

4. Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentados os materiais, reagentes e equipamentos utilizados no estudo do processo de biossorção e bioflotação para a remoção dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) usando a biomassa *S. lunalinharesii*, bem como a metodologia experimental desenvolvida para o estudo em questão. Inicialmente é descrito o procedimento para preparação da biomassa, em seguida são descritas as metodologias empregadas para a obtenção das soluções estoque dos íons metálicos, caracterização do biossorvente antes e após a interação com os íons metálicos mediante as técnicas de MEV/EDS, IV-FT e Potencial Zeta. São descritas também as condições operacionais empregadas nos ensaios das variáveis em estudo para o processo de biossorção. Finalmente é descrita a metodologia experimental desenvolvida para o estudo de bioflotação empregando a técnica de flotação por ar dissolvido (FAD).

4.1. Procedência e obtenção do biossorvente

A espécie bacteriana empregada neste trabalho teve procedência do Laboratório de Microbiologia Geral do Instituto de Microbiologia “Professor Paulo Góes (UFRJ)”. Trata-se de uma espécie não patogênica, isolada de solo. A cultura foi obtida em glicerol, sendo mantida em refrigerador a 2 °C. A bactéria *Streptomyces lunalinharesii* foi cultivada usando um meio contendo nutrientes quimicamente definidos. A Tabela 9 apresenta a composição empregada para o cultivo de *Streptomyces lunalinharesii*. O meio de cultura foi ajustado em pH 7,2 e posteriormente esterilizado em um autoclave vertical (Prismatec) com 1 atm de pressão à 121 °C, durante 20 min.

A bactéria *S. lunalinharesii* foi cultivada em meio sólido para que estas cresçam e originem massas isoladas, visíveis, denominadas colônias. O meio sólido é feito da mesma maneira que o líquido, exceto pela adição do agente gelificante agar-agar. Para realizar o crescimento e obter as células concentradas de *S. lunalinharesii*, a bactéria foi cultivada em meio líquido utilizando a composição descrita na Tabela 9 sem a presença de agar-agar.

Tabela 9. Composição do meio de cultivo de *S. lunalinharesii*

Composto	Concentração (g/L)
Glicose	10,0
Peptona	5,0
Extrato de Malte	3,0
Extrato de Levedura	3,0
Agar-agar *	20,0

* adicionado somente no meio sólido

O crescimento do microrganismo *S. lunalinharesii* foi realizado em frascos erlenmeyer contendo 100 mL de meio líquido por um período de 72 horas a temperatura de 28 °C em uma plataforma de rotação horizontal (CIENITEC CT-712) com velocidade de rotação de 120 rpm. Após o crescimento, a suspensão celular foi centrifugada em um centrífugador (excelsa baby I - FANEM) a velocidade de 4200 rpm durante 20 min em tubos falcon de 50 mL. O precipitado da centrifugação, constituído pelas células de *S. lunalinharesii*, foi lavado duas vezes com água deionizada para retirada de todo resíduo que possa existir de meio líquido. Posteriormente o re-suspensão foi concentrado e com auxílio de esferas de vidro e um vórtex (MS1 minishaker - IKA) foi homogeneizado para ser colocado em autoclave a 1atm de pressão por 20 min, obtendo-se o bioissorvente para realização dos ensaios de bioissorção. A determinação da concentração da biomassa foi realizada pelo método de Sólidos Suspensos Totais - SST (peso seco) em balança de precisão, após filtragem a vácuo e secagem de uma amostra de volume conhecido (20 mL) em papel de filtro de 0,45 µm de abertura.

4.2. Preparo das soluções estoques dos íons de Zn(II), Cu(II) e Cd(II)

As soluções foram preparadas com água deionizada a partir dos sais de ZnSO₄.H₂O (98%), CuSO₄ (97%) e CdSO₄.8/3H₂O (99%) fornecidos pela VETEC. As soluções teste foram preparadas a partir de soluções estoque com concentração de 500 mg.L⁻¹ adicionando os volumes necessários da solução estoque para a obtenção das concentrações iniciais empregadas nos ensaios de bioissorção.

4.3. Caracterização do bioissorvente

Técnicas para caracterizar a bactéria como a determinação da carga global da superfície (potencial zeta), espectroscopia no infravermelho mediante transformada de Fourier (IV-FT) e microscopia eletrônica de varredura (MEV/EDS) serão descritas a seguir.

