

5 Resultados e Discussão

5.1. Ensaio Microbiológicos

5.1.1. Crescimento de *R. ruber* em Diferentes Meios de Cultivo

A Figura 4 apresenta os resultados de crescimento de três meios de cultivo da bactéria *Rhodococcus ruber*.

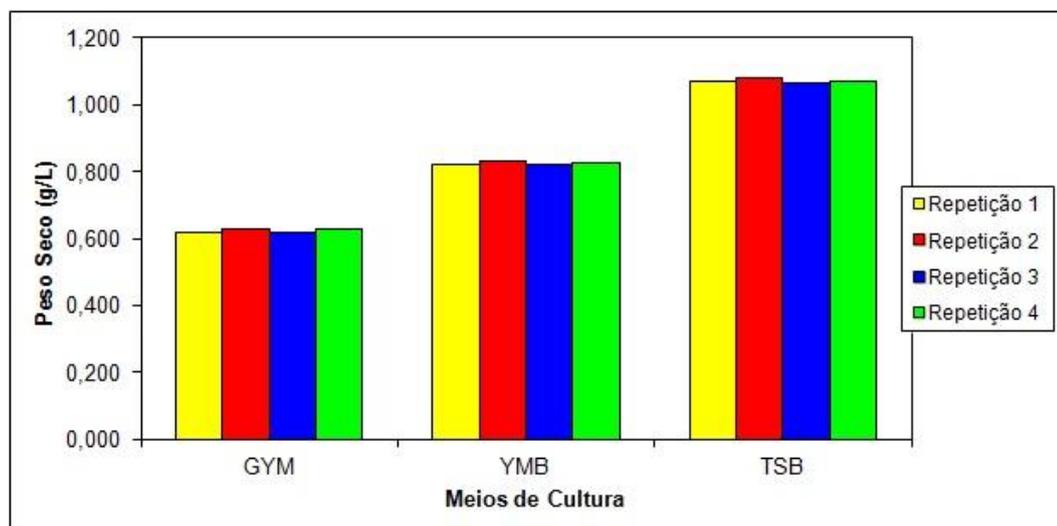


Figura 4 - Crescimento de *Rhodococcus ruber* em diferentes meios de cultura em função do peso seco (g.L^{-1}).

Ensaio de crescimento em diferentes meios de cultivo são importantes, pois definem em quais condições nutricionais o microorganismo se desenvolve mais rapidamente. Foram testados três meios de cultivo comumente utilizados em laboratório para crescimento de bactérias.

Pelos resultados visualizados na Figura 4, a biomassa de *R. ruber* crescida no meio TSB, a $30 \pm 2^\circ \text{C}$ e medida em peso seco e foi aproximadamente 45% maior do que no meio GYM e 30% maior do que no meio YMB.

Portanto, ficou definido que o melhor meio de cultura líquido nas condições estabelecidas para *R. ruber* foi o TSB (*Tryptone Soy Broth*).

A Figura 5 mostra, em dados de absorvância, o crescimento de *R. ruber* nos diferentes meios de cultivo testados ao longo de intervalos de 12, 16, 24, 36 horas, confirmando o resultado apresentado em termos de peso seco, de que o meio TSB foi o de melhor rendimento para a obtenção de biomassa.

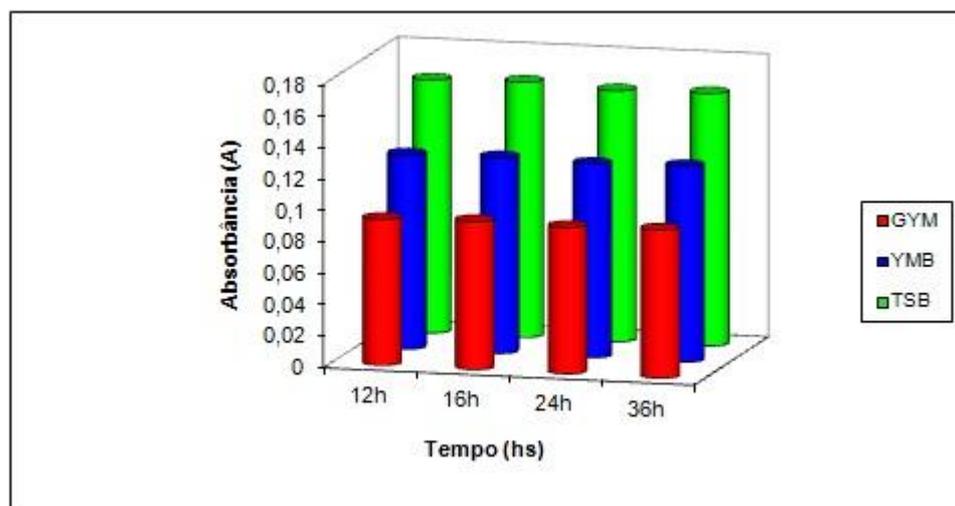


Figura 5 - Crescimento da bactéria *Rhodococcus ruber* em diferentes meios de cultivo – Absorvância *versus* Tempo (Horas).

5.1.2. Curva de Crescimento de *R. ruber*

Nas Figuras 6 e 7 são exibidos os dados da curva de crescimento de *R. ruber* no meio TSB, escolhido para ser utilizado pelos experimentos de biossorção. Foram utilizados como parâmetros de medida, respectivamente a absorvância e o peso seco (g.L^{-1}) ao longo de intervalos de tempo que variaram de 0 a 48 horas.

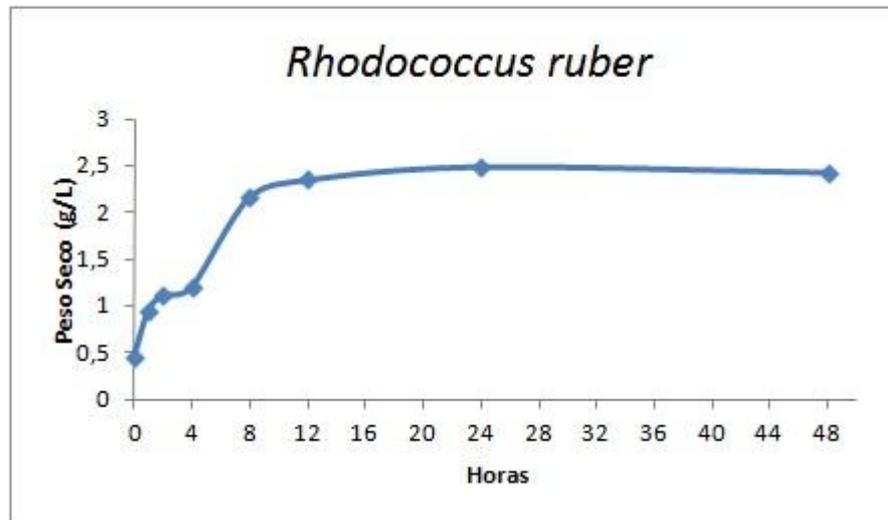


Figura 6 - Curva de crescimento da bactéria *Rhodococcus ruber* – Peso seco ($\text{g.L}^{-1} \times \text{Horas}$).

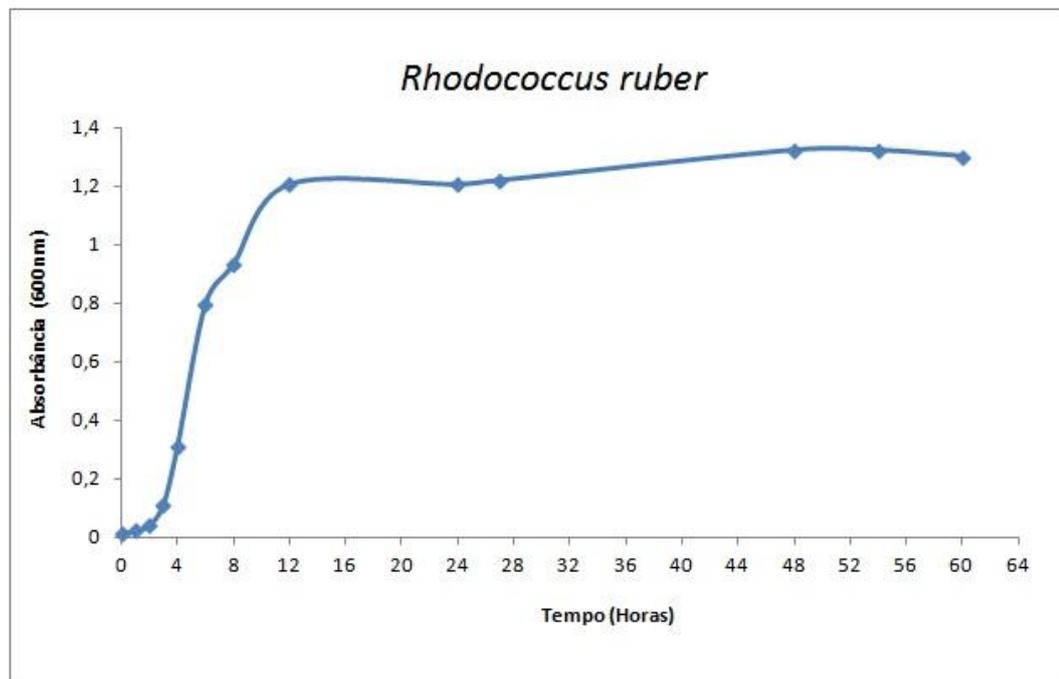


Figura 7 - Curva de crescimento da bactéria *Rhodococcus ruber*.

Observa-se, de acordo com as duas curvas apresentadas, que a bactéria *R. ruber* atinge a fase máxima de crescimento em um curto espaço de tempo de aproximadamente 12 horas .

Os diagramas visualizados nas Figuras 6 e 7 apresentam três fases. A primeira é a fase de adaptação ou também conhecida com fase lag, é onde o microorganismo se adapta fisiologicamente ao meio de cultivo novo que se

encontra em diferentes condições nutricionais, de temperatura, de população etc. O diagrama da Figura 7 sugere a duração entre 0 e 1 hora para esta fase.

No passo seguinte, a fase logarítmica, o microorganismo já adaptado começa sua plena atividade fisiológica e reprodutiva. Nesta etapa, as bactérias crescem exponencialmente, pois se encontram em um meio rico constituído por nutrientes que favorecem a sua multiplicação. Para a *R. ruber*, nas condições estabelecidas, essa fase aconteceu entre o período após a primeira hora até 12 horas (Figura 7).

Ao final da fase logarítmica a curva de crescimento entra em sua fase estacionária, onde o número de células que estão se dividindo se equivale ao número de bactérias que morrem. No início desta etapa é atingido o número máximo de células e a maior quantidade de biomassa para o microorganismo utilizado, nas condições estabelecidas e se mantém estável até a fase de declínio. Para otimização do processo de bioissorção, é a partir deste momento que a biomassa deve ser utilizada, estabelecendo-se uma relação ótima entre o tempo gasto para o crescimento microbiano e a quantidade de biomassa obtida.

Esta informação é importante quando se tratar do estabelecimento de uma planta piloto para um processo de bioissorção no tratamento de efluentes industriais, pois a obtenção de biomassa em um curto espaço temporal trás benefícios ao processo.

Para as condições deste trabalho, onde o microorganismo foi inativado para o processo de bioissorção, o período de incubação foi de aproximadamente 12 horas e o número de células obtido neste período foi da ordem de 10^9 células.mL⁻¹, mesmo resultado encontrado por Sierra (2010) quando realizou o crescimento de *Escherichia coli* em seus experimentos de transporte do biocolóide em uma areia saturada. Desta forma, podemos estimar de maneira mais precisa a quantidade de inóculo e inferir de forma mais correta a população microbiana presente nos experimentos, possibilitando a repetibilidade de resultados.

A fase estacionária iniciou-se 12 horas após o início do experimento, se estendendo até o final das avaliações, às 48 horas.

5.1.3.

Curva de Correlação entre Absorbância e Número de Células

Ao final da fase logarítmica da curva de crescimento, após 12 horas de incubação, foram realizadas determinações quanto aos valores de absorbância e

número de células de *R. ruber* em meio TSB, a 28 ± 2 °C e a 125 rpm. Em seguida foi traçada uma curva de correlação entre os valores lidos de absorvância no comprimento de onda de 600 nm e do número de células/mL.

A Tabela 8 mostra a correlação entre as diluições, número de células e absorvância em comprimento de onda de 600 nm.

Tabela 8 - Relação entre diluições, número de células e absorvância de *R. ruber*.

Diluições	No. de Células/mL	Absorvância (600 nm)
1	4,00E-09	1,203
½	2,00E-09	0,69
1/5	8E-10	0,32
1/10	4E-10	0,16
1/20	2,00E-10	0,07
1/50	8,00E-11	0,0222
1/100	4,00E-11	0,002
1/200	2,00E-11	0

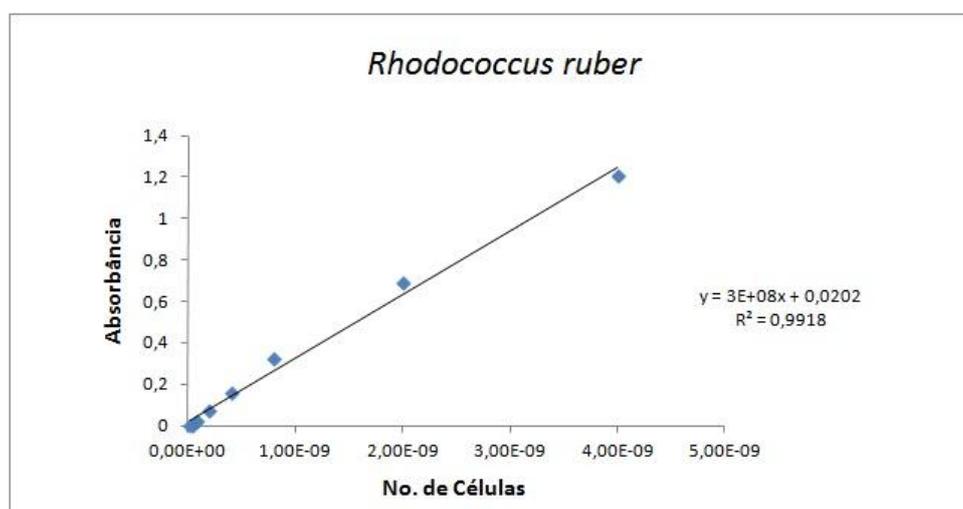


Figura 8 - Correlação entre a absorvância e o número de células por mL de *R. ruber*.

Esta correlação foi estabelecida com o propósito de se conhecer o número de células utilizado durante os experimentos de bioissorção, uma vez que os cálculos da biomassa são geralmente realizados em termos de massa seca avaliada através da absorvância da suspensão celular de crescimento do

inoculo. A relação entre o número de células a absorvância e conseqüentemente também entre a quantidade de biomassa utilizada é interessante para tentar avaliar a superfície relativa de contato do microorganismo com a solução de metal nas diferentes condições testadas, visto que para a mesma biomassa seca o tamanho e volumes celulares podem se modificar.

Nos trabalhos de bioissorção desenvolvidos no Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental da PUC-Rio, para a determinação da quantidade de bioissorventes microbiológicos a serem utilizados nos experimentos, a massa de crescimento microbiano é concentrada em baixas quantidades de água destilada e, após pesagem por 24 horas em estufa a 103-105 °C, é determinada a concentração da massa seca em g.L⁻¹.

Assim, a curva de calibração apresentada pode ser utilizada para estabelecer uma relação direta da massa seca, já determinada através de sua relação com a absorvância e o número de células presentes no meio de cultura. Se tivermos 4 x10⁻⁹ células bacteriana por mL de meio TSB chegamos a relação de 4x 10⁻¹² células de *R. ruber* em 1 litro de meio de cultivo, sabendo a concentração do bioissorvente em g.L⁻¹ a ser utilizada no processo de bioissorção estimaremos com maior precisão a quantidade de células que agirão no sistema.

5.1.4. Área Superficial Externa de *R. ruber*

Visando avaliar o efeito do tratamento prévio com NaOH ao qual as células do bioissorvente foram expostas nos experimentos de bioissorção, foram medidos os comprimentos dos dois eixos maiores em 100 células bacterianas de *R. ruber*. Essas determinações foram feitas a partir de imagens de MEV na escala de 2 µm e depois calculada a área da superfície externa da elipsóide, uma vez que as células não possuem formato esférico ou cocóide verdadeiro, apesar de serem classificadas como cocos.

Os resultados demonstram que houve diferença de 5 % em desvio padrão quando consideramos a área da bactéria não tratada e tratada, ou seja, as bactérias tratadas são 5 % menores em termos de área superficial quando comparadas às bactérias não tratadas com NaOH.

Considerando que a biomassa usada em cada um dos experimentos é a mesmo, nos ensaios com as células pré-tratadas com NaOH , avalia-se que o

número de células seja maior, já que seu volume individual é menor e que a superfície relativa de contato com o metal contaminante seja maior.

Este fato não explica por si só, o percentual de aumento de remoção observado quando usadas as células tratadas com NaOH, em relação aos resultados dos ensaios com células não tratadas com NaOH, mas corrobora com outros fatores expostos ao longo desta dissertação.

5.2. Caracterização do Biossorvente – *R. ruber*

A morfologia externa da bactéria *R. ruber* foi caracterizada em imagens de microscopia de luz da bactéria sem tratamento e não estando em contato com os metais do estudo. As imagens de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão foram obtidas com a bactéria não tratada e tratada com NaOH antes e após a sorção.

5.2.1. Microscopia Ótica de Luz – *R. ruber*

A Figura 9 demonstra as características da parede da bactéria *R. ruber* teste de coloração de gram através de microscopia ótica de luz.

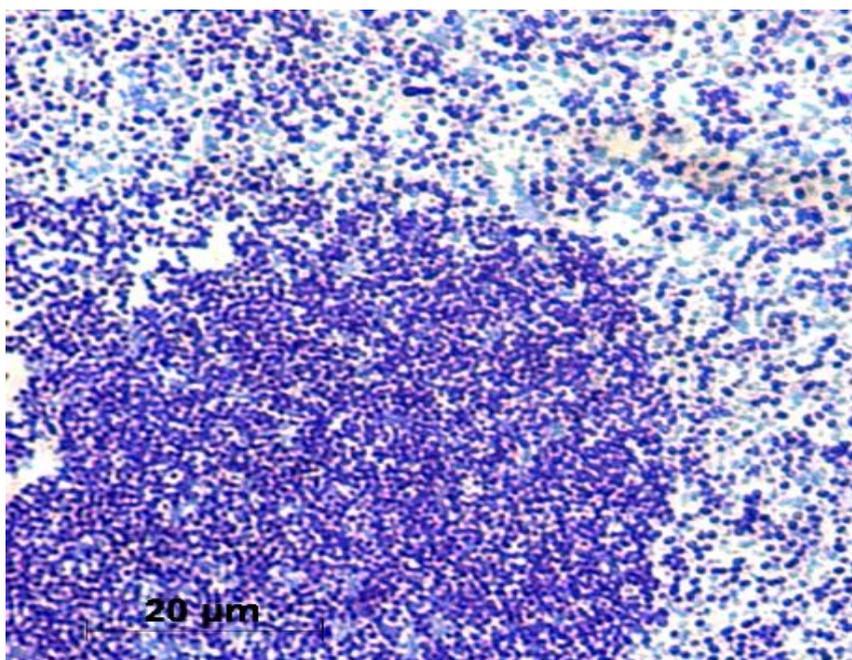


Figura 9 - Microscopia Ótica de Luz de *R. ruber*.

