

5. Resultados e discussão

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos ao longo da pesquisa, referentes a estudos de potencial zeta, capacidade máxima de captação da biomassa, dados necessários para caracterização do bioissorvente, cinética do processo e percentagem de remoção de metais. Também serão apresentados e discutidos resultados relativos a parâmetros físicos, como, por exemplo, a influência do pH na sorção e a vazão de ar no processo de sorção e flotação de cádmio e zinco.

5.1. Obtenção e caracterização do bioissorvente.

Como mencionado anteriormente, o bioissorvente empregado foi a espécie bacteriana *R. opacus*. A escolha desta espécie se fez através de um levantamento bibliográfico onde se encontraram trabalhos nos quais o microrganismo apresentava características importantes para a bioissorção e bioflotação.

Os critérios determinantes para sua escolha foram a hidrofobicidade, ausência de patogenicidade, a fácil aquisição em coleção de culturas nacionais, facilidade na manipulação, propagação e manutenção das células.

Na Figura 8 é apresentado o cultivo do microrganismo após um período de 48 horas de fermentação. Segundo Mesquita (2000) é quando o microrganismo atinge a fase estacionária de crescimento cuja hidrofobicidade é caracterizada por um ângulo de contato de aproximadamente 72 graus.

As células de *R. opacus* apresentam um tamanho médio de 2,0 µm de comprimento por 1,0 µm de largura, conformes os dados observados pela literatura em condições de cultivo similares (Mesquita, 2000; Alvarez et al., 2004). O tamanho deste pode variar dependendo das condições e do meio de cultura.



Figura 1 *R. opacus* após processo de centrifugação, suspenso numa solução a 1% contendo NaCl depois de um período de cultivo de 48h.

Na Figura 9 apresenta-se a micrografia do *R. opacus* obtida através do microscópio eletrônico de varredura, para células cultivadas num meio líquido rico em glicose. Observa-se a forma de bastonetes típica de bactérias Gram-positivas do gênero *Rhodococcus* que apresentam crescimento micelar pertencentes ao grupo nocardia importantes por sua característica hidrofóbica (Bell et al., 1998). Os pilis presentes na superfície celular não foram observados devido a resolução da micrografia realizada. Segundo Stratton e colaboradores (2002) os pilis possivelmente podem promover a flotação e melhorar a propriedade sortiva das espécies.

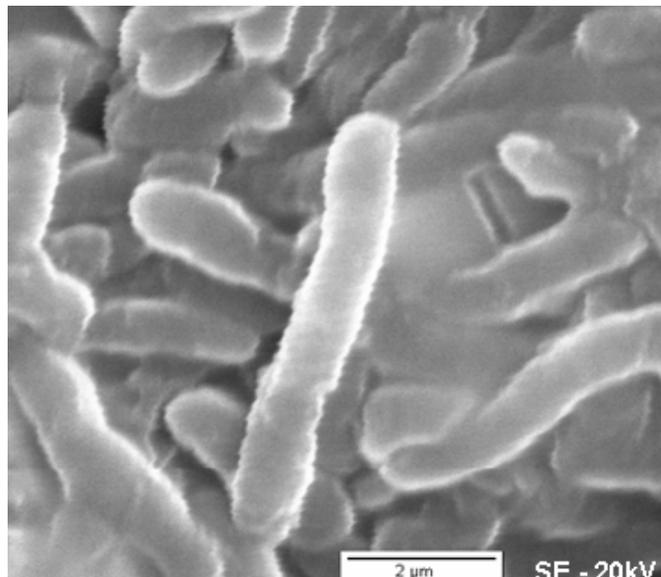


Figura 2- Micrografia do *Rhodococcus opacus*, obtidas através do microscópio eletrônico de Varredura

A análise do EDS do microrganismo antes da sorção é apresentado na Figura 10. Podemos observar a presença de elementos tais como, cloro, sódio, potássio, fósforo e ouro. A presença dos primeiros dois elementos possivelmente deve-se ao confinamento da biomassa, já que uma solução de 1% NaCl é empregada para a preservação da biomassa. O potássio e o fósforo estão presentes, pois o meio de cultura contém estes elementos essenciais para a formação de moléculas presentes na parede celular, importantes no processo de biosorção e bioflotação (Alvarez et al., 2004; Nies, 1999). Finalmente a banda representativa do ouro é observada devido ao recobrimento feito à amostra para a análise da mesma.

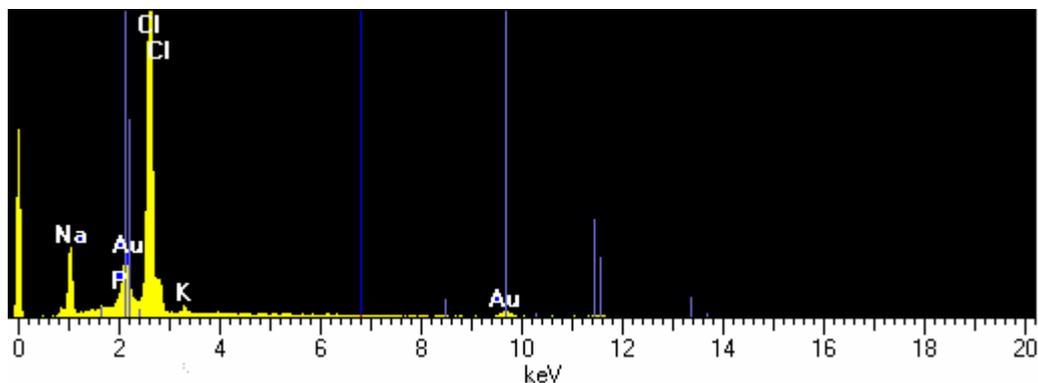


Figura 3- EDS para o *R. opacus* livre de metal, após um período de cultura de 48h antes do processo sortivo.

5.1.1. Análise de Gram

A coloração de Gram é empregada na microbiologia para a visualização e caracterização das bactérias; também é empregada para a diferenciação bacteriana. Na Figura 11 apresenta-se a fotografia da coloração de Gram do *R. opacus* considerando-se bactéria Gram-positivas devido a coloração típica que elas apresentam, cor violeta.

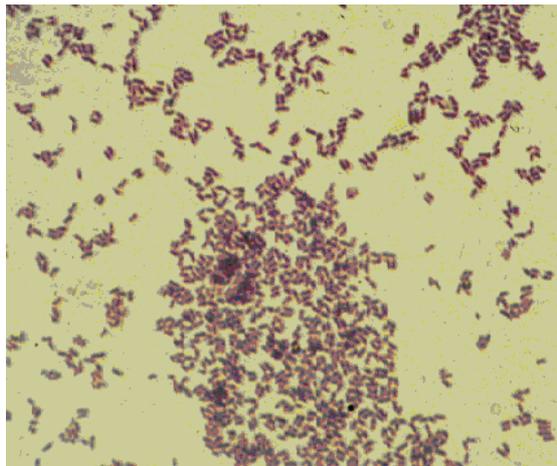


Figura 4 Coloração de Gram para o *R. opacus* após um período de 48 horas de cultura, aumento 100x

O método de Gram também pode outorgar informação adicional devido a diferença existente entre as bactérias Gram positivas e as Gram Negativas.

As bactérias Gram negativas possuem uma porção lipídica nas membranas externas onde o complexo cristal violeta-iodo é removido e as células são descoradas quando se aplica o álcool. Por outro lado, nas células Gram positivas o solvente desidrata as espessas paredes celulares das bactérias e provoca a contração dos poros do peptidoglicano, tornando-as impermeáveis ao complexo; pelo que o corante primário é retido e as células permanecem, em sua maioria coradas. Esta característica revela a presença do peptidoglicano. Segundo Kefala e colaboradores (1999), o peptidoglicano (PG) está composto principalmente por grupos reativos, carboxilas e grupos aminas. A matriz de PG é uma estrutura tridimensional altamente porosa (20-80nm de espessura) e a proporção na que se encontra o PG na parede celular depende das condições de cultura. A esta matriz é atribuída propriedades que permitem capturar o metal.

Além disso, a parede grossa que apresenta o *R. opacus* segundo Álvares et al. (2003) e Mesquita et al. (2003), está composta principalmente por exopolissacarídeos, fosfolípidos, proteínas e ácidos orgânicos como os ácidos micólicos que promovem a sorção e flotação dos íons metálicos.

Finalmente, como se encontra na Figura 11 a análise de Gram além de identificar o microrganismo como Gram positivo, nos permitiu corroborar a pureza de cepa empregada ao longo do trabalho.

5.1.2. Análise do potencial Zeta

Dependendo da presença dos grupos funcionais na superfície do microrganismo, estabelece-se o comportamento total da carga nele. Na Figura 12 observa-se que o *Rhodococcus opacus* empregado neste trabalho apresenta um ponto isoelétrico (PIE) correspondente a um valor de pH 2,5. Conforme se incrementa o pH o valor do potencial Zeta torna-se mais negativo.

Este resultado está de acordo com dados reportados na literatura, onde a maioria dos microrganismos tende a apresentar PIE em meio ácido, devido ao grande percentual de grupos aniônicos, principalmente as carboxilas e polissacarídeos, em detrimento aos catiônicos representados pela presença de nitrogênio nas proteínas e aminas. (Matis & Zouboulis et al., 1994; Mesquita et al., 2001, Mozes et al., 1989, Raichur et al., 2003)

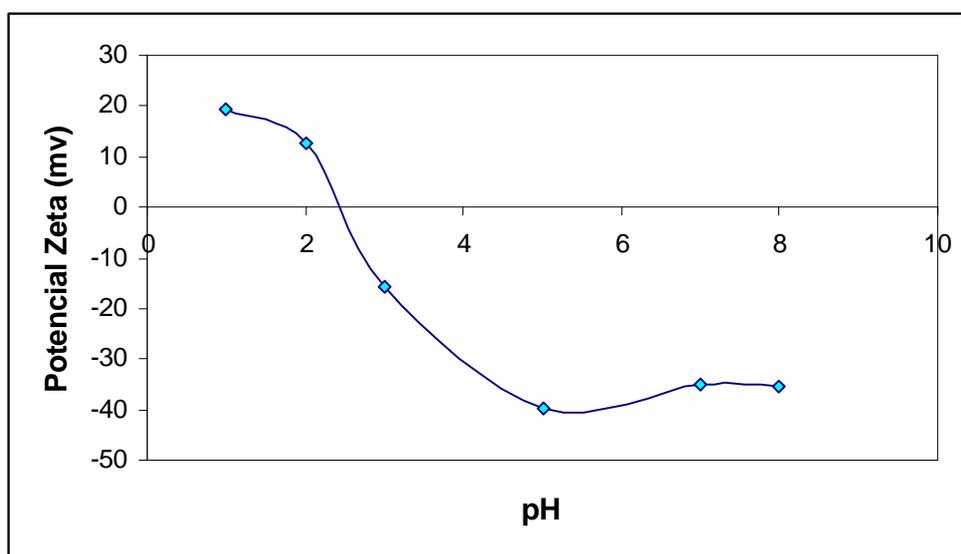


Figura 5- Curva do potencial Zeta para *R.opacus* antes da interação com Cd e Zn, em função de diferentes valores de pH. Eletrólito: NaCl 0,01 M

5.2. Efeito do pH na sorção de Cd e Zn

O pH é um dos parâmetros mais importantes no processo de biossorção de metais pesados, visto que a especiação do metal na solução e a carga dos sítios ativos na superfície podem mudar dependendo deste valor (Hüseyin et al., 1999; André et al., 1999; Blazquez et al., 2005; Schiewer & Wong, 1999).

