



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL - SANEAMENTO
AMBIENTAL

MARIA DO SOCORRO VALE

REMOÇÃO DE CROMO E ZINCO POR *Aspergillus niger*

FORTALEZA

2010

MARIA DO SOCORRO VALE

REMOÇÃO DE CROMO E ZINCO POR *Aspergillus niger*

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós Graduação em engenharia Civil, área de concentração – Saneamento ambiental, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Sandra Tédde Santaella.

Co-orientador: Sandro Thomaz Gouveia.

FORTALEZA

2010

MARIA DO SOCORRO VALE

REMOÇÃO DE CROMO E ZINCO POR *Aspergillus niger*

Tese submetida à Coordenação do curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Civil. Área de concentração em Saneamento Ambiental.

Aprovada em 08/03/2010.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Sandro Thomaz Gouveia
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof.a Dra. Maria de Lourdes Florêncio dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco– UFPE

Prof. Dr. Francisco Maurício de Sá Barreto
Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia – IFCE

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha mãe, Dulce, e ao meu pai, Ribamar (*in memoriam*), pelo infinito amor e dedicação.

A história ensina-nos que o homem
não teria alcançado o possível, se
muitas vezes, não tivesse tentado o
impossível.

Max Weber

AGRADECIMENTOS

Eis que é chegada à hora de lembrar e agradecer com carinho a todos que contribuíram para que meu trabalho de Tese ganhasse forma e chegasse ao final.

Muitos foram os amigos e companheiros me ajudaram nesta de jornada de 4 anos de estudo e pesquisas. Posso dizer que sem eles não conseguiria ter chegado até aqui e ainda corro o risco de não conseguir agradecer a todos de maneira justa. Mesmo assim me arriscarei nessa difícil tarefa.

Meus sinceros agradecimentos:

À Deus por ter me dado a vida e tudo que tenho, minha família, meus amigos e a oportunidade de ser alguém.

Aos meus pais queridos, Ribamar (*in memoriam*) e Dulce, que sempre me deram todo amor e cuidaram de mim como se eu fosse um tesouro único no mundo.

Aos meus irmãos queridos, Júnior e Pedrinho, que são como dois pedaços de mim.

À pequena cujo sorriso é o mais alegre e cheio de amor, minha amada sobrinha, Larissa.

A todos os meus familiares, avó, tios, primos e sobrinhos tortos.

Um agradecimento especial à professora Sandra Santaella pelo constante apoio e orientação ao longo dessa jornada.

Ao professor Sandro Thomaz pelo apoio e ensinamentos.

Ao professor Ronaldo Nascimento pelos ensinamentos e por ter aberto às portas do seu laboratório para mim e minha pesquisa.

As professoras Simone Borges e Maria das Graças pela amizade e ajuda.

Em especial aos amigos que contribuíram diretamente para esta pesquisa, seja com trabalho ou intelectualmente: Elisângela, Elis do infravermelho, Giselle, Sarah, Ionete, Regillany, André Gadelha, Wagner, Rosa, Katiany, Suzete, Leandro, Rinelle, Mariany, Thalita, Guto, Tereza, Buda, Wladiana, Allan, Davi, Chagas, Neyliane, Germana, Ada, enfim a todos que puseram a mão na massa junto comigo.

Aos amigos do EQUAL, ECOTOXI, LEQA, MICROBIOLOGIA, DEHA e QUIMICA, pela ajuda, conversas, almoços de descontração, abraços, sorrisos calorosos, companhia aos finais de semana, etc. Adoro vocês!

Aos amigos extracurriculares, pela amizade, por todos os momentos de descontração, por fazerem questão da minha presença em suas vidas mesmo quando estava estressada com a Tese e por encherem a vida de alegria.

A Capes, pela bolsa concedida.

Ao CNPQ pelo financiamento do projeto desta Tese.

RESUMO

REMOÇÃO DE CROMO E ZINCO POR *Aspergillus niger*

Os microrganismos têm sido amplamente estudados para remoção de diversos contaminantes em águas residuárias, dentre eles os metais pesados. Este estudo tem como abordagem principal a remoção de metais tóxicos pelo fungo filamentosso *Aspergillus niger* isolado do efluente de uma indústria petroquímica. A pesquisa foi dividida em duas partes: a primeira foi a verificação do efeito da toxicidade Zn(II) e Cr(VI) pelo fungo estudado, já que estes poluentes podem causar distúrbios às atividades microbianas e vir a comprometer ambientes poluídos e a segunda foi a remoção destes metais por bioadsorção utilizando a biomassa na forma de “pellets”. Os testes de toxicidade foram feitos através de verificação do crescimento do fungo, em meio semi-sólido, na presença de diferentes concentrações dos metais. Os testes de adsorção foram feitos com os “pellets” da biomassa viva e morta. Foram avaliadas as características de superfície da biomassa através da determinação do ponto de carga zero, identificação dos sítios de adsorção da biomassa e análise de microscopia eletrônica de varredura. A capacidade de adsorção da biomassa foi determinada através de estudos cinéticos e de equilíbrio de adsorção. Os estudos de toxicidade indicaram que o fungo estudado foi mais resistente ao Zn(II) que ao Cr(VI), sendo completamente inibido em concentrações superiores a 500 mg Zn(II).L⁻¹ e 150 mg Cr(VI).L⁻¹. A concentração do ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial do fungo está na faixa de 100 a 150 mg.L⁻¹, para os dois íons metálicos. Na biomassa foi verificada a presença de grupos carboxílicos, hidroxil, aminos e fosfatos, indicando que esta pode ser usada para bioadsorção de metais. O fungo apresenta estrutura fibrosa, o que favorece a adsorção de metais. O processo de adsorção dos metais, tanto pela biomassa viva quanto pela biomassa morta, se ajustou aos modelos cinéticos pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem e o equilíbrio seguiu modelos de Langmuir e Freundlich para concentrações de adsorvato menores que 50mg.L⁻¹ e Freundlich para concentrações adsorvato superiores 50mg.L⁻¹. Isso sugere o processo de bioadsorção dos metais se dá por mecanismos físicos e químicos. Foram encontradas capacidades de sorção de 1,369 mg Zn(II).g⁻¹ e 1,174 mg Cr(VI).g⁻¹ para biomassa viva e de 3,833 mg Zn(II).g⁻¹ e 4,997 mg Cr(VI).g⁻¹ para biomassa morta. A biomassa morta apresentou maior capacidade de sorção tanto para Cr(VI) quanto para Zn(II). O fungo *Aspergillus niger* apresenta potencial para remoção de Zn(II) e Cr(VI).

Palavras chave: Fungos, metais tóxicos, bioadsorção, isotermas.

ABSTRACT

REMOVAL OF CHROMIUM AND ZINC BY *Aspergillus niger*

Microorganisms have been widely studied for the removal of various contaminants in wastewater, among them heavy metals. This study is the main approach of metal removal by filamentous fungus *Aspergillus niger* isolated from the effluent of a petrochemical industry. The research was divided into two parts, the first was to check the toxicity effect of Zn (II) and Cr (VI) by the fungus studied, since these pollutants can cause disturbances to microbial activity and eventually jeopardize the polluted environments and the second was the removal of these metals by biosorption using biomass in the form of pellets. The toxicity tests were done by testing the growth of the fungus, in semi-solid in the presence of different concentrations of metals. The adsorption tests were made with the pellets of live and dead biomass. The surface characteristics of biomass were evaluated by determining the point of zero charge, identification of sites of adsorption of biomass and analysis of scanning electron microscopy. To evaluate the adsorption capacity of biomass were performed kinetic studies and equilibrium adsorption. The toxicity studies indicated that the fungus has been studied more resistant to Zn (II) to Cr (VI), being completely inhibited at concentrations above 500 mg Zn (II).L⁻¹ and 150 mg Cr (VI).L⁻¹. The concentration of active ingredient capable of inhibiting 50% of mycelial growth is in the range and 100 to 150 mg.L⁻¹ for the two metal ions. Biomass was observed in the presence of carboxyl groups, hydroxyl, amino and phosphate, indicating that this can be used for biosorption of metals. The fungus has fibrous structure, which favors the adsorption of metals. The adsorption of metals to the living biomass as the dead biomass, fitted kinetic models of pseudo-first order and pseudo second order and the equilibrium followed the Langmuir and Freundlich models for adsorbate concentrations smaller than 50mg.L⁻¹ and the Freundlich model when adsorbate concentrations biggest than 50mg.L⁻¹. This suggests the process of biosorption of metals occurs by physical and chemical mechanisms. Sorption capacities were found to 1,396 mg Zn(II).g⁻¹ and 1,174 mg Cr(VI). g⁻¹ for living biomass and 3,833 mg Zn(II).g⁻¹ and 4,997 mg Cr(VI).g⁻¹ for dead biomass. The dead biomass showed higher sorption capacity for removal of Cr (VI) as Zn (II). The fungus *Aspergillus niger* has a potential to remove Zn (II) and Cr (VI).

Keywords: Fungi, toxic metals, biosorption, isotherms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Formas comuns de uma isoterma de adsorção (ALVES, 2007).....	12
Figura 2- “Pellets” formados após 72h sob agitação orbital a 120rpm, (A) visão da mesa agitadora e (B) “pellets”.....	41
Figura 3- Diagrama das etapas do estudo de adsorção Zn(II) e Cr(VI) na biomassa de <i>Aspergillus niger</i>	44
Figura 4- Controle do experimento: placas sem solução de metais, inoculadas com esporos de <i>Aspergillus niger</i> , após 24 h(4A) e após 144h (4B).....	51
Figura 5- Placas inoculadas com esporos de <i>Aspergillus niger</i> , contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg Zn(II).L ⁻¹ no meio de crescimento, após 24 horas de inoculação.	51
Figura 6- Placas inoculadas com esporos de <i>Aspergillus niger</i> , contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg Zn(II).L ⁻¹ , no meio de crescimento, após 144 horas de incubação.....	52
Figura 7- Placas contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg Cr(VI).L ⁻¹ , no meio de crescimento, após 24 horas de incubação.	53
Figura 8- Placas contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 Cr(VI)mg .L ⁻¹ , no meio de crescimento, após 144 horas de incubação.	53
Figura 9- Placas contendo concentrações de 0 (controle), 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 Zn(II) mg.L ⁻¹ após 144 horas de incubação.	57
Figura 10- Placas contendo concentrações de 0 (controle), 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 mg Cr(VI).L ⁻¹ após 144 horas de incubação.....	58
Figura 11- Morfologia da superfície dos ‘pellets’ por microscopia eletrônica de varredura em um aumento de 500 vezes a 20kV (A) e aumento de 2000 vezes a 20 kV(B).....	60
Figura 12- Espectro na região do infravermelho da biomassa do fungo <i>Aspergillus niger</i> em pastilha de KBr. 61	
Figura 13- Curvas experimentais para determinação do ponto de carga zero.	64
Figura 14- Efeito do pH na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, de <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , 24h, 28 ± 2°C e 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , 24h, 28 ± 2°C.....	65
Figura 15- Efeito da dosagem de biomassa na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , pH2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	68
Figura 16- Efeito da dosagem de biomassa na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , pH2,5, 24h, 28 ± 2°C.	69
Figura 17- Efeito do tempo de contato na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 100mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 80mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	70
Figura 18- Efeito do tempo de contato na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 20mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 10mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.	72

Figura 19- Modelo cinético de pseudo-primeira ordem para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do fungo <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 100mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 80mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	74
Figura 20- Modelo cinético de pseudo-primeira ordem para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta do fungo <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 20mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 10mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	74
Figura 21- Modelo cinético de pseudo-segunda ordem para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do fungo <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 100mg.L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 80mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	75
Figura 22- Modelo cinético de pseudo-segunda ordem para remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta do fungo <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 20mg. L ⁻¹ pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 10mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	75
Figura 23- Modelo cinético de difusão intrapartícula para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do fungo <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 100mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 80mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	76
Figura 24- Modelo cinético de difusão intrapartícula para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta do fungo <i>Aspergillus niger</i> . Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 20mg. L ⁻¹ pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L ⁻¹ , C _{biomassa} = 10mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	76
Figura 25- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Zn(II) pela biomassa viva do fungo <i>Aspergillus niger</i> .Condições: C _{biomassa} = 100mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C.....	80
Figura 26- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Zn(II) pela biomassa morta do fungo <i>Aspergillus niger</i> .Condições: C _{biomassa} = 20mg. L ⁻¹ , pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C.....	81
Figura 27- Isoterma de adsorção experimental para remoção deCr(VI) pela biomassa viva do fungo <i>Aspergillus niger</i> .Condições: C _{biomassa} = 80mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	81
Figura 28- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Cr(VI) pela biomassa morta do fungo <i>Aspergillus niger</i> .Condições: C _{biomassa} = 10mg. L ⁻¹ , pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.....	82
Figura 29- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Zn(II) pela biomassa viva de <i>Aspergillus niger</i> com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: C _{biomassa} =100mg.L ⁻¹ , pH=5,0 e 28°C.....	84
Figura 30- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Zn(II) pela biomassa morta de <i>Aspergillus niger</i> com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: C _{biomassa} =20mg.L ⁻¹ , pH=5 e 28°C.....	84
Figura 31- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Cr(VI) pela biomassa viva de <i>Aspergillus niger</i> com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: C _{biomassa} =80mg.L ⁻¹ , pH=2,5 e 28°C.....	85
Figura 32- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Cr(VI) pela biomassa morta de <i>Aspergillus niger</i> com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: C _{biomassa} =10mg.L ⁻¹ , pH=2,5 e 28°C.....	85
Figura 33- Fator de separação para a bioadsorção de Zn(II) pelas biomassas, viva e morta, de <i>Aspergillus niger</i>	89
Figura 34- Fator de separação para a bioadsorção de Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, de <i>Aspergillus niger</i>	89
Figura 35- Morfologia da superfície dos “pellets” antes da bioadsorção (A) e após bioadsorção com solução de 300 mg Zn(II).L ⁻¹ (B) por microscopia eletrônica de varredura em um aumento de 500 vezes a 20kV.....	90

