



Rem: Revista Escola de Minas

ISSN: 0370-4467

editor@rem.com.br

Escola de Minas

Brasil

Cianga Silvas, Flávia Paulucci; Cardoso Buzzi, Daniella; Crocce Romano Espinosa, Denise; Soares Tenório, Jorge Alberto

Biossorção de metais presentes na DAM utilizando Rhodococcus opacus

Rem: Revista Escola de Minas, vol. 64, núm. 4, octubre-diciembre, 2011, pp. 487-492

Escola de Minas

Ouro Preto, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=56421349014>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Metalurgia e materiais

Metallurgy and materials

Biosorção de metais presentes na DAM utilizando *Rhodococcus opacus*

Biosorption of AMD metals using Rhodococcus opacus

Flávia Paulucci Cianga Silvas

Doutoranda em Engenharia Metalúrgica e de Materiais - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
flavia.silvas@gmail.com

Daniella Cardoso Buzzi

Doutoranda em Engenharia Metalúrgica e de Materiais - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
danibuzzi@uol.com.br

Denise Crocce Romano Espinosa

Professora Associada do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

espinosa@usp.br

Jorge Alberto Soares Tenório

Professor Titular do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
jtenorio@usp.br

Resumo

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a biosorção de metais presentes em uma amostra sintética de drenagem ácida de mina, determinando o tempo de equilíbrio, a quantidade de metal captado e removido e, também, as mudanças ocorridas na biomassa. Para tanto, os ensaios foram realizados mantendo-se constantes a temperatura (25°C), o pH (2,6), a concentração de biomassa (1g.L^{-1}) e sob agitação de 175rpm. Como biosorvente foi utilizada uma massa fixa de bactérias gram-positivas *Rhodococcus opacus* no estágio de morte que foi crescida em meio YMA (yeast mannitol agar), durante 24h, a 28°C e sob agitação de 150rpm. Após o processo biosorptivo as amostras foram centrifugadas: o sobrenadante foi analisado através de análises de absorção atômica e a biomassa foi caracterizada através análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mostraram que a captação máxima ocorre em torno de 1 minuto e representa $48,2\text{mg.g}^{-1}$, o que corresponde a aproximadamente 11,7% de remoção. As mudanças verificadas nas análises de MEV indicam que houve interação entre os íons metálicos e a biomassa.

Palavras-chaves: Biosorção, *Rhodococcus opacus*, Drenagem ácida de mina.

Abstract

This study aims to evaluate metal biosorption in an acid mine drainage (AMD) synthetic sample by determining the equilibrium time, the amount of metal captured and removed, and also the biomass changes. For this, tests were performed with parameter constants: 25°C temperature, 2.6 pH, 1g.L^{-1} biomass concentration, and at 175rpm shake. The gram-positive bacterium *Rhodococcus opacus* was used as biosorbent, after having been grown in YMA (yeast mannitol agar) for 24h at 28°C and shaken at 150rpm. After the biosorptive process, samples were centrifuged: the supernatant was analyzed by atomic absorption and the biomass was characterized by analysis of scanning electron microscopy (SEM). The results showed that maximum uptake time occurs in about 1 minute, when the maximum uptake was 48.2mg.g^{-1} , which corresponds to approximately to 11.7% of the total removal. The changes observed in the SEM indicate that there are interactions between metal ions and biomass.

Keywords: Biosorption, *Rhodococcus opacus*, Acid mine drainage.

1. Introdução

Um dos principais impactos causados pela atividade mineira é a poluição hídrica pela drenagem ácida de minas (DAM). A exposição dos rejeitos da mineração ao oxigênio atmosférico e à água favorece reações químicas e biológicas responsáveis pela formação da DAM (Kontopoulos, 1998). Os problemas ambientais estão relacionados com a diversidade de metais dissolvidos (como ferro, alumínio, manganês, chumbo, cobre e zinco) e com os valores de pH, geralmente, abaixo de 3 (Wei, Viadero & Bhojappa, 2008).