Na Figura 13 apresentam-se os resultados de sorção de cádmio em função do valor de pH da solução.

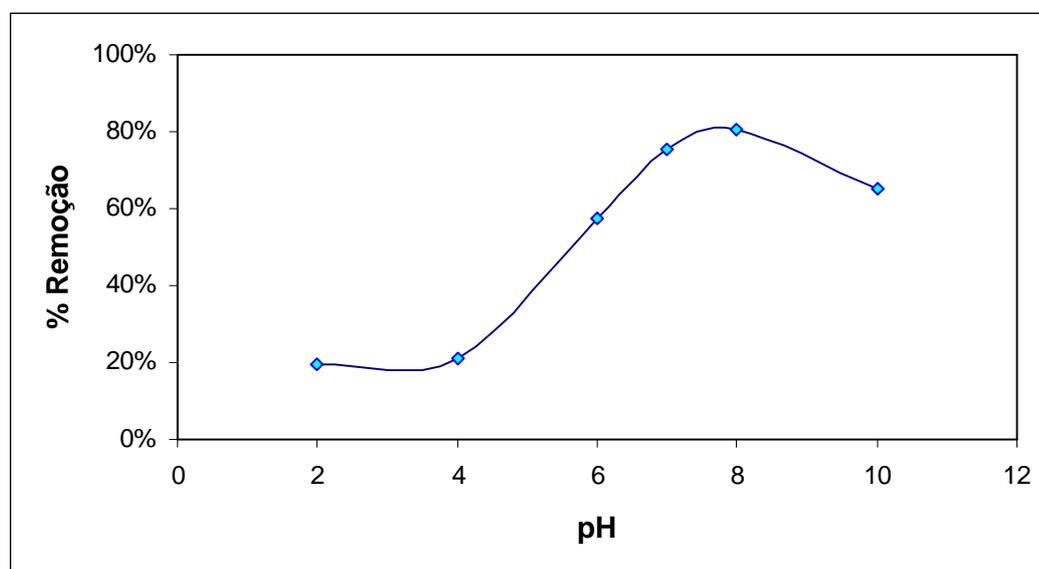


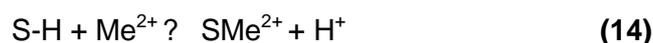
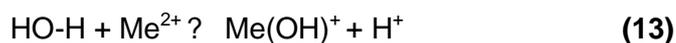
Figura 6- Influência do pH na remoção de cádmio em solução com concentração inicial de 20 ppm do metal, mediante uma concentração de 2g/L de *R. opacus*, a 25 ± 2 °C.

Observa-se que na medida em que se incrementa o valor do pH a remoção do cádmio cresce até atingir 81% para um valor de pH igual a 8,0 a partir do qual inicia-se um decréscimo na quantidade de cádmio captado, até atingir uma percentagem de 65% para um valor de pH 10,0. Para valores de pH ácidos, entre 2,0 e 4,0, observou-se porcentagens de remoção do metal entre 19 e 21%. Estes resultados levam a considerar que a faixa de pH apropriada para realizar o processo de sorção de cádmio mediante *R. opacus* encontra-se entre 7,0 e 8,0.

Vários pesquisadores têm observado que este fenômeno ocorre pela possível existência de uma competição entre íons H^+ e íons Cd^{+2} pelos sítios

ativos na superfície do microrganismo (Feng & Aldrich, 2004, Selatnia et al., 2004).

O resultado experimental aqui apresentado pode ser explicado considerando uma analogia entre a reação de hidrólise do metal Eq. (13) e a reação entre o metal e o sítio ativo da biomassa Eq.(14).



Onde Me é o metal pesado, SH é o sítio ativo na forma protonada. Em ambas as reações a ligação com hidrogênio é rompida (HO-H e S-H), o H⁺ é substituído pelo metal (HO-Me e S-Me).

A partir destas reações, é lógico que o metal pesado é muito mais ácido então vai reagir mais facilmente que a forma Me(OH⁺) o qual é um ácido mais fraco, sendo assim, a partir de um determinado valor de pH básico a captação começa a diminuir (Pagnanelli et al., 2003).

Por outro lado, a parede celular dos microrganismos Gram positivos como o *R. opacus* é composta por uma quantidade apreciável de peptidoglicano que contém grupos carboxílicos (-COOH) e aminas livres (-NH₂) e por outras moléculas, que contêm dentro de sua estrutura fosfatos e glicerol. Os grupos carboxílicos, em polímeros biológicos, têm valores de pK_a entre 3 e 5 (Selatnia et al., 2004). Para valores altos de pH estes grupos são deprotonados e negativamente carregados tornando possível a captação dos metais. Para valores de pH inferiores ao pK_a os grupos fosfatos, grupos amina e carboxilas protonam-se resultando em uma captação do metal pouco apreciável.

Para valores de pH elevados, o fenômeno de precipitação química é o mecanismo predominantemente envolvido na remoção do metal. Este fato é explicado mediante a especiação do metal como se mostra na Figura 14.

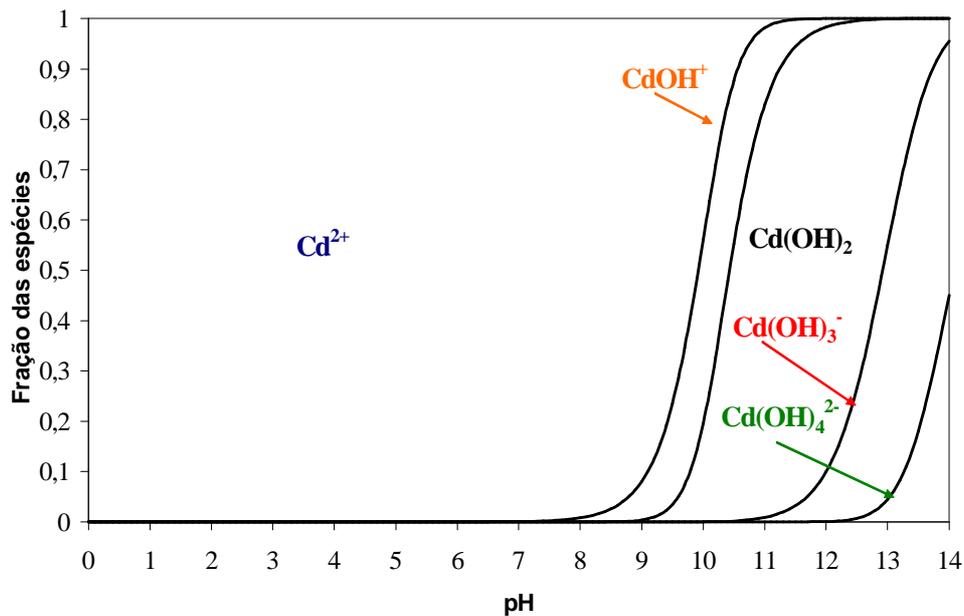


Figura 7-Diagrama de especiação das espécies de Cd presente numa concentração de 20 ppm em função do pH a 25 °C (Scorzelli, 1999).

È por isso que o pH de trabalho está limitado pela especiação do metal, sendo assim, a faixa adequada para realizar o processo de sorção encontra-se entre pH 5 e 7,5 (Hüseyin et al., 1999; Kefala et al., 1999; Matis & Zouboulis 1994).

A mesma discussão pode ser atribuída à sorção de zinco. Para valores baixos de pH entre 2,0 e 4,0 se obteve uma remoção de zinco baixa com valores entre 19 e 20%. No entanto para o zinco, um aumento no valor de pH não produz um aumento tão pronunciado na percentagem de remoção do metal como o observado para cádmio. A máxima percentagem de zinco recuperada foi de 62%, correspondente a um valor de pH em torno de 8,0. Na Figura 15 aprecia-se o efeito do pH na sorção do Zn^{+2} .

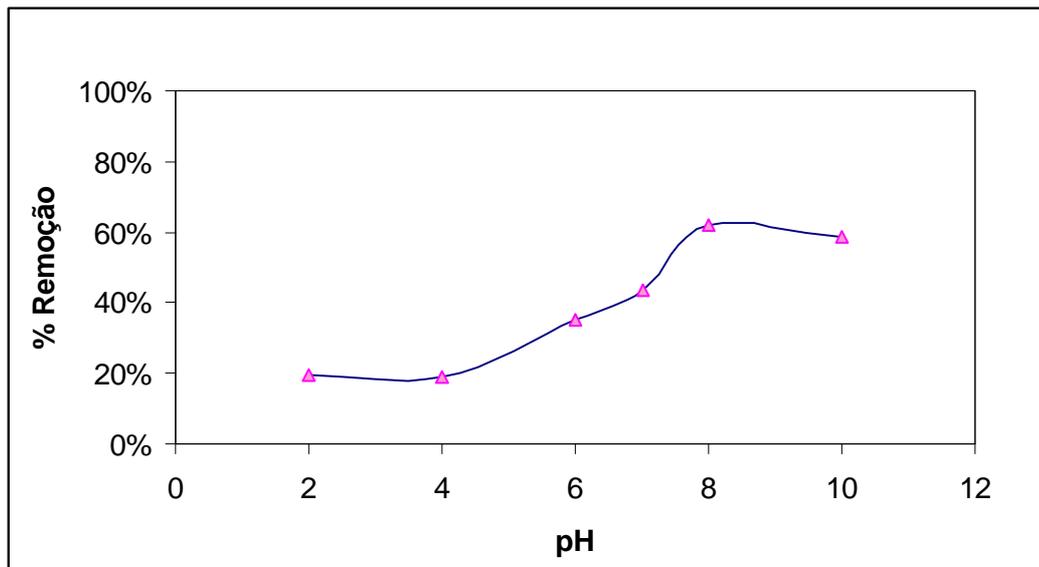


Figura 8 Influência do pH na remoção de zinco de uma solução com concentração inicial de 20 ppm do metal, com uma concentração de 2g/L de *R. opacus*, a 25 ± 2 °C

O diagrama de especiação do metal revela que a partir de um valor de pH aproximadamente igual a 7, o Zn^{2+} não é a espécie predominante, dando lugar à formação de outras espécies de $ZnOH^+$, $Zn(OH)_2$, $Zn(OH)_3^-$, $Zn(OH)_4^{2-}$ conforme o pH aumenta. Na Figura 16 se tem o diagrama de especiação do zinco presente numa concentração de 20 ppm, que permite dar uma idéia do estado do metal em função do pH.