Figura 36- Espectro na região do infravermelho da biomassa de <i>Aspergillus niger</i> em pastilha de KBr, antes (controle) e após a biossorção de Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassa, viva e morta.....	91
Figura 37- Percentual de remoção de Cr(VI).em função do tratamento da biomassa	117
Figura 38- Diagrama de especiação de Zn em solução aquosa (CARROTT et al., 1996)	119
Figura 39- Diagrama de especiação de Cr(VI em solução aquosa (Dionex, 1990).	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais diferenças entre adsorção física e adsorção química.....	11
Tabela 2. Valores de R_L para cada tipo de isoterma.....	14
Tabela 3. Microrganismos usados como bioissorvente de metais pesados e suas respectivas capacidades de adsorção.....	22
Tabela 4. Fungos de importância industrial e econômica, e compostos produzidos pelos mesmos.....	23
Tabela 5. Alguns metais usados em estudos de bioissorção com o <i>Aspergillus niger</i> como bioissorvente.....	29
Tabela 6. Composição química da solução de Vishniac.....	37
Tabela 7. Parâmetros experimentais empregados nos ensaios de verificação da influência do pH.....	46
Tabela 8. Parâmetros experimentais empregados nos ensaios de verificação da influência da concentração de bioissorvente na remoção de Zn(II) e Cr(VI).	47
Tabela 9. Parâmetros experimentais empregados nos ensaios cinéticos.....	48
Tabela 10. Parâmetros experimentais empregados na determinação das isotermas de adsorção.....	49
Tabela 11. Efeito da dosagem de metais na percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do <i>Aspergillus niger</i> em 144h de crescimento.....	55
Tabela 12. Crescimento médio do micélio de <i>Aspergillus niger</i> e taxa de crescimento em cm.h^{-1} , em concentrações de) a 500 mg.L^{-1} de Cr(VI) e Zn(II) em 144h de experimento.	56
Tabela 13. Tabela de atribuições de sítios de adsorção na região do infravermelho para a biomassa bruta do fungo <i>Aspergillus niger</i>	61
Tabela 14. Parâmetros cinéticos para adsorção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva e morta do fungo <i>Aspergillus niger</i>	79
Tabela 15. Parâmetros de Langmuir e Freundlich , e coeficiente de correlação (R^2) para a bioissorção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva e morta de <i>Aspergillus niger</i>	87
Tabela 16. Características da isoterma de Langmuir em função do valor deo fator de separação (R_L).	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

b	Constante de Langmuir ($L \cdot mg^{-1}$).
BET	Isoterma de Braunauer, Emmet e Teller .
C₀	Concentração inicial do adsorvato ($mg \cdot L^{-1}$).
C_e	Concentração final do adsorvato ou concentração no equilíbrio ($mg \cdot L^{-1}$).
V	Volume da batelada (L).
m	Massa do adsorvente (g).
Q	Quantidade adsorvida por massa de adsorvente ($mg \cdot g^{-1}$).
Q_m	Capacidade máxima de adsorção ($mg \cdot g^{-1}$).
Q_e	Quantidade de adsorvato retido no sólido no equilíbrio ($mg \cdot g^{-1}$).
Q_t	Quantidade de adsorvato retido no tempo t ($mg \cdot g^{-1}$).
R_L	Fator de separação.
$\frac{1}{n}$	Constante de Freundlich.
P	Constante de adsorção de Freundlich ($L \cdot mg^{-1}$).
K₁	Constante de velocidade de pseudo-primeira ordem.
K₂	Constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem ($g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$).
K_f	Constante de difusão intrapartícula ($g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1/2}$).
% PIC	Porcentagem de inibição do crescimento micelial.
CRTE	Crescimento radial do controle (cm).
CRT	Crescimento radial do tratamento (cm).
ED₅₀	Concentração de ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial do fungo.
E	Número de esporos contados por mL.
E_c	Número total de células.
FD	Fator de diluição.
A	Número de quadrantes contados.
EDX	Energia dispersiva de raio-X.
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.
KBR	Brometo de potássio
MEV	Microscopia eletrônica de varredura.

PCZ	Ponto de carga zero.
PAN	Poliacrilonitrila.
PVA	Polivinil.
QUAT 188	3-cloro-2-hidroxil- N,N,N-trimetil, 1-propanamina
SEMACE	Superintendência Estadual do Meio Ambiente.
WHO	Environmental Health Criteria.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. <i>Objetivo geral</i>	3
2.2. <i>Objetivos específicos</i>	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1. <i>Metais pesados</i>	4
3.1.1. Cromo	5
3.1.2. Zinco	6
3.2. <i>Legislação ambiental e qualidade das águas residuárias</i>	8
3.3. <i>Tratamentos convencionais empregados na remoção de metais</i>	8
3.4. <i>Adsorção</i>	10
3.4.1. <i>Isoterma de Langmuir</i>	13
3.4.2. <i>Isoterma de Freundlich</i>	15
3.5. <i>Cinética de adsorção</i>	16
3.5.1. <i>Modelo cinético de pseudo-primeira ordem</i>	18
3.5.2. <i>Modelo cinético de pseudo-segunda ordem</i>	19
3.5.3. <i>Modelo de difusão intrapartícula</i>	20
3.6. <i>Biossorção</i>	21
3.6.1. <i>Biossorventes</i>	21
3.6.2. Fungos	23
3.7. <i>Toxicidade</i>	26
3.8. <i>Remoção de metais em águas residuárias por espécies fúngicas</i>	27
3.8.1. <i>Remoção de metais por células mortas</i>	29
3.8.2. <i>Remoção de metal por células vivas</i>	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1. <i>Reagentes e soluções</i>	35
4.2. <i>Material adsorvente</i>	37
4.3. <i>Cultivo e produção da espécie fúngica</i>	37
4.3.1. <i>Preparo do meio de cultura</i>	37
4.3.2. <i>Preparo da suspensão de esporos</i>	38
4.3.3. <i>Contagem total de células</i>	38
4.4. <i>Testes de toxicidade em placa</i>	38
4.4.1. <i>Efeito da concentração de metais Cr(VI) e Zn(II) na esporulação de <i>Aspergillus niger</i> em placas</i>	39
4.4.2. <i>Efeito da toxicidade de metais Cr(VI) e Zn(II) no crescimento micelial de <i>Aspergillus niger</i></i>	39
4.5. <i>Obtenção da biomassa fúngica</i>	40
4.5.1. <i>Preparo do meio de crescimento</i>	40
4.5.2. <i>Preparo dos “pellets”</i>	41
4.5.3. <i>Preparo da biomassa viva</i>	41

4.5.4. Preparo da biomassa morta	42
4.5.4.1. Biomassa autoclavada e seca	42
4.6. Caracterização do bioissorvente	42
4.6.1. Caracterização morfológica da biomassa em forma de “pellets” por microscopia eletrônica de varredura.	42
4.6.2. Determinação dos sítios de adsorção na biomassa morta.....	43
4.6.3. Determinação do ponto de carga zero da biomassa morta.....	43
4.7. Ensaios de adsorção em batelada para remoção de Cr(VI) e Zn(II).....	44
4.7.1. Efeito da variação do pH.....	45
4.7.2. Efeito da concentração de bioissorvente	46
4.7.3. Cinética de adsorção	47
4.7.4. Isotermas de adsorção	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1. Contagem total de células na suspensão de esporos.....	50
5.2. Teste de toxicidade em placas.....	50
5.2.1. Efeito da concentração de Zn(II) na esporulação do fungo <i>Aspergillus niger</i> em placas	51
5.2.2. Efeito da concentração de Cr(VI) na esporulação do fungo <i>Aspergillus niger</i> em placas	53
5.2.3. Efeito da toxicidade de metais Zn(II) e Cr(VI) no crescimento micelial do fungo <i>Aspergillus niger</i>	54
5.3. Caracterização da biomassa	59
5.3.1. Caracterização morfológica da biomassa na forma de “pellets” por microscopia eletrônica de varredura.....	59
5.3.2. Determinação dos sítios de adsorção empregando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	60
5.3.3. Determinação do ponto de carga zero	63
5.4. Ensaios de adsorção em batelada para remoção de Cr (VI) e Zn(II)	64
5.4.1. Efeito da variação do pH	65
5.4.2. Efeito da dosagem do adsorvente	67
5.4.3. Cinética de adsorção.....	70
5.4.3.1. Efeito do tempo de contato	70
5.4.3.2. Aplicação dos modelos cinéticos	73
5.4.4. Isotermas de adsorção	80
5.5. Determinação das características morfológicas após bioissorção	90
5.5.1. Microscopia eletrônica de varredura	90
5.5.2. Determinação dos sítios de adsorção empregando espectroscopia no infravermelho, após bioissorção com solução de Zn(II) e Cr(VI).	91
6. CONCLUSÕES.....	93
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS POSTERIORES.....	95
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
9. APÊNDICE A – TRATAMENTO DA BIOMASSA PARA REMOÇÃO DE Cr(VI).....	115
9.1. Metodologia	115
9.1.1. Tratamento da biomassa por aquecimento em autoclave	115
9.1.2. Tratamento da bioamassa com NaOH.....	115
9.1.3. Tratamento da biomassa com reagente à base de 3-cloro-2-hidroxil-N,N,N- trimetil,1-propanamina (QUAT 188).....	115
9.2. Resultado.....	116

9.1.2. Pré-tratamento da biomassa morta para remoção de Cr(VI)	116
10. ANEXO A – DIAGRAMA DE ESPECIAÇÃO DE ZN EM ÁGUA.....	119
11. ANEXO B – DIAGRAMA DE ESPECIAÇÃO DE CR(VI) EM ÁGUA.....	120

1. INTRODUÇÃO

O interesse na recuperação e remoção de íons metálicos pesados presentes em águas residuárias é consequência do crescente conhecimento do efeito nocivo dos metais pesados ao ambiente, e a rápida industrialização é o principal responsável pela presença desses poluentes no ambiente. A remoção de metais de águas residuárias é usualmente realizada através de processos físico-químicos antes do despejo destes efluentes em corpos d'água naturais. Dentre os métodos físico-químicos usados para a remoção de metais pesados estão: precipitação, coagulação, processos de redução, troca iônica, processos de separação por membrana (ultrafiltração, eletrodialise e osmose reversa) e adsorção (DEAN; BOSQUI; LANOUILLE, 1972; GOYAL; JAIN; BANERJEE, 2003). A maioria destes processos apresenta vários fatores limitantes. Os tratamentos físico-químicos convencionais, como a precipitação e a coagulação, são menos eficientes e mais caros quando a concentração do metal está compreendida entre 1 e 100mg/L, além disso geram lodo, que é um novo resíduo a ser tratado (GOYAL; JAIN; BANERJEE, 2003; SOUSA, 2007).

O tratamento por processos de membrana é inviável, atualmente, para remoção de metais pesados pelos custos elevados, complexidade dos processos e baixa eficiência de remoção. Vários materiais de origem biológica estão sendo estudados como adsorventes de metais na tentativa de diminuir custos com métodos de remoção de metais e menor gasto de energia e menor efeito poluidor. São exemplos destes materiais bagaço de casca de coco, casca e palha de grãos (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995; REIS; OLIVEIRA; ROCHA, 2005), microrganismos, microalgas e materiais de plantas (PARK *et al.*, 2005).

Devido ao avanço da biotecnologia, muitos microrganismos estão sendo estudados para a bioadsorção e bioacumulação de diversos metais. O termo bioacumulação é usado quando organismos vivos estão envolvidos e o termo bioadsorção para organismos mortos (WASE; FORSTER, 1997). Por exemplo, *Aspergillus niger* (PRICE; CLASSEN; PAYNE, 2001) e *Saccharomyces cerevisiae* são usados para remoção de cádmio, cobre, chumbo, cromo, zinco, urânio, entre outros metais (NAKAJIMA; SAKAGUCHI, 1986; SUH; YUN; KIM, 1999). *Aureobasidium pullulans* também é bastante tolerante a metais, por isso está sendo estudado, principalmente para remoção de poluentes de solos (SMITH, 1977); biomassa algal, bactérias e leveduras têm sido usadas para remoção de Cádmio (VOLESKY; HOLAN, 1995; MATHEICKAL; YU; WOODBURN, 1998).

