

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE
MESTRADO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

**BIOSSORÇÃO ATIVA DE SELÊNIO POR *Saccharomyces cerevisiae* E
BIOSSORÇÃO INATIVA POR LEVEDURAS RESIDUAL DE INDÚSTRIA
CERVEJEIRA**

AIESKA ALVES GONÇALVES

JOINVILLE

2019

AIESKA ALVES GONÇALVES

**BIOSSORÇÃO ATIVA DE SELÊNIO POR *Saccharomyces cerevisiae* E
BIOSSORÇÃO INATIVA POR LEVEDURAS RESIDUAL DE INDÚSTRIA
CERVEJEIRA**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos, na Universidade da Região de Joinville.

Orientador: Prof. Dr Ozair Souza

Coorientador (a): Prof^a. Dra Elisabeth Wisbeck

JOINVILLE

2019

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

G635b Gonçalves, Aieska Alves
Biossorção ativa de selênio por *Saccharomyces cerevisiae* e biossorção inativa por leveduras residual de indústria cervejeira/ Aieska Alves Gonçalves; orientador Dr. Ozair Souza, coorientadora Dra. Elisabeth Wisbeck. – Joinville: UNIVILLE, 2019.

72 p.: il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos – Universidade da Região de Joinville)

1. Biossorção. 2. Resíduos industriais. 3. Selênio. 4. *Saccharomyces cerevisiae*. I. Souza, Ozair (orient.). II. Wisbeck, Elisabeth (coorient.). III. Título.

CDD 628.4

Termo de Aprovação

“Biossorção ativa de selênio por *Saccharomyces cerevisiae* e biossorção inativa por leveduras residual de indústria cervejeira”

por

Aieska Alves Gonçalves

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestra em Engenharia de Processos, área de concentração Engenharia de Processos e Tecnologias Limpas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos.



Prof. Dr. Ozair Souza
Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Elisabeth Wisbeck
Coorientadora (UNIVILLE)



Prof. Dr. Ozair Souza
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos (UNIVILLE)

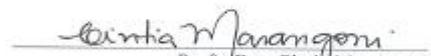
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Ozair Souza
Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Elisabeth Wisbeck
Coorientadora (UNIVILLE)



Profa. Dra. Cintia Marangoni
(UFSC)



Profa. Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider
(UNIVILLE)

Joinville, 28 de junho de 2019.

“Os únicos limites das nossas realizações de amanhã são as nossas dúvidas e hesitações de hoje”

(Franklin Roosevelt)

AGRADECIMENTOS

A minha família por estar ao meu lado e dar o devido suporte durante a realização dos estudos.

Aos meus amigos por entenderem minhas ausências e estarem ao meu lado.

Aos amigos e companheiros de estudo do Projeto Selênio, Fernando Zator, Haíra Hackbarth, Samara Hofmã, Letícia Vieira Aimi e Luana Priscila Just.

Ao meu Coordenador Edmar Gonçalves por permitir minhas ausências e entender minhas necessidades durante a finalização deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho por todo o suporte dado.

Especialmente, gostaria de agradecer meu Orientador Professor Dr. Ozair Souza por toda troca de conhecimento, suporte e paciência durante a realização deste estudo.

A Professora Dra. Elisabeth Wisbeck pelo suporte dado e por todo o conhecimento compartilhado para a realização deste estudo.

A Incasa, e os colaboradores participantes do Projeto Selênio, por permitirem a realização destes estudos e realização das análises necessárias.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO	13
1 OBJETIVOS.....	15
1.1. Objetivo Geral	15
1.2. Objetivos Específicos	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1. Selênio	16
2.2. Biossorção.....	19
2.2.1 Biossorção ativa	22
2.2.2 Biossorção inativa	23
2.2.3 Mecanismos de biossorção	24
2.3 Biossorventes.....	25
2.4 Leveduras como biossorventes.....	26
3 METODOLOGIA	28
3.1. Ensaios de biossorção	28
3.1.1 Preparação da solução estoque de selênio.....	28
3.1.2 Coleta e caracterização do efluente de indústria química	28
3.1.3 Coleta e caracterização do efluente de indústria cervejeira	29
3.1.4 Ensaios de biossorção ativa.....	30
3.1.4.1 Manutenção dos micro-organismos.....	31
3.1.4.2 Inóculo.....	32
3.1.5 Biossorção inativa	32
3.1.5.1 Preparo do biossorvente úmido.....	32
3.1.5.2 Preparo do biossorvente seco.....	33
3.1.5.3 Ensaios de biossorção inativa	34
3.2 Amostragem dos ensaios de biossorção e metodologia analítica	36
3.2.1 Determinação da concentração de selênio total.....	37
3.2.2 Determinação de açúcares redutores	37

3.2.3 Determinação da concentração celular	38
3.3 Determinação da eficiência e capacidade microbiana	38
3.4 Análise estatística	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 Caracterização do efluente de indústria química.....	40
4.2 Caracterização do efluente de indústria cervejeira.....	40
4.3 Ensaio de biossorção ativa.....	41
4.4 Biossorção inativa	48
4.4.1 Caracterização do biossorvente seco.....	48
4.4.2 Ensaio de biossorção inativa	53
5 CONCLUSÕES	64
6 SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO.....	66
7 REFERÊNCIAS.....	67
APÊNDICE A.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama esquemático do ciclo global de selênio e transporte no meio ambiente...	17
Figura 2 - Ensaio de bioabsorção ativa com duas linhagens de <i>S. cerevisiae</i> : 1) ATCC 26603, 2) Univille 9080.	31
Figura 3 - Valores médios da concentração de açúcares redutores (AR) e massa seca celular (X) com respectivos desvios padrões e respectivos perfis cinéticos obtidos na fermentação de meio sintético GY sem selênio por: (a) <i>S. cerevisiae</i> ATCC 26603 (Ensaio B0-1), (b) <i>S. cerevisiae</i> Univille 9080 (Ensaio B0-2).....	42
Figura 4 - Valores médios da concentração de açúcares redutores (AR) e massa seca celular (X) com respectivos desvios padrões, valores da concentração de selênio total (Se) e respectivos perfis cinéticos obtidos na fermentação de meio sintético GY com selenito de sódio comercial por: (a) <i>S. cerevisiae</i> ATCC 26603 (Ensaio BSS-1), (b) <i>S. cerevisiae</i> Univille 9080 (Ensaio BSS-B2).....	43
Figura 5 - Valores médios da concentração de açúcares redutores (AR), massa celular seca (X) e concentração de selênio (Se) com respectivos desvios padrões e perfil cinético do consumo de AR e bioabsorção de selênio obtidos nas duplicatas dos ensaios de bioabsorção de selênio em meio GY contendo efluente industrial por: (a) <i>S. cerevisiae</i> ATCC 26603 (Ensaio BEI-1), (b) <i>S. cerevisiae</i> Univille 9080 (Ensaio BEI-2).....	44
Figura 6 - Biomassa microbiana (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) submetida à secagem em estufa (a) e trituração (b).	48
Figura 7 - Micrografias da biomassa microbiana de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> obtidas por MEV: biomassa sem pré-tratamento com etanol (a) e com pré-tratamento em etanol (b). Imagem aumentada 800 vezes (a.1 e b.1) e 3.000 vezes (a.2 e b.2)	50
Figura 8 - Morfologia celular da biomassa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> úmida (a), seca e sem pré-tratamento com etanol (b) e seca após pré-tratamento com etanol (c). Imagens obtidas por microscopia óptica com aumento de 400 vezes.....	52
Figura 9 - Valores médios com desvio padrão da eficiência de bioabsorção (R) de selênio (A) por biomassa microbiana (B) seca (BS) e úmida (BU), após 48 h de tempo de contato sorvato/bioabsorvente. Letras iguais representam médias sem diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$)..	54
Figura 10 - Valores médios de capacidade microbiana de bioabsorção (Y) com desvio padrão obtidos nos ensaios de bioabsorção de selênio em solução sintética com bioabsorvente úmido (BU) e com bioabsorvente seco (BS). Letras iguais representam médias sem diferença significativa pelo teste F ($p < 0,05$).	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ensaio de bioadsorção de selênio (soro A) por leveduras residuais de indústria cervejeira (bioadsorvente B).	35
Tabela 2 - Ensaio de bioadsorção de selênio (soro - efluente industrial) por leveduras residuais de indústria cervejeira (bioadsorvente úmido, B).	36
Tabela 3 - Eficiência (R%) e capacidade (Y) de bioadsorção de selênio por (1) <i>S. cerevisiae</i> ATCC 26603 e (2) <i>S. cerevisiae</i> Univille 9080 cultivadas em meio de cultura contendo selenito de sódio comercial (BSS) ou selenito de sódio dissolvido em efluente de indústria química (BEI), com tempos de reação de 24 h e 120 h: Ensaio de bioadsorção ativa.	46
Tabela 4 - Concentrações médias de selênio total, com desvio padrão, determinadas no início (Se_0) e no final (Se_f) dos ensaios de bioadsorção inativa com <i>S. cerevisiae</i> residual de indústria cervejeira na sua forma de bioadsorvente úmido (BU) e bioadsorvente seco (BS). Tempo de contato bioadsorvente/soro: 48 h.	53
Tabela 5 - Concentrações de selênio (A) dissolvidos em efluente de indústria química observadas no início (Se_0) e no final (Se_f) dos ensaios de bioadsorção inativa por bioadsorvente (B) úmido de efluente de indústria cervejeira em diferentes valores de pH inicial; e respectivos valores de eficiências de bioadsorção (R) e capacidades microbianas de bioadsorção (Y). Tempo de contato soro/bioadsorvente de 48h.....	60
Tabela 6 - Classificação granulométrica do bioadsorvente seco tratado com etanol.....	74

RESUMO

O aumento das atividades industriais intensificou a geração de águas residuais com diversos contaminantes, dentre eles, compostos de selênio em diferentes estados de oxidação. A biossorção de íons de selênio (Se, sorvato) por biossorventes microbianos tem sido considerada uma alternativa bastante atrativa, com destaque para *Saccharomyces cerevisiae*. Essa biomassa vem sendo citada como de fácil obtenção em cultivos microbianos já estabelecidos e de grande disponibilidade em descartes de indústrias cervejeiras. No presente trabalho, foram avaliadas as potencialidades de biossorção de Se (Na_2SeO_3 dissolvido em água pura e presente em efluente de indústria química) por duas cepas de *S. cerevisiae* (floculante e não-floculante), empregando o processo de biossorção ativo (biossorção em cultivo microbiano); e por uma terceira, obtida de biomassa residual de indústria cervejeira, em processo de biossorção inativo (uso de células mortas). Todos os ensaios foram realizados em frascos de Erlenmeyer de 500 mL contendo 200 mL de meio reacional e conduzidos a 30 °C com frequência de agitação de 120 min⁻¹, durante 48 h. Diferentes concentrações de biossorvente (2,0 a 52,5 g/L) e sorvato (7,5 a 15,0 mg/L) foram avaliadas. Nos ensaios de biossorção inativa, foram utilizadas biomassas no estado úmido, como coletadas na indústria cervejeira, e no estado seco (com pré-tratamento químico com etanol). A maior eficiência (R = 97,52%) de biossorção de Se com capacidade microbiana de biossorção de Y = 1,19 mg/g, foi observada ao empregar o processo de biossorção inativo, com biossorvente úmido e solução de selenito de sódio comercial como sorvato. O mesmo tipo de biossorvente apresentou maior eficiência para o tratamento do efluente de indústria química (R = 83,30%), porém com uma capacidade de biossorção (Y = 0,12 mg/g) da ordem de 90% menor daquela com selenito comercial. A menor concentração de Se atingida nesse efluente, após tratamento, foi de 3,9 mg/L; e mesmo com uma destacada eficiência na biossorção, não foi possível atender à legislação nacional (Se = 0,30 mg/L, resolução CONAMA 430 de 2011) para o descarte desse material em corpos hídricos receptores. O uso do biossorvente úmido, resíduo proveniente da indústria cervejeira, combinado com resíduos agrícolas ou agroindustriais (biomassa vegetal) parece ser uma boa alternativa para continuidade deste estudo. Preferencialmente, o objetivo deve ser reduzir Se para concentrações inferiores à 0,02 mg/L, atendendo assim, não só a legislação do País, mas, também, a legislação de Santa Catarina (Decreto N° 14.250 de 1981), Estado onde se localiza a empresa química geradora do efluente empregado neste trabalho.

Palavras-chave: Selênio, Biossorção, Biomassa, Biossorvente, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

The increase of the industrial activities intensified the generation of waste water with several contaminants, among them, composed of selenium in different states of oxidation. The biosorption of selenium ions (Se, sorbent) by microbial biosorbents has been considered a very attractive alternative, especially *Saccharomyces cerevisiae*. This biomass has been cited as easily obtainable in microbial cultures already established and of great availability in discards of breweries. In the present work, the biosorption potential of Se (Na_2SeO_3 dissolved in pure water and present in the chemical industry effluent) was evaluated by two strains of *S. cerevisiae* (flocculant and non-flocculant), using the active biosorption process microbial culture); and by a third one, obtained from residual biomass from the brewing industry, in the process of inactive biosorption (use of dead cells). All experiments were performed in 500 mL Erlenmeyer flasks containing 200 mL of reaction medium and conducted at 30 ° C with shaking frequency of 120 min^{-1} for 48 h. Different concentrations of biosorbent (2.0 to 52.5 g /L) and sorbent (7.5 to 15.0 mg /L) were evaluated. In the inactive biosorption assays, biomass was used in the wet state, as collected in the brewing industry, and in the dry state (with chemical pretreatment with ethanol). The higher efficiency ($R = 97.52\%$) of Se biosorption with microbial capacity of biosorption of $Y = 1.19 \text{ mg/g}$, was observed when using the biosorption process inactive, with wet biosorbent and commercial sodium selenite solution like sorbent. The same type of biosorbent presented higher efficiency for the treatment of chemical effluent ($R = 83.30\%$), but with a biosorption capacity ($Y = 0.12 \text{ mg/g}$) of the order of 90% lower than that with selenite commercial. The lowest Se concentration reached in this effluent, after treatment, was 3.9 mg/L; and even with a high efficiency in biosorption, it was not possible to comply with the national legislation ($\text{Se} = 0.30 \text{ mg / L}$, resolution CONAMA 430 of 2011) for the disposal of this material in receiving water bodies. The use of biosorbent moist, residue from the brewing industry, combined with agricultural or agroindustrial residues (vegetal biomass) seems to be a good alternative for the continuity of this study. Preferably, the objective should be to reduce if at concentrations below 0.02 mg/L, thus taking into account not only the legislation of the Country, but also the legislation of Santa Catarina (Decree No. 14.250 of 1981), State where locates the chemical company that generates the effluent used in this work.

Key words: *Selenium, Biosorption, Biomass, Biosorbent, Saccharomyces cerevisiae.*

1. INTRODUÇÃO

A crescente fiscalização dos órgãos governamentais em relação ao impacto ambiental negativo que pode ser causado por diferentes poluentes tem despertado o interesse no desenvolvimento e aplicação de técnicas, capazes de promover a remoção, contenção ou redução das suas concentrações para destinação final de resíduos sólidos e líquidos.

Os tratamentos convencionais usados para remover metais de efluentes industriais incluem: precipitação, coagulação, redução, processos com membranas, troca iônica e adsorção. Entretanto, a aplicação de tais processos normalmente apresenta elevado custo e restrição, uma vez que não podem garantir que a concentração dos metais esteja dentro dos limites requeridos pelos padrões regulatórios, estabelecidos pelos órgãos ambientais. Por este motivo, tem se buscado novas alternativas de tratamento, as quais sejam eficientes e mais baratas que os processos já utilizados. Uma boa proposta de tratamento para esses resíduos seria o processo de bioissorção, o qual consiste em adsorver os metais pesados encontrados nos efluentes através de materiais biológicos (BURATTO *et al.*, 2012).

A redução da concentração de diversos poluentes em efluentes industriais empregando métodos microbianos têm sido avaliados por diversos autores, como por exemplo, a bioissorção de zinco (PANKIEWICZ *et al.*, 2017), cobre (DI CAPRIO *et al.*, 2014), manganês (FADEL *et al.*, 2017), cádmio (VINOPAL *et al.*, 2007), cromo (BILLERBECK, 2013), arsênio (ACOSTA *et al.*, 2013), telúrio (RAJWADE & PAKNIKAR, 2003) e selênio (PÉREZ-CORONA *et al.*, 1997; SUHAJDA *et al.*, 2000; PONCE DE LEÓN *et al.*, 2002; ORABY *et al.*, 2015; KHAKPOUR *et al.*, 2014), dentre outros.

O selênio é conhecido como um elemento-traço essencial à vida para muitos organismos, inclusive para o homem; porém, por ser bioacumulativo, pode se tornar tóxico em concentrações maiores daquela tolerável pelos diferentes tipos de organismos (FOOD AND NUTRITION BOARD, 2000).

Compostos inorgânicos de selênio solúveis em água, principalmente selenito e selenato, apresentam alta toxicidade ao meio ambiente (SANTOS *et al.*, 2015). Várias águas residuais contendo selênio necessitam ser tratadas para reduzir o seu efeito tóxico e atender os limites legais impostos pelos órgãos de fiscalização para a sua descarga em corpos hídricos receptores.

O grupo de organismos capazes de contribuir com o tratamento de águas residuais para a redução da concentração de vários metais e de semi-metais por bioadsorção, incluem vários micro-organismos (bactérias, microalgas, fungos e leveduras) e alguns vegetais macroscópicos como algas, gramíneas, plantas aquáticas, etc. O interesse do uso desse tipo de processo para o tratamento de efluentes é comumente justificado por considerar a técnica de bioadsorção de baixo custo em comparação a outros tipos de tratamento, principalmente aqueles que necessitam de grandes quantidades de produtos químicos para tratar grandes volumes de efluentes (SCHNEIDER, 1995).

Saccharomyces cerevisiae tem sido investigada por vários autores na bioadsorção de diferentes tipos de poluentes tóxicos, dentre eles chumbo (GÖKSUNGUR *et al.*, 2005), cromo (PARK, 2005), cádmio (RIBEIRO, 2009), cobre (DI CAPRIO *et al.*, 2014), zinco (VINOPAL *et al.*, 2007), antimônio (MARCELLINO *et al.*, 2008), manganês (FADEL *et al.*, 2017) e selênio (PÉREZ-CORONA *et al.*, 1997; GHARIEB & GADD, 2004; KHAKPOUR *et al.*, 2014; PANKIEWICZ *et al.*, 2017).

Embora *S. cerevisiae* possa ser considerada um bioadsorvente inferior em comparação à capacidade de bioadsorção de algumas bactérias (WANG & CHEN, 2006), o seu emprego tem sido justificado devido às suas características peculiares. São mais fáceis de cultivar do que a maioria das bactérias e permitem altos rendimentos em biomassa; são amplamente utilizados em uma variedade de processos de fermentação industrial e, em consequência disto, possuem fácil aceitação pelos órgãos de fiscalização ambiental devido ao seu caráter biológico seguro, visto não serem associadas a patógenos (KHAKPOUR *et al.*, 2014).

Visando contribuir com o estudo do emprego de biomassa microbiana na bioadsorção de selênio, quimicamente um semi-metal, buscou-se avaliar, neste trabalho, a potencialidade do uso de *S. cerevisiae* como bioadsorvente, tanto na sua forma ativa (células vivas) quanto no estado inativo (células mortas). Duas linhagens comerciais do micro-organismo foram utilizadas na bioadsorção ativa e uma outra, obtida de descarte de indústria cervejeira, na bioadsorção inativa. Diferentes concentrações de biomassa (bioadsorvente) e selênio (sorbato) foram avaliadas.

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência do uso de diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na bioissorção de selênio e indicar, dentro das condições experimentais avaliadas, aquela de maior potencial para uso no tratamento de efluente industrial contendo até 30 mg/L de Se.