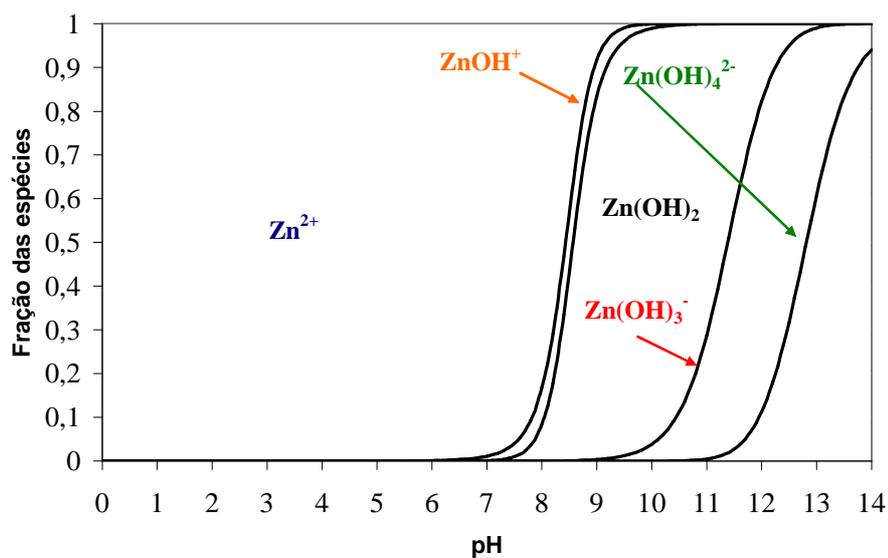


Figura 9-Diagrama de especiação das espécies de Zn presente numa concentração de 20 ppm em função do pH a 25 °C (Scorzelli, 1999).

Selatnia et al. (2004) fizeram um estudo de bio sorção de Cd^{+2} mediante *Streptomyces rimosus* pré-tratado com uma solução de NaOH. Foi verificado que a máxima captação do metal na biomassa se dava para pH de 8,0. Acima desse valor as espécies hidroxilas começavam a se formar e a precipitar para uma concentração inicial de 100 ppm de Cd^{+2} . Resultados semelhantes a este tem sido encontrados por muitos pesquisadores, como por exemplo, captação de Cd^{+2} e Zn^{+2} por um musgo aquático denominado *Fontinalis antipyretica*, onde avaliou-se as isotermas de captação em função do pH e estabeleceu-se o pH como uma variável fundamental devido à melhora da captação com o aumento do pH (Martins et al., 2004).

Hüseyin et al. (1999) reportou num estudo feito sobre a bio sorção de Zn e Cd em *S. cerevisiae* imobilizada, que a máxima captação se apresentou para valores de pH entre 7,0 e 7,5 para Zn e Cd, respectivamente. O estudo mostra que o pH afeta o mecanismo de captação em função dos grupos funcionais presentes na parede celular.

Kefala et al. (1999) encontrou que a máxima captação de Cd empregando diferentes espécies de *Actinomicetos* denominados JL322 e AK61 apresentou-se para um pH superior a 7,5 como mostra a Figura 17.

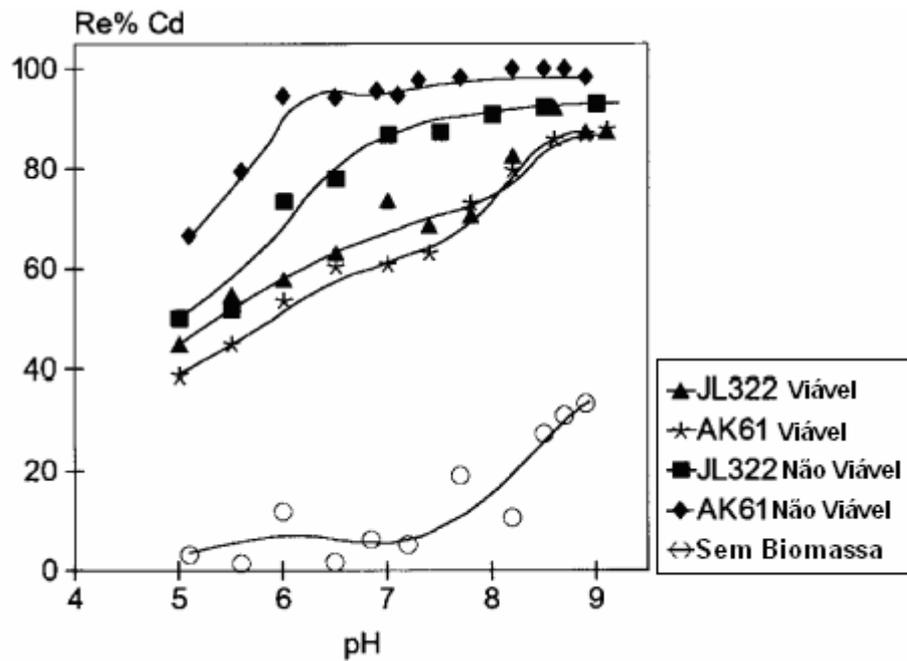


Figura 10- Influência de pH na remoção de cádmio usando duas cepas de *Actinomicetos*: JL322 e AK61 (células viáveis e não viáveis), concentração de biomassa 0,5 g/L. (Kefala et al., 1999).

5.2.1. Análise do MEV e EDS para a sorção de Cd e Zn

Uma análise realizada por microscopia eletrônica de varredura e EDS com as células após sorção de cádmio e zinco apresentado nas Figuras 18, 19, 20 e 21 permite confirmar a presença do metal no bioissorvente.

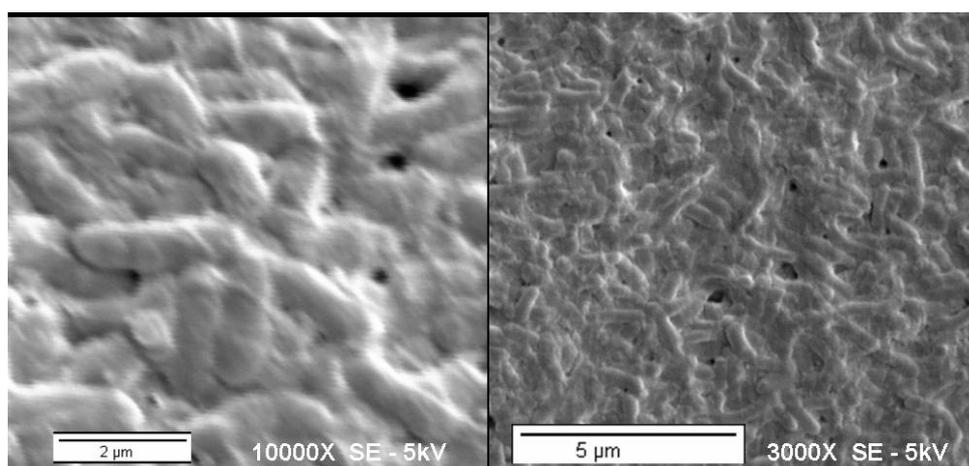


Figura 11- Micrografia do *Rhodococcus opacus* depois da sorção de Cd

As micrografias obtidas revelam uma alteração no aspecto das células que se mostram mais aglomeradas em comparação com a micrografia apresentada

na Figura 9, que revela a estrutura do microrganismo antes de ser submetido ao processo de sorção. Esta mudança pode estar relacionada com a presença do metal na superfície das células resultante da biossorção do cádmio. As análises de EDS apresentadas na Figura 19 reportam a presença de cádmio na amostra, indicando que este íon foi sorvido pelo microrganismo.

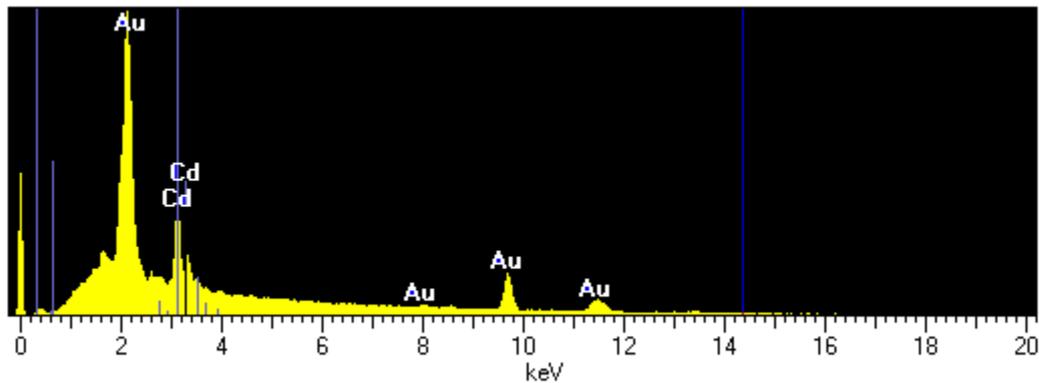


Figura 12- EDS para o sistema Cd - R. opacus depois do processo sortivo, para uma concentração Cd inicial de 20 ppm.

Para o zinco acontece algo similar. De acordo com a Figura 20, a presença do metal produz uma mudança apreciável nas micrografias obtidas na microscopia eletrônica de varredura. O recobrimento ocasionado pelo ouro permite ver um aglomerado que não se tinha observado na Figura 9 mesmo que quando as duas amostras tenham sido submetidas às mesmas condições de análise no MEV, quanto a desidratação e recobrimento.

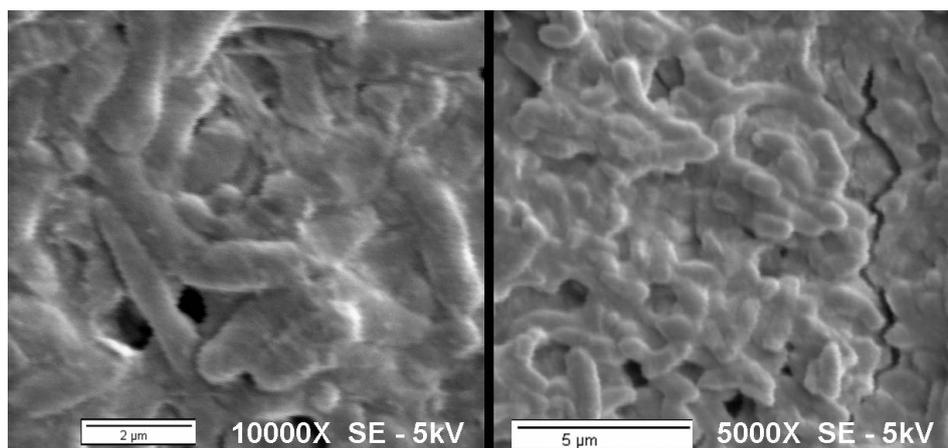


Figura 13-Micrografia do Rhodococcus opacus depois da sorção de Zn

Na Figura 21 apresenta-se o EDS do sistema célula-metal confirmando a sorção do zinco no microrganismo. Embora as micrografias para os diferentes sistemas não apresentem muita diferença, pode observar-se que ambos os metais causam mudanças na composição das células *R. opacus*.