O tratamento convencional da DAM é realizado pela neutralização e precipitação dos metais na forma de hidróxidos (Campaner & Silva, 2009). O processo ativo por neutralização e precipitação tem sido o preferido pelas indústrias de mineração de carvão do

Brasil (Rubio et al., 2007). Como forma alternativa de tratamento, pode ser utilizada a biossorção. Esta é definida como um termo coletivo para um número de processos passivos e mecanismos físico-químicos entre a biomassa e os íons presentes na solução, como: extração iônica, coordenação, complexação, adsorção e quelação entre os íons metálicos e ligantes (Febrianto, 2009; Bueno, 2007; Kurniawan et al., 2006; Volesky, 1990).

Os processos biossortivos são, geralmente, rápidos e viáveis para a extração de íons metálicos de grandes volumes de água. Quando comparado com outros processos para tratamento de efluentes apresentam vantagens no que tange ao custo operacional, à minimização do volume de lama química e/ou biológica a ser disposta, à possibilidade de reutiliza-

ção do biossorvente e à recuperação dos metais e, ainda, ao fato de não precisar adicionar nutrientes quando a biomassa se encontra inativa. Outra vantagem é a de esse processo ser ambientalmente correto (Cayllahua & Torem, 2008; Chojnacka, 2010).

A habilidade de captação dos metais pelos microrganismos está associada aos seus componentes celulares, sendo os principais: água, sais inorgânicos e elementos minerais, proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos e lipídeos (Lehninger et al., 1993).

Nesse trabalho, estudou-se a utilização da bactéria *Rhodococcus opacus* inativa como biomassa para o tratamento de DAM, determinando-se o tempo de equilíbrio, a quantidade de metal captado e removido e, também, as mudanças ocorridas na biomassa.

2. Materiais e métodos

Procedência e preparo da biomassa

Fez-se a aquisição da cepa de *Rhodococcus opacus* junto ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA / UNICAMP).

Optou-se por utilizar essa bactéria gram-positiva, não patogênica, aeróbia e unicelular (Stratton, Brooks & Serviour, 2002), que possui hidrofobicidade (Finnerty, 1992) e propriedades anfóteras (Mesquita, 2000 *apud* Bueno, 2007). Características que tornam esse microrganismo um potencial agente de sorção.

De posse da cepa, fez-se o repique no laboratório utilizando o meio de

crescimento YMA (yeast mannitol agar) composto por: 20g.L⁻¹ de ágar, 10g.L⁻¹ de glicose, 5g.L⁻¹ de peptona, 3g.L⁻¹ de extrato de malte, 3g.L⁻¹ de extrato de levedura e 2g.L⁻¹ de carbonato de cálcio. Após crescimento, a 28°C por 48h, a cultura obtida foi inoculada em caldo com composição parecida com a do meio de crescimento, porém sem a adição de ágar e carbonato de cálcio. O crescimento ocorreu em frascos com capacidade para 1L, por um período de 24h, à temperatura ambiente e sob agitação de 150rpm (Bueno, 2007).

Após crescimento, separou-se a

cultura por centrifugação a uma velocidade de 2000rpm por 12 minutos. O precipitado obtido foi lavado com água deionizada e uma nova centrifugação foi realizada utilizando os mesmos valores de tempo e velocidade, para, então, suspender a biomassa em solução de NaCl 0,1mM (Mesquita, 2000 *apud* Bueno, 2007). A suspensão foi, posteriormente, esterilizada em autoclave a 1atm de pressão durante 20 minutos. Após determinação da concentração celular, pelo método de peso seco, a suspensão foi estocada sob refrigeração para utilização nos ensaios biossortivos.