1.2 Objetivos Específicos

- a) Estabelecer a cinética de bioissorção ativa de íons Se provenientes de selenito de sódio comercial e de compostos de selênio dissolvidos em efluente de indústria química utilizando cultivo de duas linhagens comerciais de *S. cerevisiae* em meio de cultura definido e determinar a eficiência e capacidade de bioissorção em cada caso.
- b) Determinar a eficiência e capacidade de bioissorção nos ensaios de bioissorção inativa (uso de células mortas nas formas de biomassa úmida e de biomassa seca) de íons Se provenientes de selenito de sódio comercial e de compostos de selênio dissolvidos em efluente de indústria química utilizando biomassa (*S. cerevisiae*) descartada de indústria cervejeira.
- c) Comparar as eficiências e capacidades de bioissorção ativa com as de bioissorção inativa e indicar a de maior potencial para o tratamento de efluente de indústria química contendo até 30 mg/L de íons Se; bem como as concentrações de bioissorvente e sorvato mais adequados para o processo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Selênio

O selênio é um elemento não-metal, do grupo 6A, da família dos calcogênios. Pode ser encontrado na natureza em diversos estados de oxidação, incluindo selenato (SeO_4^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}), selênio elementar (Se^0) e seleneto (Se^{2-}). Em solos alcalinos bem arejados é comum o selênio aparecer na forma de selenato (SeO_4^{2-}), a qual é predominantemente absorvido pelas plantas. Em terras ácidas ou com pH próximo a neutralidade, o elemento frequentemente se apresenta como selenito, podendo estar fixado ao ferro (Fe) e formar complexos com a matéria orgânica (FARIA & KARP, 2015).

Quimicamente, selênio é classificado como semimetal, elemento que tem aparência e propriedades físicas de um metal, porém apresenta comportamento químico de um ametal. É semelhante ao enxofre em termos de propriedades químicas. Se (VI) e Se (IV) são os estados mais comuns em sistemas aquosos (HE *et al.*, 2018; ULLAH, 2018).

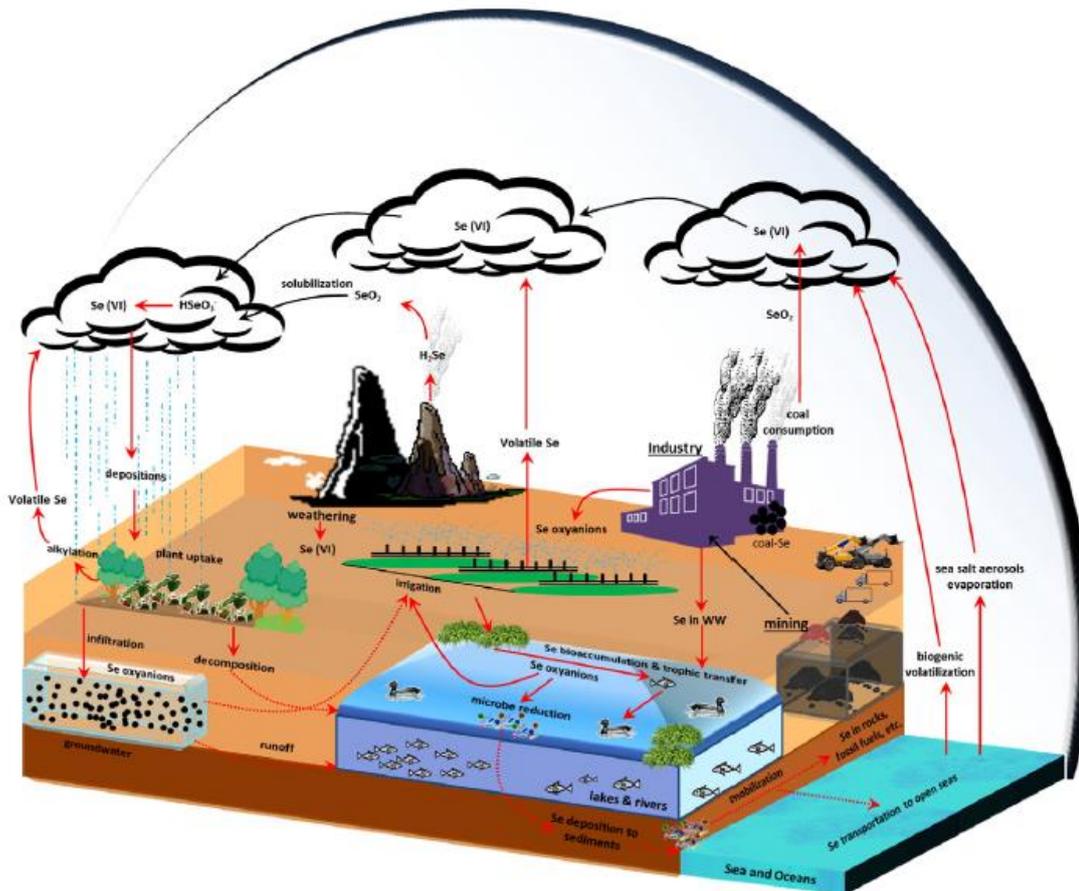
De acordo com a Selenium-Tellurium Development Association (STDA, 2007), 5% da demanda mundial de Se têm sido utilizada para fins biológicos e agrícolas pela incorporação, em quantidades-traço, na dieta humana como suplemento para controle de doenças, nos alimentos dos animais e produtos veterinários para prevenção de doenças em crescimento e nos fertilizantes, para correção de solos deficientes do elemento.

A produção global de selênio é estimada entre 2.500 e 2.800 toneladas por ano. Japão (551 toneladas), Canadá (384 t), Bélgica (200 t) e Alemanha (100 t) são os principais produtores (MEHDI *et al.*, 2013).

O selênio é liberado no meio ambiente a partir de fontes naturais e antropogênicas, e pode ser encontrado em praticamente todos os tipos de ambientes naturais, particularmente em locais geoquímicos como vulcões e vários tipos de rochas ígneas e sedimentares sujeitas a mineração. O ciclo biogeoquímico do selênio se desloca de rochas, sedimentos e solos para as águas, onde entra nas plantas, animais ou humanos através da cadeia alimentar. O ciclo de selênio torna-se completo através da atividade e degradação dos organismos, permitindo a incorporação de

selênio nos sedimentos e, finalmente, a depósitos de rochas. Assim, a distribuição de selênio no meio ambiente é afetada por uma variedade de processos físicos, químicos e biológicos. A figura 1 ilustra o ciclo do selênio e retrata a mobilização natural e antropológica do selênio para fontes de água (TAN *et al.*, 2016).

Figura 1 - Diagrama esquemático do ciclo global de selênio e transporte no meio ambiente.



Fonte: TAN *et al.*, 2016

Naturalmente, o Se pode ser encontrado em grandes quantidades em minérios, rochas sedimentares, combustíveis fósseis e solos de faixas vulcânicas. Fontes antropogênicas incluem produção industrial e agrícola, mineração, combustão de carvão, produção de inseticida, extração de metal, refino de petróleo, fabricação de vidro e fotocélulas (ULLAH *et al.*, 2018).

A abundância do selênio no meio ambiente é variável. Pode ser encontrado naturalmente na água, predominantemente como selenato (Se^{+6}) e em menor extensão como selenito (Se^{+4}). Como resultado de atividade biológica, pode também ser encontrado na forma de seleno-compostos organometilados. Em organismos

vivos, compostos como selenocistina (SeCys), selenometionina (SeMet), selenotionina e trimetilselênio (TMSel) podem ser encontrados (CRISPINO, 2005).

Na dieta humana, conforme destacam Gharieb & Gadd (2004), o selênio é adquirido a partir de fontes nutricionais como plantas, grãos, cereais, carnes e pães. O fermento de panificação, *Saccharomyces cerevisiae*, é citado pelos autores como bioacumulador e fonte nutricional de selênio.

A estreita faixa entre teores benéficos e tóxicos de Se, pode implicar em benefícios ou danos à saúde humana. Em humanos, o selênio tem um dos intervalos mais estreitos entre a deficiência dietética (<40 µg por dia) e os níveis tóxicos (>400 µg por dia) (LEVANDER apud WINKEL, 2012). A legislação brasileira estabelece na Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005), que a ingestão diária recomendada de selênio para adultos é de 34 µg.

O selênio desempenha um papel benéfico em muitas funções biológicas, como na síntese e manifestação das selenoproteínas, nas ações antioxidantes de organismos, no sistema imunológico e no processo metabólico da regulação dos hormônios tireoidianos (ULLAH *et al.*, 2018). Quando em excesso, foi verificado estar relacionado com a “doença da alcalinidade”, atualmente denominada de “selenosis” (NANCHARAI & LENS, 2015).

A “selenosis” pode resultar em várias doenças em seres humanos, principalmente relacionadas a doenças nervosas ou dérmicas, perda de cabelo, pele e unhas defeituosas, podendo ainda, causar paralisia (ULLAH *et al.*, 2018).

A toxicidade e a essencialidade do Se no meio ambiente dependem da sua concentração e estrutura química. Como regra geral, Corona *et al.* (1996) evidenciam que as espécies inorgânicas selenito e selenato são mais tóxicas que as espécies orgânicas e Se (IV) é mais tóxico do que Se (VI). No entanto, por ser bioacumulativo, a concentração de selênio pode aumentar ao longo da cadeia trófica. Os níveis específicos, representando ou não, uma ameaça aos seres humanos ou ao meio ambiente ainda não estão bem estabelecidos (SANTOS *et al.*, 2015).

De acordo com a US Environmental Protection Agency (EPA), a concentração de selênio total em efluente tratado não pode ultrapassar o limite de 5 µg/L. No Brasil, a Resolução nº 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (2011), Ministério do Meio Ambiente, a qual trata do lançamento de efluentes de qualquer fonte poluidora em corpo receptor, tem como padrão para o Se total a concentração

máxima de 0,30 mg/L. Entretanto, no Estado de Santa Catarina, o decreto 14.250 de 5 de Junho de 1981, que regulamente a Lei nº 5.793, limita esse valor em 0,02 mg/L.

Para atender a esses padrões, as águas residuais contaminadas com selênio (provenientes da indústria, escoamento agrícola ou mineração, dentre outros) requerem tratamentos adequados, a fim de minimizar o impacto ambiental negativo sobre os recursos hídricos naturais. A remoção de selênio de soluções aquosas pode ser complexa e cara, devido aos altos volumes gerados, baixas concentrações (poucos mg/L ou, frequentemente, na faixa de µg/L) e devido à variedade de tipos de Se existentes na água (SANTOS *et al.*, 2015).

2.2 Biossorção

Os métodos para remoção de íons metálicos da solução aquosa consistem principalmente em tecnologias físicas, químicas e biológicas. Tecnologias convencionais, tais como precipitação química, coagulação, extração por solventes, filtração por membranas, osmose reversa, estão sendo usadas para a remoção de íons de metais pesados de efluentes. Esses métodos tradicionais de remoção de metal apresentam uma certa desvantagem (remoção incompleta de metal, alta exigência de reagentes e energia, geração de lodo tóxico ou outros resíduos). A maioria desses métodos é frequentemente ineficaz ou caro quando a concentração de metais pesados é maior (10 - 100 mg / L) do que a concentração permissível inferior a 1 mg / L), o que requer um alto custo quando usados para descartar metais pesados de efluentes aquosos. O aumento da conscientização ambiental e das restrições legais impostas à descarga de efluentes são fatores importantes para o uso de tecnologias alternativas de baixo custo (ABBAS, *et al.*, 2014)

A biossorção pode ser definida como a remoção/ligação de substâncias desejadas de solução por material biológico. Essas substâncias podem ser orgânicas e inorgânicas e em formas solúveis ou insolúveis (GADD, 2009).

Segundo Febrianto *et al.* (2009), a biossorção é considerada um processo físico-químico rápido onde a taxa de remoção do sorvato é governada pelo tipo de biossorvente. Biossorção pode ser definida como um termo coletivo para um número de processos de acumulação passiva que, em qualquer caso particular, pode incluir troca iônica, coordenação, complexação, quelação, adsorção e micro precipitação.

Na literatura, as propriedades de bioadsorção de uma ampla gama de biomassas naturais têm sido geralmente testadas para o tratamento de águas residuais, especialmente quando a concentração do poluente é menor que 100 mg/L e onde o uso de outros métodos de tratamento são ineficazes e muito caros (MICHALAK *et al.*, 2013).

As vantagens do processo de bioadsorção em comparação a outros processos de tratamento de efluentes, como precipitação química, filtração com membranas e adsorção em carvão ativado e zeólitas, incluem baixo custo de operação, baixo custo de aquisição dos materiais, baixas quantidades de lodo gerado, alta eficiência para a adsorção de íons metálicos com possibilidade de recuperação de compostos de interesse e processo de simples operação (CHOJNACKA, 2019; GUPTA *et al.*, 2018; JOBBY *et al.*, 2018).

Biomateriais potenciais indicados como bioadsorventes de alta capacidade na redução de poluentes incluem resíduos vegetais da agricultura (DAÍ *et al.*, 2018), algas (GUPTA *et al.*, 2019) e diferentes espécies de micro-organismos (JOBBY *et al.*, 2018; HE *et al.*, 2018; VIJAYARAGHAVAN & BALASUBRAMANIAN, 2015).

A bioadsorção de sorvatos como terras raras, metais pesados, nitrogênio e fósforo, corantes, antibióticos, pesticidas, compostos aromáticos, óleo e gases tem sido avaliada por muitos pesquisadores (DAI *et al.*, 2018; GUPTA *et al.*, 2018; MICHALAK *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2008).

A bioadsorção é considerada eficiente e aplicável na remoção e recuperação de vários metais (ATKINSON *et al.*, 1998; VOLESKY & HOLAN, 1995). Para Wang e Chen (2008), grandes quantidades de metais podem ser acumuladas por uma variedade de processos dependentes e independentes do metabolismo do organismo biológico. A biomassa ativa ou inativa, bem como produtos celulares, como polissacarídeos podem ser usados para remoção de metais.

Ozer & Ozer (2003), explicam que a bioadsorção microbiana refere-se a diferentes modos de absorção de metal não ativo pela biomassa microbiana, onde o seqüestro do sorvato pelo bioadsorvente pode ocorrer por adsorção, troca iônica, coordenação e complexação, dentre outras formas de ligação.

Ribeiro (2009) evidencia que a bioadsorção é um importante componente no tratamento de efluentes e envolve o desenvolvimento de bioprocessos flexíveis, como a possibilidade de reutilização de biomassa industrial de cervejarias e destilarias, tornando este estudo atrativo.

As paredes celulares de biomassa, constituídas principalmente por polissacarídeos, proteínas e lipídios, oferecem vários grupos funcionais que podem se ligar a íons metálicos, como os grupos carboxilato, hidroxila, sulfato, fosfato e amino (GÖKSUNGUR *et al.*, 2005).

Barros (2006) explica que o processo de bio sorção envolve uma fase sólida (biossorvente ou sorvente) e uma fase líquida (normalmente aquosa) contendo uma espécie dissolvida (biossorvato ou sorvato), comumente íons metálicos. Este processo é contínuo, até que ocorra o equilíbrio entre a concentração do sorvato dissolvido na solução e a concentração do sorvato presente no biossorvente (concentração de equilíbrio ou final) promovida pela saturação do sorvato sobre o biossorvente.

Assim, o termo bio sorção pode descrever qualquer sistema, em que uma superfície sólida de uma matriz biológica, interage com um sorvato resultando na diminuição de sua concentração dissolvida em solução (GADD, 2009).

Para Ahalya *et al.* (2003) a estrutura complexa dos micro-organismos implica que existem muitas maneiras de o metal ser sorvido pela célula microbiana. Os mecanismos de bio sorção são diversos e não são totalmente compreendidos, podendo ser classificados de acordo com vários critérios. De acordo com a dependência do metabolismo das células, os mecanismos de bio sorção podem ser classificados em metabolismo-dependente e não-dependente; de acordo com o local onde o metal removido da solução é absorvido, a classificação é feita em acumulação extracelular, sorção na superfície celular e acúmulo intracelular.

Para Mack *et al.* (2007), o pH da solução contendo o sorvato é considerado um dos mais importantes fatores ambientais que afetam o processo de bio sorção.

Chojnacka (2010) cita, além do pH, outros fatores importantes na bio sorção, tais como, tipo e concentração do biossorvente e do sorvato, modo de bio sorção (por suspensão microbiana ou por biomassa imobilizada) e presença de outros cátions e ânions. Para o autor, o pH determina a protonação ou desprotonação dos sítios de ligação dos íons metálicos e influencia, assim, na disponibilidade de sítios para bio sorção. Em pH ácidos é possível liberar íons metálicos do local de ligação. Esta propriedade é usada para a recuperação de cátions metálicos e regeneração do biossorvente.

Segundo Wang (2006), a capacidade bio sortiva dos cátions metálicos aumenta com o aumento do pH do sistema de sorção. Por outro lado, um valor de pH

muito alto pode causar precipitação de complexos metálicos, por isso deve ser evitado durante o processo.

Um processo de bioissorção bem-sucedido requer a preparação de um bom bioissorvente. O processo começa com a seleção de vários tipos de biomassas. O pré-tratamento e a imobilização podem ser feitos para aumentar a eficiência da bioissorção do metal (ALLURI *et al.*, 2007).

Ao determinar a viabilidade para a aplicação de um determinado bioissorvente, a capacidade máxima do agente para sequestrar metais em sua superfície poderá contribuir, consideravelmente, para a redução do custo total do processo. A capacidade de bioissorção é definida como a unidade de massa de biomassa (ou volume de bioissorvente) necessária para reduzir uma unidade de massa do sorvato por ciclo de tratamento, que por sua vez determina a quantidade de lodo gerado para o descarte, bem como o custo e o tipo de transporte necessário. Mesmo que um bioissorvente possa ser adquirido sem custo de compra, como em biomassas residuais descartadas por indústrias de bebidas e de alimentos, o volume necessário para ser transportado pode tornar os custos do processo demasiadamente caros. Como em qualquer processo industrial, quanto mais próxima a fonte da matéria-prima (biomassa) for do ponto de aplicação, mais factível o processo se torna (ATKINSON, 1998).

2.2.1 Bioissorção ativa

Entende-se por bioissorção ativa como a sorção de desejadas substâncias de solução aquosa por organismos vivos. A bioissorção ativa está diretamente ligada ao metabolismo do bioissorvente (MICHALAK *et al.*, 2013).

Vários organismos vivos como vegetais, algas e micro-organismos, degradam metabolicamente diferentes poluentes orgânicos e podem absorver, transportar, complexar ou reduzir íons de metais, metalóides e radionuclídeos, transformando-os em compostos de menor impacto ambiental negativo (FOMINA & GADD, 2014).

No caso da biomassa ativa, a bioacumulação, processo pelo qual ocorre a remoção dos metais pesados dos efluentes, está direcionada ao sistema de defesa do micro-organismo, que reage na presença da espécie metálica tóxica. A interação entre o metal pesado e o micro-organismo se dá por meio do metabolismo do micro-organismo (BARROS *et al.*, 2017)

2.2.2 Biossorção inativa

A biossorção inativa é definida por Chojnacka & Mikulewicz (2019) como um processo de ligação de íons de solução aquosa a grupos funcionais químicos presentes na superfície da parede celular de biomassa inativa.

Para Abbas *et al.* (2014), a remoção de metal por células não vivas acontece principalmente por um processo passivo, que é independente do metabolismo e procede rapidamente por qualquer um ou por uma combinação de mecanismos de ligação, tais como complexação, troca iônica, adsorção física etc. O autor explica que o uso de materiais mortos tem destacadas vantagens em comparação ao uso de biomassa viva: não existe a necessidade de crescimento do micro-organismo descartando a necessidade de meios de cultivo e estes materiais estão, na maioria das vezes, disponíveis como resíduos ou subprodutos de diversas indústrias.

Segundo Goksungur *et al.* (2005), a biomassa inativa apresenta, ainda, a vantagem de poder ser armazenada ou usada por longos períodos à temperatura ambiente, sem que ocorra a perda da sua eficiência de biossorção.