Vários estudos mostram o potencial de biomassa de microrganismos vivos e mortos e de plantas para adsorção de íons metálicos pesados em soluções (VOLESKY; HOLAN, 1995; BAILEY *et al.*, 1999). A biomassa de microrganismos mortos oferece vantagens em relação à biomassa viva, tais como, não há restrições quanto à toxicidade, não requer uso de nutrientes e é possível recuperar as espécies metálicas através de métodos de dessorção. Mas o uso da biomassa viva (SUH; YUN; KIM, 1999; PRICE; CLASSEN; PAYNE, 2001; DURSUN *et al.*, 2003; COGEEVARAM *et al.*, 2007) não deve ser descartado, tendo em vista, que a maioria dos sistemas de tratamento convencionais, usa microrganismos vivos para remoção de poluentes. Usando-se culturas vivas para remoção de metais evitam-se os processos produtivos de preparo da biomassa, como pulverização e secagem da mesma. Algumas limitações da biomassa viva como, sensibilidade ao pH, toxicidade a metais, podem ser minimizados via seleção de espécie (YUN-GUO *et al.*, 2006) e exploração das condições nutricionais (GADD *et al.*, 2001). Vários tipos de biomassas microbianas, semelhantes a algas, bactérias e fungos são conhecidos pela capacidade biossortiva (ZHOU; HUANG; LIN, 1998). Contudo, a biomassa fúngica oferece a vantagem de possuir parede celular com mais substâncias com propriedades ligantes para metais que outros microrganismos (YUN-GUO *et al.*, 2006).

A remoção biossortiva de íons metálicos de soluções aquosas depende, principalmente, do mecanismo químico que envolve as interações dos íons metálicos com a parede celular do adsorvente (FOUREST; ROUX, 1992); mas o mecanismo de ligação do íon metálico ao adsorvente ainda não foi totalmente elucidado.

No contexto, este trabalho pretende estudar o uso da biomassa do fungo *Aspergillus niger* para remoção e recuperação de Cr(VI) e Zn(II) de águas residuárias, tendo em vista que a biomassa de fungos comporta-se como adsorvente para metais já que a sua parede celular contém muitos grupos funcionais que atuam como sítios de ligação para metais e que estes métodos são menos poluentes, são menos dispendiosos e consomem menos energia que os métodos convencionais aplicados para os mesmos fins (GUPTA *et al.*, 2000; COULIBALY; GOURENE; AGATHOS, 2003; DAS, 2008; MUKHOPADHYAY, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

✓ “Avaliar a remoção de Cr(VI) e Zn(II) de águas residuárias, por adsorção em *Aspergillus niger*”

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Estudar a toxicidade de Zn(II) e Cr(VI) para o fungo *Aspergillus niger*;
- ✓ Caracterizar a morfologia da superfície do fungo quanto ao ponto de carga zero;
- ✓ Caracterizar a morfologia da superfície por microscopia de varredura eletrônica;
- ✓ Caracterizar a biomassa quanto à presença de grupos funcionais, aptos à biossorção de Zn(II) e Cr(VI);
- ✓ Comparar a capacidade de sorção de Cr(VI) e Zn(II) pelas biomassas, viva e morta;
- ✓ Determinar a cinética e o equilíbrio de adsorção, e caracterizar quanto ao modelo de adsorção que melhor descreve o processo.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Metais pesados

Os metais estão presentes no ambiente de forma natural através de rochas e sedimentos, embora as atividades antrópicas sejam as principais fontes de entrada destes poluentes no ambiente.

O termo "metal pesado" refere-se a qualquer elemento metálico que tem densidade acima de 5g.cm^{-3} e é tóxico ou venenoso mesmo em baixas concentrações (TOES *et al.*, 2004); ou ainda, metais pesados são elementos químicos que apresentam número atômico superior a 22. Entretanto, a definição mais difundida é a de que os metais tóxicos são aqueles que em pequenas concentrações apresentam efeitos adversos à saúde pública (PIVELI; KATO, 2005). Estes são constituintes naturais da crosta terrestre, mas também retornam ao ambiente através de rejeitos da atividade humana. Uma das principais fontes antropogênicas de poluição por metais pesados são as operações de mineração, de fundição (DURUIBE; OGWUEGBU; EGWURUGWU, 2007), galvanização de peças metálicas, eletrodeposição, curtimento de couro, fabricação de tintas (SELVI; PATTABHI; KARDIVELU, 2001), corantes, indústria petroquímica e manufatura de peças de automóveis (GOYAL; JAIN; BANERJEE, 2003).

Os metais tóxicos são conhecidos por exercerem efeitos nocivos a microrganismos através de suas fortes capacidades de formar compostos de coordenação com os componentes da parede celular de microrganismos, pois as células microbianas contêm muitos grupos funcionais que possibilitam ligações com metais. Os efeitos tóxicos dos metais, incluindo bloqueio de grupos funcionais biologicamente importantes e desnaturação de enzimas, podem ser inibidos pela complexação e precipitação extracelular (GADD, 1992; VALIX; LOON, 2003).

Metais tóxicos presentes em efluentes industriais reduzem a capacidade autodepurativa das águas devido à ação tóxica que exercem aos microrganismos já que os mesmos são responsáveis pela recuperação das águas através da decomposição de material orgânico e outros poluentes (AGUIAR; NOVAES; GUARINO, 2002). Sendo assim, é necessária a remoção dos mesmos de modo a garantir o equilíbrio da biota aquática e evitar que cheguem ao homem através da cadeia alimentar ou contado com solo, ar e água poluídos.

Evitar a poluição industrial é tecnicamente viável, mas nem sempre o é economicamente. As indústrias devem construir estações de tratamento de efluentes que reduzam os teores de contaminação aos níveis permitidos por lei, o que nem sempre é observado.

Os graves problemas ambientais gerados pelo aumento considerável dos descartes de efluentes industriais que contêm metais pesados, nos rios e mares, aliados às leis ambientais cada vez mais rigorosas, estimularam a realização de pesquisas nesta área levando à busca por métodos alternativos de baixo custo e considerável eficiência para tratamento de água e de efluentes (SENTHILKUMAAR *et al.*, 2000; GUPTA; ALI, 2004; CONAMA, 2005; SRIVASTAVA; AHMAD; THAKUR, 2007; PAGNANELLI *et al.*, 2009).

3.1.1. Cromo

Cromo é um metal cinza, com forma cristalina cúbica, sem odor e muito resistente à corrosão. É o sétimo metal mais abundante da Terra como um todo e não é encontrado na natureza na forma livre. Pode ser encontrado em vários estados de oxidação, sendo mais estável nos estados de oxidação de +3 e +6 (KHAMBHATY *et al.*, 2009), ou seja, trivalente e hexavalente, aparecendo na composição de óxidos, sulfatos, cromatos, e também como metal livre, na forma elementar, nos processos de recobrimento de superfícies (LEE, 1996). A ocorrência natural se dá, quase sempre no estado trivalente enquanto a presença de cromo hexavalente, em geral, é derivada da atividade humana.

Embora o cromo trivalente seja considerado como nutriente essencial para os seres humanos e seja menos tóxico que o hexavalente, uma exposição em longo prazo causa reações alérgicas na pele e câncer (WHO, 1998). “International Agency for Research on Câncer” (IARC, 1997) ressalta que o cromo hexavalente é carcinogênico a humanos e outros animais. A elevada toxicidade de Cr(VI) está relacionada com sua capacidade em atravessar a membrana celular e com sua força como agente oxidante (GIRARD; HUBERT, 1996; RAJI; ANIRUDHAN, 1998).

O Cr (VI) induz toxicidade crônica variada denominada de acordo com a doença causada: neurotoxicidade, dermatotoxicidade, genotoxicidade, carcinotoxicidade, imunotoxicidade (O’BRIEN; CERYAK; PATIERNO, 2003). Daí a importância em se remover este metal dos efluentes.

Este metal é muito empregado pelas indústrias, principalmente as de galvanoplastia, nas quais são realizados processos de cromatação de peça (BAYATI; SHARIAT; JANGHORBAN, 2005). Ele também pode ser introduzido no ambiente através do lançamento de efluentes de curtume; de processos de eletrodeposição, manufatura de tintas, fabricação de aço, escoamento superficial em lavouras, processamento e metais (SELVI; PATTABHI; KARDIVELU, 2001; PARK *et al.*, 2005; 2007) de águas de refrigeração de processos, que o empregam como agente inibidor de corrosão (PIVELI; KATO, 2005) e de processos petroquímicos (GOYAL; JAIN; BANERJEE, 2003; SOUSA, 2007). De acordo com a resolução 357/2005 do CONAMA a concentração máxima de cromo total permitida para lançamento de efluentes é $0,5\text{mg Cr.L}^{-1}$ (CONAMA, 2005). Já a portaria 518/04 do Ministério da Saúde enquadra esta substância no grupo de padrão de potabilidade de substância que apresentam riscos à saúde estabelecendo valor máximo permitido em água potável, de $0,05\text{ mg Cr.L}^{-1}$ (SAÚDE, 2010)

O cromo (VI) é hidrolisado extensivamente em água, resultando em espécies aniônicas ou neutras. As espécies ionizadas são os íon hidrogeno-cromato (HCrO_4^-), cromato (CrO_4^{2-}) e dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$). Alguns estudos evidenciam a formação de ácido crômico (H_2CrO_4) em concentrações muito ácidas, em pH menores que 1. O HCrO_4^{2-} , ocorre em pH entre 1 e 6; CrO_4^{2-} em pHs maiores que 6 e o $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ocorre quando a concentração de cromo excede 1g.L^{-1} (OLIVEIRA, 2008).

Os processos para remoção deste metal tóxico em águas residuárias, como resina de troca iônica, precipitação química, eletroflotação são bastante caros, fato esse, que despertou o interesse em técnicas de remoção menos dispendiosas, como os processos biológicos.

3.1.2. Zinco

O zinco é um metal de coloração branco-azulada, de número atômico 30, e o vigésimo quarto elemento mais abundante na crosta terrestre (AGRAWAL; SAHU; PANDEY, 2004). É um elemento essencial ao metabolismo dos seres vivos, porém em concentrações superiores a $5,0\text{mg Zn(II).L}^{-1}$ pode causar efeitos tóxicos em peixes e algas e no ser humano, como envenenamento cumulativo, câncer, danos no cérebro, irritação cutânea,

anemia, dor de estômago, entre outros (WHO, 2001; AGRAWAL; SAHU; PANDEY, 2004; SOUSA, 2007).

O zinco é liberado para o ambiente por fontes naturais e atividades industriais, como mineração e fundição, queima de petróleo, produção de armas (AGRAWAL; SAHU; PANDEY, 2004), fabricação de ligas metálicas e também pela indústria de galvanoplastia, na forma metálica e de sais de sulfetos, cloretos, cianetos, entre outros (TUNALI, 2006; DURUIBE; OGWUEGBU; EGWURUGWU, 2007). Ele é usado em ligas principalmente como protetor de corrosão para produtos de ferro e aço. Também é usado na produção de elementos galvânicos, chapas de impressão, como agente cáustico na estampa de têxteis e como agente de redução, na indústria metalúrgica, para a obtenção de prata e ouro. Alguns compostos orgânicos de zinco são aplicados como pesticidas. O zinco chega às águas de superfície e subterrâneas através dos efluentes da indústria de zinco; efluentes doméstico apresentam um teor médio de zinco de 0,1 a 1 mg Zn.L⁻¹ e nas águas subterrâneas o teor de zinco varia de 10 a 40 µg Zn.L⁻¹ (SANTOS; HORBE; SILVA, 2009). De acordo com a resolução 357/2005 do CONAMA a concentração máxima de zinco total permitida para lançamento de efluentes é 5mg Zn.L⁻¹ (CONAMA, 2005). Segundo o Ministério da Saúde o zinco não é considerado como substância perigosa à saúde humana na água e seu o padrão de aceitação em águas para o consumo humano é de 5mg Zn.L⁻¹ (SAÚDE, 2010)

Não se conhece toxicidade crônica por zinco, através da ingestão pela alimentação. A inalação de vapores de zinco, leva à febre de vapores metálicos (febre de fundição), que é caracterizada por náusea, tosse e depressão. Envenenamentos crônicos após inalação foram descritos em casos isolados (fibrose pulmonar). Doses altas de sais de zinco de 150 a 2000 mg. Zn.dia⁻¹, ingeridos oralmente, levam a perturbações do trato-intestinal, anemia, leucopenia (WHO, 2001).

Os processos de tratamento empregados para remoção de zinco de águas residuárias envolvem a precipitação química. A recuperação é efetuada pela troca iônica ou evaporação, que são processos que apresentam altos custos (AGUIAR; NOVAES; GUARINO, 2002).

3.2. Legislação ambiental e qualidade das águas residuárias

Geralmente o impacto ambiental provocado pelo descarte de águas é avaliado pela toxicidade dos constituintes e pela quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos presentes. Os contaminantes presentes nas águas residuárias podem causar efeitos diferentes sobre o meio ambiente. Após o descarte, alguns deles permanecem dissolvidos, ao passo que outros podem precipitar. Acredita-se que os efeitos mais nocivos ao meio ambiente são aqueles relacionados aos compostos que permanecem solúveis após o descarte do efluente líquido (COSTA *et al.*, 2003)

No Ceará, a Superintendência Estadual do Meio Ambiente- SEMACE dispõe sobre os padrões e condições de lançamento de efluentes líquidos, através da portaria 154 de 2002, a qual cita no artigo 1º que as indústrias instaladas em Distritos Industriais dotados de Sistema Público de Esgoto provido de Estação de Tratamento deverão, obrigatoriamente, utilizar-se do referido sistema (SEMACE, 2002). Desta forma, elas têm que se adequar aos níveis máximos de lançamento estabelecidos pelo órgão regulador e, em se tratando dos metais cromo e zinco, estes são os mesmos estabelecidos pelo CONAMA na Resolução nº 357 de 2005 (CONAMA, 2005).