Preparo da DAM sintética

Uma solução sintética de DAM foi preparada utilizando-se sulfatos ($MgSO_4 \cdot H_2O$, $MnSO_4 \cdot H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $NiSO_4 \cdot 6H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e $FeSO_4 \cdot 7H_2O$), nitratos ($Ca(NO_3)_2$ e $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) e cloreto

(NaCl), diluídos em água deionizada, e corrigiu-se o pH, utilizando-se ácido sulfúrico (H_2SO_4). As concentrações utilizadas foram adaptadas da DAM estudada por Wei, Viadero Jr. e Buzby (2005), cujos dados encontram-se na Tabela 1.

pH	Concentração (mg.L ⁻¹)								
	Fe	Al	Ca	Mg	Mn	Zn	Ni	Cu	SO ₄
2,6	162	80,8	191	50,5	2,03	2,72	1,01	0,08	1527

Experimentos de biossorção

Os ensaios biossortivos foram realizados em batelada, à temperatura

ambiente, com a suspensão celular adicionada a frascos erlenmeyers de 250ml,

após preparação, a solução foi acidificada com ácido nítrico, para preservação da amostra, e caracterizada por espectrofotometria de absorção atômica, a fim de se obterem as concentrações exatas.

Tabela 1

Características da DAM (adaptado de Wei, Viadero Jr, & Buzby, 2005).

contendo a DAM sintética, sob agitação constante em shaker orbital. Optou-se

por realizar os ensaios à temperatura ambiente, uma vez que estudos realizados até o momento, têm demonstrado que, na faixa de 5 a 35°C, a temperatura exerce pouco efeito sobre a bioassorção,

nas condições em que se trabalhou, nessa contribuição técnica (Aksu & Kutsal, 1991; Kuyucak & Volesky, 1989; Tsezos & Volesky, 1981).

Na Tabela 2, pode-se verificar os

diferentes tempos de contato que foram estudados a fim de se determinar quando o tempo de equilíbrio é atingido. Na mesma tabela, encontram-se as demais condições experimentais empregadas.

Tabela 2
Condições empregadas para determinação do tempo de equilíbrio.

Após o processo bioassortivo, centrifugaram-se as amostras a 2000rpm por doze minutos. Em seguida, os precipitados foram lavados com água deionizada e, novamente, centrifugados, utilizando-se as mesmas condições.

As biomassas foram secas em estufa a 60°C por 36h e, então, reser-

vadas para caracterização através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Por não serem condutoras de corrente elétrica, as amostras foram, previamente, metalizadas para, então, serem analisadas.

Os sobrenadantes foram acidificados com ácido nítrico para sua preserva-

ção e posterior análise da concentração residual do metal pelo método de espectrofotometria de absorção atômica. A capacidade de captação pela biomassa *Rhodococcus opacus* para as correspondentes condições de equilíbrio foi determinada utilizando-se a Equação 1 do balanço de massa.

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)V}{M} \quad (1)$$

Onde:

q_e : quantidade de íon metálico captado pela biomassa (mg.g^{-1}) no equilíbrio.

3. Resultados e discussão

Devido à baixa concentração de Cu e Ni, em solução menor que 1mg.L^{-1} , optou-se por desconsiderar a presença dos mesmos.

Observando as Figuras 1 e 2, o equilíbrio é alcançado em cerca de um minuto e a máxima captação dos metais seguiu a mesma sequência da concentração inicial ($\text{Ca} \rightarrow \text{Fe} \rightarrow \text{Al} \rightarrow \text{Mg} \rightarrow \text{Mn} \rightarrow \text{Zn}$). Assim, os metais que estavam em maior concentração foram os que tiveram maior captação, com exceção do cálcio: $\text{Fe} \rightarrow \text{Ca} \rightarrow \text{Al} \rightarrow \text{Mg} \rightarrow \text{Mn} \rightarrow \text{Zn}$. Porém, proporcionalmente (considerando a concentração inicial versus a quantidade captada), o metal com maior remoção foi o Mn, seguido pelo Fe, Ca,

C_o : concentração inicial do íon metálico (mg.L^{-1}).

C_e : concentração do íon metálico final ou

no equilíbrio (mg.L^{-1}).

V : volume da solução do íon metálico (L).

M : massa do bioassorvente (g).

Al, Zn e Mg.

Quando o mecanismo de bioassorção não dependente do metabolismo celular, o processo ocorre através da interação físico-química entre o metal e os grupos funcionais da superfície celular (Vásquez, 2005). Desta forma, a capacidade de adsorver metais, assim como o tempo de bioassorção, dependem, diretamente, das características do revestimento celular de cada espécie (White et al., 1995; Bueno, 2007).