De acordo com Brady *et al.* (1994), ao contrário de biomassa inativa, as células vivas são propensas aos efeitos tóxicos dos efluentes, o que pode resultar em morte celular e significativa redução da sua capacidade de biossorção durante o processo. Para os autores, cada biossorvente possui um conjunto único de propriedades de ligação de poluentes. Sendo assim, células inativas podem possuir parâmetros de acumulação de metal muito diferentes em comparação às células ativas.

O uso de biomassa inativa é uma alternativa preferencialmente empregada na maioria dos estudos relatados de remoção de metais, com vantagens resumidas como: ausência de limitações de toxicidade, ausência de requisitos para meios de crescimento e nutrientes na solução de alimentação, fácil absorção e recuperação de metais biossorvidos, fácil regeneração e reutilização de biomassa, possibilidade de fácil imobilização de células inativas e modelagem matemática mais fácil da absorção de metais (FOMINA & GADD, 2014).

2.2.3 Mecanismos de biossorção

Em geral, a biossorção pode ser dividida em mecanismos de sorção química e física. Mecanismos químicos incluem quelação, microprecipitação e microredução, enquanto mecanismos físicos geralmente envolvem forças eletrostáticas ou troca iônica (MACK *et al.*, 2007). Para Ozer e Ozer (2003), existem três categorias gerais que descrevem o processo biológico de remoção de íons metálicos da solução: biossorção (adsorção) de íons metálicos na superfície de um micro-organismo, captação intracelular de íons metálicos e transformação química de íons metálicos por micro-organismos.

Os micro-organismos podem responder ao estresse por metais pesados, por meio de processos como o transporte através da membrana celular, biossorção à parede celular e aprisionamento em cápsulas extracelulares, precipitação, complexação e reações de redução da oxidação (ABBAS *et al.*, 2014).

O transporte do metal através da membrana celular produz acumulação intracelular, que depende do metabolismo da célula e esse tipo de biossorção pode ocorrer apenas com células viáveis. É frequentemente associado a um sistema de defesa ativo do micro-organismo, que reage na presença de metal tóxico (AHALYA *et al.*, 2003).

Os mecanismos envolvidos no processo de biossorção diferem quantitativa e qualitativamente de acordo com as espécies utilizadas, a origem da biomassa e seu processamento. São 6 mecanismos diferentes que funcionam em sinergismo: complexação (formação de um complexo a partir da associação de duas espécies); coordenação (ligação covalente de um átomo central com outros átomos); quelação, (complexos formados por um composto orgânico são unidos ao metal por pelo menos dois sítios); troca iônica, (formação de espécies moleculares através do intercâmbio de íons); adsorção (sorção através da superfície do tecido orgânico); precipitação inorgânica (alteração no meio aquoso levando a uma precipitação do despejo) (DA SILVA *et al.*, 2014).

A estrutura complexa da biomassa implica que existem muitas maneiras pelas quais esses biossorventes removem vários poluentes, mas para Abbas *et al.* (2014), estes ainda não são totalmente compreendidos, portanto, o mecanismo de absorção dos íons metálicos é considerado um processo de difícil compreensão. Vários fatores são encontrados para influenciar o mecanismo da biossorção de metais: o estado da

biomassa (viva ou não viva); tipos de biomateriais; propriedades da química de soluções metálicas; e condições ambientais como pH, temperatura, etc.

A variedade de componentes estruturais presentes na biomassa usada nos processos de biossorção, possibilita também uma grande variedade de grupos funcionais que são capazes de interagir com os metais pesados realizando a união destes a superfície do ligante (BARROS *et al.*, 2017).

A biossorção refere-se a diferentes modos de absorção de metal pela biomassa microbiana, onde o seqüestro de metal pelas células pode ocorrer por adsorção, troca iônica, coordenação, complexação, etc. A difusão do íon metálico da solução em massa para os sítios ativos do micro-organismo, na biomassa não viva, ocorre predominantemente por mecanismos de transporte passivos. Inicialmente, íons metálicos se difundem para a superfície da célula microbiana, onde se ligam aos sítios ativos na superfície celular formados pela presença de vários grupos químicos, como carboxilato, hidroxila, amino e fosfato, que exibem afinidade pelos íons metálicos. Nas células vivas, a troca iônica pode ser seguida pela absorção dependente do metabolismo, no qual o metal é transportado para as células (OZER & OZER, 2003).

Para Ahalya *et al.* (2003) existem vários grupos químicos que atraem e sequestram os metais em biomassa: grupos acetamido de quitina, polissacarídeos estruturais de fungos, grupos amino e fosfato em ácidos nucleicos, amido, amino, sulfidril e grupos carboxila em proteínas, hidroxilas em polissacarídeo e principalmente carboxilas e sulfatos em polissacarídeos de algas marinhas pertencentes às divisões *Phaeophyta*, *Rhodophyta* e *Chlorophyta*.

As paredes celulares de biomassa são constituídas principalmente de polissacarídeos, proteínas e lipídeos, que oferecem muitos grupos funcionais e podem se ligar aos íons metálicos, tais como grupos carboxilato, hidroxilo, sulfato, fosfato e amino (GOKSUNGUR *et al.*, 2005)

2.3 Biossorventes

Resíduos agroindustriais, micro-organismos como bactérias, fungos, leveduras e algas podem ser utilizados como biossorventes. Estes, possuem propriedades sequestradoras de metais e podem ser utilizados para diminuir a concentração de íons de metais pesados em solução, de ppm para ppb (ABBAS *et al.*, 2014; FEBRIANTO *et al.*, 2009).

Estudos recentes de bioissorção focaram a atenção em materiais residuais, que são subprodutos ou materiais residuais de operações industriais de larga escala (AHALYA *et al.*, 2003).

Para usos industriais em grande escala, o bioissorvente deve estar prontamente disponível e ter boa relação custo-benefício, e pode vir de: (i) resíduos industriais, que poderiam estar disponíveis gratuitamente ou a baixo custo; (ii) organismos facilmente obtidos em grandes quantidades na natureza; e (iii) organismos que podem ser cultivados facilmente para propósitos de bioissorção (FOMINA & GADD, 2014).

Bactérias são usadas como bioissorventes devido ao seu pequeno tamanho, ubiquidade e capacidade de crescer sob condições controladas, e sua resistência contra uma ampla gama de condições ambientais variáveis. Espécies de bactérias tais como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Escherichia*, *Micrococcus*, etc., foram testadas para absorção de metais ou orgânicos (ABBAS *et al.*, 2014).

Shamim (2018) em seu trabalho, cita que a *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais empregada nos estudos de bioissorção. O autor cita as diferentes formas do micro-organismo já estudadas, incluindo, células vivas, células mortas, biomassa residuais e imobilizada.

2.4 Leveduras como bioissorventes

Saccharomyces cerevisiae é um dos micro-organismos eucarióticos mais estudados em biologia molecular e celular. No geral as células de levedura têm uma parede celular, membrana citoplasmática, citoplasma e inclusões, um único núcleo, mitocôndria, retículo endoplasmático, aparelho de Golgi, vacúolos, citoesqueleto e glicocálice. A levedura não possui flagelos, mas possui a maioria das outras organelas eucarióticas. É o micro-organismo por trás do tipo mais comum de fermentação, que se reproduz por um processo de divisão conhecido como brotamento. As células de *S. cerevisiae* são arredondadas a ovóides, e possuem de 5 a 10 µm de diâmetro (WANG & CHEN, 2006).

Normalmente, leveduras são fáceis de cultivar, produzem altos rendimentos de biomassa e podem ser manipulados geneticamente e morfológicamente. Esses micro-organismos são amplamente utilizados em uma variedade de processos de fermentação em escala industrial (KIELISZEK *et al.*, 2015; WANG & CHEN, 2008).

Saccharomyces cerevisiae é utilizada na produção de álcool etílico por fermentação, como também em panificação. O Brasil, com uma produção em torno de 13 bilhões de litros por ano, é o maior produtor mundial de etanol por via fermentativa. É prática comum nas indústrias de produção de etanol por processo de batelada repetida a sangria do “creme de levedura”, que consiste em retirar parte da biomassa celular acumulada no tanque de fermentação por centrifugação. Desta forma, o micro-organismo é uma fonte excedente do processo de fermentação e pode ser utilizada como biossorvente em processos de separação física (FERREIRA *et al.*, 2007).

Apesar da capacidade inferior de biossorção de metal de *S. cerevisiae* em comparação a de outros micro-organismos, trata-se de um biomaterial único na pesquisa de biossorção e aplicação prática. De acordo com Ghorbani (2008), o biossorvente *S. cerevisiae* pode ser facilmente aceito pelo público quando aplicado na prática, uma vez que pode ser usado em larga escala com baixo custo, especialmente para o tratamento de grande quantidade de efluentes contendo contaminantes (sorvatos) em baixas concentrações. Ainda, *S. cerevisiae* é indicada como organismo modelo ideal para estudar a cinética de biossorção na remoção de vários elementos químicos, especialmente para investigar as interações sorvato-biossorvente em nível molecular (GHORBANI *et al.*, 2008; WANG & CHEN, 2006).

De acordo com Wang e Chen (2006), chumbo, cádmio, cobre, zinco, cromo, níquel, prata e urânio foram os metais mais estudados em processos de biossorção por *S. cerevisiae*, seguidos por cobalto, molibdênio, ferro, manganês, rádio, selênio, alumínio, lantanídeos e metais preciosos. Deve-se notar que *S. cerevisiae* pode distinguir diferentes metais com base em sua toxicidade, tais como selênio [Se (IV) e Se (VI)], antimônio [Sb (III) e Sb (V)] e mercúrio [CH₃Hg e Hg (II)].

Para Kieliszek *et al.*, (2015), a ligação extracelular do selênio é baseada na quimissorção. Este processo envolve a formação de ligações iônicas ou a complexação de íons selênio por biopolímeros da parede celular da levedura, tais como grupos ativos de proteínas, fosfolipídios ou polissacarídeos.

3. METODOLOGIA

3.1 Ensaio de Bioadsorção

Foram realizados 22 ensaios de bioadsorção, dentre os quais 4 foram com bioadsorção ativa (células vivas) e 18 com bioadsorção inativa (células mortas). Em 14 desses ensaios foi empregado como sorvato solução estoque de selenito de sódio (Na_2SeO_3) e nos demais, selênio total dissolvido em efluente industrial coletado em indústria química da região de Joinville. O objetivo dos ensaios com solução de Na_2SeO_3 foi indicar qual a melhor condição de emprego da biomassa (ativa ou inativa) para avaliação posterior nos ensaios de bioadsorção de Se em efluente industrial.

Os ensaios foram conduzidos em frascos de Erlenmeyer de 500 mL contendo 200 mL de meio reacional (volume de trabalho). Os frascos foram acondicionados em agitador orbital (*shaker*) CERTOMAT-U com frequência de agitação de 120 min^{-1} e temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.1.1 Preparo da solução-estoque de selênio

A solução-estoque foi preparada a partir da diluição de 1000 mg de Na_2SeO_3 98% (produto comercial Incasa, lote 112-033/17) em 1000 mL de água deionizada. Após preparo, a solução de selenito foi acondicionada em frasco de vidro âmbar de 1L com tampa roscada e conservada em refrigerador ($4 \text{ }^\circ\text{C}$), para posterior uso nos ensaios de bioadsorção.

3.1.2 Coleta e caracterização do efluente de indústria química

Amostras do efluente industrial contendo selênio foram coletadas diretamente no tanque existente na Estação de Tratamento de Efluentes da empresa. Trata-se de um tanque com volume aproximado de 3000 L que recebe todas as soluções-aquosas residuais da linha de fabricação de compostos de selênio. Atualmente, os produtos à base de selênio produzidos pela empresa, são: Selenato de Sódio, Selenito de Sódio

Anidro, Selenito de Sódio Solução, Selenito de Zinco, Selênio Grânulos 99% e 99,5% e Selênio Metálico em Pó (200 mesh).

A composição do efluente no tanque receptor da ETE é normalmente alterada em função do produto em fabricação. A empresa química não repassou detalhes técnicos relativos a essas produções (fluxograma operacional, matérias-primas, tratamentos e recuperações de sub-produtos) e tampouco permitiu que fosse realizado à caracterização química do efluente.

3.1.3 Coleta e caracterização do efluente de indústria cervejeira

O efluente contendo biomassa microbiana (*S. cerevisiae*) foi coletado de uma indústria cervejeira da região de Joinville, Santa Catarina. A coleta do material foi realizada após o término da fermentação, decantação natural da biomassa e remoção da cerveja, onde o efluente contendo a levedura que é enviado diretamente para uma estação de tratamento de efluente. Como a indústria comercializa diferentes tipos de cervejas com diferentes matérias primas e tipo de levedura (fermento), inicialmente foi realizado um levantamento da produção anual dessas cervejas e selecionadas aquelas de maior produção. Durante um mês de produção, foram estimados os volumes de efluentes gerados em cada caso e quantificada a biomassa microbiana presente no efluente. O fermento residual utilizado como biossorvente foi escolhido a partir da cerveja com maior geração de efluente na indústria.

As amostras foram coletadas em frascos plásticos, previamente sanitizados, diretamente da saída do tanque fermentador e armazenadas sob refrigeração, por no máximo, 24 h e caracterizado posteriormente.

A determinação da concentração microbiana (em massa seca) no efluente de cerveja foi determinada por gravimetria com base na norma ASTM E871–82 (ASTM, 2013). Cinco amostras de 500 mL do efluente, cada uma delas coletada em dias aleatórios de produção, foram analisadas. Após a coleta, foi realizada a homogeneização de cada uma das amostras em agitador magnético, seguido da leitura do pH em pHmetro de bancada Gehaka (modelo PG1800) e, então, retiradas três alíquotas de 10 mL, para a análise gravimétrica. Para tanto, as alíquotas foram filtradas à vácuo com o uso de papel filtro 0,8 µm de diâmetro 47 mm, previamente secos a 103 °C durante 48 h em estufa convectiva (Quimis) e pesados (determinação da massa do papel filtro seco, sem células).

A biomassa retida no filtro foi lavada com água destilada fluente (sob vácuo) seguida, juntamente com o papel filtro, de nova secagem a 103 °C por 24 h com posterior resfriamento até temperatura ambiente em dessecador com sílica-gel (± 30 min) e pesagem em balança analítica (Shimadzu, modelo AY220). A concentração de biomassa seca, foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$X = \frac{a-b}{V} \quad (1)$$

Onde:

X – biomassa seca ou concentração celular em massa seca (g/L)

a – massa do papel filtro com células após secagem (g)

b – massa do papel filtro seco e sem células (g)

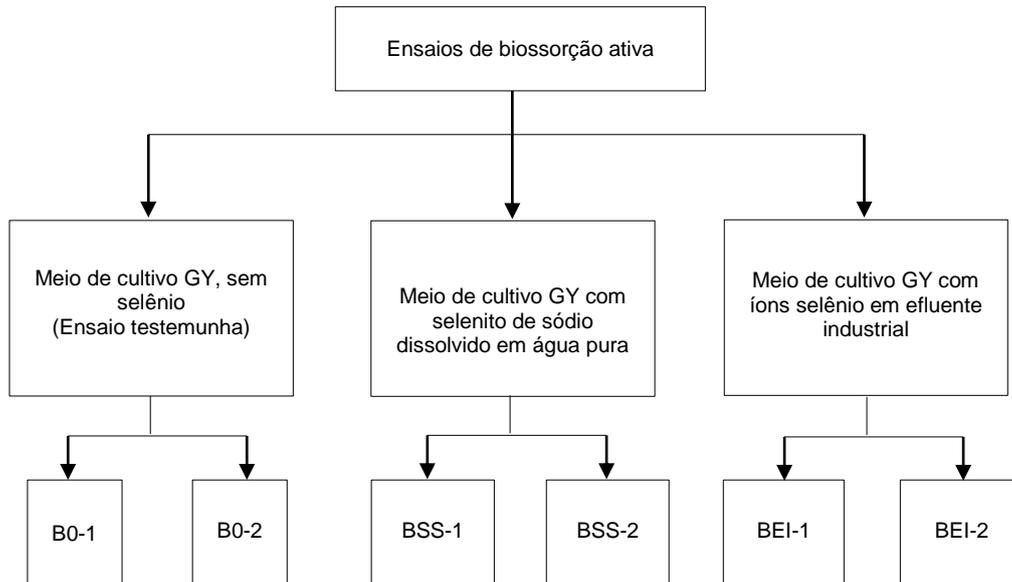
V – volume de amostra filtrada (L)

3.1.4 Ensaio de bioadsorção ativa

Foram realizados quatro ensaios de bioadsorção ativa de selênio empregando como bioadsorvente duas linhagens comerciais de *Saccharomyces cerevisiae*: 1) *S. cerevisiae* ATCC 26603; 2) *S. cerevisiae* isolada de fermento de padeiro e identificada como Univille 9080.

Em todos os ensaios foi utilizado meio de cultivo GY composto por (em g/L): glicose, 40; extrato de levedura, 3; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5; K_2HPO_4 , 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 e CaCl_2 , 0,1.) Os meios de cultivo foram previamente esterilizados a 121 °C durante 15 min em autoclave a gás de marca PHOENIX, modelo AV 137. Na Figura 2 é apresentada a configuração desses ensaios.

Figura 02 – Ensaio de bioabsorção ativa com duas linhagens de *S. cerevisiae*: 1) ATCC 26603, 2) Univille 9080.



Fonte: Autor (2019)

Os dois primeiros ensaios (B0-1 e B0-2), onde não foram adicionados íons de selênio, serviram como ensaios testemunhas a fim de avaliar eventuais inibições do crescimento celular das linhagens 1 e 2 pelo sorvato em estudo (íons de selênio). Os meios GY dos ensaios BSS-1 e BSS-2, foram acrescidos de solução-estoque de Na_2SeO_3 para concentração planejada de 7,5 mg/L (15 mg/L de selenito de sódio comercial) de selênio total no meio reacional (bioabsorvente + sorvato). Para os ensaios BEI-1 e BEI-2, os nutrientes do meio GY foram dissolvidos em efluente industrial contendo aproximadamente de 15 mg/L de selênio total (informações repassadas pela empresa que forneceu o efluente).

O pH inicial de todos os meios de cultivo, antes da inoculação, foi de 4,5. Para o acerto do pH foram utilizadas soluções NaOH 1 M e HCl 1 M. Durante os cultivos, o pH dos meios não foi controlado, apenas acompanhado por leitura em pHmetro digital Gehaka PG1800.

3.1.4.1 Manutenção dos micro-organismos

S. cerevisiae ATCC 26603, cepa floculante adquirida comercialmente junto ao banco de cepas da Fundação André Tosello de São Paulo, sob número CCT 0293 e *S. cerevisiae*, isolada de fermento comercial, mantida no banco de cepas da Univille

sob número 9080 foram conservados em geladeira (4 °C) e mantidos através de repiques quinzenais em placas de Petri (semeadura de superfície por alça de platina em cultivo sólido) contendo meio GY proposto por Souza *et al.* (2012), adicionado de Agar-Agar na concentração de 15 g/L. O período de incubação dessas placas de Petri semeadas, antes de serem acondicionadas em geladeira, foi de 48 h, a 30 °C.

3.1.4.2 Inóculo

O inóculo (cultura start) para os ensaios de biossorção foi preparado a partir do cultivo microbiano em frascos Erlenmeyers de 500 mL contendo 80 mL de meio GY adicionado de 5 mL de suspensão microbiana (pré-inóculo) proveniente de placas de Petri (cultivo de manutenção). O pré-inóculo foi obtido a partir da adição de água estéril nas placas de Petri (5 mL/placa), seguido da raspagem das colônias na superfície do meio sólido. Após receber o pré-inóculo, os frascos foram incubados em agitador orbital CERTOMAT® S com frequência de agitação de 120 min⁻¹, 30 °C, durante 18 h.