4.3.1. Medições de potencial zeta

Medições de potencial zeta das células de *S. lunalinharesii* antes e após o contato com os íons metálicos foram realizadas usando um equipamento denominado Zeta Meter System 3.0 (Zeta-Meter Inc.) para diferentes valores de pH, visando estudar o possível mecanismo de bioissorção e a influência das espécies metálicas nas propriedades de superfície do microrganismo. Este equipamento mede a mobilidade eletroforética das partículas, relação entre velocidade e o campo elétrico aplicado, convertendo assim em potencial zeta a partir da equação de Smoluchowski.

Na determinação do potencial zeta do bioissorvente, empregou-se como eletrólito indiferente 0,01 mM de NaCl para manter a força iônica constante. Inicialmente acondicionou-se uma suspensão de *S. lunalinharesii* com concentração de 1 g/L em 50 mL de solução contendo o eletrólito para determinação do potencial zeta da biomassa, e em 50 mL de solução contendo o eletrólito e os íons metálicos com uma concentração de 20 mg/L para obter o potencial zeta da biomassa após a interação com os metais. Foram feitas soluções independentes com a finalidade de obter medições em diversos valores de pH aplicando soluções com 0,1 M de HCl e 0,1 M de NaOH para ajuste. Após ter estabelecido o valor do pH desejado estas soluções foram introduzidas dentro da célula eletroforética, aplicando assim uma diferença de potencial entre os dois eletrodos, fazendo com que as partículas percorram uma determinada distância em um dado tempo. A câmara do sistema encarrega-se de medir e transformar a velocidade eletroforética em potencial zeta.

4.3.2. Caracterização por espectroscopia no infravermelho

Quase todos os compostos que tenham ligações covalentes, sejam orgânicos ou inorgânicos, absorvem várias frequências de radiação eletromagnética na região do infravermelho do espectro eletromagnético. Muitas dessas regiões fornecem informações fundamentais sobre as estruturas de moléculas orgânicas. Sendo assim, espectros no infravermelho do bioissorvente *S. lunalinharesii* antes e após a sorção com os íons metálicos foram usados para determinar os grupos funcionais presentes na superfície do bioissorvente.

O instrumento que obtém o espectro de absorção no infravermelho de um composto é chamado de espectrômetro de infravermelho ou, mais precisamente, espectrofotômetro. O espectrômetro de infravermelho de transformada de Fourier (IV-FT) oferece espectros de compostos em uma faixa comum de 4.000 a 400 cm^{-1} e opera sobre um princípio chamado interferograma, que é um sinal complexo, mas seu padrão em forma de ondas contém todas as frequências que formam o espectro infravermelho. Um interferograma é essencialmente um gráfico de intensidade versus tempo que pode ser convertido por meio de uma operação matemática conhecida como transformada de Fourier em um gráfico de intensidade versus frequência. O equipamento utilizado para a realização das análises foi um espectrofotômetro FT-IR Nicolet 2000.

As suspensões de biomassa carregada com as espécies metálicas provenientes dos testes de sorção com uma concentração inicial de metal de 20 mg/L foram centrifugadas e secas em uma estufa à temperatura de 60 °C. Para obter o espectro do infravermelho, deve-se preparar uma pastilha que contenha 0,01 g de amostra dos ensaios de bioissorção secas, finamente homogeneizadas e 0,1 g de KBr, esta mistura deve ser levada a uma prensa para que se forme a pastilha translúcida. Esta pastilha é levada então a um detector do tipo sulfato de glicina deuterado (DTGS), obtendo assim, os espectros em uma resolução de 4 cm^{-1} usando 120 varreduras.