A Figura 9 mostra a coloração Gram-positiva, da bactéria *R. ruber* indicada pela coloração azulada em consonância com da descrição do gênero *Rhodococcus* feita por Sánchez *et al.* (2004).

5.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura – *R. ruber*

As imagens abaixo, visto na Figura 10, demonstram aspectos morfológicos da bactéria *R. ruber* antes e após o contato com os íons metálicos de Co(II) e Ni(II) separadamente e em mistura. Além de também demonstrar aspectos da bactéria tratada com NaOH antes e após o contato com os metais Co(II) e Ni(II).

As imagens da Figura 10, demonstram aspectos morfológicos da bactéria *R. ruber* em diferentes situações, antes e após o contato com os íons metálicos de Co(II) e Ni(II) separadamente e em mistura e também da bactéria tratada com NaOH antes e após o contato com os metais Co(II) e Ni(II).

A microfotografia A da Figura 10 apresenta a bactéria *R. ruber* como testemunha, após crescimento de 12 horas nas condições previamente descritas e sem nenhuma interação com metais ou tratamento. Nestas fotos as células bacterianas apresentam dimensões de 2 X 1 µm, dados condizentes com a literatura com trabalhos similares utilizando a espécie do mesmo gênero, *R. opacus* (Mesquita, 2000; Alvarez-Vazquez *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2004; Bueno, 2007; Cayllahua, 2009; Silva, 2010).

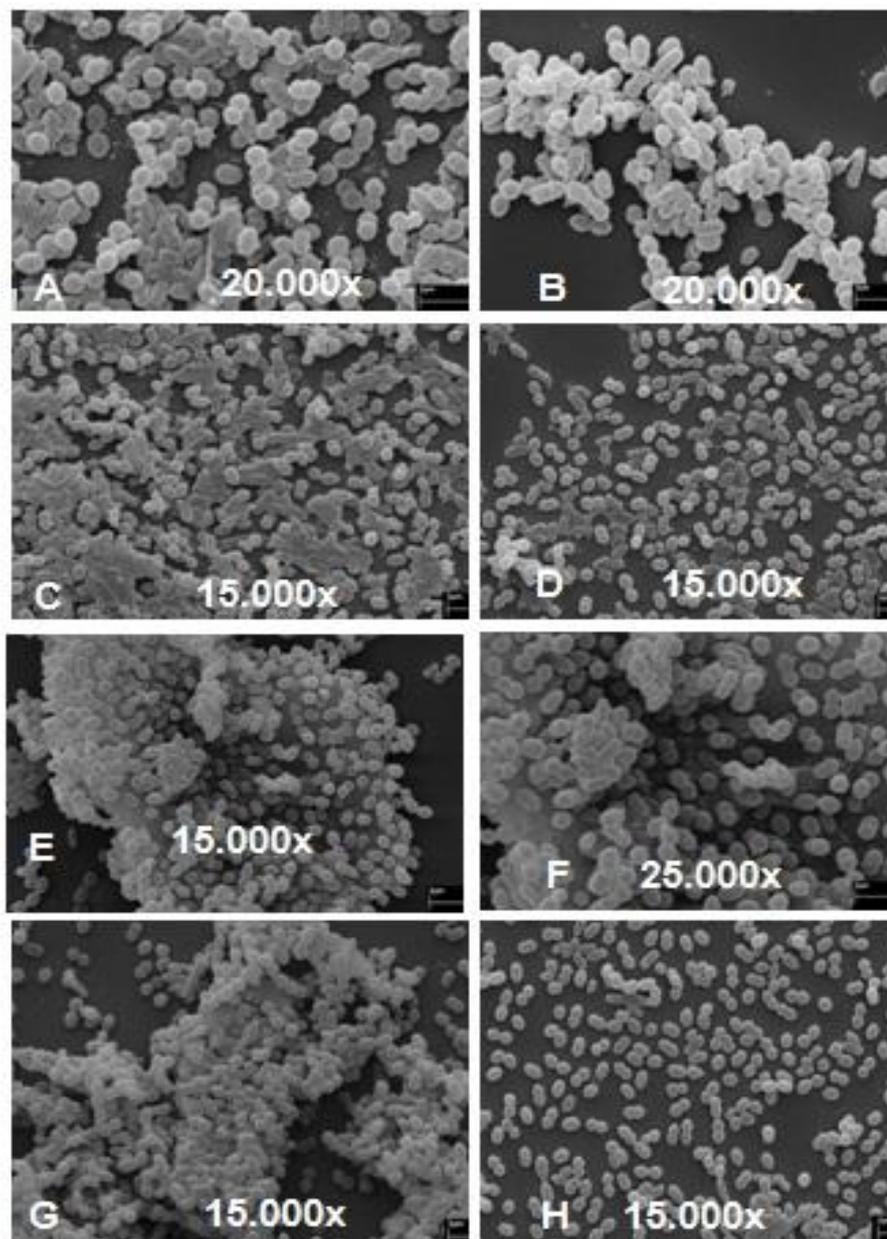


Figura 10 - Prancha 1* - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da bactéria *R. ruber* e sua interação com metais Co(II) e Ni(II); A- MEV *R. ruber* sem tratamento; B – MEV de *R. ruber* + Co(II); C - MEV de *R. ruber* + Ni(II); D – MEV de *R. ruber* + Co(II) + Ni(II); E – MEV de *R. ruber* tratada com NaOH; F – MEV de *R. ruber* tratada com NaOH; G – MEV de *R. ruber* tratada com Co(II); H – MEV de *R. ruber* + Ni(II).* Todas as imagens possuem a escala de aumento de referência de 2 μm .

É preciso reforçar que as micrografias apresentadas são representativas de pontos específicos das amostras preparadas para fins de análises em Microscópio Eletrônico de Varredura e em muitas ocasiões não refletem o aspecto geral da amostra.

Morfológicamente as bactérias de *R. ruber* observadas em todas as micrografias, apresentam-se em sua maioria, quando consideramos a região focada das amostras e reproduzidas nas imagens, na forma de cocos. Algumas células se apresentam na forma de bacilos, um pouco mais alongadas, aspecto característico do gênero (Sánchez *et al.*, 2004). Essa bactéria tem também como uma de suas características a capacidade de se enfileirarem em um conjunto de 3 ou 4 células do tipo cocos, se assemelhando muito a uma hifa septada de um fungo.

Na micrografia B, é possível visualizar a bactéria *R. ruber* em presença de íons metálicos de Co(II). O aspecto mais aglomerado das bactérias sugere uma captura do metal presente em solução aquosa. A micrografia C mostra *R. ruber* em presença de íons metálicos de Ni(II) e D ilustra a *R. ruber* após o contato metálico com a mistura de íons de Co(II) e Ni(II) em sistema de competição. Aparentemente, as duas micrografias são muito parecidas, onde na C apresenta uma maior concentração no número de células na região fotografada em primeiro e segundo planos e na imagem D as células bacterianas de *R. ruber* se dispõem de forma mais espaçadas também em primeiro e segundo planos.

As micrografias indicadas com as letras E e F são referentes à bactéria *R. ruber* tratada com NaOH em solução livre de metais. Na microfotografia E, o aumento foi de 15.000 vezes, demonstrando um aspecto de agrupamento similar ao reportado na imagem B, porém, com uma maior concentração de células. A imagem F destaca mais uma vez o detalhe comentado anteriormente, com uma aproximação maior, de 25.000 vezes.

Na interação de *R. ruber* tratada com os íons metálicos de Co(II) visto com aproximação de 15.000 vezes pela técnica do MEV na imagem G, novamente é constatada e sugerida a aglutinação das células bacterianas. Mas, em contrapartida, na imagem H, onde *R. ruber* foi tratada com NaOH e em contato com os íons metálicos de Ni(II), não é visualizado aspecto de aglomeração, ao contrário, as células bacterianas encontram-se dispostas de forma mais dispersa e enfileiradas em conjuntos de 4 a 6 células.

5.2.3.

Microscopia Eletrônica de Transmissão – *R. ruber*

As imagens da Figura 11 mostram aspectos superficiais da bactéria *R. ruber* antes e após o contato com os íons metálicos de Co(II) e Ni(II)

separadamente e em mistura. Mostram também aspectos da bactéria tratada com NaOH antes e após o contato com os metais Co(II) e Ni(II).

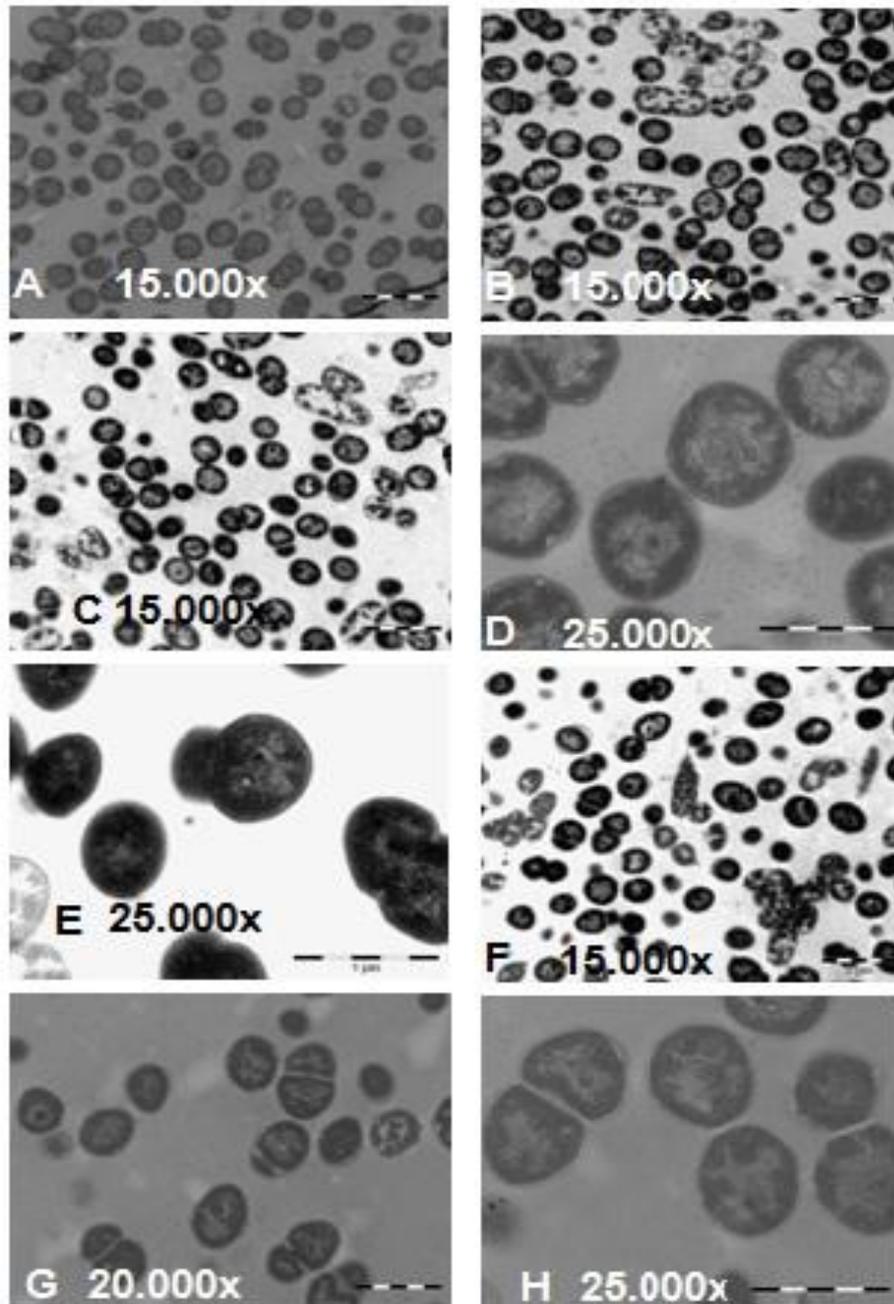


Figura 11 - Prancha 2* - Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão da bactéria *R. ruber* e de sua interação com os íons metálicos Co(II) e Ni(II); A- MET *R. ruber* sem tratamento; B – MET de *R. ruber* + Co(II); C - MET de *R. ruber* + Ni(II); D – MET de *R. ruber* + Co(II) + Ni(II); E – MET de *R. ruber* tratada com NaOH; F – MET de *R. ruber* tratada com Co(II); G – MET de *R. ruber* + Ni(II); H – MET de *R. ruber* + Ni(II).* Todas as imagens possuem a escala de aumento a escala de referência que pode ser 1 ou 2 μm , indicado na respectiva imagem.

As micrografias de microscopia eletrônica de transmissão (MET) proporcionam duas vantagens em relação à MEV, pois resulta em maiores aumentos e permite a visualização da superfície externa dos corpos. Por outro lado, as fotos de MEV mostram perspectivas em terceira dimensão, possibilitando a visualização de superfícies.

Na Figura 11 - A, é possível visualizar o aspecto de células da *R. ruber* em meio de cultura, sem contato com metais e sem tratamento, como testemunha, a imagem B apresenta *R. ruber* em solução com Co(II), a micrografia C se refere a células do mesmo microorganismo em presença de Ni(II) e a D demonstra a bactéria em binário contendo Co(II) e Ni(II). A imagem E representa a bactéria *R. ruber* tratada com NaOH em solução sem metal, enquanto as micrografias F, G e H são relativas aos ensaios com tratamento com NaOH e em presença dos íons metálicos Co(II) e Ni(II).

As micrografias referentes aos ensaios em presença de metais, a aparência das bordas celulares, com contraste mais intenso e mais espesso, indica uma zona de maior densidade na área dos envoltórios, sugerindo uma possível concentração de íons metálicos nesta região. Considerando que as células, ao entrarem em contato com a solução com metais, se encontravam inativas, essa acumulação de metais nas bordas celulares seria consequência de processo de adsorção, característico do processo de bioadsorção.

É importante sempre ressaltar que os resultados são conjecturas construídas a partir das análises de imagens, pois não tivemos nenhum aspecto de semi-quantificação ou de qualificação como no caso do MEV, ao qual podemos acoplar um EDS (*Energy Dispersive System*) nos assegurando esta afirmativa.

5.3. Análises de Espectroscopia no Infravermelho

As análises de espectroscopia no infravermelho podem ser utilizadas para caracterizar os grupos funcionais presentes em superfícies celulares. Foram analisadas células de ensaios de bioadsorção dos metais Co(II) e Ni(II) tanto sem tratamento prévio quanto com tratamento prévio com NaOH.

As amostras analisadas tanto contendo bactéria não tratada com NaOH como tratada foram preparadas a partir de soluções contendo 30 mg.L⁻¹ dos íons

metálicos de Co(II) e Ni(II) e a concentração de bioissorvente *R. ruber* de 3 g.L⁻¹, todas ajustadas no pH 6,0 antes do contato com a bactéria.

5.3.1. Análises de Espectroscopia no Infravermelho – *R. ruber* sem Tratamento

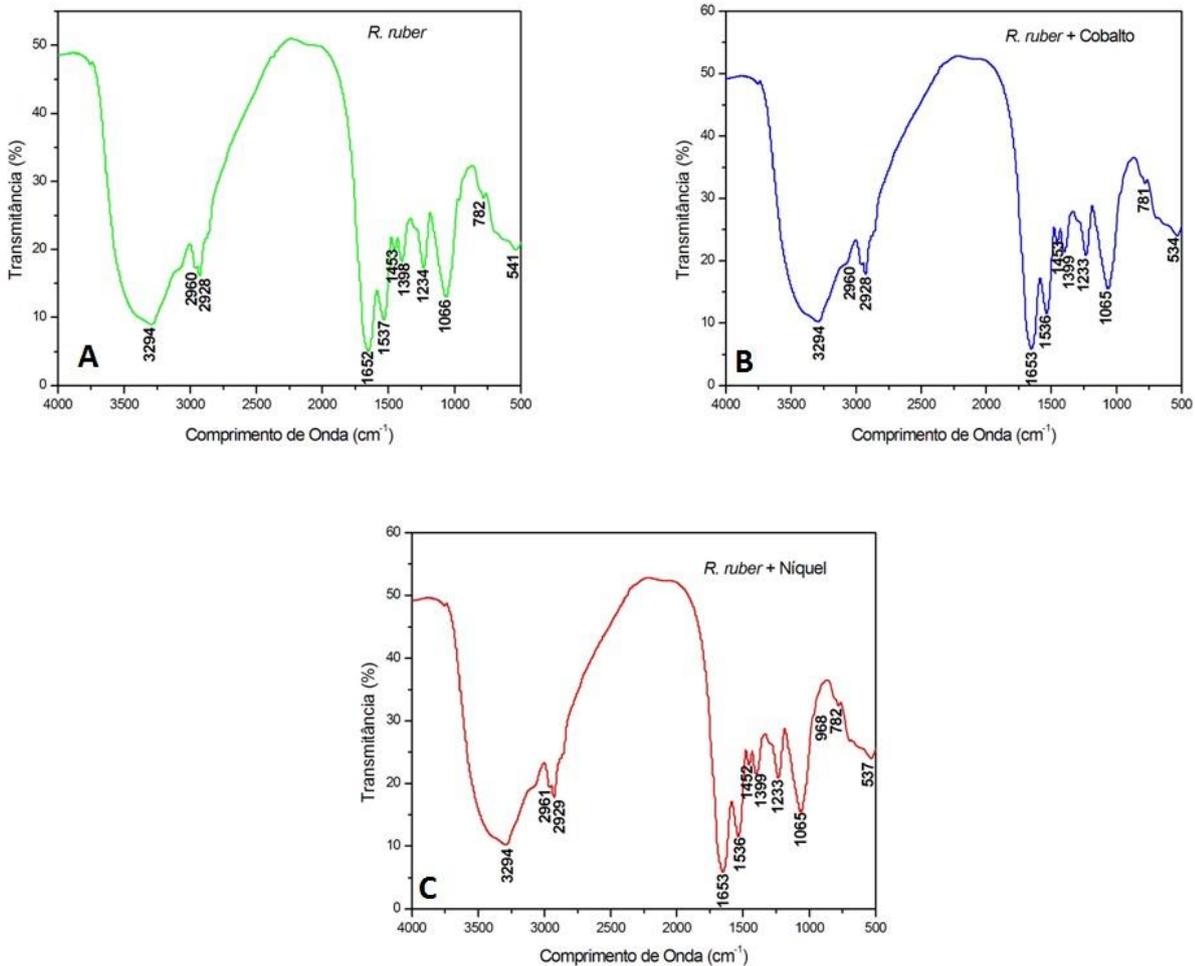


Figura 12 - Espectros da absorção na região do infravermelho (FTIR): (A) do bioissorvente *Rhodococcus ruber* sem tratamento; (B) do bioissorvente *Rhodococcus ruber* sem tratamento + Co; (C) do bioissorvente *Rhodococcus ruber* sem tratamento + Ni.

Os três espectros de absorção na região de infravermelho entre 4000 a 400 cm⁻¹ (Figura 12 A-C) são similares não sendo possível afirmar quais são os grupos funcionais responsáveis pela absorção dos metais estudados. A banda larga de absorção em 3294 cm⁻¹ corresponde à região dos grupamentos –OH e

-NH dos carboidratos e proteínas da bactéria *R. ruber*. Esta banda também foi encontrada na bactéria *R. opacus*. (Ashkenazy *et al.*, 1997; Silverstein *et al.*, 2007 ; Cayllahua *et al.*, 2009 ; e Bueno, 2007).