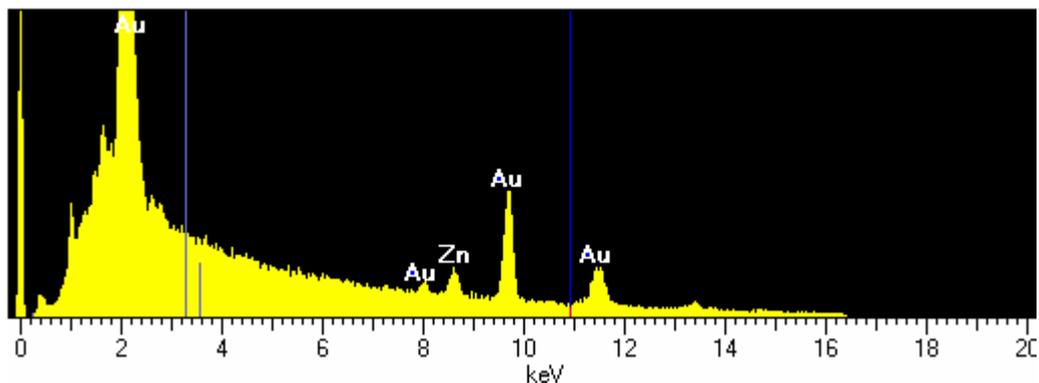


Figura 14-- EDS para o sistema Zn -R. opacus depois do processo sortivo, para uma concentração de Zn inicial de 20 ppm.

5.3. Efeito da concentração inicial dos metais na sorção de cádmio e zinco.

A concentração inicial dos íons em solução fornece informação importante para estabelecer parâmetros operacionais da biossorção em escala piloto. Foram realizados ensaios para diferentes concentrações iniciais de cádmio e zinco onde a capacidade de remoção da biomassa foi observada. As concentrações iniciais testadas se situaram na faixa de 15 a 90 ppm para o cádmio e de 5 a 70 ppm para o zinco.

Tanto para o cádmio como para o zinco a remoção de metal por *R. opacus* diminui com o aumento da concentração inicial dos íons em solução. A máxima percentagem de remoção de cádmio atingida, ao redor de 60%, correspondeu a uma concentração inicial de 15 ppm e a partir desta concentração a eficiência na remoção decaiu até um valor aproximado de 27% para uma concentração inicial de 85 ppm (Tabela 14).

Para concentrações iniciais não superiores a 30 ppm a percentagem de remoção de zinco encontra-se numa faixa entre 40 e 83%. A partir dessa concentração a eficiência de remoção diminuiu até um valor de 29%.

Na Tabela 14, são apresentados os dados de captação de cádmio e zinco por *R. opacus* com o respectivo valor na percentagem de remoção do metal em função da concentração inicial. Observa-se que a medida que incrementa a concentração inicial metálica a capacidade de captação do microrganismo incrementa embora a percentagem de remoção decresça. Isto pode ser explicado porque possivelmente em baixas concentrações das espécies metálicas, se tem maior disponibilidade de sítios ativos na superfície da biomassa para remover o metal, então a probabilidade de captação dos íons é elevada e a remoção é alta. Quando a concentração inicial metálica é elevada os sítios ativos são esgotados rapidamente e a percentagem de remoção decai (Chandra et al., 2003).

Resultados similares têm sido reportados por diferentes pesquisadores. Ho et al. (2004) encontraram que para um aumento na concentração inicial de Pb (II) de 74 ppm para 350 ppm a capacidade de captação mudava de 18,2 mg/g para 41,5 mg/g, empregando como sorvente partículas da árvore de samambaia.

Lokidou et al. (2004) também observaram o mesmo fenômeno quando testou duas concentrações iniciais de 5 e 50 ppm de Cr (VI) e encontraram que a capacidade de captação da *Aeromonas caviae* mudava de 5,05 mg/g para 42,58 mg/g para uma mesma concentração de biomassa.

Tabela 1. Efeito da concentração inicial dos íons cádmio e zinco na bio-sorção mediante *R. opacus*

Cádmio			Zinco		
C_i (ppm)	q (mg/g)	% Remoção	C_i (ppm)	q (mg/g)	% Remoção
15	0,450	60	5	0,213	83
32	0,681	36	9	0,233	48
47	0,820	28	14	0,358	49
57	0,998	35	24	0,627	51
71	1,112	31	29	0,765	52
85	1,133	27	60	1,007	34
			70	1,012	29

Os dados apresentados nesta tabela, mostram uma capacidade moderada na captação de metais por meio de *R. opacus*. Estes poderiam ser melhorados, ativando certos grupos funcionais presentes na parede do microrganismo mediante um pré-tratamento com hidróxido de sódio (Selatnia et al., 2004) ou através de adição de EDTA à biomassa, como fizeram Matis e colaboradores (2003) para incrementar a sorção de espécies metálicas em *Streptomyces rimosus* e *Streptomyces carlsbergensis*.

5.4. Estudo de equilíbrio - Isotermas de captação

O estudo de equilíbrio é importante visto que estabelece dados importantes para desenvolver equações de projeto (Ramírez, 2005). Mediante a construção das isotermas de captação é possível observar a relação existente entre a quantidade de sorvato presente na superfície da biomassa e a quantidade de sorvato em equilíbrio com a solução.

Os modelos empregados para a análise do equilíbrio foram os de Langmuir e Freundlich. Estes modelos estabelecem que as uniões dos íons na superfície podem acontecer primeiramente por forças físicas, eletrostáticas ou forças de London-van der Waals (Davis et al., 2003).

No modelo proposto por Langmuir prevalece uma suposição importante, onde todos os sítios na superfície do sorvente possuem igual afinidade pelo sorvato. Além disso, o modelo considera sorção em monocamada (Davis et al., 2003). A forma geral do modelo proposto por Langmuir obedece à equação (6)

$$q = \frac{q_{MAX} \cdot b \cdot C_{eq}}{1 + b \cdot C_{eq}} \quad (6)$$

Onde os principais parâmetros q_{max} qual indica a captação máxima de íons metálicos na completa saturação da superfície expresso em miligramas de metal por grama de sorvente (mg/g) e “b” é a constante relacionada com a energia de adsorção/dessorção em L/mg metal, (Volesky, 1990).

O modelo de Freundlich estabelece que os sítios de sorção têm diferente afinidade pelo sorvato, ou seja a adsorção é feita numa superfície heterogênea, os sítios de maior força atrativa são ocupados primeiro conforme a Eq. (7) (Davis et al., 2003).

$$q = k \cdot C_{eq}^{1/n} \quad (7)$$

Onde a constante K, proporciona uma medida da capacidade do biossorvente e o expoente $1/n$ dá uma idéia da intensidade da biossorção.

Na Figura 22 e Figura 23 apresentam-se as isotermas de adsorção para o Cd e Zn respectivamente, segundo o modelo de Freundlich.

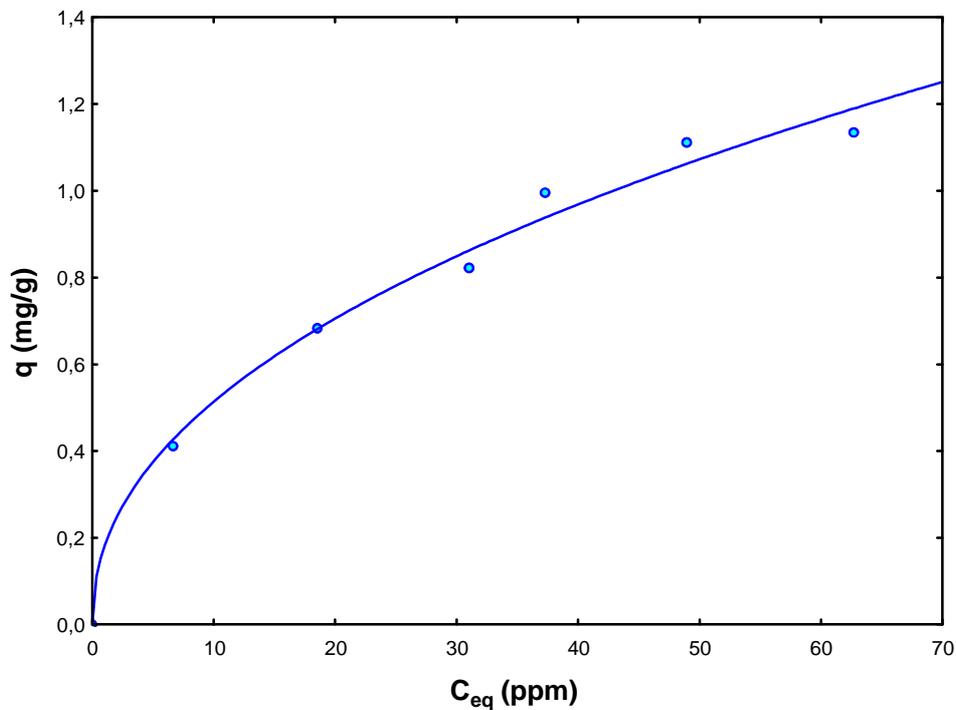


Figura 15- Isoterma de adsorção de cádmio mediante *R.opacus*, pH 7,0; concentração de biomassa 2 g/L, velocidade de agitação 175 rpm, a 26°C

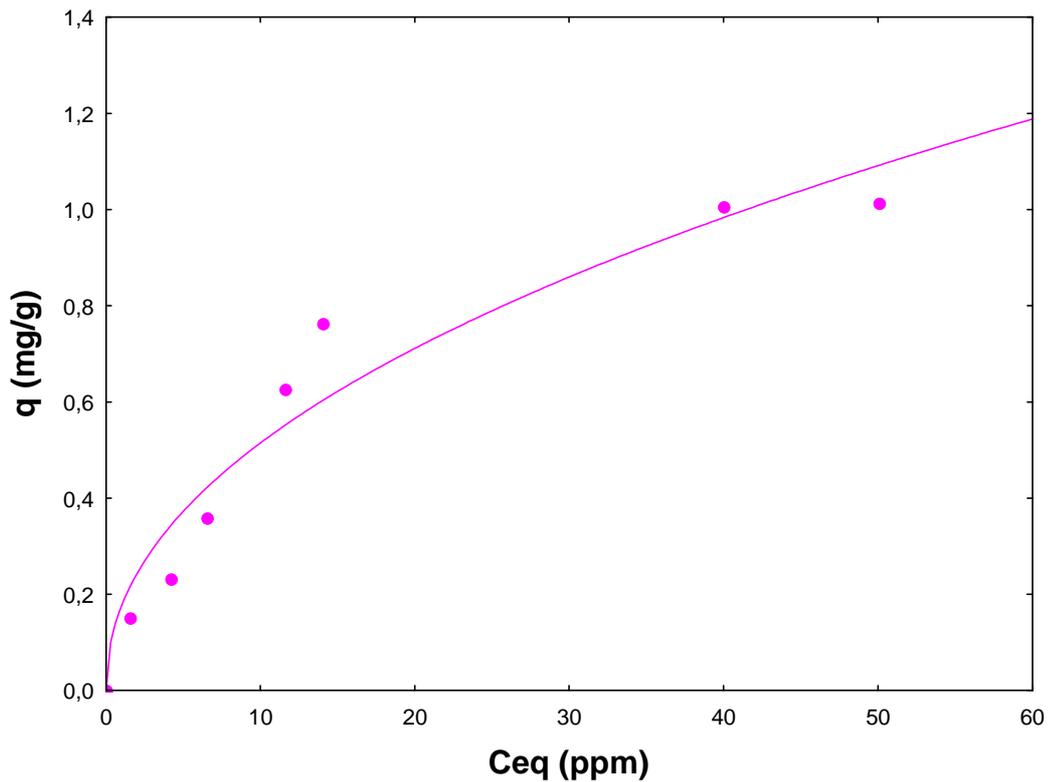


Figura 16 Isotherma de adsorção para o zinco mediante *R.opacus*, pH 7,0; concentração de biomassa 2 g/L, velocidade de agitação 175 rpm, a 26°C.