Os polissacarídeos, as proteínas e os lipídeos presentes na parede celular da biomassa microrganismos são os responsáveis pelos muitos grupos funcionais (carboxilas, fosfatos, hidroxilas, sulfatos e grupos

amino) disponíveis para os íons metálicos ligarem-se entre si. (Vásquez, 2005; Greene et al., 1987).

Até o momento, dos metais estudados, nesse trabalho, apenas o Al e Zn já foram temas de outros autores (Cayllahua, Carvalho & Torem, 2009; Vásquez, 2005). Apesar de esses autores utilizarem a mesma biomassa, eles utilizam em soluções monoelementares, diferentemente do processo apresentado nesse artigo. Comparando com os valores obtidos por Cayllahua, Carvalho & Torem (2009), para a captação de Al, o resultado obtido, nesse trabalho, foi cerca de 4 vezes maior. Já para a captação de Zn, estudado por Vásquez (2005), a

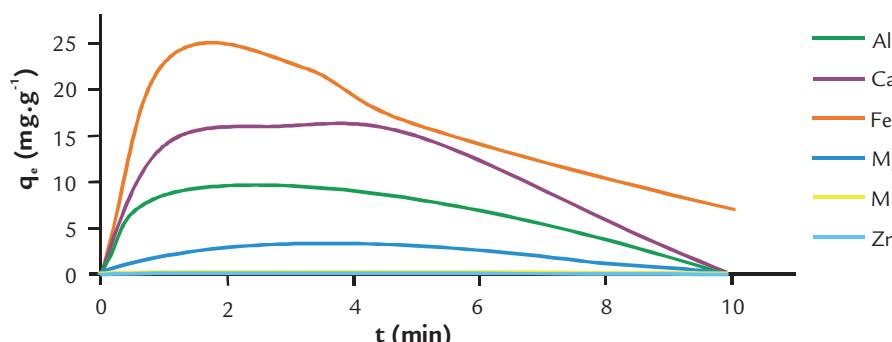


Figura 1
Perfil do tempo na bioassorção dos íons da solução (pH 2,6; temperatura 25°C, concentração de biomassa 1g.L⁻¹).

remoção é 4 vezes maior do que a obtida nesse trabalho, em ambos os casos o pH empregado foi 3, a concentração de biomassa 2g.L^{-1} e a concentração das soluções metálicas eram de 50mg.L^{-1} e 20mg.L^{-1} , para o Al e o Zn, respectivamente. Apesar de não ter utilizado esses metais, Bueno (2007) verificou que, em sistemas ternários, a biomassa de *Rhodo-*

coccus opacus apresenta diferentes graus de afinidade pelos metais e a quantidade de metal captado, para sistemas mono e multielementares, é diferente.

Os dados apresentados demonstram, ainda, que a biosorção pela biomassa de *Rhodococcus opacus* é um processo rápido como descrito pelos autores Cayllhua, Carvalho e Torem (2009) e

Bueno (2007).

Avaliando a remoção global, ou seja, considerando a somatória de todos os metais, no equilíbrio do sistema, a captação dos íons é $48,2\text{mg.g}^{-1}$, o que corresponde a, aproximadamente, 11,5% de remoção (Figura 2).