4.3.3. Microscopia eletrônica de varredura acoplada a um sistema dispersivo de energia

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) foi utilizado para avaliar a morfologia da biomassa antes e após a sorção das diferentes espécies metálicas e assim, analisar qualitativamente o processo de bioissorção. O MEV tem uma capacidade única para analisar superfícies. A incidência do feixe de elétrons

sobre a superfície da amostra promove a emissão de elétrons secundários retroespalhados e absorvidos assim como de raios X característicos. Estes elétrons são utilizados para a formação da imagem. Os elétrons têm um comprimento de onda mais curto que os fótons luminosos, e mais curtos comprimentos de onda são capazes de gerar informação de alta resolução. Resoluções realçadas permitem maiores magnificações sem perda de detalhes, mantendo a aparência tridimensional da textura das superfícies (Gabriel, 1985). A combinação de alta resolução acima de 4nm, extensiva faixa de magnificação (10 a 2×10^5 vezes), e alta profundidade de campo (voltagem de 0.2 a 40 Kv) faz do MEV um equipamento adequado para o estudo da superfície da biomassa microbiana.

O MEV está equipado com um sistema EDS (Energy Dispersive System) o qual é capaz de detectar raios-X emitidos pelas espécies durante a excitação de um feixe de elétrons, sendo o limite de detecção da ordem de 0,5%. Estes raios-X carregam uma energia e comprimento de onda característicos, cuja medida determinará a composição qualitativa e semi-qualitativa das amostras.

As amostras que não são condutoras de corrente elétrica para serem analisadas no MEV/EDS devem ser previamente metalizadas. A metalização consiste na precipitação a vácuo de uma película micrométrica de um material condutor (ouro ou prata) sobre a superfície da amostra, possibilitando assim a condução da corrente elétrica.

As amostras a serem analisadas por MEV/EDS foram retiradas no início e no final do processo de sorção para uma concentração inicial de 20 mg.L^{-1} de Zn(II), Cu(II) e Cd(II). O preparo das amostras biológicas para análise por MEV/EDS consiste em três etapas: (i) fixação da estrutura da bactéria por um período de 3 horas em glutaraldeído a 5% (v/v), preparado em solução tampão de cacodilato de sódio a 0,1M; (ii) desidratação mergulhando a amostra em soluções crescentes de acetona entre 30% e 100% em água destilada e levando ao aparelho de *Ponto Crítico*; e (iii) metalização da superfície das amostras com ouro (15 nm de espessura). Após estas três etapas a amostra será conduzida para a análise no MEV/EDS.

4.4. Experimentos de biossorção em batelada

Os fatores que afetam a taxa de adsorção e a capacidade de captação do biossorvente foram examinados em escala de bancada. Todos os ensaios foram realizados em frascos erlenmeyer de 500 mL, empregando um volume de

solução metálica de 100 mL, velocidade de rotação de 120 rpm (exceto quando foi avaliado a velocidade de agitação) em uma plataforma de rotação horizontal (CIENTEC CT-712). Para elucidar as condições ótimas para o processo de bioissorção as variáveis escolhidas para determinar as condições ótimas da bioissorção foram: (i) pH; (ii) concentração de biomassa; (iii) velocidade de agitação; (iv) concentração inicial de metal; (v) tempo de contato ou equilíbrio e (vi) temperatura.

Após cada ensaio realizado a biomassa carregada era então concentrada por meio de centrifugação e removida para que a solução metálica após o processo de bioissorção seja coletada e transformada em amostra, sendo estas acidificadas com uma solução de HNO_3^{-2} (0,1M) para sua preservação e posterior análise da concentração residual do metal pelo método de espectrofotometria de emissão atômica. Foram utilizados como controle dos ensaios, brancos contendo somente água deionizada e biomassa, com o objetivo de reduzir o efeito de possíveis desvios de leituras causados pela presença de material orgânico liberado pela biomassa. A Figura 22 elucidada o procedimento realizado nos experimentos de bioissorção em batelada.

