

## *Dissertação de Mestrado*

# **BIOSORÇÃO DE METAIS PESADOS PRESENTES EM ÁGUAS DE PRODUÇÃO DA INDÚSTRIA DE PETRÓLEO**

**Laerte de Medeiros Barros Júnior**

**Natal, setembro de 2001**

**BARROS JÚNIOR, Laerte de Medeiros** – Biosorção de metais pesados presentes em águas de produção de campos de petróleo. Dissertação de Mestrado, UFRN, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Áreas de Concentração: Engenharia de Processos em Plantas de Petróleo e Gás Natural, Natal/RN, Brasil.

**Orientadora:** Prof. Dra. Gorete Ribeiro de Macedo

**Co-Orientadora:** Prof. Dra. Márcia Maria Lima Duarte

---

**RESUMO:**

---

**Palavras chaves:**

---

# ABSTRACT

Among the several effluents generated in the industry of petroleum, we find production waters, complex mixtures of organic and inorganic materials suspended and dissolved. Among these components there are heavy metals, whose concentration in these effluents can exceed the limits allowed by environmental legislation in vigor, constituting a serious environmental problem. There is a need to develop technologies that can remove toxic heavy metal ions found in wastewaters. Uptake of heavy metal ions by fungal microorganisms is used in a variety of industrial fermentation process that could serve as an economical and constant supply source of biomass for the removal of metal ions. Therefore, a fungal biomass can serve as an economical means for removal/recovery of metal ions from aqueous solutions. Experiments of heavy metal sorption using the fungus *Aspergillus niger* to remove metal cadmium were carried out to investigate the factors influencing and optimizing the heavy metal biosorption.. Through the batch isotherm study, the effect of the pH, time, amount of biomass and heavy metal concentration in the rate of metallic biosorption was examined. The experimental design was carried out to determine the optimum values of the studied variables. A protocol for the regeneration of the biomass was also developed with the objective of determining the capacity of the regenerated biomass in the biosorption of the metal in solution. This research showed that with an adequate value of pH, time, amount of biomass and heavy metal concentration the fungal biosorption had a potential to be used in the removal of heavy metal ions from oil industry wastewaters.

Keywords: *Apergillus niger*, Biosorption, cadmium, experimental design

# ÍNDICE

## **LISTA DE FIGURAS**

## **LISTA DE TABELAS**

## NOMENCLATURA

**A** - pH

ARG – Campo de Agulha

**b** – constante do modelo de Langmuir (L/mg)

**B** – concentração inicial de cádmio (mg/L)

**B** – sítio adsortivo na fase sólida

BC – complexo sítio adsortivo-íon

BSW – porcentagem volumétrica de água e sedimentos em uma emulsão água/óleo.

**C** – quantidade de biomassa (g)

**C** – concentração do íon na fase líquida (mg/L)

$C_e$  – concentração de equilíbrio (mg/L)

$C_i$  - concentração inicial do íon metálico (mg/L)

$C_f$  - concentração final do íon metálico (mg/L)

CAM – Campo de Canto do Amaro.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

**D** – tempo de contato entre as fases (minutos)

$df$  – graus de liberdade

**E** – eficiência de biosorção (%)

EAA - espectrofotômetro de absorção atômica

EC – estação coletora.

EPA – Environmental Protection Agency (USEPA)

ET – Campo de Estreito.

ETE – estação de tratamento de efluentes.

ETO – estação de tratamento de óleo.

**F** – parâmetro estatístico

FEEMA – Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente

FP – Campo de Fazenda Pocinhos.

GMR – Campo de Guamaré.

**K** – constante cinética de biosorção ( $\text{min}^{-1}$ )

$K'$  – constante do modelo de Freundlich

$K_{\text{ads}}$  – constante de equilíbrio (mg/L)

**m** – massa do biosorvente na mistura reacional (g)

mgEV – miligramas endovenoso

ME – média quadrática

MS – média quadrática

$[M]_0$  – concentração inicial do metal (mg/L)

n – constante de equilíbrio adimensional do modelo de freundlich

NIPDWR – National Interim Primary Drinking Water Regulations

p – parâmetro estatístico

q – massa de soluto adsorvida sobre a superfície do biosorvente por unidade de massa do biosorvente (mg/g)

$q_e$  – capacidade de biosorção de equilíbrio (mg/g)

$q_m$  – capacidade máxima de sorção correspondente a uma completa cobertura monocamada (mg/g)

$q_t$  – quantidade de cádmio biosorvida em um tempo t (mg/g)

$R^2$  – coeficiente de correlação

SAO – separador água/óleo

SAB - sabouraud dextrose agar

SS – soma quadrática

t – tempo (min)

UPGN – unidade de processamento de gás natural.

V - volume da mistura reacional (L)

VMP – valor máximo permissível

Y – variável resposta

---

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUÇÃO GERAL**

---

## **I – INTRODUÇÃO GERAL**

O aumento da conscientização dos efeitos nocivos provocados pela liberação de metais tóxicos no meio ambiente aliado à implantação de leis ambientais mais severas, tornou o gerenciamento ambiental uma questão fundamental para as indústrias de petróleo e outras indústrias. Este gerenciamento ambiental envolve vários fatores relacionados ao processo, tais como: técnicas de produção, matérias-primas utilizadas, formas de tratamento dos efluentes, fontes de energia e conservação das mesmas.

A defesa do meio ambiente começou praticamente pelas águas residuais. Até pouco tempo, os resíduos líquidos, gerados por processos industriais, eram lançados em rios e corpos d' água sem muita preocupação com um tratamento adequado visando a redução de sua carga poluidora.

O acelerado desenvolvimento tecnológico e industrial conduziu a comunidade científica à procura de novas técnicas de prevenção e controle da poluição, tentando oferecer, ou recuperar, ao homem a possibilidade de uso de muitos recursos naturais. No Brasil, o déficit de tratamento de efluentes e, conseqüentemente, o impacto sobre o meio ambiente, a saúde e a qualidade de vida da população, não deixa dúvidas quanto a necessidade de pesquisar e aplicar técnicas de baixo custo na implantação e operação de tratamentos de resíduos líquidos e sólidos.

Entre os diversos efluentes gerados na indústria de petróleo, encontram-se as águas de produção, que são misturas complexas de materiais orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos, cuja composição varia com o tempo de exploração do reservatório a qual pertence. Dentre destes componentes encontra-se os metais pesados, cuja concentração nestes efluentes pode exceder os limites permissíveis pela legislação em vigor, constituindo-se em um grave problema ambiental (Ministerio de Salud, 1983 e 1984).

Diferentemente das espécies poluidoras orgânicas, que em muitos casos podem ser degradadas, as espécies metálicas liberadas no ambiente tendem a persistir indefinidamente, acumulando-se por toda a cadeia alimentar, colocando em risco a vida de animais e do homem.

No tratamento das águas de produção, as técnicas físico-químicas convencionais, que incluem precipitação – filtração, troca iônica, osmose reversa, oxidação – redução, recuperação eletroquímica, separação por membrana e outras técnicas para a remoção de metais pesados são pouco efetivas e de baixa competitividade econômica, dada a complexidade da matriz e dos grandes volumes que devem ser tratados (Hansen e Davies, 1994).

O desenvolvimento de métodos alternativos de tratamento de águas de produção, que aliem índices cada vez menores de substâncias tóxicas e baixo custo, é de extrema importância.

Certos tipos de biomassa microbiana podem reter relativamente grandes quantidades de íons metálicos por sorção passiva e/ou complexação. Este fenômeno é conhecido por BIOSORÇÃO.

Bactérias, fungos e algas podem remover metais pesados e compostos radioativos de soluções aquosas (Brierley, 1990; Volesky, 1994). Biosorção por fungos é uma opção para o tratamento de efluentes carregados com íons metálicos tóxicos (Kapoor e Viraraghavan, 1995; Volesky e Holan, 1995). Estes microorganismos podem acumular metais metabólicos e não metabólicos por precipitação ou pela ligação dos componentes presentes na parede celular ou na membrana celular, como carboxila, hidroxila, fosfatos e outros ligantes negativos presentes na parede celular. Materiais intracelulares que podem ser liberados depois de tratamentos físico ou químico, podem também ligar íons metálicos. Tratamento da biomassa com NaOH e outros reagentes alcalinos elevam a capacidade de Biosorção metálica.

Um aspecto importante da biosorção é que ela pode ocorrer mesmo com células metabolicamente inativas. Isto pode ser considerado uma grande vantagem, pois facilita a recuperação do metal e possibilita a reutilização do material biosorvente. Neste sentido, várias pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de selecionar materiais biosorventes facilmente disponíveis e abundantes.

O potencial industrial da biosorção depende de muitos fatores, tais como capacidade de biosorção, eficiência e seletividade, facilidade de recuperação do metal e equivalência com processos tradicionais em desempenho, economia, imunidade a interferências de outros

compostos do efluente ou condições de operação. Deve-se enfatizar, no entanto, que a biosorção não necessariamente substitui metodologias existentes, mas pode atuar como um sistema de “polimento” a processos que não são completamente eficientes.

No trabalho para a dissertação de mestrado que estou realizando no PPGEQ – DEQ – UFRN com bolsa concedida pelo Programa de Recursos Humanos da ANP para o setor de Petróleo e Gás PRH – ANP/MME/MCT – Edital de chamada nº 01/99, buscaremos alternativas para a remoção de metais pesados das correntes de produção. Esta aplicação é uma inovação biotecnológica e uma excelente ferramenta para ser utilizada nas formas prováveis de disposição final das águas de produção: lançamento em superfície, reinjeção, irrigação e abastecimento doméstico após tratamento simplificado.

Para uma melhor compreensão dividiu-se este trabalho em capítulos. Esta introdução correspondente ao Capítulo I. O Capítulo II abrange a revisão da literatura, compreendendo típicos teóricos e resultados obtidos por outros autores com relação aos metais pesados, processo de biosorção e a metodologia dos planos de experiências.

No Capítulo III descreve-se a metodologia experimental aplicada para o cultivo do *Aspergillus niger*, caracterização físico-química da água de produção, ensaios de biosorção em batelada para a determinação das condições ótimas para o tratamento da solução sintética de cádmio, regeneração da biomassa e testes de biosorção com metais pesados presentes na água de produção.

Os resultados obtidos experimentalmente são apresentados e discutidos no Capítulo IV e serviram como base para as conclusões descritas no Capítulo V. Como este foi o primeiro trabalho do grupo utilizando o processo de biosorção, verificou-se que muitos outros estudos podem ser realizados envolvendo novos metais e biosorventes, o que fica como sugestão para outras pesquisas.

---

**CAPÍTULO II**  
**ASPECTOS TEÓRICOS E REVISÃO**  
**BIBLIOGRÁFICA**

---

## **II – ASPECTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **II.1 – Introdução**

Dos vários poluentes que podem atingir e modificar a qualidade das águas, destacam-se os metais pesados utilizados em processamentos industriais.

Estudos recentes têm demonstrado a viabilidade da utilização de processos de biosorção para a remoção de metais tóxicos de resíduos industriais. Através da escolha do biosorvente apropriado, sob condições ótimas de operação, pode-se tornar o processo bastante efetivo e de baixo custo (Volesky e Holan, 1995).

Segundo Kapoor, Viraraghavan e Cullimore (1999) existem pelo menos três empresas no Canadá e nos Estados Unidos desenvolvendo processos de biosorção usando biomassa morta para a remoção de íons metálicos tóxicos de efluentes industriais.

Neste capítulo será realizado uma revisão bibliográfica sobre a indústria de petróleo, destacando o problema da água de produção. Um estudo sobre as propriedades de alguns metais pesados, seus efeitos nocivos sobre os seres humanos e algumas normas em relação aos padrões de qualidade da água para os metais pesados. O processo de biosorção também será apresentado, bem como uma breve descrição sobre a utilização do planejamento experimental para interpretação de um determinado processo.

### **II.2 – A indústria do petróleo**

#### **II.2.1 – Petróleo**

Petróleo (do latim *petra* = rocha e *oleum* = óleo) é o nome dado às misturas naturais de hidrocarbonetos que podem ser encontradas nos estados sólido, líquido e gasoso, a depender das condições de pressão e temperatura a que estejam submetidas. Tanto pode aparecer em uma única fase como pode apresentar mais de uma fase em equilíbrio. Geograficamente

também pode ser encontrado nos mais diversos pontos do globo, tanto em acumulações em terra como em jazidas submarinas.

Sob o nome de hidrocarbonetos existe uma grande variedade de compostos de carbono e hidrogênio que quimicamente, de acordo com certas características, são agrupadas em série. Mais de 15 séries já foram identificadas, sendo que umas são encontradas com maior frequência que outras. As mais comumente encontradas são as parafinas ou alcanos, as olefinas ou alcenos, os alcinos e os aromáticos. Dentro de uma mesma série podem ser encontrados desde compostos mais leves e quimicamente simples como por exemplo o metano da série das parafinas, a compostos bem mais pesados e quimicamente complexos. Portanto é de se esperar que os petróleos, de uma maneira geral, tenham constituições bastante variadas.

Junto com a mistura de hidrocarbonetos vem sempre agregada uma certa quantidade de impurezas, sendo as mais comuns o  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  e o  $\text{He}$ .

Dá-se à mistura de hidrocarbonetos no estado gasoso o nome de “gás natural”. Predominam nessas misturas os hidrocarbonetos mais leves da série das parafinas, sendo o metano o mais abundante. A densidade do gás natural é medida em relação ao ar e varia entre 0,6 e 1,1.

Quando no estado líquido, o petróleo é chamado de “óleo cru” ou simplesmente de “óleo”. Além de hidrocarbonetos líquidos, constam da sua composição, gases dissolvidos e impurezas.

Se na mistura líquida houver predominância de hidrocarbonetos da série dos alcanos ou parafinas, o óleo é classificado como “base parafínica”. Se a predominância for de componentes da série das olefinas ou alcenos, diz-se que o óleo é de “base asfáltica”. Quando as duas séries aparecem em proporções aproximadamente iguais, o óleo é classificado como de “base mista”. Esta classificação é útil apenas para efeito de refino.

## **II.2.2 – Mecanismo de produção de reservatório**

A produção primária de hidrocarbonetos é causada por uma série de forças “armazenadas” no reservatório conhecidas por mecanismo de produção. Embora essas forças possam atuar individualmente ou em conjunto, normalmente os mecanismos de produção tornam-se efetivos de forma sucessiva, o que pode dificultar a identificação do mecanismo predominante num determinado período produtivo. Dentre os mecanismos de produção atuantes num reservatório, podem ser mencionados:

- Gás em solução;
- Capa de gás;
- Influxo de água.

Tão logo um reservatório é colocado em produção, as forças mencionadas anteriormente passam a drenar o óleo e o gás em direção aos pontos de menor pressão que, neste caso, são representados pelos poços produtores. Tendo em vista que a determinação do mecanismo de produção preponderante pode constituir um fator decisivo na definição da estratégia de exploração de um reservatório, o conhecimento das características de cada mecanismo de produção é de fundamental importância para o gerenciamento dos reservatórios de petróleo.

### **II.2.2.1 – Gás em solução**

Depois que um poço é completado num reservatório do tipo gás em solução e a produção começa, a pressão cai nas vizinhanças do ponto onde o poço penetrou o reservatório. Esta queda de pressão no poço provoca uma expansão dos fluidos do reservatório, drenando o óleo através dos finos canais porosos até o poço. A produção de fluido, além de proporcionar a vaporização de mais componentes leves, acarreta a expansão dos fluidos. Como o gás é muito mais expansível que o líquido, é basicamente devido a sua expansão que vai acontecer o deslocamento do líquido para fora do meio poroso (figura 1).

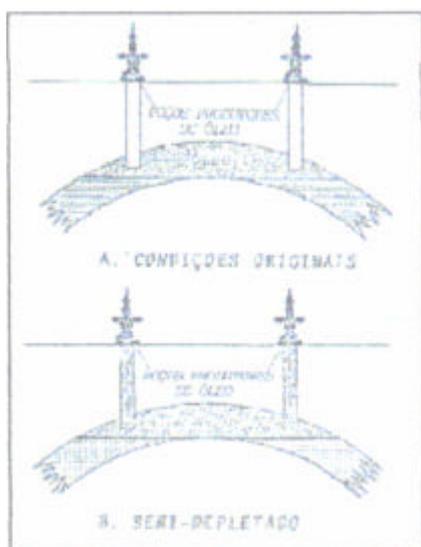


FIGURA 1. Reservatório de gás em solução

Entretanto, a medida que a pressão cai, mais e mais hidrocarbonetos vão se vaporizando e o que inicialmente era apenas algumas bolhas dispersas no meio líquido, começa a aumentar até formar uma fase contínua. A partir do instante em que o gás forma uma fase contínua, ele começa a fluir no meio poroso e a ser produzido juntamente com o óleo, fazendo com que a própria energia do reservatório seja produzida. Em resumo pode-se citar as características e tendências principais deste tipo de mecanismo (tabela 1).

Tabela 1. Características e tendências do mecanismo de gás em solução

Características	Tendências
Pressão do reservatório	Declina rápida e continuamente
Razão gás – óleo medida na superfície	No início baixa, depois cresce a um máximo e então cai
Produção de água	Nenhuma
Comportamento do poço	Requer bombeio logo nos estágios iniciais da vida produtiva
Recuperação de óleo esperada	5 a 30% do óleo originalmente no reservatório

### II.2.2.2 – Capa de gás

Em muitas acumulações de petróleo, a presença de frações leves ocorre em proporção superior àquela que poderia ser dissolvida pelo óleo nas condições de temperatura e pressão

existentes no reservatório. Quando isto ocorre, os materiais leves acrescidos de alguns materiais intermediários e pesados formam uma fase de gás livre. Este gás livre borbulha para o topo da acumulação onde foi armadilhado e forma uma capa de gás acima do óleo (figura 2).



FIGURA 2. Reservatório de capa de gás

O mecanismo funciona da seguinte maneira: A zona de óleo é colocada em produção o que acarreta uma redução na sua pressão devido à retirada do fluido. Essa queda de pressão se transmite para a capa de gás que se expande penetrando gradativamente na zona de óleo. Isto naturalmente depende do volume de gás da capa comparado com o volume de óleo. Como o gás tem uma compressibilidade muito alta, a sua expansão ocorre sem que haja queda substancial da pressão.

A tabela 2 apresenta as tendências gerais observadas durante a vida produtiva de um reservatório com mecanismo de capa de gás.

TABELA 2. Características e tendências do mecanismo de capa de gás

<b>Características</b>	<b>Tendências</b>
Pressão do reservatório	Cai vagarosa e continuamente
Razão gás – óleo medida na superfície	Aumenta continuamente nos poços altos da estrutura
Produção de água	Ausente, ou desprezível
Comportamento do poço	Grande tempo de surgência (dependendo do tamanho da capa)
Recuperação de óleo esperada	20 a 40% do óleo originalmente existente na jazida.

### II.2.2.3 – Influxo de água

Para que ocorra esse tipo de mecanismo é necessário que a formação portadora de hidrocarbonetos, óleo ou gás, esteja em contato direto com uma grande acumulação de água, e que os dois, zona de óleo e zona de água, sob certos aspectos, estejam saturados como se formassem um só corpo de rocha. Essas massas de rocha saturadas com água que recebem o nome de aquíferos, podem se encontrar subjacentes ou ligadas lateralmente ao reservatório (figura 3).

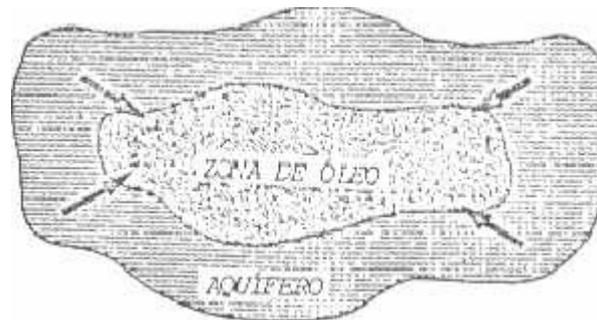


FIGURA 3. Reservatório com mecanismo de influxo de água

O mecanismo se manifesta da seguinte maneira: A redução da pressão do reservatório causada pela produção de hidrocarbonetos, após um certo tempo necessário para a sua transmissão se faz sentir no aquífero que responde a essa queda de pressão através da expansão da água nele contida e da redução de seu volume poroso. O resultado dessa expansão da água juntamente com a redução dos poros é que o espaço poroso do aquífero não é mais suficiente para conter toda a água nele contida inicialmente. Haverá portanto uma invasão da zona de óleo pelo volume de água excedente. A tabela 3 apresenta as tendências gerais observadas durante a vida produtiva de um reservatório com mecanismo de influxo de água.

TABELA 3. Características e tendências do mecanismo de influxo de água.

<b>Características</b>	<b>Tendências</b>
Pressão do reservatório	Permanece elevada
Razão gás – óleo medida na superfície	Permanece baixa
Produção de água	Começa cedo e cresce até valores bem elevados
Comportamento do poço	Surgentes até que a produção de água se torne excessiva
Recuperação de óleo esperada	35 a 75% do óleo originalmente existente na jazida

### **II.2.3 - Procedência do efluente (água produzida associada ao petróleo)**

Durante o processo geológico de formação do petróleo a matéria orgânica depositada com os sedimentos é convertida, por processos bacterianos e termo - químicos a grandes profundidades e temperaturas relativamente elevadas, em hidrocarbonetos e água.

Para que o petróleo acumule em quantidade comercialmente explotável é necessária a existência de rochas que permitam a sua geração (rocha geradora) e um corpo poroso de rochas permeáveis onde ele é acumulado (reservatório), coberto por uma camada impermeável que o impede de aflorar na superfície onde seria degradada sofrendo alterações físico-químicas e bacteriológicas (Simões, 1983).

A estrutura geológica mais simples onde o petróleo ocorre é chamada de formação produtora e os fluidos (óleo/ gás/ água) contidos em sua rocha porosa estão submetidos às mesmas condições de pressão. As formações produtoras podem ocorrer, dentro de uma mesma estrutura geológica, em varias profundidades formando um campo. Dentro de um campo, as zonas produtoras de gás, óleo e água, geralmente estão separadas de acordo com a densidade do fluido que ela contém, podendo existir intercalação entre as mesmas.

### II.2.3.1 – Produção da água contida no reservatório

Os reservatórios de petróleo podem ser compostos por formações produtoras que apresentam zonas de óleo, água e gás. O gás pode estar solúvel no óleo ou se apresentar como uma zona independente. A figura 4 mostra o esquema simplificado de três poços, bem como a posição relativa das zonas produtoras de água e óleo. Tanto o óleo e a água estão contidos dentro dos poros da rocha permeável que formam o reservatório.

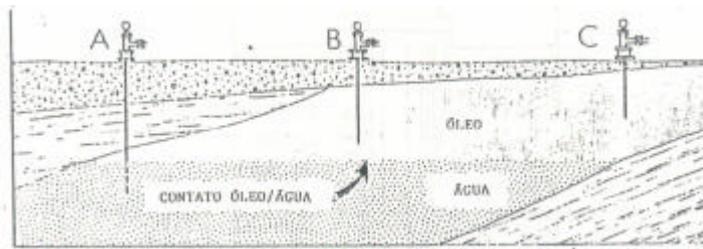


FIGURA 4. Esquema generalizado da posição relativa de óleo e água no início da produção de um reservatório

Devido a diferença de densidade uma grande quantidade de água fica abaixo da zona de óleo. Mesmo no início da vida do campo alguns dos poços que são perfurados próximos do contato óleo/água produzem grandes quantidades de água (poço A), enquanto aqueles perfurados na zona produtora de óleo (poços B e C) apresentam uma produção de óleo quase puro no início de sua vida como poço produtor. A figura 5 apresenta o mesmo reservatório em um período posterior de sua vida. Outra causa da produção de água em poços produtores de óleo é a falha no revestimento do poço aliada a uma cimentação mal feita em um ponto acima da zona produtora de óleo, permitindo que a água de uma zona superior entre no poço e contamine a produção (figura 6).

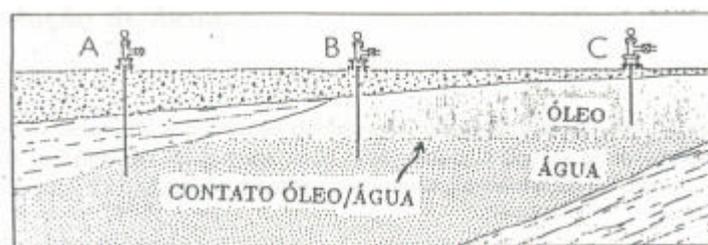


FIGURA 5. Mesmo reservatório da figura 4 em condições posteriores na vida do campo



FIGURA 6. Contaminação do óleo produzido devido a falha do revestimento e de sua cimentação

### II.2.3.2 – Métodos de recuperação secundária e aumento na produção de água

Outro motivo pelo qual a produção de água em um determinado campo aumenta são os métodos de recuperação secundária onde água na forma líquida ou de vapor é injetada no reservatório com o objetivo de manter ou aumentar a produção de óleo.

#### II.2.3.2.1 – Injeção de água

Usado basicamente para manter a pressão do reservatório, a injeção de água é o método de recuperação secundária mais utilizado em todo o mundo (Silva, 1986).

A água de injeção utilizada pode ser água do mar (preferencialmente utilizada em injeção nos campos situados na costa marítima), água de subsuperfície (de uma zona de água do mesmo campo) e a própria água produzida tratada e reinjetada. Destas três a que apresenta maior custo e causa mais problemas operacionais é a água produzida (Ribeiro, 1986).

Independente da procedência da água, antes de injetá-la no reservatório é necessário tratá-la de modo a minimizar efeitos de corrosão, incrustação e atividade microbiana.

Os principais produtos utilizados nesta atividade estão discriminados na tabela 4.

TABELA 4. Principais produtos químicos utilizados em injeção de água para recuperação secundária de petróleo.

Função	Produto <sup>1</sup>		
Microbiocida	Aminas	Quaternários de amônia	Carbonatos
	Fenóis clorados Cloro, Peróxidos <sup>2</sup>	Cianatos Aldeídos <sup>2</sup>	Sulfato de cobre Imidazolinás <sup>2</sup>
Inibidor de corrosão <sup>3</sup>	Sulfito de sódio	Cromato	Fosfato
	Formaldeído <sup>2</sup>	Dióxido de enxofre	Bissulfito de sódio/ amônio
Inibidor de incrustação	Ésteres de fosfatos	Fosfonatos orgânicos	Polifosfatos inorgânicos
	Polímeros orgânicos	Ác. etilenodiaminotetracético	

1 – (Garbis, 1982 exceto onde indicado)

2 – (Ostroff, 1965)

3 – (Patton, 1977).

Todos estes produtos são solúveis em água e podem misturar com a água intersticial sendo produzidos junto com ela.

#### II.2.3.2.2 – Injeção de vapor para recuperação secundária de petróleo

Utilizados nos campos onde a viscosidade do óleo é muito grande (> 100 cP), este método apresenta maior custo do que a injeção de água devido aos altos investimentos com geradores de vapor de alta pressão, bem como a energia envolvida para geração de vapor.

Por ser de resposta mais rápida que a injeção de água, este método conduz a um crescimento mais rápido da porcentagem volumétrica de água e sedimentos no petróleo (BSW).

A água produzida associada ao óleo recuperado através da injeção de vapor requer sempre maiores cuidados no seu tratamento para descarte, uma vez que o contato vapor/óleo a alta pressão (1500 psi) e temperatura (380<sup>0</sup>C) conduz à formação de emulsões óleo em água muito estáveis e com alto teor de hidrocarbonetos (1000 mg/l).

## II.2.4 – Separação óleo/água

Durante a movimentação dos fluidos do reservatório até os tanques de produção as fases óleo e água são posta em contato. A agitação causada por acessórios e equipamentos da linha de produção transformam parte da energia cinética do fluido em energia de cisalhamento causando a dispersão da água na fase contínua óleo. Temos assim a formação de um sistema disperso, estável e com propriedades físico-químicas diferentes das duas fases originais, uma emulsão de água em óleo (Franco et alii,1988 ).

A emulsão é estabilizada por compostos orgânicos solúveis na fase óleo tais como asfaltenos, resinas, ácidos orgânicos e compostos contendo nitrogênio, enxofre e oxigênio na molécula.. Estes compostos migram para a interface óleo/água formando um filme ao redor das gotas de água que impedem a sua coalescência e dificultando a separação das fases (Andrade e Silva, 1984).

Os constituintes heteroatômicos também contribuem para o aumento da polaridade dificultando a separação água/óleo (Brunning, 1988).

A acidez do petróleo, bem como a sua maior polaridade, podem ser consequência da sua biodegradação por microorganismos transformando as moléculas mais simples dos hidrocarbonetos (parafinas normais e ramificadas) em ácidos naftênicos. Para hidrocarbonetos aromáticos a oxidação produz principalmente fenóis conforme figura 7.

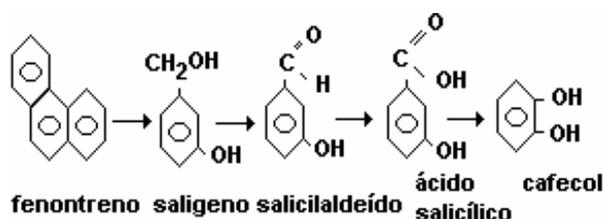


FIGURA 7. Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos

Após a separação das fases óleo/ água o óleo é encaminhado às refinarias enquanto a água contendo óleo emulsionado, óleo suspenso, óleo solúvel e sólidos em suspensão é tratada e descartada.

## **II.2.5 – Escoamento da produção nos campos do RN**

A coleta dos fluidos (basicamente óleo e água) é realizada em pequenas estações coletoras (EC) e bombeada para cinco estações centrais: EC-CAM (Canto do Amaro), EC-ET (Estreito A e B), EC-ARG (Alto do Rodrigues), EC-FP (Fazenda Pocinhos).

As estações centrais bombeiam o petróleo bruto, produzido em terra, até a UPGN-GMR onde ele é misturado com o óleo produzido no mar. Toda a água é separada do óleo, tratada e descartada para o mar através de emissário submarino (ver anexo I). O desemulsificante é dosado nas EC's de modo que, quando a água chega na Estação de Tratamento de óleo (ETO-GMR), grande parte dela esta livre.

### **II.2.5.1 – Tratamento do óleo bruto em Guamaré**

A ETO-GMR processa 75.000 m<sup>3</sup>/dia de petróleo com BSW de 80%. Um fluxograma esquemático da instalação é mostrado no Anexo II.