Comparando as Figuras 22 e 23 com a forma das isotermas apresentadas na Figura 4, segundo a classificação de Giles (Hinz, 2001), verifica-se que as isotermas para a remoção de cádmio e zinco são semelhantes ao tipo (L). Sua forma convexa indica que a biossorção dos metais foi favorável. O formato das isotermas estabelece informações importantes sobre o mecanismo de sorção. Segundo Giles a forma convexa e o comportamento no início das curvas tipo L indicam que à medida em que os sítios disponíveis vão sendo preenchidos, torna-se mais tortuoso e difícil a acomodação dos íons metálicos no sorvente.

Mediante a linearização do modelo de Langmuir, Eq. (16) podem ser estimados os principais parâmetros envolvidos na sorção metálica (capacidade máxima de captação do metal pelo biossorvente $q_{\text{máx}}$, e a afinidade do biossorvente pelo metal, b) quando ao graficar “ C_{eq}/q ” em função da concentração de equilíbrio. Na Figura 24 se encontra a linearização do modelo de Langmuir para o cádmio e para o zinco, respectivamente (Blazquez, 2005).

$$\frac{C_{\text{eq}}}{q} = \frac{1}{q_{\text{máx}}} \cdot C_{\text{eq}} + \frac{1}{b \cdot q_{\text{máx}}} \quad (16)$$

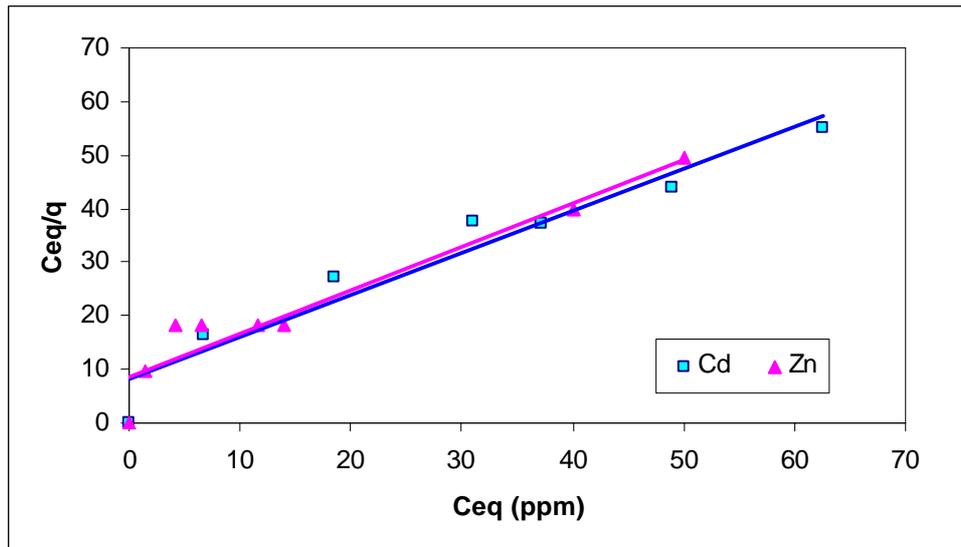


Figura 17- Linearização do modelo de Langmuir para a sorção de cádmio e zinco mediante *R.opacus*, pH 7,0; concentração de biomassa 2 g/L, velocidade de agitação de 175 rpm, a 26°C

Na Figura 25 apresenta-se a forma linearizada do modelo de Freundlich onde “n” corresponde à intensidade de adsorção dos íons metálicos. Um valor deste parâmetro superior à unidade significa que a biossorção é favorável. Por outro lado, o parâmetro “K” indica a capacidade de sorção, e seu incremento significa um aumento na afinidade da biomassa pelos íons metálicos (Sudha & Emilia, 2002).

$$\ln(q) = \ln(K) + \frac{1}{n} \cdot \ln(C_{eq}) \quad (16)$$

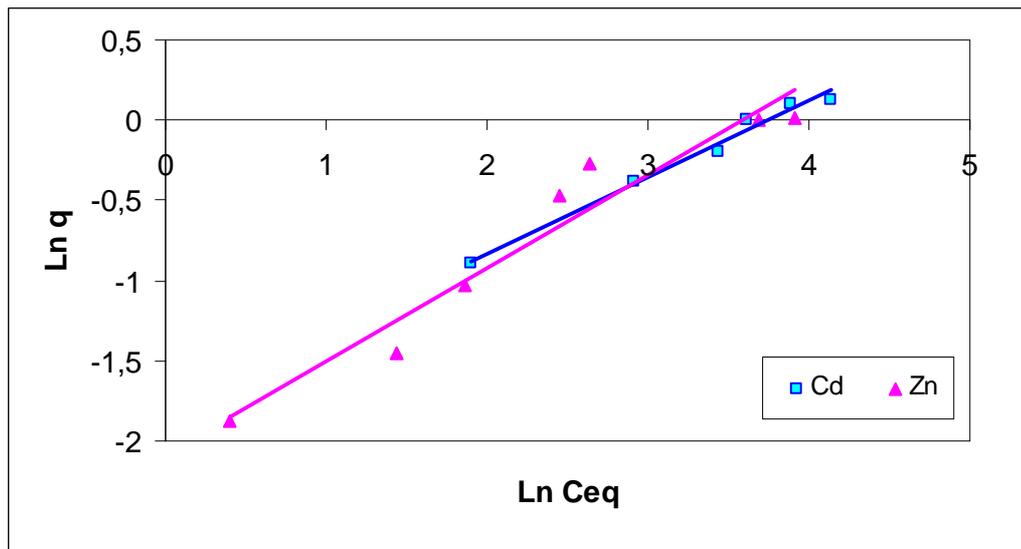


Figura 18- Linearização do modelo de Freundlich para a sorção de cádmio e zinco mediante *R.opacus*, pH 7,0; concentração de biomassa 2 g/L, velocidade de agitação de 175 rpm, a 26°C.

Na Tabela 15 reportam-se os parâmetros obtidos mediante a linearização dos modelos de Langmuir e Freundlich, tanto para o cádmio como para o zinco, onde cada parâmetro destes depende da natureza do sorvente e do sorvato.

Tabela 2. Constantes de adsorção do cádmio e zinco no *R. opacus*, segundo modelo de Langmuir e Freundlich

Metal	Langmuir			Freundlich		
	q_{\max} (mg g^{-1})	b (L mg^{-1})	R^2	K (L g^{-1})	$n(-)$	R^2
Cd	1,555	0,089	0,9339	0,167	2,099	0,9849
Zn	1,352	0,095	0,9237	0,124	1,716	0,9402

Os valores observados na Tabela 15 revelam que os dados obtidos experimentalmente na sorção de cádmio e zinco ajustam-se melhor ao modelo de Freundlich do que o modelo de Langmuir, dado pelo valor dos coeficientes de correlação, tanto para o cádmio como para o zinco.

Segundo os resultados mostrados na Tabela 15 a capacidade máxima de sorção, q_{\max} , dos íons cádmio por *R. opacus* foi de 1,555 (mg g^{-1}) e de 1,352 (mg g^{-1}) para os íons Zn^{2+} .

Rascon (2000) encontrou valores máximos de captação de 1,36 e 4,28 mg zinco/g de alga seca, os quais são próximos aos resultados obtidos experimentalmente neste trabalho (1,352 mg zinco / g *R.opacus*). O primeiro dos valores máximos encontrados por Rascon, corresponde a sorção de Zn na alga *Solanum eleagnifolium* em forma nativa, enquanto o segundo valor envolve faz referencia a sorção na alga hidrolisada. A captação obtida nesta pesquisa foi praticamente igual, não supera nem 1% de diferença na captação do íon zinco, com relação a biomassa nativa de Rascon. Com respeito ao segundo resultado, a diferença na captação foi de um 14% superior à biomassa hidrolisada de Rascon, devido a que este tipo de pré-tratamento ativa os grupos funcionais da alga incrementando a eficiência de remoção (Baig t. et al., 1999; Selatnia et al. 2004).

Neste estudo, encontrou-se que o *R. opacus* apresenta maior capacidade de captação de íons cádmio do que íons de zinco. Esta ocorrência não indica necessariamente que a superfície celular tenha maior afinidade pelos íons cádmio. Quanto maior o valor do parâmetro b, maior é a afinidade do biosorvente pelo sorvato, sendo 0,089 (L mg^{-1}) para o Cd e 0,095 (L mg^{-1}) para o Zn.

Possivelmente este fato deve-se às propriedades eletronegativas do metal, já que o cádmio é mais eletronegativo (1,7) que o zinco (1,6). É por isso que o Zn tem maior afinidade pelos grupos funcionais presentes na parede celular do *R. opacus*.

Em múltiplos estudos tem se encontrado que o zinco tem maior afinidade que o cádmio pelos sorventes naturais. Na Tabela16 apresentam-se os diferentes sorventes estudados e a ordem de afinidade.

Tabela 3. Afinidade dos metais para diferentes sorventes (Pagnanelli et al., 2003).

Sorventes	Ordem de afinidade
<i>Microcystis e Spirogyra</i>	Pb> Cu>Zn>Cd
<i>Streptoverticillium e Penicillium</i>	Pb> Cu>Zn>Cd>Ni>Co
Lodo Ativado	Pb>Cu>Zn=Cd>Ni
<i>Pseudomona aeruginosa</i> PU21	Pb>Cu>Cd
Biomassa (fungos)	Pb>Cu>Cd>zn

Para o modelo de Freundlich, observa-se um bom ajuste dos dados experimentais em relação ao modelo de Langmuir para as duas espécies avaliadas, como é observado mediante os valores de R^2 correspondentes a 0,9849 e 0,9402 para a adsorção de cádmio e zinco respectivamente. Isto indica que a adsorção dos íons avaliados neste trabalho, possivelmente, é feita numa superfície heterogênea, ou seja o *R. opacus* comporta-se como uma superfície onde os íons são sorvidos com intensidade diferente (Davis et al., 2003; Ramírez, 2005).