3.3. Tratamentos convencionais empregados na remoção de metais

Atualmente o tratamento de efluentes é uma das preocupações das indústrias, principalmente daquelas que produzem grandes quantidades de efluentes poluídos com metais pesados, pois estes requerem técnicas específicas de tratamento, que na maioria das vezes apresentam custos bastante elevados para as mesmas.

O tratamento específico a ser escolhido ou a adaptação de um tratamento convencional já empregado vai depender da forma em que os metais encontram-se em solução. Existem diversos processos que podem ser empregados para remoção de metais em efluentes, dentre eles a precipitação, a troca iônica, os processos de separação por membrana, a adsorção em carvão ativado, a osmose reversa, os tratamentos eletroquímicos. Os processos de tratamento convencionais mais utilizados para remoção de metais são:

Precipitação: Baseia-se na precipitação de metais através da mudança de pH, pelo uso de um produto químico, como, alumina, cal, sais de ferro e polímeros orgânicos(AHALYA; RAMACHANDRA; KANAMADI, 2003), favorecendo a formação de

hidróxidos insolúveis, sais básicos e hidróxido de ferro. O processo visa agregar as partículas em um precipitado, para que as mesmas sedimentem e sejam removidas mecanicamente. Este é o processo mais utilizado para remoção de metais em efluentes.

Troca iônica: O processo de troca iônica baseia-se na troca de íons presentes em uma solução (contaminante) por íons presentes em uma resina sintética. Essas resinas seqüestram os íons presentes na solução por meio de uma reação química, acumulando-as. Sendo assim, é necessário regenerar a resina com ácido ou hidróxido de sódio removendo os íons incorporados e tornando possível a sua reutilização por várias vezes. Apesar do processo de troca iônica ser o mais eficiente na remoção de metais pesados, ele apresenta desvantagens como custos elevados com aquisição da resina (AHALYA; RAMACHANDRA; KANAMADI, 2003) e necessidade de reposição temporária devido a desgastes sofridos por substâncias agressivas presentes no efluente.

Osmose reversa: consiste em um processo de separação no qual força-se a passagem de uma solução através de uma membrana permeável ao solvente e impermeável ao soluto.

Um dos principais usos é a purificação de águas. Nesse processo empregam-se membranas sintéticas porosas com tamanho de poros tão pequenos que filtram os sais dissolvidos na água. Para que a água passe pelas membranas é necessário pressurizá-las a mais de 10 Kgf/cm² (AHALYA; RAMACHANDRA; KANAMADI, 2003).

Tratamento eletroquímico: Baseia-se na aplicação de um potencial capaz de oxidar ou reduzir o substrato de interesse, tais como íons metálicos, cianetos, compostos organoclorados e hidrocarbonetos. Neste processo o elétron é o principal reagente, evitando o uso de outros compostos químicos que sejam tóxicos (FREIRE *et al.*, 2000).

Adsorção em carvão ativado: O uso de carvão ativado como adsorvente é muito freqüente. Os carvões ativados são materiais carboníferos porosos que sofreram um processo de modificação para aumentar a porosidade interna (COONEY, 1999). A superfície do carvão ativado tem cargas negativas e cargas positivas para atrair íons livres em solução. A desvantagem do uso desta técnica consiste nos custos com o pré-tratamento que o carvão ativado deve receber para a adsorção de metais (MONSER; ADHOUM, 2002).

3.4. Adsorção

A adsorção é um dos métodos de remoção de poluentes de efluentes mais eficientes, especialmente se o adsorvente é barato e facilmente disponível. Embora o carvão ativado seja o adsorvente mais usado para o tratamento de águas e efluentes, entretanto, os custos de produção e recuperação bastante elevados (KHALED *et al.*, 2009), levaram à busca de materiais mais baratos, alguns considerados como resíduos de processos industriais e que se enquadrassem dentro dos perfis ecológicos evidenciados na atualidade, com os resíduos agroindustriais, microrganismo e algas (CHAALAL; ZEKRI; ISLAM, 2005; HO; OFOMAJA, 2006; VILAR; BOTELHO; BOAVENTURA, 2007).

De forma geral, a adsorção é o fenômeno de acumulação de uma substância em uma interface, mas em um conceito mais restrito, a adsorção é um processo de transferência de um ou mais constituintes (adsorvatos) de um fluido (líquido ou gasoso) para a superfície de uma fase sólida (adsorvente). No processo de adsorção as moléculas presentes na fase fluida são atraídas para a zona interfacial devido à existência de forças atrativas não compensadas na superfície do adsorvente que atraem as moléculas de um fluido em contato por um tempo finito, criando um campo elétrico de força no ambiente ao redor.

A adsorção pode acontecer de duas formas: adsorção física e adsorção química. Contudo, estas podem ocorrer simultaneamente, ou pode haver processos intermediários de adsorção (RUTHVEN, 1984).

A adsorção física ocorre quando as forças intermoleculares de atração na fase fluida e na superfície sólida são maiores que as forças atrativas intramoleculares, constituindo-se em uma interação fraca com a superfície, sendo reversível. As moléculas são atraídas para todos os pontos da superfície. Na adsorção física nenhuma ligação é quebrada ou feita, a natureza química do adsorvato permanece inalterada e o equilíbrio de adsorção é alcançado em menor tempo que na adsorção química (CIOLA, 1981).

A adsorção química ou quimissorção envolve a interação química entre o fluido adsorvido e o sólido adsorvente, conduzindo à formação de um composto químico de superfície ou complexo de adsorção, através do rearranjo de elétrons do fluido. É caracterizada por uma interação forte com a superfície, sendo difícil separar o adsorvente do adsorvato (RUTHVEN, 1984). As moléculas não são atraídas para todos os pontos da superfície e dirigem-se para os centros ativos. A Tabela 1 apresenta as principais diferenças entre adsorção física e química.

Tabela 1. Principais diferenças entre adsorção física e adsorção química.

Adsorção física	Adsorção química
Causada por forças de Van der Waals	Forças eletrostáticas e ligações covalentes
Não há transferência de elétrons	Há transferência de elétrons
Calor de adsorção de 2 a 6 Kcal/mol	Calor de adsorção de 10 a 200 kcal/mol
Fenômeno geral para qualquer espécie	Fenômeno específico e seletivo
Formação de multicamadas	Formação de monocamadas
Fácil dessorção	Difícil dessorção
Adsorvente quase não é afetado	Adsorvente altamente modificado na superfície

Fonte: (RUTHVEN, 1984; DABROWSKI, 2001; BAGGIO, 2007)

Segundo Veglio e Beolchini (1997), no caso de biossorção, o equilíbrio de adsorção é influenciado por condições operacionais:

- (1) A temperatura entre 20 e 35 °C não afeta a biossorção (COGEEVARAM *et al.*, 2007);
- (2) O pH é o fator mais importante nos processos biossortivos: afeta o estado de oxidação de íons metálicos em solução, a atividade de grupos funcionais da biomassa e a competição de íons metálicos;
- (3) A concentração de biomassa em solução influencia na capacidade biossortiva;
- (4) A biossorção em alguns casos é seletiva: a remoção de um metal pode ser influenciada pela presença de outros metais (WASE; FORSTER, 1997).

A adsorção pode ser avaliada por isotermas de adsorção que são obtidas a partir do contato da solução contendo o componente a ser adsorvido com diferentes massas do adsorvente à mesma temperatura até atingir o equilíbrio. Após filtração obtêm-se a concentração de equilíbrio em solução (mg.L^{-1}) e a quantidade de material adsorvido (mg.g^{-1}). As curvas, assim obtidas, são isotermas e podem apresentar-se de várias formas, fornecendo informações importantes sobre o mecanismo de adsorção (COONEY, 1999; FALONE; VIEIRA, 2004). Estas são equações matemáticas e descrevem a adsorção, sem fornecer informações sobre os mecanismos de reações envolvidos (SOUZA; CHAVES; FERNANDES, 2007).

As isotermas de adsorção podem apresentar diversas formas, como representado na Figura 1. Na isoterma linear a quantidade adsorvida é proporcional à concentração do

fluido. As isotermas convexas são favoráveis, pois grandes quantidades adsorvidas podem ser obtidas com baixas concentrações de soluto. Por outro lado, as isotermas côncavas não são favoráveis, pois pequena quantidade de adsorvato é retida, mesmo em altas concentrações de soluto.

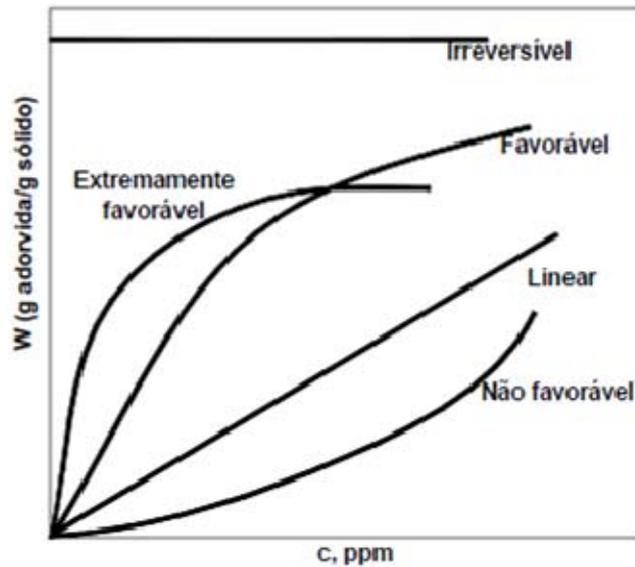


Figura 1- Formas comuns de uma isoterma de adsorção (ALVES, 2007).

A quantidade de material adsorvido por unidade de massa de material adsorvente (Q) em mg.g^{-1} obtida em reatores do tipo batelada é calculada pela equação 1:

$$Q = \frac{(C_0 - C_e)}{m} \times V \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

C_0 = Concentração inicial do adsorvato (mg.L^{-1})

C_e = Concentração final do adsorvato ou concentração no equilíbrio (mg.L^{-1})

V = volume da batelada (L)

m = massa do adsorvente (g)

Os modelos de isotermas de adsorção mais usados na modelagem da adsorção são os modelos de Langmuir, Freudlinch e Braunauer, Emmet e Teller (BET), os quais dependem das características do adsorvente, do adsorvato e das interações entre eles, podendo apresentar-se de formas diferentes (RUTHVEN, 1984).

3.4.1. Isoterma de Langmuir

Esse é o modelo mais usado de isotermas de adsorção. Neste modelo considera-se que as moléculas adsorvidas aderem à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, com adsorção em monocamada em superfície homogênea; que cada sítio pode acomodar somente uma única molécula adsorvida; a energia da molécula adsorvida é a mesma em todos os sítios da superfície e esta apresenta interação desprezível com as moléculas adsorvidas nos sítios vizinhos e com o meio (COONEY, 1999; MILHOME, 2006; SOUZA; CHAVES; FERNANDES, 2007). Além disso, a adsorção completa-se quando todos os sítios são ocupados, correspondendo à monocamada de adsorvato. Portanto, este modelo propõe um número limitado de sítios de adsorção no adsorvente e a adsorção aumenta linearmente com a concentração do soluto até atingir um valor constante.

A isoterma de Langmuir é representada pela equação 2, que consiste em um ajuste não linear:

$$Q = \frac{bQ_m C_e}{1 + bC_e} \quad (\text{Eq. 2})$$

Ou, por sua forma linearizada ($y = ax + b$), equação 3:

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_m} + \frac{1}{bQ_m C_e} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

Q é a quantidade adsorvida por massa de adsorvente (mg.g^{-1});

C_e é a concentração do adsorvato no equilíbrio (mg.L^{-1});

Q_m é a capacidade máxima de adsorção (mg.g^{-1});

b é a constante de Langmuir (L.mg^{-1}).

Os parâmetros Q_m e b são relacionados com a capacidade máxima de adsorção e com a energia de ligação da adsorção, respectivamente (ROZADA *et al.*, 2008) e são determinados experimentalmente através do coeficiente linear (a) e do coeficiente angular (b) da equação da reta resultante do gráfico de $\frac{1}{Q}$ versus $\frac{1}{C_e}$, respectivamente. Quando representada graficamente a isoterma de Langmuir é caracterizada por um platô que indica

adsorção em monocamada em sítios energeticamente idênticos. É um modelo para gás ideal, mas muito citado na literatura para representação da bioadsorção de metais em águas residuárias.

De acordo com Kadirvelu (2001); Babel e Kurniawan (2004), as características essenciais da isoterma de Langmuir podem ser explicadas em termos de uma constante adimensional que é o fator de separação (R_L) para prever a característica isoterma de Langmuir pode-se utilizar o fator adimensional de separação R_L , definido na equação 4:

$$R_L = \frac{1}{1 + bC_o} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde,

b é a constante de Langmuir ($L \cdot mg^{-1}$);

C_o é a concentração inicial de adsorvato ($mg \cdot L^{-1}$);

O valor de R_L indica se a isoterma de Langmuir é favorável, não favorável, irreversível ou linear, como mostrado na Tabela 2:

Tabela 2. Valores de R_L para cada tipo de isoterma.