O tratamento químico consiste da desestabilização da emulsão água em óleo que constitui o petróleo, através da utilização de desemulsificantes.

Os tanques de lavagem ocupam grande área, sendo utilizados de preferência no tratamento de óleos recuperados com injeção de vapor, pois estes óleos apresentam alta porcentagem volumétrica de águas e sedimentos (BSW) além de alta viscosidade, necessitando de grande tempo de residência e altas temperaturas de operação (65 a 80°C). A água descartada nestes vasos geralmente contém maiores teores de óleo do que no tratamento a frio.

Os tratadores eletrostáticos utilizam a coalescência elétrica para separação das fases. As tensões aplicadas às emulsões nas regiões de produção são da ordem de 20.000 V, enquanto nas refinarias podem chegar a 30.000 V.

A água separada é bombeada para a ETE e o óleo tratado é armazenado nos tanques do terminal de armazenamento de óleo.

## II.2.5.2 – Tratamento da água produzida nos campos do RN

A ETE-GMR (Estação de tratamento de efluentes de Guamaré) trata cerca de 60.000  $\frac{m^3}{dia}$  de água separada do petróleo na ETO (Estação de tratamento de óleo). A instalação consiste de dois separadores água/óleo (SAO), um tanque de mistura, dois flotores a ar dissolvido e um emissário submarino que descarta a água tratada a 7 Km da costa do Rio Grande do Norte. O Dismulgan 3377 é utilizado como desemulsificante para desestabilização da emulsão óleo/água.

## II.3 – Poluição por metais pesados

### II.3.1 – Efeitos tóxicos de alguns metais pesados

Segundo Alloway e Ayres (1994) **toxicologia** é o estudo dos efeitos de substâncias venenosas em seres vivos, incluindo a forma pela qual elas penetram no organismo. Acima de certas concentrações o agente tóxico tem efeitos prejudiciais sobre algumas funções biológicas.

Os metais tóxicos lançados no meio ambiente causam maiores impactos ambientais do que a poluição causada por pesticidas, dióxido de enxofre, óxidos de nitrogênio e monóxido de carbono, pelo fato de não serem degradados. As sutis mudanças psicológicas causadas por traços de metais que podem passar despercebidas, ou se detectadas serem atribuídas a outras causas, é um problema crítico na área de pesquisa da saúde pública.

Sob o nome de metais pesados reúne-se uma série de elementos que ocupam as colunas centrais da classificação periódica e têm densidade superior a 5 g/l. Todos eles têm propriedades tóxicas, seja em estado de elemento, seja em estado combinado. Todos são encontrados em pequenas doses no meio natural, e alguns são indispensáveis, pois entram na constituição de enzimas. Entretanto, se o meio estiver sobrecarregado de metais pesados, os animais e vegetais absorverão quantidades excessivas destes elementos, podendo intoxicar-se. No homem, o limite de toxicidade é tanto mais baixo quanto menos útil for o elemento. Os

sintomas da intoxicação metálica dependem de cada metal em particular, mas de um modo geral afetam os rins, o trato gastrointestinal e o cérebro. Vários metais pesados são causas de doenças que se tornaram clássicas: o arsênico provoca doença de Hoff's; o cádmio, a doença de Itai-Itai; o mercúrio, a doença de Minamata (Andrés, 1975; Branco, 1987; Charbonneau, 1979).

Bioquimicamente, o mecanismo de ação dos metais tóxicos é devido a elevada afinidade dos cátions por enxofre pertencentes as enzimas que controlam a velocidade das reações metabólicas críticas no corpo humano, os metais pesados atacam estas enzimas afetando a sua atividade enzimática, e portanto esta não pode agir normalmente afetando a saúde humana adversamente.

### **II.3.2 – Poluição da água por metais pesados**

Existe uma série de substância tóxicas cuja presença na água, acima de certas concentrações, pode causar danos aos ciclos biológicos normais. Entre estas, destacam-se pela sua importância, os compostos de metais pesados.

Segundo Braile e Cavalcanti (1979), a ocorrência natural de sais de metais pesados é muito rara, sendo a indústria a principal responsável por sua emissão nos cursos d'água. Este fato representa um perigo de primeiro grau, pois o comportamento dos metais não pode ser controlado na prática, haja visto que as intoxicações que eles provocam se desenvolvem-se lentamente, sendo muitas vezes identificadas só depois de anos.

Branco (1987) mostra que em relação à presença de metais pesados na água, os organismos aquáticos podem apresentar, basicamente, dois tipos de comportamento:

- ❑ O organismo aquático (ou, também, o ser que bebe a água) é sensível a ação tóxica de pequenas quantidades da substância. Neste caso, tais organismos podem morrer ou envenenar-se em consequência direta da presença da substância na água.
- ❑ O organismo aquático, não sendo muito sensível à ação tóxica da substância, absorve-a do meio, acumulando-a em suas células ou tecidos. Outros organismos aquáticos, alimentando-se dos primeiros, acumulam ainda maiores quantidades de tóxicos e assim

por diante. Há, dessa forma, uma potencialização progressiva ou efeito cumulativo do tóxico ao longo da cadeia trófica, de tal forma que os últimos elementos dessa cadeia, ao se alimentarem dos seus inferiores, recebem uma carga altamente concentrada da substância nociva, podendo perecer ou apresentar sintomas de doenças graves.

### **II.3.3 – Características e efeitos tóxicos de alguns metais pesados**

#### **II.3.3.1 - Mercúrio**

Mercúrio é o mais volátil de todos os metais, e o vapor é elevadamente tóxico. Ventilação adequada é necessária quando o mercúrio é usado em ambiente fechado, já que a pressão de vapor de equilíbrio do mercúrio é centenas de vezes maior do que a máxima recomendada para exposição. Mercúrio líquido não é elevadamente tóxico, pois a maioria que é ingerido é excretado.

Emissão de mercúrio de processos de grandes indústrias no países desenvolvidos tem sido sucessivamente reduzida, mas esta representa somente uma pequena parte do problema já que este elemento é liberado de várias outras fontes. Grande quantidade de mercúrio no estado vapor é liberado no ar como resultado da queima não regulada de carvão e óleo combustível, ambos que sempre contém grandes quantidades deste elemento. A emissão total anual de mercúrio de todas as fontes do meio - ambiente é estimada exceder 10.000 toneladas. No ar, a grande maioria do mercúrio está no estado vapor. O mercúrio gasoso levado pelo ar geralmente viaja longas distâncias antes de ser oxidado e dissolvido pela chuva e subsequentemente ser depositado em terra ou em oceanos.

O mercúrio aparece principalmente em efluentes de indústrias que produzem soda cáustica por processo eletrolítico, lixiviação das cinzas de carvão ou fabricação de baterias elétricas. Pode ser metilizado por atividade bacteriana e ser introduzida na cadeia alimentar aquática (Kemmer, 1977). É um elemento extremamente tóxico. A toxicidade aguda pode ser fatal em 10 dias. A toxicidade crônica afeta as glândulas salivares, os rins e as funções psicológicas e psicomotoras.

### II.3.3.2 - Chumbo

É um metal mole, pesado, cinzento-opaco, de pequena resistência à tensão. É usado na manufatura de tipos de imprensa, no recobrimento de cabos elétricos e em muitas ligas.

Exposto ao ar, o chumbo forma uma camada delgada externa de óxido. Água dura forma um revestimento semelhante sobre o chumbo, o que protege a água de contaminação posterior por meio de compostos solúveis em chumbo. Água mole dissolve quantidades apreciáveis de chumbo, que é venenoso e, por esse motivo, não se pode empregar canos de chumbo para conduzir água potável (Pauling, 1972).

Sua presença em água é indicio de contaminação com água proveniente de metalúrgicas. Também pode ser resultado do ataque corrosivo a ligas (soldas) que as contém (Kemmer, 1977). Pode ser encontrado em tintas e gasolinas que ainda usam chumbo tetraetila para aumentar a sua octanagem. É altamente tóxico, acumulativo e concentra-se nos ossos. Entra nos organismos através de alimentos, ar, fumaça de cigarro e água. Causa danos ao cérebro, convulsões, mudanças de comportamento e morte. Sua ingestão está limitada em  $\frac{mg}{L}$  (Zamberlan e Farias, 1987). É o único dos metais que pode ser absorvido em fase sólida. Provoca saturnismo. Os sintomas mais comuns provocados pelo envenenamento com chumbo são as convulsões, tremores e insuficiência renal (Figueredo, s.d).

Os grupos humanos de maiores riscos de contaminação de baixos níveis de Chumbo são fetos e crianças com idade de cerca de sete anos, elas são mais sensíveis aos adultos devido ao fato deles absorverem uma grande porcentagem de chumbo dietético para o crescimento rápido dos seus cérebros

### II.3.3.3 - Cádmio

Geralmente introduzido por descartes industriais (indústrias de água e niquelamento) o cádmio é mais encontrado em águas de superfície do que em águas de poços. Possui solubilidade limitada e pode ser precipitado como carbonato ou ser removido por troca iônica ou por métodos biológicos. É um elemento potencialmente tóxico e suspeito de causa de hipertensão e doenças cardiovasculares nos seres humanos. Interfere com o metabolismo do

zinco e cobre. A sua ingestão é limitada a  $1 \frac{mg}{g}$ . É encontrado no carvão, mineração de zinco, cursos de água e fumaça proveniente da queima de fumo. Segundo Figueredo (s.d.) o cádmio atua sobre os rins e fígado. Ocasionalmente causa problemas nos ossos, irritação gastrointestinal com dores muito fortes e é carcinogênico em doses superiores a  $0,01 \frac{mg}{L}$ .

#### **II.3.3.4 - Cobre**

É um metal vermelho, mecanicamente resistente, com ponto de fusão moderadamente elevado. Quando puro, é um excelente condutor de calor e eletricidade, e é comumente usado como condutor elétrico (Pauling, 1972).

Cobre pode estar presente na água como resultado da corrosão de tubos ou acessórios feitos com cobre ou suas ligas. Também pode ser resultado da contaminação da água com restos minerais advindos da produção do cobre ou ter sido adicionado deliberadamente como sulfato de cobre para controle do crescimento de algas (Kemmer, 1977). Tubulações de cobre tendem a liberar este metal nas águas provocando acúmulo do mesmo nos trechos estagnados. A ingestão desta água pode provocar vômitos imediatos. O cobre é elemento essencial em baixas doses apresentando toxicidade em altas concentrações. Não é considerado um metal acumulativo, quase todo cobre ingerido é eliminado pelo organismo.

#### **II.3.3.5 - Cromo**

Presente em despejos de indústrias de niquelamento e descargas de fundo de torres de resfriamento, o cromo é solúvel como cromato ( $Cr^{+6}$ ) atuando como agente oxidante. Como  $Cr^{+3}$  apresenta-se na forma de hidróxido coloidal em pH neutro, podendo ser removido por filtração (Kemmer, 1977). Na forma trivalente é essencial ao metabolismo humano e a sua carência causa doenças.

A ocorrência natural dos sais de cromo hexavalente, os cromatos, é muito rara, de modo que quando estão presentes na água, devem originar-se da poluição por despejos industriais. Os sais de cromo hexavalente são largamente usados nas operações de piquelagem e

cromagem de metais, corantes, explosivos, cerâmica, papel, etc. A dose tóxica para o homem seria de 0,5 mg de bicromato de potássio. Não se conhece ainda a quantidade de íon cromato que pode ser ingerida a longo prazo sem conseqüências adversas (Pauling, 1972; Chaborneau, 1979; Oga, 1996).

#### **II.3.3.6 - Zinco**

A presença de zinco na água pode ser devida a descarte de efluentes de metalurgia, mineração, ou operações de acabamento de metais. Pode aparecer também como resultado da corrosão galvânica em tubulações de aço. È frequentemente incluído em formulações de inibidores de corrosão onde seu efeito na tubulação de aço é similar àquele da galvanização (Kemmer, 1977).

O zinco é um cancerígeno lento, mas poderoso. Vários metais pesados (cromo, mercúrio, níquel, chumbo, zinco) têm ação tóxica ou inibidora sobre o crescimento das algas (Braile e Cavalcanti, 1979; Charbonneau, 1979).

#### **II.3.3.7 - Níquel**

È um metal branco, ligeiramente amarelado. È bastante utilizado na fabricação de ligas, inclusive a liga de cobre e níquel (75% Cu, 25% Ni), empregada em cunhagem de moedas (Pauling, 1972).

Encontrado em despejos de indústrias de chapas e resíduos de minério, o níquel raramente apresenta-se como  $Ni^{+3}$  preferindo a forma  $Ni^{+2}$ . Também é encontrado no óleo diesel, carvão, fumaça de fumo, catalisadores e ligas de aço e não ferroso. Precipita como hidróxido e carbonato básico. Os seus sulfetos são insolúveis. Os cátions podem ser removidos por troca iônica (Kemmer, 1977). A toxicidade do níquel provoca reações alérgicas (dermatite, asma), náuseas, vômitos, fraqueza e alterações funcionais cardíaca e uterina (Waitzberg, 1990).

### **II.3.3.8 - Ferro**

Ferro puro é um metal branco-prateado brilhante que se mancha (oxida) rapidamente em ar úmido ou em água que contenha oxigênio dissolvido. É mole, maleável e dúctil, sendo também fortemente magnético. Funde a 1535°C e ferve a 3000°C (Pauling, 1972).

É o quarto elemento na ordem de abundância e o metal mais barato; constitui o ingrediente básico de todos os aços. Faz parte do composto da hemoglobina e leva o oxigênio à corrente sanguínea.

É encontrado em muitas rochas ígneas e argilas minerais. Em seu estado reduzido ( $\text{Fe}^{+2}$ ) ele é bastante solúvel. Quando em seu estado oxidado ( $\text{Fe}^{+3}$ ) e na faixa de pH entre 7 a 8,5 o ferro é quase completamente insolúvel (Kemmer, 1977).

A administração de doses de ferro superior a 1 mgEV provoca cefaléia, convulsões, náuseas, vômitos, febre, suor, hipotensão e até mesmo choque anafilático (Waitzberg, 1990).

### **II.3.3.9 - Manganês**

O manganês elementar é cinza, semelhante ao ferro, porém, mais duro e quebradiço, possui número atômico 25 e densidade específica de 7,21 a 7,4, dependendo da forma alotrópica, ponto de fusão 1260°C, ponto de ebulição 1962°C e boa solubilidade em ácidos diluídos.

O manganês proporciona ao mesmo tempo dureza e flexibilidade ao ferro, e parece desempenhar papel semelhante nos ossos dos animais, pois sem ele os ossos tornam-se mais esponjosos e quebram-se mais facilmente. É ainda, ativador de muitas enzimas.

Em trabalhadores expostos à concentrações elevadas são detectados nos pulmões, fígado e rins.

Entre as principais aplicações industriais responsáveis pela ocorrência de exposições ao manganês pelos trabalhadores, destacam-se: fabricação de fósforos, pilhas secas, ligas não

ferrosas, esmalte parcelanizado, fertilizantes, fungicidas, rações, eletrodos para solda, magnetos, catalisadores, vidros, tintas, cerâmicas, materiais elétricos e produtos farmacêuticos (Oga, 1996).

#### **II.3.3.10 – Outros metais pesados**

O selênio geralmente está ausente ou aparece apenas como traços nas águas naturais. As pessoas que habitam regiões seleníferas têm apresentado sintomas brandos de intoxicação, parecendo também que, nas crianças, aumenta a ocorrência de cárie dentária. Experiências em ratos têm demonstrado que o selênio pode ter ação cancerígena.

A prata não é encontrada com frequência nas águas naturais. Muito dos seus sais são insolúveis e não é elemento abundante na natureza. A indústria de artigos de prata, a galvanoplastia, a fabricação de tintas, a fotografia, podem contribuir com seus despejos para adicionar traços de prata às águas naturais. Uma vez ingerida, praticamente não é eliminada e, no caso de haver uso contínuo de tal água, sua concentração no organismo iria aumentando paulatinamente. A dose letal para o homem é de 10 g como nitrato de prata.

Devido à baixa solubilidade do sulfato de bário, geralmente, apenas traços de bário são encontrados nas águas naturais. Sob a forma de carbonatos, ocorre, naturalmente, em certas fontes minerais. Também é encontrado em efluentes de mineração. O bário é considerado um estimulante muscular, especialmente do coração. É capaz de causar bloqueio nervoso e, mesmo em doses pequenas ou moderadas, pode causar vaso constrição, com aumento da pressão sanguínea. Para o homem, a dose letal é de 0,8 a 0,9 g como cloreto (550-600 mg Ba). Não parece ter efeitos cumulativos e considera-se que o limite de 1 mg/L, para a água, está dentro da faixa de segurança.

Nas águas naturais é frequente a ocorrência de traços de arsênio, inofensivos à saúde. O aumento do seu teor nas águas é, em geral, devido a despejos industriais, atividades de mineração ou por lavagem do solo, onde são utilizados inseticidas ou herbicidas à base desse elemento. A ingestão de 100 mg/L pode resultar em severa intoxicação e de 130 mg/L, em acidente fatal. Pequenas doses de arsênio tem efeito cumulativo no organismo humano, devido sua lenta eliminação, o que leva a graves intoxicações.

## **II.4 – Normas para metais pesados**

Devido ao crescente aumento da população, acompanhado pela intensificação de suas atividades e pelo grande desenvolvimento industrial, passou-se a utilizar mais os recursos naturais, degradando sua qualidade.

Para manter a qualidade da água necessária para sua reutilização, passou-se a exigir que medidas de preservação fossem adotadas. Segundo Mota (1995) para cada uso da água são exigidos limites máximos de impurezas que a mesma pode conter. Estes limites, quando estabelecidos por organismos oficiais, são chamados de padrões de qualidade.

A seguir serão fornecidos para alguns metais pesados os teores máximos permissíveis estabelecidos no Brasil e em outras comunidades.

### **II.4.1 – Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)**

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) através da Resolução N° 20, de 18 de julho de 1986, estabeleceu a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional, definindo classes segundo seus usos prioritários.

Os valores máximos permissíveis de alguns metais, para águas destinadas ao abastecimento doméstico após tratamento simplificado (Classe 1) e convencional (Classes 2 e 3) estabelecidos por este agente são apresentados na tabela 5.

TABELA 5. Padrões de potabilidade da água para metais pesados (Mota, 1995).

<b>METAL</b>	<b>CLASSE 1 VMP (mg/L)*</b>	<b>CLASSES 2 E 3 VMP (mg/L)</b>
<b>Alumínio</b>	0,100	0,100
<b>Cádmio</b>	0,001	0,010
<b>Chumbo</b>	0,030	0,050
<b>Cobre</b>	0,020	0,500
<b>Cromo trivalente</b>	0,500	0,500
<b>Cromo hexavalente</b>	0,050	0,050
<b>Ferro solúvel</b>	0,300	5,000
<b>Manganês</b>	0,100	0,500
<b>Mercúrio</b>	0,0002	0,002
<b>Níquel</b>	0,025	0,025
<b>Zinco</b>	0,180	5,000

(\*) Valor máximo permissível

Embora o CONAMA tenha enquadrado a água em 9 classes, estabeleceu também na Resolução N° 20 alguns padrões para o descarte de efluentes. A tabela 6 fornece os valores máximos admissíveis para alguns metais (Mota, 1995).

Tabela 6. Valores máximos admissíveis de alguns metais pesados para descarte em efluentes, segundo a Resolução N° 20 do CONAMA (Mota, 1995).

<b>METAL</b>	<b>VMA* (mg/L)</b>	<b>METAL</b>	<b>VMA (mg/L)</b>
<b>Cádmio</b>	0,20	<b>Ferro solúvel</b>	15,0
<b>Chumbo</b>	0,50	<b>Manganês solúvel</b>	1,00
<b>Cobre</b>	1,00	<b>Mercúrio</b>	0,01
<b>Cromo (VI)</b>	0,50	<b>Níquel</b>	2,00
<b>Cromo (III)</b>	2,00	<b>Zinco</b>	5,00

(\*) Valor máximo permissível

#### **II.4.2 – Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente (FEEMA)**

A Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente (FEEMA), do Estado do Rio de Janeiro, estabeleceu critérios de qualidade para a água potabilizável, ou seja, aquela destinada ao abastecimento doméstico após tratamento convencional (tabela 7).

TABELA 7. Critérios de qualidade de água para abastecimento com tratamento convencional, de acordo com a NT 307, da FEEMA (Água Potabilizável) (Mota, 1995).

METAL	VMP* (mg/L)	METAL	VMP* (mg/L)
<b>Cádmio</b>	0,010	<b>Cromo total</b>	0,050
<b>Chumbo</b>	0,100	<b>Mercúrio</b>	0,002
<b>Cobre</b>	1,000	<b>Zinco</b>	5,000

(\*) Valor máximo permissível

#### II.4.3 – Portaria N° 36 do Ministério da saúde para água potável

No Brasil os padrões de potabilidade foram definidos pelo Ministério da Saúde através de sua Portaria N° 36, de 01 de janeiro de 1990. Os valores estabelecidos para alguns íons metálicos que podem estar presentes em água potável são mostrados na tabela 8.

TABELA 8. Valores máximos permissíveis para metais pesados em água potável segundo a Portaria N° 36 do Ministério da Saúde (Mota, 1995).

METAL	VMP* (mg/L)	METAL	VMP* (mg/L)
<b>Alumínio**</b>	0,200	<b>Cromo total</b>	0,050
<b>Cádmio</b>	0,005	<b>Manganês</b>	0,100
<b>Chumbo</b>	0,050	<b>Mercúrio</b>	0,001
<b>Cobre</b>	1,000	<b>Zinco</b>	5,000

(\*) Valor máximo permissível

(\*\*) Sujeito à revisão em função de estudos toxicológicos

#### II.4.4 – Outros órgãos regulamentadores internacionais

Nos Estados Unidos as substâncias perigosas, definidas em termos de sua inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade, têm sido definidas pela Environmental Protection Agency (EPA), órgão criado em 1970 por um ato presidencial com o propósito de tornar-se a agência central voltada para o controle de poluição do ar, da água e recursos das terras nacionais. Neste país, a qualidade de corpos d'água que são supridores de águas públicas, é julgada por uma regulamentação da USEPA-NIPDWR (United States

Environmental Protection Agency-National Interim Primary Drinking Water Regulations) (Tchobanoglous e Burton, 1991; Montgomery, 1985).

## **II.5 – Biosorção**

Devido ao aumento da consciência sobre os efeitos nocivos causados pela liberação dos metais pesados, muitos estudos sobre a acumulação de metais, do ponto de vista de sua remoção de soluções aquosas, vêm sendo realizados. Diferentemente das espécies poluidoras orgânicas, que em muitos casos podem ser degradadas, as espécies metálicas liberadas no ambiente tendem a persistir indefinidamente, circulando e, eventualmente acumulando-se ao longo da cadeia alimentar, sendo uma verdadeira ameaça para o meio-ambiente, animais e humanos.

O aumento das espécies metálicas liberadas no ambiente é resultado tanto de atividades de mineração como de águas residuárias industriais, usadas diretamente no processamento de metais ou através de outras atividades industriais.

Métodos convencionais para a remoção de metais de soluções aquosas incluem precipitação química, deposição eletrolítica, troca iônica, osmose reversa, recuperação por evaporação e aplicação da tecnologia de membrana. Contudo, quando metais são dissolvidos em enormes volumes a concentrações relativamente baixa, estes métodos tornam-se ineficientes ou extremamente caro (Wilde and Benemann, 1993; Winter, Winter e Pohl, 1994; Aderhold, Williams e Edyvean, 1996).

Métodos alternativos para a remoção e recuperação estão sendo propostos, e a BIOSORÇÃO vem se tornando uma alternativa potencialmente atrativa para uma grande variedade de efluentes industriais.

A implantação no Brasil desta nova tecnologia, servirá como uma alternativa promissora na solução de uns dos mais graves problemas existentes na indústria do petróleo e, deste modo, poderá contribuir para o tratamento das águas de produção, permitindo a sua utilização para irrigação e abastecimento doméstico após tratamento simplificado.

### **II.5.1 – Definição**

A capacidade de certos microrganismos concentrar metais pesados é bem conhecida. Entretanto, somente durante as duas últimas décadas é que os microrganismos estão sendo usados como uma alternativa para a remoção e recuperação de metais. O termo “biosorção” é definido como um processo no qual sólidos de origem natural ou seus derivados são usados na retenção de metais pesados de um ambiente aquoso (Muraleedharan, Iyengar e Venkobachar, 1991).

A biosorção compreende a ligação de metais à biomassa por um processo que não envolva energia metabólica ou transporte, embora tais processos possam ocorrer simultaneamente quando biomassa viva for usada, pois a biosorção pode ocorrer com biomassa viva ou morta (Tobin, White e Gadd, 1994).

Apesar de todo material biológico ter uma habilidade biosortiva, a aplicação industrial da biosorção tem sido principalmente direcionada à sistemas microbianos, incluindo bactérias, algas, fungos e leveduras (Gadd, 1990).

### **II.5.2 – Mecanismo de acumulação de metais por microrganismos**

O entendimento do mecanismo de biosorção não é meramente uma questão de interesse acadêmico; benefícios práticos são também conseguidos. O principal objetivo de estudar o processo de biosorção é otimizar a sua aplicação. Para predizer quantitativamente quanto um determinado fator influência na remoção metálica, deve-se utilizar modelos matemáticos baseados no mecanismo preponderante do processo. Por exemplo, sabendo que o mecanismo de biosorção é baseado principalmente na troca iônica, fica evidente que as mudanças na força iônica da solução afetarão a remoção do metal pesado. Além disso, a escolha de um método de desorção apropriado também depende do mecanismo envolvido.

A biosorção de metais não é baseada num único mecanismo. Ela consiste de vários mecanismos que quantitativa e qualitativamente diferem de acordo com as espécies usadas, a origem da biomassa e seu processamento. A biosorção de metais segue mecanismos complexos, principalmente troca iônica, quelação, adsorção por forças físicas e o

aprisionamento de íons em capilares inter e intrafibrilares e espaços da rede de polissacarídeos estruturais, como resultado do gradiente de concentração e difusão através da parede celular e membranas (Volesky e Holan, 1995).

Há vários grupos químicos que podem atrair e reter metais pesados na biomassa: grupos acetamido da quitina, polissacarídeos estruturais de fungos, grupos amino e fosfato em ácidos nucleicos, grupos amino, amido, sulfidril e carboxila em proteínas, grupos hidroxila em polissacarídeos, e principalmente carboxila e sulfatos em polissacarídeos de algas marinhas. Entretanto, a presença de alguns grupos funcionais não garante sua acessibilidade para sorção, talvez devido ao efeito estérico, conformação, ou outras barreiras (Volesky e Holan, 1995).

Embora células vivas e mortas sejam capazes de acumular metais, pode haver diferenças nos mecanismos envolvidos em cada caso, dependendo da extensão da dependência metabólica (Gaad, 1990).

A baixas concentrações, muitos metais pesados como cobre, zinco, manganês, são essenciais para o crescimento e metabolismo celular, enquanto outros, como ouro, prata, cádmio, chumbo, mercúrio, alumínio, não possuem função biológica essencial conhecida. Todos estes elementos podem ser altamente tóxicos para células vivas, o que aumenta o problema para a remoção de metais por sistemas que utilizam biomassa viva.

O uso de biomassa morta ou de produtos derivados elimina o problema de toxicidade e os aspectos econômicos referentes ao suprimento de nutrientes e manutenção da cultura. Entretanto, as células vivas podem exibir uma maior variedade de mecanismos de acumulação de metais (transporte, síntese de proteínas intracelulares e extracelulares que se ligam a metais, precipitação extracelular e formação de complexos como resultado da excreção de metabólitos. Gaad (1990) não verificou diferença significativa na remoção de metais pesados utilizando biomassa fúngica viva e morta.

Uma grande variedade de microrganismo pode se ligar a metais. Entretanto, há grandes diferenças nas respostas das espécies microbianas quando expostas a soluções metálicas.

As paredes de bactérias, algas e fungos são eficientes biosorventes metálicos, e em muitos casos a ligação inicial pode ser seguida pela deposição inorgânica de quantidades

crescentes de metal. Ligações covalentes e iônicas podem estar envolvidas na biosorção, com constituintes tais como proteínas e polissacarídeos. Em várias espécies, a biosorção pode ser a maior proporção da retenção total. Isto é especialmente verdadeiro para metais pesados como chumbo e alumínio, e radioativos como urânio e tório. As variações na composição das paredes celulares das células microbianas, que podem ser influenciadas pelas condições de cultura, podem resultar em variações consideráveis na capacidade biosortiva e permitir algum grau de acumulação seletiva (Gaad, 1990).

Os mecanismos pelos quais microrganismos removem metais de solução são:

- a) acumulação extracelular/precipitação;
- b) sorção na superfície celular ou complexação;
- c) acumulação intracelular.

Entre estes, o processo (b) pode ocorrer com organismos vivos ou mortos, o processo (a) pode ser facilitado por microrganismos vivos, enquanto o processo (c) requer atividade microbiana (Muraleedharan, Iyengar e Venkobachar, 1991).

#### **a) Acumulação extracelular/precipitação**

A remoção de metais por polissacarídeos extracelulares tem sido muito estudada. O aprisionamento físico de metais precipitados na matriz polimérica e a complexação de espécies solúveis por constituintes carregados dos polímeros são formas importantes de remoção de metais. Embora os polímeros microbianos sejam constituídos principalmente de polissacarídeos neutros, eles podem também conter compostos tais como ácido urônico, hexoaminas e fosfatos, que podem complexar íons metálicos. Como os polissacarídeos excretados pelos diferentes microrganismos diferem em composição, as propriedades de ligação com metais também diferem de acordo com as espécies microbianas. As condições do crescimento microbiano também influenciam significativamente a composição destes polissacarídeos, afetando a remoção de metais. Uma vez que os polímeros são produzidos, a remoção de metais por este mecanismo é provavelmente um fenômeno passivo, não requerendo a participação dos organismos vivos. Entretanto, alguns trabalhos indicam que a síntese destes polímeros é induzida pela presença dos metais tóxicos (Muraleedharan, Iyengar e Venkobachar, 1991).