As bandas de absorção em 2960 e 2928 são atribuídas respectivamente às vibrações assimétricas e simétricas dos radicais de CH₂ e também foram observadas por Bueno (2007) e Cayllahua *et al.* (2009). Os grupos amida I e II podem ser observados na região de 1652 e 1537 cm⁻¹, respectivamente (Silverstein *et al.*, 2007). As bandas de absorção em 1457 e 1398 cm⁻¹ são correspondentes às vibrações axiais dos grupos carbonilas e carboxilas (C=O e COO⁻). A banda de absorção de 1234 corresponde ao grupamento P=O, a de 1066 é indício de que o grupamento -CN de proteínas; e finalmente as bandas de absorção de 782 e 541 são oscilações torcionais de C-H e N-H (NH³⁺ - aminoácido), respectivamente (Silverstein *et al.*, 2007).

A mínima diferenciação visualizada entre as bandas da bactéria sem tratamento com algumas bandas da bactéria *R. ruber* na interação com os metais, pode ser atribuída a preparação inexata das amostras na hora da confecção das pastilhas contendo KBr ou simplesmente a uma sensibilidade ocorrida na leitura do aparelho de infravermelho.

5.3.2.

Análises de Espectroscopia no Infravermelho – *R. ruber* Tratada com NaOH

As bactérias, depois de submetidas ao tratamento com NaOH por um período de 2 horas, foram colocadas em contato com soluções metálicas contendo Co(II) e Ni(II). A partir daí, as amostras foram preparadas para análises em Espectrometria no Infravermelho. A seguir seguem os resultados das análises.

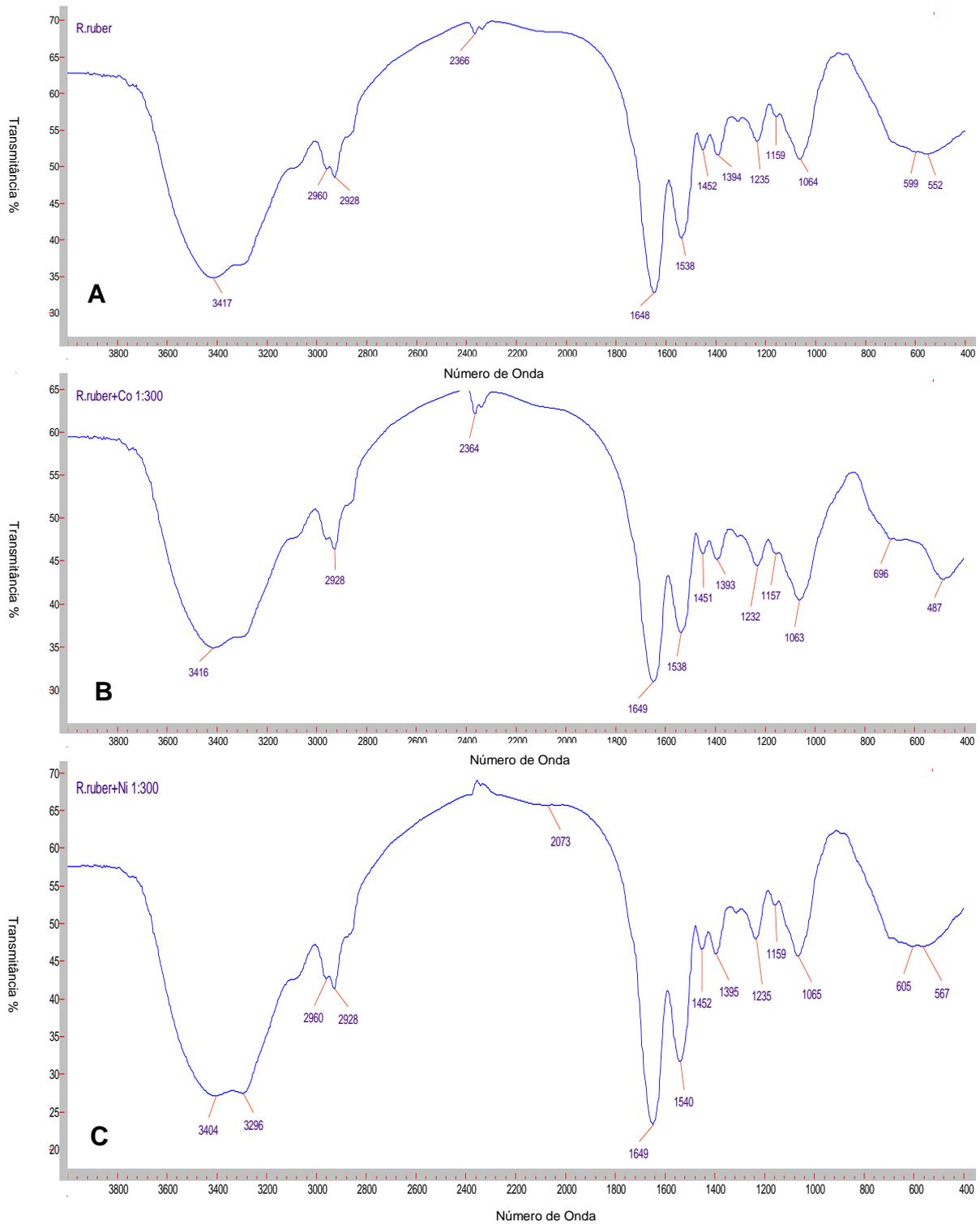


Figura 13 – (A) Espectro no Infravermelho de *R. ruber* tratada com NaOH através de espectrometria no infravermelho; (B) Espectro no Infravermelho de *R. ruber* tratada com NaOH através de espectrometria no infravermelho + Co; (C) Espectro no Infravermelho de *R. ruber* tratada com NaOH através de espectrometria no infravermelho + Ni.

Na Figura 13 (A) são apresentados os resultados referentes às bandas de absorção de vibrações que se relacionam os grupamentos existentes na constituição orgânica das células bacterianas de *R. ruber* pós tratamento com NaOH. A banda de absorção 317cm^{-1} que corresponde ao grupamento funcional $-\text{OH}$ não era evidenciada nesse mesmo estudo quando a bactéria *R. ruber* não havia sido tratada quimicamente por NaOH. Já a banda 3294 , evidenciada na bactéria não tratada, não referenciou destaque na análise, muito embora a sua presença seja percebida como uma banda de absorção menos evidente na Figura 13(A), considerando-a próxima ao valor de 3417 no número de onda da esquerda para a direita.

As bandas de absorção 2960 e 2928cm^{-1} se apresentaram da mesma forma para as amostras com e sem tratamento com NaOH, não sendo os grupamentos funcionais referentes a $-\text{CH}$ com estiramento assimétrico de CH_2 os responsáveis pelo processo de captação de íons metálicos nesse estudo. Já a banda 1648 da amostra tratada com NaOH, responsável pelo grupamento funcional amida II, mostrou menor valor absoluto em relação à bactéria não tratada (1652cm^{-1}).

Destaca-se o resultado relativo à onda na faixa de 1462 da amostra tratada com NaOH, cujo valor demonstrou ser maior, em termos de valor absoluto em relação à bactéria não tratada (1453cm^{-1}), o que pode configurar novos sites ativos para a remoção de íons de Co(II) e Ni(II) pela bactéria *R. ruber*. Estes resultados concordam com Bueno (2007) e Cayllahua *et al.* (2009) quando trabalharam com a bactéria do mesmo gênero *R. opacus* mesmo sem o tratamento químico.

O espectro do infravermelho da bactéria no ensaio sem tratamento com NaOH e em presença dos metais Co(II) e Ni(II) e o espectro de bactérias em ensaios com tratamento com NaOH e em presença dos dois metais apresentam resultados similares (Figura 13 (B) e (C)), não existindo diferenciação considerável entre as bandas visualizadas e sugerindo que os grupamentos não foram responsáveis pelo processo de biossorção. A justificativa é a mesma assinalada no item anterior, onde a inexistência de diferenciação é dada por erros experimentais. Uma técnica mais sofisticada e a recomendada para análises quantitativas neste caso especificamente, é a Ressonância Magnética Nuclear no estado sólido.

5.4. Determinação do Potencial - Estudos Eletrocinéticos

Com o objetivo de avaliar uma possível variação nas propriedades eletrocinéticas nas células bacterianas de *R. ruber*, em decorrência da presença de Co(II) e Ni(II) em diferentes valores de pH e a partir daí determinar se a mudança de cargas superficiais nas células bacterianas está relacionada com biossorção desses íons, uma vez que podem indicar uma interação entre as espécies metálicas e os sítios ativos na parede celular de *R. ruber*.

A Figura 14 apresenta medições do potencial zeta realizadas na presença de cloreto de sódio (NaCl) como eletrólito indifferente, nas concentrações de 10^{-2} M numa faixa de pH de 2 a 8, tendo um tamanho de partícula próximo a $2\mu\text{m}$ para as células de *R. ruber* não tratadas com NaOH em solução contendo Co(II) e Ni(II).

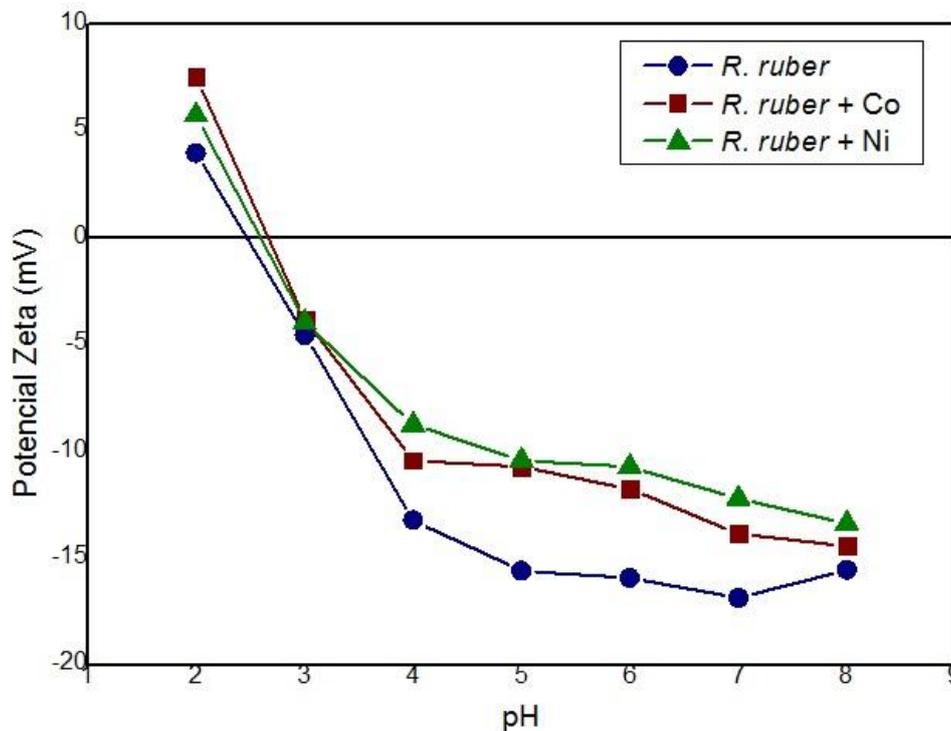


Figura 14 - Curva de potencial zeta de *R. ruber* (1 g.L^{-1}) sem tratamento com NaOH e após interação com os metais Co(II) e Ni(II) (30 mg.L^{-1}).

Os resultados demonstram que o ponto isoelétrico (PIE) da amostra *R. ruber* sem tratamento localizou-se próximo ao pH 2,5. Após atingir o PIE, à medida que os valores do pH ficam acima de 2,5 e 3,5, o potencial zeta vai tornando-se mais negativo, chegando a estabilizar o valor de sua carga na faixa de pH 5,0 (-15,6 mV) a 8,0 (-15,56 mV).

Nas amostras de *R. ruber* sem tratamento com NaOH, mas em presença de cada um dos metais testados, observou-se uma pequena variação nos valores de potencial zeta em relação aos valores da bactéria nas mesmas condições, mas em solução livre de metais. Embora não tenha sido uma diferença significativa, este fato se dá pela ocupação dos sítios ativos da bactéria pelos íons de Co(II) e Ni(II) em se comparando com a bactéria sem os metais.

As curvas dos potenciais zeta de *R. ruber* quando na presença de cada um dos metais utilizados apresentaram traçados bastante semelhantes àquela referente à bactéria em solução sem contaminante. Entretanto houve variação dos valores encontrados para as diferentes condições às quais a bactéria foi submetida. Os menores valores absolutos de eletronegatividade nas amostras onde a bactéria estava em contato com Co(II) foram obtidos entre os pHs 7,0 e 8,0; culminando em um valor aproximado de -14,44 mV. Nas amostras onde houve contato da bactéria com Ni(II), o valor mais eletronegativo também foi obtido entre pHs 7,0 e 8,0; onde foi lido próximo de -13,38 mV. Os valores dos Pontos Isoelétricos (PIE's) para o cobalto e níquel foram, encontrados, respectivamente, nos pontos de pH de 2,8 e de 2,7, indicando que, para as condições testadas é possível observar interação do tipo adsorção de *R. ruber* com os dois metais em soluções com pH acima dos valores de pH citados, visto que a partir desses pontos (PIE) as células bacterianas apresentarão carga negativa em seu envoltório.

Os resultados obtidos são coerentes quando comparados aos demonstrados por Cayllahua *et al.* (2009) quando utilizaram a bactéria *R. opacus* em seus estudos de bioissorção com Ni(II), onde o PIE da bactéria foi encontrado no pH de 3,4 aproximadamente e a maior eletronegatividade foi obtida acerca de -25 mV. Após o contato de *R. opacus* com Ni(II), o PIE foi estabelecido no pH 3,7 aproximadamente e o maior valor de eletronegatividade foi próximo de -2 mV, chegando a estabilidade na faixa de pH entre 5,0 e 6,5.

Embora se trate de bactéria de mesmo gênero, mas de espécie diferente, os resultados do presente trabalho corroboram com a afirmativa de Bueno (2007) e de Silva (2010) de que os sítios ativos da bactéria *R. opacus* são ocupados pelos íons metálicos.

O presente estudo conseguiu fixar o PIE para o bioissorvente não tratado com NaOH, bem como o de sua interação com o Co(II) e Ni(II), resultado também atingido por Bueno (2008) em ensaios de bioissorção entre a bactéria *R. opacus* e os íons de Pb, Cr e Cu, mas não por Silva (2010) com a mesma espécie bacteriana e os metais Co(II) e Cu(II) e a bactéria.

Os estudos eletrocinéticos também foram realizados com a bactéria *R. ruber* pré-tratada por NaOH por 2 horas, em solução livre de metais e com os metais Co(II) e Ni(II). Os resultados foram diagramados e compilados na Figura 15.

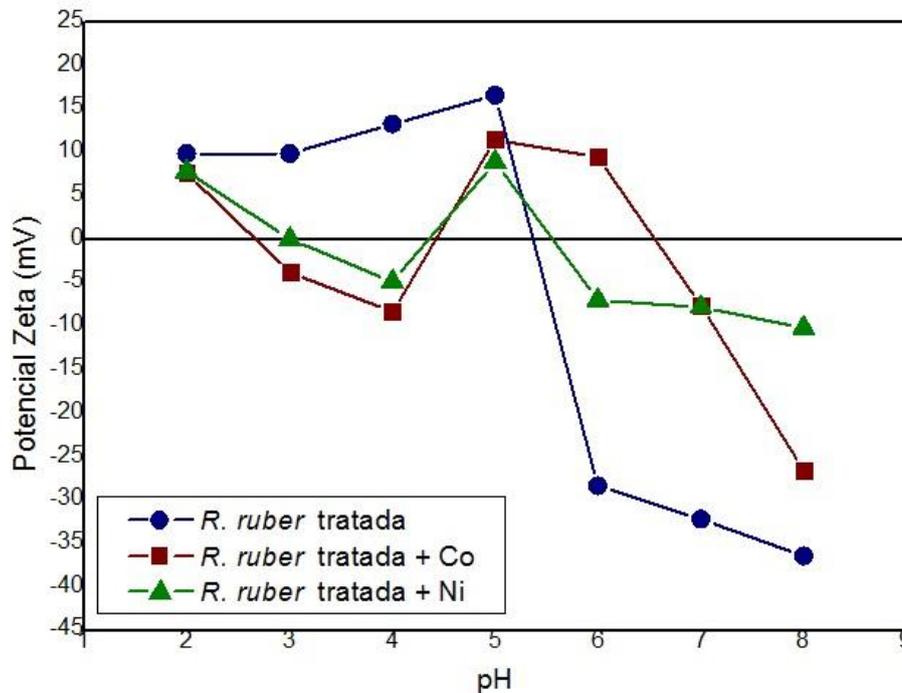


Figura 15 - Curva de potencial zeta de *R. ruber* (1 g.L^{-1}) tratada com NaOH e a interação do bioissorvente com os metais Co(II) e Ni(II) (30 mg.L^{-1}).

Quando comparados os resultados dos ensaios com células sem tratamento com NaOH com as tratadas com NaOH, em soluções livres de metais, verificou-se que o ponto de PIE se deslocou do pH próximo a 2,5 para o pH 5,4 e o valor máximo de carga eletronegativa passou de -15,6 mV para -36,48 mV no pH 8,0. Isto nos leva a crer que somente a partir do pH 5,4 ocorrerá adsorção da carga positiva dos metais. Em termos percentuais, este valor representa um incremento de aproximadamente 134 % em eletronegatividade, sugerindo que a adsorção pode ser de natureza física, pois a bactéria possui cargas negativas e o tratamento com NaOH favorece os sítios ativos que constituem a parede celular (cargas negativas), e proporcionalmente os valores de remoção seriam maiores em termos de remoção na bioissorção dos metais.

O potencial zeta de *R. ruber* pré-tratada com NaOH e em contato com os metais envolvidos no processo de bioissorção deste trabalho, Co(II) e Ni(II), apresentaram três valores de PIE para os dois metais estudados. Para Co(II), os pontos de PIE foram encontrados próximos aos valores de pH 2,6; 4,4 e 6,5.

Para o Ni(II), os pontos de PIE ficaram próximos ao pH 3,0; 4,3 e 5,6. Os picos de maiores valores de eletronegatividade foram de - 26,6 mV para o Co(II) e de - 10,2 mV para o Ni(II); para ambos metais em pH 8,0.

Em estudos eletrocinéticos com os metais Pb(II), Cu(II) e Cr(II) utilizando-se do bioissorvente *R. opacus*, Bueno (2007), observou resultados semelhantes ao obtidos neste trabalho. Uma segunda reversão de carga também foi observada para os três metais em estudo, sendo atribuída a este fato uma adsorção específica dos primeiros hidróxido-complexos: Pb(OH)^+ , Cu(OH)^+ e Cr(OH)^{2+} na superfície de *R. opacus*. Fuerstenau & Pradip (2005) verificaram que o potencial zeta da flotação de óxidos e silicatos minerais apontam este mesmo tipo de comportamento para os minerais em questão.

Os dados obtidos indicam que, *R. ruber* tratada com NaOH deverá se comportar como um bioissorvente na faixa de pH entre 2,6 e 4,4 e acima de 6,5 para Co(II) e na faixa entre pH 3,0 e 4,3 e acima de 5,6 para Ni(II).