Após 5 minutos de reação, as captações dos íons diminuíram e aproxima-

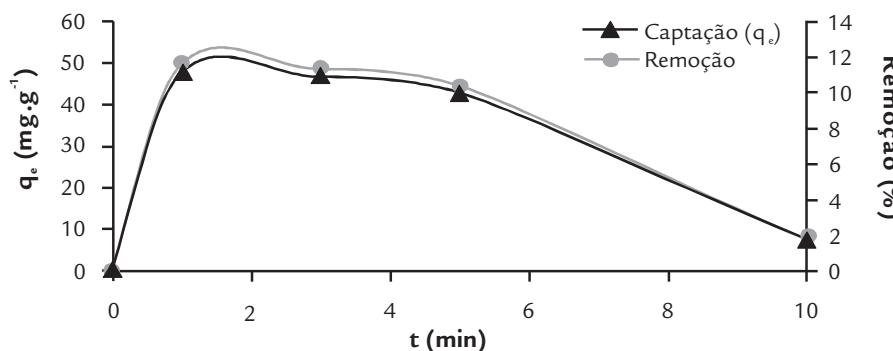


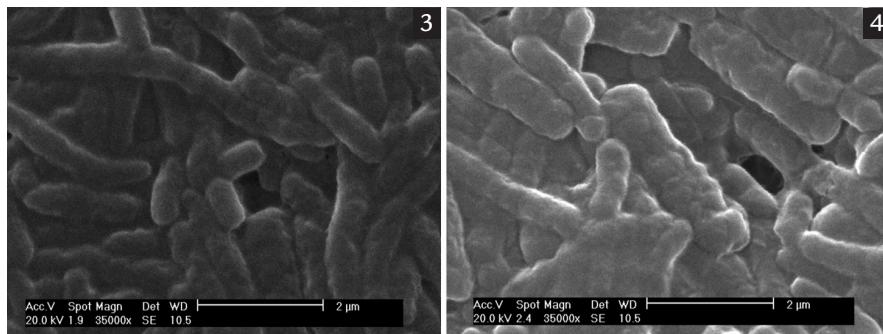
Figura 2
Porcentagem de remoção versus tempo de contato (condições: pH 2,6; concentração celular 1g.L^{-1} ; temperatura 25°C).

ram-se de zero. Segundo Bueno (2007), o soluto (íons metálicos) previamente sorvido tende a dessorver e voltar para a solução com o avanço do processo.

Durante as análises, junto ao MEV, foram obtidas imagens com 10 e 35 mil

vezes de aumento das biomassas, após interação com a DAM sintética.

As imagens com 35 mil vezes de aumento permitiram visualizar alterações no formato da bactéria e se havia a presença de precipitados sob a biomassa



(Figuras 3 e 4).

Observou-se que, após contato com a DAM, ocorreram pequenas mudanças na estrutura da biomassa. Aparentemente, quanto maior o tempo de contato entre a biomassa e a solução me-

tálica, maior o aspecto de “inchaço” nas células bacterianas.

As imagens com 10 mil vezes de aumento permitiram avaliar a homogeneidade do material. Com exceção da amostra que permaneceu dez minutos em

contato com o biossorvente, percebeu-se homogeneidade do material em todas as outras imagens obtidas no MEV com aumento de 10 mil vezes (Figura 5).

A presença de material sobre a superfície da célula (visualizada na Figura

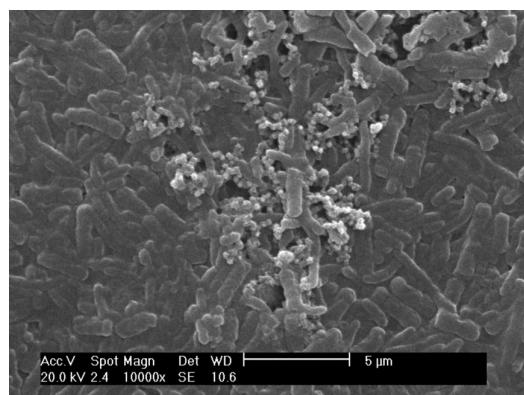


Figura 3
Imagen de elétrons secundários da biomassa após 1min.

Figura 4
Imagen de elétrons secundários da biomassa após 10min.

5) pode indicar a precipitação dos metais outrora presentes na solução sintética. Contudo, considerando-se que, após cinco minutos de contato, a captação dos íons metálicos diminuiu aproximadamente de zero, acredita-se que houve a

Figura 5
Imagen de elétrons secundários da biomassa após 10min: lise celular.

lise celular. Desta forma, os metais já captados pela biomassa são, novamente, expostos ao meio, assim como os componentes celulares.

Para verificar se a lise da parede celular estava sendo ocasionada pelo pH da amostra (2,6), analisou-se uma amostra contendo apenas biomassa, água deionizada e ácido sulfúrico (adicionado até pH 2,6), que permaneceu em contato por 10 minutos.