3.1.5 Biossorção inativa

3.1.5.1 Preparo do biossorvente úmido

O efluente coletado diretamente da saída do tanque fermentador foi armazenado sob refrigeração por, no máximo, 24 h, até o início dos ensaios de biossorção.

O pré-tratamento do biossorvente úmido foi realizado conforme proposto por Khakpour *et al.* (2014), o volume coletado foi filtrado à vácuo em papel filtro Schleicher® de dimensão 11 ± 0,1 cm e porosidade de 40 µm e lavado com água deionizada, duas vezes consecutivas. A biomassa retida no papel filtro foi transferida para frasco Duran graduado e completado com água deionizada até 1L, conforme Figura 02.

Figura 02 – Biossorvente úmido utilizado nos ensaios de bioadsorção inativa



Fonte: Autor (2019)

A amostra foi armazenada sob refrigeração para uso, após determinação da concentração de biomassa em base seca de massa, empregando a metodologia descrita no 3.1.3. A partir do valor obtido, estimou-se o volume da suspensão microbiana a ser utilizado nos ensaios de bioadsorção.

3.1.5.2 Preparo do biossorvente seco

Cinco litros do efluente da indústria cervejeira foram coletados em frasco plástico diretamente da saída do tanque fermentador e armazenados sob refrigeração por, no máximo, 24 h, até preparo do biossorvente seco (BS). Conforme proposto por Khakpour *et al.* (2014), o volume coletado foi filtrado à vácuo em papel filtro, o mesmo utilizado no preparo do biossorvente úmido, de dimensão $11 \pm 0,1$ cm e lavado com água deionizada. A biomassa retida no papel filtro foi transferida para um copo de Béquer e tratada por imersão em solução aquosa de etanol 70%, sendo homogeneizada manualmente e acondicionada sob refrigeração à 6°C , durante 24 h. Em seguida, a mistura foi novamente filtrada e lavada duas vezes com água deionizada para remover todo etanol. A massa celular retida foi submetida à secagem

em estufa à 50 °C durante 48 h. Após esse período, a biomassa seca foi triturada em liquidificador industrial (FAK) visando a sua homogeneização e armazenada em pote plástico vedado em freezer, para que não absorvesse umidade até uso. Após o tratamento definiu-se o teor de umidade da biomassa microbiana, determinada em base úmida conforme norma ASTM E871-82. A biomassa celular resultante desse procedimento foi submetida à análise granulométrica, à análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Óptica de Luz e empregada como bioissorvente nos ensaios subsequentes.

A determinação da composição granulométrica foi realizada de acordo com ABNT-NBR 721, e utilizou-se, 10 g do bioissorvente seco, para o conjunto de peneiras conforme Apêndice A.

Para a análise de MEV, amostras de biomassa tratadas com etanol e sem tratamento com o solvente, foram previamente secas em estufa convectiva (QUIMIS) durante 24 h a 50 °C para desidratação e conduzidas ao Laboratório de Materiais da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC (campus Joinville). As amostras foram dispostas em uma fita de carbono fixada sobre a superfície reta de um cilindro de latão (*stub*), seguido por metalização com ouro para torná-las condutivas e, então, analisadas em microscópio da marca JEOL modelo 6701F com ampliação de imagem da ordem de 800 e 3.000 vezes e com uma voltagem de 15,0 kV.

Para a análise morfológica das células do bioissorvente seco (BS), por microscopia, foi empregado o microscópio óptico Nikon (Alphaphot-2) e lente objetiva 400 vezes. A fim de avaliar as alterações das células durante as diferentes etapas do tratamento, a biomassa foi analisada na condição inicial de massa úmida (BU) e final de massa seca (com e sem tratamento com etanol). As amostras foram previamente diluídas na proporção de 1 mL de água deionizada para aproximadamente 1 g de massa seca no caso de BS e de 1 mL de água para 1 mL de suspensão de BU. O objetivo da diluição foi melhorar a visibilidade da imagem, pois a sua qualidade estava sendo prejudicada pela elevada concentração celular presente na amostra.

3.1.5.3 Ensaios de bioissorção inativa

Para os ensaios iniciais de bioissorção inativa foi utilizado biomassa úmida (BU) e biomassa seca (BS), ambas provenientes de indústria cervejeira. Como sorvato foi utilizado solução-estoque de selenito de sódio (SS). Diferentes proporções entre

concentrações de biossorvente e sorvato foram testadas, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Ensaio de biossorção de selênio (sorvato, A) por leveduras residuais de indústria cervejeira (biossorvente, B).

Ensaio	Tipo de solução-problema	Concentrações	
		A (mg/L)	B (g/L)
BU1-SS1	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	7,5	52,5
BU1-SS2	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	22,5	17,5
BU1-SS3	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	22,5	2,0
BU1-SS4	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	30,0	2,0
BU1-SS5	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	30,0	24,0
BU1-SS6	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	30,0	52,5
BS1-SS1	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	7,5	52,5
BS1-SS2	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	22,5	17,5
BS1-SS3	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	22,5	2,0
BS1-SS4	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	30,0	2,0
BS1-SS5	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	30,0	24,0
BS1-SS6	Solução aquosa de Na ₂ SeO ₃	30,0	52,5

Fonte: Autor (2019)

A maior concentração de sorvato (A = 30 mg/L) nos ensaios com Na₂SeO₃ comercial correspondeu aquela normalmente encontrada no efluente de indústria química da região de Joinville, conforme informação recebida da própria empresa. A menor concentração de biossorvente avaliada (B = 2 g/L) foi definida de acordo com indicação de Khakpour *et al.* (2014).

As concentrações do biossorvente nos ensaios BU1-SS5 e BS1-SS5 (B = 24,0 g/L), foram definidas como a concentração média entre todos os valores de B utilizados nos demais ensaios.

Após o preparo do meio reacional mostrado na Tabela 1, o pH da mistura (A+B), normalmente em torno de 9,0, foi reduzido, em todos os ensaios, para 4,5 com solução de ácido clorídrico 1 M antes de ser acondicionado no agitador para reação.

Nos ensaios de biossorção inativa empregando efluente industrial (sorvato), a biomassa úmida fresca (sorvato) foi utilizada como biossorvente sem tratamento prévio. Ou seja, frações de volumes do efluente gerado após produção de cerveja

foram misturados às frações de volumes do efluente da indústria química contendo o sorvato a ser tratado, conforme Tabela 2. Esses volumes (planejados) foram definidos em função das concentrações de biomassa existente no efluente de cerveja (determinado a cada coleta realizada) e da concentração de selênio total no efluente químico (Se \approx 30 mg/L, conforme informação recebida da empresa química).

Tabela 2 – Ensaios de bio sorção de selênio (sorvato - efluente industrial, A) por leveduras residuais de indústria cervejeira (biossorvente úmido, B).

Ensaio	Tipo de solução-problema	Volumes de efluentes misturados para concentração planejada		Concentrações Planejadas	
		A (mL)	B (mL)	A (mg/L)	B (g/L)
BU2-EI1	Efluente industrial	150	50	22,5	17,5
BU2-EI2	Efluente industrial	100	100	15,0	35,0
BU2-EI3	Efluente industrial	50	150	7,5	52,5
BU2-EI4	Efluente industrial	150	50	22,5	17,5
BU2-EI5	Efluente industrial	100	100	15,0	35,0
BU2-EI6	Efluente industrial	50	150	7,5	52,5

A bio sorção de selênio em efluente industrial foi conduzida em dois diferentes valores de pH: < 4,5 (pH resultante da mistura do sorvato com a suspensão de biomassa residual de cervejaria, sem correção do pH) e 4,5 (pH corrigido da mistura reacional). Neste caso, para os ensaios BU2-EI4, BU2-EI5 e BU2-EI6 o pH foi ajustado para 4,5 utilizando solução de NaOH 1 M.

3.2 Amostragem dos ensaios de bio sorção e metodologia analítica

De cada um dos experimentos de bio sorção ativa foram retiradas amostras periódicas para determinação das concentrações de açúcares redutores (AR), biomassa seca formada (X) e selênio total (Se). Cada amostra foi constituída de um frasco de Erlenmeyer, descartado após coleta das diferentes alíquotas para determinação de AR, X e Se. Para os ensaios testemunhas foram realizadas amostragens nos tempos t_0 , t_{12} , t_{24} , t_{48} . Para os demais ensaios com meio de cultivo contendo selênio as amostragens foram feitas em t_0 , t_{12} , t_{24} , t_{48} , t_{72} , t_{96} , t_{120} . Para cada

análise de selênio total, foram enviadas à empresa um volume mínimo de 50 mL/amostra. Devido ao grande número de amostras existentes todas as análises foram realizadas sem duplicatas.

Cada ensaio de bioissorção inativa conteve, no mínimo, três frascos de Erlenmeyer contendo a solução da mistura reacional. De cada ensaio foram retiradas quatro amostras com, no mínimo, 50 mL, no início ($t = 0$ h) e no final ($t = 48$ h) do processo, para determinação da concentração de selênio total. Em todas as amostras foi medido o pH do meio reacional.

Em função do custo e da disponibilidade do equipamento na empresa responsável pela determinação da concentração de selênio, não foi possível realizar a análise de amostras em duplicatas para os ensaios de bioissorção inativa BU2-EI1, BU2-EI2, BU2-EI3, BU2-EI4, BU2-EI5 e BU2-EI6.

3.2.1 Determinação da concentração de selênio total

De cada um dos três frascos de Erlenmeyer amostrados foram retiradas alíquotas de 50 mL e conduzidas à centrifugação a 5.600 rpm durante 1 min, em centrífuga Splabor modelo SP-700/6000. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado em papel filtro de porosidade 40 μm , marca Schleicher® de diâmetro $11 \pm 0,1$ cm e congeladas a -4°C para posterior análise pela empresa Incasa S.A. (Joinville, SC). As análises foram realizadas, no mínimo em duplicatas, por meio de análise de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma (ICP). A metodologia empregada é de uso interno da empresa e não foi divulgada.

3.2.2 Determinação de açúcares redutores

Alíquotas do frasco de Erlenmeyer amostrado foram retiradas em duplicatas e analisadas pelo método colorimétrico de DNS (3,5 dinitro salicilato) proposto por Miller (1959). Para cada 5 mL de amostra foi adicionado mesmo volume do reagente DNS (dinitrosalicílico) em cada tudo. Os tubos foram aquecidos em banho-maria a 100°C durante 5 min e, em seguida, resfriados até temperatura ambiente. Posteriormente foi realizada a leitura de absorbância (Abs) em espectrofotômetro LKB BIOCHROM, modelo Novaspec II, em comprimento de onda de 540 nm.

O valor de AR foi determinado a partir da Equação 1, obtida de curva de calibração previamente estabelecida com concentrações de glicose de 0 a 1,0 g/L ($r^2 = 0,9972$). O valor máximo de Abs utilizado nesta equação foi de 0,655; portanto, todas as amostras com Abs > 0,655 foram diluídas com água destilada.

$$AR = \frac{Abs + 0,0187}{0,6989} fd \quad (2)$$

Onde fd representa o fator de diluição das amostras com Abs > 0,655.

3.2.3 Determinação da concentração celular

As amostras foram submetidas à análise gravimétrica para determinação da concentração de biomassa seca formada (X). Esta técnica envolveu a filtração a vácuo de 10 mL da suspensão microbiana em crescimento através de membrana MCE marca FilterPro®, diâmetro 47 mm e porosidade 0,8 μm , previamente secas a 105 ± 3 °C durante 24 h. A massa celular retida juntamente com o filtro, foram novamente secos a 105 ± 3 °C até peso constante (24 h).

Os valores de X foram calculados conforme Equação 3.

$$X = \frac{a - b}{c} \quad (3)$$

Onde, a é a massa seca de células com a membrana filtrante em g, b é a massa seca apenas da membrana e c é o volume da amostra filtrada em L.

3.3 Determinação da eficiência e capacidade microbiana de bioissorção

A porcentagem de bioissorção do selênio (R) inicialmente presente na solução-presente foi calculado de acordo com a Equação 4.

$$R = \frac{Se_o - Se_f}{Se_o} \quad (4)$$

A capacidade da biomassa celular de reduzir a concentração do sorvato no meio tratado (Y) foi estimada a partir da Equação 5 e expressa na unidade mg/g, e pode ser definida como a quantidade de sorvato (íons metálicos) bioissorvido por unidade de peso do bioissorvente.

$$Y = \frac{Se_o - Se_f}{X} \quad (5)$$

Sendo, para a equação 4 e 5.

Se_o – concentração inicial do selênio no meio reacional (mg/L)

Se_f – concentração final do selênio no meio reacional (mg/L)

t – tempo de processo (h)

X – concentração de células (em massa seca) no meio reacional (g/L)

3.4 Análises estatísticas

As variações estatísticas nas análises de selênio (para os ensaios em duplicata) foram tratadas pelo teste Q de Dixon e analisadas pelo método ANOVA com teste de Tukey para $P < 0,05$ empregando o programa computacional Origin 2015. Quando p - valor foi menor que o nível de significância escolhido (0,05), assumiu-se que as variâncias dos valores médios foram diferentes e, conseqüentemente, esses valores são significativamente diferentes. Em caso contrário, concluiu-se que as variâncias são constantes ou homogêneas e os valores médios das medidas realizadas não diferem entre si.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Coleta e caracterização do efluente de indústria química

A indústria química que permitiu a realização dos estudos, produz cerca de 7 m³/dia do efluente proveniente da linha de fabricação de compostos de selênio, com concentração de Se da ordem de $30,0 \pm 0,7$ mg/L (ppm). O pH do efluente coletado em diferentes dias variou de 2,0 a 2,5.

Em trabalho recente, Just (2019) coletou e analisou este mesmo tipo de efluente e determinou Se = $27,5 \pm 0,9$ mg/L, pH $2,18 \pm 0,04$ e salinidade de $23,3 \pm 2,9\%$. De acordo com a autora, a salinidade foi proveniente, principalmente, da adição de ditionito de sódio (Na₂S₂O₄), empregado pela empresa para a recuperação de selênio, antes do efluente ser descartado na Estação de Tratamento. De acordo com informações recebidas da indústria, esse efluente foi gerado com apenas um tipo de estado de oxidação do selênio (Se⁺⁴), resíduo da produção de selenito de sódio (Na₂SeO₄). Contudo, como citado anteriormente, a empresa produz outros tipos de compostos de Se com descarte de seus efluentes na mesma corrente do selenito de sódio. Esses produtos, inclusive Na₂SeO₄, são sempre produzidos na mesma unidade fabril, porém, em períodos alternados, conforme vendas. Não foi permitido análises químicas de todos esses efluentes.

4.2 Coleta e caracterização do efluente de indústria cervejeira

A partir de dados coletados em registros internos da indústria cervejeira, a qual forneceu a biomassa microbiana para os estudos, estima-se que produção anual de cervejas nos anos de 2016 a 2017, foi de 2,5 milhões de litros. A cerveja de maior produção foi a do tipo Pilsen, com volume mensal de produção de 118.500 L. A empresa não registrava o volume de efluente descartado após a produção das cervejas e por isso foi necessário um acompanhamento durante 30 dias da quantidade de efluente gerado no processo de fabricação da cerveja Pilsen. Considerando este volume observado (6.175 L) e o volume de cerveja produzida (98.000 L), estimou-se uma geração de 0,0685 L de efluente por litro de cerveja Pilsen produzida.

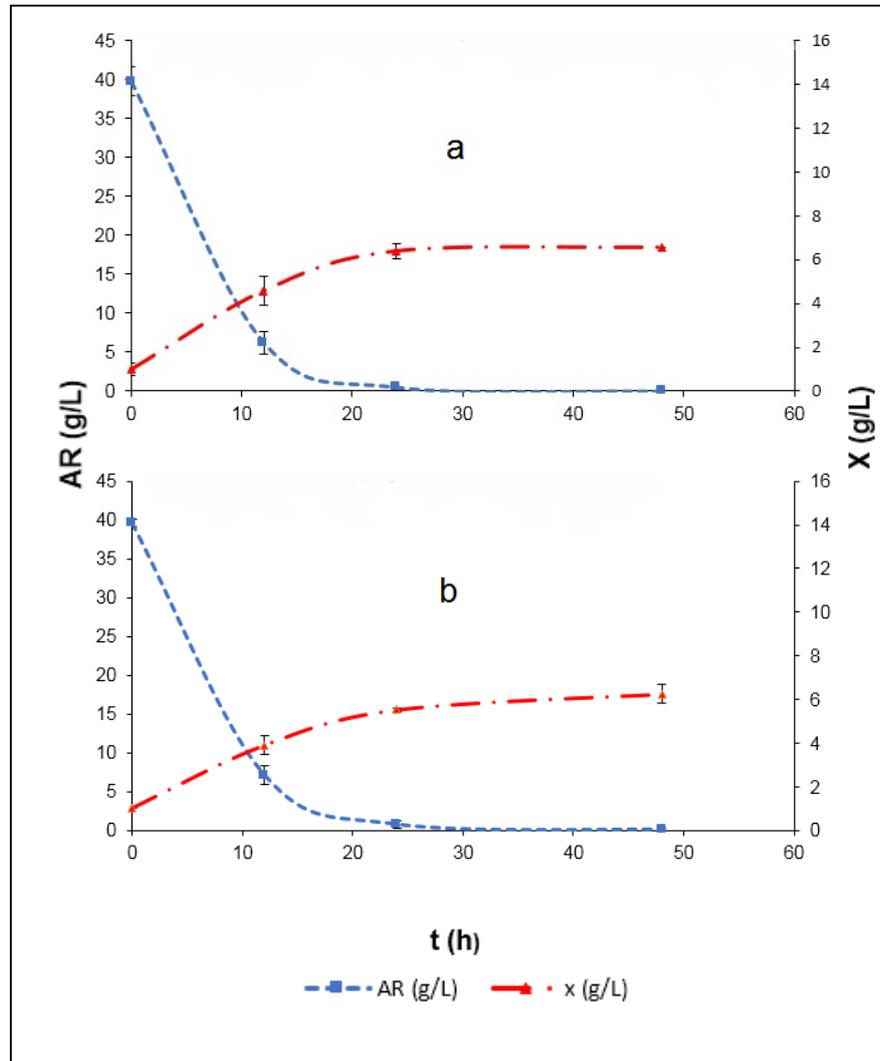
O efluente apresentou uma concentração média da biomassa microbiana (em massa seca) de $97,3 \pm 4,9$ g/L e pH médio de $5,5 \pm 0,2$. Portanto, pode-se estimar

disponibilidade anual de biomassa residual para aproveitamento como biossorvente de cerca de 17,5 toneladas.

4.3 Ensaio de biossorção ativa

Os perfis cinéticos do consumo de substrato e crescimento microbiano obtidos durante a fermentação de meio de cultivo sintético GY sem selênio (ensaio testemunha) para os micro-organismos utilizados, *S. cerevisiae* ATCC 26603 e *S. cerevisiae* Univille 9080, são apresentados na Figura 3.

Figura 3 – Valores médios da concentração de açúcares redutores (AR) e massa seca celular (X) com respectivos desvios padrões e respectivos perfis cinéticos obtidos na fermentação de meio sintético GY sem selênio por: (a) *S. cerevisiae* ATCC 26603 (Ensaio B0-1), (b) *S. cerevisiae* Univille 9080 (Ensaio B0-2).



Fonte: Autor (2019).

