science**, 336 (2), 398-405, 2009.

RUTHVEN, D.M. Diffusion in Partially Ion Exchanged Molecular Sieves. **Can. J. Chem.** 52, 3523-3528, 1974.

SALGADO, P. E. T. **Em Fundamentos de toxicologia**. Oga, 2ª ed.; Atheneu: São Paulo, 2003.

SANTOS, G.C. **Influência da competitividade de cromo, cádmio, níquel e chumbo nos parâmetros de transporte de contaminante no solo residual de basalto de Passo Fundo-RS**. Dissertação de mestrado: Programa de Pós-Graduação em Engenharia, Universidade de Passo Fundo, 2010.

SILVA, C. S; PEDROZO, M. de F. M. **Ecotoxicologia do Cromo e seus compostos**. Série de Catálogos de Referência Ambiental. 5. Salvador – BA. 2001.

SOARES, E. V.; SOARES, H. M. V. M. Bioremediation of industrial effluents containing heavy metals using brewing cells of *Saccharomyces cerevisiae* as a green technology: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, 19(4), 1066-1083, 2011.

SOBERÓN-CHÁVEZ, G.; MAIER, R.M. Biosurfactants: a general overview. In **Biosurfactants**. Springer Berlin Heidelberg, 1–11, 2011.

TAM, N.F.Y.; WONG, Y.S.; SIMPSON, C.G. Repeated removal of copper by alginate beads and the enhancement by microalgae. **Biotechnology Techniques**, 12(3), 187-190, 1998.

USEPA, U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1996. Method 3050B. Disponível em: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3050b.pdf>. Acesso em: 01/11/2013.

VEGLIO, F. BEOLCHINI, F.; Removal of metals by biosorption a review. **Hydrometallurgy**, 44, 301, 1997.

VIEIRA, R.H.; VOLESKY, B.; Biosorption: a solution to pollution? **International Microbiology**, 3, 17-24, 2000.

VIRARAGHAVAN, A.; KAPOOR, T.; Fungal Biosorption - an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: A review. **Bioresource Technology**, 53, 195 -206, 1995.

VOLESKY, B. Biosorption of heavy metals, Boca Raton, Flórida: **CRC Press**, 396 p, 1990.

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

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

VOLESKY, B. Sorption and biosorption, **BV-Sorbex**, 326 2004.

VULLO, D.L.; Microorganismos y metales pesados: una interacción em beneficio del medio ambiente. **Química Viva**, 2, 3, 2003.

WANG, B.J.; YANG, H.F. Interaction of microorganisms with heavy metals. **Chongqing Environmental Science**; 18, 35–9, 1996.

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

WANG, J.L.; HAN, Y.J.; QIAN, Y. Progress in metal biosorption by microorganisms. **Microbiology**, 27, 449–52, 2000.

WANG, J.L. Biosorption of copper (II) by chemically modified biomass of *S. cerevisiae*. **Process Biochemistry**, 37, 847-850, 2002.

WEBER, T.W.; CHAKRAVORTI, R.K. Pore and solid diffusion models for fixed bed adsorbents. **American Institute of Chemical Engineers**, 20, 228-238, 1974.

WONG, Y.C.; SZETO, Y.S.; CHEUNG, W.H.; MCKAY, G. Adsorption of Acid dyes on chitosan – Equilibrium isotherm analyses. **Process Biochemistry**, 39(6), 695-704, 2004.

YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. **Water Resources Research**, 37 (18), 4486–4496, 2003.

ZHAO, M.; DUNCAN, J. R. Column sorption of Cr (VI) from electroplating effluent using formaldehyde cross-linked *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Letters**, 20 (6), 603–606, 1998.

ZHANG, M.; SHI, B.I. Adsorption of dyes from aqueous solution by chromium-containing leather waste. **Journal of the Society of Leather Technologies and Chemists**, 88 (6), 236 - 241, 2004.