Valor de R_L	Tipo de isoterma
$R_L > 1$	Não favorável
$R_L = 1$	Linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$= 0$	Irreversível

Este modelo é bastante teórico e falho em alguns aspectos, devido à heterogeneidade da maioria das superfícies adsorventes. Na adsorção química, por exemplo, tipos distintos de sítios ativos têm capacidades diferentes de adsorção para um determinado composto ou a adsorção pode ocorrer somente em sítios puramente específicos, sendo o restante do material diferente (RUTHVEN, 1984; BAGGIO, 2007). Apesar das limitações este modelo é bastante empregado para interpretar o comportamento da adsorção no equilíbrio, de vários sistemas, como por exemplo, para representação gráfica da remoção de metais em águas residuárias (SHENG *et al.*, 2004; DURSUN, 2006). Entretanto, se o

equilíbrio de adsorção não seguir o modelo de Langmuir, ou seja, a adsorção não ocorrer em monocamadas, pode ser aplicado o modelo de Freundlich.

3.4.2. Isoterma de Freundlich

A isoterma de Freundlich, proposta em 1907(FREUNDLICH, 1907), representa uma relação quantitativa, na qual adsorção do soluto aumenta indefinidamente com o aumento da concentração. É freqüentemente utilizada para descrever o equilíbrio de adsorção em sistema com superfície heterogênea assumindo que a energia de distribuição para os sítios de adsorção é essencialmente exponencial. Assim, alguns sítios são altamente energéticos, ligando fortemente o soluto adsorvido, enquanto outros são pouco energéticos, ligando fracamente o soluto adsorvido. Este modelo pode ser aplicado a sistemas não ideais, em superfícies heterogêneas e sorção em multicamadas (COONEY, 1999). A isoterma de Freundlich é representada pela equação 5:

$$Q = PC_e^{1/n} \quad (\text{Eq. 5})$$

Ou pela sua forma linear ($y = ax + b$) e aplicação de logaritmo em ambos os lados da equação, equação 6:

$$\log Q = \log P + \left(\frac{1}{n}\right) \log C_e \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde:

Q é a quantidade adsorvida por massa de adsorvente (mg.g^{-1});

$\frac{1}{n}$ é a constante de Freundlich relacionada a intensidade de adsorção;

P é constante de adsorção de Freundlich (L.mg^{-1}), relacionada à capacidade de adsorção;

C_e é concentração de adsorvato no equilíbrio (mg.L^{-1}).

O parâmetro n é geralmente superior a um. Quanto maior o valor de n significa que o sistema é mais heterogêneo, resultando em uma não linearidade da isoterma de adsorção

(LESMANA *et al.*, 2009). O valor de n indica adsorção favorável quando $1 < n < 10$ (BRANDÃO, 2006).

A representação gráfica de $\log Q$ versus $\log C_e$ é uma função linear, cuja inclinação é igual a $1/n$ e na interseção com o eixo $\log Q$ é igual ao $\log P$. Portanto, através dos coeficientes angular e linear da reta, pode-se calcular n e P , respectivamente (SOUSA, 2007).

Na literatura são citados alguns trabalhos sobre biossorção de metais (AGRAWAL; SAHU; PANDEY, 2004; KARGI; CIKLA, 2006), os quais descrevem que o equilíbrio de adsorção, para biossorção de metais, pode seguir o comportamento das isotermas de Langmuir ou de Freundlich, dependendo das características da biomassa, dos metais e das condições operacionais. Yin *et al.* (1998) observaram que o fenômeno de biossorção de Cd(II) em batelada pelos fungos *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus arrhizus* e *Aspergillus oryzae* foi melhor descrito pelo modelo de Langmuir, evidenciando que a superfície de adsorção destes fungos é homogênea e a adsorção ocorre em monocamada.

YUN-GUO *et al.* (2006) em estudos de biossorção avaliaram a habilidade do fungo *Aspergillus niger* em remover Cd(II) e Zn(II) em solução aquosa, em reatores em batelada estudando equilíbrio de adsorção e cinética. Os autores obtiveram valores das constantes de adsorção (Q_{\max} para Langmuir e K_f para Freundlich, as quais indicam a capacidade de adsorção) e coeficientes de correlação (R^2) para os modelos de Langmuir e Freundlich. Através da comparação dos valores de R^2 observaram que a biossorção de Cd(II) e Zn(II) pela biomassa viva de *Aspergillus niger* segue o modelo de Langmuir, pois este modelo de isoterma mostrou valores de R^2 de 0,997 para Cd(II) e 0,998 para Zn(II) enquanto que o modelo de Freundlich mostrou valores 0,671 para Cd(II) e 0,770 para Zn(II).

3.5. Cinética de adsorção

A descrição da cinética de adsorção é um problema muito mais complexo que a descrição teórica das isotermas de adsorção, pois as expressões que descrevem quantidades no equilíbrio termodinâmico são também formas limitantes da expressão que descreve a variação com o tempo dessas quantidades sob condições de não-equilíbrio (RUTHVEN, 1984; RUDZINSKI; PLANZINSKI, 2006).

O conhecimento da velocidade das reações é essencial para a aplicação de processos de adsorção de um sistema sólido-líquido. A cinética de adsorção depende das interações entre o adsorvente e o adsorvato e das condições do sistema sendo considerado um parâmetro importante a ser estudado no controle ambiental de meios aquosos (RUDZINSKI; PLANZINSKI, 2006). Cada combinação adsorvente e adsorvato têm uma única interação adsorvente-íon metálico (SHEK *et al.*, 2009).

O mecanismo de adsorção de metais em sólidos porosos pode envolver as seguintes etapas:

- 1 – Difusão dos íons da fase líquida para a superfície externa do adsorvente.
- 2 – Adsorção dos íons metálicos na superfície externa.
- 3 – Migração dos íons no poro.
- 4 – Interação das moléculas do fluido com os sítios disponíveis.

A velocidade de adsorção pode ser controlada por uma ou mais das etapas: (1) difusão rápida que ocorre na camada limite, a qual é de grande importância na adsorção de gases e vapores sobre os sólidos; (2) difusão dos solutos dentro dos poros e capilares da estrutura dos adsorventes, que ocorre em velocidade menor que a primeira devido à resistência interna à difusão. Em soluções aquosas esta etapa geralmente domina o processo de transferência de massa. Em geral, a cinética de adsorção é inicialmente rápida, em virtude de a adsorção ocorrer, principalmente na superfície externa, seguida por uma etapa lenta, de adsorção, na superfície interna do adsorvente (CIOLA, 1981).

Vários modelos cinéticos têm sido sugeridos para descrever a ordem de reação de sistemas de adsorção baseados na concentração de soluções, dentre eles, modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula. Os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem são baseados na capacidade de sorção da fase sólida (adsorvente) e têm sido usados para descrever processos de biossorção. Entretanto, os parâmetros cinéticos são necessários para predizer a razão de adsorção e fornecem informações importantes sobre a forma e a modelagem de processos de adsorção, além de predizerem o tempo de equilíbrio (TAN; AHAMAD; HAMEED, 2009; WANG; CHEN, 2009). Uma boa correlação dos dados cinéticos revela o mecanismo de adsorção. Assim, o coeficiente angular de cada equação cinética é adotado para interpretar o mecanismo de adsorção de metal na fase sólida (LIU; LIU, 2008).

3.5.1. Modelo cinético de pseudo-primeira ordem

Numerosas tentativas foram feitas para se formular uma expressão geral que descrevesse o processo cinético de um sistema de adsorção sólido-líquido. Em 1898, Lagergren apresentou a primeira equação de primeira ordem usada para descrever a cinética em sistemas sólido-líquido, que ainda hoje é, a mais utilizada para avaliar estes tipos processos adsorptivos (HO, 2004; RUDZINSKI; PLANZINSKI, 2006; KAVITHA; NAMASIVAYAM, 2007). A equação cinética de Lagergren é baseada na capacidade de adsorção do sólido.

A taxa constante de adsorção é determinada pela reação empírica de pseudo-primeira ordem apresentado pela equação 7.

$$\frac{dQ_t}{dt} = k_1(Q_e - Q_t) \quad (\text{Eq. 7})$$

Depois da integração da equação 7, e aplicando as condições que $Q_t = 0$ para $t = 0$ para $Q_t = Q_t$ a $t = t$, a equação 7 transforma-se na equação 8:

$$\log(Q_e - Q_t) = \log Q_e - \left(\frac{K_1}{2,303} \right) t \quad (\text{Eq. 8})$$

Sendo:

Q_e é a quantidade de adsorvato retido no sólido no equilíbrio (mg.g^{-1});

Q_t é a quantidade de adsorvato retido no tempo t (mg.g^{-1});

K_1 é a constante de velocidade da reação de pseudo-primeira ordem (L.min^{-1});

t é o tempo (min).

Assim, construindo-se o gráfico de $\text{Log}(Q_e - Q_t)$ em função do tempo (t), pode-se obter pela inclinação da reta gerada, a constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem para o sistema estudado (HO; MCKAY, 1998). A formação de uma linha reta no gráfico de $\text{Log}(Q_e - Q_t)$ em função do tempo (t), sugere possível aplicação deste modelo.

O modelo de pseudo-primeira ordem é, geralmente, mais adequado para o estágio inicial do processo de adsorção, normalmente até 20% do processo. Após este estágio a

superfície fica altamente carregada, há mudança na concentração dos íons em solução e redução nos sítios disponíveis para adsorção, tendendo a tornar o modelo menos aplicável (SHEK *et al.*, 2009) e fazendo com que o processo de adsorção ocorra mais lentamente e siga outros modelos.

3.5.2. Modelo cinético de pseudo-segunda ordem

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem também se baseia na capacidade de sorção do adsorvente (RUDZINSKI; PLANZINSKI, 2006). Ao contrário do modelo de Lagergren, esse modelo prediz o comportamento cinético sobre toda a faixa de tempo de adsorção e tem sido empregado para descrever muitos processos de sorção que envolve um mecanismo químico, denominado de quimissorção (WASE; FORSTER, 1997). Então, pelo modelo de segunda ordem a equação cinética poderia ser descrita pela equação 9:

$$\frac{dQ_t}{dt} = K_2(Q_e - Q_t)^2 \quad (\text{Eq. 9})$$

Integrando e aplicando as condições: $Q_t=0$ para $t=0$ e $Q_t = Q_t$ para $t = t$, obtêm-se a equação 10.

$$\frac{1}{(Q_e - Q_t)} = \frac{1}{Q_e} + K_2 t \quad (\text{Eq. 10})$$

Linearizando-se a equação 10 obtêm-se a equação 11:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \left(\frac{1}{Q_e} \right) t \quad (\text{Eq. 11})$$

Sendo que:

Q_e é a quantidade de adsorvato retido no sólido no equilíbrio (mg.g^{-1});

Q_t é a de adsorvato retido no tempo t (mg.g^{-1});

K_2 é a constante de velocidade da reação de pseudo-segunda ordem ($\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$);

t é o tempo (min).

Construindo-se o gráfico de t/Q_t versus t , pode-se calcular a constante de velocidade (K_2) e a capacidade de sorção no equilíbrio (Q_e), através dos coeficientes, linear e angular da reta, respectivamente. Se o modelo de pseudo-segunda ordem é aplicável, o gráfico de t/Q_t em função de t , da equação 10, deve fornecer uma relação linear (YALÇIN *et al.*, 2004), na qual Q_e e K_2 , podem ser determinados através do coeficiente angular e do coeficiente linear, respectivamente, não sendo preciso saber nenhum outro parâmetro.

3.5.3. Modelo de difusão intrapartícula

Caso os modelos acima não forneçam um mecanismo definitivo, o modelo de difusão intrapartícula proposto por Weber e Morris (1963) pode ser testado. Este modelo pode ser representado pela equação 12:

$$Q_t = K_f \times t^{1/2} \quad (\text{Eq. 12})$$

Q_t é a de adsorvato retido no tempo t ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$);

K_f é a constante de difusão intrapartícula ($\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1/2}$);

t é o tempo (min).

O modelo difusional é muito importante, especialmente em processos nos quais a troca iônica e a ligação iônica não são tão predominantes quanto na quimissorção (HO; MCKAY, 1998).

A difusão intrapartícula pode ser descrita em três etapas:

(1) Transporte do adsorvato da solução para a superfície exterior do adsorvente por difusão molecular, conhecida como difusão externa ou no filme;

(2) Difusão interna, que é o transporte do adsorvato da superfície das partículas no interior do sítio;

(3) Sorção das partículas de soluto do sítio ativo dentro da superfície interna dos poros.

A difusão intrapartícula ocorre quando o gráfico de Q_t versus $t^{1/2}$ é linear e passa pela origem.

3.6. Biossorção

3.6.1. Biossorventes

Enquanto a remoção de metais tóxicos de águas residuárias industriais tem sido praticada por várias décadas empregando-se processos físico-químicos, os materiais biológicos têm se mostrado potencialmente adequados para essa remoção. Somente materiais com baixos custos, alta capacidade de ligação com metais e seletividade são adequados para o uso em processos de biossorção em larga escala (VOLESKY; HOLAN, 1995).

Vários biomateriais estão sendo estudados quanto à capacidade de biossorção de metais, mostrando capacidades elevadas de remoção destes poluentes. Entre eles tem-se, algas, bactérias, fungos, plantas e produtos agroindústrias (GADD; WHITE, 1995; KAO; HUANG; CHANG, 2008).