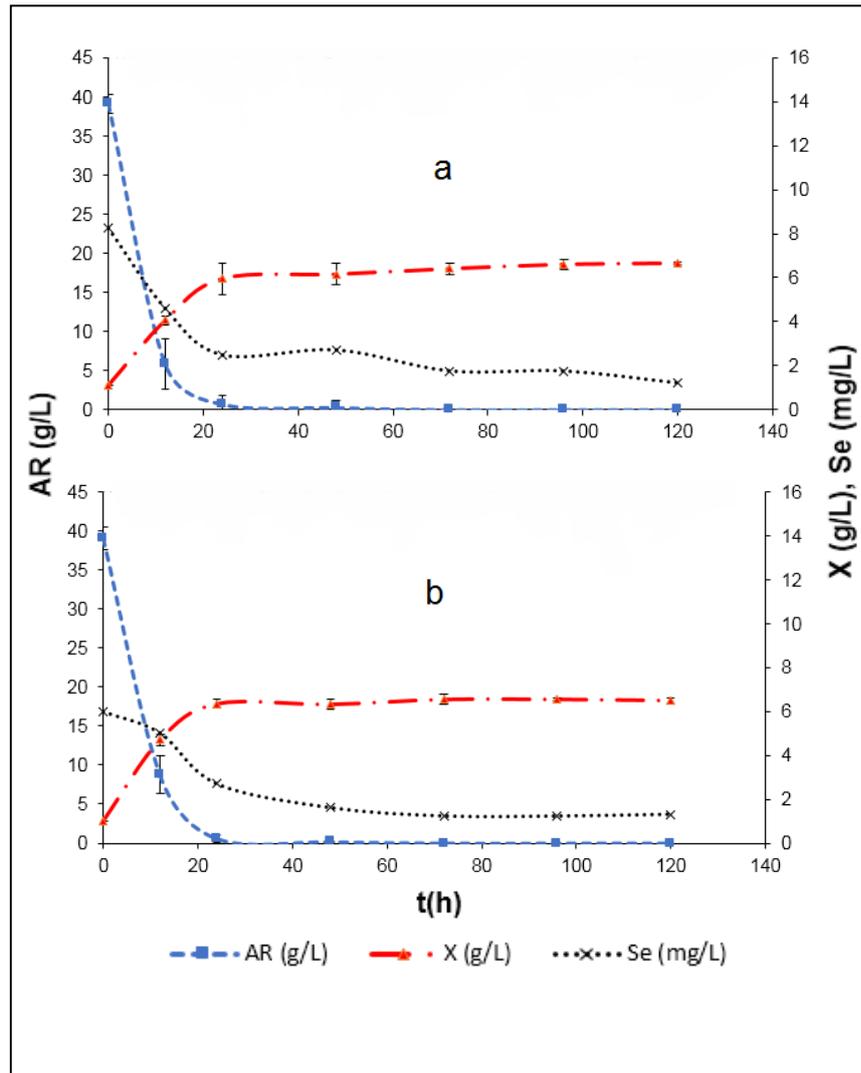
Em ambos os ensaios testemunhas houve consumo total da glicose, evidenciando que não houve limitação no processo. Os valores de pH durante todo o cultivo variaram de 4,1 a 4,5, permanecendo dentro da faixa ideal (4,0 a 5,0) para a biossorção utilizando *S. cerevisiae* como biossorvente, assim como nos estudos de Nascimento *et al.* (2018) e Khakpour *et al.* (2014).

Os perfis cinéticos do consumo de AR e crescimento celular (X) da linhagem ATCC 26603 foram semelhantes aos da linhagem Univille 9080. Os tempos finais de fermentação, na condição de AR = 0, foram de aproximadamente 24 h.

As concentrações de células no final do cultivo (X_f) foram de $6,55 \pm 0,07$ g para

o ensaio B0-A (Figura 3a) e de $6,25 \pm 0,04$ g para B0-B (Figura 3b). Os perfis cinéticos do cultivo desses micro-organismos no mesmo tipo de meio adicionados de selênio sintético puro (Na_2SeO_3) são mostrados na Figura 4.

Figura 4 – Valores médios da concentração de açúcares redutores (AR) e massa seca celular (X) com respectivos desvios padrões, valores da concentração de selênio total (Se) e respectivos perfis cinéticos obtidos na fermentação de meio sintético GY com selênio de sódio comercial por: (a) *S. cerevisiae* ATCC 26603 (Ensaio BSS-1), (b) *S. cerevisiae* Univille 9080 (Ensaio BSS-2).



Fonte: Autor (2019)

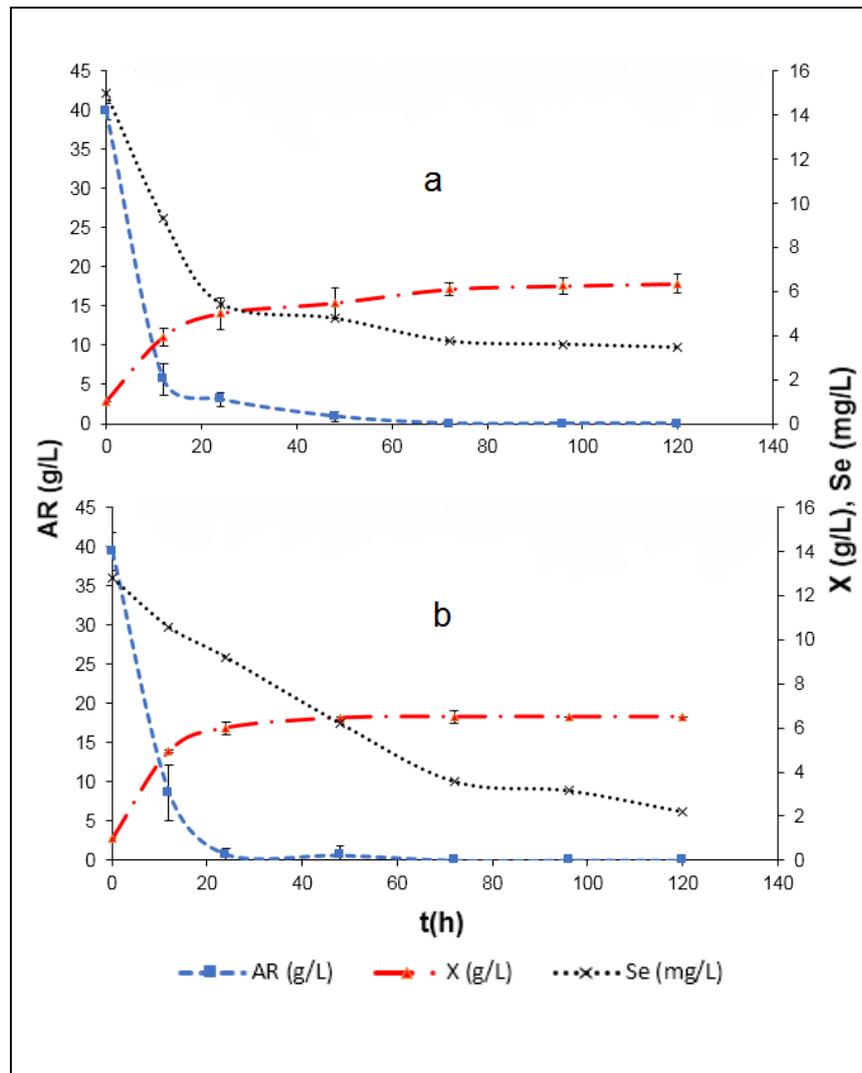
Assim como nos ensaios de cultivo de micro-organismo sem o sorvato (Figura 3), o pH do meio com adição de selênio (Figura 4) permaneceu na faixa de 4,0 e 5,0.

Os perfis cinéticos de AR e X durante o cultivo das duas linhagens da levedura no meio GY com selenito comercial (Figura 4: a e b) foram semelhantes aqueles observados no cultivo dos micro-organismo no mesmo tipo de meio, porém sem selênio (Figura 3: a e b).

Os tempos finais de fermentação ($t_f = 24$ h) na condição $AR = 0$ foram os mesmos. O metabolismo da linhagem ATCC 26603 parece ter sido mais sensível à presença do sorvato no meio, fato já observado por El-Sayed & El-Sayed (2014). Os autores explicam que no emprego de biomassa viva, a bioissorção é dependente do metabolismo e ocorre pela absorção do sorvato através da membrana celular; portanto, tem suas limitações em relação à toxicidade e manutenção dos níveis de nutrientes.

O emprego de *S. cerevisiae* para a bioissorção de selênio em efluente industrial pode ser observada na Figura 5.

Figura 5 – Valores médios da concentração de açúcares redutores (AR), massa celular seca (X) e concentração de selênio (Se) com respectivos desvios padrões e perfil cinético do consumo de AR e bioissorção de selênio obtidos nas duplicatas dos ensaios de bioissorção de selênio em meio GY contendo efluente industrial por: (a) *S. cerevisiae* ATCC 26603 (Ensaio BEI-1), (b) *S. cerevisiae* Univille 9080 (Ensaio BEI-2).



Fonte: Autor (2019).

O pH do efluente industrial utilizado foi de 2,37. Após adição dos nutrientes do meio GY, houve correção do pH para 4,5 e inoculação da mistura com os micro-organismos avaliados, assim como ocorreu nos demais experimentos, o pH permaneceu dentro da faixa ideal para o cultivo dos mesmos, conforme referenciado anteriormente.

Ao considerar como tempo de processo o mesmo período de tempo dos cultivos com selênio sintético ($t_f = 24$ h) ficou claro uma menor velocidade de acúmulo de biomassa celular para a cepa ATCC 26603, resultando em $X_{24h} = 5,0 \pm 0,2$ g/L. Para a cepa Univille 9080, o valor foi de X_{24h} foi de $6,0 \pm 0,1$ g/L.

Cabe ressaltar que, ao utilizar o efluente industrial como fonte de íons de Se, a concentração inicial do sorvato (Se_0) no meio reacional (12,78 a 15 mg/L) foi maior do que aquelas utilizadas com selenito de sódio comercial dissolvido em água pura ($Se_0 < 15$ mg/L). Isto pode ter ocorrido, devido à coleta do efluente ter ocorrido por mais de uma vez para a realização de ensaios. A empresa fornecia o efluente que vinha gerando e enviando a sua estação de tratamento, sem informar a concentração exata de Se total. A inibição do crescimento celular pela presença de maior concentração do sorvato, além da provável presença de outros contaminantes gerados na linha de produção de compostos de selênio da indústria química (dados não fornecidos pela empresa) podem ter contribuído para isto.

Para Buratto *et al.* (2012), na biossorção ativa, onde existe o emprego de células viáveis (vivas), o mecanismo do processo está associado com um sistema de defesa ativa dos micro-organismos, que reage na presença de metais tóxicos.

Pode-se observar uma continuidade na redução de Se mesmo após o término de crescimento do micro-organismo no meio em t_f .

Na Tabela 3 a seguir, são apresentadas as eficiências e capacidades de biossorção ativa das cepas utilizadas.

Tabela 3 – Eficiência (R%) e capacidade (Y) de bioissorção de selênio por (1) *S. cerevisiae* ATCC 26603 e (2) *S. cerevisiae* Univille 9080 cultivadas em meio de cultura contendo selenito de sódio comercial (BSS) ou selenito de sódio dissolvido em efluente de indústria química (BEI), com tempos de reação de 24 h e 120 h: Ensaio de bioissorção ativa.

Identificação dos Ensaio	R%		Y (mg/g)	
	24 h	120 h	24 h	120 h
BSS-1	67,18	84,16	0,97	1,06
BSS-2	54,94	78,17	0,52	0,72
BEI-1	63,73	77,03	1,91	1,63
BEI-2	28,11	82,71	0,60	1,82

Fonte: Autor (2019).

A partir da Tabela 3 é possível observar que nos ensaios conduzidos em um maior tempo reacional (tempo de contato sorvente/sorvato) ($t_f = 120$ h), foi possível observar uma maior eficiência na remoção de selênio ($R \approx 80\%$), quando comparado a $t_f = 24$ h ($29\% < R < 67\%$).

De uma maneira geral, comparando as duas linhagens de *S. cerevisiae* utilizados como bioissorventes ativos, verificou-se que a biomassa Univille 9080 (Ensaio BSS-2 e BEI-2) apresentou menor R do que a biomassa ATCC 26603 (Ensaio BSS-1 e BEI-1); principalmente em $t_f = 24$ h, tempo aproximado para atingir o final da fase de crescimento microbiano; e com o uso do sorvato dissolvido em efluente de indústria química (Ensaio BEI). O aumento de t_f de 24 h para 120 h proporcionou acréscimo em R de até 42% para ATCC 26603 (Ensaio BSS-2) e de até 190% para a cepa Univille (Ensaio BEI-2). Esse grande aumento percentual com a cepa Univille parece indicar uma maior sensibilidade inicial do micro-organismo ao meio reacional; porém, não é o que demonstram as cinéticas de crescimento e consumo de substrato mostradas na Figura 4, que foram semelhantes à cepa ATCC. A repetição do ensaio BSS-2, com triplicatas, poderia proporcionar uma melhor precisão na análise desse comportamento.

Comportamento semelhante foi observado em relação à capacidade microbiana de bioissorção (Y).

De acordo com Wang e Chen (2006), o tempo de contato sorvente/sorvato necessário para a remoção de diferentes tipos de metais por *S. cerevisiae* é, normalmente, rápido e frequentemente atinge o estado de equilíbrio em menos de uma hora ou em poucas horas. Porém, segundo os autores, esta afirmação é

verdadeira para o caso do uso de células inativas, onde inúmeros trabalhos publicados por diferentes autores têm demonstrado que a capacidade de bioissorção do micro-organismo aumenta com o prolongamento do tempo de contato. Ainda de acordo com os autores, poucos estudos da influência do tempo de contato têm sido realizados no cultivo da biomassa (forma ativa).

Para Malik (2004), mesmo na condição de baixo crescimento ou crescimento nulo, células de *S. cerevisiae* em cultivo continuam hábeis para remover íons metálicos do meio. Nesse caso, o autor recomenda dividir o processo de sorção em duas fases: uma primeira, denominada de bioissorção ativa ou consumo ativo e a subsequente, de bioissorção inativa ou consumo inativo; essa última independente do metabolismo microbiano. O conjunto dessas duas fases, é identificada pelo autor como bioacumulação.

Wang e Chen (2006) deixaram claro a necessidade de novas pesquisas visando o estabelecimento do tempo de equilíbrio (t_{equil}) entre células ativas e íons em solução. Neste trabalho, esse tempo também não foi precisamente determinado; porém, a partir da observação das Figuras 3 e 4 pode-se estimar um valor aproximado de t_{equi} da ordem de 70 h. A partir deste tempo, a remoção de Se do meio de cultivo é praticamente nula; conseqüentemente, nas condições experimentais experimentadas, não teria sido necessário prolongar o tempo de contato até 120 h, o que proporcionaria uma maior velocidade global do processo de bioissorção.

A maior eficiência de remoção de Se no tempo de 120 h, em todos os ensaios, sugere que nesses casos a bioissorção por micro-organismos vivos envolve tanto a redução e assimilação do sorvato durante a fase de crescimento celular quanto a adsorção dos íons na superfície do bioissorvente após término da fonte de carbono e crescimento. Para Ahalya *et al.* (2003), assim como Malik (2004), de uma maneira geral, a bioissorção de íons por organismos vivos ocorre, primeiramente, por uma ligação independente do metabolismo do organismo, onde os metais ficam ligados às paredes celulares e, em seguida, por adsorção intracelular (etapa dependente do metabolismo), onde os íons metálicos são transportados para o interior das células através da membrana celular.

Kieliszek *et al.* (2015) corroborou esse comportamento em relação ao selênio, afirmando que o processo de acumulação intracelular do sorvato ocorre através de transporte ativo da parede celular para o interior da célula microbiana, porém, o autor indica que para superar a impermeabilidade da membrana celular aos íons de selênio

é necessário um mecanismo de transporte específico. O autor evidencia ainda, que poucos estudos foram realizados para descrever esse processo de biossorção.

Para Shamim (2018), outros fatores podem afetar a adsorção de metais por biomassa viva; e incluem, temperatura, a natureza dos sorvatos, condições do meio, composição da parede celular, relação entre volume e área superficial do adsorvente e afinidade do metal pelo biossorvente.

4.4 Biossorção inativa

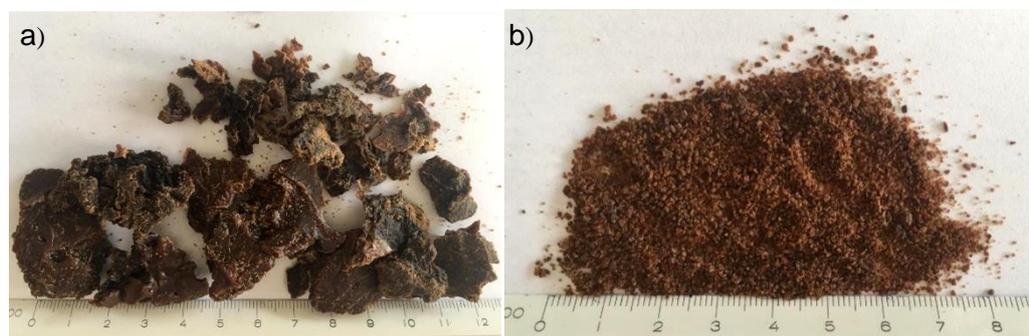
4.4.1 Caracterização do biossorvente seco

Após secagem, a biomassa microbiana coletada de efluente de indústria cervejeira, apresentou configuração rígida e caramelizada, provavelmente devido à presença de açúcares residuais após processo de fermentação.

A biomassa seca apresentou-se em forma de aglomerados irregulares e pontiagudos (Figura 6a). Após sua trituração, o material, desidratado (teor de umidade em base seca de 15, 38%) tornou-se homogêneo com formato circular (Figura 6b).

A classificação granulométrica desse material resultou num diâmetro médio das partículas de 0,6 mm, conforme mostrado no Apêndice A.

Figura 6 – Biomassa microbiana (*Saccharomyces cerevisiae*) coletada de efluente de indústria cervejeira, lavada e pré-tratada com etanol, após desidratação (a) e trituração (b).



Fonte: Autor (2019).

Com a moagem, os agregados formados após desidratação da biomassa foram destruídos e transformados em um biossorvente homogêneo. Além disto, a redução

do tamanho das partículas permite o aumento da área superficial disponível para a bioadsorção, conforme citado por Ghorbani *et al.* 2008 e Khakpour *et al.* 2014.

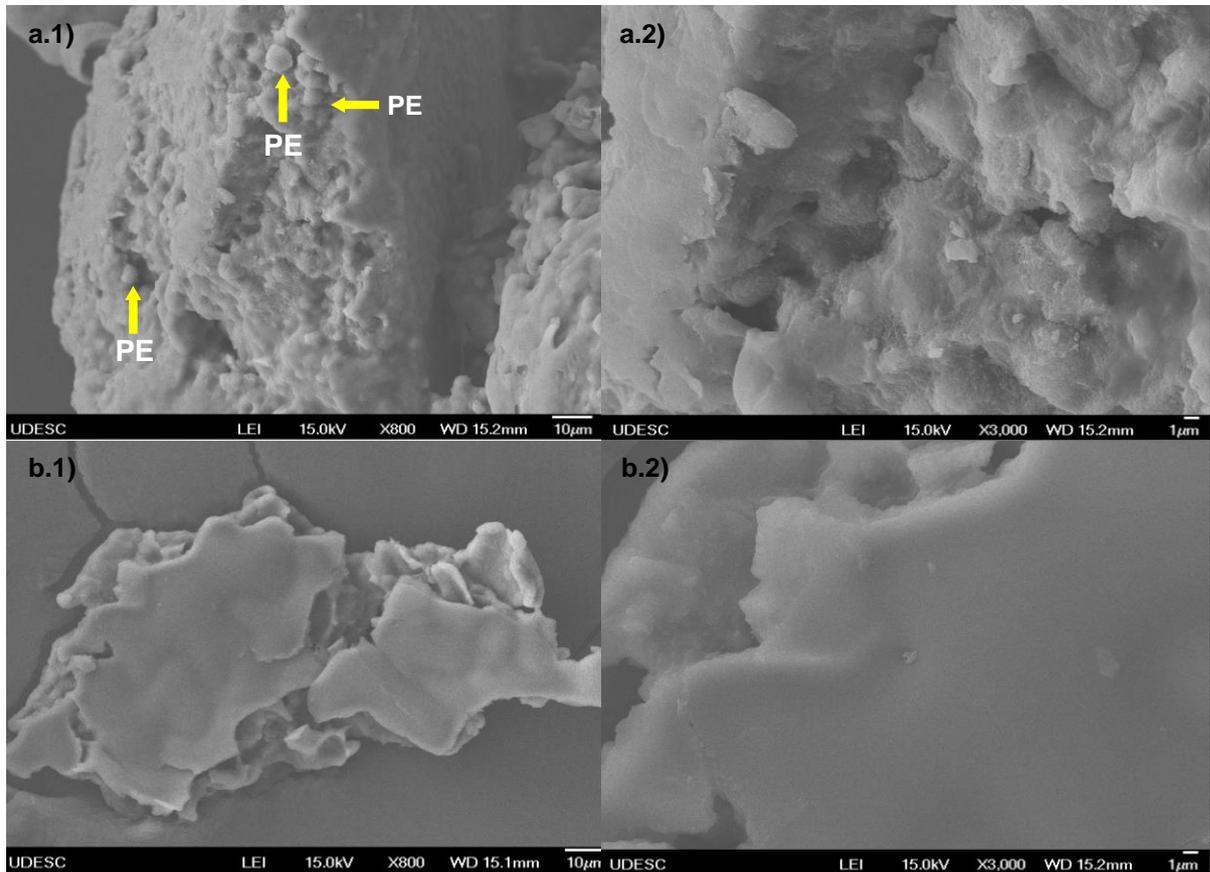
Com uma área maior para bioadsorção é possível uma maior exposição dos componentes intracelulares e mais locais de ligação do sorvato à superfície devido à destruição das membranas celulares (Wang & Chen, 2006). A importância da relação entre volume e área superficial do bioadsorvente foi reportada por Shamin (2018), evidenciando os trabalhos de Abbas *et al.* (2014) e Gadde *et al.* (1985).