## **b) Sorção na superfície celular ou complexação**

Uma maneira comum pela qual os microrganismos resistem aos metais tóxicos na natureza é acumulando-os em sua superfície. A acumulação permite à célula funcionar normalmente mesmo na presença de elevadas concentrações de metais tóxicos no ambiente. Em alguns casos, as células podem excretar produtos metabólicos tais como  $H_2S$  ou  $H_2O_2$  que podem precipitar os metais como sulfetos ou óxidos, gerando substâncias inofensivas. Esta deposição extracelular pode depender também da produção celular de exopolímeros ácidos (negativamente carregados) capazes de ligar e concentrar cátions metálicos extracelularmente (Ghiorse, 1986).

Em geral, a acumulação superficial é o resultado de reações de complexação/troca iônica entre íons metálicos e os constituintes receptivos carregados da parede celular. Como a biosorção é uma reação física/química entre íons metálicos carregados positivamente e grupos aniônicos da superfície celular, espera-se que a biosorção metálica seja fortemente influenciada pelas condições experimentais tal como o pH, que afeta a especiação do metal e grupos reativos. Além disso, é possível que os grupos receptivos do biosorvente sejam específicos a certos metais. A presença de certas enzimas na membrana celular dos microrganismos pode também levar à precipitação de metais pesados (Muraleedharan, Iyengar e Venkobachar, 1991).

## **c) Acumulação intracelular**

A retenção de íons metálicos por mecanismos dependentes do metabolismo é geralmente um processo mais lento que a biosorção, embora quantidades maiores de metal possam ser acumuladas em alguns organismos. O transporte de íons metálicos para dentro das células microbianas é inibido por baixas temperaturas, inibidores metabólicos e ausência de uma fonte de energia. As taxas de retenção são influenciadas pelo estado metabólico das células e pela composição do meio externo. Os sistemas de transporte encontrados nos microrganismos variam em especificidade, e tantos elementos essenciais como não-essenciais podem ser captados. A maioria dos mecanismos de transporte metálico parece se basear no gradiente eletroquímico de prótons através da membrana celular, que tem um componente químico (o gradiente de pH) e um componente elétrico (o potencial da membrana), cada um dos quais podendo conduzir o transporte de solutos ionizados através das membranas. Em

vários organismos, como nos fungos filamentosos, o transporte pode não ser um componente significativo na retenção total. Além disso em alguns casos, a retenção intracelular pode ocorrer por difusão, particularmente onde efeitos tóxicos levam à mudanças na permeabilidade da membrana. Depois de captados dentro das células, os metais podem ser depositados e/ou convertidos em formas mais inócuas por ligação ou precipitação (Gaad, 1990).

Embora nem todos os biosorventes potencialmente aplicáveis tenham sido sistematicamente examinados, muitas evidências têm levado à identificação da troca iônica como o principal mecanismo da biosorção de metais. Esta hipótese foi formulada a partir de estudos que revelaram uma diminuição da biosorção de cátions metálicos à medida que o pH diminuía de 6 para 2,5. Como muitos metais precipitam em  $\text{pH} > 5,5$ , inicialmente considerou-se que em altos valores de pH os metais poderiam se acumular dentro das células e em capilaridades da parede celular por um mecanismo combinado de sorção-microprecipitação. Entretanto, experimentos realizados em batelada sem ajuste de pH revelaram que a sorção de metais pesados em biomassa tratada com ácido causaram um decréscimo do pH da solução. A partir desses resultados a hipótese de troca iônica entre prótons e metais pesados foi formulada.

Outros estudos revelaram que biomassas pré-tratadas com soluções de cálcio e sódio, liberavam cátions desses dois metais na solução à medida que retinham zinco e chumbo, e a quantidade de metais retidos e liberados era aproximadamente igual. Portanto, metais pesados são biosorvidos de soluções aquosas predominantemente por troca iônica com os contra-íons presentes na biomassa (Kratochvil e Volesky, 1998).

### **II.5.3 – Avaliação do desempenho da sorção**

O desempenho da sorção de um metal por um determinado biosorvente depende de alguns fatores. Além da presença de outros íons (que poderiam competir pelos mesmos sítios de ligação), bem como de materiais orgânicos em solução (atuando como agentes complexantes) e de produtos metabólicos da célula em solução (que poderiam causar precipitação do metal), o pH, a temperatura, a concentração do metal e condições de biomassa

(se viva ou morta, quantidade, tamanho, pré-tratamentos) podem afetar sua capacidade de sorção.

Uma comparação quantitativa de dois diferentes sistemas de sorção só pode ser realizada nas mesmas condições de concentração de equilíbrio (final). Qualquer outra comparação conduz a um erro e pode somente servir como uma comparação qualitativa, freqüentemente usada para uma seleção rápida.

### **II.5.3.1 – Efeito do pH**

O valor do pH da solução é um dos fatores que mais afeta a sorção de metais pesados. Segundo Kuyucak e Volesky (1988) a sorção aumenta com o aumento do valor do pH, devido ao aumento da densidade de carga negativa na solução, gerando sítios ativos para interação com o metal pesado. A exceção é feita para os íons metálicos presentes como espécies aniônicas, onde a biosorção é favorecida pelo decréscimo do valor do pH.

Além de mudar o estado dos sítios da ligação metálica, valores extremos de pH, como os usados na regeneração (desorção), podem danificar a estrutura do material biosorvente. O pH afeta também a especiação do íon metálico na solução, uma vez que ocorre um decréscimo de solubilidade dos complexos metálicos com o aumento do pH. Isto pode impor limitações na faixa de pH viável para o estudo da biosorção. Como a adsorção não depende somente da atração do sorbato pela superfície do sólido, mas também do comportamento liofóbico (a sorção aumenta com o decréscimo da solubilidade), para a maioria dos metais isto significa que a adsorção aumenta com o aumento do pH. Por outro lado, valores muito altos do pH, que causam precipitação dos complexos metálicos, devem ser evitados durante experimentos de sorção, pois a distinção entre sorção e precipitação na remoção metálica seria difícil (Schiewer e Volesky, 1995).

### **II.5.3.2 – Influência da temperatura**

A biosorção não é necessariamente uma reação exotérmica como as outras reações de adsorção física. A faixa de temperatura para a biosorção é relativamente estreita, normalmente

situada entre 10 e 70°C. e é função do tipo de biosorvente utilizado. Os estudos realizados têm demonstrado que na faixa de 5 a 35°C a temperatura exerce pouco efeito sobre a biosorção (Tsezos e Volesky, 1981; Aksu e Kutsal, 1991; Kuyucak e Volesky, 1989a).

### **II.5.3.3 – Influência da concentração do metal**

Um dos fatores que mais importante que influencia a remoção metálica é a concentração do metal pesado presente na solução. Biosorção pode ser aplicada em uma ampla faixa de concentração metálica; Com o aumento da concentração metálica de equilíbrio, a capacidade de biosorção (mg de metal por grama de biomassa) aumenta e a eficiência de biosorção diminui (Sandau, Sandau e Pulz, et alli., 1996). A capacidade de sorção é limitada pelo número de sítios ligantes na biomassa. Para baixas concentrações do metal pesado, como ocorre em águas de produção da indústria de petróleo, são necessárias pequenas concentrações de biomassa para atingir a capacidade máxima de remoção metálica.

### **II.5.3.4 – Condições de biomassa**

Muitos tipos de biomassa têm sido quimicamente processados com o objetivo de reforça-los para aplicações em processos de sorção, bem como aumentar o desempenho da sorção. Para o *Aspergillus niger* os tratamentos químicos realizados com o hidróxido de sódio, formaldeído e detergente aumentaram a capacidade de sorção (Kappor e Virarahavan, 1998). Não é possível prever o grau de modificação química para uma dada biomassa. O melhor método e condições experimentais dos tratamentos, bem como o tamanho, quantidade, forma e estado da biomassa (viva ou morta) devem ser avaliados experimentalmente, em função das diferenças na estrutura e composição das paredes celulares dos biosorventes (Leusch, Holan e Volesky, 1995).

### II.5.3.5 – Isotermas de sorção

A sorção de metais sobre a parede celular tem sido tratada em termos de dois modelos: (1) adsorção, no qual o metal se liga a um dos vários sítios livres, sem mudanças adicionais neste sítio e (2) troca iônica, no qual um metal substitui outro íon num processo de sorção.

Kapoor, Viraraghavan e Cullimore (1999) mostraram que para fungos, a sorção de íons metálicos é acompanhada pela substituição de outros cátion. Um modelo de troca iônica seria, portanto, mais consistente com o sistema química. Infelizmente, a descrição de um sistema por troca iônica é muito mais trabalhosa, pois a estequiometria da sorção e desorção devem ser demonstradas, além de ser necessário a determinação de quatro concentrações ao invés dos dois valores típicos da adsorção, a concentração do soluto e a quantidade sorvida.

O dois modelos de sorção mais utilizados para sistemas de sorção com um soluto são o modelo de Langmuir e o modelo de Freundlich.

O modelo de Langmuir assume as seguintes hipóteses (Atkins, 1994; Cooney, 1999):

- 1 – É assumido que a adsorção ocorre em um número definido de sítios da superfície;
- 2 – Cada sítio pode abrigar somente uma molécula (cobertura monocamada);
- 3 – A energia de adsorção, ou seja, a força de ligação gerada entre a superfície e as moléculas de adsorbato, é igual para todos os sítios.
- 4 – Não existem forças de interação entre moléculas adsorvidas adjacentes, o que implica que a habilidade de um molécula adsorver em um dado sítio é independente da ocupação dos sítios vizinhos.

Considerando a reação superficial:



Em que C é a concentração do adsorbato na fase líquida e B é um sítio adsorptivo na fase sólida, a lei da ação das massa para esta reação pode ser escrita como:

$$K_{ads} = \frac{[BC]}{[B][C]} \quad (1)$$

Considerando que o número total de sítios de ligação é constante, a soma dos sítios livres e ocupados fornece a quantidade total de sítios, ou seja:

$$q_m = B + BC \quad (2)$$

Combinando as equações (1) e (2) obtém-se a equação da isoterma de Langmuir:

$$q = \frac{q_m b C}{1 + b C} \quad (3)$$

em que  $b = \frac{1}{K_{ads}}$ .

A isoterma de Langmuir prediz a saturação da superfície sólida ( $q = q_m$ ) para altos valores de C e uma adsorção linear para baixos valores de C. Em geral,  $q_m$  e  $K_{ads}$  são funções do pH, meio iônico e força iônica.

O valor da constante de Langmuir,  $q_m$ , aumenta com o pH, mesmo a altas concentrações de metal. Aparentemente, a força motriz para a ligação não é suficiente para causar a substituição dos prótons de todos os sítios. A remoção de prótons por um meio mais básico fornece sítios aniônicos que possuem energia favorável para a ligação com o metal. Entretanto, a relação entre os sítios criados pela remoção de prótons são efetivos para a adsorção metálica, uma vez que a adsorção de íons metálicos positivos pode reduzir a densidade de carga superficial, deixando os sítios restantes menos efetivos (Crist, Oberholser, Schwartz, et alli, 1988).

Quando dados experimentais não se ajustam ao modelo de Langmuir, considera-se geralmente que a adsorção ocorreu em multicamadas. Entretanto, esta não conformidade pode também indicar que a adsorção pode estar envolvendo mais de um tipo de ligação (iônica e covalente) (Avery e Tobin, 1993).

A isoterma de Freundlich é uma equação empírica baseada na sorção sobre uma superfície heterogênea (Çetinkaya, Aksu, Ozturk, et alli, 1999). A isoterma de Freundlich é representada por:

$$q = K' C^{\frac{1}{n}} \quad (4)$$

em que  $K'$  e  $n$  são as constantes de Freundlich, características do sistema.  $K'$  e  $n$  são indicadores da capacidade e intensidade de adsorção.

A isoterma de Freundlich não prediz a saturação da superfície sólida pelo adsorbato. Assim, o modelo permite a existência de uma cobertura superficial infinita. A isoterma de Freundlich é freqüentemente usada para modelar segmentos limitados de dados experimentais (Reed e Matsumoto, 1993).

Ambos os modelos, embora capazes de descrever muitas isotermas de biosorção, dificilmente podem ter uma interpretação física e significativa. Os resultados não podem ser extrapolados, e nenhuma conclusão preditiva pode ser feita para sistemas que operem sob diferentes condições. Estes modelos também não incorporam os efeitos de qualquer outro fator ambiental externo. Além disso, as isotermas de biosorção podem exibir um padrão irregular devido à natureza complexa tanto do material biosorvente e seus sítios ativos variados, quanto de algumas soluções metálicas.

### **II.5.3 – Materiais biosorventes**

As características mais procuradas num adsorvente são capacidade, seletividade, regenerabilidade, compatibilidade e baixo custo. Raramente um adsorvente será ótimo em todos estes aspectos.

A capacidade é a quantidade de adsorbato retido pelo adsorvente por unidade de massa ou volume de adsorvente, e é normalmente a característica mais importante de um adsorvente. Ela afeta muito o custo capital, uma vez que determina a quantidade necessária de adsorvente e o volume dos equipamentos utilizados.

Para um dado adsorvente, a capacidade depende principalmente da concentração da fase fluida, temperatura e condições iniciais do adsorvente.

A seletividade é a razão entre a capacidade de um adsorvente reter um componente e sua capacidade para outro componente, numa dada concentração da fase fluida.

A regenerabilidade é essencial para todos as unidades de adsorção, pois o adsorvente pode operar em ciclos seqüenciais com desempenho uniforme. Isto significa que cada componente deve ser fracamente adsorvido, isto é, mais por adsorção física do que química. O calor de adsorção fornece uma medida da energia necessária para a regeneração; do ponto de vista da regeneração, baixos valores são desejáveis.

A capacidade, seletividade e regenerabilidade são, na maioria dos casos, estabelecidas por constantes de equilíbrio. O entendimento das relações de equilíbrio envolvidas é útil para a determinação experimental destas três medidas do desempenho do adsorvente, as quais são freqüentemente necessárias na seleção dos mesmos (Knaebel, 1995).

O conhecimento da estrutura química dos biosorventes é essencial para modelar e prever seus desempenhos em ligar metais em sistemas de purificação de água. A efetividade global de um biosorvente em remover metais depende também da faixa de concentração pH da solução, cinética da reação, equipamento de sorção, e composição do efluente. A identificação dos sítios de ligação em biosorventes eficientes seria útil no processo de seleção de novos tipos de biomassa, bem como na tentativa de melhorar suas propriedades complexantes através de processos químicos ou biológicos (Fourest e Volesky, 1996).

Para a implementação de uma nova tecnologia de acumulação de metais pesados, uma série de requisitos deve ser estabelecida para a competitividade técnica e econômica do processo:

- ❑ A biomassa deve ter uma capacidade de acumulação elevada, da ordem de 70 a 100mg metal/g biomassa seca;
- ❑ A biosorção e a desorção devem ser rápidas e eficientes;
- ❑ O material biológico deve apresentar baixo custo;
- ❑ O material biológico deve ser reutilizável;

- ❑ O material biológico deve ser adaptável a diferentes configurações de reatores;
- ❑ A separação do metal retido deve ser fácil e de baixo custo.

Embora muitos materiais biológicos possam se ligar a metais, somente aqueles com capacidade de ligação e seletividade suficientemente altas para metais pesados são viáveis para o uso em processos biosortivos em grande escala. O primeiro maior desafio dos estudos sobre biosorção foi selecionar os tipos mais promissores de biomassa de um conjunto relativamente grande de biomateriais disponíveis e de baixo custo. Embora esta etapa não tenha sido completamente realizada, um bom número de tipos de biomassa já foram testadas em suas capacidades de ligação sob várias condições.

A tabela 9 resume as tentativas de obter os diferentes tipos de biomassa capaz de remover vários tipos de metais no mundo microbiano. Os resultados destes estudos varia amplamente por causa dos diferentes critérios utilizados pelos autores na pesquisa dos materiais convenientes. Uma conclusão geral que existem materiais biosorventes com potencial de biosorver os principais tipos de metais entre os tipos de biomassa facilmente disponível dos três grupos: algas, fungos e bactérias, as duas precedentes talvez sendo os tipos de biomassa de escolha mais abrangente.

TABELA 9. Biosorventes para a remoção de metais pela biomassa microbiana

Metal	Tipo de biomassa	Classe da biomassa	Remoção do metal <sup>a</sup> (mg/g)	Referência
Ag	(Alga de água doce) <sup>b</sup>	Biosolvente	86-94	Brierley e Vance, 1988
	(Biomassa fúngica) <sup>b</sup>	Biosolvente	65	Brierley, et alli., 1986
	Rhizopus arrhizu	Fungo	54	Tobin et alli., 1984
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levedura	4.7	Brady e Ducan, 1993
Au	<i>Sargassum natans</i>	Alga marrom	400	Volesky e Kuyucak, 1988
	<i>Aspergillus niger</i>	Fungo	176	Kuyucak e Volesky, 1988
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungo	164	Kuyucak e Volesky, 1988
	<i>Palmaria tevera</i>	Alga marinha	164	Kuyucak e Volesky, 1988
Cd	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Alga marinha marrom	215	Holan et alli., 1993
	<i>Sargassum natans</i>	Alga marinha marrom	135	Holan et alli., 1993
	(Biomassa fúngica) <sup>b</sup>	Biosolvente	135	Brierley et alli., 1986
	( <i>B. subtilis</i> ) <sup>b</sup>	Biosolvente	101	Brierley et alli., 1986
Cr	<i>Bacillus</i>	Bactéria	118 (Cr <sup>3+</sup> )	Brierley e Brierley, 1993
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungo	31	Tobin et alli., 1984
	<i>Candida tropicalis</i>	Levedura	4.6	Mattuschka et alli., 1993
	<i>Streptomyces noursei</i>	Bactéria filamentosa	1.8	Mattuschka et alli., 1993
Cu	( <i>Bacillus subtilis</i> ) <sup>b</sup>	Biosolvente	152	Beveridge, 1986
	( <i>Bacillus subtilis</i> )	Bactéria	146	Beveridge, 1986
	<i>Candida tropicalis</i>	Levedura	80	Mattuschka et alli., 1993
	(Biomassa fúngica) <sup>b</sup>	Biosolvente	76	Beveridge, 1986
Fe	( <i>Bacillus subtilis</i> )	Bactéria	201	Beveridge, 1986
	<i>Bacillus</i>	Bactéria	107	Brierley e Brierley, 1993
Hg	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungo	54	Tobin et alli., 1984
	( <i>Penicillium chrysogenum</i> ) <sup>b</sup>	Fungo	20	Nemec et alli., 1977
Mn	( <i>Bacillus subtilis</i> )	Bactéria	44	Beveridge, 1986
	( <i>Bacillus licheniformis</i> )	Bactéria	38	Beveridge, 1986
Ni	<i>Fucus vesiculosus</i>	Alga marinha marrom	40	Holan e Volesky, 1994
	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Alga marinha marrom	30	Holan e Volesky, 1994
	<i>Sargassum natans</i>	Alga marinha marrom	24-44	Holan e Volesky, 1994
	<i>Candida tropicalis</i>	Levedura	20	Mattuschka et al., 1993

TABELA 9. Continuação

Metal	Tipo de biomassa	Classe da biomassa	Remoção do metal <sup>a</sup> (mg/g)	Referência
Pb	<i>(Bacillus subtilis)</i> <sup>b</sup>	Biosolvente	601	Brierley et alli., 1986
	<i>(Biomassa fúngica)</i> <sup>b</sup>	Biosolvente	373	Brierley et alli., 1986
	<i>Absidia orchidis</i>	Fungo	351	Holan e Volesky, 1995
	<i>Fucus vesiculosus</i>	Alga marinha	220-370	Holan e Volesky, 1994
Pd	(alga de água doce) <sup>b</sup>	Biosolvente	436	Brierley e Vance, 1988
	(Biomassa fúngica) <sup>b</sup>	Biosolvente	65	Brierley et alli.,1986
U	<i>Streptomyces longwoodensis</i>	Bactéria filamentosa	440	Friis e Myers-Keith, 1986
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungo	220	Volesky e Tsezos, 1981
Th	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungo	160	Tsezos e Volesky, 1981
Zn	<i>(Bacillus subtilis)</i> <sup>b</sup>	Biosolvente	137	Brierley et alli.,1986
	(Biomassa fúngica) <sup>b</sup>	Biosolvente	98	Brierley et alli.,1986
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levedura	14-40	Volesky e May-Phillips, 1995
	<i>Candida tropicalis</i>	Levedura	30	Mattuschka et alli., 1993

<sup>a</sup> Remoção metálica como reportado não necessariamente a máxima

<sup>b</sup> Biomassa não necessariamente no estado natural

A acumulação seletiva de metais pesados por microrganismos é determinada pela competição interiônica, e a quantidade de íons adsorvidos por diferentes células microbianas difere muito de espécie para espécie (Nakajima e Sakaguchi, 1986).

A biomassa de fungos é de grande interesse na remoção de íons metálicos. A localização de metais retidos na parede celular sugere que os polímeros de que esta biomassa é constituída são os principais sítios de ligação. A presença de quitosana, com alto teor de nitrogênio, pode explicar as propriedades de ligação dos fungos. Neste sentido, Jansson-Charrier, Guibal, Roussy, et alli, (1996) avaliaram a dinâmica de remoção de urânio usando quitosana em um reator de leito fixo, verificando a influência dos parâmetros de operação, tais como tamanho da partícula, velocidade de fluxo, altura da coluna e concentração inicial do metal. A influência destes parâmetros sobre as curvas de ruptura demonstraram que a etapa limitante é a difusão do soluto no polímero. Esta difusão é controlada principalmente pela especificação química do sorbato (hidrólise do íon uranil e tamanho das moléculas hidrolizadas). Os resultados demonstraram, ainda, que o processo é particularmente indicado para efluentes diluídos, e que a presença de íons que poderiam competir com o íon uranil

(sulfatos ou outros ânions) não causou interferência significativa, com exceção dos íons bicarbonato.

Guibal, Roulph e Le Cloirec (1992) realizaram um estudo sobre o mecanismo de sorção do urânio pela biomassa do *Mucor miechi*, um fungo usado em agro-indústrias. O pH exerceu uma forte influência neste processo, principalmente por sua influência sobre o metal ou sobre a química da parede celular. A hidroxilação do urânio, dependente do pH e da concentração total do metal, influenciou a cinética, via natureza das fases limitantes: difusão do metal através das camadas constituintes da biomassa, precipitação dos íons urânio inicialmente adsorvidos entre as membranas e mecanismos de sorção. Com um pH moderado, a sorção de hidróxidos de urânio modificou as estruturas extracelulares do sorvente, induzindo à uma sorção em multicamadas, oposta à sorção em monocamada obtida em pH ácido.

A biosorção de metais por microrganismos vivos não é fácil por causas da toxicidade do metal, que geralmente inibe o crescimento microbiano. A separação dos estágios de propagação da biomassa e biosorção do metal é uma solução para este problema, e tem levado o desenvolvimento de materiais biosorventes inativos. A concentração de metais pode também ser feita utilizando resíduos de biomassa, bem como células imobilizadas.

As indústrias farmacêuticas e de alimentos têm usado um grande número de processos microbianos, gerando resíduos biológicos que precisam ser tratados. Estes resíduos são produzidos em grandes quantidades e a massa microbiana gerada está sendo disposta em aterros ou incinerada. Os resíduos de biomassa possuem um potencial de desenvolvimento e poderiam ser usados como material de baixo custo no desenvolvimento de sistemas de tratamentos de águas que contenham íons, tais como urânio, tório, rádio, etc.

#### **II.5.4 - Seleção dos metais**

Uma seleção apropriada de metais para estudos de biosorção é extremamente importante desde que o volume experimental aumente exponencialmente com cada espécie metálica considerada para investigação. Dependendo do ângulo de interesse e o impacto de diferentes metais, eles poderiam ser divididos em quatro categorias: (1) Metais pesados tóxicos, (2) metais estratégicos, (3) metais preciosos, e (4) radioativos. Em termos de ameaça

ambiental, as categorias 1 e 4 são de interesse para a remoção do ambiente e/ou de efluentes industriais.

Considerando o impacto ambiental de metais pesados, o mercúrio, chumbo e cádmio, são o que estão em mais evidência (Volesky, 1990 a,b). O mercúrio está sendo retirado de processos industriais pela introdução de novas tecnologias. Com relação a contaminação por chumbo, a propagação do chumbo no meio-ambiente tem sido restringida com a utilização de gasolina isenta de chumbo. Enquanto o uso do mercúrio e do chumbo está sendo limitado, cádmio é tóxico e onipresente em distribuições através do mundo. O uso do cádmio em ascensão, representa um reconhecimento de perigo para humanos e para o meio-ambiente.

### **II.5.5 - Fungos**

A remoção de espécies metálicas pela biomassa fúngica tem sido principalmente atribuída a parede celular. A parede celular não é necessariamente o único sítio onde os metais removidos estão localizados. Eles podem também ser encontrados dentro da célula associados com várias organelas ou cristalizados no citoplasma. Contudo, a parede celular pode ser considerada como o sítio primário onde a maioria dos metais removidos são encontrados.

A estrutura da parede celular de células fúngicas é constituída de duas fases: uma camada interna de microfibras, usualmente embutidas em uma outra fase amorfa constituída de uma camada adjacente de proteína, uma camada de glicoproteína e finalmente uma camada externa de  $\beta$  - 1,3 - e - 1, 6, - glucan (Volesky, 1990).

Segundo (Volesky, 1990) a parede celular de células de *Aspergillus niger* é composta principalmente de carboidratos neutros (73 a 83%) e hexoamina (9 a 13%), com pequenas quantidades de lipídeos (2 a 7%) e proteína (0,15 a 2,5%). Fósforo constitui menos de 0,1% e o acetil corresponde cerca de 3 a 3,4% do peso da parede celular.

Os fungos são utilizadas pelo homem desde há muito tempo para a preparação de alimentos. A descoberta de alguns produtos de secreção, antibióticos e, particularmente, a

penicilina, revolucionou, desde a Segunda guerra mundial, o prognóstico de temíveis infecções bacterianas, permitindo salvar milhões de vidas humanas.

São utilizados fungos na fabricação de produtos alimentícios, tais como: *Penicillium* para a maturação de queijos fermentados (*Geotrichum candidum*), na fabricação de queijos e para a fabricação de chucrute.

Os fungos podem ser utilizados como agentes de fermentação. Enquanto no Ocidente a fabricação de bebidas alcoólicas lança mão das leveduras, no Extremo Oriente utilizam-se fungos. O saquê japonês é fabricado a partir do arroz. A hidrólise do amido, que precede a fermentação, é realizada pelas amilases de fungos da espécie *Aspergillus orizae* cujos esporos são semeados em cima do arroz cozido no vapor.

As indústrias químicas e farmacêuticas fabricam substâncias complexas, muito importantes, tais como vitaminas, enzimas (proteases, pectinases, amilases de *Aspergillus*) e antibióticos, através da biossíntese. O *Aspergillus niger* é responsável pela produção dos ácidos cítrico e glucônico.

A penicilina foi o primeiro antibiótico interessante produzido industrialmente, durante a Segunda Guerra Mundial.

O estabelecimento da indústria da penicilina, entre 1940 e 1943, teve de resolver problemas tecnológicos difíceis e complexos, diferentes das fermentações tradicionais, e constitui uma notável conquista tecnológica.

### **II.5.6 – Biosorção por fungos**

Estudos de remoção metálica por células de fungos surgiu do interesse no efeito de espécies metálicas na atividade metabólica de culturas fúngicas geralmente envolvidas na produção de compostos químicos ou farmacêuticos valiosos como produto de processos de fermentação em larga escala. Metais pesados tem um efeito considerável na atividade de enzimas envolvidas em reações metabólicas chaves. A presença ou ausência de um certo metal no meio ambiente pode levar a acumulação de intermediários e produtos metabólicos de

interesse que ocorre na célula ou no líquido circundando a célula. Este aspecto teve um grande impacto na produção de produtos de fermentação comercial como ácido cítrico e itacônico ou certos antibióticos cuja biossíntese é extremamente sensível a concentração de metais específicos, como ferro, zinco ou manganês no meio de cultura.

Estudos realizados sobre a tolerância de culturas fúngicas a metais pesados revelaram não somente uma elevada tolerância de alguns fungos, mas também acumulação de metais pesados na biomassa. A observação deste fenômeno levou a descoberta da biosorção como uma nova tecnologia para remoção metálica de soluções aquosas.

Biosorção de íons metálicos por fungos pode oferecer um método alternativo para remoção de metais pesados de efluentes industriais. Para esta aplicação, a biomassa fúngica tem que estar facilmente disponível em grandes quantidades. Fungos são utilizados em uma variedade de processos de fermentação industrial que poderia servir como uma fonte de suprimento de biomassa econômica e constante para a remoção de íons metálicos. Fungos são facilmente cultivados em quantidades substanciais utilizando técnicas de fermentação não sofisticada e meios de crescimento barato. Portanto, a biomassa fúngica poderia servir como um meio econômico para remoção/recuperação de íons metálicos de soluções aquosas.

Fungos do gênero *Rhizopus* e *Penicillium* já tem sido estudado como uma biomassa potencial para a remoção de metais pesados de soluções aquosas (Tobin, Cooper e Neufeld, 1984; Siegel, Galun e Siegel, 1990; Volesky and Holan, 1995). Pouco é conhecido é conhecido na remoção de metais pesados como cádmio e ferro em águas de produção pelo *Aspergillus niger*. Yakubu e Dudeney (1986) demonstrou que o *Aspergillus niger* foi efetivamente capaz de remover íons urânio. Huang e Huang (1996) e Huang, Westman, Huang, et alli, (1988) demonstraram que o *Aspergillus oryzae* pode remover íons cádmio e cobre de soluções aquosas.

## **II.6 – Metodologia dos planos de experiências**

Hoje em dia, é possível observar que boa parte dos problemas existentes na indústria se baseiam na caracterização, desenvolvimento e melhoramento de processos de produção. De uma forma geral, pode-se representar processos ou sistemas sobre estudo por um modelo

representado na figura 8. Pode-se, também, visualiza-los como uma combinação de máquinas, métodos, pessoas e outros recursos que transforma algum tipo de “entrada” em um tipo de “saída” que tem uma ou mais variáveis resposta observáveis ( $y$ ). Algumas variáveis do processo,  $x_1, x_2, \dots, x_p$  são do tipo controláveis, enquanto que as outras variáveis  $z_1, z_2, \dots, z_q$  são não-controláveis.