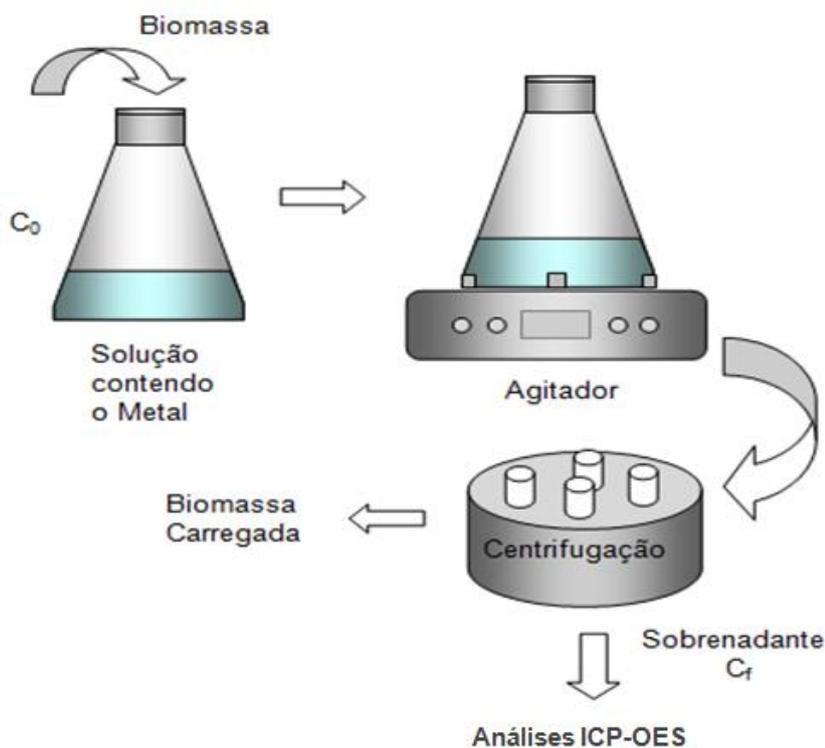


Figura 22. Procedimento realizado nos experimentos de bioissorção em batelada.

4.4.1. Efeito do pH

O efeito do pH na capacidade de captação dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) por *S. lunalinharesii* foi determinado ajustando-se o pH das soluções metálicas para a faixa de 2,0 a 8,0. Foram empregadas soluções de NaOH 0,1M e/ou HCl 0,1M para ajuste do pH. Na Tabela 10 são apresentadas as condições experimentais empregadas nos testes.

Tabela 10. Condições empregadas para a determinação da influência do pH no processo de bioissorção.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (mL)	100	100	100
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	2; 3; 4; 5; 6; 7 e 8	2; 3; 4; 5; 6; 7 e 8	2; 3; 4; 5; 6; 7 e 8
Concentração da biomassa (g/L)	1	1	1
Concentração inicial do metal (mg/L)	20	20	20
Tempo de contato (min)	240	240	240
Temperatura (°C)	25	25	25

4.4.2. Efeito da concentração de biomassa

O efeito da concentração de biomassa foi estudado para conhecer a concentração adequada de *S. lunalinharesii* para obter a máxima remoção dos íons metálicos. Para isso foram realizados os ensaios com diferentes concentrações de bioissorvente, empregando os valores de pH que obtiveram as melhores eficiências do ensaio apresentado na seção 4.4.1 para os metais em estudo. Na Tabela 11 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 11. Condições empregadas para a determinação da influência da concentração da biomassa no processo de bio sorção.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (mL)	100	100	100
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	1; 2; 3; 4 e 5	1; 2; 3; 4 e 5	1; 2; 3; 4 e 5
Concentração inicial do metal (mg/L)	50	50	50
Tempo de contato (min)	240	240	240
Temperatura (°C)	25	25	25

4.4.3. Efeito da velocidade de agitação

Com agitação adequada, o filme de difusão externa pode diminuir e a transferência de massa pode ser minimizada. O efeito da velocidade de agitação na capacidade de captação dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) por *S. lunalinharesii* foi avaliada na faixa de 100 a 200 rpm. Os experimentos foram realizados com pH e concentração de biomassa previamente determinados pelas eficiências já estabelecidas nas seções anteriores. Na Tabela 12 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 12. Condições empregadas para a determinação da influência da velocidade de agitação no processo de bio sorção.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (mL)	100	100	100
Velocidade de agitação (rpm)	100; 120; 160 e 200	100; 120; 160 e 200	100; 120; 160 e 200
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	50	50	50
Tempo de contato (min)	240	240	240
Temperatura (°C)	25	25	25

4.4.4. Efeito da concentração inicial de metal

O efeito da concentração de metal na capacidade de captação dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) por *S. lunalinharesii* foi avaliada na faixa de 5 a 200 mg/L. Os experimentos foram realizados com pH, concentração de biomassa e velocidade de agitação previamente determinados pelas eficiências já estabelecidas nas seções anteriores. Os resultados obtidos nestes testes foram empregados para a construção das isotermas. Na Tabela 13 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 13. Condições empregadas para a determinação da influencia da concentração inicial de metal no processo de biossorção.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (ml)	100	100	100
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	5; 10; 15; 20; 30; 50; 75; 100; 150 e 200	5; 10; 15; 20; 30; 50; 75; 100; 150 e 200	5; 10; 15; 20; 30; 50; 75; 100; 150 e 200
Tempo de contato (min)	240	240	240
Temperatura (°C)	25	25	25