5.5. Testes de Bioissorção em Batelada

A bioissorção é conhecida como uma das novas alternativas para o tratamento de efluentes e torna-se, do ponto de vista ambiental, interessante por trabalhar com biomassas inativas que se ligam a metais pesados presentes em soluções aquosas. Esses metais podem ser posteriormente regenerados por dessorção e reintroduzidos no processo, destinados a outros fins industriais ou simplesmente dispostos de maneira correta em aterros industriais. No caso da biomassa, pode ser também recuperada e retroalimentar o processo.

Para determinar as condições de maior eficiência de remoção dos metais Co(II) e Ni(II) por bioissorção com a biomassa de *R. ruber*, foram realizados ensaios com variações de diferentes parâmetros, em experimentos de batelada. Para estes estudos foi utilizada somente a biomassa de *R. ruber* sem tratamento com NaOH.

5.5.1. Influência do pH na Bioissorção de Co(II) e Ni(II)

O pH é considerado, dentre os parâmetros testados, o que mais influencia o processo da bioissorção, pois tem ação determinante na especiação e na carga

dos íons contidos em solução aquosa e nos sítios de sorção dos diversos tipos de biomassas (Gao & Wang, 2007).

Inicialmente foram determinados os pontos de precipitação dos metais Co(II) e Ni(II), para que fosse possível definir as faixas de pH que seriam consideradas para os testes. Para o Co(II), a faixa de pH testada foi de 4,0 a 9,0 com variação de 1,0 entre os pontos da faixa estabelecida. No caso do Ni(II), a faixa de pH estabelecida foi de 4,0 a 7,0 uma vez que, após o pH 7,0 uma vez que a partir desse valor de pH a solução de níquel já começava a apresentar mudança de coloração para a cor verde, indicando precipitação do metal em questão. Como o Co(II) e o Ni(II) são metais muito próximos em termos de características físicas e químicas, ficou estabelecido que acima do pH 7,0 seria impossível distinguir a captação realizada pela biomassa, quando testados os dois metais na mesma solução, em consequência da precipitação química do níquel.

A adsorção dos metais pesados com a biomassa em solução pode ser representada pela equação:



Onde: Me é o metal; N é a carga do metal; e B é o sítio ativo da biomassa.

A adsorção acima denota que o pH pode influenciar a biossorção dos íons metálicos pela competição entre o metal e os íons H^+ pelos sítios ativos. Vários grupos funcionais, como carboxila, amina, hidroxila e sulfetos, presentes na constituição da parede celular de bactérias, tem sua ação dependente da configuração das suas cargas, pelo pH. O grupamento carboxila, por exemplo, em pH muito baixo confere à parede celular cargas positivas, o que é desfavorável à adsorção de metais (Eccles & Hunt, 1986; Gardea-Torresdey *et al.*, 1990).

A maior capacidade de captação dos metais estudados pelas células, em valores mais altos de pH pode ser explicada usando a analogia entre a reação de hidrólise do metal e a reação entre os sítios ativos do sorvente e a espécie metálica, onde, em ambas reações, a união de átomos do sorvente a átomos de hidrogênio é rompida, sendo os íons hidrogênio liberados e substituídos pelo metal (Tipping, 2002; Pagnanelli *et al.*, 2003).

Dois aspectos importantes também devem ser considerados quando tratamos da variação do pH, o primeiro será o diagrama de especiação dos metais em questão, pois como comentado no início do tópico, a precipitação do

metal pode mascarar os resultados dos estudos de biossorção. O ponto isoelétrico (PIE) da biomassa envolvida no processo (*R. ruber*) e da sua interação com os metais é outro aspecto de suma importância na consideração dos resultados do parâmetro pH, pois valores de potencial zeta superiores a zero não podem ser considerados como ideais para o estabelecimento das condições ótimas de pH, por conferirem cargas positivas aos sítios ativos, que são ocupados por íons H^+ , resultando em baixa ou capacidade de captação do metal (Singh *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2008).

5.5.1.1. Influência do pH na Biossorção de Co(II)

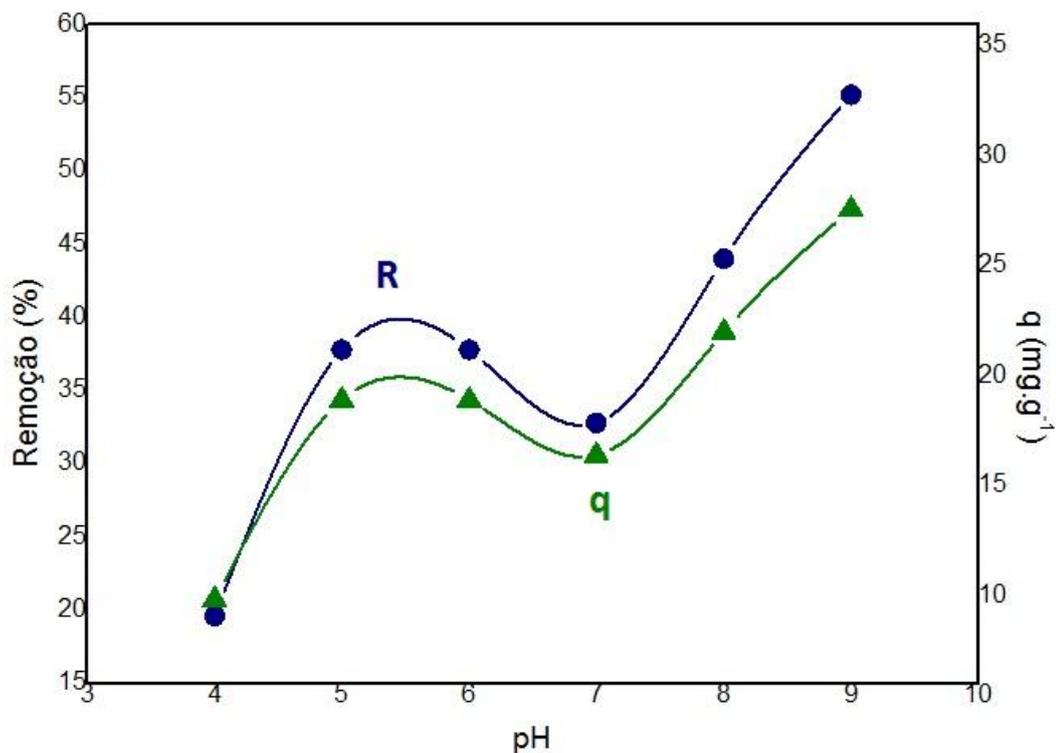


Figura 16 - Remoção e Captação de Co(II) por *R. ruber* não tratada com NaOH, em função da variação do pH (Concentração Inicial do Metal - 50 mg.L^{-1} ; Concentração da Biomassa: $1,0 \text{ g.L}^{-1}$; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

A Figura 16 mostra a quantidade de Co(II) captado pelo biossorvente e o percentual de sua remoção da solução, em função do pH.

Os ensaios foram realizados a partir do pH 4,0 por prévio conhecimento que, abaixo desse valor, a bactéria rompe sua parede celular por pressão

osmótica. Além disso, o PIE da biomassa de *R. ruber* não tratada com NaOH e misturada à solução de Co(II) foi atingido no pH 2,8 e assim valores muito próximos de 3 não lograriam resultados interessantes em termos de percentuais de remoção do Co(II) por biossorção.

Observa-se que no pH 4, a remoção e a captação do Co(II) foram muito baixas, ficando entre 15 a 20 %. A maior eficiência de remoção do Co(II) ocorreu entre o pH 5 e o pH 6, onde foi constatada 37,8% de remoção do metal e captação de $18,9 \text{ mg.g}^{-1}$ para os dois valores de pH, pela biomassa *R. ruber*.

De forma semelhante aos resultados aqui apresentados, Mulaba-Bafubiandi *et al.* (2009), obtiveram o pH 6,0 como melhor condição para a biossorção de cobalto e cobre por *Pseudomonas* spp. Liu *et al.* (2010), em trabalho de biossorção com os metais cobalto e cádmio a partir da bactéria *Pseudomonas fluorescens*, também encontrou o pH ideal de 6,0 para a remoção do Co, mas utilizou o pH 5,5 para os experimentos, visto que trabalhou juntamente com Cádmio, metal que apresentou pH 5,5 como condição ótima para sua remoção de solução por biossorção.

Já Esmaeili *et al.* (2007), em estudo de biossorção usando *Sargassum* sp. como biomassa e os metais cobalto, cobre e níquel, determinaram em seus experimentos o pH 7, como condição de maior eficiência para a remoção de níquel e cobalto. Ainda que utilizando *R. opacus*, biomassa proveniente de outro grupo taxonômico, com características celulares externas bastante distintas do grupo anteriormente citado, Silva (2010) encontrou experimentalmente o mesmo valor de pH 7, como condição de maior eficiência para Cu e Co.

5.5.1.2. Influência do pH na Biossorção de Ni(II)

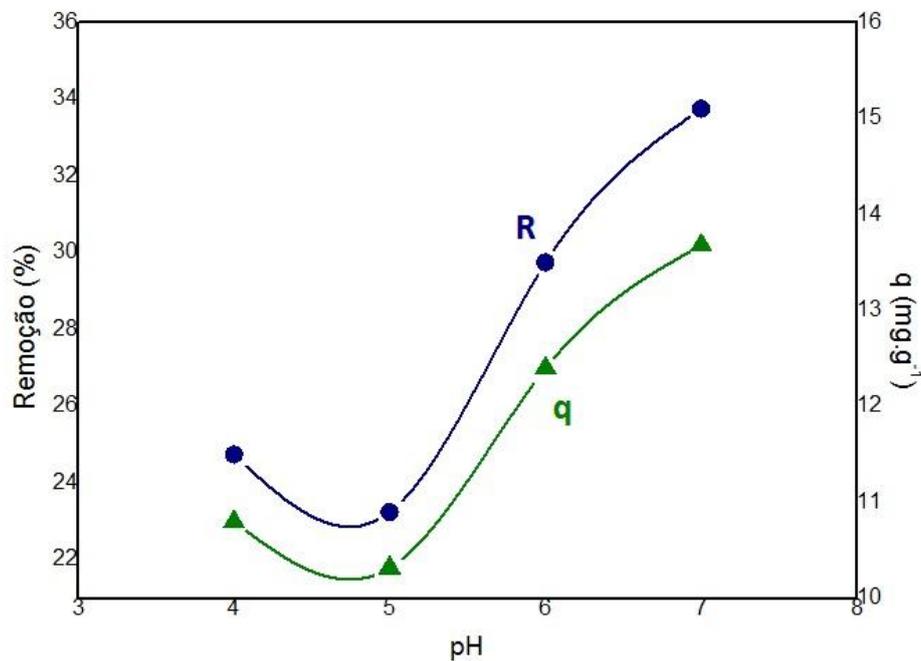


Figura 17 - Remoção e Captação de Ni(II) por *R. ruber* não tratada na variação do parâmetro pH. (Concentração Inicial do Metal - 50 mg.L⁻¹; Concentração da Biomassa: 1,0 g.L⁻¹; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

A Figura 17 mostra a quantidade de Ni(II) captado pelo biossorvente e o percentual de sua remoção da solução, em função do pH.

Os ensaios com Ni(II) também foram realizados a partir do pH 4,0 pelas mesmas razões já colocadas para o Co(II) pois o PIE da biomassa de *R. ruber* não tratada com NaOH e misturada à solução de Co(II) foi atingido no pH 2,7. A Figura 17 mostra que a melhor eficiência de remoção do Ni(II) aconteceu em pH 7,0, mas nesse pH foi observado visivelmente o início de processo de precipitação no ajuste do pH da solução, resultando em uma concentração inicial de metal dissolvido menor do que adicionada. Assim, considera-se para fins práticos, o pH 6,0 como melhor resultado de remoção (27%) e de captação (13,5 mg.g⁻¹) do Ni(II) pela biomassa de *R. ruber*.

Cayllahua *et al.* (2009), em seus estudos de biossorção de Ni(II) com a bactéria *R. opacus*, obtiveram melhor remoção deste metal em pH 5,0. Em experimentos de biossorção com a bactéria *Bacillus cereus*, Zang *et al.* (2010) verificaram a maior eficiência de remoção de Ni(II) em pH 6,5.

Em estudos de biorremediação de Pb(II) e Ni(II) com células bacterianas vivas e inativas de *Pseudomonas aeruginosa* o melhor resultado de remoção no pH foi atingido com pH 7,0 para o Ni(II) (Gabr *et al.*, 2008).

Suazo-Madrid *et al.* (2010), em experimentos de biossorção com a levedura *Rhodotorula glutinis*. Como biossorvente, com íons metálico de Ni(II) o pH ideal encontrado para a remoção de íons metálicos de Ni(II) foi de 7,5.

A variação de resultados nos valores de pH encontrados nos diversos trabalhos citados acima de biossorção pode ser relacionada ao tipo de biomassa utilizada. Para o caso de bactérias, o meio de cultivo também pode influenciar no valor encontrado para o parâmetro.

Considerando que Co(II) e Ni(II) são metais de proximidade química extrema, para a realização das próximas etapas de determinação das condições ótimas dos diferentes parâmetros e também para os experimentos de biossorção propriamente ditos, foi estabelecido o valor de pH 6,0. Essa escolha também teve o propósito de facilitar os trabalhos simultâneos, em laboratório, com os dois metais em questão.

5.5.2. Influência da Concentração de *R. ruber* na Biossorção de Co(II) e de Ni(II)

Para estudar o efeito da concentração de *R.ruber* na função de biossorvente, para determinar a condição de maior eficiência de remoção dos metais Co(II) e Ni(II) de soluções aquosas, foram testadas concentrações de biomassa que variaram de 1,0 a 5,0 g.L⁻¹.

5.5.2.1. Influência da Concentração de *R. ruber* na Biossorção de Co(II)

Na Figura 18 são demonstrados os resultados relativos à remoção (R) e à captação (q) de Co(II) em função da quantidade de biossorvente.

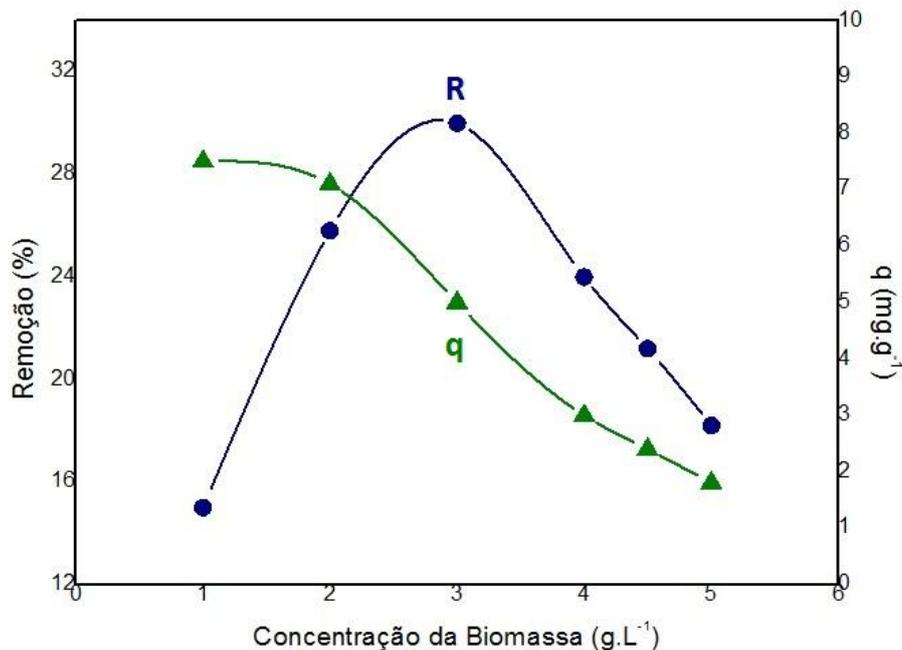


Figura 18 - Remoção e Captação de Co(II) por *R. ruber* na variação do parâmetro Concentração de Biomassa (Concentração Inicial de Metal: 50 mg.L⁻¹; pH: 6,0; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

O efeito da concentração do bioissorvente é considerado um parâmetro importante para o estabelecimento das melhores condições de bioissorção. Na Figura 18, pode ser visualizado um aumento gradual da remoção de Co(II) nas concentrações de 1,0 a 3,0 g de biomassa L⁻¹, alcançando-se o valor máximo de remoção de 30 % do metal da solução na última concentração mencionada. Este fato pode ser explicado pelo aumento de área superficial de adsorção, proporcionada pela quantidade de bioissorvente disponibilizado em solução; e conseqüentemente maior quantidade de sítios ativos disponíveis para que ocorra o processo de sorção, fato também observado por Bueno (2007).

Valores maiores da concentração de *R. ruber* (4,0; 4,5 e 5,0 g.L⁻¹) apresentaram resultados de remoção e captação decrescentes. Este resultado é conseqüência da alta concentração de biomassa nestes pontos, que provoca formação de agregados celulares, diminuindo a superfície relativa destinada a adsorção dos metais, fato confirmado por Ekmekyapar *et al.* (2006); Bueno (2007); e Silva (2010). Silva (2010) obteve resultados semelhantes aos apresentados nesta dissertação, ainda que utilizando biomassa de outra espécie bacteriana tratada com NaOH.

5.5.2.2. Influência da Concentração de *R. ruber* na Biossorção de Ni(II)

A Figura 19 demonstra os respectivos dados de remoção (R) e captação (q) de íons metálicos de Ni(II) pelo biossorvente *R. ruber*.

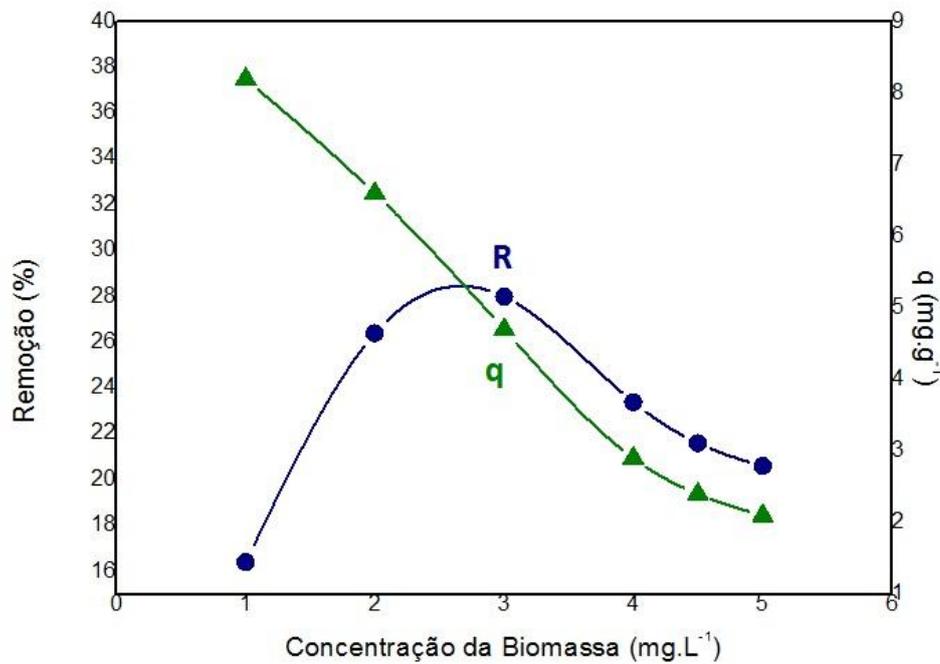


Figura 19 - Remoção e Captação de Ni(II) por *R. ruber* no processo de biossorção variando o parâmetro Concentração de Biomassa (Concentração Inicial de Metal: 50 mg.L⁻¹; pH: 6,0; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

Os dados da Figura 19, relativos a experimento com Ni(II), demonstram comportamento muito semelhante ao observado para o metal Co(II). É observado um incremento gradual da remoção e maiores taxas de captação na faixa de concentração da biomassa *R. ruber* que vai 1,0 a 3,0 g.L⁻¹, quando se chega ao pico de remoção 28%. Quando há um incremento na biomassa, maior a área superficial de adsorção e mais sítios de ativação estão disponíveis (Bueno, 2007).