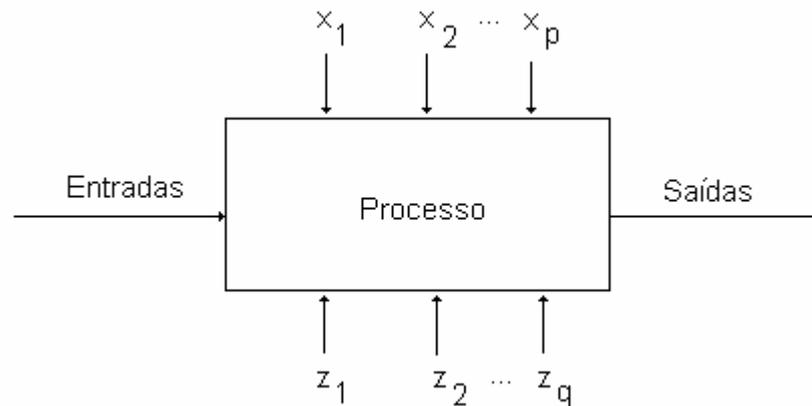


FIGURA 8. Modelo geral de um processo ou sistema

As metodologias de pesquisa experimental são cada vez mais utilizadas para caracterização, desenvolvimento e melhoramento de um determinado processo. Um planejamento experimental bem conduzido permite investigar com exatidão as variáveis de um processo e os efeitos que elas provocam nos produtos.

O principal aspecto da metodologia de pesquisa experimental é relacionar melhor a descrição, previsão e execução do fenômeno estudado, integrando o conhecimento científico ao ciclo de desenvolvimento contínuo de Box e Hunter (1978), induzindo a otimização de um processo, segundo o uso de técnicas estatísticas associadas a uma reflexão crítica dos resultados.

Em um processo onde se investiga a influência de quatro variáveis (independentes), A, B, C e D sobre um rendimento, ou resposta, Y (eficiência de biosorção) pode ser utilizado um planejamento experimental. O planejamento experimental exige a seleção de um número razoável de níveis de operação, para cada variável, assim como a presença de todas as combinações entre as mesmas.

O planejamento experimental tem sido muito aplicado em pesquisas básicas e tecnológicas (Routh, Swartz e Denton, 1977) e é classificado como um método do tipo simultâneo, onde as variáveis de interesse que realmente apresentam influências significativas na resposta são avaliadas ao mesmo tempo (Barros Neto, Scarmínio e Bruns, 1995 e Bereton, 1987).

Para realização de um planejamento fatorial, estabelece-se a lista de variáveis que podem interferir no mesmo. Define-se assim um fator que traduza toda e qualquer variável que influencia o fenômeno estudado, expressa na forma de uma função resposta,  $y = f(x)$  ou resposta experimental. A resposta pode ser uma propriedade qualitativa ou quantitativa (rendimento, cor, pureza, etc), dependendo das características do sistema.

A ordenação das informações utilizadas no planejamento experimental dá-se, em geral, na forma codificada de matrizes experimentais. De acordo com a metodologia dos planos de experiência, essas matrizes são chamadas matrizes de experiências fatoriais (completas ou fracionadas). As matrizes são chamadas de completas se todas as interações estão compreendidas entre os  $k$  fatores estudados. Cada fator pode ser definido por uma ou mais variável. Neste trabalho, particularmente, a cada fator corresponde uma só variável (Capron, Girou, Humbert, et alli, 1987).

A forma geral de um procedimento fatorial envolve a seleção de  $k$  variáveis (fatores) em níveis previamente fixados, Se  $l_1$  níveis são adotados para o primeiro fator,  $l_2$  para o segundo e  $l_k$  para o  $i$ ésimo fator, então  $l_1 \times l_2 \times \dots \times l_k$  experimentos são requeridos. Através da realização de um plano fatorial completo pode-se, em um mínimo de experiências, quantificar a influência dos fatores estudados sobre a resposta experimental (Fargin, Sergent, Mathieu, et alli, 1985).

Quando se estuda a influência dos fatores escolhido sobre a resposta  $Y$ , em consideração, as respostas  $Y_i$  ( $1 < i < p$ ) de  $n$  fatores  $X_1, X_2 \dots X_n$  de valores  $X_{i1}, X_{i2} \dots X_{in}$ , pode-se definir uma função resposta para  $p$  experiências do tipo:

$$Y_i = f(X_{i1}, X_{i2}, \dots, X_{in}) + e_i \quad (5)$$

Onde  $e_i$  representa o erro experimental ligado à determinação de  $Y_i$ .

Supondo a função  $Y_i$  contínua e infinitamente derivável, pode-se efetuar um desenvolvimento de Taylor nas proximidades do contorno de interesse, de forma que:

$$Y = b_0 + \sum_{j=1}^n b_j X_{ij} + \sum_{j=1}^n b_{jj} X_{ij}^2 + \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^n b_{ij} b_{ij} b_{ik} + \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^n \sum_{l=1}^n b_{jkl} X_{ij} X_{ik} X_{il} + e_i \quad (6)$$

com  $j \neq k \neq l$

$Y$  é a resposta experimental,  $b_0$  (constante) é o valor esperado de  $Y$  no centro do domínio experimental ( $X_j = X_i = 0$ ),  $b_i$  é a influência ou efeito de uma variável escolhida,  $b_{ii}$  é a influência ou efeito de 2ª ordem de uma variável escolhida,  $b_{ij}$  é a influência ou efeito de 1ª ordem de duas variáveis e  $b_{ijk}$  é a influência ou efeito de 1ª ordem de três variáveis quaisquer. Uma comparação simples entre os coeficientes permite conhecer a influência de cada fator e de suas interações sobre a resposta experimental (Box e Wilson, 1951).

Os coeficientes da função resposta são obtidos por análise de regressão (método dos mínimos quadrados) sobre os resultados experimentais. É conveniente representar as variáveis escolhidas sob a forma codificada.

### II.6.1 – Análise de variância

Suponha que existem “a” níveis de um determinado fator que se deseja comparar. A resposta observada de cada um dos níveis do fator é uma variável aleatória, visto que realizações do experimento sob condições idênticas produzem, em geral, diferentes valores da resposta. A tabela 10 exibe uma forma de organização das observações para um experimento com um fator. Cada valor  $y_{ij}$  representa a  $j$ -ésima observação realizada no  $i$ -ésimo nível do fator de interesse

TABELA 10. Forma organizacional para os dados de um experimento com um fator

Níveis do fator	Observações	Totais	Médias
1	y <sub>11</sub> y <sub>12</sub> y <sub>13</sub> y <sub>1n</sub>	y <sub>1</sub>	$\bar{y}_1$
2	y <sub>21</sub> y <sub>22</sub> y <sub>23</sub> y <sub>2n</sub>	y <sub>2</sub>	$\bar{y}_2$
3	y <sub>31</sub> y <sub>32</sub> y <sub>33</sub> y <sub>3n</sub>	y <sub>3</sub>	$\bar{y}_3$
a	y <sub>a1</sub> y <sub>a2</sub> y <sub>a3</sub> y <sub>an</sub>	y <sub>a</sub>	$\bar{y}_a$

Pode-se descrever as observações da tabela 1 pelo modelo linear:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}, i = 1, 2, \dots, a; j = 1, 2, \dots, n \quad (7)$$

onde  $y_{ij}$  é a observação  $ij$ ,  $\mu$  é um parâmetro comum a todos os níveis do fator e denominado média global,  $\tau_i$  é um parâmetro associado com o  $i$ -ésimo nível do fator e é denominado efeito do  $i$ -ésimo nível e  $\epsilon_{ij}$  é uma componente do erro aleatório associada com observação  $ij$ . Os objetivos são não somente testar hipóteses a cerca dos efeitos dos tratamentos, mas também estima-los. Para os testes de hipóteses, os erros são assumidos variáveis aleatórias independentes com distribuição normal, média zero e variância  $\sigma^2$ . Supõe-se que a variância  $\sigma^2$  é constante para todos os níveis do fator. Usualmente, os erros do modelo resultam de erro de medida, os efeitos de variáveis não incluídas no modelo, variação devido a causas comuns no processo, e assim por diante.

A apresentação da análise de variância para o modelo de um experimento com um fator será realizada a seguir. Neste modelo, os efeitos dos níveis,  $\tau_i$ ,  $i = 1, 2, \dots, a$ , são usualmente definidos como desvios da sua média geral, isto é:

$$\sum_{i=1}^a \tau_i = 0 \quad (8)$$

Sejam

$$y_i = \sum_{j=1}^n y_{ij} : \text{Total amostral das observações sob o } i\text{-ésimo nível};$$

$\bar{y}_i = \frac{y_i}{n}$ : média amostral de todas as observações do i-ésimo nível;

$y = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n y_{ij}$ : total amostral geral de todas as observações;

$\bar{y} = \frac{y}{N}$ : média amostral de todas as observações.

É de interesse testar a hipótese (nula)  $H_0$ : existe igualdade das médias dos “a” níveis do fator contra a alternativa  $H_1$ : pelo menos uma média difere das outras. Estas hipóteses podem ser escritas da seguinte forma:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$

$H_1: \tau_i \neq 0$ , para ao menos um i.

O procedimento apropriado para testar essas hipóteses é denominado análise de variância. O nome análise de variância é derivado do fato que a técnica se baseia em decompor a variabilidade total dos dados em várias partes. A soma de quadrados total (corrigida pela média), é definida por:

$$SQ_T = n \sum_{i=1}^a (\bar{y}_i - \bar{y})^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 \quad (9)$$

Esta equação estabelece que a variabilidade total dos dados, medida pela soma de quadrados total corrigida, pode ser particionada em uma soma de quadrados de diferenças entre as médias dos níveis observados e a média geral, mais uma soma de quadrados das diferenças de observações dentro dos níveis. As diferenças entre as médias dos níveis observadas e a média geral medem as diferenças entre as verdadeiras médias dos níveis (população), enquanto que as diferenças de observações dentro de um nível para a média observada do nível pode ser devida ao erro aleatório. Assim, pode-se escrever a equação (9), simbolicamente, como:

$$SQ_T = SQ_{FATOR} + SQ_E \quad (10)$$

onde  $SQ_{FATOR}$  é denominada soma de quadrados devido ao fator (isto é, entre os níveis) e  $SQ_E$  é denominada soma de quadrados devido ao erro (isto é, dentro dos níveis).

Se  $SQ_{FATOR}$  é grande, é devido a diferenças entre as médias nos diferentes níveis do fator. Assim, comparando-se as magnitudes da  $SQ_{FATOR}$  e  $SQ_E$ , pode-se ver quanto da variabilidade dos dados é devida a diferenças nas médias dos níveis do fator e quanto é devido ao erro aleatório. Esta comparação é melhor realizada se as somas de quadrados forem escaladas pelos seus respectivos graus de liberdade. Assim,  $SQ_T$  tem  $N-1$  graus de liberdade. Como existem “a” níveis do fator, então  $SQ_{FATOR}$  tem  $a-1$  graus de liberdade. Finalmente, dentro de cada nível do fator existem  $n$  réplicas fornecendo  $n - 1$  graus de liberdade para o erro. Desde que existem “a” níveis, então o número de graus de liberdade para o erro é de  $a(n-1) = a.n-a=N-a$ .

A razão de uma soma de quadrados e os seus graus de liberdade é denominado um quadrado médio (QM). Assim pode-se definir:

$$QM_{FATOR} = \frac{SQ_{FATOR}}{a-1} \quad (11)$$

$$QM_E = \frac{SQ_E}{a(n-1)} \quad (12)$$

Pode ser mostrado que o quadrado médio  $QM_E$  estima não tendenciosamente a variância do erro experimental,  $\sigma^2$ . Também,  $QM_{FATOR}$  estima não tendenciosamente  $\sigma^2$  se não existe diferenças entre as médias dos níveis dos fatores. Logo, o quociente entre dois quadrados médios será próximo de um. Porém, quando pelo menos uma dessas médias for diferentes das demais, então o valor esperado do  $QM_{FATOR}$  será maior que  $\sigma^2$ . Portanto, o quociente entre os dois quadrados médios será superior a um. Estes argumentos conduzem a um teste estatístico, baseado na distribuição F de Snedecor, utilizando a estatística:

$$F_0 = \frac{QM_{FATOR}}{QM_E} \quad (13)$$

Seja  $F_{\alpha;a-1,a(n-1)}$  o valor da distribuição F de Snedecor com  $a-1$  e  $a(n-1)$  graus de liberdade no numerador e denominador, respectivamente. Se  $F_0 > F_{\alpha;a-1,a(n-1)}$  então conclui-se que há alguma diferença entre as médias dos níveis do fator de interesse.

È comum, na análise de variância acrescentar um outro fator que exibe o nível de significância associado a estatística de teste observada  $F_0$ . Este nível é conhecido, também, como fator  $p$ . O fator  $p$  representa a probabilidade de se observar, em uma distribuição F de Snedecor, com  $a-1$  graus de liberdade no numerador e  $N-a$  graus de liberdade no denominador, um valor superior a  $F_0$ .

A magnitude deste valor fornece um meio de avaliar o quanto se está distante da hipótese nula  $H_0$ . Quanto maior for o valor  $p$ , menor será a evidência estatística para a rejeição de  $H_0$ ; enquanto que, quanto menor for o valor  $p$ , maior será a evidência estatística para a rejeição de  $H_0$ .

## II.6.2 – Análise residual

A análise de variância assume que as observações são independentes e normalmente distribuídas com a mesma variância em cada nível do fator. Estas suposições devem ser checadas examinando-se os resíduos. No experimento completamente aleatorizado, pode-se definir o resíduo associado com a observação  $ij$  por  $e_{ij} = y_{ij} - \bar{y}_i$ , isto é a diferença entre o valor da observação  $ij$  e a média do  $i$ -ésimo nível.

Para checar a suposição de normalidade dos dados, pode-se construir o histograma dos resíduos. Para checar a suposição de igual variância em cada nível do fator, constrói-se o gráfico dos resíduos contra os níveis dos fatores e compara-se a dispersão dos resíduos. È também útil construir o gráfico dos resíduos contra os valores preditos. A variabilidade dos resíduos não deverá depender de nenhuma forma do valor de  $\bar{y}_i$ . Quando aparece um padrão de dependência nestes gráficos, é necessário transformar os dados para analisa-los em uma escala diferente. Algum padrão nestes gráficos, tal como uma sequência de resíduos positivos e negativos, pode indicar que as observações não são independentes. Isto sugere que a ordem do experimento é importante ou que variáveis que mudam com o tempo são importantes e não foram incluídas no planejamento do experimento.

### **II.6.3 - Método de análise de superfície de resposta**

Este método é classificado como um método simultâneo, sendo utilizado na etapa de otimização propriamente dita. Sua aplicação permite selecionar a combinação de níveis ótimos na obtenção da melhor resposta para uma dada situação (Nelder e Mead, 1965).

No método da análise de superfície de resposta são realizados planejamentos fatoriais, para cujos resultados são ajustados modelos matemáticos. Estas etapas, conhecidas como etapa de deslocamento e modelagem, respectivamente, são repetidas várias vezes, mapeando as superfícies de respostas obtidas na direção da região no ponto de ótimo desejado. A modelagem normalmente é feita ajustando-se os modelos mais simples, como o linear e o quadrático. Por sua vez, o planejamento fatorial executado geralmente constitui-se de um número pequeno e pré - determinado de experimentos, que são determinados através do ajuste conseguido para o modelo que foi aplicado na etapa imediatamente anterior. Outro detalhe importante é o uso das variáveis em sua forma escalonada, de forma que suas grandezas não interfiram no desenvolvimento do processo de otimização. Os cuidados na realização dos experimentos e de suas replicatas devem ser observados. Usualmente, a modelagem é iniciada utilizando-se o modelo linear.

---

**CAPÍTULO III**  
**Metodologia Experimental**

---

## **III – METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

### **III.1 – Introdução**

Neste capítulo são apresentados os procedimentos empregados para obtenção da biomassa e dados experimentais relevantes para a compreensão do processo de remoção de íons metálicos pelo *Aspergillus niger*.

A técnica analítica para a determinação da concentração nas soluções, espectrofotometria de absorção atômica, será também apresentada, dando enfoque as condições operacionais para os metais em estudo.

### **III.2 – Espaço Físico**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Engenharia Bioquímica, pertencente ao Departamento de Engenharia Química da UFRN.

### **III.3 – Reagentes**

- ❑ Ácido clorídrico, ácido nítrico e hidróxido de sódio (reagentes P.A.).
- ❑ Água deionizada
- ❑ Meios de cultura
- ❑ Solução sintética contendo o metal pesado

### **III.4 – Equipamentos Utilizados**

Com relação aos equipamentos utilizados, citam-se os seguintes:

- ❑ Autoclave vertical (modelo AV 75)
- ❑ Balança analítica, METTLER TOLEDO AB 204 (quatro casas decimais)
- ❑ Bomba à vácuo, QUIMIS (modelo Q – 335B)
- ❑ Espectrofotômetro de absorção atômica (VARIAN – SpectrAA – 10 PLUS)
- ❑ Estufa bacteriológica (modelo B3)
- ❑ pHmetro, DIGIMED (modelo DM – 21)
- ❑ Shaker (modelo C25KC)
- ❑ Aquecedor, FISOTON (modelo 752 A)

### **III.5 – Microrganismo e condições de manutenção**

Neste trabalho foi utilizado uma linhagem de *Aspergillus Niger* (2003), pertencente à Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

A linhagem, crescida em meio SAB (Sabouraud Dextrose Agar), foi repicada em tubos de ensaio esterilizados, contendo 5 mL de meio SAB. Incubou-se em estufa, a 25°C, por sete dias, após decorrido este período, os tubos foram lacrados e armazenados na geladeira. O meio utilizado para repicagem e manutenção do microrganismo teve a seguinte composição:

Peptona	10,0 g
D (+) Glicose	40,0 g
Ágar	15,0 g
Água destilada	1000,0 mL
pH	5,6

### III.6 – Preparação do inóculo

Tomou-se frascos erlenmeyer de 250 mL de capacidade, contendo 100 mL de meio de manutenção (SAB). Estes frascos foram fechados com rodilhão de algodão e gases e em seguida esterilizados em autoclave a 120°C por 30 minutos. Após a esterilização, os frascos foram dispostos de forma inclinada até atingir à temperatura ambiente.

Tendo-se certeza do sucesso da esterilização dos frascos contendo o meio de manutenção, transferiu-se os esporos até então nos tubos de ensaio (item III.4) para os frascos contendo o meio SAB. Esta transferência foi realizada, espalhando-se os esporos de *Aspergillus Niger* em toda a superfície do meio sólido, com o auxílio de uma alça de platina flambada.

Estes frascos foram incubados a 25°C por um período de mínimo de 5 dias e máximo de 15 dias.

Após o período de incubação, adicionou-se aos frascos, contendo a cultura já esporulada 50 mL de solução de agente tensoativo (solução de Tween 20), contendo juntamente com o agente tensoativo, pérolas de vidro.

Após esta adição, os frascos foram agitados levemente, até que a grande maioria dos esporos tenha sido suspensa. Esta suspensão foi utilizada como inóculo para cultivo do microrganismo em Shaker (incubador rotativo).

### III.7 – Produção de biomassa

A biomassa fúngica foi cultivada em um meio líquido utilizando um incubador rotativo. A suspensão de esporos, preparada no item III.5, foi transferida para frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de crescimento com a seguinte composição (g/L) (Kapoor, Viraraghavan e Cullimore, 1999):

Bacto dextrose	20
Bacto peptona	10
NaCl	0.2
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.1
KCl	0.1
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
NaHCO <sub>3</sub>	0.05
MgSO <sub>4</sub>	0.25
Fe(SO <sub>4</sub> ).7H <sub>2</sub> O	0.005

O pH do meio de crescimento foi ajustado para 5, utilizando HCl 1N. É importante ressaltar que todo o material utilizado neste trabalho foi previamente esterilizado a 120°C durante 30 minutos.

Uma vez inoculados, os frascos foram agitados a 125 rpm por cinco dias a 25°C. A biomassa foi coletada por filtração à vácuo e submetida a um tratamento alcalino pelo aquecimento em uma solução de NaOH 0.5N por 15 minutos para gerar sítios ativos e aumentar a capacidade de biosorção (Kapoor e Viraraghavan, 1998) e então lavada com água deionizada até que o pH da solução de lavagem estivesse próximo do neutro (7.0 – 7.2). Depois de lavada, a biomassa foi seca a 60°C por 16 horas e pulverizada para ser utilizada nos testes de biosorção em batelada.

Das experiências dos pesquisadores (Volesky e Holan, 1995), sabe-se que existem um grupo de variáveis que afetam a biosorção do metal pesado. Algumas destas são: pH, concentração da biomassa, concentração inicial do metal pesado, tempo de reação e a interação entre elas. O efeito destas variáveis e suas interações no processo de biosorção do cádmio metálico foram estudados neste trabalho.

### **III.8 – Caracterização físico-química da água de produção**

A água de produção foi coletada do emissário submarino da estação de tratamento de efluentes de Guamaré - RN. As concentrações dos metais pesados presentes na água de produção foram determinadas diretamente por absorção atômica. Utilizou-se um espectrofotômetro de absorção atômica (EAA). A seguir são apresentados as técnicas de preparação das soluções padrões para os metais analisados (Eaton, Clesceri e Greenberg, 1995):

#### *Preparação da solução padrão*

**Cádmio:** Dissolveu-se 1,0 g de cádmio metálico em um volume mínimo de ácido nítrico 1:1. Dilui-se para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/L de Cd.

**Chumbo:** Dissolveu-se 1,0 g de chumbo metálico em uma solução de ácido nítrico 1:1. Dilui-se para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/L de Pb.

**Cobre:** Dissolveu-se 1,0 g de cobre metálico em um volume mínimo de ácido nítrico 1:1 e dilui-se para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/l de Cu.

**Cromo:** Dissolveu-se 1,0 g de cromo metálico em uma solução de ácido clorídrico 1:1 com um ligeiro aquecimento. Resfriou-se e diluiu-se para 1 litro para dar uma solução de 1000mg/L de Cr.

**Ferro:** Dissolveu-se 1,0 g de ferro metálico em 20 ml de ácido clorídrico 1:1 e diluiu-se para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/L de Fe.

**Níquel:** Dissolveu-se 1,0 g de níquel metálico em uma solução de ácido nítrico 1:1 e diluiu-se para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/L de Ni.

**Prata:** Dissolveu-se 1 g de prata em 20 ml de uma solução de ácido nítrico e diluiu-se quantitativamente para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/L de Ag.

**Zinco:** Dissolveu-se 1,0 g de zinco metálico em 40 ml de ácido clorídrico 1:1 e diluiu-se para 1 litro para dar uma solução de 1000 mg/L de Zn.

A amostras foram diluídas e digeridas de modo que as concentrações encontradas estivessem dentro das curvas de calibração de cada metal (Figura 9), mas não muito próximas ao limite de detecção do método.

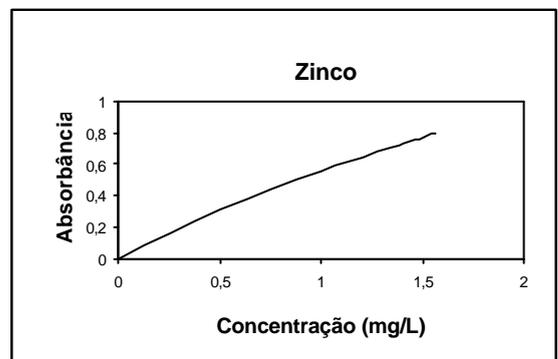
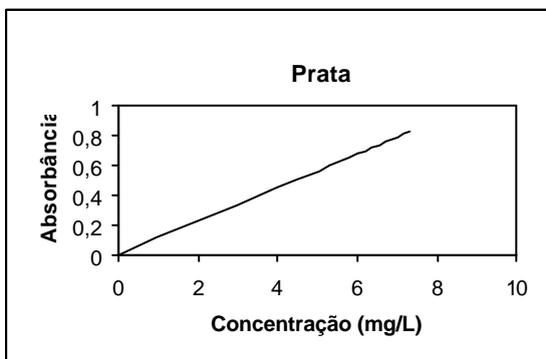
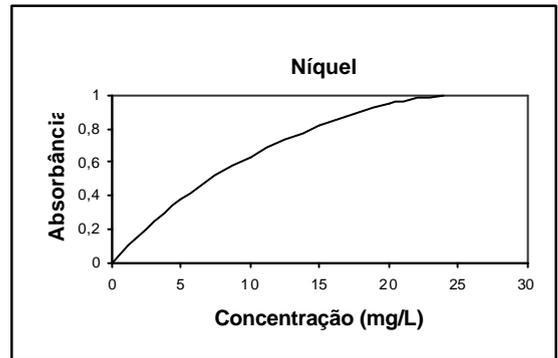
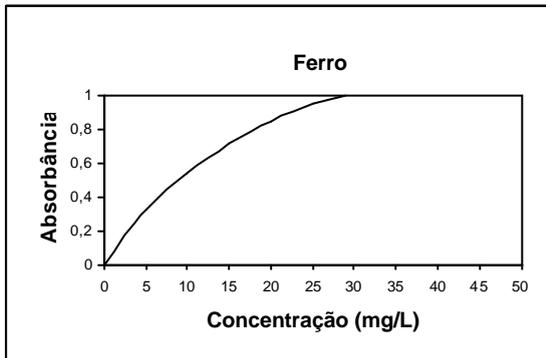
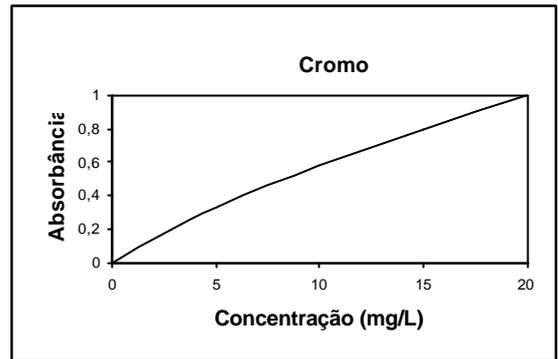
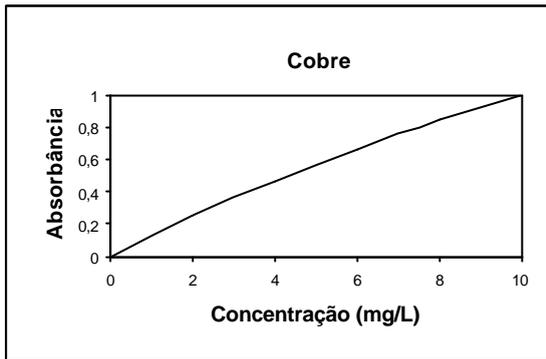
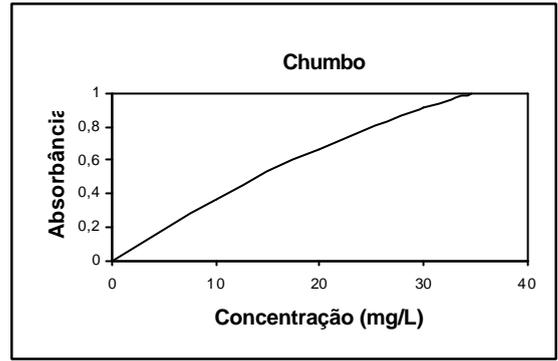
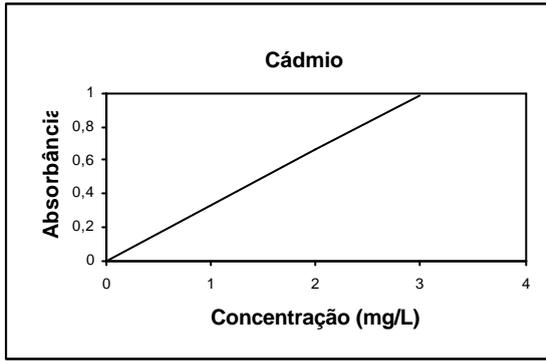


FIGURA 9. Curvas de calibração dos metais estudados

Para uma análise mais precisa, o método determina que o equipamento seja calibrado com uma solução denominada branco, tendo sido utilizada, neste trabalho, água destilada para este fim.

O método de espectrofotometria de absorção atômica consiste na aspiração da amostra para uma chama e sua posterior atomização. A solução do elemento em estudo é vaporizada na chama e dispõe-se uniformemente em pequeninas gotas, formando o aerosol (Gonçalves, 1990; Eaton, Clesceri e Greenberg, 1995). Neste trabalho utilizou-se a chama de ar-acetileno onde o ar funciona como comburente e o acetileno como combustível. É uma chama totalmente transparente numa larga gama espectral, apresentando ao mesmo tempo uma baixa emissão.

A fonte utilizada para a obtenção das linhas de emissão foi uma lâmpada do cátodo-oco, que possui como componentes ativos o cátodo feito ou revestido do elemento em estudo e um ânodo constituído apenas por um fio metálico. Estas lâmpadas são altamente estáveis, o que aumenta a reprodutibilidade do método.

A proximidade entre os valores encontrados experimentalmente e os teóricos determina a exatidão da leitura. Sendo este um método comparativo, a qualidade dos padrões influencia consideravelmente na precisão dos dados obtidos, o que sugere a utilização de metais com elevado grau de pureza na preparação das soluções padrões.

Para se obter uma boa reprodutibilidade é necessário controlar todos os parâmetros variáveis, como: solvente, emissor, chama, altura da zona de seleção da chama, largura da fenda bem como todos os fatores relacionados com a própria natureza da amostra.

A análise apresenta uma boa precisão se o aparelho obtiver reprodutibilidade nos seguintes aspectos (Gonçalves, 1990):

- Boa reprodutibilidade ao medir uma solução várias vezes sob condições de trabalho praticamente invariáveis;

- Estabilidade das leituras, ou registro de sinal, para uma só solução sob uma longa alimentação;
- Reprodutibilidade de resultados de uma sessão de trabalho para outra.
- 

Em virtude das flutuações que ocorrem normalmente no sistema de emissão, é difícil conseguir uma reprodutibilidade melhor que 0,5%. O que se obtém comumente são coeficientes de variação entre 0,5 e 1,0% para a maioria das análises, desde que se trabalhe em boas condições operacionais.

As tabelas 11 e 12 fornecem as condições operacionais fixas e variáveis utilizadas durante a execução do trabalho experimental.

TABELA 11. Condições operacionais fixas para leitura dos metais em EAA.