4.4.5. Determinação do tempo de contato

O efeito do tempo de contato entre a biomassa e a solução contendo a espécie metálica foi estudado a fim de conhecer o tempo de residência necessário para obter a melhor remoção dos íons metálicos por *S. lunalinharesii*. Para isso foram coletadas amostras em diferentes intervalos de tempo até verificar se foi atingido o equilíbrio. O valor de pH, concentração de biomassa, velocidade de agitação e concentração inicial de metal empregados para a determinação do tempo de equilíbrio foram determinados de acordo com as melhores eficiências dos ensaio apresentados nas seções anteriores. Na Tabela 14 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 14. Condições empregadas para a determinação da influência do tempo de contato no processo de bioissorção.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (ml)	100	100	100
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	15	15	15
Tempo de contato (min)	5; 10; 20; 30; 50; 100; 120; 150; 200 e 240	5; 10; 20; 30; 50; 100; 120; 150; 200 e 240	5; 10; 20; 30; 50; 100; 120; 150; 200 e 240
Temperatura (°C)	25	25	25

4.4.6. Efeito da temperatura

A temperatura mais elevadas, geralmente o processo de sorção é melhor, isso devido ao aumento da atividade na superfície e energia cinética do soluto, porém danos físicos podem ocorrer no bioissorvente. O efeito da temperatura na capacidade de captação dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) por *S. lunalinharesii* foi avaliada na faixa de 25 a 45 °C. Os experimentos foram realizados com pH, concentração de biomassa, velocidade de agitação, concentração inicial de metal e tempo de equilíbrio previamente determinados pelas eficiências já estabelecidas nas seções anteriores. Na Tabela 15 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 15. Condições empregadas para a determinação da influência da temperatura no processo de bioissorção.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (ml)	100	100	100
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	15	15	15
Tempo de contato (min)	5; 10; 20; 30; 50; 100; 120; 150; 200 e 240	5; 10; 20; 30; 50; 100; 120 e 150 200 e 240	5; 10; 20; 30; 50; 100; 120 e 150 200 e 240
Temperatura (°C)	25; 35 e 45	25; 35 e 45	25; 35 e 45

4.5. Análise quantitativa da concentração de Zn(II), Cu(II) e Cd(II)

Todos os metais pesados podem ser quantificados em meio aquoso através de fotometria de chama, por espectrofotometria de absorção ou emissão atômica e por meio de métodos clássicos da química analítica, como os colorimétricos. A escolha do método a ser usado depende do grau de precisão necessário, do número de amostras a serem processadas e, obviamente, da disponibilidade dos recursos materiais e humanos (Vinadé e Vinadé, 2005).

As fontes ou atomizadores de plasma são as mais potentes energeticamente de todas as fontes pesquisadas e apresentadas no mercado de instrumentação analítica. Usando as fontes de plasma, é possível determinar elementos em uma faixa de concentração muito ampla com até 10 ordens de magnitude. Uma fonte de plasma fornece energia tão grande que o átomo, ao absorver esta energia, perde um elétron que pode ser dissociado completamente do átomo, originando um íon com carga positiva. A energia requerida para ionização do átomo é conhecida como potencial de ionização, que é diferente para cada elemento. Da mesma forma que os átomos, os íons possuem o seu estado fundamental e o seu estado excitado, e são passíveis, da mesma forma que os átomos, de absorção e emissão. Sendo assim, os átomos e íons quando excitados, irão emitir radiações eletromagnéticas de comprimentos de onda característicos que permitem a sua determinação analítica (Vinadé e Vinadé, 2005).

Um plasma pode ser definido como um fluxo gasoso (normalmente gás argônio) altamente energizado, formado por elétrons, íons e átomos neutros. Por sua alta temperatura ($\pm 10.000\text{K}$), as fontes de plasma reproduzem a atomização com maior precisão do que com os métodos espectroscópicos de emissão com outras fontes. É possível, então, a determinação simultânea de multielementos em uma ampla faixa de concentração (Vinadé e Vinadé, 2005).