Segundo Barros (2017), quanto menor for o tamanho da partícula do bioadsorvente, maior número de colisões ocorrerá entre as partículas e, conseqüentemente, maior será a velocidade de reação.

Kibami (2018) comenta que a modificação da superfície do adsorvente leva à formação de poros mais bem definidos e de diferentes formas e tamanhos, contribuindo, assim, com um maior aprisionamento de íons metálicos na sua estrutura.

A morfologia do bioadsorvente moído foi analisada por meio de micrografia eletrônica de varredura. A fim de avaliar a influência do pré-tratamento das partículas com etanol sobre a superfície do bioadsorvente desidratado (seco), comparou-se a sua morfologia (Figura 7a) com a do bioadsorvente seco, sem esse pré-tratamento (Figura 7b).

Figura 7 – Micrografias da biomassa microbiana de *Saccharomyces cerevisiae* obtidas por MEV: biomassa sem pré-tratamento com etanol (a) e com pré-tratamento em etanol (b). Imagem aumentada 800 vezes (a.1 e b.1) e 3.000 vezes (a.2 e b.2).



Fonte: Autor (2019).

Em ambos os casos, a presença de irregularidades na superfície da amostra de biomassa foi evidenciada, formada pelo aglomerado de células. A levedura sem tratamento (Figura 7a) apresentou um aspecto grânular, sendo possível notar, com aumento de 800 vezes, a presença de algumas partículas esféricas (PE), sinalizadas por setas amarelas.

As células tratadas com etanol (Figura 7b) demonstraram uma superfície homogênea, sem a presença visual de grânulos. Mesmo comportamento foi observado por Ghorbani *et al.* (2008), que consideraram o tratamento químico usando a esterificação com etanol com grupos carboxilas (-COOH) desfavorável para a manutenção da estrutura de poros na superfície do biossorbente. Para os autores, este fato conduziu a uma menor área superficial para a interação entre o sorvato e o sorvente em comparação ao material não tratado. Apesar disto, os autores destacaram a contribuição do uso do etanol sobre o diâmetro dos poros.

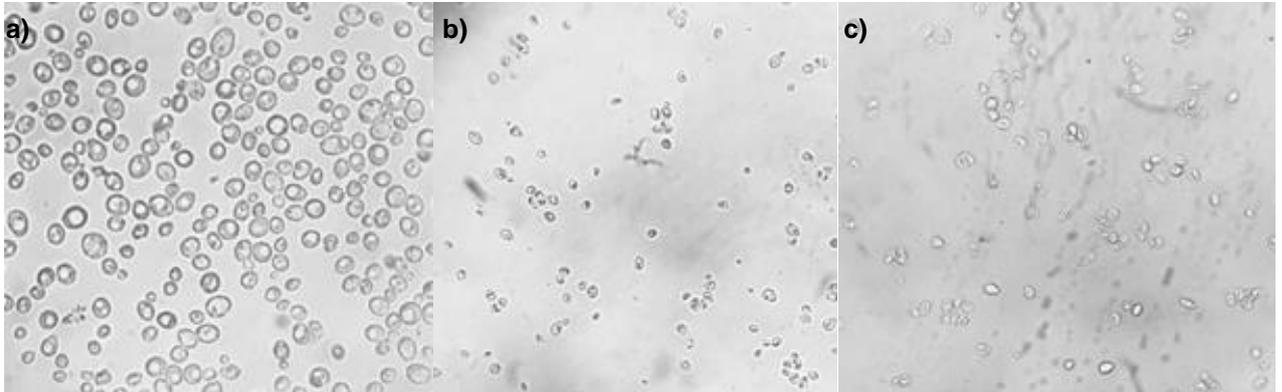
Para Khakpour *et al.* (2014) o pré-tratamento da biomassa com etanol possibilitou a remoção de impurezas da superfície do bioissorvente e, assim, contribuiu com a limpeza dos poros, aumentando os seus diâmetros de espaços vazios. Comparando com o uso da biomassa sem o pré tratamento, a biomassa pré-tratada proporcionou um aumento de 18% no tamanho dos poros do bioissorvente.

Neste trabalho, em análise de MEV, conforme sugerido por Khakpour *et al.* (2014) para a comparação entre a superfície pré-tratada e a sem pré-tratamento, não foi possível verificar visualmente o aumento dos poros na biomassa tratada, assim como obter resultados quantitativos dos parâmetros de área superficial. Sugere-se, para a continuidade deste trabalho uma melhor comparação entre essas superfícies análises complementares como, por exemplo, analisador de área superficial (BET).

Nos estudos de Ghorbani *et al.* (2008), foi observado que o uso da biomassa de *S. cerevisiae* pré-tratada com etanol aumentou a capacidade microbiana de bioissorção de cádmio, sendo que a remoção de cádmio do meio foi duas vezes maior do que a do micro-organismo sem tratamento. Para os autores, os maiores valores de bioissorção de metal obtidos pelas células de levedura tratadas com etanol podem ser explicados pelo aumento na acessibilidade dos íons metálicos aos sítios de ligação ativos na biomassa.

As células presentes na biomassa microbiana contida em efluente cervejeiro foram, também, analisadas morfológicamente por meio das imagens obtidas em microscópio óptico (Figura 8). As estruturas se referem aos diferentes estágios da biomassa durante o preparo do bioissorvente: biomassa úmida (Figura 8a), biomassa seca sem pré-tratamento com etanol (Figura 8b) e biomassa seca com pré-tratamento com etanol (Figura 8c).

Figura 8. Morfologia celular da biomassa de *S. cerevisiae* úmida (a), desidratada e sem pré-tratamento com etanol (b) e desidratada após pré-tratamento com etanol (c). Imagens obtidas por microscopia óptica com aumento de 400 vezes.



Fonte: Autor (2019).

Foi possível observar que as células de biomassa úmida (Figura 8a) se mantiveram uniformes com estrutura oval bem definida, comportamento diferente da Figura 8b e 8c. A fragilização das células da biomassa foi evidenciada nesses dois últimos casos (b e c), com células de diferentes formas e tamanhos. Uma hipótese levantada para essas características foi a forma de secagem empregada.

Para Labuto *et al.* (2015) o aquecimento (secagem) pode causar perda da estrutura secundária ou terciária das proteínas da parede celular da levedura, o que afeta a capacidade de sorção do biossorvente e seu comportamento por alterações na disponibilidade e exposição dos grupos seus funcionais.

Por meio da análise de microscopia óptica (Figura 8), assume-se que o tratamento térmico danifica a integridade das células de *S. cerevisiae*, o que afetaria a efetividade da biossorção caso a mesma fosse conduzida de forma ativa. Os ensaios de biossorção, com biossorvente seco e úmido, foram realizados com biomassa no estado inativo.

A remoção de impurezas superficiais, a ruptura da membrana celular e a exposição dos sítios de ligação disponíveis para a bioadsorção de metal após o pré-tratamento podem ocasionar o aumento da bioadsorção de metal. Assim, a eficiência de bioadsorção da biomassa morta pode ser maior, equivalente ou menor que a da biomassa viva, dependendo do método de pré-tratamento aplicado. É necessário realizar estudos mais detalhados para entender por que o aumento ou a redução na capacidade de adsorção ocorre sob condições específicas de pré-tratamento (AHALYA, 2003).

4.4.2 Ensaio de bioadsorção inativa

As concentrações de selênio total (soro) no início (Se_0) e no final (Se_f) de cada um dos ensaios de bioadsorção utilizando como soro, solução-estoque de selenito de sódio são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Concentrações médias de selênio total, com desvio padrão, determinadas no início (Se_0) e no final (Se_f) dos ensaios de bioadsorção inativa com *S. cerevisiae* residual de indústria cervejeira na sua forma de bioadsorvente úmido (BU) e bioadsorvente seco (BS). Tempo de contato bioadsorvente/soro: 48 h.

Ensaio	Soro (mg/L)	
	Se_0 ($t_0 = 0h$)	Se_f ($t_f = 48h$)
BU1-SS1	5,63 ± 1,12	0,20 ± 0,12
BU1-SS2	13,59 ± 0,72	7,17 ± 1,89
BU1-SS3	21,79 ± 2,49	14,29 ± 1,30
BU1-SS4	27,08 ± 0,35	19,47 ± 3,69
BU1-SS5	15,40 ± 4,65	0,87 ± 0,17
BU1-SS6	29,39 ± 0,55	0,73 ± 0,03
BS1-SS1	5,63 ± 1,12	0,63 ± 0,70
BS1-SS2	14,46 ± 0,50	5,02 ± 1,05
BS1-SS3	17,96 ± 0,61	7,52 ± 0,91
BS1-SS4	27,08 ± 0,47	13,48 ± 2,56
BS1-SS5	29,39 ± 0,55	21,14 ± 1,06
BS1-SS6	24,99 ± 5,10	12,13 ± 2,31

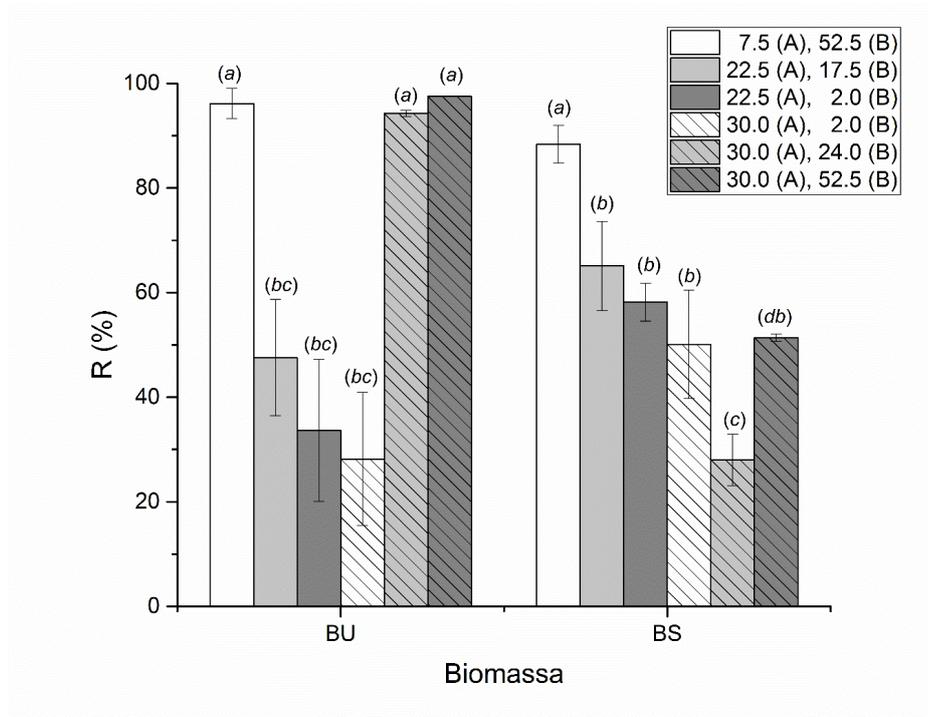
Fonte: Autor (2019)

Em todos os ensaios, pode-se verificar que houve bioadsorção de selênio, como previsto, porém a concentração inicial de selênio (Se_0) na maioria dos ensaios foi menor do que a planejada (Tabela 1), exceto para BU1-SS6, BS1-SS5 e BS1-SS6. As maiores diferenças percentuais entre o valor planejado (Tabela 1) e o valor médio experimental obtido (Tabela 4) foram de 40% no ensaio BU1-SS2 e de 49% em BU1-SS6, que fizeram parte do primeiro grupo de ensaios realizados. Essas diferenças ocorreram, provavelmente, em função de erro experimental no preparo e distribuição da solução sintética de selênio nos frascos de reação.

Outro fator que contribuiu para essas variações, foi a concentração do composto utilizado no preparo da solução estoque de selênio (Na_2SeO_3 98%, produto comercial Incasa, lote 112-033/17). De acordo com a empresa fornecedora, o composto deveria ter 446,9 g Se/kg de Na_2SeO_3 , porém, em posterior análise deste produto, diluído em água, constatou-se que a concentração real de Se total foi de 326,7g Se/kg de Na_2SeO_3 . Essa solução estoque foi utilizada na maioria dos ensaios. Após essa análise, foi preparada uma nova solução estoque e empregada nos últimos ensaios realizados, o que minimizou a diferença percentual entre Se_0 (Tabela 1) planejado e Se_0 experimentado (Tabela 4). Acredita-se que devido ao tempo de prateleira a solução estoque inicial tenha sofrido alteração, principalmente em relação à umidade.

Os valores de R% específicos a cada um dos tipos de bio sorventes empregados são mostrados na Figura 9, onde foi possível comparar as eficiências de bio sorção de selênio entre os bio sorventes seco e úmido.

Figura 9 – Valores médios com desvio padrão da eficiência de bio sorção (R) de selênio (A) por biomassa microbiana (B) seca (BS) e úmida (BU), após 48 h de tempo de contato sorvato/bio sorvente. Letras iguais representam médias sem diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Autor (2019).

De uma maneira geral, ao comparar os ensaios de mesmas concentrações de sorvato (A) e bioissorvente (B) e diferentes tipos de bioissorvente (BU e BS), é possível verificar que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores médios de R dos ensaios com menores A e B. Nos ensaios com maiores valores de A (30,0 mg/L) e B (24,0 g/L e 52,5 g/L), o uso de BU (Ensaio BU1-SS5) apresentou valor médio de R da ordem de 235% maior do que o do ensaio com BS (Ensaio BS1-SS5). Essa diferença reduziu para 89% entre os ensaios BU1-SS6 e BS1-SS6.

Esse comportamento pode ser explicado pelos danos na integridade celular do bioissorvente que podem ser causados pela secagem. El-Shafey (2007) empregou casca de arroz modificada na bioissorção de Cd (II) e Se (VI) e obteve mesmo tipo de resposta ao comparar BU e BS. Segundo os autores, a capacidade microbiana de bioissorção de BU foi ligeiramente maior do que para o BS em função da secagem ter alterado a estrutura física do adsorvente. Os poros de BS se tornaram mais estreitos do que em BU, o que contribuiu para que alguns locais de sorção se tornassem inacessíveis aos sorvatos empregados.

O fato de BU ter apresentado valores de R maiores que BS nas mesmas concentrações de selênio e bioissorvente utilizadas neste trabalho, permite indicar BU como o de maior potencial para a remoção de ions de selênio de meio aquoso. O bioissorvente BU foi utilizado praticamente como coletado, sem pré-tratamento com etanol e secagem, como o que ocorreu com BS. Isto possibilitaria a mistura direta de BU coletado na empresa cervejeira nos tanques de tratamento de efluentes da indústria química visando a redução da sua concentração de selênio por bioissorção.

Neste trabalho, a eficiência de BS não ocorreu da maneira esperada, principalmente nos ensaios com menor concentração de B (2,0 g/L) (Ensaio BS1-SS3 e BS1-SS4). Os valores médios de R nesses ensaios foram 60% menores que aquele evidenciado por Khakpour *et al.* (2014). Os autores indicaram essa concentração de biomassa, previamente tratada com etanol e desidratada, como suficiente para absorver até 96% de $Se_0 = 50$ mg/L, após 2 h de contato sorvato/bioissorvente, em pH 5,0. Pode ser que essa diferença tenha ocorrido em função do tipo de biomassa utilizada pelos autores (fermento comercial de padeiro cultivado em meio sintético rico em nutrientes e não biomassa microbiana residual de indústria cervejeira) e da forma de condução do processo (bioissorção em dois estágios com B = 2 g/L em cada um dos estágios e não em um único estágio com apenas B = 2 g/L). O uso do processo de dois estágios permitiu aos autores um maior

controle das relações de concentrações sorvato/biossorvente e do pH inicial em cada um dos reatores empregados. Não foram encontrados na literatura pesquisada outros trabalhos que tratassem do estudo do uso de *S. cerevisiae* como biossorvente seco ou úmido na biossorção de selênio.

A indicação de *S. cerevisiae* na forma BS para a biossorção de outro tipo de ion também foi feita por Ghorbani *et al.* (2008). Contudo, os autores verificaram apenas a influência do uso do pré-tratamento com etanol sobre R em comparação ao mesmo tipo de biomassa seca sem pré-tratamento. Nesse caso, os autores demonstraram que o uso do pré-tratamento proporcionou um aumento de até duas vezes na capacidade de biossorção de cádmio em comparação ao micro-organismo não tratado. Os autores explicam que o uso do etanol permitiu o aumento da acessibilidade dos íons metálicos aos sítios de ligação na biomassa, e consequentemente, maiores eficiências de biossorção.

Com isto, pode-se vislumbrar a realização de novos ensaios a fim de comparar a eficiência do biossorvente BU de *S. cerevisiae* nas condições de pré-tratamento e sem pré-tratamento com etanol. O principal seria buscar o incremento de R.

Ao comparar de forma individual cada um dos ensaios apresentados na Figura 8, verifica-se que a maior eficiência na biossorção de Se ($R = 97,52\%$) foi obtida no ensaio BU1-SS6, onde foi empregada a maior concentração de BU (52,5 g/L) e de sorvato ($A = 30$ mg/L, proveniente de selenito de sódio comercial).