<b>Condições operacionais fixas</b>			
<b>Parâmetros</b>	<b>Ag/Cd/Cu/Ni</b>	<b>Pb/Fe/Zn</b>	<b>Cr</b>
Combustível	Acetileno	Acetileno	Acetileno
Comburente	Ar	Ar	Ar
Lâmpada	Cátodo - oco	Cátodo - oco	Cátodo - oco
Corrente da lâmpada	4 mA	5 mA	7 mA
Estequiometria da chama	Oxidante	Oxidante	Redutora

TABELA 12. Condições operacionais variáveis para leitura dos metais em EAA.

Condições operacionais variáveis			
Metais	Comprimento de onda (nm)	Abertura da fenda (nm)	Escala ótima de trabalho (mg/L)
Ag	328,1	0,5	0,02 - 10
	338,3	0,5	0,06 - 20
Cd	228,8	0,5	0,02 - 3
	326,1	0,5	20 - 1000
Cr	357,9	0,2	0,06 - 15
	425,4	0,2	0,4 - 40
	428,9	0,5	1 - 100
	520,8	0,2	20 - 2600
	520,4	0,2	50 - 6000
Cu	324,7	0,5	0,03 - 10
	327,4	0,2	0,1 - 24
	217,9	0,2	0,2 - 60
	218,2	0,2	0,3 - 80
	222,6	0,2	1 - 280
	249,2	0,5	4 - 800
	244,2	1,0	10 - 2000
Fe	248,3	0,2	0,06 - 15
	372,0	0,2	1 - 100
	386,0	0,2	1,5 - 200
	392,0	0,2	20 - 3200
Ni	232,0	0,2	0,1 - 20
	341,5	0,2	1 - 100
	352,4	0,5	1 - 100
	351,5	0,5	3 - 180
	362,5	0,5	100 - 8000
Pb	217,0	1,0	0,1 - 30
	283,3	0,5	0,5 - 50
	261,4	0,5	5 - 800
	202,2	0,5	7 - 1000
	205,3	0,5	50 - 8000
Zn	213,9	1,0	0,01 - 2
	307,6	1,0	100 - 14000

### III.9 – Experimentos de biosorção em batelada

Experimentos de biosorção em batelada foram realizados separadamente para estudar o efeito do pH, tempo, quantidade de biomassa e concentração inicial do metal pesado na remoção do cádmio metálico. Soluções estoque do metal (100 mg/L) foram preparadas utilizando cádmio metálico (99,99%, MERCK). Foram utilizadas soluções de hidróxido de sódio e ácido nítrico para ajustar o pH no valor desejado. As concentrações do metal pesadas foram determinadas a partir de um espectrofotômetro de absorção atômica. Todos os experimentos de biosorção foram realizados em frascos erlenmeyer de 250 mL, contendo 75 mL de solução de cádmio e agitados a 125 rpm em um shaker rotacional à temperatura de 25°C (Kapoor, Viraraghavan e Cullimore, 1999). Todos os experimentos foram realizados em duplicata e valores médios foram utilizados na análise dos dados.

A quantidade de íon metálico (mg) biosorvido por g (peso seco) da biomassa e a eficiência de biosorção foram calculadas utilizando as equações 14 e 15, respectivamente:

$$q = \left( \frac{C_i - C_f}{m} \right) V \quad (14)$$

$$E = \left( \frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \quad (15)$$

Onde, q é a quantidade de metal biosorvido por g de biomassa;  $C_i$  é a concentração inicial do íon metálico, mg L<sup>-1</sup>;  $C_f$  é a concentração final do íon metálico, mg L<sup>-1</sup>; m é a massa do biosorvente na mistura reacional, g, V é o volume da mistura reacional, L e E é a eficiência de biosorção (%).

### **III.9.1 – Determinação das variáveis de operação do processo de biosorção**

#### **III.9.1.1 – Efeito do pH na biosorção**

Valores do pH da solução metálica (75 mL) foram ajustados para 2,0 e incrementados de 0,5 unidade entre 2,5 e 6,5. As soluções do metal foram colocadas em contato com a biomassa (0,1 g) por 15 horas em um shaker rotacional. O pH da mistura reacional não foi controlado depois do início dos experimentos. O pH final da mistura reacional foi medido e a amostra foi filtrada à vácuo através de uma membrana de acetato de celulose de 0,47  $\mu\text{m}$ . Amostras do filtrado foram utilizados para análise da concentração do metal dissolvido. Com os resultados foi possível determinar a faixa de pH que produziu um maior eficiência na remoção do metal pesado.

#### **III.9.1.2 – Cinética de biosorção**

A avaliação da cinética de biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus Niger* foi realizada em frascos erlenmeyer de 250 mL, contendo 75 mL da solução de cádmio e cerca de 0,1 g de biomassa. A biomassa foi colocada em contato com a solução metálica mantida sob agitação constante (125 rpm) em um shaker rotacional. Amostras da solução de cádmio foram retiradas em diferentes intervalos de tempo, filtradas a vácuo através de uma membrana de acetato de celulose de 0,47  $\mu\text{m}$  e analisadas em relação à concentração de cádmio em espectrofotômetro de absorção atômica. Os níveis inferior e superior do tempo de reação foram obtidos a partir da análise dos resultados experimentais.

#### **III.9.1.3 – Efeito da quantidade de biomassa**

Os experimentos de sorção para avaliar o efeito da quantidade de biomassa na eficiência de biosorção foram realizados em frascos erlenmeyer de 250 mL. Em cada frasco, uma certa

quantidade de biomassa (0,01 – 0,2 g) foi colocada em contato com 75 mL de solução de cádmio a um pH 5,0 e a mistura reacional foi agitada durante 6 horas (tempo necessário para que o equilíbrio fosse atingido), em um shaker rotacional à 125 rpm. Brancos, livre de metal e livre de biomassa, foram utilizados como controle. Ao final do ensaio, a solução de cádmio foi separada da biomassa. A concentração inicial do cádmio metálico utilizados nestes experimentos foi de aproximadamente 5,0 mg/L.

#### **III.9.1.4 – Efeito da concentração inicial do metal e determinação da isoterma de biosorção**

Para determinação do efeito da concentração inicial do metal na capacidade de biosorção foram realizados simulações com concentrações maiores do que presente na água de produção, pois estas concentrações estavam abaixo do limite de detecção do espectrofotômetro de absorção atômica ((VARIAN – SpectrAA – 10 PLUS) disponível no departamento de engenharia química da UFRN. Concentrações iniciais de cádmio metálico variando entre 5 – 90 mg/L (75 mL) foram colocadas em contato com a biomassa (0,1 g) em um shaker rotacional (125 rpm) a um pH 5,0. A solução de cádmio foi separada da biomassa através de filtração à vácuo através de uma membrana de acetato de celulose (tamanho do poro = 0,45  $\mu\text{m}$ ). A concentração inicial e de equilíbrio de cada amostra foi analisada em relação a concentração de cádmio em espectrofotômetro de absorção atômica. A quantidade de metal biosorvida ( $q$ ) e a eficiência de biosorção ( $E$ ) foram calculadas a partir das equações 14 e 15.

A isoterma de biosorção foi determinada a partir dos resultados obtidos da capacidade de biosorção ( $q$ ) em função da concentração de equilíbrio do cádmio metálico na solução. O modelo de Langmuir e Freundlich, representado pelas equações 3 e 4. Foram utilizados para ajustar os dados de equilíbrio experimentais.

Com os níveis inferior e superior das variáveis estudadas realizou-se um planejamento experimental à nível de laboratório. Isto para obter os melhores valores destas variáveis, para que os testes de biosorção com a água de produção obtivesse os melhores resultados.

### **III.10 – Planejamento experimental**

A modelagem do processo de biosorção estudado a nível de laboratório foi realizada através de um planejamento experimental. Neste estudo utilizaram-se os programas MODREG e STATISTIC for Windows, Release 5.5, consistindo em um planejamento experimental com ponto central. Realizaram-se 27 experimentos, sendo os 16 primeiros com a combinação (nível superior e inferior) das variáveis independentes, 3 no ponto central e 8 experimentos a uma distância de 1,2 do ponto central (em variáveis codificadas) e portanto são localizadas de acordo com as coordenadas mostradas nas oito últimas linhas da tabela 17. Para cada experimento determinou-se a eficiência de biosorção (E), definida pela equação 15.

### **III.11 – Desorção de íons metálicos biosorvidos e regeneração da biomassa**

Depois da realização dos experimentos de biosorção (item III.8), procedeu-se a desorção do cádmio metálico. Segundo Kapoor, Viraraghavan e Cullimore (1999), o ácido nítrico 0,05 N foi capaz de desorver cerca de 99% do cádmio metálico biosorvido, sendo este utilizado na eluição do cádmio metálico.

A biomassa carregada de metal foi lavada com água deionizada por 15 minutos e colocada em contato com 25 mL de ácido nítrico 0,05N por 1 hora à temperatura de 25°C em um shaker rotacional. A biomassa foi separada da solução por filtração a vácuo e lavada com água deionizada até o pH da solução de lavagem estivesse entre 5,0 – 5,4 e então agitada em uma solução 0,001M de  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{K}^{+}$  por 30 minutos a 125 rpm em shaker rotacional. A biomassa regenerada foi secada em estufa a 60°C e a capacidade de biosorver o cádmio metálico foi examinada. O ciclo de biosorção-desorção do cádmio metálico biosorvido-regeneração da biomassa foi repetido quatro vezes a fim de se determinar a capacidade de biosorção da biomassa regenerada.

### **III.12 – Testes de biosorção com os metais pesados presente na água de produção**

Testes de biosorção em batelada com as amostras da água de produção da Petrobrás foram realizados à nível de laboratório, levando em consideração os valores das variáveis independente determinados na análise estatística. A concentração inicial dos metais presentes na água de produção foi determinada de acordo com o ítem III.7. Os experimentos foram realizados em shaker pelo contato de 75 ml da amostra com a biomassa de *Aspergillus Niger*. A amostra foi filtrada a vácuo através de uma membrana de acetato de celulose (0,47  $\mu\text{m}$ ). A análise da concentração final foi realizada no ITEP (Instituto de Tecnologia de Pernambuco – Recife), devido a existência de um espectrofotômetro de absorção atômica por plasma, em relação aos metais ferro e cádmio que apresentaram concentrações acima do permitido pelo padrão de potabilidade da água para metais pesados (Tabela 5). A eficiência do tratamento na remoção destes metais foi determinada pela equação 15.

---

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS E DISCUSSÕES**

---

## **IV – RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **IV.1 – Introdução**

Este capítulo constitui a apresentação e discussão dos resultados obtidos experimentalmente visando a otimização e compreensão do processo de remoção de íons metálicos por biosorção.

A primeira etapa do processo envolveu a caracterização físico-química da água de produção e a seleção do metal pesado estudado. A segunda etapa envolveu os experimentos de biosorção em batelada para estudar o efeito do pH, tempo, quantidade de biomassa e concentração inicial do metal pesado na taxa de biosorção metálica.

Após a obtenção dos valores ótimos destas variáveis, realizou-se os testes de biosorção com os metais pesados presentes na água de produção para determinação da eficiência de remoção metálica.

### **IV.2 – Caracterização físico – química da água de produção**

A água de produção foi coletada do emissário submarino da ETE – GMR (Estação de tratamento de efluentes de Guamaré) e analisada no Laboratório químico de Guamaré – RN. A amostra foi concentrada para determinação exata da concentração do metal pesado em solução. A tabela 13 mostra os resultados da análise físico-químico para os principais metais pesados poluidores encontrados na água de produção gerada nos campos de petróleo do RN.

TABELA 13 - Boletim de resultados da análise da água.

Parâmetros	Unidade	Limite aceitável (Resolução CONAMA 20)		Resultados:
		Artigo Nº 4	Artigo Nº21	
pH	Adm.	6,0/9,0	5,0/9,0	7,42
Teor de Óleos e Graxas (TOG)	mg/L	0,0	20,0	7,40
Cádmio	mg/L	0,001	0,2	0,004
Chumbo	mg/L	0,03	0,5	0,02
Cobre	mg/L	0,02	1,0	0,006
Cromo Total	mg/L	0,5	2,0	0,007
Ferro Solúvel	mg/L	0,3	15,0	0,6
Mercurio	mg/L	0,0002	0,01	<0,0002
Níquel	mg/L	0,025	2,0	<0,01
Prata	mg/L	0,01	0,1	<0,01
Zinco	mg/L	0,18	5,0	0,12

Obs:

Nota: Os resultados dessas análise aplicam-se a tão somente às amostras coletadas

As concentrações dos metais pesados foram comparadas com a concentração limite aceitável pelo artigo 4 da resolução CONAMA 20, que dispõe sobre água para irrigação, recreação, criação de peixes e consumo após tratamento simplificado. A partir dos resultados obtidos, constatou-se que o cádmio e o ferro solúvel apresentaram concentrações acima do permitido pela legislação ambiental estudada neste trabalho (artigo 4 do CONAMA 20), portanto, sugere-se realizar um tratamento biotecnológico, baseado na biosorção, para remoção destes metais à níveis aceitáveis pela legislação ambiental. Para os testes de biosorção em batelada, utilizou-se uma solução sintética de cádmio com concentrações maiores do que a presente na água de produção, pois a faixa de detecção (0.2 –3 mg/L de cádmio) do espectrofotômetro de absorção atômica disponível no laboratório de Engenharia Química da UFRN é maior do que a verificada na tabela 13.

### IV.3 – Experimentos de biosorção em batelada

#### IV.3.1 – Influência do pH sobre a biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger*

O pH da solução aquosa é um importante parâmetro controlador em processos de biosorção de íons metálicos. A influência da concentração de íons hidrogênio foi examinada pela biomassa de *Aspergillus niger* tratada com uma solução de NaOH 0,05N em testes em batelada utilizando um incubador rotativo (Shaker).

Nos experimentos de biosorção em batelada variou-se o pH entre 2 e 6,5 e a concentração da solução sintética de cádmio e a quantidade de biomassa foram mantidos constantes (9 mg/L e 0,1 g), a uma temperatura de 25°C e uma velocidade de agitação de 125 rpm. O efeito do pH sobre a biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger* pode ser observado pela figura 10.

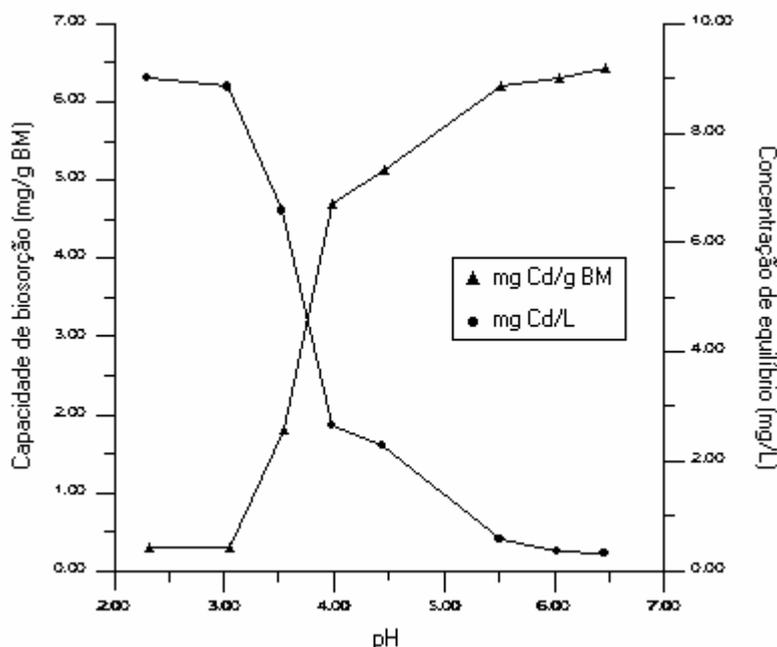


FIGURA 10. Biosorção do cádmio por *Aspergillus Niger* dependente do valor do pH

A partir dos resultados obtidos observou-se que pouca ou nenhuma biosorção do cádmio metálico ocorreu para valores de pH menor que 3,0. A capacidade de remoção do metal pesado aumentou rapidamente com o aumento do pH entre 3,0 e 4,0 e a partir de pH 4,0 a capacidade de biosorção continuou a aumentar, mas de forma bem menos pronunciada. Este fato pode ser explicado pelo aumento da densidade de carga negativa na superfície da célula

causando a desprotonação dos sítios ligantes da célula, aumentando a sua capacidade de biosorção. Verificou-se que o pH desempenhou um papel importante no processo de sorção. Para o *Aspergillus niger*, a biosorção ótima (mg de Cd/g de biomassa) e uma baixa concentração de equilíbrio (mg de Cd/L) foram alcançadas numa faixa de pH variando entre 4,0 e 5,5. Sendo esta faixa escolhida para realização do planejamento experimental.

Um teste com pH 7,0 (a 25°C) foi realizado, sendo observada a existência de um precipitado de cádmio quando as soluções foram filtradas. Além disso, a análise de um frasco utilizado como controle (sem a presença de biosorvente) revelou que houve redução na concentração de cádmio entre o início e o final do experimento.

Esta dependência do pH verificada na figura 10 pode ser explicada por uma competição dos íons metálicos e dos prótons pelos mesmos sítios de ligação, uma vez que nesta faixa de pH o cádmio se apresenta como um cátion, podendo se ligar a uma superfície negativamente carregada. Isto explica os resultados obtidos, em que as melhores capacidades de sorção foram verificadas para valores altos do pH. Este fato pode ser usado na prática para regeneração do metal pesado carregado pela biomassa pela desorção dos íons metálicos adsorvidos num pH abaixo de 2.

O efeito do pH sobre a biosorção de vários metais tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores. O comportamento obtido neste trabalho, em que a capacidade de sorção do cátion aumentou com o aumento do pH, foi obtido em vários outros estudos, com diferentes cátions, tanto para biomassa fúngica (Tsezos e Volesky, 1981; Guibal, Roulph e Le Cloirec, 1992) como para biomassa de algas (Darnall et al., 1986; Kuyucak e Volesky, 1989a, Aksu e Kutsal, 1991; Garnham, Codd e Gaad, 1993; Volesky e Prasetyo, 1993).

Segundo Sears (1986) a troca iônica é o principal mecanismo envolvido na biosorção de metais pesados por biomassa fúngica, sendo os grupos carboxila, fosfato, sulfato e amina apontados como os principais sítios envolvidos. Como estes grupos são ácidos, sua disponibilidade é dependente do pH. Na faixa de pH entre 3,5 e 5,5 os grupos carboxila geram superfícies negativamente carregadas, e muitos metais apresentam-se como cátions. Assim, as interações eletrostáticas entre as espécies catiônicas e a superfície celular negativamente carregada podem ser responsáveis pela biosorção dos metais.

O pH afeta também a especiação do íon metálico na solução, ocorrendo um decréscimo de solubilidade dos complexos metálicos com o aumento do pH. Apesar da sorção aumentar com o decréscimo da solubilidade, há limitações na faixa de pH viável para o estudo da biosorção. Valores de pH que provoquem a precipitação dos complexos metálicos devem ser evitados durante experimentos de sorção, uma vez que a distinção entre sorção e precipitação na remoção metálica seria difícil (Schiewer e Volesky, 1995).

Através da análise da figura 11 observa-se que as espécies  $\text{Cd}^{2+}$  prevalecem somente a valores de pH inferiores a 6,0, o que favorece a formação de complexos com uma extensa variedade de ligantes, incluindo ligantes orgânicos sintéticos e naturais. É importante ressaltar que as espécies catiônicas estão presentes em maiores proporções a baixos pHs, e que, a valores de pH superiores a 6, começa a haver a precipitação do metal, conforme foi verificado experimentalmente.

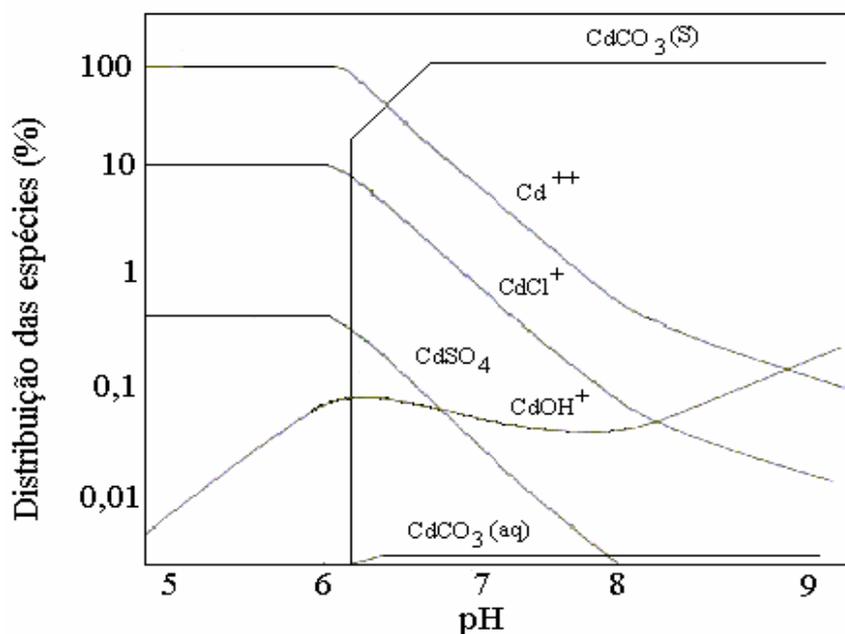


FIGURA 11. Especiação do cádmio em função do pH (Morel, Mcduff e Morgan, 1973).

Outro fato observado durante os ensaios foi um aumento do pH da solução após o contato com a biomassa. A tabela 14 o aumento do pH da solução após o contato com a biomassa.

TABELA 14. Aumento do pH da solução após os experimentos de biosorção

<b>pH<sub>inicial</sub></b>	2,31	3,04	3,53	3,98	4,44	5,51	6,03	6,45
<b>pH<sub>final</sub></b>	2,32	3,20	5,50	6,35	6,24	6,56	6,86	6,75

Efeitos similares foram observados por Kuyucak e Volesky (1989a) quando estudaram a biosorção do cobalto por vários tipos de algas marinhas, inclusive algas marrons, como o *Sargassum natans*. Segundo estes autores, o aumento do pH da solução pode ser decorrente da dissolução de componentes citoplasmáticos ou da liberação de alguns íons, como carbonatos.

#### **IV.3.2 – Avaliação da cinética de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger***

O estudo cinético do processo de remoção de cádmio pelo *Aspergillus niger* foi realizado com o propósito de obter informações sobre o tempo em que o sistema atingiu o equilíbrio. Para a biomassa morta foram realizados ensaios em shaker rotacional (25°C e 125 rpm) utilizando 0,1g do biosorvente e uma solução sintética de cádmio (pH = 5,37;  $[M]_0 = 9,70$  ppm e  $V = 75$  mL). A biosorção do cádmio em função do tempo sobre a biomassa de *Aspergillus niger* é apresentada na figura 12.

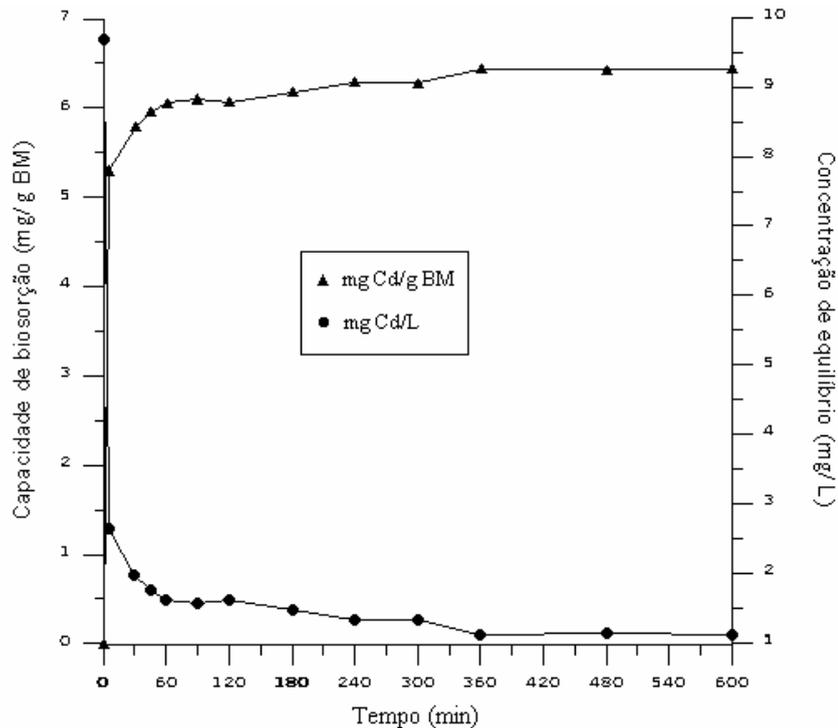


FIGURA 12. Cinética de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger*

Através dos resultados mostrados na figura 12 observa-se que a biosorção do cádmio aumenta com o tempo de contato e atinge o equilíbrio (biosorção constante) após aproximadamente 6 horas.

O tempo necessário para que o equilíbrio entre as fases seja atingido é função de vários fatores, entre eles o tipo de biomassa (quantidade e tipos de sítios envolvidos na biosorção), tamanho e forma da biomassa (ativa ou inativa, livre ou imobilizada), além do metal envolvido no sistema de biosorção.

Assim, a literatura apresenta testes cinéticos em que o tempo de contato entre as fases varia de duas horas (Aksu e Kutsal, 1991) a mais de dez dias (Nourbakhsh et al., 1994).

Este ensaio revelou ainda que a cinética de biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger* é rápida, uma vez que em 5 minutos de contato da biomassa com a solução de cádmio, o sistema já alcançava cerca de 84% da capacidade de saturação da biomassa (figura 13).

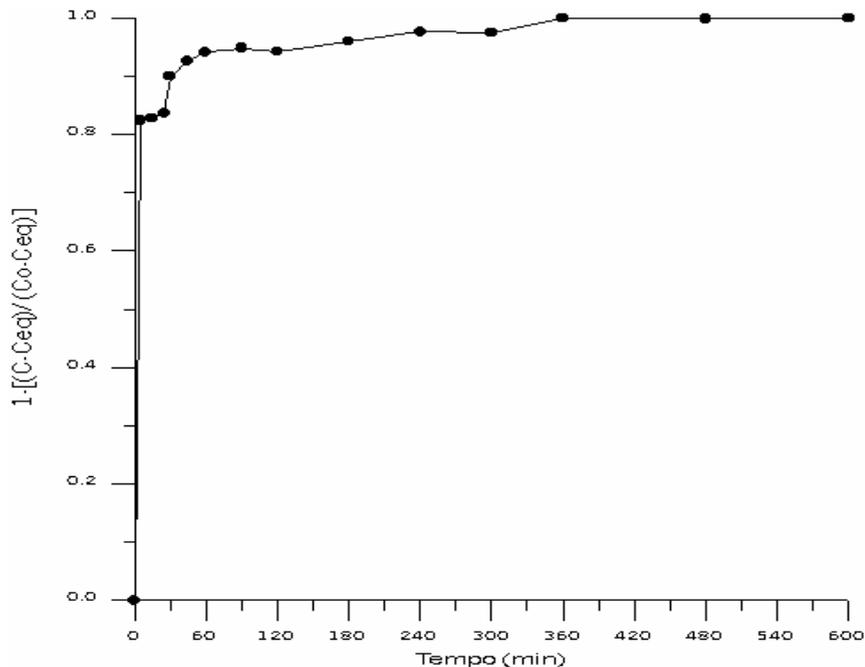


FIGURA 13. Evolução da fração de remoção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger*

Verificou-se que em 1 hora a biomassa atingiu 94% da sua capacidade de saturação e que a partir de 6 horas não ocorreu remoção significativa de cádmio. Portanto, escolheu-se uma faixa de tempo de 1 e 6 horas como limite inferior e superior para ser usado no planejamento experimental.

A seguir são apresentados, a título de ilustração, resultados obtidos por alguns autores, em estudos feitos com fungos, algas e diferentes metais. Ressalta-se que os diferentes tipos de biosorventes, bem como os diferentes metais torna extremamente difícil estabelecer algum parâmetro de comparação entre os resultados.

Ross e Townsley (1986) avaliaram a biosorção do cobre, cádmio e zinco pela biomassa fúngica de *P. spinulosum*, e verificaram 75% da remoção destes metais foram alcançadas dentro de 5 minutos de contato, indicando um processo de sorção bastante rápido.

Sandau et al. (1996) utilizando a alga marinha *Fucus vesiculosus* na biosorção do cádmio, cobre e zinco, também evidenciaram uma cinética rápida, verificando que em 5 minutos de contato o sistema já atingia 80% da capacidade de biosorção do metal.

Kapoor, Viraraghavan e Cullimore, (1998) verificaram que a biosorção do cádmio, chumbo, cobre e níquel pelo *Aspergillus niger* consistiu de duas fases: uma fase inicial onde a

sorção foi rápida e contribuiu significativamente para a biosorção de equilíbrio e uma fase mais lenta cuja contribuição para a biosorção metálica total foi relativamente pequena.

Yang e Volesky (1996) também obtiveram resultados de rápido equilíbrio trabalhando com alga marinha *Sargassum fluitans* para biosorção de cádmio. Cerca de 75% da capacidade de biosorção foi atingida em 15 minutos de contato, sendo que o equilíbrio foi alcançado em 3 horas.

A constante cinética de adsorção para o processo de biosorção do cádmio sobre a biomassa de *Aspergillus niger* foi determinada utilizando a equação de Lagergren, que representa uma cinética de primeira ordem, ou seja, aquela cuja velocidade é proporcional à concentração de apenas um dos componentes da reação, sendo dada pela expressão (Nghah e Liang, 1999; Zhang, Zhao, Yu et al., 1998).

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{Kt}{2,303} \quad (16)$$

onde  $q$  é a quantidade de cádmio biosorvida (mg/g) em um tempo  $t$ ,  $q_e$  é a quantidade biosorvida no equilíbrio (mg/g),  $t$  é o tempo de biosorção e  $K$  é a constante cinética de biosorção ( $\text{min}^{-1}$ ) que pode ser determinada através de um gráfico (figura 14) de  $\log(q_e - q_t) \times t$  que fornece uma reta de declividade  $K/2,303$ .