4.5.1. Plasma indutivamente acoplado (ICP)

O valor das concentrações residuais das espécies metálicas Zn(II), Cu(II) e Cd(II) obtidas nos experimentos foi determinado por espectrômetro de emissão óptica (Perkin Elmer Optima 4300DV) pelo laboratório Labspectro do Departamento de Química Analítica da PUC-Rio.

O dispositivo para este tipo de plasma consiste em três tubos de quartzo concêntricos abertos na parte superior através dos quais circula o gás de

argônio. O diâmetro do tubo mais largo é de aproximadamente 2,5 cm. No tubo central, flui a corrente de argônio que carrega a amostra na forma de aerossol até o centro do plasma onde os átomos são excitados. O plasma é estabilizado pelo fluxo de argônio do tubo intermediário. Este fluxo é excitado por uma fonte de radiofrequência, a temperatura no interior do plasma é altíssima, por isso um isolamento é feito pelo tubo externo, fluindo argônio frio tangencial ao redor das paredes do tubo central (argônio auxiliar). As leituras espectrais são feitas, de modo geral, a uma distância de 10 a 15 mm da bobina de indução, onde a temperatura para a ionização é de 7.500 a 8.000 K e também porque nesta região o espectro é extraordinariamente livre das linhas de emissão do argônio, além de ser uma zona do plasma muito estável (Vinadé e Vinadé, 2005). O conjunto de nebulização utilizado foi um nebulizador concêntrico Glass Expansion SeaSpray acoplado a uma câmara ciclônica tipo Twister. A Figura 23 mostra o esquema de uma fonte de plasma ICP típico de um sistema ótico. Na Tabela 16 são apresentadas as condições operacionais utilizadas nos ensaios de determinação dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II).

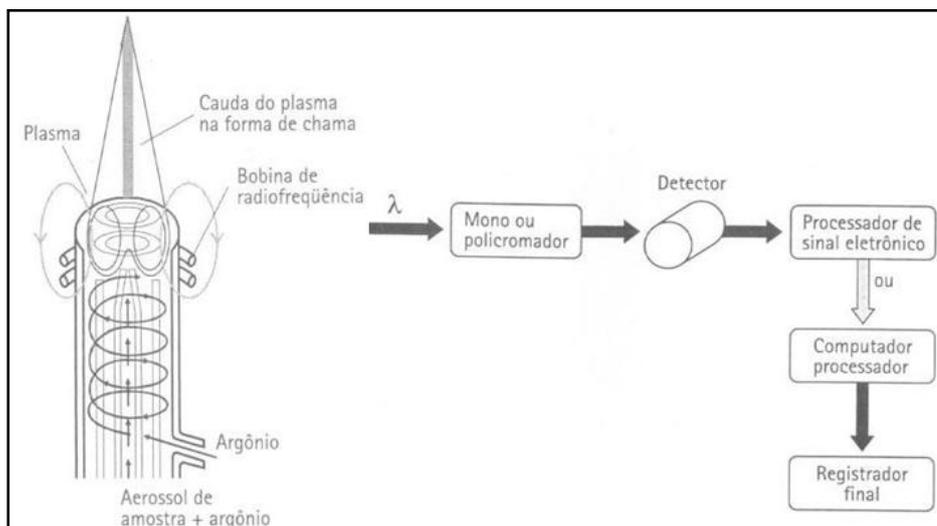


Figura 23. Esquema de um espectrofotômetro de emissão com fonte ICP. (Fonte: Vinadé e Vinadé, 2005)

Tabela 16. Condições operacionais utilizadas para a determinação dos íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) em ICP-OES

Condições Operacionais	
Vazão de Argônio (L . min⁻¹)	
Plasma	15,0
Auxiliar	0,2
Nebulização	0,6
Potência (W)	
	1500
Taxa de Aspiração (L . min⁻¹)	
	1,5
Altura do Modo de Observação Radial (mm)	
	15,0
Comprimento de Onda (nm)	
Zn(II)	206,200
Cu(II)	228,802
Cd(II)	324,752

A capacidade de captação e remoção pela biomassa *S. lunalinharesii* para as correspondentes condições de equilíbrio foram determinadas usando a Equação (56) e (57) respectivamente:

$$q = \frac{(C_o - C_F)V}{M} \quad (56)$$

$$R = \frac{(C_o - C_F)}{C_o} \cdot 100 \quad (57)$$

Onde:

q é a quantidade de íon metálico captado pela biomassa (mg.g⁻¹);

R é a remoção de íon metálico pela biomassa (%);

C_o é a concentração inicial do íon metálico (mg.L⁻¹);

C_F é a concentração final do íon metálico (mg.L⁻¹);

V é o volume da solução contendo o íon metálico (L);

M é a massa do biosorvente (g).