O parâmetro “n” correspondente ao modelo de Freundlich proporciona valores superiores à unidade, tanto para o trabalho realizado por Huamán (2005), que analisou a adsorção de cádmio como de zinco mediante *Coccus nuciífera*, como para o presente, indicando que a biossorção destes íons é favorável para ambos os sorventes.

A magnitude dos parâmetros obtidos pelas isotermas ajuda a determinar a capacidade de adsorção dos diferentes biossorventes, embora fazer uma comparação para saber o desempenho de cada um é difícil, devido a utilização de diferentes condições experimentais. Segundo os dados apresentados na Tabela 14, o *R. opacus* pode sorver íons cádmio e zinco de forma moderada.

5.5. Cinética de sorção dos metais

A predição da velocidade de reação é importante para o projeto de plantas de tratamento, onde o poluente é removido da solução aquosa (Fogler, 2001; Ho et al., 2004).

A partir dos resultados obtidos no ensaio cinético para a sorção de Cd e Zn, de acordo com a metodologia descrita, verificou-se que a maior parte da sorção ocorre nos primeiros 15 minutos de contacto e o processo de captação foi quase completo a partir de 30 minutos. O equilíbrio foi atingido aproximadamente em 60 minutos para ambas as espécies, depois disso não foi adsorvido mais metal.

Analisando a Figura 26 e a Figura 27 este curto tempo de contato necessário para atingir as condições de equilíbrio, além de prover evidência da vantagem do processo, é considerado como um indicador de que a adsorção de Cd e Zn, pelo *R. opacus*, pode ser é um processo quimicamente controlado.

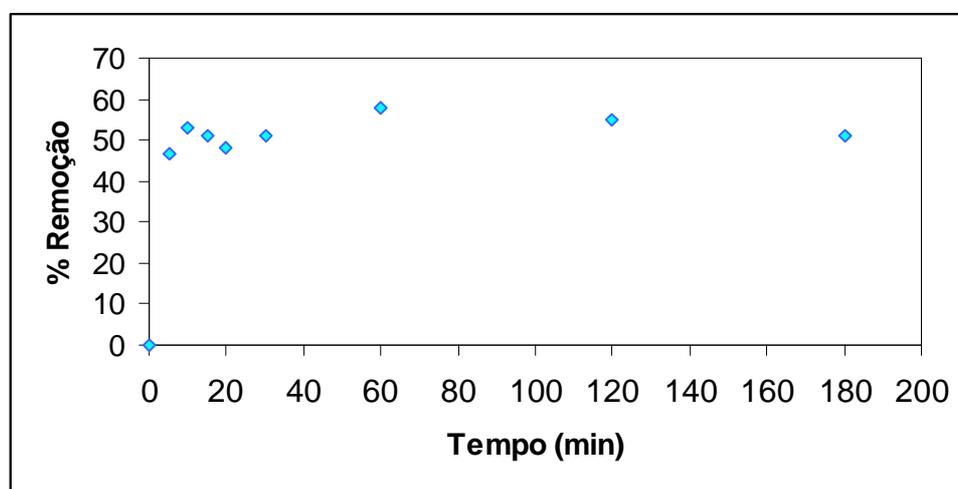


Figura 19-Cinética de biossorção de cádmio mediante *R. opacus*, concentração inicial de 15 ppm, concentração de biomassa 2 g/L, pH 7,0; velocidade de agitação de 175 rpm, a 26°C

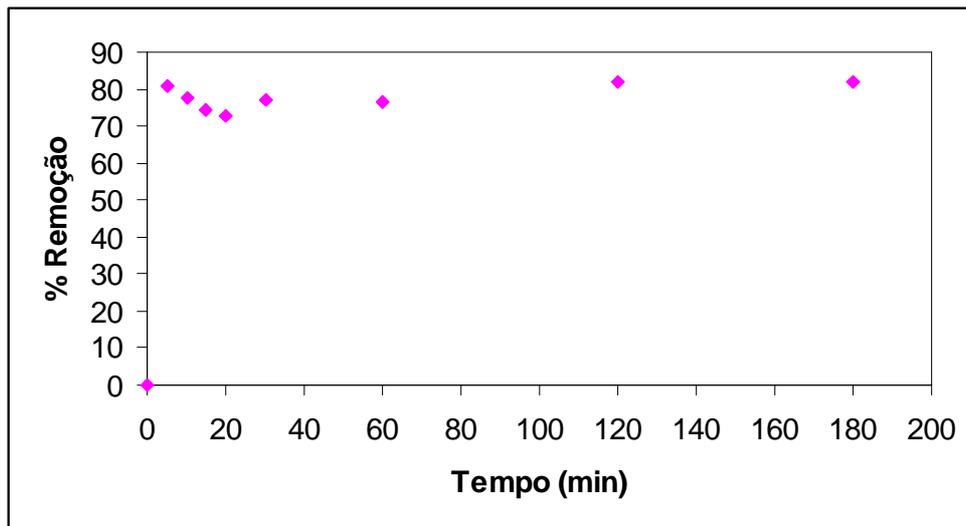


Figura 20- Cinética de biossorção de zinco mediante *R. opacus*, concentração inicial de 5ppm, concentração de biomassa 2 g/L, pH 7,0; velocidade de agitação de 175 rpm, a 26°C

Diversos modelos têm sido propostos para testar a ordem de reação de sistemas que envolvem sorção em sorventes de tipo biológico. Tradicionalmente, a equação de primeira ordem tinha sido empregada até uns anos atrás, porém desde há pouco tempo o modelo de pseudo-segunda ordem tem sido considerado como o mais apropriado (Blazquez et al., 2005, Ho et al., 2004).

Na Figura 28 e 29 se pode observar os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem segundo a Eq.(8) para a bioassorção de Cd como de Zn por *Rodococcus opacus*, respectivamente.

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \frac{k_L}{2,303} t \quad (8)$$

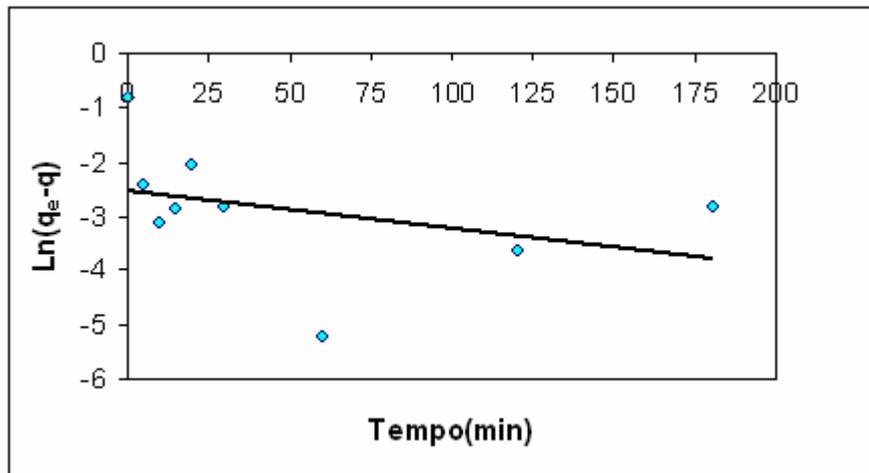


Figura 21-Cinética de biossorção de pseudo-primeira ordem de Cd no *R. opacus* para uma concentração inicial de 15.

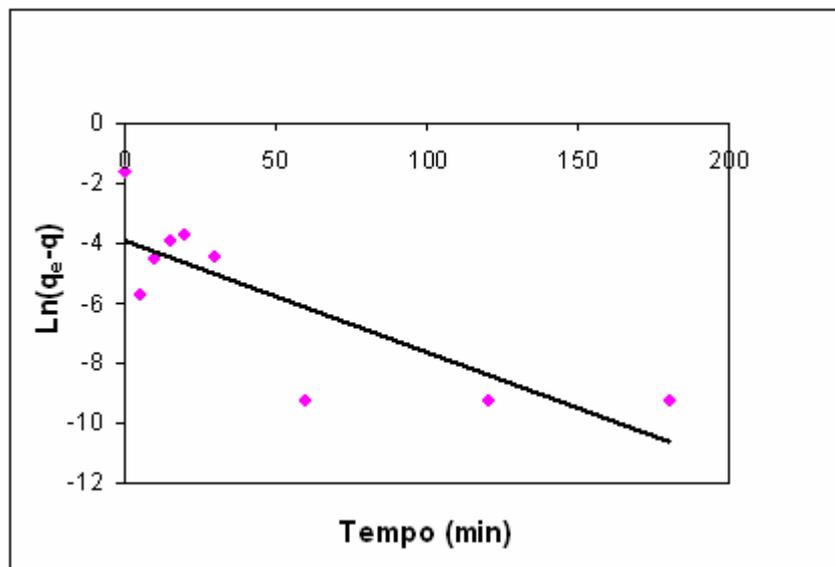


Figura 22- Cinética de biossorção de pseudo-primeira ordem de Zn no *R. opacus* para uma concentração inicial de 5 ppm.

Como pode se observar, o modelo cinético de pseudo-primeira ordem baseado na capacidade do sólido não se ajustou adequadamente aos dados experimentais, tanto para o Cd como para o Zn.

Resultados similares têm sido reportados por outros pesquisadores, para sorção de diversos metais em sorventes naturais (Akzu,2001, Ho et al., 2004, Lodi, 1998). Segundo Akzu (2001), este modelo cinético representa satisfatoriamente o processo depois dos 30 primeiros minutos onde a maioria do metal foi sorvido (Akzu, 2001).

Por outro lado, nas Figuras 30 e 31 observam-se os modelos cinéticos de pseudo-segunda ordem empregados para descrever o processo de biossorção de Cd e Zn, respectivamente, segundo a Eq (9).

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{kq_e^2} + \frac{1}{q_e}t \quad (9)$$

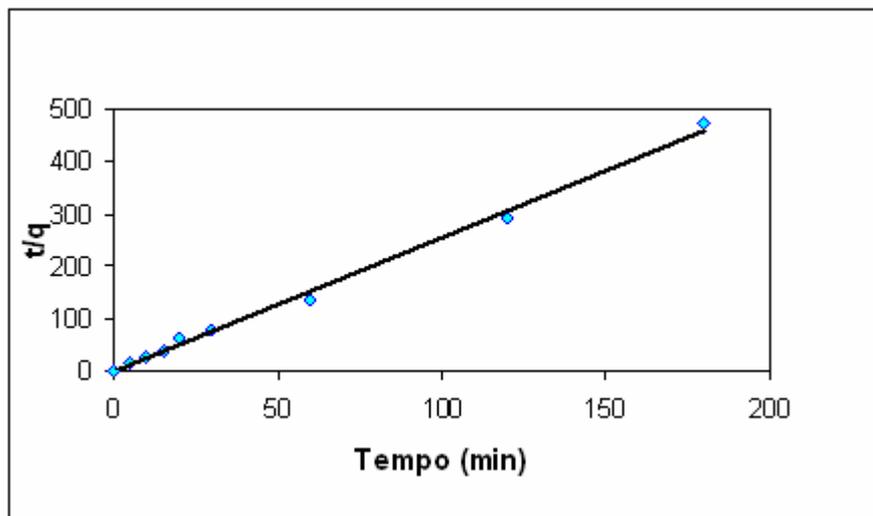


Figura 23-Comparação dos dados obtidos da captação experimental de Cd com a curva predita pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem, para uma concentração inicial de 15ppm para Cd a 25 ± 2 °C e pH 7,0.