Muitos microrganismos, incluindo bactérias, algas e fungos, possuem a capacidade de remover metais pesados do meio ambiente (WHITE; SAYER; GADD, 1997; VILAR; BOTELHO; BOAVENTURA, 2007). A capacidade de remoção, assim como os mecanismos de acumulação, pode variar amplamente, de acordo com a espécie microbiana, ou até mesmo com a linhagem. Por outro lado, células, produtos excretados, parede celular e polissacarídeos têm potencial para remover metais de soluções aquosas. Fatores externos como pH, temperatura, presença de nutrientes e outros metais influenciam no mecanismo de remoção.

Nas últimas décadas o uso de biossorventes tem sido uma excelente alternativa ou uma tecnologia adicional para remoção e recuperação de metais provenientes de efluentes industriais e laboratoriais, representando um método econômico e eficiente. Sendo assim, a adoção de técnicas eficazes e de baixo custo para remoção de metais em resíduos industriais é considerada como uma importante tarefa para o desenvolvimento econômico e proteção

ambiental, ou seja, o uso de tecnologias ecologicamente corretas vem sendo um diferencial a ser atingido pelas indústrias.

Vários microrganismos têm sido usados em pesquisas como bioissorvente para metais pesados, na Tabela 3 estão listados alguns.

Tabela 3. Microrganismos usados como bioissorvente de metais pesados e suas respectivas capacidades de adsorção.

Espécie	Íons metálicos	pH	Capacidade de Adsorção (mg.g⁻¹)	Referências
<i>Aspergillus niger</i>	Cr (VI)	2	2,66	Kumar <i>et al.</i> (2008)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Cr(VI)	2	8,43	Sag e Kutsal (1998)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Ni(II)	5	10,72	Sag, Yalcuk e Kutsal (2000)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fe(III)	2	3,90	Sag e Kutsal (1998)
<i>Aspergillus niger</i>	Pb(II)	5	2,25	Kapoor, Viraraghavan, Cullimore (1999)
<i>Aspergillus niger</i>	Cd(II)	6	1,31	Kapoor, Viraraghavan, Cullimore (1999)
<i>Aspergillus niger</i>	Cu(II)	5	0,75	Kapoor, Viraraghavan, Cullimore (1999)
<i>Aspergillus niger</i>	Ni(II)	7	1,75	Kapoor, Viraraghavan, Cullimore (1999)

3.6.2. Fungos

3.6.2.1. Características gerais dos fungos

Os fungos são conhecidos pela aptidão para produzir grande variedade de proteínas heterólogas, ácidos orgânicos (GREWAL; KALRA, 1995) e outros metabólitos e pela capacidade de se adaptar a ambientes extremos, além do potencial em degradar e remover compostos orgânicos e inorgânicos. São extremamente resistentes a variações de pH, oxigênio e temperatura, e sobrevivem em condições diversas (COULIBALY; GOURENE; AGATHOS, 2003). São também os principais decompositores de materiais celulósicos (ESPÓSITO; AZEVEDO, 2004). Na Tabela 4 são mostrados alguns fungos de importância industrial e econômica; e compostos produzidos pelos mesmos.

Tabela 4. Fungos de importância industrial e econômica, e compostos produzidos pelos mesmos.

Fungos	Produtos secretados
<i>Aspergillus niger</i>	Ácido cítrico, proteínas heterólogas
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Peroxidases
<i>Trametes vesicolor</i>	Lacases
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Penicilina
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Etanol

Fonte: (ESPÓSITO; AZEVEDO, 2004)

Os fungos são de grande importância nas fermentações industriais, tais como fabricação de cerveja, de vinhos, de antibióticos, de vitaminas, de polissacarídeos, de pigmentos, de lipídeos, glicolipídeos e de ácidos orgânicos, principalmente na produção de ácido cítrico, e também na fabricação de pães e de alguns tipos de queijo (PELCZAR; REID; CHAN, 1980; ADRIO; DEMAIN, 2003). São importantes para a indústria química fina na produção de isômeros intermediários, no desenvolvimento de pesquisas para descoberta de novos medicamentos (ADRIO; DEMAIN, 2003).

Os fungos são organismos quimiorganotróficos, alimentando-se de matéria orgânica inanimada ou de parasitas de hospedeiros vivos. Não têm clorofila, em sua

maioria, filamentosos e comumente ramificados (PELCZAR; REID; CHAN, 1980). São decompositores primários importantes para os ciclos de carbono, nitrogênio e outros nutrientes da biosfera e para a deterioração de materiais diversos (GRIFFIN, 1994). Como se nutrem por absorção são capazes de produzir enzimas extracelulares, o que os torna aptos a utilizar vários substratos como fonte de carbono, daí o interesse de seu uso em processos de biorremediação e remoção de poluentes. Considerando a grande diversidade de fungos no mundo e levando-se em conta que a maioria deles se encontra em países tropicais, dos quais, o Brasil é um dos maiores reservatórios, estes microrganismos são considerados como promissores aliados para remoção e degradação de poluentes como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, dioxinas, pesticidas, metais pesados, explosivos, plásticos, entre outros (ESPÓSITO; AZEVEDO, 2004).

Os fungos filamentosos têm vantagem sobre as leveduras e bactérias na recuperação de sistemas aquosos. Esta se torna mais fácil devido à natureza desses fungos para crescer como tapete micelial. A capacidade dos fungos em seqüestrar metais tóxicos de soluções aquosas vem sendo estudada por diversos autores (BAIK *et al.*, 2002; DURSUN *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2005; ZAFAR; AQIL; AHAMAD, 2007; FAN *et al.*, 2008).

Pesquisadores da Universidade de Dublin estudaram a adsorção de Sr(II), Cd(II) e Cu(II) em solução aquosa pela biomassa seca do fungo filamentoso *Rhizopus arrhizus*. Experimentos em batelada foram desenvolvidos utilizando concentrações iniciais de solução de metais variando de 3 a 12mg, pH 4 e concentração de adsorvente de 1g.L⁻¹. Os pesquisadores observaram que a adsorção se processa rapidamente para todos os metais. Com tempo de contato de 5 minutos entre biomassa-metal, obtiveram um índice de saturação de 95 % da biomassa. O tempo de equilíbrio foi atingido após 3 horas de contato biomassa-metal e as capacidades máximas de adsorção pra Sr(II), Cd(II) e Cu(II) foram de 3,04; 8,64; 6,09 mg.g⁻¹, respectivamente (BRADY; TOBIN, 1995).

O micélio dos fungos que crescem em meio agar geralmente é circular e o dos fungos que crescem submersos em meio líquido, e sob agitação, é enovelado e conhecido como “pellets”. Zindarsic, Komel e Pavko (1998), estudaram o fungo *Rhizopus nigricans* na forma de “pellets” como biocatalizador para hidroxilação de progesterona e constataram que a formação dos “pellets” é influenciada pelas condições, composição, velocidade de agitação do meio de cultura, e tamanho do inóculo. Alterações destes fatores influenciaram a bioconversão de progesterona.

3.6.2.2. *Aspergillus niger*

O *Aspergillus niger* é um fungo filamentososo, do grupo ascomiceto (LESMANA *et al.*, 2009), onipresente no ambiente, de cultivo fácil, e amplamente usado na biotecnologia para produção de ingredientes alimentares, farmacêuticos e enzimas (BAKER, 2006), sendo assim, é um fungo de grande importância econômica. Ele é um membro comum das comunidades microbianas encontradas no solo.

O *Aspergillus niger* é microrganismo complexo, mesofílico (cresce temperatura de 30° C) (MAHESHWARI; BHARADWAJ; BHAT, 2000), e que apresenta diferentes formas ao longo do seu ciclo de vida. Na fase vegetativa, ele apresenta-se na forma de filamentos tubulares, as hifas, que se originam na germinação de um único esporo vegetativo (PAPAGIANNI, 2004). Dependendo da forma de cultivo a que os fungos são submetidos, estes podem crescer em forma de micélio, quando o meio de crescimento é semi-sólido, ou em forma de “pellets”, quando o meio de crescimento é líquido sob agitação orbital. Este fungo exibe notável capacidade metabólica e permitindo o crescimento em grande variedade de substratos sob diferentes condições ambientais, além de apresentar capacidade de adaptação e resistência a compostos tóxicos. Ele também é usado para biotransformação de ácido ferrúlico, progesterona, diperpenóide, isosteviol, terpeno, linalool, geraniol, linol e citral (WANG; CHEN, 2009).

Sua capacidade de degradar poluentes através de vários processos oxidativos, reações de desmetilação e hidroxilação faz dele um microrganismo potencial para bioremediação (PEL, 2007). Os resíduos da biomassa deste fungo, gerados em indústrias fermentativas (WANG; CHEN, 2009) pode ser usado em experimentos de remoção de metais pesados (utilizando biomassa viva ou morta) (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995; PRICE; CLASSEN; PAYNE, 2001; YUN-GUO *et al.*, 2006; MUNGASAVALLI; VIRARAGHAVAN; JIN, 2007) e outros poluentes, como compostos recalcitrantes (RODRIGUES *et al.*, 2007), corantes (FU; VIRARAGHAVAN, 2002). O *Aspergillus niger* é também biologicamente importante na biodegradação de compostos químicos tóxicos como hexadecano, no tratamento de resíduos de melaço de beterraba, de processamento de óleo de oliva, na bioconversão de lodo de efluentes (WANG; CHEN, 2009).

Notoriamente, o *Aspergillus niger* é um dos mais importantes microrganismos usados em biotecnologia. Segundo Semova *et al.* (2006), este fungo, tem mais 376 genes de seqüenciados disponíveis em bancos de dados.

3.7. Toxicidade

Poluentes antropogênicos liberados em efluentes industriais e domésticos são prejudiciais ao meio ambiente, aos microrganismos e aos humanos. A concentração de metais pesados liberados para o ambiente tem aumentado continuamente como resultado de atividades industriais e desenvolvimento tecnológico. Fato que é preocupante, tendo em vista que a maioria dos metais, mesmo em baixas concentrações, são considerados tóxicos ou venenosos (DURUIBE; OGWUEGBU; EGWURUGWU, 2007) para os organismos de uma maneira geral. Mesmo os metais que são considerados como essenciais quando estão presentes no ambientes, em concentrações elevadas, podem ser tóxicos.

Para se defender do efeito nocivo dos poluentes, os microrganismos desenvolveram diversos mecanismos de resistência. A resistência de microrganismos aos metais é definida como a sua capacidade para sobreviver à toxicidade de metais através de um mecanismo produzido em resposta direta ao contato com os metais. Mecanismos biológicos envolvidos na sobrevivência fúngica incluem precipitação extracelular, complexação e cristalização, transformação de metais, bioadsorção na parede celular, diminuição do transporte, compartimentação intracelular, impermeabilidade, sistema de extrusão de substâncias tóxicas imobilização (BRUINS; KAPIL; OEHME, 1999; ZAFAR; AQIL; AHAMAD, 2007).

Os metais tóxicos podem inibir o crescimento, causar mudanças morfológicas e fisiológicas e afetar a reprodução de fungos. Quando em contato com os microrganismos, os metais tóxicos reduzem o número, a diversidade e selecionam populações microbianas resistentes ou tolerantes (EZZOUHRI *et al.*, 2009).

Algumas espécies de fungos possuem capacidade de remover poluentes, como matéria orgânica, fenóis (FOUNTOULAKIS *et al.*, 2002), metais (YUN-GUO *et al.*, 2006), através atividades metabólicas e propriedades de adsorção. Fungos filamentosos, como *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma atroviride*, têm sido usados para remoção de metais em despejos industriais (YIN *et al.*, 1998; ERRASQUÍN; VÁZQUEZ, 2003; PORCEL *et al.*, 2005).

Os fungos possuem muitas propriedades que influenciam na diminuição da toxicidade de metais, incluindo a formação da ligação metal-proteína, precipitação orgânica e inorgânica, transporte ativo, compartimentação intracelular, enquanto os constituintes da

parede celular do fungo como a quitina, possuem capacidades de adsorver metais (GADD *et al.*, 2001).

A presença de metais pesados na água residuária pode reduzir intensamente a atividade microbiana no tratamento biológico, tendo em vista que pode causar efeitos deletérios à biota do tratamento (CHIPASA, 2003). Devido à crescente utilização do tratamento biológico de águas residuárias (CHAALAL; ZEKRI; ISLAM, 2005) torna-se notória a necessidade do estudo da toxicidade de metais sobre a diversidade microbiana do sistema de tratamento.

O impacto dos metais no ambiente e a sua capacidade de biomagnificação através das cadeias tróficas têm despertado o interesse de pesquisas que buscam sistemas alternativos, eficientes e de baixo custo para tratamento de águas residuárias.

3.8. Remoção de metais em águas residuárias por espécies fúngicas

A partir da década de 70, a remoção microbiana de metais pesados conhecida como bioissorção ou bioacumulação, tem ganhado bastante atenção no que diz respeito ao tratamento de águas residuárias e efluentes de indústrias, tendo em vista, a capacidade de adsorção das biomassas microbianas e de materiais originários de plantas e as vantagens econômicas causadas pelo uso de resíduos produzidos pelas indústrias de fermentação e materiais naturais facilmente encontrados (VOLESKY, 1990; SAG; KAYA; KUTSAL, 1998; NAGDA; GHOLE; DIWAN, 2006).