4.6. Estudos de flotação por ar dissolvido

Os ensaios de flotação por ar dissolvido foram realizados com um Kit-FAD modelo SAT-350P fornecido pela empresa “Aquaflo” que consiste de um vaso saturador em PVC com volume útil de 3,5 L e um sistema de despressurização da água saturada (placa de orifício), adaptado a uma célula de flotação de acrílico com volume útil de 1,5 L. A Figura 24 apresenta os principais constituintes do Kit-FAD.

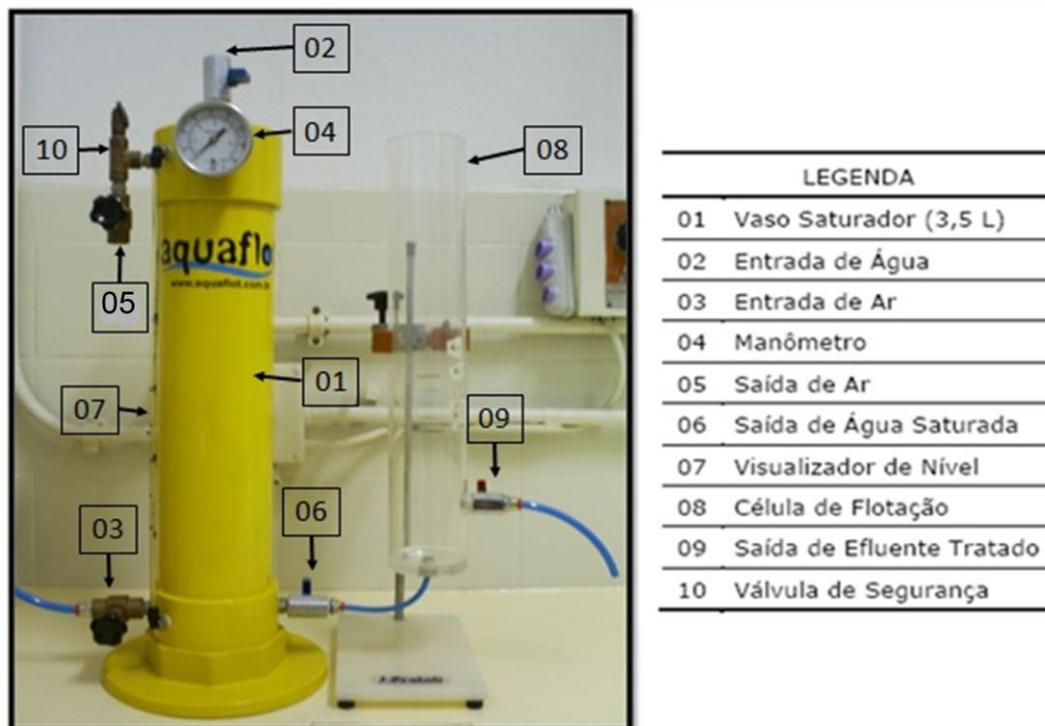


Figura 24. Kit-FAD modelo SAT-350P

O procedimento experimental, bem como as etapas realizadas nos ensaios de bioflotação são apresentados abaixo:

1. Fechar a válvula de ar (03) e a válvula de saída de água saturada (06), preencha a câmara de saturação utilizando água deionizada com a válvula de saída de ar (05) aberta até o volume desejado;
2. Feche a válvula de saída de ar (05) e a válvula de entrada de água (02), pressurize a linha à pressão de saturação desejada. Abra lentamente a válvula de ar (03) até atingir a pressão de saturação imposta no filtro regulador de pressão;