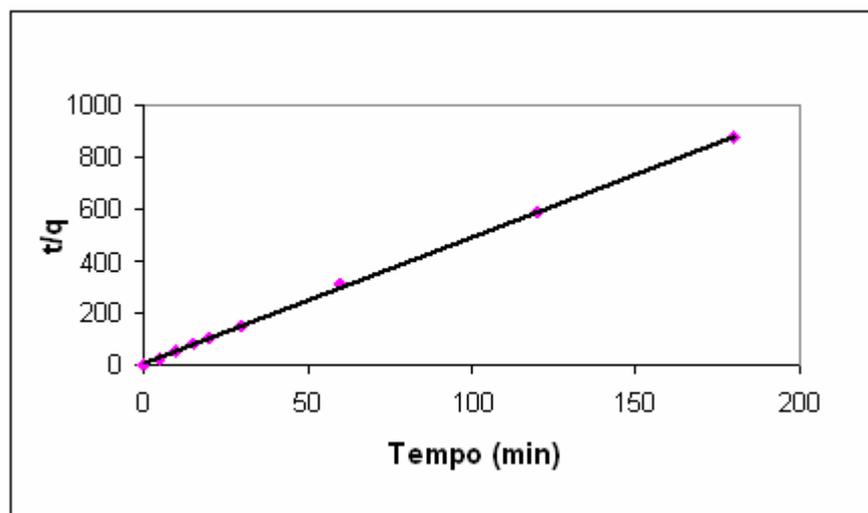


Figura 24- Comparação dos dados obtidos da captação experimental de Zn com a curva predita pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem, para uma concentração inicial de 5 ppm para Zn a 25 ± 2 °C e pH 7,0.

Os gráficos refletem a congruência entre os dados experimentais e o modelo de pseudo-segunda ordem, este modelo também é baseado na capacidade do sólido, ao contrário do outro modelo, este não precisa extrapolar os dados para obter a capacidade de adsorção no equilíbrio, pois o modelo de pseudo-segunda ordem o prediz.

Segundo este modelo, pode se afirmar que a adsorção do metal é a etapa controladora no processo de sorção de Cd e Zn (Loukidou et al.,2004; Mameri et al.,1998; Akzu, 2001)

Na Tabela 17 mostram-se os valores dos parâmetros cinéticos obtidos dos diferentes modelos testados, indicando que a velocidade inicial de sorção para o Zn é maior do que para o Cd.

Além disso, q_e é maior para o cádmio devido a que se empregou uma concentração inicial maior do que a concentração inicial do zinco.

Tabela 4 Valor dos diferentes parâmetros dos modelos cinéticos propostos para o sistema de sorção de Cd e Zn a 25 ± 2 °C e concentração inicial de 15 e 5 ppm, respectivamente.

Metal	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem			
	q_e (mg/g)	K_1 (1/min)	R^2	q_e (mg/g)	k (g/mg.min)	h_0 (mg/gmin)	R^2
Cd	0,3812	0,0068	0,1278	0,392	3,9017	0,2563	0,9959
Zn	0,205	0,0372	0,6606	0,2059	3,3686	4,856	0,9995

5.6. Análise do potencial Zeta

Após da interação do biossorvente com Cd e Zn, observou-se que para ambos metais se apresenta um deslocamento no valor do PIE do *R. opacus*, caracterizando uma sorção específica como se apresenta na Figura 32.

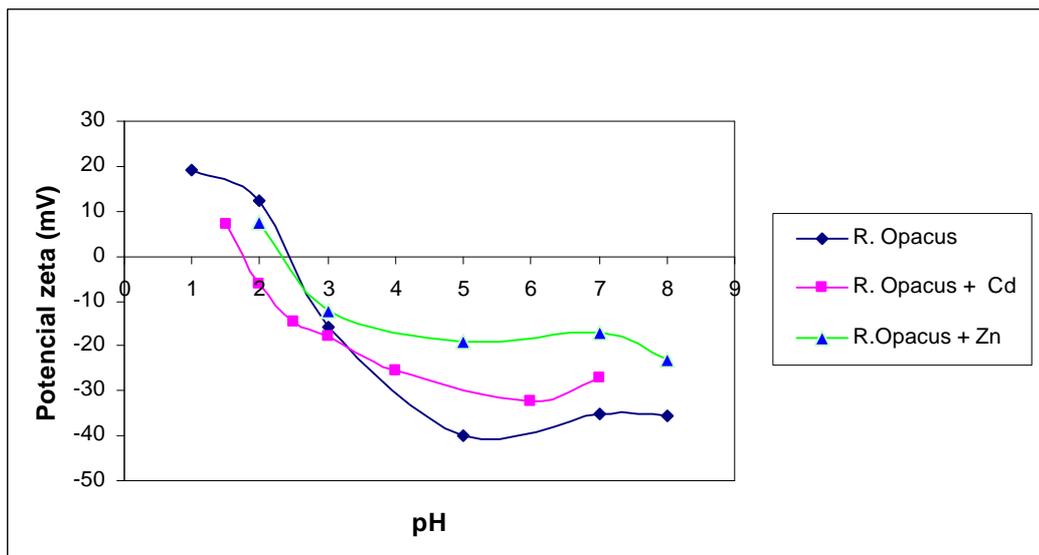


Figura 25 Curvas do potencial Zeta para *R.opacus* antes e depois da interação com Cd e Zn, em função de diferentes valores de pH. Eletrólito: NaCl a 0,1M

A presença dos metais produz uma mudança na magnitude do potencial zeta da biomassa, tornando-a menos negativa. Este comportamento indica que os íons metálicos têm sido sorvidos na superfície do *R. opacus* preenchendo os sítios ativos e neutralizando as cargas representadas pelo grande percentual de grupos aniônicos, principalmente as carboxilas e polissacarídeos (Matis & Zouboulis,1989).

Observa-se também que o potencial zeta das células carregadas com o cádmio teve valores mais eletronegativos que para o microrganismo carregado com zinco em toda faixa de pH devido ao fato do Zn ser um metal mais eletropositivo do que o Cd.

Também pode observar-se que o PIE do microrganismo carregado com as espécies metálicas sofre um deslocamento, principalmente no caso da biomassa carregada com cádmio. Esta mudança está associada com a forma como são adsorvidos os íons, indicando que se apresenta uma sorção específica sobre a superfície do microrganismo, ou seja, os íons possuem uma afinidade especial pelas células, quer dizer, os mecanismos de sorção são diferenciados (Kelly e Spottiswood, 1982).

5.7. Bioflotação de Cd

A necessidade de encontrar um sistema para a separação da biomassa carregada com metal leva em consideração o emprego da técnica de flotação. Neste trabalho foi avaliado apenas a biomassa carregada com cádmio devido a limitações de ordem temporal e analíticas.

A flotação vem sendo empregada nos últimos anos para a separação de minerais tais como apatita, hematita, quartzo dentre outros (Liu et al., 2000; Pavlovic e Brandao, 2003; Misra et al., 1996; Sharma et al., 2003; Namita e Natarajam, 1997; Mozes et al., 1989; Mesquita et al., 2003).

Nos ensaios de bioflotação por ar disperso realizados em coluna foi observado para as condições empregadas, pH 7 e concentração inicial do cádmio correspondente a 15 ppm, que o microrganismo apresentou características coletoras e espumantes.

Na Figura 33 apresenta-se uma fotografia da espuma produzida pela presença de *R. opacus* carregado com Cd, na coluna de bioflotação por ar disperso empregando uma placa de vidro sinterizado de porosidade 4. A espuma é consistente, tendo presente que não se empregou agentes espumantes para a bioflotação.

O resultado obtido no ensaio de bioflotação concorda com o encontrado por Stratton e colaboradores os quais assumem que a hidrofobicidade do *R. opacus* é um fator crucial na formação da espuma estável (Stratton et al., 2002).

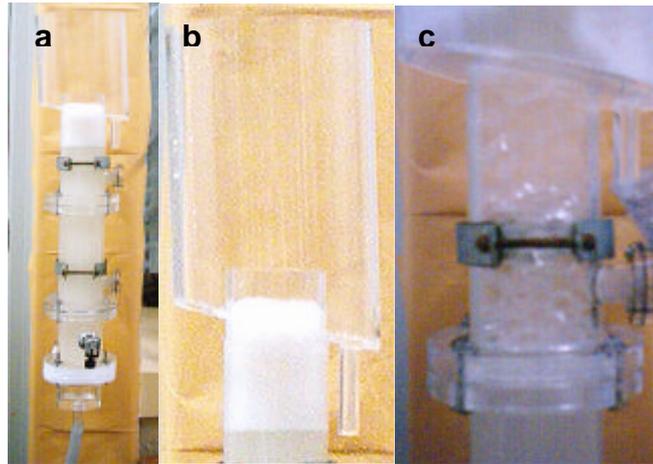


Figura 26- Formação da espuma no processo de bioflotação de Cd mediante *R.opacus*, numa coluna de flotação por ar disperso a pH 7, temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$. a) Coluna de Bioflotação de diâmetro interno 5,7 cm e comprimento 95 cm. b) Formação de espuma depois dos primeiros 5 minutos de bioflotação. c) Formação de espuma no final do processo.

No início do processo de flotação a espuma apresentou formas esféricas, conforme passava o tempo elas tomavam formas poliédricas de tipo hexagonal. Este fenômeno está em acordo com o publicado por Casqueira e Torem (2003) onde afirmam que, na maior parte das espumas, as bolhas de gás são inicialmente esféricas mas se arranjam em estruturas compactas onde as bolhas individuais estão separadas por um filme fino de líquido (ou lamelas). Com o passar do tempo, a diferença de pressão através das interfaces é, geralmente, muito pequena tornando as bolhas de espuma esféricas em forma poliédricas, como se apresentou neste trabalho, ver a Figura 33 (c). Segundo a literatura (Wills, 1997) são recomendáveis espumas estáveis pouco molhadas para melhorar a concentração do metal, por isso o microrganismo apresentou excelente comportamento como agente espumante.