Valores de concentração de biomassa acima entre 4,0; 4,5 e 5,0 g.L⁻¹ de *R. ruber* apresentaram valores decrescentes de remoção e de captação do Ni(II), fato também observado para o metal Co(II) neste presente estudo. Outros autores também observaram este comportamento, sendo este atribuído à agregação da biomassa quando se encontra em altas concentrações em solução, diminuindo por conseqüência, a área superficial de adsorção

(Ekmekyapar *et al.* 2006; Bueno,2007; Silva, 2010). Outra observação a ser esclarecida é de que os valores de captação baixam proporcionalmente em relação à quantidade de *R. ruber*, pois, mesmo apresentando mais sítios ativos em função do aumento da quantidade de bioissorvente para estabelecimento da bioissorção, estes se encontram insaturados (Bueno, 2007).

Nossos resultados discordam dos apresentados por Cayllahua (2009) para o metal Ni(II), utilizando o bioissorvente *R. opacus*, onde o melhor resultado em termos de quantidade de metal Ni(II) removido por bioissorção ocorreu na concentração da biomassa foi 5 g.L⁻¹, com uma remoção da ordem de 54 %.

Assim, de acordo com os resultados apresentados, ficou estabelecido a concentração de 3,0 g de biomassa *R. ruber* .L⁻¹.para ser utilizada como bioissorvente nas próximas etapas dessa investigação.

5.5.3.

Influência da Concentração Inicial de Metal na Bioissorção de Co(II) e de Ni(II)

Nesta etapa das análises de bioissorção foram testadas concentrações metálicas dos íons Co(II) e Ni(II) nas proporções de 5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹, 15 mg.L⁻¹, 30 mg.L⁻¹, 50 mg.L⁻¹ e 75 mg.L⁻¹ sendo o pH ajustado em 6,0 para os dois metais e a concentração da biomassa fixada em 3,0 g.L⁻¹.

5.5.3.1.

Influência da Concentração Inicial de Metal na Bioissorção de Co(II)

Os resultados obtidos nos ensaios deste parâmetro foram diagramados na Figura 20 onde são descritos os dados de remoção (R) e os de captação (q).

A concentração inicial do metal é um importante parâmetro nos estudos de bioissorção, pois é dessa maneira que conseguimos aproximar mais os trabalhos experimentais em laboratório em relação a uma situação real. Em contaminações ocorridas nos recursos naturais não conseguimos encontrar um único elemento metálico e as concentrações podem ser as mais variadas possíveis.

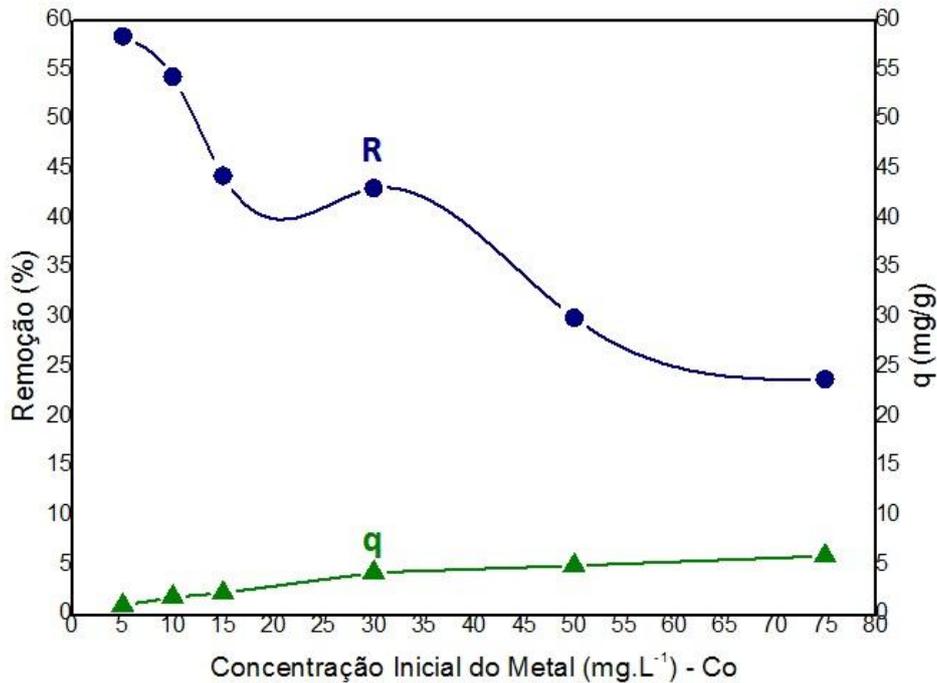


Figura 20 - Remoção e Captação de Co(II) por *R. ruber* no processo de biossorção utilizando como parâmetro de variação Concentração Inicial do Metal (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

O diagrama da Figura 20 mostra que a remoção percentual de Co(II) ocorreu na concentração inicial de 5,0 mg.de Co(II) L⁻¹, com valor em torno de 60 %. A partir daí os percentuais de remoção deste metal pelo biossorvente *R.ruber* começaram a decrescer em proporção inversa ao aumento da concentração de metal na solução. Considerando na concentração de maior rendimento percentual de remoção, a quantidade real de metal removido ainda foi muito baixa, o valor adotado de concentração de Co(II) nas soluções contaminantes para as próximas etapas investigativas não foi o de 5,0 mg Co(II).L⁻¹, mas sim o de 30 mg Co(II).L⁻¹, por ser uma concentração metálica mais próxima do que pode ocorrer em termos de contaminação numa situação real e por esta concentração ter apresentado um valor de remoção próximo a 45 %.

5.5.3.2. Influência da Concentração Inicial de Metal na Biossorção de Ni(II)

Na Figura 21 foram apresentados os dados de remoção (R) e captura (q) de Ni(II) por processo de biossorção pela biomassa de *R.ruber* frente a diferentes

concentrações iniciais do metal Ni(II) por processo de biossorção mediado pela bactéria *R. ruber*.

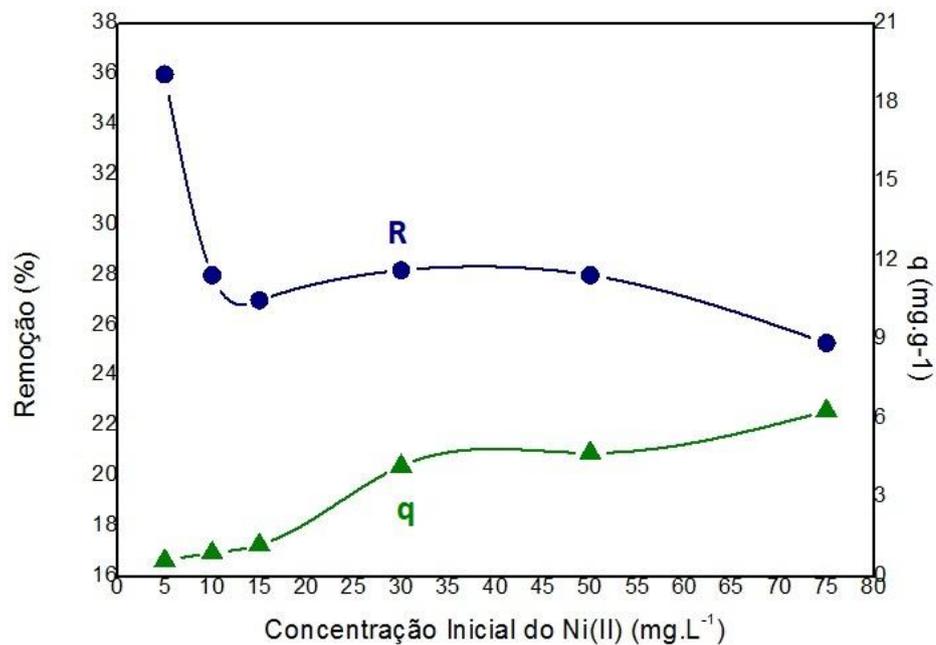


Figura 21 - Remoção e Captação de Ni(II) por *R. ruber* no processo de biossorção variando o parâmetro Concentração Inicial do Metal. (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

Embora a concentração inicial de 5,0 mg.de Níquel L⁻¹ tenha sido a de maior valor relativo quanto a remoção do metal da solução, o percentual de níquel removido foi de somente 36%, aproximadamente metade do valor obtido para o Co(II), resultando da mesma forma em remoção de baixa quantidade total de metal. Assim, a concentração inicial de 30 mg.L⁻¹.de níquel, que apresentou 28% de remoção do metal,foi a escolhida para ser utilizada nas próximas etapas investigativas, pelas mesmas razões já apresentadas para o metal Co(II).

A partir deste parâmetro puderam ser estabelecidos os estudos da cinética das reações. Foram confeccionadas as isotermas de adsorção que serão descritas após os parâmetros de biossorção.

Assim, ficou estabelecido o valor inicial de 30 mg.L⁻¹ tanto para Co(II) como para Ni(II) para os ensaios de biossorção com a bactéria *R. ruber*.

5.5.4. Influência do Tempo de Contato na Biossorção de Co(II) e de Ni(II)

O tempo de contato é o parâmetro através do qual se define o tempo de processamento da cinética da reação. Em termos de processos industriais ou tratamento de efluentes, que é o caso do nosso objeto de estudo, é um dos parâmetros de otimização. O fator tempo é, sem dúvida, um dos parâmetros de maior impacto em se tratando de custos e gastos energéticos na área de processos.

5.5.4.1. Influência do Tempo de Contato na Biossorção de Co(II)

A Figura 22 revela o percentual de remoção e a quantidade de íons Co(II) captados em diferentes períodos de incubação da biomassa *R. ruber* com a solução de íons metálicos Co(II).

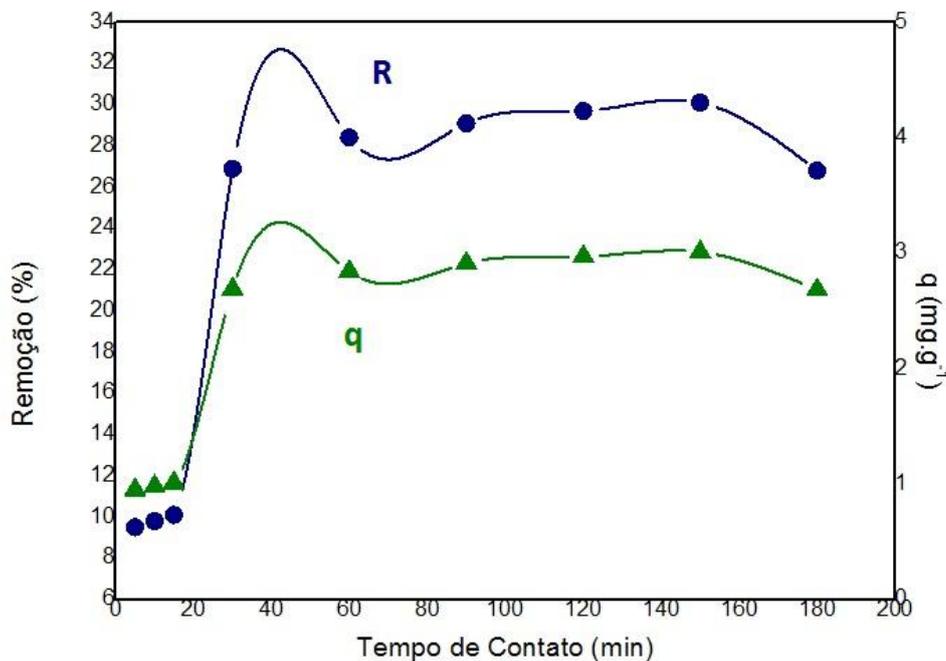


Figura 22 - Remoção e Captação de Co(II) por *R. ruber* no processo de biossorção variando o parâmetro Tempo de Contato. (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Concentração Inicial do Metal 30 mg.L⁻¹ e Velocidade de Agitação: 125 rpm).

Os resultados demonstram, com clareza, que a cinética da reação ocorre nos primeiros 30 minutos do contato do metal Co(II) com o bioissorvente. A cinética pode-se dizer que ocorre em quatro fases. A primeira se dá em um intervalo de 0 a 15 minutos, durante os quais não ocorre grande representação em termos de remoção. Entre 15 a 20 minutos de incubação acontece um incremento bastante significativo na remoção do Co(II). Esses resultados sugerem que a maioria das reações do processo de bioissorção ocorreu nesta faixa de tempo até 30 minutos de incubação do bioissorvente com o metal.

A partir dos 30 minutos até 150 minutos o incremento que ocorre na remoção não é considerado expressivo e pode ser até mesmo atribuído a falhas laboratoriais no preparo das amostras ou erros de leituras decorrentes da sensibilidade do aparelho de análises na absorção atômica. A quarta fase foi considerada entre os tempos de contato de 150 a 180 minutos, que é quando começa ocorrer um decréscimo nos valores de remoção.

Em pesquisa realizada por Yamamura *et al.* (2008) com bioissorção de Ni(II) com bagaço de cana-de-açúcar como bioissorvente, a curva de remoção a partir dos 50 minutos de tempo de contato começou apresentar decréscimo. Foi levantada, como hipótese pelos autores, a possibilidade de competição pelos sítios ativos, por outros íons contidos em solução, como por exemplo, Na⁺ do NaOH, adicionado para ajuste do pH da solução.

Em dissertação realizada por Silva (2010), utilizando a bactéria *R. opacus* para a remoção e captação de íons de Co(II), em condições de temperatura ambiente, 3,0 g.L⁻¹ de bioissorvente, pH 7,0 da solução e agitação de 125 rpm, é sugerido que a cinética ocorra em duas etapas: uma muito rápida, durante o primeiro minuto de contato e com grande incremento de remoção e a segunda muito menor em termos percentuais, que apresentou a máxima remoção de Co(II) aos 140 minutos.

Bhatnagar *et al.* (2010) utilizou casca de limão como bioissorvente na remoção de cobalto presente em solução aquosa e sinalizaram o mesmo observado pelo autor acima, onde obtiveram resultados de 50 % de remoção de Co(II) no tempo de 2,5 minutos e o equilíbrio foi atingido com sete horas de tempo de contato. Liu *et al.* (2010) usando *Pseudomonas fluorescens* na bioissorção de cobalto e cádmio, observaram duas etapas na cinética do processo, concordando com os resultados obtidos pelos demais autores citados, o equilíbrio sendo alcançado em 60 minutos.

5.5.4.2. Influência do Tempo de Contato da Biossorção de Ni(II)

A Figura 23 apresenta os resultados de remoção (R) e captação (q) do Ni(II) pelo biossorvente *R.ruber* em diferentes períodos de incubação

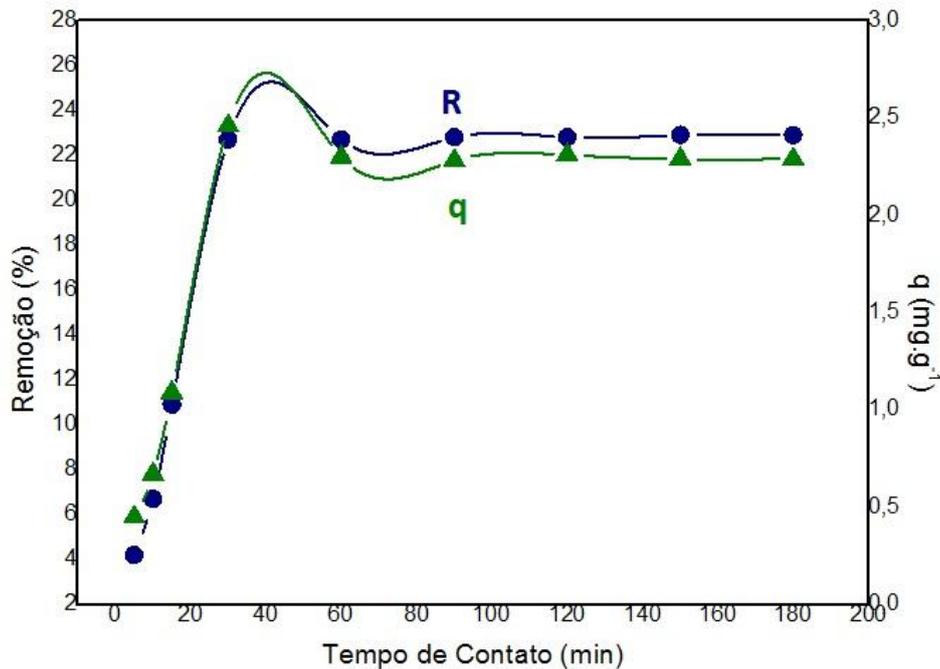


Figura 23 - Efeito do Tempo de Contato na biossorção de Ni(II) por *R. ruber* (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Concentração Inicial do Metal 30 mg.L⁻¹ e Velocidade de Agitação: 125 rpm).

A cinética da reação na biossorção de *R. ruber* com o íon metálico Ni(II) ocorre em duas etapas. A etapa que acontece nos trinta (30) primeiros minutos do processo é a mais representativa, pois é nela que a maior parte da remoção é configurada. A segunda etapa, após os trinta primeiros minutos, corresponde ao de equilíbrio do processo, quando a remoção e captação do Ni(II) pelo biossorvente se estabilizam e a diferença entre os pontos não é considerada expressiva.

Os resultados obtidos no presente estudo em termos de comportamento da curva estão de acordo com os de Cayllahua *et al.* (2009) quando estudou a biossorção de Ni(II) por *R. opacus*. Os autores atribuíram também duas etapas nos primeiros trinta minutos, tal como, aconteceu em nossos experimentos. De forma diferente, Monteiro *et al.* (2008), nos seus estudos de adsorção de níquel por fibra de coco verde, utilizaram a concentração de metal de 0,1 g.L⁻¹ e concentração de biossorvente de 50 mg.L⁻¹ e obtiveram resultados de equilíbrio cinético já nos cinco primeiros minutos de contato.

Nos estudos de remoção de Ni(II) por bagaço de cana-de-açúcar, a remoção máxima do metal foi de 31 % nos primeiros vinte minutos de contato, utilizando 20 mg.L⁻¹ de Ni(II), 50 mg.L⁻¹ de bagaço de cana-de-açúcar, pH 6,4 e 300 rpm de agitação (Yamamura, 2008).

Como verificado pelos resultados da literatura, o equilíbrio da cinética dos processos de bioissorção é totalmente influenciado por aspectos como o tipo de bioissorvente (números e de grupos funcionais), tamanho e a forma do bioissorvente, estado fisiológico da biomassa e o metal envolvido no processo (Padmavathy *et al.*, 2003).