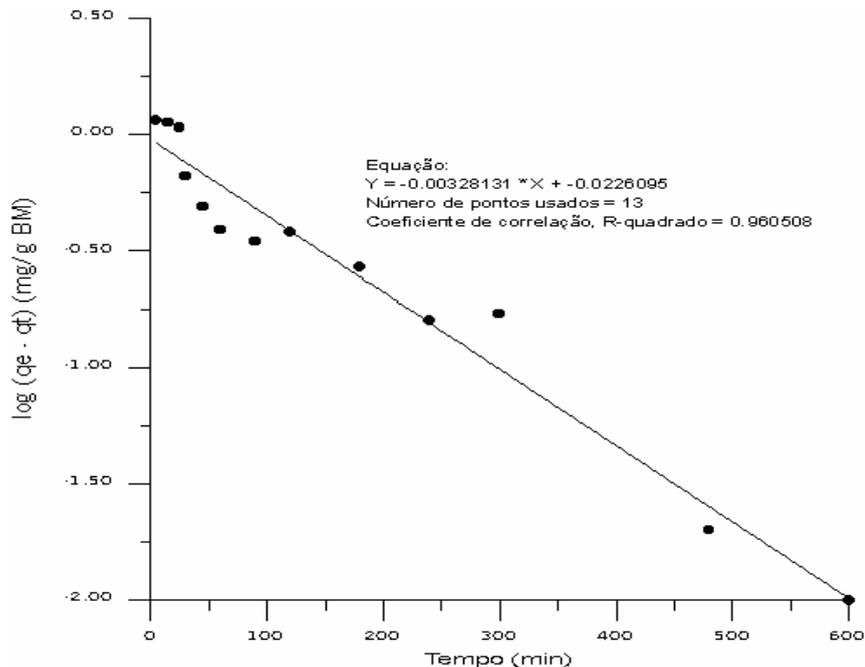


FIGURA 14. Determinação da constante cinética de biosorção (K)

O modelo de Lagergren descreveu adequadamente a cinética de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* com coeficiente de correlação elevado ( $R^2 = 0,96$ ). O valor obtido da constante cinética de biosorção foi de  $7,6 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ .

A cinética de sorção é controlada por vários fatores, incluindo os processos difusivos. Para a difusão seis passos podem ser enumerados e aplicados à remoção de cádmio (Janson-Charrier, Guibal, Roussy et al., 1996):

- (1) Transferência do cádmio da fase volumétrica (bulk) até a camada limite ao redor da superfície do sólido;
- (2) Transporte do metal da camada limite até a superfície do adsorvente;
- (3) Transferência do cádmio da superfície até os sítios ativos no interior da partícula;
- (4) Remoção do íons metálicos por complexação, sorção, troca iônica e fenômenos de precipitação intrapartícula;
- (5) Difusão de calor na partícula;
- (6) Difusão de calor na solução.

O primeiro passo está relacionado com a agitação e homogeneidade da amostra, nos experimentos realizados, a agitação fornecida foi suficiente para desprezar esta etapa como fase controladora da difusão.

A sorção é um fenômeno exotérmico, o que faz com que a transferência de calor deva ser considerada mas, por ser a água um excelente condutor térmico, os passos 5 e 6 foram negligenciados.

O segundo passo está relacionado com a resistência ocasionada pelo filme ao redor da partícula e o terceiro passo está relacionado com a difusão intrapartícula. A sorção (passo 4) é uma fase rápida e não limitante. Observou-se que o processo de biosorção do cádmio sobre o *Aspergillus niger* seguiu o modelo descrito acima, indicando que o passo controlador do processo difusivo foi a difusão no interior do biosorvente.

#### **IV.3.3 – Influência da quantidade de biomassa sobre a biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger***

Para determinação da influência da quantidade de biomassa no processo de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* foram realizados ensaios em shaker rotacional (25°C e 125 rpm) utilizando um tempo de contato entre as fases de 6 horas (tempo necessário para se atingir o equilíbrio) e uma solução sintética de cádmio (pH = 5;  $[M]_0 = 5,3$  ppm e  $V = 75$  mL). Os resultados obtidos para estes experimentos são mostrados na figura 15.

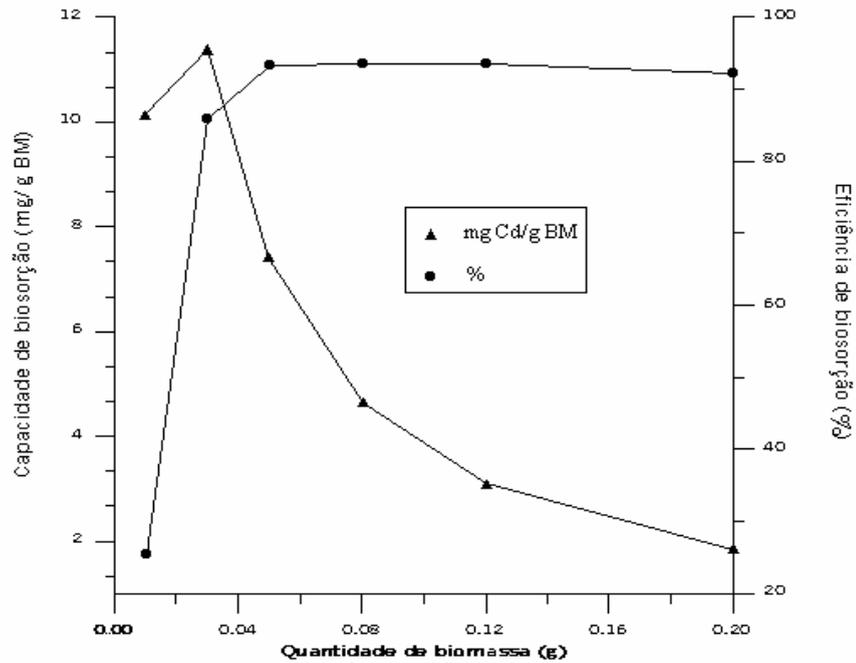


FIGURA 15. Biosorção do cádmio por *Aspergillus niger* dependente da quantidade de biomassa

Os resultados obtidos permitem concluir que a quantidade de biomassa é um importante parâmetro que afeta a eficiência e a capacidade de biosorção. Da análise da figura 15 verifica-se que há um aumento da eficiência e um decréscimo da capacidade de sorção à medida que aumentou a quantidade de biomassa. Verificou-se também que para a concentração inicial do metal utilizado não ocorreu mudança na eficiência de biosorção a partir de 0,05g de biomassa utilizada. A curva da eficiência de sorção foi utilizada como parâmetro para a análise estatística e definiu-se 0,03 e 0,05g como os níveis inferior e superior para serem utilizados no planejamento experimental.

Resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho, em que a capacidade e a eficiência de sorção aumentou e diminuiu, respectivamente com o aumento da quantidade de biomassa, foram também observados por Sandau, Sandau, Pulz, et al., (1996) na biosorção de cádmio pela alga marinha *Fucus vesiculosus* e por Blanco, Sans, Llama, et al., (1999) na sorção de níquel pela bactéria *Phormidium laminosum*.

#### IV.3.4 – Influência da concentração da solução sintética de cádmio

Com o propósito de verificar a influência da concentração inicial da solução sintética de cádmio no processo de sorção pela biomassa de *Aspergillus niger* foram realizados ensaios em shaker rotacional (25°C, 125 rpm e V = 75 mL) utilizando um tempo de contato entre as fases de 6 horas (tempo necessário para se atingir o equilíbrio) e variando a concentração inicial do metal pesado de 5 a 42 mg L<sup>-1</sup> para valores fixos de pH e quantidade de biomassa (5,45 e 0,05g), respectivamente. Não foram utilizados valores de concentração metálica a níveis da presente na tabela 13, pois o espectrofotômetro de absorção atômica pertencente à sala de equipamentos do departamento de Engenharia Química da UFRN não detecta concentrações tão baixas do metal pesado. Os resultados obtidos para estes experimentos são mostrados na figura 16.

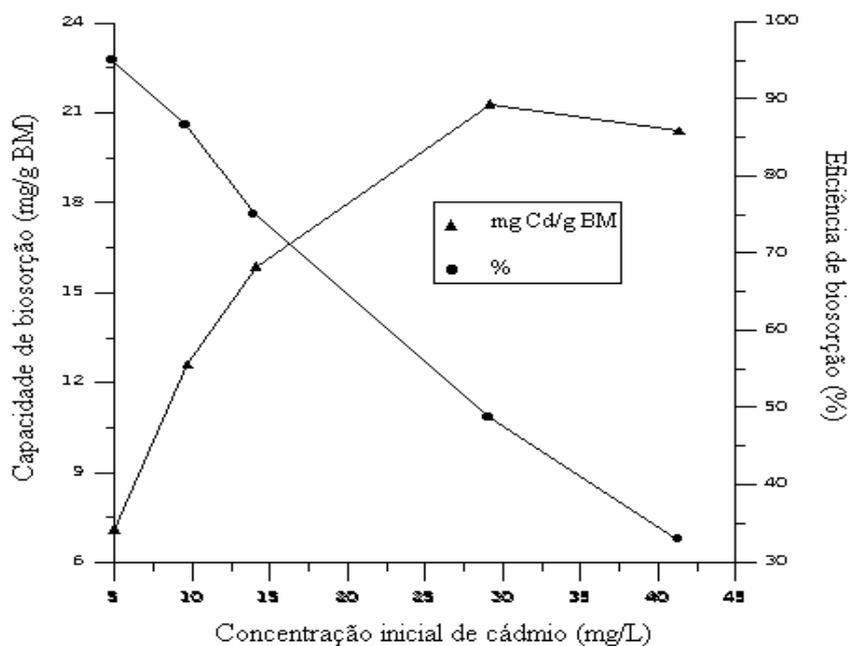


FIGURA 16. Biosorção do cádmio por *Aspergillus niger* dependente da concentração inicial de cádmio

Os resultados obtidos mostraram que com o aumento da concentração inicial do metal a capacidade de sorção aumentou até uma concentração inicial de 30 mg/L, ocorrendo um decréscimo a partir desta concentração. A eficiência de sorção diminuiu com o aumento da concentração inicial do cádmio metálico.

A redução na eficiência de sorção de cerca de 62% com o aumento da concentração inicial do cádmio de 5 para 40 mg/L, pode ser devido a saturação da biomassa ou a uma possível inibição da biomassa pela presença de altas concentrações de cádmio metálico.

Os resultados obtidos permitem concluir que para se obter elevada eficiência na remoção do metal pesado é necessário que o efluente apresente baixas concentrações do metal, o que torna viável à aplicação na remoção de metais pesados presentes em águas de produção da indústria de petróleo (tabela 13). Devido a limitação na faixa de detecção do espectrofotômetro de absorção atômica disponível no PPGEQ (Programa de Pós Graduação em Engenharia Química) da UFRN a faixa de concentração inicial do cádmio metálico escolhida para ser utilizada no planejamento experimental foi de 5 e 10 mg/L.

Resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho, em que a capacidade e a eficiência de sorção aumentou e diminuiu, respectivamente com o aumento da concentração inicial do cádmio metálico, foram também observados por Sandau, Sandau, Pulz, et al., (1996) na biosorção de cádmio pela alga marinha *Fucus vesiculosus* e por Lodi, Solisio, Converti, et al., (1998) na sorção de cádmio pela bactéria *Sphaerotilus natans*.

Os resultados da escolha do domínio experimental estão apresentados na tabela 15.

TABELA 15 – Resultados do domínio experimental

<b>Fatores</b>	<b>Unidade</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Nível (-1,2)</b>	<b>Nível (-1)</b>	<b>Nível (0)</b>	<b>Nível (+1)</b>	<b>Nível (+1,2)</b>
<b>pH</b>	-	A	3,85	4,0	4,75	5,5	5,65
<b>Concentração inicial de cádmio</b>	mg/L	B	4,50	5,0	7,5	10,0	10,5
<b>Quantidade de biomassa</b>	grama	C	0,028	0,03	0,04	0,05	0,052
<b>Tempo</b>	minutos	D	30	60	210	360	390

### IV.3.5 – Tratamento dos dados de equilíbrio

Quando uma quantidade de biosorvente é colocada em contato com um fluido contendo o soluto, a biosorção ocorre até que o equilíbrio seja atingido. Dados de equilíbrio obtidos experimentalmente são normalmente apresentados na forma de isotermas, que são diagramas que mostram a variação da concentração de equilíbrio da fase biosorvida com a concentração da fase da fluida, a uma temperatura fixa.

O equilíbrio de um soluto separado entre as fases sólida e líquida é descrito por vários modelos de isotermas de sorção, tais como Langmuir e Freundlich. Para ajustar os dados experimentais e calcular a capacidade máxima de sorção, estes dois métodos foram aplicados na forma linearizada.

O modelo de Langmuir supõe uma sorção monocamada com uma distribuição heterogênea dos sítios ativos e da energia de sorção, sem que haja interações entre as moléculas sorvidas e que cada centro ativo da superfície só pode acomodar uma entidade sorvida. O modelo de Langmuir é descrito pela equação (3).

$$q = \frac{bq_m C_e}{1 + bC_e} \quad (3)$$

Onde  $q_m$  é a capacidade máxima que pode ser atingida e  $b$  é a constante de Langmuir. Fisicamente  $q_m$  representa a concentração das espécies sorvidas sobre a superfície quando uma completa cobertura monocamada é atingida.

Os valores de  $b$  e  $q_m$  foram calculados através dos dados experimentais de  $q$  versus  $C_e$ , utilizando a equação de Langmuir em sua forma linearizada, ou seja:

$$\frac{C_e}{q} = \frac{1}{bq_m} + \frac{C_e}{q_m} \quad (17)$$

onde um gráfico de  $C_e/q_e$  x  $C_e$  fornece uma reta de declividade ( $1/q_m$ ) e interseção ( $1/b q_m$ ). O conhecimento destes valores permite calcular os parâmetros  $b$  e  $q_m$ . As retas que melhor ajustaram os dados experimentais para os dois adsorventes foram obtidas através de procedimentos de ajuste linear. A figura 17 mostra os resultados obtidos para o *Aspergillus niger* utilizando o modelo de Langmuir.

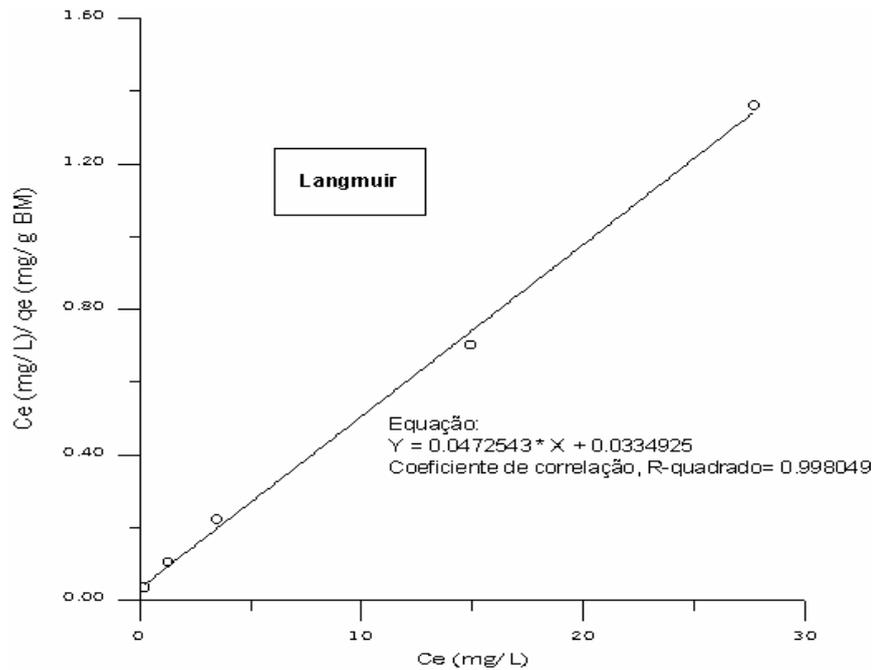


FIGURA 17. Isoterma de Langmuir a 25°C

Algumas vezes a melhor representação teórica para os dados obtidos experimentalmente, para sorção em fase líquida, é feita pelo modelo de Freundlich. Esse modelo sugere uma sorção monocamada com interações laterais entre as moléculas sorvidas e distribuição energética heterogênea dos sítios. A equação do modelo de Freundlich é dada por:

$$q = K' C_e^{\frac{1}{n}} \quad (4)$$

onde  $K'$  e  $n$  são constantes de equilíbrio adimensionais características do sistema em consideração. Tomando-se o logaritmo em cada lado da equação de Freundlich, obtém-se:

$$\log q = \log K' + \frac{1}{n} \log C_e \quad (18)$$

O gráfico de  $\log q$  x  $\log C_e$  fornece uma linha reta cuja declividade é  $1/n$  e a interseção fornece o  $\log K'$ . A figura 18 mostra os resultados obtidos para o *Aspergillus niger* utilizando o modelo de Freundlich.

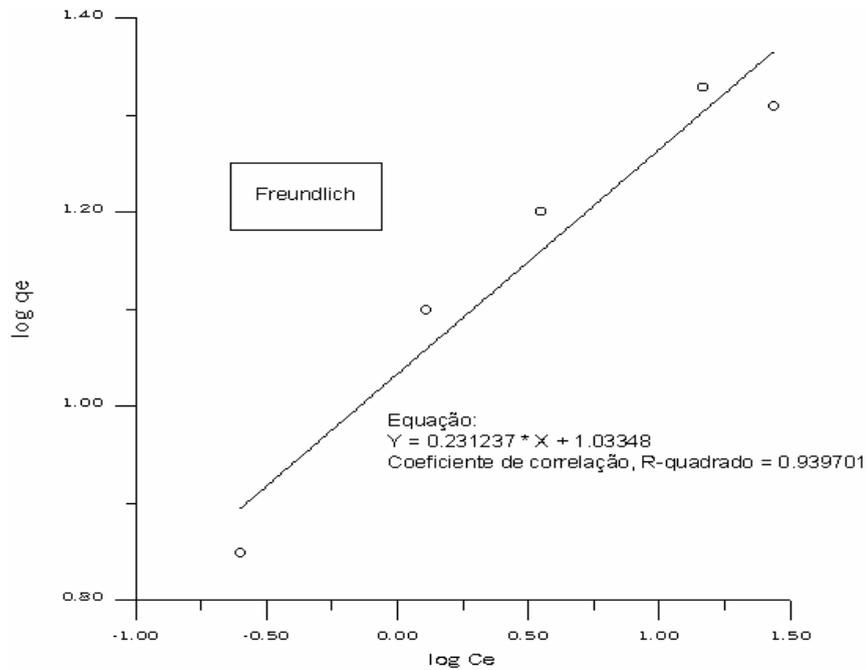


FIGURA 18. Isoterma de Freundlich a 25°C

O gráfico referente ao modelo de Freundlich não será apresentado devido ao grande desvio apresentado em relação aos dados experimentais. A isoterma de Langmuir correlacionou melhor os dados experimentais obtidos e portanto foi escolhida como modelo para representação dos dados de equilíbrio.

A figura 19 apresenta os dados de equilíbrio do sistema de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em pH 5,45 a 25°C e a curva do modelo da isoterma de Langmuir obtida pelo ajuste dos dados experimentais. A quantidade de biomassa utilizada foi de 0,05g.

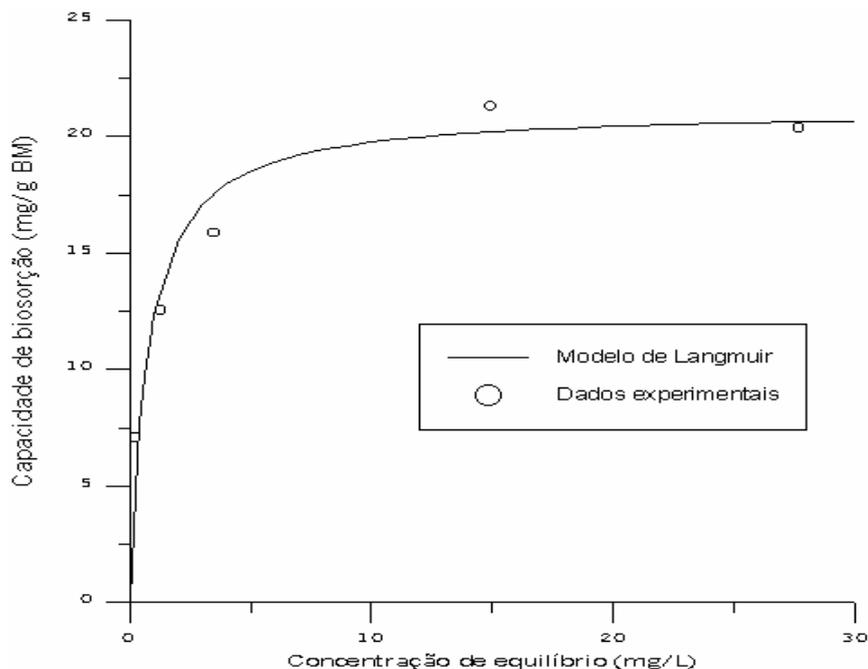


FIGURA 19. Modelo de Langmuir para a biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger*. pH = 5,5; temperatura = 25°C

A tabela 16 apresenta os valores calculados para  $q_m$  e  $b$ , no modelo de Langmuir e de  $K'$  e  $n$  para o modelo de Freundlich na temperatura estudada e os coeficientes de correlação obtidos para os modelos utilizados.

TABELA 16. Coeficiente de correlação para os modelos utilizados e parâmetros do modelo de Langmuir e Freundlich.

Freundlich			Langmuir		
$R^2$	$K'$	$n$	$R^2$	$q_m$ (mg/g)	$b$ (L/g)
0,939	2,810	4,325	0,998	21,162	1,411

#### IV.4 – Planejamento experimental

Com o objetivo de determinar os valores de pH, concentração inicial de cádmio, quantidade de biomassa e tempo para que se obtenha uma maior eficiência de biosorção de cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger*, realizou-se um planejamento experimental com ponto central dentro da faixa experimental definida no item IV.3. A tabela 17 apresenta a matriz de planejamento na forma codificada e a tabela 18 apresenta a matriz de planejamento utilizada neste trabalho e a eficiência observada experimentalmente em cada combinação de

níveis. Ao todo foram realizados vinte e sete ensaios, sendo três deles repetições no ponto central.

TABELA 17. Matriz experimental na forma codificada para um planejamento experimental com ponto central

<b>Experimento</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>Respostas</b>
1	-	-	-	-	
2	+	-	-	-	
3	-	+	-	-	
4	+	+	-	-	
5	-	-	+	-	
6	+	-	+	-	
7	-	+	+	-	
8	+	+	+	-	
9	-	-	-	+	
10	+	-	-	+	
11	-	+	-	+	
12	+	+	-	+	
13	-	-	+	+	
14	+	-	+	+	
15	-	+	+	+	
16	+	+	+	+	
17	0	0	0	0	
18	0	0	0	0	
19	0	0	0	0	
20	-1,2	0	0	0	
21	1,2	0	0	0	
22	0	-1,2	0	0	
23	0	1,2	0	0	
24	0	0	-1,2	0	
25	0	0	1,2	0	
26	0	0	0	-1,2	
27	0	0	0	1,2	

TABELA 18. Resultados de um planejamento experimental com ponto central

Experimento	A	B	C	D	Respostas
1	4,0	5,0	0,03	60	69,76
2	5,5	5,0	0,03	60	85,73
3	4,0	10,0	0,03	60	46,63
4	5,5	10,0	0,03	60	60,50
5	4,0	5,0	0,05	60	91,81
6	5,5	5,0	0,05	60	93,17
7	4,0	10,0	0,05	60	80,83
8	5,5	10,0	0,05	60	89,39
9	4,0	5,0	0,03	360	79,02
10	5,5	5,0	0,03	360	89,71
11	4,0	10,0	0,03	360	66,03
12	5,5	10,0	0,03	360	76,75
13	4,0	5,0	0,05	360	94,23
14	5,5	5,0	0,05	360	94,72
15	4,0	10,0	0,05	360	90,27
16	5,5	10,0	0,05	360	94,02
17	4,75	7,50	0,04	210	93,01
18	4,75	7,50	0,04	210	92,14
19	4,75	7,50	0,04	210	93,01
20	3,85	7,50	0,04	210	69,61
21	5,65	7,50	0,04	210	91,17
22	4,75	4,5	0,04	210	87,49
23	4,75	10,5	0,04	210	82,16
24	4,75	7,50	0,028	210	67,96
25	4,75	7,50	0,052	210	92,51
26	4,75	7,50	0,04	30	83,78
27	4,75	7,50	0,04	390	89,68

#### IV.4.1 – Análise do planejamento experimental

A análise do planejamento experimental foi realizado através do pacote computacional STATIST for Windows, Release 5.5. Os resultados dos efeitos principais e de interação, dos coeficientes de regressão e da análise de variância dos dados obtidos estão apresentados no Anexo III.

A figura 20 apresenta o gráfico de Pareto com nível de significância de 95% para estimativa dos efeitos principais lineares e quadráticos e os efeitos de segunda ordem em valor absoluto. A magnitude de cada efeito é representado pelas colunas e a linha transversal as colunas correspondente ao valor de  $p=0,05$  indica o quão grande deve ser o efeito para ter significado estatístico.

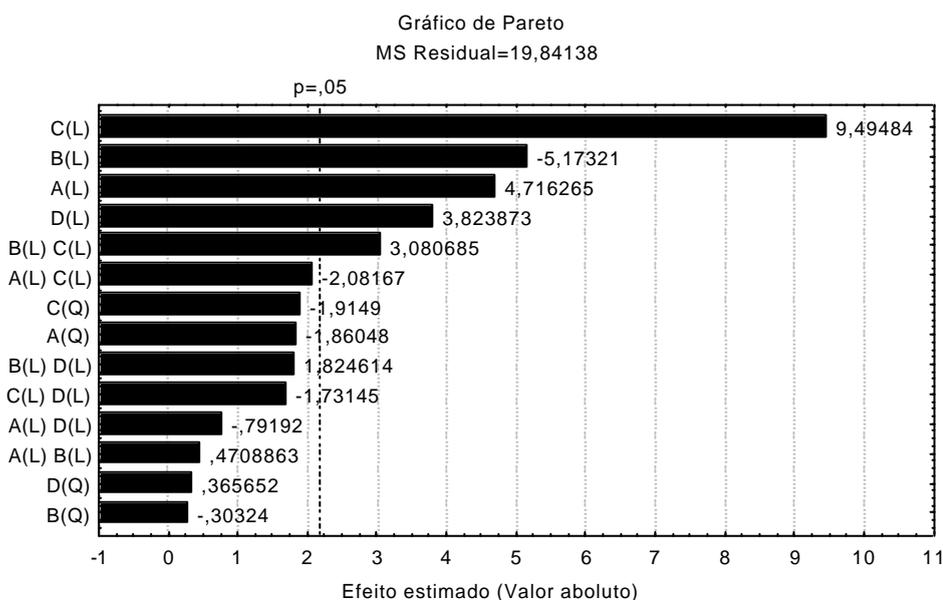


FIGURA 20. Gráfico de Pareto dos efeitos do planejamento fatorial

A análise da figura 20 mostra que os efeitos principais lineares da quantidade de biomassa, concentração inicial do cádmio, pH e tempo e o efeito de interação entre a concentração inicial de cádmio e a quantidade de biomassa são os mais importantes para a determinação da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger*.

Considerando que um valor de probabilidade de 95% é satisfatório, foi possível estabelecer um modelo quadrático para a função resposta Y.

$$Y = 88,29 + 4,83A - 5,30B + 9,73C + 3,92D - 3,68A^2 - 0,60B^2 - 3,79C^2 + 0,72D^2 + 0,52AB - 2,32AC - 0,88AD + 3,43BC + 2,03BD - 1,93CD$$

A análise de variância e de regressão demonstraram a significância estatística do modelo, pois o coeficiente de regressão teve um valor elevado,  $R^2 = 0,94012$  e para 95% de significância o valor de F calculado para o modelo foi cinco vezes superior ao tabelado,  $F_{\text{modelo}} = 13,46$  e  $F_{(14/12)\text{tabelado}} = 2,64$ . O valores tabelado de F par 95% de significância são apresentados no Anexo III.

O modelo linear não foi discutido neste trabalho por apresentar um coeficiente de regressão mais baixo do que o modelo quadrático,  $R^2 = 0,76738$  Por esta razão preferiu-se utilizar o modelo quadrático.

A análise e variância assume que as observações são independentes e normalmente distribuídas com a mesma variância em cada nível do fator. Estas suposições devem ser checadas examinando-se os resíduos.

Outra razão para preferir o modelo quadrático vem do gráfico dos resíduos (figura 21). Os resíduos deixados pelo modela linear apresentam claramente um comportamento sistemático, com os valores progressivamente passando de negativos para positivos e depois se tornando negativos novamente. Este padrão verificado viola a suposição que as observações são independentes. Isto sugere que a ordem dos experimentos é importante ou que outras variáveis são importantes e não foram incluídas no planejamento do experimento.

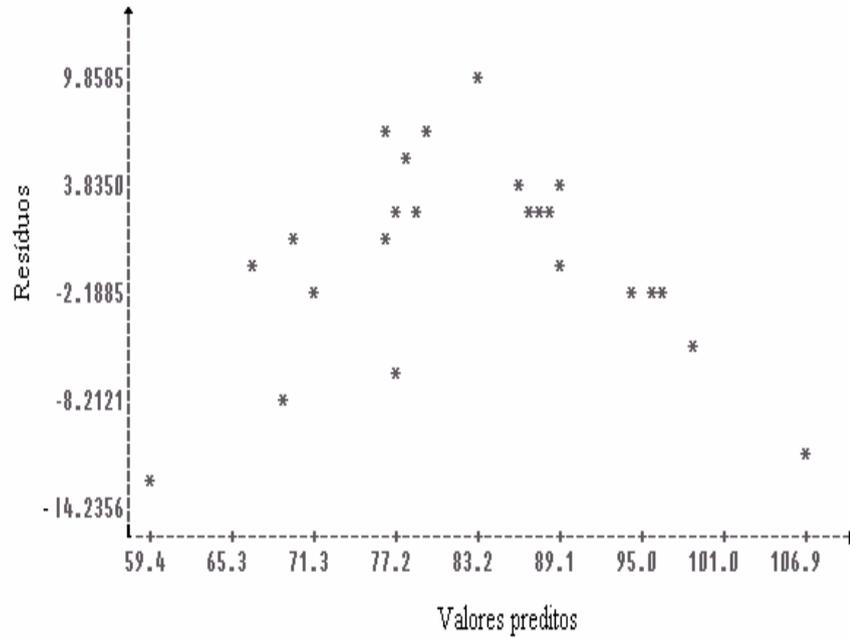


FIGURA 21. Resíduos deixados pelo ajuste de um modelo linear aos valores da eficiência de biosorção do cádmio dados na tabela 18

Os gráficos dos resíduos para o modelo quadrático são apresentados nas figuras 21 e 22. A figura 21 apresenta o histograma dos resíduos e a figura 22 apresenta o gráfico dos resíduos versus os valores preditos da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger*.