A bioissorção é um processo independente do metabolismo celular e se dá por interações físico-químicas entre o metal e os constituintes da parede celular do microrganismo (DURSUN *et al.*, 2003). A independência do metabolismo se dá pelo fato de não haver gasto energético para que ocorram essas interações. Esse fenômeno é observado tanto para células vivas quanto mortas e é considerado um recurso potencial para remoção e recuperação de metais presentes em soluções, tanto metais tóxicos, quanto metais preciosos (VEGLIO; BEOLCHINI, 1997). A bioissorção envolve principalmente, complexação na superfície da célula, troca iônica, adsorção física e microprecipitação (VEGLIO; BEOLCHINI, 1997; GUPTA *et al.*, 2000).

A bioacumulação é um método de remoção e recuperação baseado nas propriedades seqüestrantes de metais por parte de certos materiais de origem biológica ou

natural, isto é, das interações dos íons metálicos com grupos específicos pertencentes às paredes celulares dos materiais biossorbentes, transformação química dos metais, como formação de quelóides e transporte intracelular (VEGLIO; BEOLCHINI, 1997; KAPOOR; VIRARAGHAVAN; CULLIMORE, 1999). Este processo depende da capacidade metabólica das células (FOUREST; ROUX, 1992), sendo observado somente para células vivas (GUPTA *et al.*, 2000).

A contribuição de vários grupos funcionais ou sítios de adsorção, como grupos carboxil, amino, fosfato e sulfonatos, presentes na parede celular de fungos, em geral, têm sido examinados em vários estudos de biossorção de metais (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1997; FU; VIRARAGHAVAN, 2002; MUNGASAVALLI; VIRARAGHAVAN; JIN, 2007; ARUNAKUMARA; XUECHENG, 2008).

O papel dos grupos funcionais presentes na biomassa de *Aspergillus niger*, como carboxil, amino, fosfato e também de lipídeos na biossorção de Pb, Cd e Cu foram investigados por Kapoor e Viraraghavan (1997). Eles trataram a biomassa do fungo com NaOH para melhorar suas propriedades adsorventes, nomeando essa amostra como biomassa bruta. Após o tratamento com o NaOH 0,5 mol.L⁻¹ a biomassa bruta foi submetida a modificações químicas diferentes, como esterificação de grupos carboxílicos, metilação de aminas e fosfatos. Quantidades conhecidas da biomassa, tanto bruta quanto modificada, foram colocadas em contato com uma solução dos metais, deixadas sob agitação por 6h. Após esse período, a quantidade de metal residual em solução foi determinada por espectroscopia de absorção atômica com chama e a biomassa retida no filtro foi analisada por espectroscopia na região do infravermelho. A esterificação de grupos carboxílicos e metilação de grupos amina diminuíram a capacidade de adsorção da biomassa. Os pesquisadores observaram que os grupos carboxil e amina são importantes para biossorção de metais pesados e que os mecanismos de ligação de metais pesados são similares aos das resinas de troca iônica fracamente ácidas que são usadas para tratamento de água e de água residuária.

Na Tabela 5 são apresentadas pesquisas com o fungo *Aspergillus niger* para remoção de diferentes metais.

Tabela 5. Alguns metais usados em estudos de bio sorção com o *Aspergillus niger* como bio sorvente.

Metais	Tipo de efluente	pH	Q (mg.g⁻¹)	Referências
Cu(II)	Solução sintética	6	23,62	Mukhopadhyay; Noronha Surashkumar (2007);
Cd(II)	Efluente industrial	5	6,0	Ahmad; Zafar; Ahmad (2005)
Cd(II), Cu(II) e Pb(II)	Solução sintética	5; 6; 5	2,0; 2,1; 3,8	Kapoor e Viraraghavan (1999)
Cr(VI), Cu(II) e Pb(II)	Solução sintética	3,5; 5; 4,5	36; 15,6; 34,4	Dursun <i>et al.</i> (2003)
Cr(VI)	Solução sintética	3	14,5	Mungasavalli; Viraraghavan; Jin (2007)

3.8.1. Remoção de metais por células mortas

A capacidade bio sortiva de células mortas tem sido extensivamente estudada em comparação às células vivas, porém essa capacidade pode ser maior, equivalente ou menor que a das células vivas, dependendo da espécie e das condições experimentais.

Os sistemas empregando células vivas são sensíveis à toxicidade dos metais, pH e temperatura. Além do mais, o requerimento de nutrientes aumenta os custos operacionais e, a recuperação dos metais e regeneração do bio sorvente são mais complicadas. Esses fatores fizeram com que o uso da biomassa morta para remoção de metais fosse bem mais explorado que a biomassa viva.

A biomassa pode ser morta por tratamentos físicos como, aquecimento, autoclavagem (TOBIN; COOPER; NEUFELD, 1984), secagem a vácuo ou através do uso de produtos químicos, como ácidos, bases e detergentes (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995).

A biomassa morta pode ser submetida à pré-tratamento com produtos químicos com o intuito de aumentar a capacidade bio sortiva. Bai e Abraham (2002) desenvolveram

um estudo do aumento da bioadsorção de Cr(VI) através de modificação química da biomassa de *Rhizopus nigricans* e um possível mecanismo de complexação de Cr(VI) pelo adsorvente. A parede celular destes fungos possui propriedades de troca iônica, as quais são usadas para remoção de íons Cr(VI) de soluções e águas residuárias. O fungo foi cultivado em agar batata e após esse período a biomassa foi morta em autoclave e pulverizada para uniformizar o tamanho das partículas. Em seguida, foram submetidas a modificações químicas com ácido, hidróxido, formaldeído, cetonas, alcoóis e derivados de amônia. Foram realizadas análises na região do infravermelho do fungo, antes e depois dos tratamentos, para detectar os constituintes da parede celular do fungo e identificar os grupos funcionais envolvidos na adsorção, também foram determinadas isotermas de adsorção para a avaliação da capacidade bioadsorvente da espécie. Os resultados da análise da biomassa pulverizada antes e depois da adsorção de Cr indicaram diminuição da intensidade das bandas de absorção no infravermelho referentes a ligações -NH de proteínas após adsorção do metal, indicando que o grupo -NH está envolvido na adsorção de Cr(VI) por *Rhizopus nigricans*. O tratamento com ácido aumentou a capacidade de adsorção de Cr(VI) de 8 para 22% com relação ao fungo não tratado. Isto é atribuído ao fato de que a hidrólise do ácido produz a D-glicosamina (NAIR; MADHAVAN, 1992apudi; BAI; ABRAHAM, 2002), que é facilmente protonada no pH de adsorção (pH=2). O tratamento com formaldeído causa ligações cruzadas de grupos hidroxilas adjacentes, ocasionando redução da área de superfície e, conseqüentemente, inibição da interação entre os íons Cr e os sítios de ligação específicos. Os tratamentos com álcool e acetona removeram frações protéicas e lipídicas da superfície da biomassa. O tratamento com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ resultou em inchaço e desintegração da biomassa, pois causou hidrólise de proteínas e rompimento de cadeias poliméricas do bioadsorvente. Isto levou à redução da bioadsorção de Cr(VI) pelo bioadsorvente. O tratamento da biomassa com reagentes derivados de amônia aumentou a capacidade de bioadsorção de Cr(VI) pelo *R. nigricans* devido ao enriquecimento da parede celular do fungo com grupos amino e imino. Esse aumento foi identificado através dos espectros de infravermelho nos quais foi observado aumento na intensidade das bandas de absorção na região de 3300 a 3400 cm⁻¹ e 1651cm⁻¹, reportadas como bandas de estiramento e deformação angular da ligação -NH de grupo imino. As isotermas construídas para a bioadsorção de Cr(VI) pela biomassa fúngica antes e após a modificação química constataram que a capacidade de bioadsorção da biomassa tratada foi maior que a da biomassa não modificada.

A capacidade bioadsorvente de *Phanerochaete chrysosporium* também foi estudada. Say; Denizli e Arica (2001) desenvolveram um estudo de bioadsorção de Cd(II), Pb(II) e Cu(II)

pela biomassa seca deste fungo em águas residuárias sintéticas. O fungo foi cultivado em meio líquido contendo água destilada, $C_6H_{12}O_6$, KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NH_4Cl , $CaCl_2 \cdot H_2O$, $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$. Sua capacidade de biossorção foi estudada em condições controladas de pH pela variação da concentração dos íons metálicos nos efluentes sintéticos. Em pH 6 a quantidade de íon metálico adsorvido pela biomassa (em soluções contendo $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de $Cd(II)$, de $Pb(II)$ e de $Cu(II)$) em condições não competitivas foi de 13,24, 45,25 e $10,72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de biomassa seca, respectivamente. O tempo de saturação do adsorvente foi de 6 horas, sendo que em 2 horas de experimento, 60% da quantidade máxima de metal imobilizada pela biomassa já havia sido adsorvida. O equilíbrio de adsorção seguiu o modelo de isoterma de Langmuir. O estudo para a biossorção competitiva de $Cd(II)$, $Pb(II)$ e $Cu(II)$ apresentou capacidades de adsorção de 7,80, 16,91 e $7,57 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de biomassa de fungo seco, respectivamente. Sendo assim, a capacidade de biossorção dos metais foi menor em condições competitivas. Através do estudo realizado, os cientistas concluíram que a espécie *Phanerochaete chrysosporium* é um excelente adsorvente de íons metálicos pesados em águas residuárias.

Zouboulis *et al.* (2003) estudaram a habilidade de microrganismos para remoção de metais em soluções sintéticas de águas residuárias usando biomassa de fungos mortos na forma de “pellets”. O efluente sintético composto de uma solução dos metais Zn, Cu, Ni, Ca, Mg e Na, foi misturado aos “pellets” (na proporção de 1L de solução para 25 mg de biomassa) em frasco cônico e deixado sob agitação por 24h. Foram realizados também testes de coluna empacotada com poliacrilonitrila (PAN-biomassa (PAN-B/50% e PAN-B/75%)) para o tratamento do mesmo efluente sintético. A concentração residual de Zn, Cu e Ni foi determinada por espectrometria de absorção atômica, depois da separação do adsorvente por filtração. A capacidade de remoção dos metais por PAN-B/50% para Zn, Cu e Ni foi de 16, 7 e $0,25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. Enquanto que para PAN-B/75% foi de 18; 7,9 e $0,25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. Os metais adsorvidos podem ser eluídos eficientemente e os “pellets” podem ser recuperados e reutilizados.

Um estudo de adsorção e dessorção de $Cr(VI)$ em biomassa imobilizada do fungo *Rhizopus nigricans* foi desenvolvido por Bai e Abraham (2003). O microrganismo foi cultivado em dextrose batata, morto em estufa a 80°C por 10 horas e pulverizado. Foi preparada uma solução estoque $1000 \text{ mg } Cr(VI) \cdot \text{L}^{-1}$ a partir de $K_2Cr_2O_7$. Para os experimentos de biossorção foram preparadas soluções de diferentes concentrações, entre 50 e $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. A biomassa foi imobilizada em diferentes matrizes poliméricas de alginato de cálcio, álcool polivinil (PVA), poliacrilamida, poliisopreno e polissulfonato. A imobilização física em

espuma de poliuretano e fibra de coco foi menos eficiente que os métodos de imobilização química nas matrizes poliméricas. Percentuais de adsorção ótima de Cr(VI) foram encontrados para diferentes combinações em %p/v da biomassa com cada matriz polimérica nas proporções de 8% em alginato de sódio, 6% em poliacrilamida, 12% em poliisopreno e PVA, e 10% em polisulfonato. A capacidade de adsorção diminui nesta ordem: biomassa não imobilizada ($119,2 \text{ mg.g}^{-1}$) > imobilizada em polisulfonato ($101,5 \text{ mg.g}^{-1}$) > poliisopreno ($98,76 \text{ mg.g}^{-1}$) > PVA ($96,69 \text{ mg.g}^{-1}$) > alginato de cálcio ($84,29 \text{ mg.g}^{-1}$) > poliacrilamida ($45,56 \text{ mg.g}^{-1}$) a partir da concentração inicial de 500 mg.L^{-1} de Cr(VI). O grau de estabilidade mecânica e a resistência química dos sistemas imobilizados foram avaliados pelo monitoramento de biomassa perdida durante os processos de adsorção/dessorção, indicando que a resistência química e estabilidade mecânica diminui nesta ordem: polisulfonato > poliisopreno > PVA > poliacrilamida > alginato de cálcio. Soluções de NaOH $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, NaHCO_3 $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ e Na_2CO_3 $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ foram identificadas como eluentes adequados para a recuperação de íons da biomassa de polisulfonato, exibindo de 75 a 78% de eficiência na recuperação deste Cr(VI).