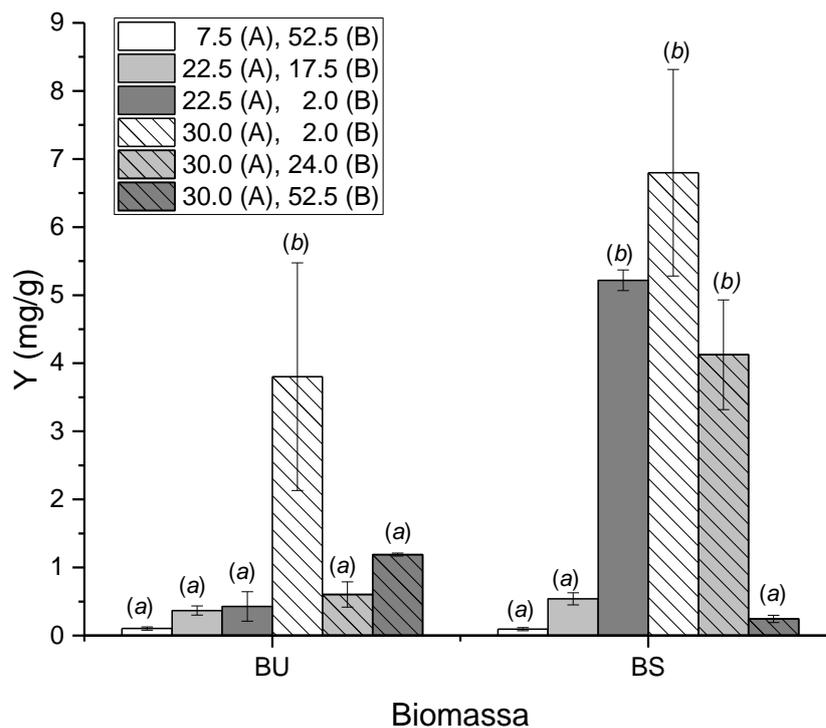
A dosagem de um biossorvente é um dos fatores que influencia no processo de biossorção, e consequentemente nos valores de R. Para Abdi & Kazemi (2015), um aumento na concentração de biomassa aumenta a quantidade de soluto biossorvido, devido à maior área superficial do biossorvente disponível, que por sua vez aumenta o número de sítios de ligação.

Nascimento *et al.* (2018) em seus estudos evidenciaram a influência da concentração do biossorvente BS sobre a eficiência de biossorção de Cu (II) por biomassa comercial *S. cerevisiae* Perlage[®]BB. Seus resultados indicaram um maior R (76%) na condição de maior concentração de biomassa (20 g/L). Esse valor foi aproximadamente 90% maior do que aquele com menor valor de B (2 g/L). Os autores explicam que essa eficiência aumentou simplesmente pelo aumento da concentração de biomassa, o que proporcionou maior área superficial de biossorvente e, consequentemente, maior número de sítios ativos para captura do sorvato.

Além da eficiência, muitos autores têm avaliado, também, a capacidade de bioissorção (Y) de diferentes biomassas frente a diferentes sorvatos (MALIK, 2004; WANG & CHEN, 2006; SHAMIM, 2018). Para Atkinson (1998), Y relaciona a unidade de massa de biomassa capaz de capturar uma unidade de massa do sorvato por ciclo de tratamento.

Os valores de Y obtidos neste trabalho com o uso de biomassa microbiana proveniente de efluente de indústria cervejeira são apresentados na Figura 10.

Figura 10 - Valores médios de capacidade microbiana de bioissorção (Y) com desvio padrão obtidos nos ensaios de bioissorção de selênio em solução sintética com bioissorvente úmido (BU) e com bioissorvente seco (BS). Letras iguais representam médias sem diferença significativa pelo teste F ($p < 0,05$).



Fonte: Autor (2019).

Um comportamento comum na capacidade de bioissorção (Y) foi observado ao comparar os pares BU e BS de mesmas concentrações de sorvato e bioissorvente. Ao contrário do que foi observado em relação a R , os maiores valores de Y foram obtidos nos ensaios empregando BS: Ensaios BS1-SS3, BS1-SS4 e BS1-SS5, os quais se mostraram estatisticamente iguais quando comparados em pares. Os ensaios BS1-

SS3 e BS1-SS4 possuem concentração de biossorvente ($B = 2,0 \text{ g/L}$), menor do que as empregadas nos demais ensaios. Com isto, pode-se presumir que cada unidade de biomassa dos ensaios BS1-SS3 e BS1-SS4 pode capturar maior quantidade de sorvato. O valor médio de Y , considerando todos os valores individuais de Y desses dois ensaios, foi de $6 \pm 1 \text{ mg/g}$. Esse valor foi 51% menor do que aquele alcançado por Khakpour *et al.* (2014) ($Y = 12 \pm 2 \text{ mg/g}$), com o uso do mesmo tipo de BS.

A maior capacidade de biossorção de BS em relação a BU é explicada por Ahalya *et al.* (2003). Para os autores, o pré-tratamento da biomassa com álcalis, ácidos, detergentes e aumentam a afinidade do metal pela biomassa. As propriedades de biossorção de fermento de padeiro foram estudados por Goksungur *et al.*, (2005), para remoção de cádmio e chumbo, comparando células que receberam algum pré-tratamento e células sem pré-tratamento. A fim de investigar o efeito de diferentes pré-tratamentos na captação dos metais pela biomassa, as células foram tratadas com etanol, soda cáustica e calor. Os maiores valores de Y foram obtidos com biomassa pré-tratadas com etanol ($15,63 \text{ mg/g}$ para Cd^{2+} e $17,49 \text{ mg/g}$ para Pb^{2+}). As células tratadas com calor e soda cáustica obtiveram valores próximos a esses. Todas as células pré-tratadas, apresentaram valores de Y superiores àquelas que não receberam o pré-tratamento.

A capacidade de sorção de uma mesma concentração de biomassa pode ser, também, afetada pela quantidade do sorvato presente no meio (HADIANI *et al.*, 2018; SHAMIM, 2018), a qual reflete diretamente sobre o equilíbrio entre o sorvato absorvido e o sorvato não-adsorvido, livre no meio. Os valores dessas constantes de equilíbrio podem ser obtidas a partir de uma série de ensaios planejados utilizando mesma concentração de adsorvente (B) e diferentes concentrações de sorvato (A). Para tanto, são normalmente indicados o modelo de adsorção de Langmuir em condições de menores A e o modelo de Freundlich altos valores de A (KHAKPOUR *et al.*, 2014). Segundo Khakpour *et al.* (2014), de acordo com a isoterma de Langmuir, a capacidade máxima de biossorção de Se por BS na concentração de 2 g/L de biomassa é de $115,79 \text{ mg/g}$. Para os autores, esse processo é melhor representada por uma equação rápida e atinge o equilíbrio em pouco tempo de contato entre sorvato e adsorvente; e a segunda é uma reação mais lenta que pode continuar por longos períodos. Essas reações podem ocorrer em série ou em paralelo.

Em contrapartida, nos ensaios realizados neste trabalho, com maiores B e menores A, observou-se menores valores de Y, isto porque ocorreu, nessas condições uma menor relação de massa entre A e B.

Esse comportamento é corroborado por Khakpour *et al.* (2014). Os seus ensaios mostraram que com o aumento da dose de *S. cerevisiae* de 0,25 a 2 g/L, a eficiência de remoção de selênio aumentou de 17,3% para 45,2%. No entanto, a capacidade de biossorção de B = 0,25 g/L foi de cerca de 14,0 mg/L enquanto que, para B = 2 g/L, foi de 9,6 mg/g. Aumentando B de 2 g/L para 10 g/L (valor máximo avaliado pelos autores) não houve diferença significativa entre R; contudo, o valor de Y foi reduzido para 0,9 mg/L. De acordo com Khakpour *et al.* (2014), a quantidade elevada de biomassa pode causar uma maior colisão entre essas partículas, o que poderia levar à dessorção de ions já capturados e uma competição entre as reações de adsorção e dessorção.

Para Atkinson *et al.* (1998), ao determinar a viabilidade para a aplicação de um determinado biossorvente, a capacidade máxima do agente para sequestrar metais em sua superfície contribuirá consideravelmente para o custo total do processo. Este valor medido influencia diretamente sobre a massa (ou volume) de biomassa necessária por ciclo de tratamento, que, por sua vez, determina a quantidade de lodo gerado para o descarte, bem como o custo e o tipo de transporte necessário.

A partir dos resultados obtidos até aqui, com selenito de sódio comercial como fonte de Se, prosseguiu-se a pesquisa utilizando, agora, efluente industrial proveniente da indústria química contendo Se em até 30 mg/L, objetivo geral deste trabalho. Nestes ensaios utilizou-se, sempre, BU; e assim como nos ensaios anteriores, foi planejado o uso de diferentes concentrações de biossorventes no meio reacional. Conseqüentemente, diferentes volumes do efluente da indústria cervejeira foram utilizados para atingir-se os valores de B desejados (Tabela 2). Com isto, diferentes valores de Se_0 resultaram da mistura dos dois efluentes industriais, um com biomassa e o outro contendo Se, conforme mostra a Tabela 5.

Tabela 5: Concentrações de selênio (A) dissolvidos em efluente de indústria química observadas no início (Se_0) e no final (Se_f) dos ensaios de biossorção inativa por biossorvente (B) úmido de efluente de indústria cervejeira em diferentes valores de pH inicial; e respectivos valores de eficiências de biossorção (R) e capacidades microbianas de biossorção (Y). Tempo de contato sorvato/biossorvente de 48h.

Ensaio	pH inicial	A (mg/L)		B (g/L em massa seca)	R (%)	Y (mg/g)
		Se_0 (t = 0h)	Se_f (t = 48h)			
BU2-EI1	2,7	22,5	13,69	17,5	39,15	0,50
BU2-EI2	3,9	15,0	8,49	35,0	43,40	0,19
BU2-EI3	4,1	7,50	3,86	52,5	48,50	0,07
BU2-EI4	4,5	22,5	9,74	17,5	56,70	0,73
BU2-EI5	4,5	15,0	4,23	35,0	71,80	0,31
BU2-EI6	4,5	7,50	1,25	52,5	83,30	0,12

Fonte: Autor (2019).

Para estes ensaios não foi possível realizar análise estatística devido a indisponibilidade da empresa responsável pelas análises de Se em processar as duas amostras coletadas de cada um dos ensaios realizados, no mínimo, em duplicata.

Nestes ensaios, foi possível verificar a influência do pH para o processo de biossorção. Nos ensaios onde houve ajuste do pH do efluente para valores da ordem de 4,5 (Ensaio BU2-SS4, SS5 e SS6), houve maior redução percentual de selênio. A maior porcentagem alcançada na redução da concentração de Se (R = 83,3%) ocorreu no ensaio BU2-EI6, onde foi utilizado maior concentração de biossorvente (B = 52,5 g/L) com menor concentração do sorvato (A = 7,5 mg/L). Este comportamento já havia sido observado nos ensaios de biossorção inativa utilizando selenito de sódio comercial dissolvido em água pura.

Para Sekhar *et al.* (1998) o processo de biossorção com biomassa inativa é análogo a um processo de troca iônica visto que o pH tem efeito significativo na adsorção de íons. O pH da solução influencia tanto nos sítios de ligação do sorvato na superfície celular quanto na química do elemento em solução (estado de oxidação).

Hadiani *et al.*, (2018) observou que a biossorção de íons Pb e Cd em solução aquosa de *S. cerevisiae* foi melhor em pH 5,0; e a taxa de biossorção dos íons aumentou com o aumento do pH da solução, variando de 4 a 5. Para valores de pH maiores e menores que 5 houve redução da eficiência de biossorção.

Comportamento semelhante em relação ao pH foi encontrado nos estudos realizados por Khakpour *et al.* (2014), onde a capacidade máxima da biossorção de selênio foi obtida em pH 5,0. Abaixo e acima desse valor, a capacidade de captura do sorvato diminui. Os autores sugerem que o aumento na eficiência de remoção de selênio pode ser atribuído à ionização de grupos funcionais da estrutura celular da levedura, a qual ocorre de forma mais adequada para o processo de biossorção em pH 4,5 a 5,0.

Como observado nos ensaios empregando solução de selenito de sódio comercial, a maior redução de selênio ocorreu no ensaio BU2-EI6, empregando uma maior concentração de biossorvente ($B = 52,5 \text{ g/L}$).

É possível observar que no ensaio BU2-EI1, onde empregou-se uma maior concentração de sorvato no meio ($A = 22,5 \text{ mg/L}$) e, conseqüentemente, maior volume de efluente industrial e menor volume de efluente de indústria cervejeira no meio ($B = 17,5 \text{ g/L}$) em pH menor que 4,0; obteve-se a menor eficiência de remoção de Se ($R = 39,15 \%$). Além dessas características é preciso considerar que a real composição química do efluente não é conhecida (empresa não permitiu a caracterização do seu efluente industrial). No caso da existência de outros compostos no meio que possam competir pela ligação Se-biomassa, quanto maior o volume do efluente da indústria química utilizado na mistura reacional, maior será, também, a concentração desse competidor no meio reacional.

Nos processos industriais, é evidente a interferência exercida pela presença conjunta de íons sulfato nos efluentes a serem tratados. Isto se deve ao fato de a química do selênio ser semelhante à do enxofre (ambos pertencem ao grupo VI A da tabela periódica). As espécies químicas de selênio (seleneto, selenito, selenato e selenocianato) encontradas nos efluentes de atividades agrícolas e industriais, como refino de petróleo, mineração e geração de energia, equiparam-se às principais espécies de enxofre encontradas no mesmo tipo de efluente: sulfeto, sulfito, sulfato e tiocianato (TWIDWELL *et al.*, 2004).

Para Vijayaraghavan & Balasubramanian (2015), a presença de co-íons influencia fortemente a capacidade de remoção do biossorvente em relação a um determinado soluto. Como a biossorção é um processo passivo, no qual vários grupos químicos ou componentes químicos da mesma biomassa desempenham um papel importante na biossorção de metais, pode-se esperar uma interação complicada na presença de muitos íons, impossibilitando a redução efetiva do íon de interesse.

Segundo Wang & Chen (2006), o efluente industrial, principalmente de indústria química, geralmente contém vários componentes, incluindo cátions e ânions metálicos; e normalmente, a capacidade de bioissorção de um íon metálico de interesse é interferido e reduzido por estes co-íons.

Malik (2004) em seus estudos de bioissorção, deixa claro que apesar de haver vários trabalhos que demonstraram o alto potencial de bioissorção de vários tipos de biomassas microbianas para inúmeros metais, muito pouco tem sido publicado com o uso real de efluente industrial. O autor explica que a maioria desses estudos de bioissorção vem utilizando soluções sintéticas de sorvato. Nos poucos casos em que foram utilizados efluente industrial, a eficiência tem sido mostrada muito baixa em comparação às soluções sintéticas.

No presente estudo, mesmo com o uso de efluente industrial como fonte do sorvato, a eficiência de bioissorção de selênio em pH 4,5 pode ser considerada satisfatória. Comparando os valores de R e Y correspondentes aos ensaios com maiores valores de A e B utilizando efluente de indústria química (Tabela 5; Ensaios BU2-EI5 e BU2-EI6) com aqueles onde utilizou-se solução sintética de Se (Figuras 10 e 11; Ensaios BU1-SS5 e BU1-SS6) é possível constatar que, em média, houve uma redução de 19% em R e, de maneira mais destacada, de 68% em Y ao substituir a solução sintética por efluente da indústria química.

Assim como ocorreu nos ensaios com solução sintética, é possível observar na Tabela 5 que os ensaios com altas eficiências de bioissorção (R), não foram os mesmos com altas capacidades de bioissorção (Y). É importante estar atento a esse parâmetro pois um maior valor de R nem sempre significa uma maior capacidade microbiana (Y) para a remoção do contaminante. Nos ensaios utilizando efluente industrial, o maior R (83,30%) foi obtido ao empregar a menor proporção entre sorvato ($A = 7,5 \text{ mg/L}$) e bioissorvente ($B = 52,5 \text{ g/L}$), o que resultou em uma remoção em torno de 6,25 mg de selênio do meio reacional (Ensaio BU2-EI6). Para o ensaio BU2-EI4 ($A = 22,5 \text{ mg/L}$, $B = 17,5 \text{ g/L}$) o valor de R (56,70%) foi 32% menor do que o de BU2-EI6; porém, proporcionou a remoção de Se da ordem de 12,8 mg. Ou seja, a capacidade de bioissorção das células em BU2-EI4 foi maior do que em BU2-EI6.

A seleção de um bioissorvente para tratamento de efluente industrial frente aos seus valores de R e Y dependerá da concentração final do poluente que se deseja remover e da concentração de bioissorvente necessária para isto. Caso não se deseje recuperar o adsorbato e, principalmente, o bioissorvente a ser empregado é de baixo

custo de aquisição, o parâmetro Y se torna menos importante do que R. Esta condição foi tratada neste trabalho, ou seja, avaliar o potencial do uso de efluente da indústria cervejeira para reduzir a concentração de selênio contido em efluente de indústria química.

Tomando como base de cálculo a capacidade máxima ($Y_{\text{máx}} = 0,73 \text{ mg/g}$) encontrada nos ensaios de biossorção inativa de Se de efluente da indústria química por biomassa úmida (Tabela 5); empregando a maior concentração inicial de selênio ($Se_0 = 22,5 \text{ mg/L}$) na mistura sorvato-biossorvente, é possível avaliar se a quantidade diária de biomassa disponibilizada pela indústria cervejeira é suficiente para a biossorção desejada de Se. Com o volume diário de efluente gerado pela indústria química ($7 \text{ m}^3/\text{dia}$) contendo, em torno de 30 mg/L de Se, estima-se que para a remoção de todo o selênio existente ($0,21 \text{ kg/dia}$) seria necessário uma quantidade mínima de $287,7 \text{ kg/dia}$ de biomassa microbiana (em massa seca). A partir da concentração média de biomassa determinada no efluente da indústria cervejeira ($B = 97,3 \text{ g/L}$, em massa seca) seria necessário um volume mínimo de $2,96 \text{ m}^3/\text{dia}$, ou seja, em torno de 59 vezes maior que o disponibilizado, atualmente, pela cervejaria (50 L/dia).

De acordo com a indústria cervejeira que cedeu o biossorvente, a partir de 2019, com o início das atividades nas suas novas instalações industriais, o descarte de biomassa residual deverá aumentar em, no mínimo, 10 vezes a quantidade atual.

Segundo Santos e Ribeiro, (2005), para cada m^3 de cerveja produzida são gerados, em média, cerca de 140 a 200 kg de massa seca de levedura. Sendo assim, a busca por pequenas indústrias de cervejas artesanais na região de Joinville que disponibilizem a coleta desse tipo de descarte, poderá contribuir com o aumento da quantidade de biomassa disponível para uso como biossorvente. Contudo, faz-se necessário um levantamento de todo esse volume disponível, bem como do custo de transporte do efluente até a Estação de Tratamento de Efluentes da indústria química, geradora do efluente com selênio.

5. CONCLUSÕES

A avaliação de duas diferentes cepas de *S. cerevisiae* (ATCC 26603 e Univille 9080) nos ensaios de bioissorção ativa, mostraram que ambas as cepas possuem potencial para a bioissorção de selênio (IV) dissolvido em efluente industrial. Durante os cultivos conduzidos a 30 °C, 120 min⁻¹ e pH inicial de 4,5 ficou evidenciado o tempo máximo de 24 h necessário para ser consumido todo o açúcar redutor (AR ≈ 40 g/L) disponível aos micro-organismos e, concomitantemente, cessar o crescimento microbiano. Porém, a redução da concentração de selênio prosseguiu até 120 h para as duas cepas demonstrando, assim, que a bioissorção pode ocorrer de forma dependente do crescimento e de forma independente. A maior eficiência de bioissorção de Se em efluente industrial ($R = 82,7\%$), com respectiva maior capacidade microbiana de bioissorção ($Y = 1,82 \text{ mg/g}$) foram obtidas em $t = 120 \text{ h}$ com a cepa Univille 9080. O maior R foi obtido no ensaio de maior concentração de bioissorvente e menores concentrações de sorvato; enquanto que o maior Y foi observado no ensaio de maior concentração inicial de Se e baixas concentrações do bioissorvente. Este comportamento indica que a reação de bioissorção de Se foi dependente das duas concentrações e, portanto pode ser classificada como uma reação de segunda ordem, conforme sugerido por Khakpour *et al.* (2014).