5.5.5. Condições Paramétricas Utilizadas nos Experimentos de bioissorção de Co(II) e de Ni(II)

Segundo os resultados apresentados, foram as seguintes as melhores condições paramétricas para a execução dos experimentos de bioissorção tanto para Co(II) quanto para Ni(II):

pH: 6,0;

Concentração da Biomassa: 3g.L⁻¹;

Concentração Inicial do Metal: 30 mg.L⁻¹;

Tempo de Contato: 30 minutos.

5.5.6. Cinética de Bioissorção

5.5.6.1.

5.5.6.2. Cinética de Bioissorção de Co(II)

As Figuras 24 e 25 demonstram os modelos cinéticos propostos para avaliar a bioissorção de *R. ruber* para o tratamento de soluções aquosas contendo o metal pesado Co(II).

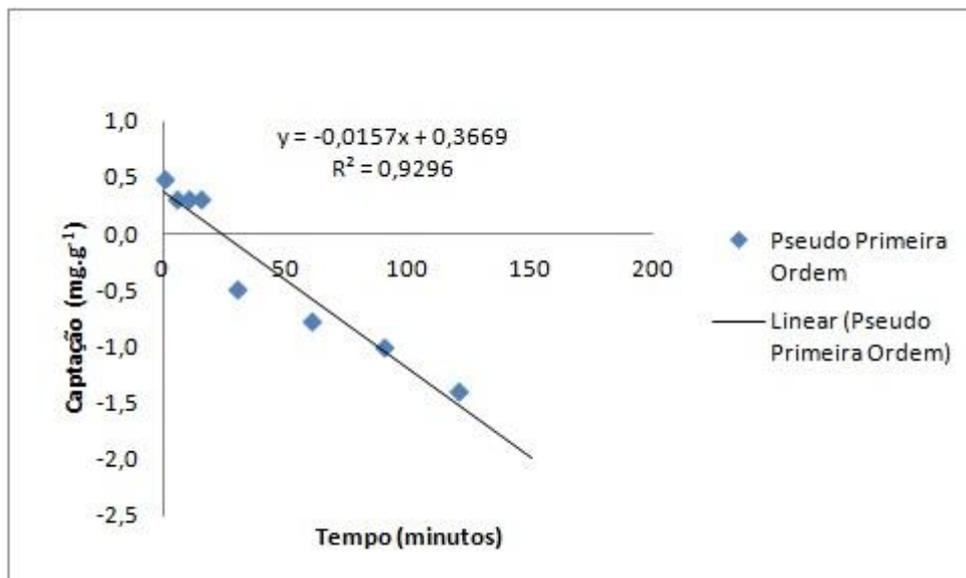


Figura 24 - Modelo linear de pseudo-primeira ordem da capturação de Co(II) por *R. ruber*.

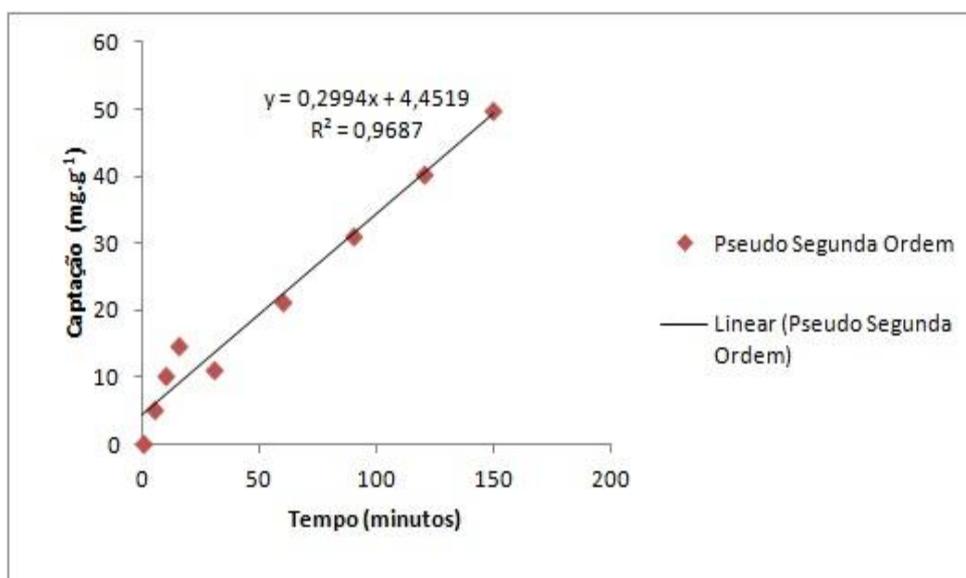


Figura 25 - Modelo linear de pseudo-segunda ordem da capturação de Co(II) usando *R. ruber* como bioissorvente.

Para os estudos de cinética das reações, que envolvem o processo de bioissorção dos íons de Co(II), foram utilizados dois modelos de ajuste: o de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordens.

Em geral trabalhos com materiais bioissorventes se ajustam melhor a modelos cinéticos de pseudo-segunda ordem. Esse melhor ajuste de pseudo-segunda ordem foi observado em trabalhos de remoção de cobalto por cascas

de limão, com R^2 de 0,9903 (Bhatnagar *et al.*, 2010), por *Pseudomonas fluorescens*, com R^2 de 0,997 (Lui *et al.*, 2010) e com *Rhodococcus opacus*, com R^2 de 0,9991 (Silva, 2010).

Neste estudo, o modelo que melhor se ajustou foi também o de pseudo-segunda ordem, com R^2 de 0,9687, embora o modelo de pseudo-primeira ordem também tenha apresentado um ajuste satisfatório, com R^2 de 0,9296.

5.5.6.3. Cinética de Biossorção de Ni(II)

As Figuras 26 e 27 mostram a disposição gráfica de dois modelos de equação cinética para biossorção de Ni(II) em solução aquosa por *R. ruber*.

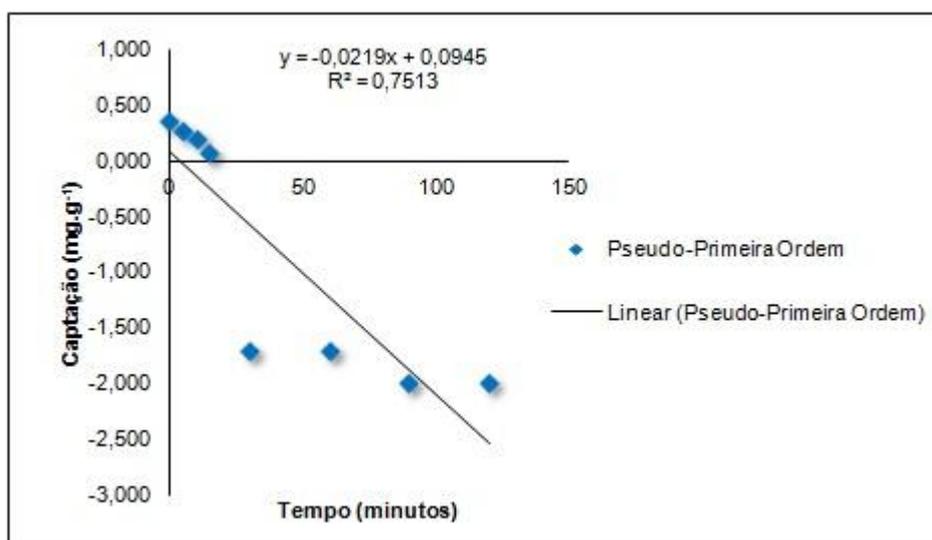


Figura 26 - Modelo linear de pseudo-primeira ordem da capturação de Ni(II) usando *R. ruber* como biossorvente.

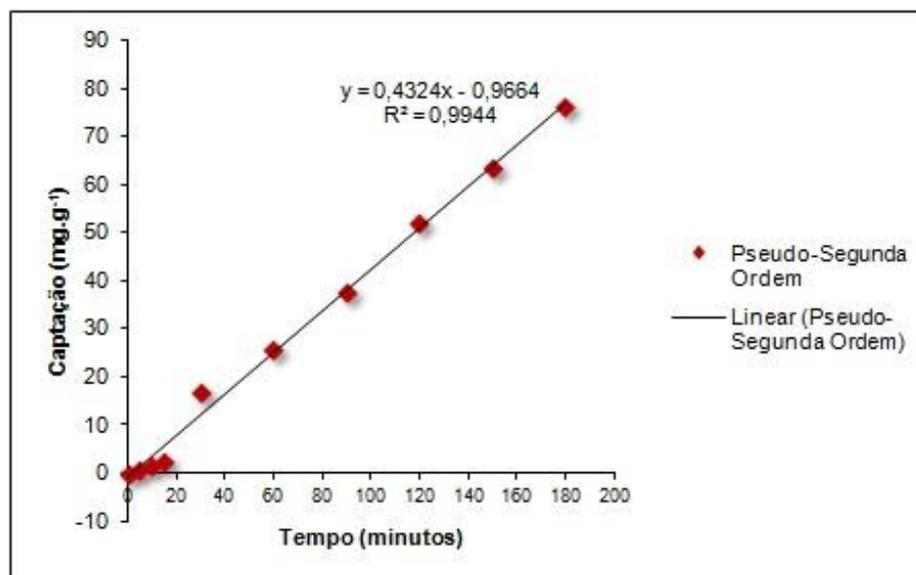


Figura 27 - Modelo linear de pseudo-segunda ordem da captação de Ni(II) usando *R. ruber* como bioissorvente.

Nos estudos de cinética das reações de bioissorção, modelos cinéticos são aplicados e de fundamental importância para o entendimento do processo. Na maioria dos trabalhos nos quais são usados agentes biológicos como adsorventes, o modelo de pseudo-segunda ordem se ajusta melhor.

Esta afirmativa se aplica ao item em questão, pois o modelo de pseudo-segunda ordem apresentou um R^2 no valor de 0,9944 para a sorção de Ni(II) por biomassa bacteriana *R. ruber*. O modelo de pseudo-primeira ordem demonstrou ajuste não muito adequado ficando, com R^2 de 0,7513.

Quando comparamos com a literatura disponível, verificamos que muitos autores apresentam resultados semelhantes em relação à remoção de Ni(II) até mesmo quando se dispõe de outros tipos de bioissorventes.

Mimura *et al.* (2010) utilizaram casca de arroz como adsorvente em solução contendo Cu(II), Al(III), Ni(II) e Zn(II), testaram os parâmetros cinéticos nos metais em questão de forma individual, em sistemas quaternários e ternários sem a presença de Al(III). Chegaram à conclusão que o Ni(II) de forma individualizada e em sistema ternário sem a presença de Al(III) se ajusta melhor ao modelo de pseudo-segunda ordem com R^2 , respectivamente, de 0,989 e 1,000. Já em sistema quaternário, o modelo de pseudo-primeira ordem foi o ideal e indicam o fato da formação de filmes de óxido-hidróxidos na superfície do bioissorvente pela presença do Al(III).

Segundo Cayllahua *et al.* (2009) em seus estudos de cinética, termodinâmica e equilíbrio da bioissorção de Ni(II) por *R. opacus*, o modelo de

pseudo-segunda ordem também foi o que demonstrou melhor ajuste, os parâmetros utilizados pelo autor foram de 5 mg.L^{-1} de solução de Ni(II), 5 g.L^{-1} de *R. opacus* e pH 5,0 no tempo de contato de 60 minutos.

5.5.7. Isotermas de Biossorção

Para descrever a distribuição do soluto entre a fase sólida e a fase líquida para a condição de equilíbrio, é necessário expressar a quantidade de soluto adsorvido por unidade de peso de sorvente (q_e) em função da concentração residual de equilíbrio (C_e) do soluto remanescente na solução. A expressão desta relação é chamada isoterma de adsorção.

Isotermas de sorção foram experimentalmente determinadas para a biomassa *R. ruber*. Estas isotermas foram derivadas para um valor de pH determinado previamente para cada metal. Uma solução 1000 mg.L^{-1} de Co(II) e Ni(II) foram preparadas a partir dos sais de $\text{Cl}_2\text{Co}.6(\text{H}_2\text{O})$ e $\text{Cl}_2\text{Ni}.6(\text{H}_2\text{O})$ respectivamente. Amostras das soluções foram diluídas para preparar as concentrações metálicas de trabalho. Os experimentos foram desenvolvidos para uma faixa de concentração inicial de metal 5 a 75 mg.L^{-1} , para assim adquirir a máxima capacidade de captação.

As Figuras 29 e 31 demonstram que a capacidade de captação de Co(II) e de Ni(II) aumenta, de forma linear, com o aumento da concentração de equilíbrio na sorção de Co(II) e Ni(II). Este é o resultado do incremento do gradiente de concentração devido ao incremento da concentração inicial dos íons metálicos. A capacidade de captação é eventualmente limitada pelo número fixo de sítios ativos na biomassa e um resultante platô pode ser observado. Este platô pode representar a máxima capacidade captada pela biomassa para cada espécie metálica. Nas figuras 26 e 28 foram encontrados a q_e de $19,05 \text{ mg.g}^{-1}$ para Co(II) e q_e $5,87 \text{ mg.g}^{-1}$ para Ni(II), para uma concentração inicial de metal de 75 mg.L^{-1} .

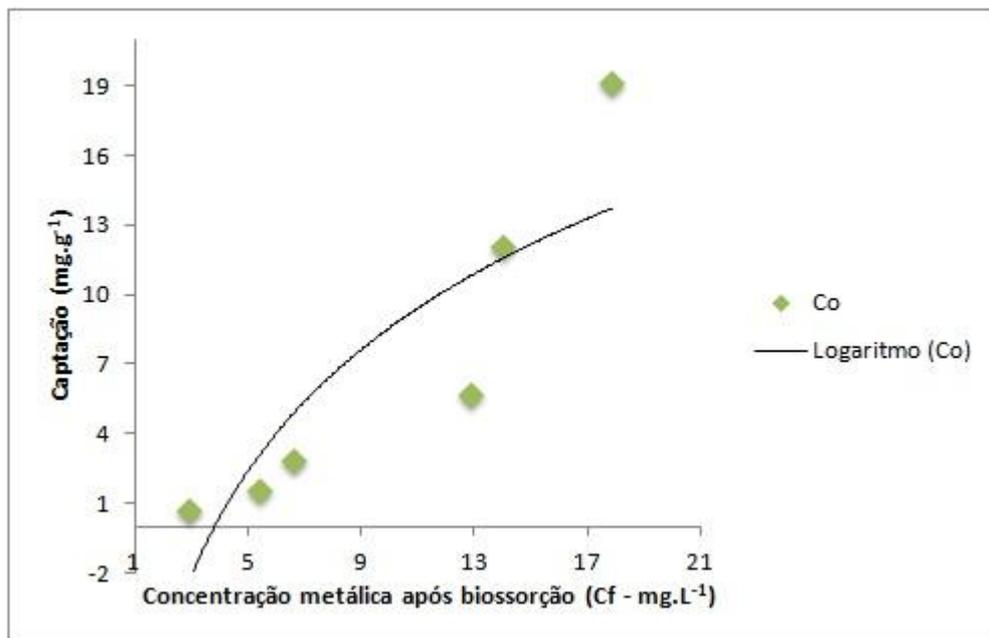


Figura 28 - Captação do íon Co(II) por *R. ruber* em função da concentração metálica após a biossorção, modelo não linear (Concentração de Biomassa: 3 g.L⁻¹; pH: 6,0; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

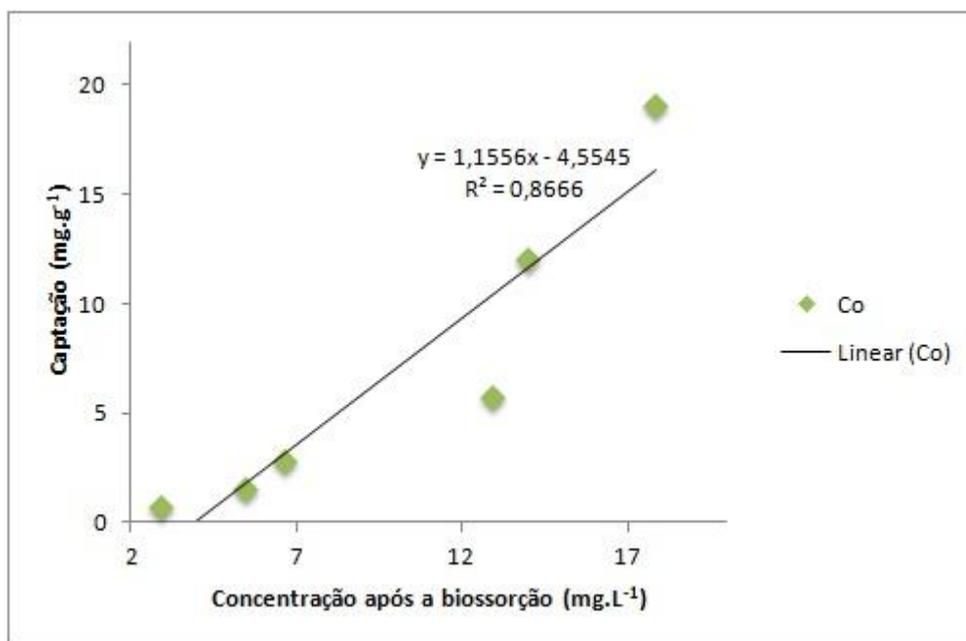


Figura 29 - Captação do íon Co(II) por *R. ruber* em função da concentração metálica após a biossorção, modelo linearizado (Concentração de Biomassa: 3 g.L⁻¹; pH: 6,0; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

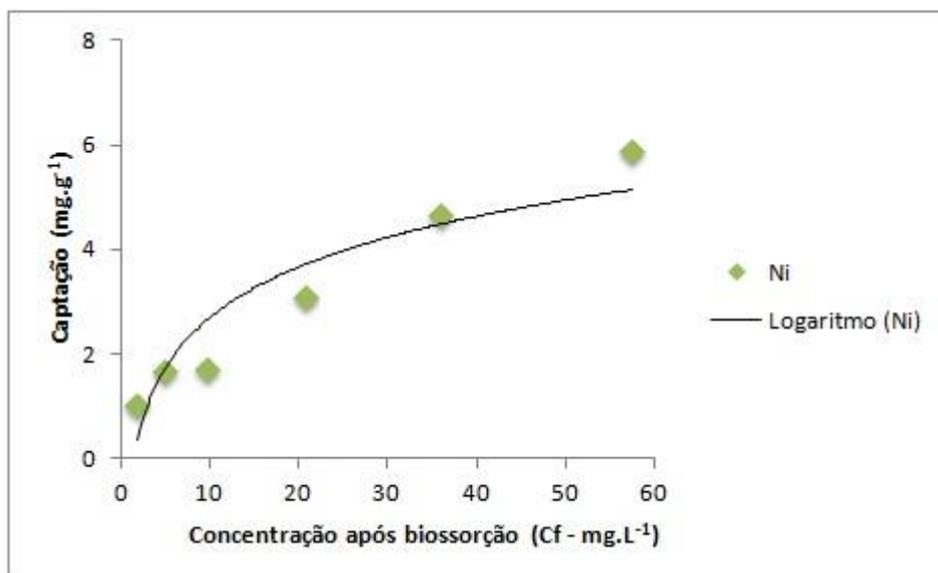


Figura 30 - Captação dos íons Ni(II) por *R. ruber* em função da concentração metálica após a biossorção, modelo não linear (Concentração de Biomassa: 3 g.L⁻¹; pH: 6,0; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

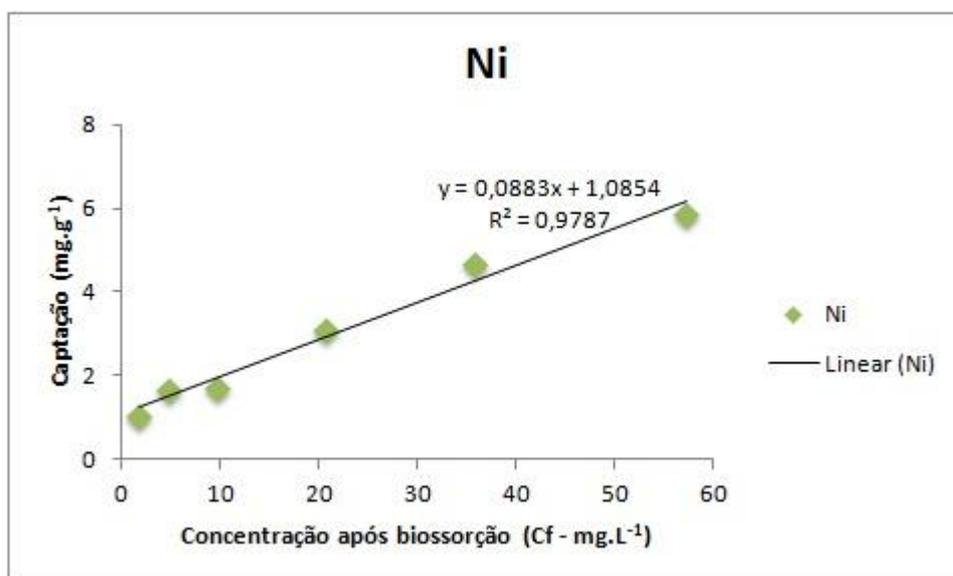


Figura 31 - Captação dos íons Ni(II) por *R. ruber* em função da concentração metálica após a biossorção, modelo linearizado (Concentração de Biomassa: 3 g.L⁻¹; pH: 6,0; Velocidade de Agitação: 125 rpm e Tempo de Contato: 3 h).