O resultado do experimento supracitado (Figura 6) evidencia que o pH da solução não é o responsável pelo rompimento da célula.

Descarta-se a possibilidade de ter ocorrido turgescência (acúmulo excessivo de água por osmose), já que a concentração de metais na solução é 20 vezes maior do que a concentração de metais na biomassa. Supõe-se que os íons metálicos são sorvidos na forma de aquo-complexos (por exemplo, segundo Possa & dos Santos, 2003), em pH menor do que 4, há predominância do aquo-complexo de Al - $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$). Assim, a água presente, nesses compostos, passa, então, a permanecer dentro da célula. Possivelmente, com o decorrer do tempo, a es-

trutura celular não suporte a pressão volumétrica interna e, então, ocorre o rompimento.

Nas micrografias, também não foi possível visualizar, claramente, se há a presença de novas partículas sobre a superfície celular, com exceção da amostra que permaneceu em contato por 10 minutos (Figura 6). A heterogeneidade dessa amostra, como já descrito, parece ter sido causada pelo rompimento da parede celular da *Rhodococcus opacus*, permitindo que os componentes celulares e os metais se aglomerarem na superfície da biomassa.

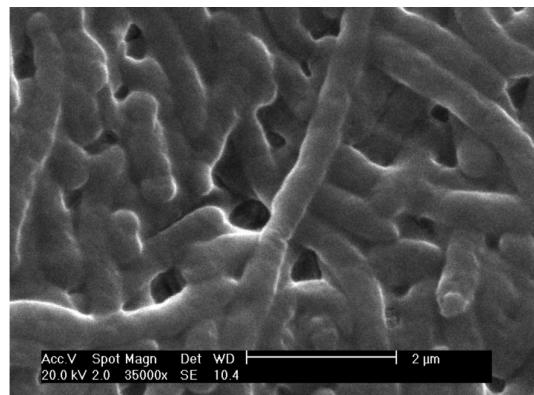


Figura 6
Imagen de elétrons secundários
da biomassa após 10min:
solução de $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{SO}_4$ até pH 2,6.

4. Conclusões

O processo bioseparativo em sistema multimetálico atinge o equilíbrio em cerca de 1 minuto.

Avaliando a remoção global, a captação máxima dos íons metálicos é $48,2 \text{ mg g}^{-1}$, o que corresponde a, aproxi-

madamente, 11,7% de remoção.

A captação dos metais, da maior para a menor, seguiu: Fe → Ca → Al → Mg → Mn → Zn. Porém, proporcionalmente, o metal com maior captação foi o Mn, seguido pelo Fe, Ca,

Al, Zn e Mg.

Imagens de elétrons secundários obtidas no microscópio eletrônico de varredura provaram que há mudanças físicas na estrutura da biomassa após contato com a solução metálica.

5. Agradecimentos

À Capes – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Supe-

rior. À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. À Es-

cola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP).

6. Referências bibliográficas

- AKSU, Z., KUTSAL, T. A bioseparation process for removing lead(II) ions from wastewater by using *C. vulgaris*. *Journal of Chemical and Technology Biotechnology*, v. 52, p.109-118, 1991.
- BUENO, B. Y. M. *Remoção de Pb, Cr e Cu por processo combinado bioseparação/bioflotação utilizando a cepa Rhodococcus opacus*. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2007. 172 f. (Tese de Doutorado).
- CAMPANER, V. P., SILVA, W. L. Processos físico-químicos em drenagem ácida de minas em mineração de carvão no sul do Brasil. *Química Nova*, v. 32, p. 146-152, 2009.
- CAYLLAHUA, J. E. B., TOREM, M. L. Biosorption of nickel on *Rhodococcus opacus* from aqueous solution: determinations of equilibrium and kinetics parameters. In: INTERNATIONAL CONFERENCE CLEAN TECHNOLOGIES FOR THE WORLD MINING INDUSTRY, 8. *Anais...* Santiago, 2008.
- CAYLLAHUA, J. E. B., de CARVALHO, R. J., TOREM, M. L. Evaluation of equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters for biosorption of nickel(II) ions