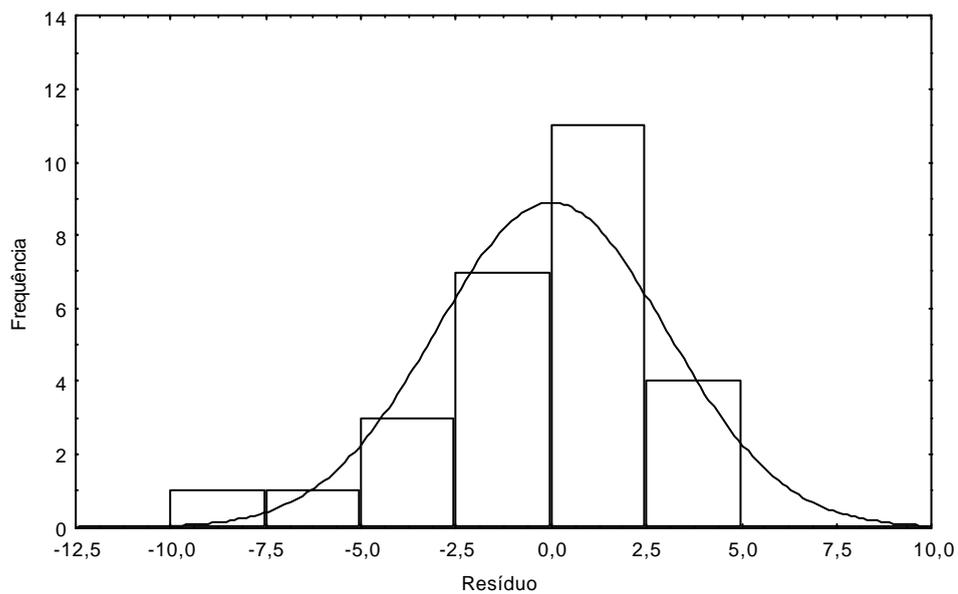


FIGURA 21. Histograma dos resíduos

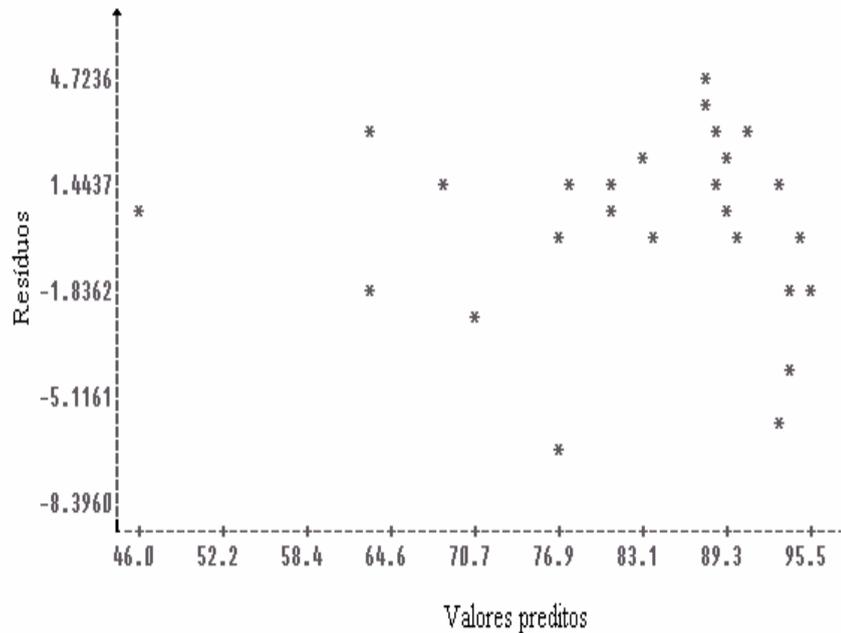


FIGURA 22. Resíduos deixados pelo ajuste de um modelo quadrático aos valores da eficiência de biosorção do cádmio dados na tabela 18

Da análise da figura 21 percebe-se que os resíduos seguem uma distribuição normal, validando a hipótese de distribuição normal dos resíduos da análise de variância.

A figura 22 mostra que os resíduos parecem flutuar aleatoriamente em torno do valor zero. Outro fato verificado neste gráfico é que a variância dos resíduos parece não aumentar com o valor da resposta. A análise dos resíduos para o modelo quadrático não revela nenhuma inadequabilidade séria ou problema não usual com as suposições da análise de variância, justificando o emprego do modelo quadrático no planejamento experimental.

#### IV.4.2 – Análise das curvas de isorespostas

O estudo dos efeitos principais, lineares e quadráticos, e de interação sobre a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* (resposta Y) pode ser realizado por meio da análises das curvas de isorespostas. Através das curvas de isorespostas, faz-se uma busca por inspeção para se encontrar o ponto de melhor eficiência para a biosorção do cádmio.

As curvas de isoerespostas (figuras 23 a 28) expressão a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função dos efeitos principais, lineares e quadráticos, e de suas interações. Uma análise das mesmas leva aos seguintes comentários:

- Para a biosorção do cádmio com quantidade de biomassa de 0,04g, tempo de contato entre as fases de 210 minutos e com concentração inicial de cádmio próximo ao valor codificado -1,2 (4,5 ppm), e com pH variando entre 4,22 e 5,65, a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* está por volta de 92,85%.
- Para a biosorção do cádmio com concentração inicial de cádmio de 7,5 ppm, tempo de contato entre as fases de 210 minutos e com quantidade de biomassa próxima ao valor codificado +1,2 (0,052g), e com pH variando entre 4,45 e 5,65, a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* está por volta de 90,59%.
- Para a biosorção do cádmio com concentração inicial de cádmio de 7,5 ppm, quantidade de biomassa de 0,04g e tempo de contato entre as fases próximo ao limite superior +1,2 (390 minutos), e com pH variando entre 4,82 e 5,65, a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* está por volta de 93,54%.
- Para a biosorção do cádmio com pH de 4,75, tempo de contato entre as fases de 210 minutos e concentração inicial de cádmio próxima ao limite inferior -1,2 (4,5 ppm), e com quantidade de biomassa variando entre 0,032 e 0,052 g, a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* está por volta de 92,11%.
- Para a biosorção do cádmio com pH de 4,75, quantidade de biomassa de 0,04g e concentração inicial de cádmio próxima ao limite inferior -1,2 (4,5 ppm), e para um tempo de contato entre as fases variando entre 300 e 390 minutos, a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* está por volta de 95,11%.
- Para a biosorção do cádmio com pH de 4,75, concentração inicial de cádmio de 7,5 ppm e tempo de contato entre as fases próximo ao limite superior +1,2 (390 minutos), e com quantidade de biomassa variando entre 0,044 e 0,052 g, a eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* está por volta de 94,89%.

Da análise anterior deduz que para se obter elevada eficiência de biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger* deve-se trabalhar com um pH elevado variando entre 4,68 e 5,65. pH maiores não foram estudados neste trabalho devido ao fato que em pH elevado a solubilidade do complexo é muito baixa podendo ocorrer a precipitação do metal e portanto seria difícil distinguir a biosorção da precipitação.

Os resultados também demonstraram que a eficiência de biosorção aumentou com o decréscimo da concentração inicial de cádmio. O que mostra a potenciabilidade desta técnica na remoção de metais pesados presentes em correntes de produção da indústria de petróleo, já que estas águas apresentam baixas concentrações de metais pesados.

Podemos concluir também que a utilização de uma elevada quantidade de biomassa (variando entre 0,044 e 0,052 g) e de um elevado tempo de contato entre as fases (390 minutos) favoreceram a remoção do cádmio pelo *Aspergillus niger*.

Os resultados finais deste planejamento mostraram que o processo de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* pode ser desenvolvido com bons rendimentos, trabalhando com um pH de **5,0**, uma concentração inicial de cádmio de **4,5 ppm**, uma quantidade de biomassa de **0,052g** e um tempo de contato entre as fases de **390 minutos**.

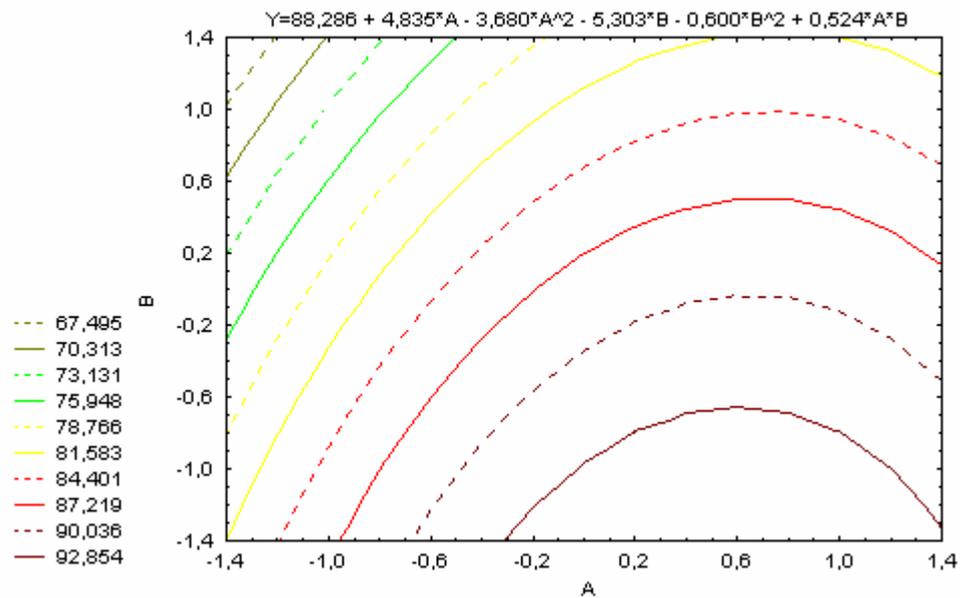


FIGURA 23. Superfície de resposta da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função do pH (A) e da concentração inicial de cádmio (B), para quantidade de biomassa de 0,04g e tempo de 210 minutos.

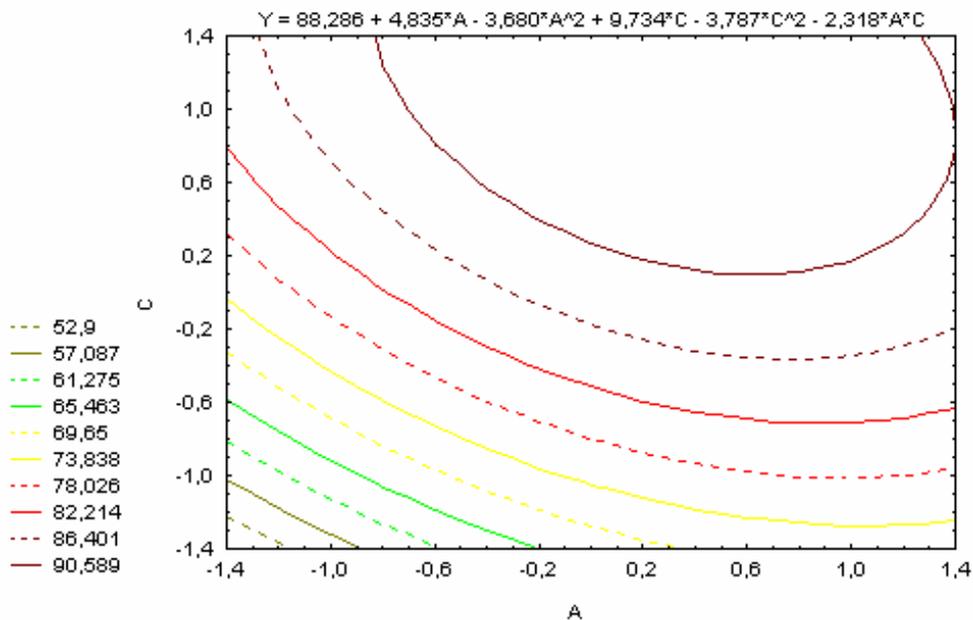


FIGURA 24. Superfície de resposta da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função do pH (A) e da quantidade de biomassa (C), para concentração inicial de cádmio de 7,5 ppm e tempo de 210 minutos.

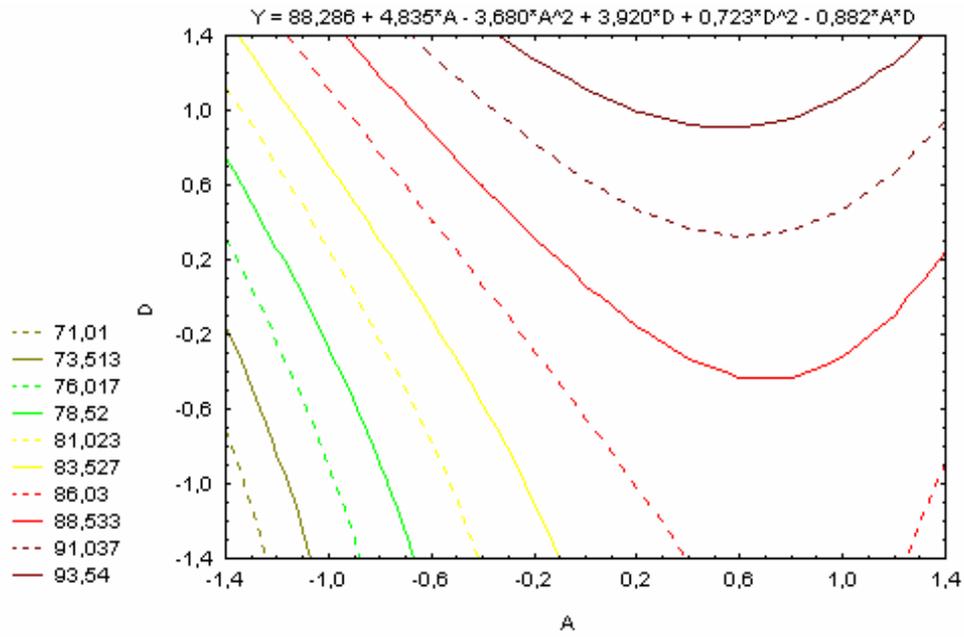


FIGURA 25. Superfície de resposta da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função do pH (A) e do tempo (D), para concentração inicial de cádmio de 7,5 ppm e quantidade de biomassa de 0,04g.

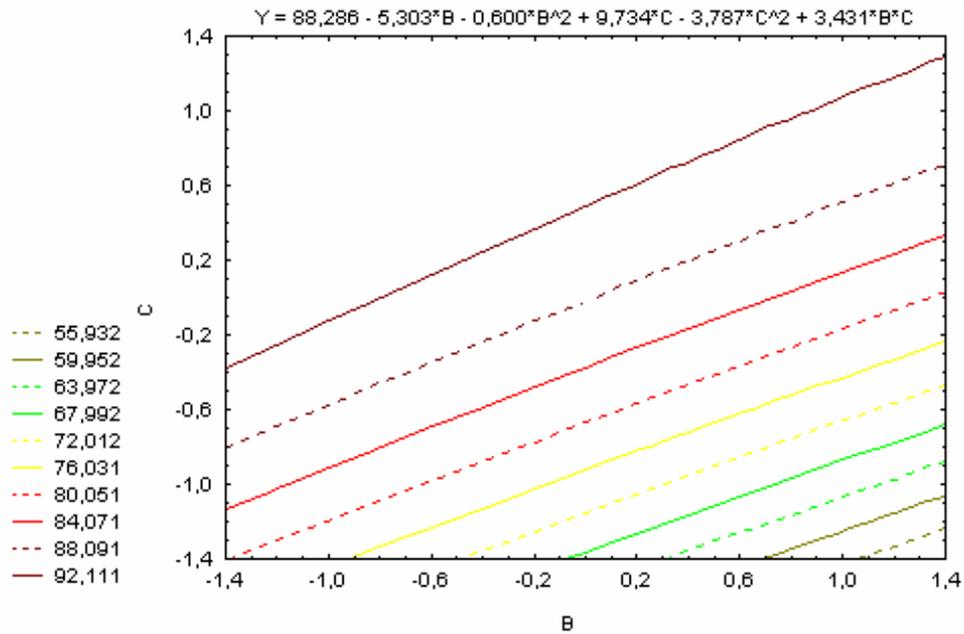


FIGURA 26. Superfície de resposta da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função da concentração inicial de cádmio (B) e da quantidade de biomassa (C), para pH de 4,75 e tempo de 210 minutos.

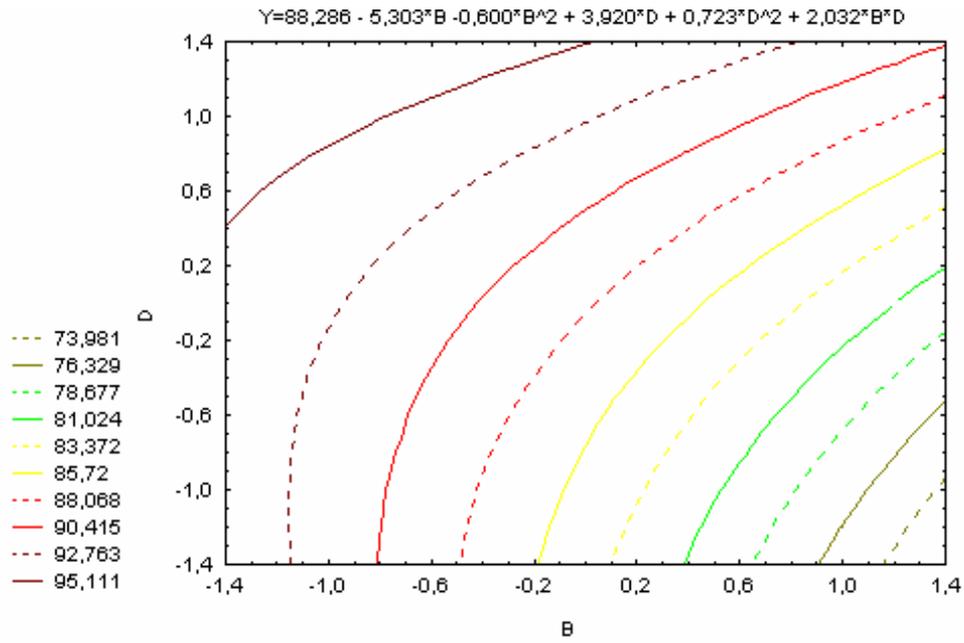


FIGURA 27. Superfície de resposta da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função da concentração inicial de cádmio (B) e do tempo (D), para pH de 4,75 e quantidade de biomassa de 0,04g.

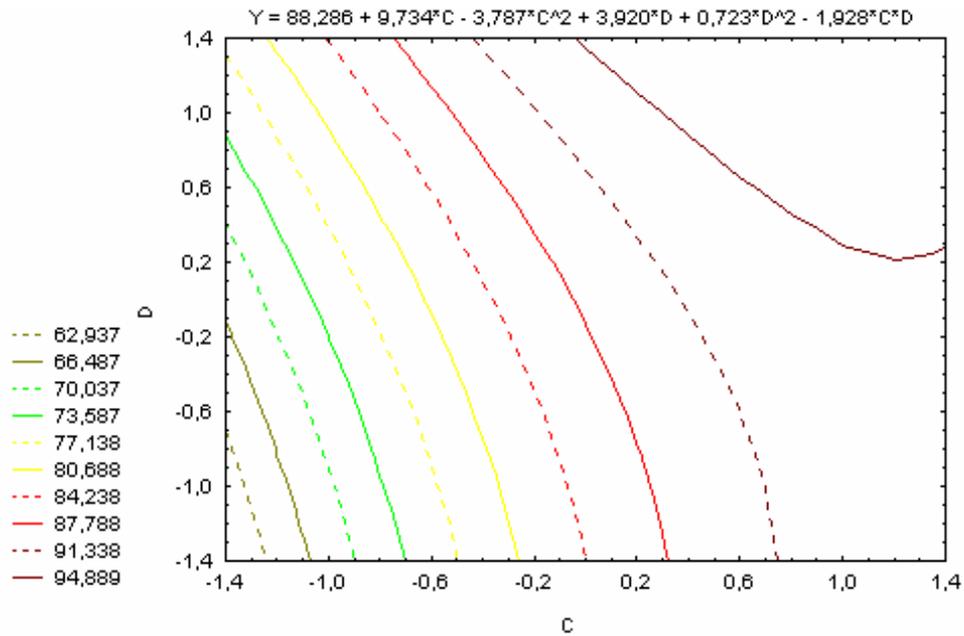


FIGURA 28. Superfície de resposta da eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em função da quantidade de biomassa (C) e do tempo (D), para pH de 4,75 e concentração inicial de cádmio de 7,5 ppm.

#### IV.4 – Desorção do cádmio biosorvido e regeneração da biomassa

O processo de desorção, ou eluição, é aquele em que as espécies moleculares ou atômicas que estavam presas ao sólido deixam esta superfície e passam para a fase fluida ambiente. O solvente da desorção é o **eluente**, e o canal efluente contendo o soluto desorvido e o solvente eluente é o **eluato**.

O processo de desorção de íons metálicos de biosorventes geralmente envolve tratamentos ácidos. Kappor, Viraraghavan e Cullimore (1999) utilizaram ácido nítrico 0.05N visando remover íons cádmio biosorvidos em *Aspergillus niger* alcançando uma eficiência de 99%. HCl foi utilizado como desorvente por Mattuschka, Junghans e Straube (1993). Estes autores observaram que mais que 90% dos íons metálicos biosorvidos ( $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$ ) foram desorvidos quando HCl 0,05N foi utilizado. Neste trabalho foi utilizado o ácido nítrico como agente eluente.

Segundo Kapoor e Viraraghavan (1997) a liberação de íons cálcio, magnésio e potássio foi observado durante a biosorção de íons metálicos. Após a desorção metálica, a biomassa foi lavada com água deionizada e colocada em contato com uma solução contendo íons  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  e  $\text{K}^{+}$ , pois segundo estes autores a troca iônica tem grande importância na remoção de íons metálicos por biosorção.

A figura 29 apresenta os ciclos de biosorção-desorção do cádmio metálico biosorvido-regeneração da biomassa em função da capacidade de biosorção. As condições ótimas de pH, concentração inicial de cádmio, quantidade de biomassa e tempo de contato entre as fases definidas no planejamento experimental foram utilizadas para regeneração da biomassa.

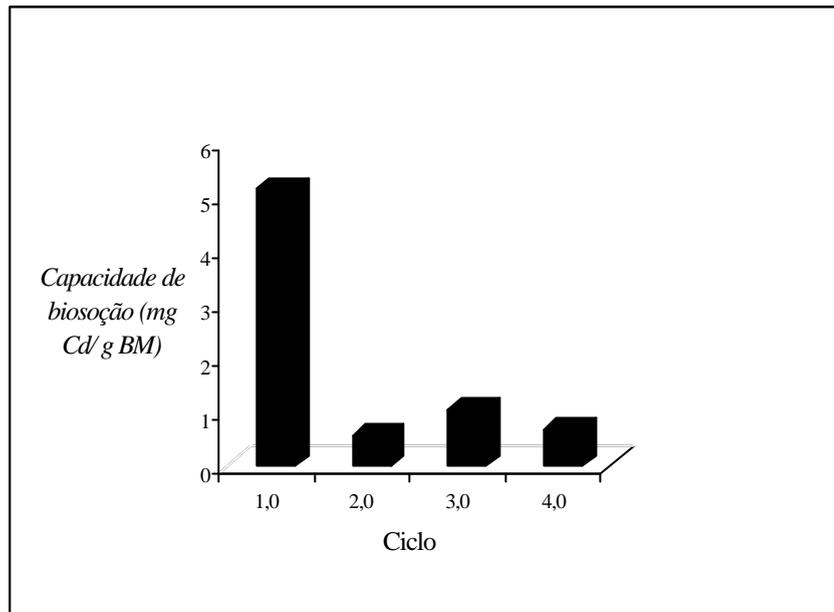


FIGURA 29. Reutilização da biomassa na biosorção do cádmio

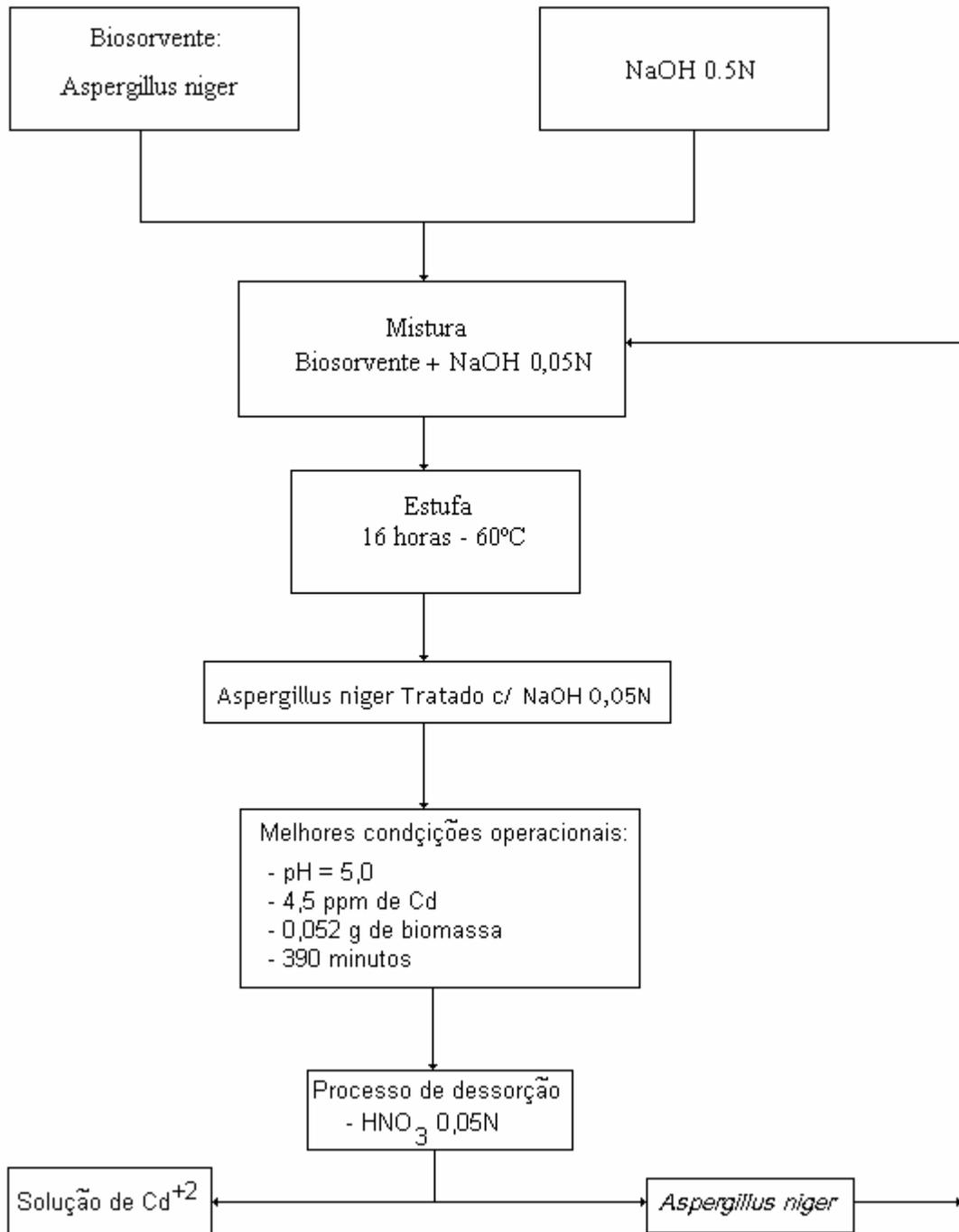
A figura 29 mostra que a biomassa perdeu parte da capacidade de biosorção depois do primeiro ciclo, mas foi capaz de manter a capacidade de biosorção durante os ciclos posteriores. A biomassa perdeu cerca de 86% da capacidade de biosorção após o quarto ciclo, sendo necessário um estudo de viabilidade econômica para a aplicação da biomassa de *Aspergillus niger* em processos industriais.

#### IV.5 – Biosorção de metais pesados presentes em águas de produção

#### IV.6 – Fluxograma do processo de biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger*

Com o propósito de apresentar a metodologia desenvolvida será mostrado a seguir o fluxograma para o processo global de remoção de cádmio pelo *Aspergillus niger*.

#### FLUXOGRAMA



---

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSÕES**

---

## V – CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho, de forma alguma devem ser vistos como definitivos com relação à utilização da biomassa fúngica *Aspergillus niger* como biosorvente para remoção do cádmio (II) presentes em águas de produção de campos de petróleo. Com o propósito de aperfeiçoar esta técnica vários parâmetros foram avaliados, o que permitiu chegar as seguintes conclusões.