5.5.8. Isotermas de Adsorção

Vários modelos matemáticos têm sido desenvolvidos para representar quantitativamente a relação entre a extensão da sorção e a concentração residual de soluto. Os modelos mais amplamente utilizados são os da isoterma de Langmuir e de Freundlich, Foram testados também os modelos de Temkin e Dubinin-Radushkevich.

A isoterma de Freundlich é capaz de descrever adsorção de compostos orgânicos e inorgânicos em uma grande variedade de adsorventes, incluindo os biossorventes. Como é caracterizado por uma equação robusta, se adequa a ciclos de sorção e dessorção e é excelente para sistemas heterogêneos, incluindo sistemas de biossorção (Febrianto *et al.*, 2009). Os dados de adsorção com respeito às duas espécies metálicas apresentaram melhor ajuste ao modelo da Isoterma de Freundlich (Figuras 33 e 37).

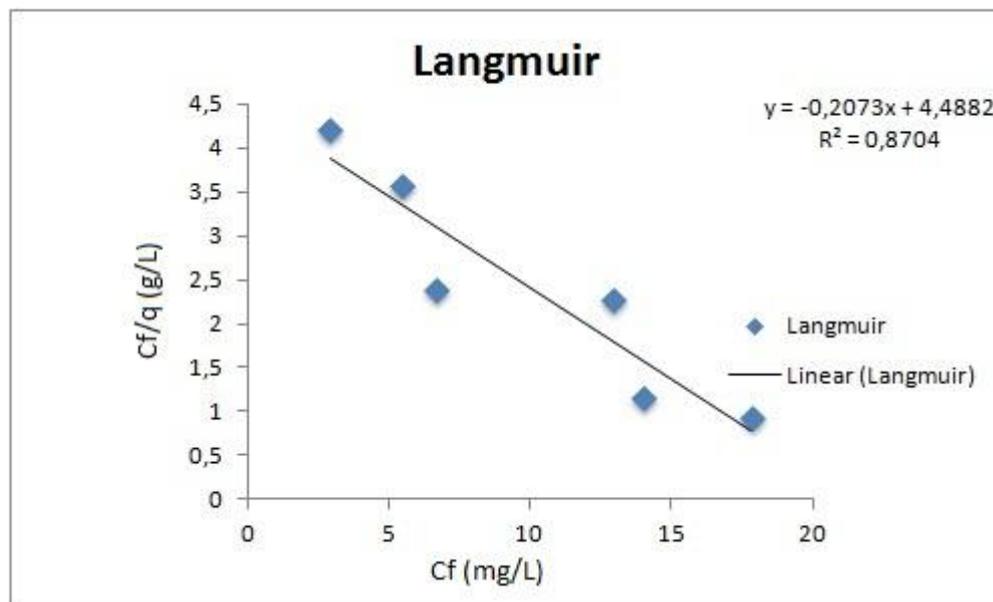


Figura 32 - Aplicação da equação de Langmuir para a biossorção de Co(II) por *R. ruber*.

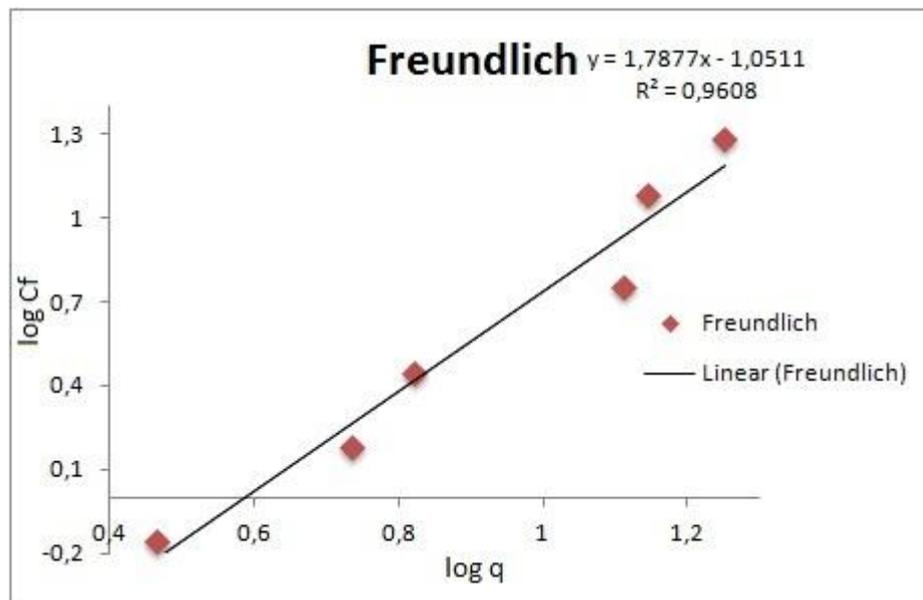


Figura 33 - Aplicação da equação de Freundlich para a biossorção de Co(II) por *R. ruber*.

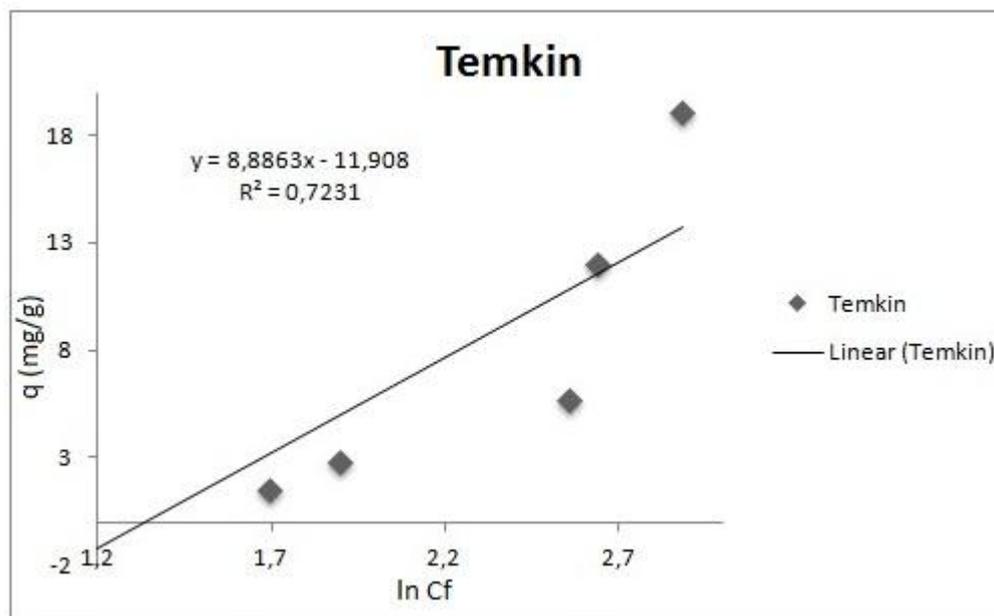


Figura 34 - Aplicação da equação de Tenkim para a biossorção de Co(II) por *R. ruber*.

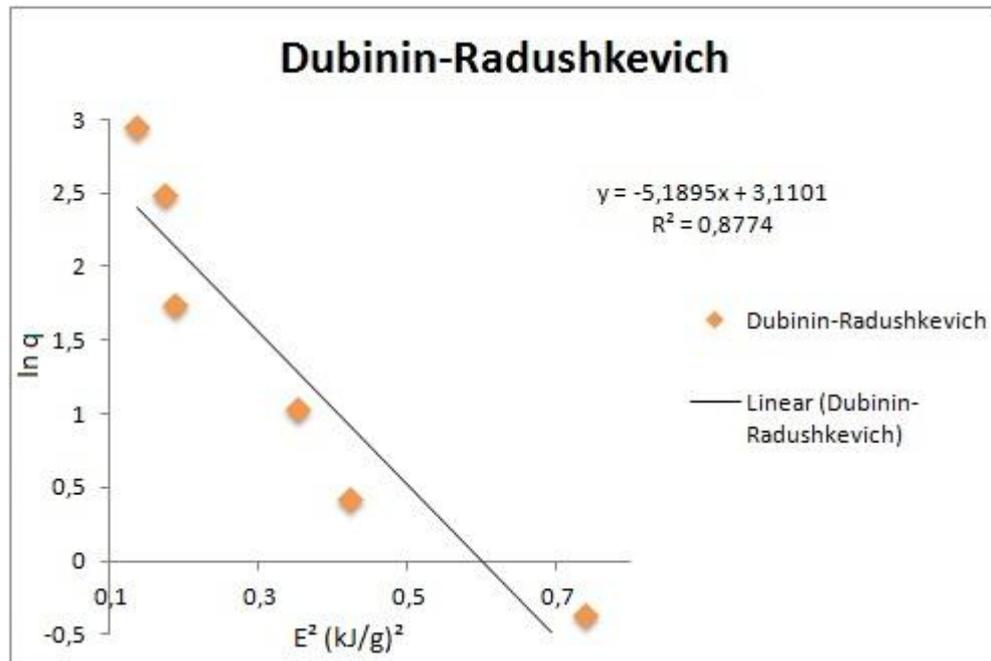


Figura 35 - Aplicação da equação de Dubinin-Radushkevich para a biossorção de Co(II) por *R. ruber*.

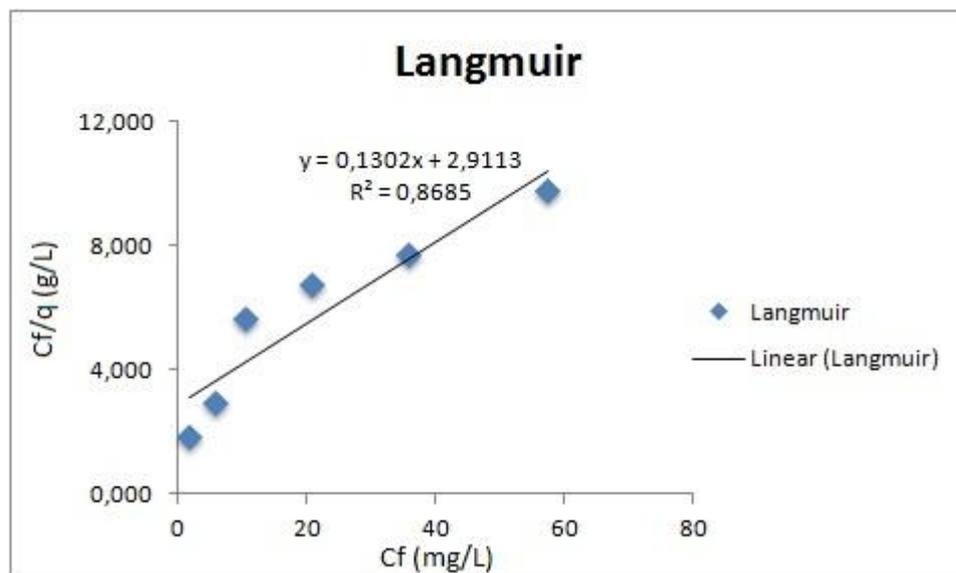


Figura 36 - Aplicação da equação de Langmuir para a biossorção de Ni(II) por *R. ruber*.

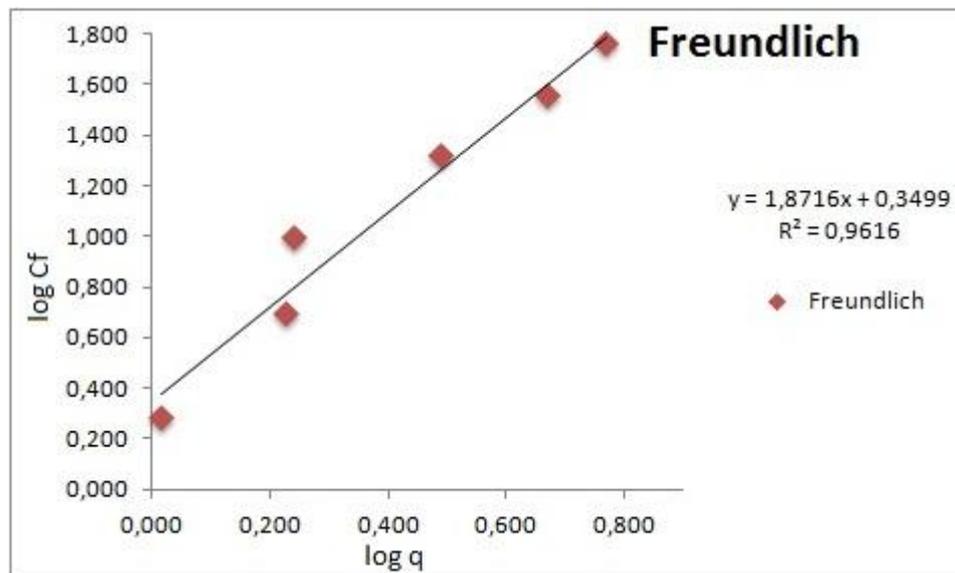


Figura 37 - Aplicação da equação de Freundlich para a biossorção de Ni(II) por *R. ruber*.

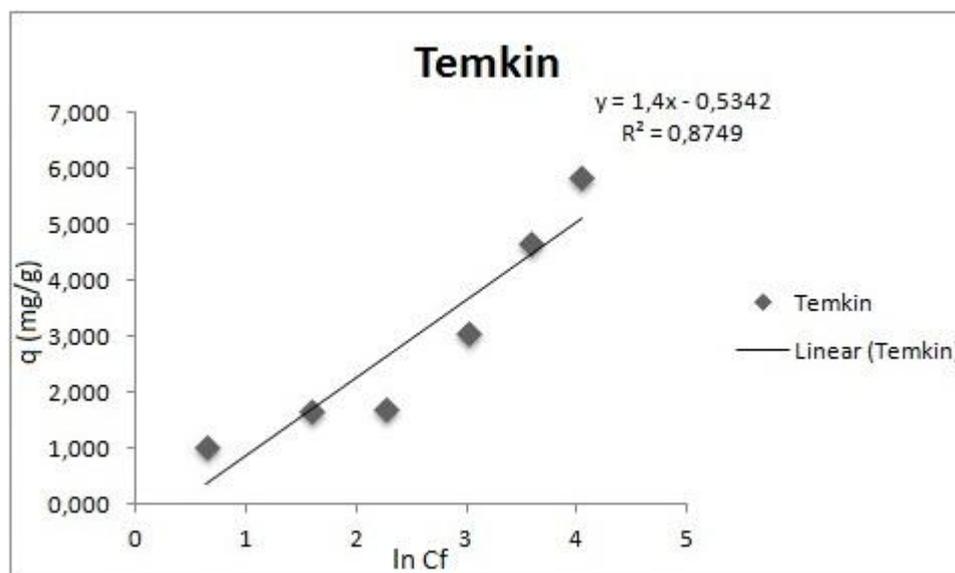


Figura 38 - Aplicação da equação de Tenkim para a biossorção de Ni(II) por *R. ruber*.

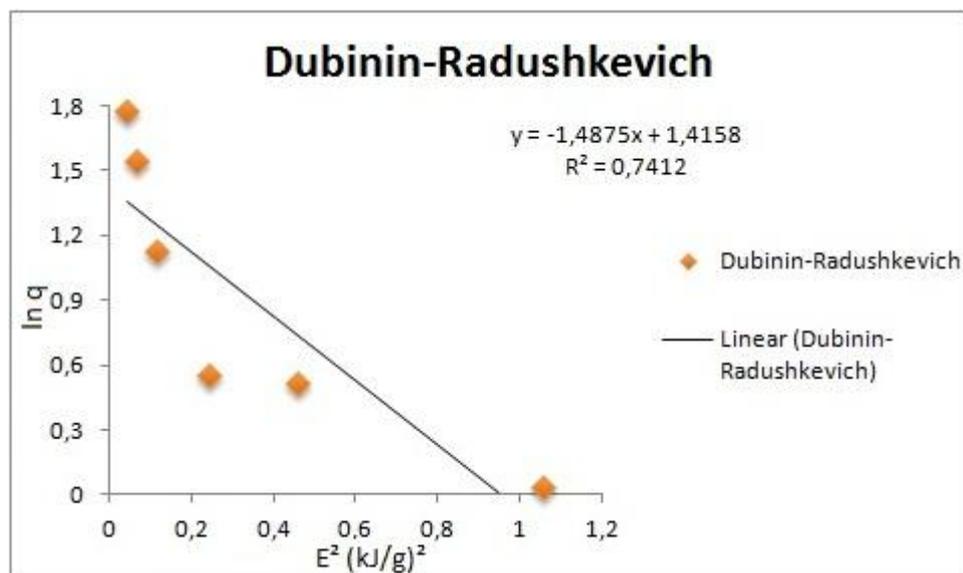


Figura 39 - Aplicação da equação de Dubinin-Radushkevich para a biossorção de Ni(II) por *R. ruber*.

Os melhores ajustes para os dois metais Co(II) e Ni(II) foram obtidos com as isotermas de Freundlich, onde foram obtidos R^2 , respectivamente, de 0,9608 e 0,9616.

A Tabela 9 demonstra alguns dados comparativos encontrados na literatura com referências às isotermas de adsorção, metal e material biossorvente.

Tabela 9 - Processo de biossorção relacionando diferentes biossorbentes, condições de pH e temperatura; e ajustes da isoterma de Freundlich.