- onto bacteria strain, *Rhodococcus opacus*. *Minerals Engineering*, v. 22, p. 1318-1325, 2009.
- CHOJNACKA, K. Biosorption and bioaccumulation - the prospects for practical applications. *Environment International*, v. 36, p. 299-307, 2010.
- FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. *Journal of Hazardous Materials*, v. 162, p. 616-645, 2009.
- FINNERTY, W. R. The biology and genetics of the genus *Rhodococcus*. *Annual Review of Microbiology*, v. 46, p. 193-218, 1992.
- GREENE, B., MCPHERSON, R., DARNALL, D. Algal sorbents for selective metal ion recovery, in metals speciation, separation and recovery. In: PATTERSON, J. W. & PASINO, R. *Metals speciation, separation, and recovery*. Chelsea: Lewis, 1987, p. 315-338.
- KONTOPOULOS, A. Acid mine drainage control. In: CASTRO, S. H., VERGARA, F., SÁNCHEZ, M. A. (Eds.). *Effluent Treatment in the Mining Industry*. University of Concepción, 1998.
- KRATOCHVIL, D., VOLESKY, B. Advances in biosorption of heavy metals. *Trends in Biotechnology*, v. 16, p. 291-300, 1998.
- KURNIAWAN, T. A. et al. Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, p. 83-98, 2006.
- KUYUCAK, N. & VOLESKY, B. Accumulation of cobalt by marine alga. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 33, p. 809-814, 1989.
- LEHNINGER, D. L., NELSON, D. L., COX, M. *Principles of Biochemistry*. New York: Worth Pub, 1993. v. 1.
- MESQUITA, L. M. S. *Bioflotação de hematita e quartzo - um estudo de seletividade*. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2000. (Tese de Doutorado) apud BUENO, B. Y. M. *Remoção de Pb, Cr e Cu por processo combinado biosorção/bioflotação utilizando a cepa Rhodococcus opacus*. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2007. 172 f. (Tese de Doutorado).
- POSSA, M. M., dos SANTOS, M. D. C. *Tratamento de drenagem ácida de mina por processo de neutralização controlada*. Rio de Janeiro, 2003. Florianópolis, dezembro de 2003, v.1. p. 233-252. (Contribuição técnica elaborada para o Seminário Brasil-Canadá de recuperação ambiental de áreas mineradas).
- RUBIO, J., DA SILVA, R. D. R., DA SILVEIRA, A. N. *Técnicas para tratamento e aproveitamento de águas ácidas residuais da mineração de carvão*. In: WORKSHOP GESTÃO E REUSO DE ÁGUA NA INDÚSTRIA, 3. Florianópolis, Santa Catarina, novembro de 2007.
- STRATTON, H., BROOKS, P., SERVIOUR, R. Cell surface hydrofobicity and mycolic acid composition of *Rhodococcus* strains isolated from activated sludge foam. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 28, p. 264-267, 2002.
- TSEZOS, M., VOLESKY, B. Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 23, p. 583-604, 1981.
- VÁSQUEZ, T. G. P. *Avaliação da remoção de Cd e Zn de solução aquosa por biosorção e bioflotação com Rhodococcus opacus*. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2005. 108 f. (Dissertação de Mestrado).
- VOLESKY, B. *Biosorption of Heavy Metals*. Florida: CRC Press, 1990. 408 p.
- WEI, X., VIADERO Jr., R. C., BUZBY, K. M. Recovery of iron and aluminum from acid mine drainage by selective precipitation. *Environmental Engineering Science*, v. 22, p. 745-755, 2005.
- WEI, X., VIADERO Jr., R.C., BHOJAPPA, S. Phosphorus removal by acid mine drainage sludge from secondary effluents of municipal wastewater treatment plants. *Water Research*, v. 42, p. 3275-3284, 2008.
- WHITE, C., WILKINSONAND, S. C., GADD, G.M. The role of microorganisms in biosorption of toxic metals and radionuclides. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Londres, v. 35, n. 1-3, p.17-40, 1995.