3. Abra lentamente a válvula de saída de ar (05) para promover a saturação da água contida na câmara de saturação pelo ar. O tempo de saturação determinado foi de 20 minutos;
4. Com a célula de flotação (08) conectada ao vaso saturador (01), feche a saída de efluente tratado (09). As melhores condições estabelecidas nos ensaios de bio-sorção foram replicadas com o auxílio de um “*Jar Test*” (Figura 25). Após o término do tempo de contato estabelecido (200 min), as concentrações pré estabelecidas de sulfato de alumínio eram introduzidas nos ensaios e o pH ajustado para 7,5. Com isso, a solução era introduzida na célula de flotação até o nível determinado para cada ensaio de 500 mL;
5. A válvula de saída de água saturada (06) era aberta para a aplicação da água saturada com ar (recirculação). As amostras eram em seguida coletadas após aproximada 10 minutos de flotação. O ponto de coleta da amostra situa-se a 5,5 cm de altura em relação à base da célula de flotação;
6. A concentração residual dos íons metálicos foi obtida pela técnica de ICP-OES e da biomassa *S. lunalinharesii* foram obtidas pelo método de peso seco, após a determinação das concentrações residuais, utilizou-se a Equação (54) para o cálculo de eficiência do processo de bioflotação.



Figura 25. Ensaios de bio-sorção com *Jar Test*

O efeito da pressão de saturação na flotação por ar dissolvido na biomassa *S. lunalinharesii* carregada com os íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) foi avaliado na faixa de 3 a 5 Kgf/cm². Os experimentos foram realizados com pH, concentração de biomassa, velocidade de agitação, concentração inicial de metal, tempo de equilíbrio e temperatura previamente determinados nos ensaios de bioissorção. As variáveis taxa de reciclo e concentração de coagulante foram pré-estabelecidas para os primeiros ensaios de bioflotação. Na Tabela 17 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 17. Condições empregadas para a determinação da influência da pressão de saturação no processo de bioflotação.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (mL)	500	500	500
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	15	15	15
Tempo de contato (min)	200	200	200
Temperatura (°C)	25	25	25
Pressão de saturação (Kgf/cm ²)	3; 4 e 5	3; 4 e 5	3; 4 e 5
Concentração de coagulante (mg/L)	15	15	15
Taxa de reciclo (%)	30	30	30

O efeito da concentração de coagulante na flotação por ar dissolvido da biomassa *S. lunalinharesii* carregada com os íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) foi avaliada na faixa de 15 a 45 mg/L. Os experimentos foram realizados com pH, concentração de biomassa, velocidade de agitação, concentração inicial de metal, tempo de equilíbrio, temperatura, pressão de saturação e taxa de reciclo previamente determinados. Na Tabela 18 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 18. Condições empregadas para a determinação da influência da concentração de coagulante no processo de bioflotação.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (mL)	500	500	500
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	15	15	15
Tempo de contato (min)	200	200	200
Temperatura (°C)	25	25	25
Pressão de saturação (Kgf/cm ²)	5	5	5
Concentração de coagulante (mg/L)	15; 30 e 45	15; 30 e 45	15; 30 e 45
Taxa de reciclo (%)	30	30	30

O efeito da taxa de reciclo na flotação por ar dissolvido da biomassa *S. lunalinharesii* carregada com os íons Zn(II), Cu(II) e Cd(II) foi avaliada na faixa de 15 a 50%. Os experimentos foram realizados com pH, concentração de biomassa, velocidade de agitação, concentração inicial de metal, tempo de equilíbrio, temperatura, pressão de saturação e concentração de coagulante previamente determinados. Na Tabela 19 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 19. Condições empregadas para a determinação da influência da taxa de reciclo no processo de bioflotação.

Parâmetro	Metal		
	Zn(II)	Cu(II)	Cd(II)
Volume da solução metálica (mL)	500	500	500
Velocidade de agitação (rpm)	120	120	120
pH	6	5	5
Concentração da biomassa (g/L)	3	3	2
Concentração inicial do metal (mg/L)	15	15	15
Tempo de contato (min)	200	200	200
Temperatura (°C)	25	25	25
Pressão de saturação (Kgf/cm ²)	5	5	5
Concentração de coagulante (mg/L)	45	45	45
Taxa de reciclo (%)	15; 30 e 50	15; 30 e 50	15; 30 e 50