Ao comparar a eficiência e a capacidade microbiana de bioissorção inativa de selênio utilizando *S. cerevisiae* nas condições de biomassa úmida (sem pré-tratamento) e biomassa seca (pré-tratada com etanol), a biomassa úmida apresentou melhores resultados. A maior eficiência de bioissorção inativa, $R = 97,52 \%$, foi resultante do emprego de uma maior concentração de bioissorvente ($B = 52,5 \text{ g/L}$) e maior concentração de sorvato ($A = 29,39 \text{ mg/L}$) proveniente de solução sintética de selenito de sódio comercial. Com efluente de indústria química, o valor de R foi reduzido para 83,3% utilizando mesmo B e bem menor valor de A (7,5 m/L); demonstrando assim uma redução de 84% na capacidade de bioissorção (Y) de selênio pelo mesmo tipo de bioissorvente ao utilizar efluente industrial ($Y = 0,12 \text{ mg/L}$) no lugar de solução sintética $Y = 0,73 \text{ mg/L}$.

O emprego de biomassa microbiana residual gerada por indústria cervejeira apresentou potencial para uso como bioissorvente de selênio, principalmente na sua forma de biomassa úmida. Fator positivo, pois em termos de processo, não seriam

necessários altos investimentos pela empresa onde os estudos foram realizados, para o pré-tratamento da biomassa.

O tratamento por meio de bioissorção com biomassa úmida descartada por indústria cervejeira pode ser utilizado como processo adicional ao tratamento de efluente de indústria química da região de Joinville, que possui um residual de selênio total na faixa de 30 mg/L. A bioissorção, combinada com outros processos de redução de contaminantes já estabelecidos na literatura especializada e alguns deles utilizados pela empresa, poderá contribuir para uma maior remoção deste contaminante em comparação àquela atualmente existente no efluente descartado.

Apesar de não ter sido possível reduzir a concentração do poluente presente nos meios avaliados para aquela pretendida ($A < 0,30$ mg/L, em atenção à Resolução CONAMA N° 430) e desta forma, contribuir para o atendimento da legislação de Santa Catarina ($A < 0,02$ mg/L, Decreto N° 14.250) o aproveitamento de biomassa residual da indústria cervejeira mostrou ser de grande potencial para uso e que merece a continuidade deste estudo. Uma possibilidade para a obtenção de maiores reduções na concentração de Se em efluentes seria o uso de *S. cerevisiae* combinada com outros potenciais bioissorventes que apresentem maior capacidade de bioissorção.

6. SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO

Para complementação dos resultados obtidos neste trabalho e contribuir para o tratamento do efluente industrial com selênio residual, sugere-se:

- a) Devido à quantidade de biomassa necessária para a bioadsorção desejada de selênio em efluente da indústria química ser da ordem de 59 vezes maior do que a atualmente disponibilizada pela indústria cervejeira, sugere-se o estudo para o uso combinado desta biomassa com outros potenciais bioadsorventes, como por exemplo, biomassa vegetal.
- b) Desenvolver e empregar métodos que possam marcar os íons de Se e, desta forma identificar os locais de sua captura pelos bioadsorventes e compreender um pouco mais todo o processo de bioadsorção, tanto por biomassa ativa (células vivas) quanto por biomassa inativa (células mortas). Este estudo seria de grande contribuição científica uma vez há poucos trabalhos sobre isto no mundo.
- c) Construir as isotermas de adsorção e determinar as concentrações de equilíbrio do Se empregando diferentes concentrações de sorvato e mesmas concentrações de bioadsorvente. Sugere-se utilizar biomassa úmida e biomassa seca como bioadsorventes a fim de melhor estabelecer a sua influência sobre a capacidade de bioadsorção das biomassas.
- d) Caracterizar o lodo proveniente do processo de bioadsorção para fins de destinação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, S, H; ISMAIL, I.M.; MOSTAFA, T.M.; SULAYMON, A.H. **Biosorption of Heavy Metals: A Review**. Journal of Chemical Science and Technology, v. 3, p. 74-102, 2014.
- ABDI, O.; KAZEMI, M. **A review study of biosorption of heavy metals and comparison between different biosorbent**. J. Mater. Environ. Sci., v 6, p. 1386-1399, 2015.
- ACOSTA, I., R., MARTÍNEZ-JUÁREZ, V., M., CÁRDENAS-GONZÁLEZ, J., F., MOCTEZUMA-ZÁRATE, M., G. **Biosorption of Arsenic (III) from Aqueous Solutions by Modified Fungal Biomass of *Paecilomyces Sp.*** Bioinorganic Chemistry and Applications.PMC, 2013.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 7217: Determinação da Composição Granulométrica, 1987.
- AHALYA, N.; RAMACHANDRA, T.V.; KANAMADI, R.D. **Biosorption of heavy metals. Research**. Journal of Chemistry and Environment. Vol 7, 2003.
- ALLURI, H.K.; RONDA, S.R.; SETTALLURI, V.S.; BONDILI, J.K. **Biosorption: An eco-friendly alternative for heavy metal removal**. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (25), pp. 2924-2931,2007.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM E871–82: **Standard Test Method for Moisture Analysis of Particulate Wood Fuels**, West Conshohocken, PA, 2013.
- ATKINSON, B. W.; BUX, F.; KASAN, H.C. **Considerations for Application of Biosorption Technology to Remediate Metal Contaminated Industrial Effluents**. Water S.A, p. 129-135, 1998.
- ATKINS, P.; JONES, L. Chemistry—Molecules, Matter and Change, 4rd ed., W. H. Freeman, New York,886 p., 1997.
- BARROS, A.J.M. **Estudo de formação de complexos pelo processo de bioissorção**. Tese de Doutorado, Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 140 p, 2006.
- BARROS, D.C.; CARVALHO, G.; RIBEIRO, M.A. **Processo de bioissorção para remoção de metais pesados por meio de resíduos agroindustriais: uma revisão**. Revista Biotecnologia & Ciência v.6, n.1, p.01-15, 2017.
- BILLERBECK, T.N. **Remoção de metais em efluente de laboratório de análise de solo por meio de bioissorção com resíduo de *Saccharomyces cerevisiae***. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Universidade Federal do Paraná, Universität Stuttgart e SENAI Paraná, 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2005). **Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. (RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005). Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3. Acesso em 12 de Novembro de 2018.

BRADY, D. ; STOLL, A.; DUNCAN, J.R. **Biosorption of heavy metal cations by non-viable yeast biomass**, Environmental Technology, vol 15, pp 429-438, 1994.

BURATTO, A.P.; FERREIRA, E.S.; ROCHA, R. D.C. **Estudo da bio sorção de Cobre (II) utilizando biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus*: Planejamento Fatorial**. 3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente, 2012.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente/Ministério do Meio Ambiente, Brasil. Resolução no 430, de 13 de maio de 2011. Disponível em: <www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em 15 de maio de 2017.

CHEN, C.; WANG, J.. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review.2006. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 5, p. 427-451.

CHOJNACKA, K. **Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications**. Environment International 36, 299–307, 2010.

CHOJNACKA, K.; MIKULEWICZ, M. **Green analytical methods of metals determination in biosorption studies**. Department of Advanced Material Technologies, Faculty of Chemistry, Wrocław University of Technology, Smoluchowskiego 25, 50-372, Poland, 2019.

CORONA, T.P.; MADRID, Y.; GMARA, C. **Evaluation of antimony selective uptake of selenium (Se(IV) and Se(VI)) and (Sb(III) and Sb(V)) species by baker's yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*)**, 1996.

COSSICH, E. S. **Bio sorção de Cromo (III) pela Biomassa da Alga Marinha *Sargassum* sp.** 2000 147p. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas, 2000. Disponível em <<http://www.icp.csic.es/cyted/Monografias/MonografiasTeneria/capitulovii.htm>> Acesso em 20 de Junho de 2017.

CRISPINO, C.C. **Determinação de As, Sb e Se em material agrônomo por espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido com geração de hidretos (HG-ICP-OES)** Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Departamento de Química, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2005.

DA SILVA, J.L.B.C.; PEQUENO, O.T.B.L.; ROCHA, L.K.S.; ARAÚJO, E.C.O.; MARCIEL, T.A.R.; BARROS, A.J.M. **Bio sorção de Metais Pesados: Uma Revisão**. Revista Ciência e Saúde, v. 3, p. 137-149, 2014.

DAI, Y.; SUN, Q.; WANG, W. **Utilization of agricultural waste as adsorbent for the removal of contaminants: A review**. Chemosphere, v. 211, p. 235-253, 2018.

DEL RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae***. 66p Dissertação de mestrado (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

DI CAPRIO, F.; ALTIMARI, P.; UCCELLETTI, D.; PAGNANELLI, F. **Mechanistic modelling of copper biosorption by wild type and engineered *Saccharomyces cerevisiae* biomasses**. Chemical Engineering Journal 244, 561-568, 2014.

EL-SAYED, H.E.M.; EL-SAYED, M.M.H. **Assessment of Food Processing and Pharmaceutical Industrial Wastes as Potential Biosorbents: A Review**. Biomed Research International, 2014.

EL-SHAFFEY, E.I. **Sorption of Cd(II) and Se(IV) from aqueous solution using modified rice husk**. Journal of Hazardous Materials, v. 147, p. 546–555, 2007.

EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Aquatic Life Criterion – Selenium**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/wqc/aquatic-life-criterion-selenium>>. Acesso em 21 de dezembro de 2017.

FADEL, M.; HASSANEIN, N. M.; ELSHAFFEI, M. M.; MOSTAFA, A. H.; AHMED, M. A.; KHATER, H. M. **Biosorption of manganese from groundwater by biomass of *Saccharomyces cerevisiae***. Housing and Building National Research Center – HBRC Journal, 12, 106-113, 2017.

FAQUIN, Valdemar. **Nutrição Mineral de Plantas**. -- Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. p.: il. - Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente.

FARIA, L.A.; KARP, F.H.S. **Selênio: um elemento essencial ao homem e aos animais e benefício às plantas**. Informações Agronômicas n. 149, p. 17-22, 2015.

HUIGE, Nick J. Handbook of brewing - Brewery by-products and effluents. p. 656-713. Boca Raton: CRC Press, 2006.

FEBRIANTO, J.; KOSASIH, A. N.; SUNARSO, J.; JU, Y.; INDRASWATI, N.; ISMADJI, S. **Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies**. Journal of Hazardous Materials 162, 616–645, 2009.

FERREIRA, J. M.; SILVA, F.L.H.; SANCHEZ, O.L.; CONRADO, L.S.; CAVALCANTI, E.B.; GOMES, W.C. **Estudo do Equilíbrio e Cinética da Biossorção do Pb²⁺ por *Saccharomyces cerevisiae***, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, PB, 2007.

FOMINA, M.; GADD, M. **Biosorption: current perspectives on concept, definition and application**. Bioresource Technology, 2014.

Food and Nutrition Board. **Selenium: Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, p.284-324, 2000.

GADD, G.M. **Biosorption:critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment**. J. Chem. Technol.Biotechnol. 84, 13–2, 2009.

GHARIEB, M. M.; GADD, G. M. **The kinetics of ⁷⁵[Se]-selenite uptake by *Saccharomyces cerevisiae* and the vacuolization response to high concentrations**. Mycological Research, 108(12), 1415-1422, 2004.

GHORBANI, F.; YOUNESI, H.; GHASEMPOURIM, S.M.; ZINATIZADEH, A.A.; AMINI, M.; DANESH, A. **Application of response surface methodology for optimization of cadmium biosorption in an aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae***. Chemical Engineering Journal 145, 267–275, 2008.

GÖKSUNGUR, Y.; ÜREN, S.; GÜVENÇ, U. **Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass**. Bioresource Technology 96 103–109, 2005.

GRANGEIRO, M.G.A *et al.* **Inclusão da levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frango de corte**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 30, n. 3, p. 766-773, 2001.

GUPTA, N.K.; SENGUPTA, A.; GUPTA, A.; SONAWANE, J.R.; SAHOO, H. **Biosorption – an alternative method for nuclear waste management: A critical review**. Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 6, p. 2159-2175, 2018.

HE, Y.; XIANG, Y.; ZHOU, Y. *et al.* **Selenium contamination, consequences and remediation technique in water and soils: A review**. Environmental Research, v. 164, p. 288-301, 2018.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. **Technical Report: “Heavy Metals”—A meaningless Term** v. 74, No. 5, pp. 793–807, 2002.

JOBBY, R.; JHA, P.; YADAV, A.K.; DESAI, N. **Biosorption and biotransformation of hexavalent chromium [Cr(VI)]: A comprehensive review**. Chemosphere, v. 207, p. 255-266, 2018.

JUST, L. P. **Biossorção de selênio por *Pseudomonas stutzeri* e *P. putida***. 82 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Processos – Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2019.

KIELISZEK, M.; BLAZEJAK, S.; GIENTKA, I.; BZDUCHA-WRÓBEL, A. **Accumulation and metabolism of selenium by yeast cells**. Appl Microbiol Biotechnol, 5373–5382, 2015.

KHAKPOUR, H.; YOUNESI, H.; MOHAMMADHOSSEINI, M. **Two-stage biosorption of selenium from aqueous solution using dried biomass of the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae***. Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 2, pp. 532-542, 2014.

MACK, C.; WILHELMI, B.; DUNCAN, J.R.; BURGESS, J.E. **Biosorption of precious metals**. Biotechnology Advances, 264–271, 2007.

MALIK, A. **Metal Bioremediation through growing cells**. Environment International, p. 261-278, 2004.

MARCELLINO, S.; ATTAR, H.; LIÈVREMONT, D.; LETT, M.-C.; BARBIER, F.; LAGARDE, F. **Heat-treated *Saccharomyces cerevisiae* for antimony speciation and antimony(III) preconcentration in water samples**. Analytica Chimica Acta 629, 73-83, 2008.

MEHDI, Y.; HORNICK, J.; ISTASSE, L.; DUFRASNE, I. **Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions**. Molecules, v.18, p.3292-3311, 2013.

MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K.; WITEK-KROWIAK, A. **State of the art for the biosorption Process – a Review**. Applied Biochemical and Biotechnology, v. 170, p. 1389-1416, 2013.

MOREIRA, I. *et al.* **Uso da levedura seca por “spraydry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação**. Revista Brasileira de Zootecnia., v.31, p.962-969, 2002

NAGODAWITHANA, T; GUTMANIS, F. **Method for the production of selenium yeast**. U.S. Patent: 4,530,846. 1985.

NANCHARAI, Y.V.; LENS, P.N.L. **Selenium biomeneralization for biotechnological applications**. Trends in Biotechnology, v. 33, p.323-330, 2015.

NASCIMENTO, J.M.; OLIVEIRA, J.D.; RIZZO, A.C.L.; LEITE, S.G.F. **Biosorption Cu (II) by the yeast *Saccharomyces cerevisiae***. Biotechnology Reports, 2018.

OZER, A.; OZER, D. **Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats**. Journal of Hazardous Materials B100 219–229, 2003.

PANKIEWICZ, U.; SUJKA, M.; KOWALSKI, R.; MAZUREK, A.; STASIAK, M. W.; JAMROZ, J. **Effect of pulsed electric fields (PEF) on accumulation of selenium and zinc ions in *Saccharomyces cerevisiae* cells**. Food Chemistry, 221, 1361-1370, 2017.

PARK, D.; YUN, Y. S.; PARK, J. M. **Use of dead fungal biomass for the detoxification of hexavalent chromium: screening and kinetics**. Process Biochemistry, 40, 2559-2565, 2005.

PÉREZ-CORONA, T.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. **Evaluation of selective uptaka of selenium (Se(IV) and Se(VI)) and antimony (SB(III) and SB(V)) species by baker's yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*)**. *Analytica Chimica Acta*, 345, 249-255, 1997.

RAJWADE, J.M., PAKNIKAR, K.M. **Bioreduction of tellurite to elemental tellurium by *Pseudomonas mendocina* MCMB-180 and its practical application**. *Hydrometallurgy*, p. 243–248, 2003.

RIBEIRO, F. H. **Avaliação da capacidade de leveduras isoladas da fermentação da cachaça para biorremediação de cádmio**. Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais, Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte, MG, 2009.

SANTOS, S.; UNGUREANU, G.; BOAVENTURA, R.; BOTELHO, C. **Selenium contaminated Waters: An overview of analytical methods, treatment options and recente advances in sorption methods (Review)**. *Science of the Total Environment*, 521-522, 246-260, 2015.

SANTOS, M.S.; RIBEIRO, F.M. **Cervejas e refrigerantes**. CETESB, São Paulo. P.58.2005.

SCHNEIDER, I. A. H. **Biossorção de Metais Pesados com a Biomassa de Macrófitos Aquáticos**. 157 f Tese Doutorado – Programa de Pós Graduação em Engenharia Metalurgica e dos Materiais , Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1995.

SHAMIM, S. **Biosorption of Heavy Metals**. *Heavy Metals: Sources, Toxicity and Remediation Techniques*, p.131-17, 2018.

SOUZA, O., SCHULZ, M.A., FISCHER, G.A.A., WAGNER, T.M., SELLIN, N. **Energia alternativa de biomassa: bioetanol a partir da casca e da polpa de banana**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.16, n.8, p. 915-921, 2012.

STDA. SELENIUM-TELLURIUM DEVELOPMENT ASSOCIATION. Se e Te. Disponível em: <<http://www.stda.net/>>. Acesso em: 25 jun. 2017.

TAN, L.C.; NANCHARAI AH, Y.V.; HULLEBUSCH, E.D.V.; LENS, P.N.L. **Selenium: environmental significance, pollution, and biological treatment technologies**. *Biotechnology Advances*, 34, p. 886-907, 2016.

TWIDWELL, L.; MCCLOSKEY, J.; MIRANDA, P. e GALE, M. **Potential technologies for removing selenium from process and mine wastewater**. Disponível em <<http://www.mtech.edu/twidwell/selenium>> acesso em 02/11/2017).

ULLAH, H; LIU, G.; YOUSAF, B.; ALI, M.U.; IRSHAD, S.; ABBAS, Q.; & Ahmad, R.A **Comprehensive review on environmental transformation of selenium: recent advances and research perspectives**. *Environ Geochem Health*, 2018.

VIJAYARAGHAVAN, K; BALASUBRAMANIAN, R. **Is biosorption suitable for decontamination of metal-bearing wastewaters? A critical review on the state-of-the-art of biosorption processes and future directions.** Journal of Environmental Management 1-14, 2015.

VINOPAL, S.; RUMML, T.; KOTRBA, P. **Biosorption of Cd²⁺ and Zn²⁺ by cell surface-engineered *Saccharomyces cerevisiae*.** International Biodeterioration & Biodegradation, 60, 96-102, 2007.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R., Biosorption of Heavy-Metals, **Biotechnology Progress**, v. 11, n. 3, p. 235-250, 1995.

WANG, J ; CHEN, C.: **Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review.** Biotechnology Advances, v. 24, n. 5, p. 427-451, 2006.

WANG, J.; CHEN, C. **Biosorbents for heavy metals removal and their future.** Biotechnology Advances, 196-197, 2008.

WANG, L.; LIU, X.; LEE, D.-J. *et al.* **Recent advances on biosorption by aerobic granular sludge.** Journal of Hazardous Materials, v. 357, p. 253-270, 2018.3

APÊNDICE A

Tabela 6 – Classificação granulométrica do bioissorvente seco tratado com etanol.

COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA - NBR 7217		
PENEIRAS	DETERMINAÇÃO m = 10 g	
mm	Peso retido (g)	% Retida
4,75	0,00	0,00
2,36	0,00	0,00
1,18	0,27	2,7
1,00	1,95	19,5
0,60	3,00	30,0
0,30	2,16	21,6
0,180	1,60	10,0
0,075	0,63	6,30
Fundo	0,38	3,90

AUTORIZAÇÃO

Nome do(a) autor(a): Aieska Alves Gonçalves

RG: 5.187.491-1

Título da Dissertação: BIOSSORÇÃO ATIVA DE SELÊNIO POR *Saccharomyces cerevisiae* E BIOSSORÇÃO INATIVA POR LEVEDURAS RESIDUAL DE INDÚSTRIA CERVEJEIRA

Autorizo a Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, através da Biblioteca Universitária, disponibilizar cópias da dissertação de minha autoria.

Joinville, 15 de agosto de 2019.



Assinatura do(a) aluno(a)