- Em relação à níveis de potabilidade, a água de produção apresentou concentrações de cádmio e ferro acima do permitido pela legislação em vigor (Artigo N° 4 do CONAMA 20);
- O pH desempenhou um papel importante no processo de sorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger*;
- A cinética de biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger* é relativamente rápida, com cerca de 84% da capacidade de biosorção sendo alcançada em 5 minutos de contato. O tempo de contato de 6 horas foi suficiente para que o equilíbrio fosse atingido;
- Observa-se um aumento da eficiência e um decréscimo da capacidade de sorção à medida que aumenta a quantidade de biomassa;
- Observa-se um aumento da capacidade de biosorção e um decréscimo da eficiência de biosorção à medida que aumenta a concentração inicial da solução sintética de cádmio
- Os dados de equilíbrio da biosorção do cádmio pela biomassa de *Aspergillus niger* em batelada podem ser representados pela equação de Langmuir, com seus parâmetros,  $q_{máx}$  e  $b$ , iguais a 21,162 mg/g e 1,411, respectivamente;
- A eficiência de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger*, pode ser representada como uma função das variáveis de operação pH, concentração inicial da solução sintética de

cádmio, quantidade de biomassa e tempo de contato entre as fases, através do modelo quadrático:

$$Y = 88,29 + 4,83A - 5,30B + 9,73C + 3,92D - 3,68A^2 - 0,60B^2 - 3,79C^2 + 0,72D^2 + 0,52AB - 2,32AC - 0,88AD + 3,43BC + 2,03BD - 1,93CD$$

- O processo de biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* é desenvolvido com boa eficiência, desde que se opere com um pH de 5,0, concentração inicial da solução sintética de cádmio de 4,5 ppm, quantidade de biomassa de 0,052g e um tempo de contato entre as fases de 390 minutos;
- A biomassa de *Aspergillus niger* perdeu parte da capacidade de biosorção após o ciclo # 1, mas foi capaz de manter a capacidade de biosorção por outros três ciclos. É necessário realizar um estudo de viabilidade econômica do processo de biosorção para poder recomendá-lo;

## Sugestões para trabalhos futuros

- Determinar as condições ótimas de operação com a própria água de produção proveniente de indústrias de petróleo;
- Testar outros materiais que sejam resíduo de atividade industrial ou encontrados em grandes quantidades na natureza como biosorventes;
- Realizar estudos com outros metais pesados presentes em águas de produção para determinar a seletividade em diferentes biomassas;
- Estudar a influência do tamanho da partícula biosorvente e da temperatura na biosorção de metais pesados;
- Estudar a influência da forma iônica do biosorvente sobre a biosorção de metais pesados.
- Realizar um estudo econômico para validar o processo de biosorção de cádmio pelo *Aspergillus niger*;
- Estudar o processo de desorção de forma mais abrangente;
- Realizar o estudo da dinâmica da biosorção do cádmio pelo *Aspergillus niger* em coluna de leito fixo;
- Identificar os principais interferentes presentes nas águas de produção e avaliar o efeito que estes interferentes provocam sobre a biosorção do cádmio, em ensaios batelada.

---

**REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS**

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADERHOLD, D.; WILLIAMS, C.J.; EDYVEAN, R.G.J. The removal of heavy-metal ions by seaweed and their derivatives. *Bioresour Technol.*, 58. 1-6, 1996.
- AKSU, Z.; KUTSAL, T.A. Bioseparation process for remove lead(II) ions from wastewater by using *C. vulgaris*. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 52, 109-118, 1991.
- ALLOWAY, B.J.; AYRES, D.C. *Chemical Principles of environmental Pollution*. 1ª Edição, Grã-Bretanha: Blackie Academic & Professional, 1994. Capítulo 2, 140-159.
- ANDRADE, C.M.; SILVA, M.A.C. Tratamento de emulsões de petróleo. *1ª mesa redonda de emulsões na indústria do petróleo*, 1984.
- ANDRES, G.M.D. *Farmacologia Médica*. 6ª Edição, São Paulo, Guanabara Dois, 1975.
- ATKINS, P.W. *Physical chemistry*. 5ª Edição, Oxford: Oxford University Press, 1994.
- AVERY, S.; TOBIN, J.M. Mechanism of adsorption of hard and soft metal ions to *Sacharomyces cerevisiae* and influence of hard and soft anions. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(9), 2851-2856, 1993.
- BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E. *Planejamento e Otimização de Experimentos*. Editora da Unicamp, Campinas, 1995.
- BEVERIDGE, T.J. The immobilization of soluble metals by bacterial walls. In *Biotechnology and Bioengineering Symposium No. 16: Biotechnology for the Mining, Metal – Refining, and Fossil Fuel Processing Industries*; J. Wiley Interscience: New York; 127 – 140, 1986.
- BLANCO, A.; SANZ, B.; LIAMA, M.J.; SERRA, J.L. Biosorption of heavy metals to immobilised *Phormidium laminosum* biomass. *Journal of Biotechnology*, 69, 227-240, 1999.

- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. *Statistics for Experimenters*. New York: John Wiley & Sons, 1978.
- BOX, G.E.P.; WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society, Ser. B.*, 13, 1, 1951.
- BRADY, D; DUNCAN, J.R. Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*. In *Biohydrometallurgical Technologies*; The Minerals, Metals & Materials Society: Warrendale, PA, 2, 711 – 724, 1993.
- BRAILE, P.M.; CAVALCANTI, J.E.W.A. *Manual de tratamentos de águas Residuárias Industriais*. 18ª Edição, São Paulo, CETESB, 1979.
- BRANCO, S.M. *Elementos de ciências do ambiente*. 2ª Edição, São Paulo, CETESB/ASCETESB, 1987.
- BRERETON, R. G. Chemometrics in Analytical Chemistry - A Review. *Analyst*, 112, 1635 - 1657, 1987.
- BRIERLEY, C.L. Bioremediation of metal-contaminated surface and groundwaters. *Geomicrobiology Journal*, 8, 201 – 223, 1990.
- BRIERLEY, C.L; BRIERLEY, J.A. Immobilization of biomass for industrial application of biosorption. In *Biohydrometallurgical Technologies*; The Minerals, Metals & Materials Society: Warrendale, PA, 2, 35 – 44, 1993.
- BRIERLEY, J.L; BRIERLEY, C.L; GOYAK, G.M. AMT – BIOCLAIM: A new wastewater treatment and metal recovery technology. In *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*; Elsevier: Amsterdam, 291 – 304, 1986.
- BRIERLEY, J.A; VANCE, D.B. Recovery of precious metals by microbial biomass. In *Bio HydroMetallurgy: Proceedings of the International Symposium*, 477 – 486, 1988.

- BRUNNING, I.M.R.A. Caracterização de petróleos e produtos químicos utilizados na produção. *Relatório Interno Petrobrás*. 40p, 1988.
- ÇETINKAYA, G.; AKSU, Z.; OZTURK, A.; KUTSEL, T. A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. *Process Biochemistry*, 34, 885-892, 1999.
- CAPRON, B.; GIROU, A.; HUMBERT, L.; PUECH-COSTES, E. Plans d'expériences optimisés por étudier l'influence relative des facteurs. Bull. De la société chimique de France, 1987. (Group d'étude des Systéme Carbonatés, GESG).
- CHARBONNEAU, J.P. *Enciclopédia de Ecologia*. São Paulo, E. P. U. – Editora da Universidade de São Paulo, 1979.
- COONEY, D.O. *Adsorption design for wastewater treatment*. USA: Lewis Publishers, 1999.
- CRIST, R.H.; OBERHOLSER, K.; SCHWARTZ, D.; MARZOFF, J.; RYDR, D. Interactions of metals and protons with algae. *Environ. Sci. Technol.*, 22(7), 755-760, 1988.
- DARNALL, D.W. Interaction of gold(I) and gold(III) complexes with algal biomass. *Environ. Sci. Technol.*, 20(6), 627-632, 1986.
- EATON, A.D; CLESCERI, L.S; GREENBERG, A.E. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19<sup>a</sup> Edition, APHA, New York, 1995.
- FARGIN, E.; SERGENT, M.; MATHIEU, D.; PHAN-TAN LUU, R. Approache Méthodologique de la Recherche expérimentale. *Biosciences*, 4(4), 77-82, 1985.
- FIGUEIREDO, E.M. (S.D.). *Concentrações anômalas de metais pesados nas águas de alguns poços de Natal*.
- FOUREST, E.; VOLESKY, B. Contribution of sulfonate groups and alginate to heavy metal biosorption by dry biomass of *Sargassum fluitans*. *Environ. Sci. Technol.*, 30(1), 277-282, 1996.

- FRANCO et alii. Emulsões e borras (parte 1) – Teoria da formação e quebra das emulsões, *B. Tec. Petrobrás*, R.J., 31(2):95-103, abr/jun 1988.
- FRIIS, N; MYERS-KEITH, P. Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. *Biotechnol. Bioeng.*, 28, 21 – 28, 1986.
- GAAD, G.M. Biosorption. *Chemistry & industry*, 2, 421 – 426, 1990.
- GARBIS, S.J. Inyeccion com agua de mar: Problemas en la operación de una planta para el tratamiento de agua marina. *Petroleo Internacional*. Mayo, 1982.
- GARNHAM, G.W.; CODD, G.A.; GAAD, G.M. Accumulation of zirconium by microalgae and cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 39, 666-672, 1993.
- GHIORSE, W.C. Applicability of ferromanganese-depositing microorganisms to industrial metal recovery process. *Biotechnology and Bioengineering Symp.*, 19, 141-148, 1986.
- GONÇALVES, M.L.S.S. *Métodos Instrumentais para Análises de Soluções – Análise Quantitativa*. 2ª Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Coimbra, 1990.
- GUIBAL, E.; ROULPH, C.; LE CLOIREC, P. Uranium biosorption by a filamentous fungus *Mucor miehei* pH effect on mechanisms and performances of uptake. *Water Research*, 26(8), 1139-1145, 1992.
- HANSEN, B.R.; DAVIES, S.R.H. Review of the potential technologies for the removal of dissolved components from produced water. *Trans. Chem. E*, 72 A: 176-188, 1994.
- HOLAN, Z.R; VOLESKY, B. Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae. *Biotechnol. Bioeng.*, 43, 1001 – 1009, 1994.
- HOLAN, Z.R; VOLESKY, B. Accumulation of cadmium, lead and nickel by fungal and wood biosorbents. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 1995.

- HOLAN, Z.R.; VOLESKY, B.; PRASETYO, I. Biosorption of cadmium by biomass of marine algae. *Biotechnology and Bioengineering*, 41, 819-825, 1993.
- HUANG, C.; HUANG, C.P. Application of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* for Cu (II) removal. *Wat. Res.* 30, 1985-1990, 1996.
- HUANG, C.P; WESTMAN, D.; HUANG, C.; MOREHART, A.L. The removal of cadmium (II) from dilute aqueous solutions by fungal biosorbent. *Wat. Sci. Technol.* 20, 369-376, 1988.
- JANSSON-CHARRIER, M.; GUIBAL, E.; ROUSSY, J.; DELANGHE, B. Vanadium (V) sorption by chitosan: kinetics and equilibrium. *Wat. Res.*, Grã-Bretanha: Elsevier Science Ltd., 30(2), 465-475, 1996.
- KAPPOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger*: Effect of pretreatment. *Bioresource Technology*, 63, 109–113, 1998.
- KAPOOR, A; VIRARAGHAVAN, T. Fungal biosorption – na alternative treatment option for heavy metal bearing wastewater: a review. *Bioresource Technology*, 53, 195 – 206, 1995.
- KAPPOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Biores. Technol.* 61, 221-227, 1997.
- KAPPOR, A.; VIRARAGHAVAN, T.; CULLIMORE, D. R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 70, 95-104, 1999.
- KEMMER, F. Water: the universal solvent. *Nalco chemical company*, 1977.
- KNAEBEL, K.S. Key properties of adsorbents. *Chemical Engineering*, 92-102, november 1995.
- KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in biosorption of heavy metals. *Trends in Biotechnology*, 16, 291-300, 1998.

- KUYUCAK, N.; VOLESKY, B. Accumulation of cobalt by marine alga. *Biotechnology and Bioengineering*, 33, 809-814, 1989a.
- KUYUCAK, N.; VOLESKY, B. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. *Biotechnology Letters*, 10(2), 137-142, 1988.
- LEUSCH, A.; HOLAN, Z.R.; VOLESKY, B. Biosorption of heavy metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by chemically-reinforced biomass of marine algae. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 62, 279-288, 1995.
- LODI, A.; SOLISIO, C.; CONVERTI, A.; BORGHI, M.D. Cadmium, Zinc, Copper, Silver and Chromium (III) removal from wastewaters by *Sphaerotilus natans*. *Bioprocess Engineering*, 197-203, 1998.
- MATTUSCHKA, B.; JUNGHANS, K.; STRAUBE, G. Biosorption of metals by waste biomass, in A.E. Torma, M.L. Apel and C.L. Brierley (Eds.), *Biohydrometallurgical Technologies*, Vol. 2. Proceeding of 1<sup>a</sup> International Biohydrometallurgy Symposium. WY, USA. 1993. The Minerals, Metals and Materials Society, 125-132, 1993.
- MINISTERIO DE SALUD. Normas y criterios de calidad física, química, y bacteriológicas del agua potable. *Decreto 2105*, 1983. Capítulo III.
- MINISTERIO DE SALUD. Criterios de calidade para destinación del recurso. *Decreto 1594*, 1984. Capítulo IV.
- MONTGOMERY, J.M. Water treatment & design. USA: Consulting Engineers, Inc. – John Willey & Sons, Inc., 1985.
- MOREL, F.; MCDUFF, R.E.; MORGAN, J.J. Interactions and chemostasis in aquatic chemical systems: role of pH, pE, solubility, and complexation, in *Trace metals and Metal-Organic Interactions in Natural Waters*, Singer, P.C., Ed., Ann Arbor Science, Ann Arbor, MI, 1973,157.
- MOTA, S. *Preservação e Conservação de Recursos Hídricos*. Rio de Janeiro: ABES, 1995.

- MURALEEDHARAN, T.R.; IYENGAR, L.; VENKOBACHAR, C. Biosorption: an attractive alternative for metal removal and recovery. *Current Science*, 61(6), 379-385, 1991.
- NAKAJIMA, A.; SAKAGUCHI, T. Selective accumulation of heavy metals by microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 24, 59-64, 1986.
- NELDER, J.A.; MEAD, D.R.. A simplex method for function minimization. *Computer J.* 7, 308-12, 1965.
- NEMEC, P; PROCHAZKA, H; STAMBERG, K; STAMBERG, J; JILEK, R; HULAK, P. Process of treating mycelia of fungi for retention of metals. U.S. Patent 1 021 368, 1977.
- NGAH, W.S.W.; LIANG, K.H. Adsorption of gold (III) ions onto chitosan and N-carboxymethyl chitosan: equilibrium studies. *Ind. Eng. Chem. Res., USA: American Chemical Society*, 38, 1411-1414, 1999.
- NOURBAKHSI, M.; SAG, Y.; OZER, D.; AKSU, Z.; ÇAGLAR, A. A comparative study of various biosorbents for removal of chromium(VI) ions from industrial wastewaters. *Process Biochemistry*, 29, 1-5, 1994.
- OGA, S. Fundamentos de toxicologia. 1ª Edição, Editora Atheneu São Paulo Ltda, São Paulo, 1996.
- OSTROFF, A.G. *Introduction to oilfield water technology Englewood – Cliffs, N.J: Prentice – Halls, Inc*, 1965.
- PATTON, C.C. *Oilfield Water systems*. 2<sup>0</sup> edition, Campbell petroleum series, 1977.
- PAULING, L. *Química Geral*. Volume 2, 1ª Edição, Rio de Janeiro, 1972.
- REED, B.E.; MATSUMOTO, M.R. Modeling cadmium adsorption by activated carbon using the Langmuir and Freundlich isotherm expressions. *Separation Science and Technology*, 28, n. 13&14, 2179-2195, 1993.

- RIBEIRO, L.F.P.; ALCÂNTARA, C.A. Frequência de intervenções para limpeza em poços de injeção de água. *Encontro técnico sobre injeção de água*. CAPRO – 86, 1986.
- ROSS, I.C.; TOWNSLEY, C.C. *The uptake of heavy metals by filamentous fungi, in immobilisation of ions by biosorption*, Eccles, H.H. and Hunt, S., Eds., Ellis Horwood, Chichester, West Sussex, England, 1986, 49.
- ROUTH, M.W.; SWARTZ, P.A.; DENTON, M.B. Performance of the super modified simplex. *Anal. Chem.*, 49, 1422-1428, 1977.
- SANDAU, E.; SANDAU, P.; PULZ, O.; ZIMMERMANN, M. Heavy metal sorption by marine algae and algal by-products. *Acta Biotechnol.*, 16, 103-119, 1996.
- SCHIEWER, S.; VOLESKY, B. Modeling of proton-metal ion exchange in biosorption. *Environmental Science & Technology*, 29(12), 3049-3058, 1995.
- SEARS, M.E. *Propagation and Characterisation of Rhizopus Biosorbents*, Ph.D. thesis, McGill University, Montreal, 1986.
- SIEGEL, S.M.; GALUN, M.; SIEGEL, B.Z. Filamentous fungi as metal biosorbents: a review. *Wat. Air and Soil Pollut*, 53, 335-344, 1990.
- SILVA, G.N. A utilização de materiais não metálicos ou de aço revestido em sistema de injeção de água salgada. *Encontro técnico sobre injeção de água*. CAPRO – 86, 1986.
- SIMÕES, M. *Geologia de petróleo*. Apostilha CEP-83, 1983.
- TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F.L. *Wastewater engineering – treatment, disposal and reuse*. 3ª Edição, USA: Metcalf & Eddy, Inc., 1991. Capítulo 3, p. 88
- TOBIN, J.M.; COOPER, D.G; NEUFELD, R.J. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 821 – 824, 1984.

- TOBIN, J.M.; COOPER, D.G.; NEUFELD, R.J. Uptake of metal ion by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 821-824, 1984.
- TOBIN, J.M.; WHITE, C.; GADD, G.M. Metal accumulation by fungus: applications in environmental biotechnology, *Jornal of Industrial Microbiology*, 13, 126-130, 1994.
- TSEZOS, M.; VOLESKY, B. Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnology and Bioengineering*, 23, 583-604, 1981.
- VOLESKY, B. Advances in biosorption of metals: selection of biomass types. *FEMS Microbiology Review*, 14, 291-302, 1994.
- VOLESKY, B. Biosorption by fungal biomass. In *Biosorption of Heavy Metals*; CRC Press: Boca Raton, FL, 44, 139 - 172 ,1990a.
- VOLESKY, B. *Biosorption of heavy metals*. Montreal: Boca Raton, 1990.
- VOLESKY, B. Removal and recovery of heavy metals by biosorption. In *Biosorption of Heavy Metals*; CRC Press: Boca Raton, FL, 7 – 44, 1990b.
- VOLESKY, B.; HOLAN, Z.R. Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.*, 11, 235 – 250, 1995.
- VOLESKY, B; KUYUCAK, N. Biosorbent for Gold. U.S. Patent 4, -769, 233, 1988.
- VOLESKY, B; MAY-PHILLIPS, H.A. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbial. Biotechnol.*, 42, 797 – 806, 1995.
- VOLESKY, B; TSEZOS, M. Separation of Uranium by Biosorption. U.S. Patent 4,320,093, 1981.
- WAITZBERG, D.L. *Nutrição enteral e parenteral na prática clínica*. São Paulo, SP – Livraria Atheneu, 1990.

WILDE, E.W; BENEMANN, J.R. Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. *Biotech. Adv.* 11, 781 – 812, 1993.

WINTER, C.; WINTER, M.; POHL, P. Cadmium adsorption by non-living biomass of the semi-macroscopic brown alga, *Ectocarpus siliculosus*, grown in axenic mass culture and localisation of the adsorbed Cd by transmission electron microscopy. *J. Appl. Phycol.* 6, 479 – 487, 1994.

YAKUBU, N.A.; DUDENEY, A.W.L. Biosorption of uranium with *Aspergillus niger*. In: *Eccles, H.H., Hunt, s. (Eds.), Immobilisation of Ions by Biosorption, Ellis Horwood, Chichester, UK, 183-200, 1986.*

YANG, J.; VOLESKY, B. Intraparticle diffusivity of Cd ions in a new biosorbent material. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, v. 66, p.355-364, 1996.

ZAMBERLAN, E; FARIAS, V.S. Avaliação da qualidade do lodo água e peixes do lago da Adespe. *Relatório Interno da Petrosix.* 19p, 1987.

ZHANG, L.; ZHAO, L.; YU, U.; CHEN, C. Removal of lead from aqueous solutions by non-living *Rhizopus nigricans*, *Wat. Res.*, Grã-Bretanha: Elsevier Science Ltd., 32(5), 1437-1444, 1998.

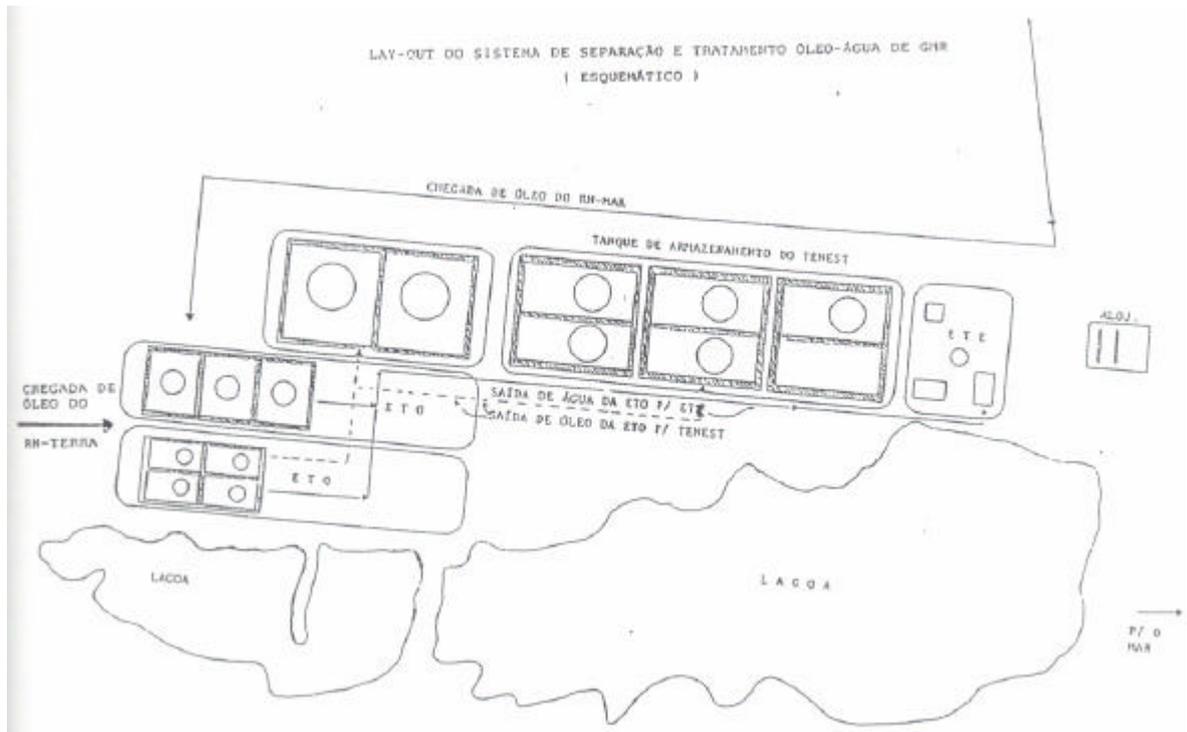
---

## **ANEXOS**

---

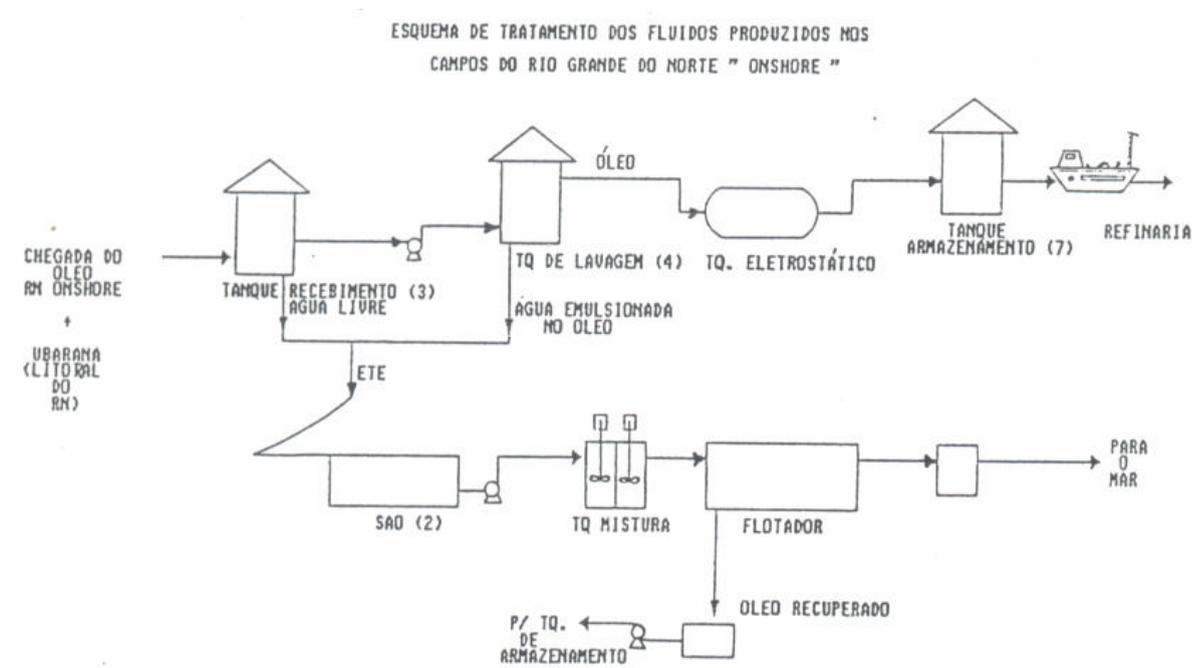
# ANEXO I

## LAYOUT DO TRATAMENTO ÓLEO/ÁGUA DO RN



# ANEXO II

## FLUXOGRAMA DO TRATAMENTO ÓLEO/ÁGUA EM GMR



## ANEXO III

### CONJUNTO DE RESULTADOS DOS EFEITOS PRINCIPAIS E DE INTERAÇÃO, DOS COEFICIENTES DE REGRESSÃO E DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

**a) Efeitos principais e de interação**

STAT. EXPERIM. DESIGN	Effect Estimates; R-sqr=0,94012; 4 factors, 1 blocks, 27 runs; MS Residual=19,84138					
Factor	Effect	Std. Err.	t (12)	p	-95, % Cnf. Limt	+95, % Cnf. Limt
Mean/Interc.	88,2864*	1,806873*	48,86145*	0,000000*	84,34959*	92,22326*
A (L)	9,6697*	2,050288*	4,71626*	0,000500*	5,2025*	14,13690*
A (Q)	-7,3592	3,955549	-1,86048	0,087491	-15,9776	1,25920
B (L)	-10,6066*	2,050288*	-5,17321*	0,000232*	-15,0738*	-6,13937*
B (Q)	-1,1995	3,955549	-0,30324	0,766900	-9,8179	7,41892
C (L)	19,4672*	2,050288*	9,49484*	0,000001*	15,0000*	23,93436*
C (Q)	-7,5745	3,955549	-1,91490	0,079642	-16,1929	1,04392
D (L)	7,8400*	2,050288*	3,82387*	0,002422*	3,3728*	12,30724*
D (Q)	1,4464	3,955549	0,36565	0,720989	-7,1720	10,06475
A (L) by B (L)	1,0488	2,227183	0,47089	0,646166	-3,8039	5,90137
A (L) by C (L)	-4,6363	2,227183	-2,08167	0,059447	-9,4889	0,21637
A (L) by D (L)	-1,7637	2,227183	-0,79192	0,443781	-6,6164	3,08887
B (L) by C (L)	6,8613*	2,227183*	3,08068*	0,009526*	2,0086*	11,71387*
B (L) by D (L)	4,0637	2,227183	1,82461	0,093041	-0,7889	8,91637
C (L) by D (L)	-3,8563	2,227183	-1,73145	0,108975	-8,7089	0,99637

\*Parâmetros estimados são estatisticamente significante a 95% de confiança

**b) Análise de variância**

STAT. EXPERIM. DESIGN	ANOVA; R-sqr=0,94012; 4 factors, 1 blocks, 27 runs; MS Residual=19,84138				
Factor	SS	df	MS	F	p
A (L)	441,335*	1*	441,335*	22,243*	0,000500*
A (Q)	68,678	1	68,678	3,461	0,087491
B (L)	530,997*	1*	530,997*	26,762*	0,000232*
B (Q)	1,824	1	1,824	0,092	0,766900
C (L)	1788,740*	1*	1788,740*	90,152*	0,000001*
C (Q)	72,755	1	72,755	3,667	0,079642
D (L)	290,121*	1*	290,121*	14,622*	0,002422*
D (Q)	2,653	1	2,653	0,134	0,720989
A (L) by B (L)	4,400	1	4,400	0,222	0,646166
A (L) by C (L)	85,979	1	85,979	4,333	0,059447
A (L) by D (L)	12,443	1	12,443	0,627	0,443781
B (L) by C (L)	188,307*	1*	188,307*	9,491*	0,009526*
B (L) by D (L)	66,056	1	66,056	3,329	0,093041
C (L) by D (L)	59,483	1	59,483	2,998	0,108975
Error	238,097	12	19,841		
Total SS	3976,135	26			

\*Parâmetros estimados são estatisticamente significante a 95% de confiança

c) Coeficientes de regressão

STAT. EXPERIM. DESIGN	Regr. Coefficients; R-sqr=0,94012; 4 factors, 1 blocks, 27 runs; MS Residual=19,84138					
Factor	Regressn Coeff.	Std. Err.	t (12)	p	-95, % Cnf. Limt	+95, % Cnf. Limt
Mean/Interc.	88,28642*	1,806873*	48,86145*	0,000000*	84,34959*	92,22326*
A (L)	4,83485*	1,025144*	4,71626*	0,000500*	2,60125*	7,06845*
A (Q)	-3,67960	1,977774	-1,86048	0,087491	-7,98880	0,62960
B (L)	-5,30328*	1,025144*	-5,17321*	0,000232*	-7,53688*	-3,06969*
B (Q)	-0,59974	1,977774	-0,30324	0,766900	-4,90894	3,70946
C (L)	9,73358*	1,025144*	9,49484*	0,000001*	7,49998*	11,96718*
C (Q)	-3,78724	1,977774	-1,91490	0,079642	-8,09644	0,52196
D (L)	3,92002*	1,025144*	3,82387*	0,002422*	1,68642*	6,15362*
D (Q)	0,72318	1,977774	0,36565	0,720989	-3,58602	5,03238
A (L) by B (L)	0,52438	1,113592	0,47089	0,646166	-1,90193	2,95068
A (L) by C (L)	-2,31813	1,113592	-2,08167	0,059447	-4,74443	0,10818
A (L) by D (L)	-0,88187	1,113592	-0,79192	0,443781	-3,30818	1,54443
B (L) by C (L)	3,43063*	1,113592*	3,08068*	0,009526*	1,00432*	5,85693*
B (L) by D (L)	2,03187	1,113592	1,82461	0,093041	-0,39443	4,45818
C (L) by D (L)	-1,92813	1,113592	-1,73145	0,108975	-4,35443	0,49818

\*Parâmetros estimados são estatisticamente significante a 95% de confiança

Xerocar a tabela do valor de F