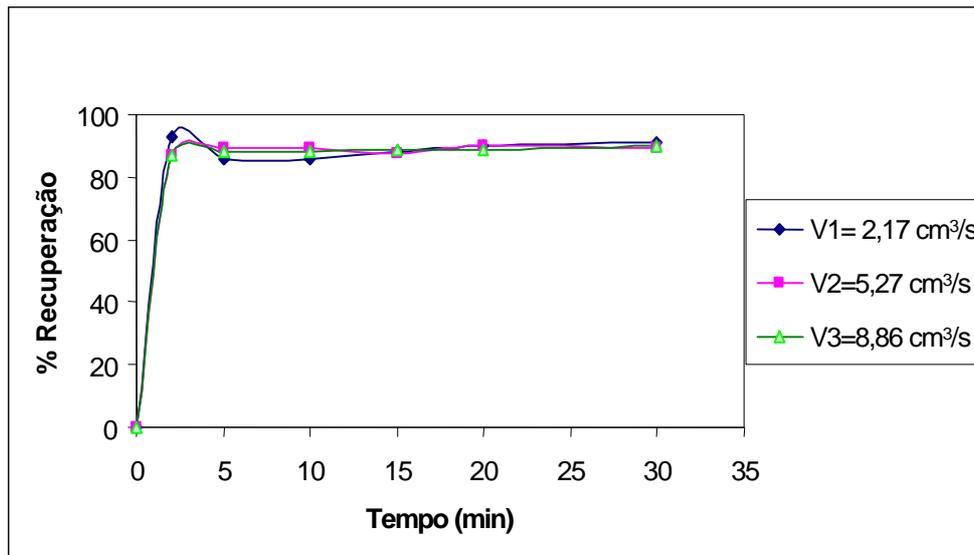


Figura 27- Bioflotação de Cd mediante *Rhodococcus opacus* a pH 7,0; 25±2 °C, em função do tempo, para diferentes vazões de Ar.

Na Figura 34 mostram-se as porcentagens de recuperação do metal obtidas para diferentes vazões de ar, onde a maior recuperação obtida foi de 93%. Esta boa recuperação do metal, traduzida como remoção do mesmo da solução por flotação está relacionada à flotabilidade da biomassa carregada devido à presença de certas moléculas, principalmente ácidos micólicos na parede celular do *R. opacus* que outorgam as células propriedades hidrofóbicas. Esta hidrofobicidade é constatado pelas medidas de ângulo de contato, que segundo Mesquita (2000) é de 72± 4 graus para o *R. opacus* na sua fase de desaceleração estacionária.

Os ácidos micólicos são ácidos graxos com cadeias longas α -ramificados e β -hidroxilados, com um número de átomos de carbono variando entre 22-90. No caso da espécie *R. opacus* esta faixa se encontra entre 44 e 56 átomos de carbono. Deve-se levar em consideração que quanto maior número de átomos de carbono presente nesta molécula, maior será a hidrofobicidade. Na Figura 35 se apresenta a formula estrutural do ácido micólico. (Bell, 1998; Lang & Philp, 1998; Mesquita, 2000).

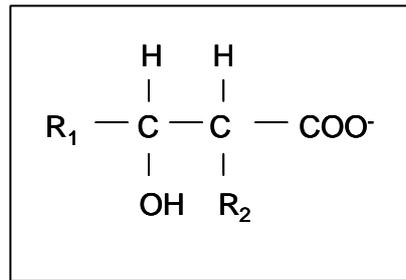


Figura 28- Fórmula estrutural da molécula de ácido micólico presente na parede celular de *R. opacus* onde R1 e R2 são cadeias longas de hidrocarbonetos alifáticos, cujo número de átomos de C varia entre 30 e 90(Madigan et al., 1997).

Os resultados aqui apresentados mostram que *R. opacus* apresentou características importantes nos processos tanto de biossorção como de bioflotação. Na bioflotação a biomassa se comportou como um excelente coletor, com propriedades espumantes sem haver necessidade de adição de outros reagentes, como foi observado por vários autores que estudaram a bioflotação para a remoção de metais pesados (Matis et al., 2003, Matis & Zouboulis, 1994, Sadowski & Golab, 1990).

Matis e colaboradores (2003) fizeram um estudo de bioflotação de metais pesados empregando diferentes microrganismos previamente tratados, tais como *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces carlsbergensis* e *Saccharomyces* e encontraram a necessidade do emprego de um surfatante (dodecilamina numa solução de etanol) como coletor para a separação da biomassa carregada com Zn, Cu, Ni e Ca. As Figuras desse estudo são apresentadas a continuação.

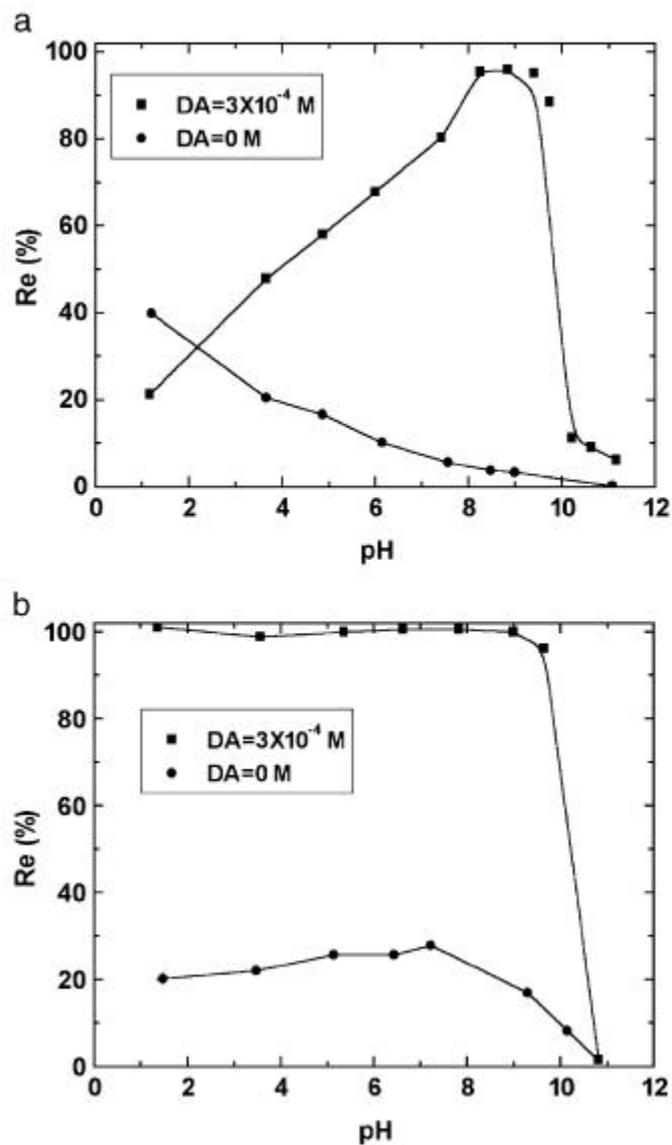


Figura 29- Percentagem de recuperação por flotação em presença e ausência de surfatante dodecil amina (DA) de (a) *Streptomyces rimosus* carregada, (b) *Streptomyces carlsbergensis* carregado (Matis et al., 2003).

Este fato comparado com o trabalho aqui feito confirma a viabilidade do uso de *R. opacus* como agente coletor.

Com relação à variação da vazão de ar na recuperação de Cd observou-se que este parâmetro não exerceu influência tanto na recuperação como na velocidade de bioflotação.

A literatura reporta que a medida que o fluxo de gás aumenta a recuperação das espécies torna-se mais rápida, entretanto, em altas taxas de aeração, a remoção dos metais torna-se incompleta devido a tendência das

bolhas a coalescerem pela turbulência gerada na solução e a formação excessiva de espuma. Por outro lado, taxas de aeração baixas precisam de tempo de retenção maior devido a diminuição na probabilidade de choque partícula bolha (Pinfold, 1972; Scorzelli, 1999; Zouboulis et al., 1990).

Matis (2002) observou que um aumento na vazão de ar durante a flotação melhora os resultados na recuperação de metais na flotação. Scorzelli (1999), observou para uma coluna de flotação com a mesma geometria deste trabalho (diâmetro interno igual a 5,7 cm e comprimento 95 cm), usando para a geração de bolhas uma placa porosa de vidro sinterizado (porosidade 4/10-15 μm), que a vazão ótima de trabalho para a flotação de Cd empregando como coletor dodecilsulfato (SDS) é de 2 mL/s pois a vazão de 3,4 mL/s apresentou espuma bastante molhada.

A velocidade de flotação para as diferentes vazões foi rápida. A recuperação máxima foi atingida após 3 min do início do processo, para as diversas vazões avaliadas neste estudo. Este resultado está de acordo com a literatura que revela que o processo de bioflotação é recomendado para sistemas separação por sua rapidez e tempos de retenção menores.

Kefala et al. (1999) fizeram um estudo de bioflotação de cádmio empregando como bioissorvente diversas células mortas de diferentes cepas de *Actinomicetos* (JL322 e AK61) onde obtiveram uma recuperação cerca de 95% do metal, na Figura 36 apresenta se os resultados obtidos em função do tempo de flotação.

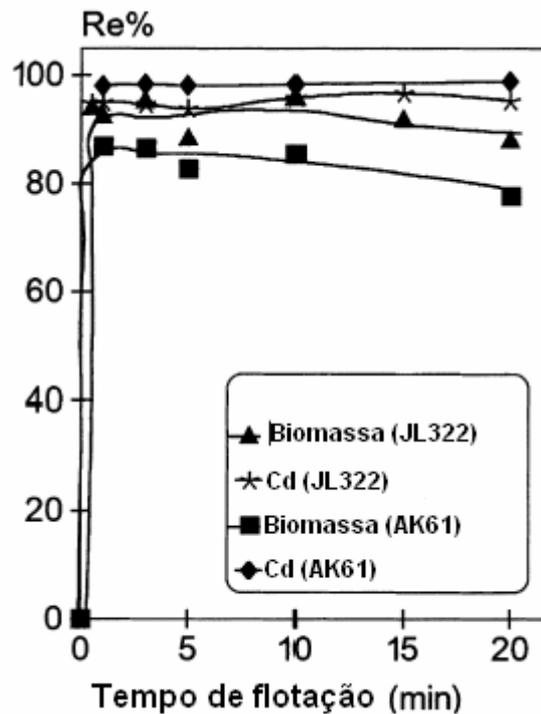


Figura 30- Influência do tempo de flotação na remoção de cádmio carregado em dois tipos de cepa de *Actinomicetos* em estado morto. (Kefala et al., 1999).

Aldrich e Feng (2000) estudaram a bioflotação sortiva de vários metais, (Pb, Ni, Cu e Cd) empregando 0,5 g/L de musgo *Sphagnum* e detetaram uma remoção aproximadamente de 100% do musgo mediante a adição de um surfatante denominado cloro cetil trimetilamonio (CTMA) para uma velocidade de fluxo de 100 mL/min nos primeiros 5 minutos.

Sadowski e Golab (1990) encontraram que o processo de bioflotação de chumbo empregando *Streptomyces pilosus* e dodecil sulfato de sódio como coletor (SDS) e pH 5,3, realizava-se somente após 12 minutos de processo.