Biossorvente	Adsorbato	Condições operacionais		R ²	Referência
		pH	Temperatura (°C)		
<i>Cassia fistula</i>	Ni(II)	6,0	30	0,789	Hanif <i>et al.</i> (2007)
Casca de caranguejo	Co(II)	6,0	-	0,979	Vijayaraghavan <i>et al.</i> (2006)
Lodo seco ativado	Ni(II)	4,5	-	0,994	Aksu <i>et al.</i> (2002)
Resíduos de biomassa de rosas	Co(II)	6,0	-	0,923	Javed <i>et al.</i> (2007)
Resíduos de indústria de chá	Ni(II)	4,0	45	0,968	Malkoc & Nuhoglu (2005)
Alginato de cálcio	Ni(II)	5,0	-	0,986	Vijaya <i>et al.</i> (2008)
<i>Myriophyllum spicatum</i> L.	Co(II)	-	20	0,760	Lesage <i>et al.</i> (2008)
Concha de arca pré-tratada	Co(II) Ni(II)	-	-	0,921 0,725	Dahiya & Tripathi (2008)

Fonte: Febrianto *et al.* (2009).

5.5.9.

Biossorção de Co(II) em Diferentes Condições Experimentais em Relação ao Biossorvente

Nesta etapa, foram realizados ensaios para testar resposta da biossorção de Co(II) sob diferentes condições experimentais em relação ao número de adições de biossorvente ao sistema e influência do tratamento prévio da biomassa com NaOH ao processo de biossorção. A Figura 40 demonstra os dados de remoção (R) e de captação (q) de Co(II) pelo biossorvente *R. ruber* em diferentes condições experimentais conforme apresentadas a seguir:

Sem tratamento prévio da biomassa com NaOH e com adição única do bioissorvente ou com somente uma passagem de biomassa pela solução metálica (1 ciclo);

Sem tratamento prévio da biomassa com NaOH e com adição dupla de bioissorvente ou com 2 passagens de biomassa pela solução metálica (2 ciclos);

Sem tratamento prévio da biomassa com NaOH e adição tripla de bioissorvente ou com 3 passagens de biomassa pela solução metálica (3 ciclos);

Com tratamento prévio da biomassa com NaOH e adição única de bioissorvente.

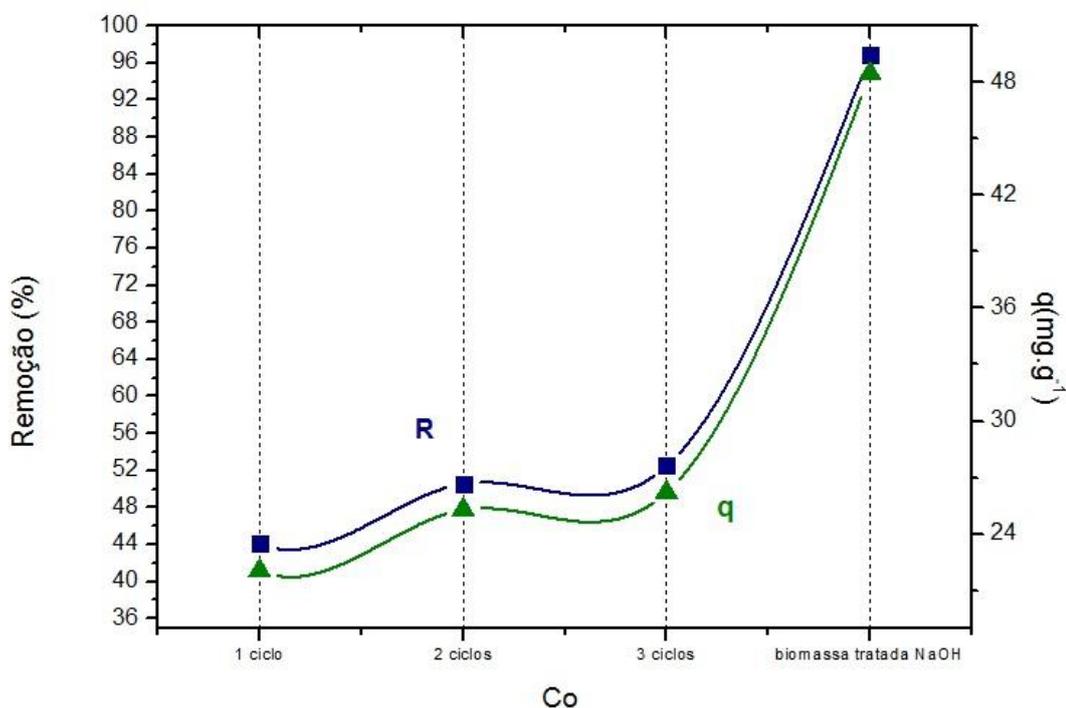


Figura 40 - Remoção e Captação de Co(II) por *R. ruber* no processo de bioissorção em diferentes situações experimentais (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Concentração Inicial do Metal de 30 mg.L⁻¹, Tempo de Contato 30 de minutos e Velocidade de Agitação: 125 rpm).

Foram comparados através dos melhores parâmetros de bioissorção obtidos ao longo dos experimentos em batelada de soluções aquosas contendo Co(II) por *R. ruber*.

Nos resultados apresentados na Figura 40, *R. ruber* na situação 1 (não tratada com NaOH e com adição única de bioissorvente) apresentou remoção na ordem de 44 % e uma capturação de 22 mg.g⁻¹. Na situação 2, quando além da primeira massa de adsorvente é acrescentada uma nova quantidade de biomassa, a remoção de Co(II) observada foi de 50,6 % e a capturação de

25,3 mg.g⁻¹. Na terceira situação, onde ocorre adição de biosorvente sem tratamento com NaOH, por 3 vezes durante o processo, foram obtidos resultados de 52,5 % de remoção e de 26,2 mg.de metal g⁻¹ de captação.

É possível observar que houve pouco aumento da remoção de Co(II) ao se processar a bioissorção com adição de mais biosorvente ao sobrenadante na solução metálica. Neste caso esperava-se que os sítios ativos das células estando disponíveis e o volume de íons metálicos sendo menor do que o inicial, a soma do percentual de remoção pelas duas biomassas acrescentadas fosse proporcionalmente maior. Mas este fato não se confirmou, não existindo uma explicação quimicamente plausível para determinado evento.

Já no caso onde houve tratamento da bactéria *R. ruber* com NaOH antes de seu contato com a solução metálica, o percentual de remoção de Co(II) atingiu valor próximo a 97 % e a com captação de Co(II) foi de 48,46 mg.g⁻¹, mostrando ser este resultado o mais interessante e promissor em termos de utilização do biosorvente na remoção de solução aquosas contendo Co(II).

O resultado obtido com o tratamento prévio da biomassa com NaOH é promissor quando comparado com a bioissorção com adição de biomassa em série, porque, além de resultar em valores de remoção do Co(II) muito superiores, necessita de somente uma etapa para a quase total remoção do metal e conclusão do processo. O único entrave no processo seria o tratamento do biosorvente com NaOH ser considerado como um custo financeiro e tempo adicionais ao considerarmos a bioissorção em escala piloto no tratamento de efluentes. Em contrapartida, o custo e o tempo seriam compensados com um incremento de remoção significativo e o menor gasto com a biomassa.

Silva (2010), trabalhando com a concentração inicial de Co(II) de 5mg.L⁻¹ obteve resultados semelhantes, de 97% de remoção desse metal de soluções aquosas com *R. opacus* tratada com NaOH como biosorvente.

A maior taxa de remoção de Co(II) por *R. ruber* se deu pelo aumento na eletronegatividade da parede da bactéria conferida pela ação do agente químico (NaOH). Segundo Pal *et al.* (1998) o tratamento com NaOH a 0,1N promove facilmente a troca iônica dos sítios preenchidos com Na⁺ pelo Fe⁺³, metal utilizado em seu trabalho, quando existe protonação dos sítios ativos. Em seu trabalho sobre captação de Co(II) por *Ascophyllum nodosum*, Kuyucak & Volesky (1989) observaram uma maior captação do metal quando K⁺ foi usado como metal de competição. Eles discutem que, em alguns casos, a competição entre metais de mesma carga, favorece a bioissorção ou troca iônica.

5.5.10. Biossorção de Ni(II) em Diferentes Condições Experimentais em Relação ao Biossorvente

Nesta etapa, foram realizados ensaios para testar resposta da biossorção de Ni(II) sob diferentes condições experimentais em relação ao número de adições de biossorvente ao sistema e influência do tratamento prévio da biomassa com NaOH ao processo de biossorção. A Figura 41 demonstra os dados de remoção (R) e de captação (q) de Ni(II) pelo biossorvente *R. ruber* em diferentes condições experimentais conforme apresentadas a seguir:

Sem tratamento prévio da biomassa com NaOH e com adição única do biossorvente ou com somente uma passagem de biomassa pela solução metálica (1 ciclo);

Sem tratamento prévio da biomassa com NaOH e com adição dupla de biossorvente ou com 2 passagens de biomassa pela solução metálica (2 ciclos) ;

Sem tratamento prévio da biomassa com NaOH e adição tripla de biossorvente ou com 3 passagens de biomassa pela solução metálica (3 ciclos);

Com tratamento prévio da biomassa com NaOH e adição única de biossorvente.

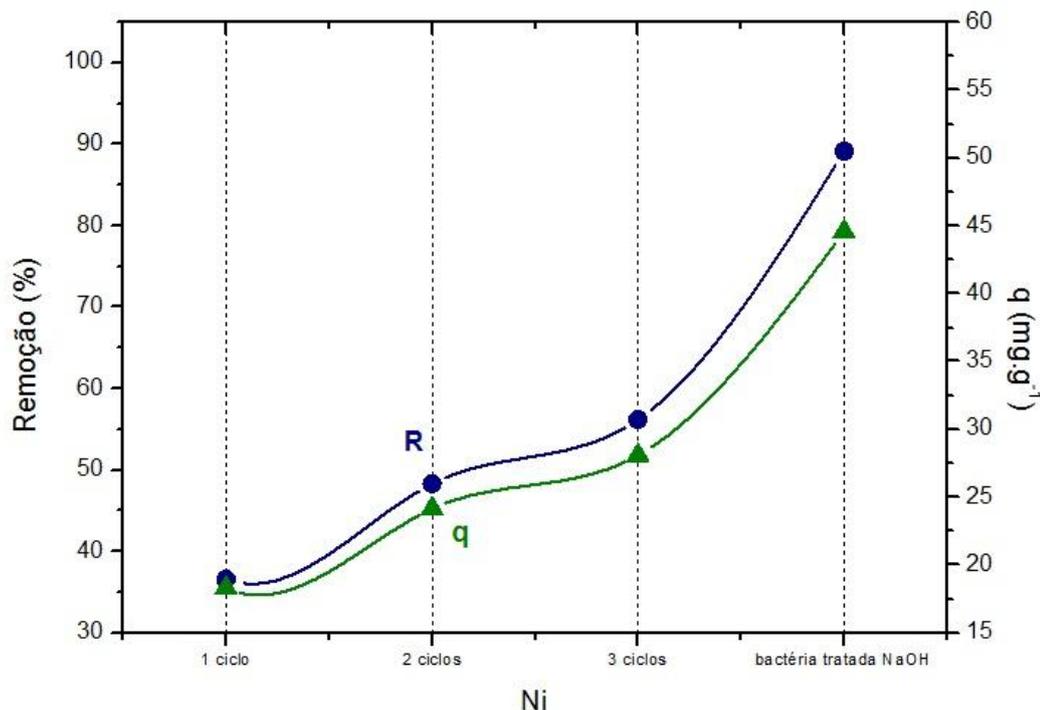


Figura 41 - Remoção e Captação de Ni(II) por *R. ruber* no processo de biossorção em diferentes condições experimentais, conforme descrito nos itens 1 a 4 apresentados (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Concentração Inicial do Metal de 30 mg.L⁻¹, Tempo de Contato de 30 minutos e Velocidade de Agitação: 125 rpm).

Os resultados alcançados com a adição única da biomassa não tratada previamente com NaOH à solução de metal foram de 36,6% de remoção e para a captação do Ni(II), de 18,3 mg.g⁻¹.

Na situação onde, além da primeira massa de adsorvente é acrescentada uma nova quantidade de biomassa, a remoção de Ni(II) observada foi de 40,3% e a captação de 24,2 mg.g⁻¹. Na terceira situação, onde ocorre adição de biossorvente sem tratamento com NaOH, por 3 vezes durante o processo, foram obtidos resultados de 56,2% de remoção e de 28,1 mg.g⁻¹ de captação do metal.

Quando foi acrescentada à solução metálica uma única leva de biossorvente tratado com NaOH, o percentual de remoção de Ni(II) aumentou muito, para 89,2% e a captação do metal foi de 44,6 mg.g⁻¹., resultados também promissores como aqueles obtidos nos experimentos com cobalto.

Este resultado com tratamento por NaOH de *R. ruber* foi semelhante ao obtido por Cayllahua *et al.* (2009). Neste trabalho foi obtido 92% de remoção do metal. Entretanto, para fins comparativos, os autores usaram *R. opacus* como sorvente em uma dosagem de 5 mg. L⁻¹, muito acima da utilizada nesta dissertação e uma dosagem mais baixa de metal, de 5 mg. L⁻¹

Sabe-se, entretanto, que a quantidade de biossorvente, a quantidade de metal envolvido no processo entre outros fatores influenciam diretamente na biossorção (Faroq *et al.*, 2010).

5.5.11. Biossorção em Sistemas Binários Co(II) e Ni(II) em Diferentes Condições Experimentais em Relação ao Biossorvente

A Figura 42 demonstra os resultados obtidos em sistema de competição binária entre os íons metálicos Co(II) e Ni(II) contidos em soluções aquosas mediado por *R. ruber*.

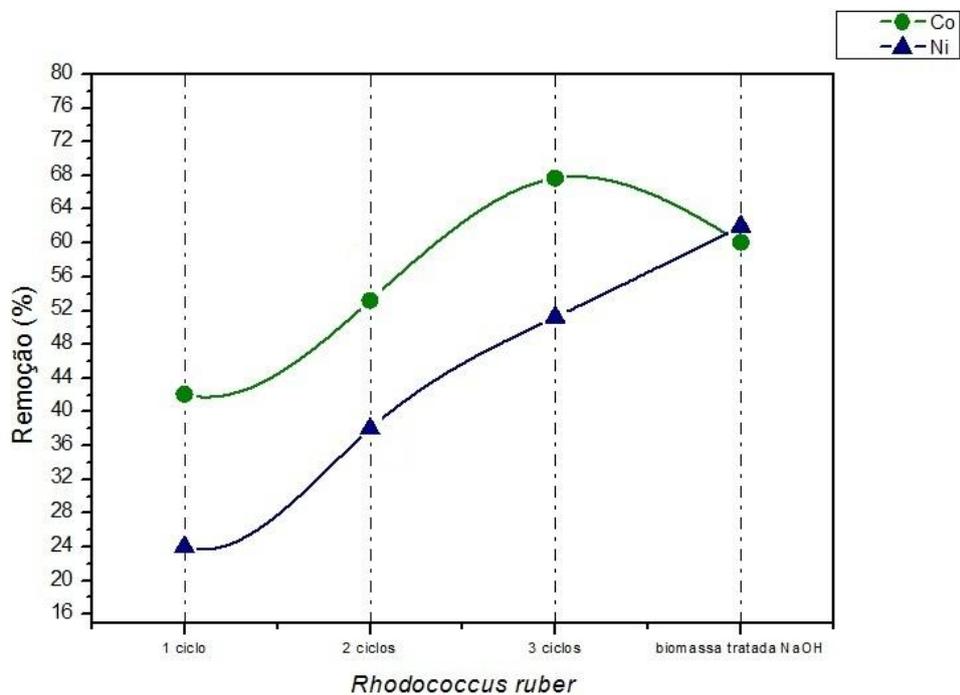


Figura 42 - Remoção e Captação de Co(II) e Ni(II), em sistema binário de competição, por *R. ruber* no processo de biossorção em diferentes condições experimentais de biomassa e tratamento com NaOH (pH: 6,0; Concentração da Biomassa 3 g.L⁻¹; Concentração Inicial do Metal de 30 mg.L⁻¹, Tempo de Contato de 30 minutos e Velocidade de Agitação: 125 rpm).

Uma solução única contendo os íons de Co(II) e Ni(II) foi preparada para testar a preferência da biomassa por um dos metais em estudo. Segundo a figura 42, adição única de bactéria não tratada com NaOH como biossorvente nesta solução, resultou em 42,1 % de remoção para íons de Co(II) e em 24 % de remoção para íons de Ni(II).

Quando à biomassa é acrescida mais uma nova biomassa de *R. ruber*, foi possível observar uma remoção de 53,2 % para o Co(II) e de 38% para o Ni(II). Já na situação experimental onde foram adicionadas mais duas novas biomassas, os valores de remoção dos metais apresentados de 67,6 % para o Co(II) e de 51,2 % para o Ni(II).

No caso da bactéria tratada previamente com NaOH, no sistema binário contendo Co(II) e Ni(II), foram obtidos os respectivos resultados de remoção de 60,1 % e 62 %, inferiores aos valores encontrados para os dois metais isoladamente.

Em situações de tratamento de efluentes reais comumente encontramos duas ou demais espécies metálicas e também outros poluentes de natureza orgânica. Esse cenário pode afetar e modificar a captação de íons metálicos através do processo de bioissorção. Comparando-se o sistema com mais de um metal, com aquele com somente uma espécie metálica, o primeiro irá apresentar, por parte do bioissorvente, uma tendência à ocupação dos sítios ativos preferencialmente por uma das espécies metálicas.

O estudo dessa competição pela bioissorção, em ambientes contendo mais de um metal, demanda a análise da especiação metálica, das concentrações dos metais e da natureza e concentração do bioissorvente (Bueno, 2007, Mimura *et al.*, 2010).

Em relação comparativa entre o Co(II) em condições experimentais paramétricas e o comportamento do Co(II) em mistura com o Ni(II) fica evidente uma remoção mais elevada quando o metal encontra-se sozinho em solução (remoção de ~97%) enquanto que na mistura é de 60,1%.

No caso da comparação entre o Ni(II) em solução nas condições paramétricas experimentais e o Ni(II) encontrado em solução adicionada mais o Co(II) o mesmo comportamento é observado, onde a remoção é de aproximadamente 89% e 62% respectivamente.

É bom levar em consideração o fato de que, quando os metais estão em mistura Co(II) e Ni(II), a solução encontra-se mais saturada e por íons metálicos diferentes, evento que pode explicar os maiores valores percentuais de remoção obtidos quando os metais encontram-se sozinhos em solução.

Sendo comparados os metais Co(II) e Ni(II) em soluções separadas nas condições experimentais paramétricas e nas soluções em mistura com o Co(II) e Ni(II), as curvas apresentam a mesma tendência nos tratamentos bactéria não tratada com NaOH, com adição de mais uma nova biomassa e com adição de

mais 2 novas biomassas, ficando bem claro que os metais quando não se encontram em mistura apresentam maiores valores de remoção.

No caso do tratamento da biomassa com NaOH e sua comparação dos metais em condições paramétricas e em mistura de Co(II) e Ni(II), observa-se uma maior diferenciação em relação às outras condições experimentais, em termos de remoção, quando o metal se encontra sozinho em solução frente a mistura entre eles.