Baik *et al.* (2002) estudaram a biossorção de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn usando micélio inteiro e componentes selecionados dos fungos *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae* e *Muxor rouxii*. O *A. niger* foi cultivado em meio contendo glicose, extrato de malte, extrato de levedura e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, *R. oryzae* e *M. rouxii* foram cultivadas em Agar batata dextrose (Difco). Os micélios foram homogeneizados separadamente e misturados com 200 mL de solução Metanol/clorofórmio 1:1 para os experimentos de adsorção posteriores. A fração remanescente das biomassas foi seca e homogeneizada e então frações de glicana, manana, quitina e quitosana foram extraídas e isoladas da parede celular dos fungos e tratadas com NaOH 4 Mol.L^{-1} , para os estudos de caracterização da parede celular. As soluções Cd, Cu, Ni, Pb e Zn foram preparadas a partir de sais de nitrato destes metais. Quantidades variando de 50 a 100mg da biomassa tratada com solventes foram colocadas em contato com a solução dos metais, sob agitação, por 24h. A biomassa foi separada da solução dos metais por centrifugação e a concentração residual de metais em solução foi determinada por espectrometria de absorção atômica. Estudos de caracterização da parede celular mostraram que a parede celular do *A. niger* é composta principalmente de glicose e quitina, enquanto que em *Rhizopus oryzae* e *Muxor rouxii* há predominância da quitosana. Esta indicou maior capacidade de ligação dos metais do que a manana e a glucana e contribuiu para aumentar a capacidade biossortiva do cobre no micélio do *M. rouxii* tratado com solvente. A ligação dos metais Cd, Cu, Ni e Zn foram consideravelmente melhoradas pelo tratamento das frações da

parede celular com o NaOH 4 Mol.L⁻¹. Entre os três fungos estudados o que apresenta maior quantidade de quitina como constituinte da parede celular é o *Aspergillus niger*.

3.8.2. Remoção de metal por células vivas

A bioacumulação de metais por células vivas é função da idade da célula, composição do meio de crescimento, tempo de contato, pH da solução de metais e temperatura. A remoção de metal por este tipo de biomassa pode ocorrer somente na superfície das células ou por penetração dos metais no interior das células. Dependendo do tipo de microrganismo e das suas características intrínsecas pode ocorrer um dos mecanismos ou os dois simultaneamente (SUH; YUN; KIM, 1999).

O mecanismo de ligação de metais na biomassa não é melhor entendido devido à complexidade da natureza das diferentes biomassas microbianas (GUPTA *et al.*, 2000; PARVATHI; NAGENDRAN; NARESHKUMAR, 2007) contudo, a localização da presença de metais na biomassa pode ser feita utilizando técnicas de microscopia de varredura eletrônica (MEV) e energia dispersiva de raio-X (EDX).

Suh *et al.* (1999) compararam a acumulação de Pb(II) em espécies fúngicas. A linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* estudada foi cultivada em meio de glicose, extrato de levedura, NH₄Cl, MgSO₄, CaCl₂ a 30°C, por 72h e a linhagem *Aureobasidium pullulans*, foi cultivada em meio de sacarose, extrato de levedura, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, NaNO₃ a 30°C por 72 h. 50 mL de suspensão de cada microrganismo foram misturados com 50 mL de solução de (PbNO₃)₂ e durante 116h de experimento foram coletadas alíquotas dessas amostras e determinou-se a concentração residual de metais por espectrometria de absorção atômica. O tempo de equilíbrio dependeu da concentração inicial para *S. cerevisiae*, ou seja, diminuindo a concentração inicial o equilíbrio é atingido mais rapidamente, fato que não foi observado para *A. pullulans*. A partir dos experimentos de MEV e EDX os autores observaram que à medida que a acumulação de Pb(II) aumentava, a superfície das células de *S. cerevisiae* começava a ficar áspera e diminuía o teor de K, P e S na superfície das mesmas. Contudo, no interior das células de *S. cerevisiae*, não foi observado aumento significativo de Pb(II) após acumulação na superfície devido à penetração de Pb(II), o que não foi observado para as células de *A. pullulans*, nas quais houve elevada acumulação de Pb(II) sobre a superfície das células.

Os efeitos da bioacumulação de íons metálicos, Cu(II), Pb(II) e Cr(VI), pela linhagem do fungo *Aspergillus niger* utilizada por Dursun *et al.* (2003) foram estudadas em função do pH inicial e da concentração de metais. O fungo foi cultivado aerobiamente a 30°C, por 72 h em meio de extrato de malte e em pH de 5,5. Após, incubação a biomassa foi colocada em contato com as soluções dos metais para os experimentos de bioacumulação. As soluções dos metais foram preparadas a partir de seus cromatos (Cr(VI)) e nitratos (Cu(II), Pb(II)). As concentrações dos metais em solução foram obtidas por espectroscopia de absorção atômica. Os pesquisadores concluíram que os valores de pH ótimo para o crescimento e bioacumulação de metais foram 5,0; 4,5 e 3,5 para Cu(II), Pb(II) e Cr(VI), respectivamente. Apesar da inibição causada pelos metais, o *A. niger* removeu 15,6 mg Cu(II).g⁻¹ e 34,4 mg Pb(II).g⁻¹ a partir de uma concentração inicial de 100 mg Cr(VI).L⁻¹.

Do exposto conclui-se que a biomassa fúngica mostra-se como um biossorvente adequado para remoção de metais pesados em soluções aquosas, despertando o interesse de pesquisadores da área ambiental, devido a características como resistência e capacidade de adaptação a condições adversas e a substâncias tóxicas, presença de sítios de adsorção na parede celular e produção de enzimas extracelulares.

A maioria dos estudos já citados na literatura tratam da biossorção em experimentos em batelada e utilizando principalmente a biomassa morta.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica, sendo utilizados diretamente no preparo de soluções sem tratamento prévio.

O meio de crescimento semi-sólido utilizado nos testes de toxicidade em placa foi Agar sabouraud dextrose (Acumedia) e o meio líquido utilizado para crescimento dos “pellets” foi nutrient broth- Difco.

O reagente Tween 80 (Vetec) foi usado para remover os esporos de fungo das placas de petri.

Para o preparo da solução de nutrientes (Vishniac) foram utilizados Etileno diamino tetracético (Dinâmica), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Dinâmica), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Dinâmica), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Vetec).

As soluções estoque de $1000\text{ mg Zn(II).L}^{-1}$ e, $1000\text{ mg Cr(VI).L}^{-1}$, foram preparadas a partir de $\text{Zn(NO}_3)_2$ (Vetec) e $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Dinâmica). A partir das soluções estoque, foram preparadas as soluções de trabalho em diferentes concentrações, e em meio tamponado com solução tampão de $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ (Vetec) e $\text{HCl } 0,1\text{ mol.L}^{-1}$ (Synth) ou $\text{NaOH } 0,1\text{ mol.L}^{-1}$ (Dinâmica) em pH variando de 2,5 a 6.

Foram preparadas também soluções tampão de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ (Vetec) e Na_2HPO_4 (Vetec), e de CH_3COOH (Vetec) e CH_3COONa (Vetec).

Para determinação de Cr(VI) foi preparada uma solução de 1,5-difenilcarbazida (Merck) foi preparada através dissolução de 0,2 g de 1,5- difenilcarbazida em 100 mL de acetona, contendo 1mL de H_2SO_4 (1:10 v/v) (Synth), transferida para frasco âmbar para evitar degradação fotoquímica. A solução é estável por uma semana.

Para o experimento de determinação do ponto de carga zero foram preparadas soluções de diferentes pH (3, 6 e 9), a partir da mistura de HNO_3 $0,01\text{ mol.L}^{-1}$ (Merck) e $\text{NaOH } 0,01\text{ mol.L}^{-1}$ (Dinâmica).

As soluções estoque, solução de trabalho e tampão foram preparadas com água deionizada e esterilizada em autoclave a 1 atm, $121 \pm 2^\circ\text{C}$, por 30 min.

Todos os frascos utilizados para preparação e estocagem de soluções foram cuidadosamente lavados com detergente e água destilada e deixados em banho de ácido HNO_3 10% (v/v) por, no mínimo, doze horas para descontaminação.

4.1.2. Equipamentos

Para esterilização da vidraria e das soluções foi utilizada uma autoclave modelo AB19 – Phoenix a 1 atm, $121 \pm 2^\circ\text{C}$ por 30 min.

Para contagem de esporos foi utilizada uma câmera de Neubauer com profundidade de 0,100 mm e área mínima de $0,0025 \text{ mm}^2$.

A incubação das placas foi feita em estufa bacteriológica modelo ECB Línea da Olidef.

Para homogeneização da solução de esporos foi utilizado um agitador Vórtex – Quimis.

O pH das soluções foi ajustado em pH-metro modelo R-TEC-03P-MP - Tecnal.

Para os experimentos em batelada foi utilizada uma mesa agitadora modelo TE-140 - Tecnal.

As determinações de Zn(II) foram realizadas em espectrômetro de absorção atômica com chama do tipo Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer - Modelo AA240FS – Varian, no Laboratório de Análises de Traços – Departamento de Química Analítica e Físico-Química - UFC.

As determinação de Cr(VI) foram realizadas por espectrofotômetro de absorção molecular na região do visível (Fenton Scan) empregando 1,5-difenilcarbazida (Merck) como reagente cromogênico.

Os espectros da região do infravermelho foram obtidos com auxílio de um espectrômetro Shimadzu FTIR – 8300, no Laboratório de Polímeros - Departamento de Química Inorgânica - UFC.

Pra obtenção das micrografias foram utilizados aparelho de secagem ao ponto crítico Emitech K850, metalizador Emitech K550 e microscópio eletrônico de varredura - Modelo DSM 940 A – Zeiss, na Embrapa Agroindústria Tropical do Nordeste.

4.2. Material adsorvente

A espécie fúngica utilizada neste trabalho foi o *Aspergillus niger* obtido a partir do efluente da LUBNOR - Lubrificantes e Derivados de Petróleo do Nordeste - CE e isolado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa - Agroindústria Tropical do Nordeste.

4.3. Cultivo e produção da espécie fúngica

4.3.1. Preparo do meio de cultura

O meio de cultura foi preparado dissolvendo-se agar sabouraud dextrose da Acumedia Manufactures (65 g.L^{-1}) em água destilada e acrescentando-se 1mL de solução de Vishniac (Tabela 6) por litro de meio de cultura. A mistura foi aquecida até fervura e esterilizada em autoclave a $121 \pm 2^\circ\text{C}$, 1 atm, por 30 minutos. Em seguida, o meio foi distribuído em placas de petri, em ambiente estéril e, após solidificação, as placas foram inoculadas com o fungo e incubadas em estufa bacteriológica a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por três dias.

Tabela 6. Composição química da solução de Vishniac.

PRODUTO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO (g.L^{-1})
EDTA-Etileno diamino	10,0
tetracético	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,4
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1,0
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,3
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,3
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,5
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,0

4.3.2. Preparo da suspensão de esporos

Após o período de incubação (três dias), os esporos de *Aspergillus niger* foram removidos das placas com 4 mL de solução de Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio. Este procedimento foi realizado duas vezes para cada placa.

4.3.3. Contagem total de células

Para a contagem dos esporos, 50µL da suspensão de esporos homogeneizados em agitador Vórtex, foram diluídos em 950µL de solução de Tween 80, perfazendo uma diluição de 1:20. Em seguida, 500µL desta solução diluída foram transferidos para uma câmara de Neubauer, e os esporos foram contados com o auxílio de um microscópio óptico. Para efeito de cálculo do número de esporos foi empregada a equação 13 (TUIITE, 1971)

$$E = \frac{E_c}{A} \cdot FD \cdot 10000 \quad (\text{Eq. 13})$$

Onde:

E é o número de esporos contados por mL;

E_c é o número total de células;

FD é o fator de diluição;

A é o número de quadrantes contados.

4.4. Testes de toxicidade em placa

Com o objetivo de se observar a tolerância do fungo *Aspergillus niger* aos metais Cr(VI) e Zn(II), foram realizados estudos de toxicidade para cada metal separadamente. Este teste foi dividido em duas etapas: efeito da concentração dos metais na esporulação dos fungos e efeito da concentração dos metais no crescimento micelial, detalhadas a seguir.

4.4.1. Efeito da concentração de metais Cr(VI) e Zn(II) na esporulação de *Aspergillus niger* em placas

Preparou-se meio de cultura para cada metal, e este foi distribuído em placas de petri estéreis, juntamente com alíquotas de 0,50; 1,25; 2,50; 3,75; 6,25; 7,50; 10,00; 12,50 mL da solução estoque do metal de interesse, de modo que as concentrações do mesmo nas placas fossem de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg.L⁻¹, respectivamente. Após solidificação do meio de cultura com a solução de metal, as placas foram inoculadas com $2,6 \times 10^6$ esporos por mL, incubadas a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e, observadas por 144 horas. O branco consistiu de placa com concentração 0 mg.L⁻¹ de solução de metal. O teste foi feito em triplicata, totalizando 27 placas, para cada metal.

Nesta etapa foi observada a concentração máxima de metal em que houve crescimento do fungo, por verificação visual e registro fotográfico.

4.4.2. Efeito da toxicidade de metais Cr(VI) e Zn(II) no crescimento micelial de *Aspergillus niger*

Placas de petri contendo meio de cultura agar saboraud dextrose foram inoculadas com $2,6 \times 10^6$ esporos de *Aspergillus niger* por mililitro e incubadas a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 72 horas. Após esse período foram retirados discos de 4 mm de diâmetro do micélio desenvolvido nas placas, com auxílio de um vazador, para posterior inoculação (MENTEN et al., 1976). Novas placas foram preparadas, com o mesmo meio de cultura e alíquotas (50; 1,25; 2,50; 3,75; 6,25; 7,50; 10,00; 12,50 mL) da solução estoque de metal de interesse para obtenção de concentrações 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 mg.L⁻¹, respectivamente. O branco consistiu de placa com concentração 0 mg.L⁻¹ de solução de metal. Para cada metal foram preparadas 27 placas, três para cada concentração.

No centro de cada placa foi colocado um disco de micélio com os esporos voltados para baixo e, em seguida, as placas foram incubadas a $30 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 144 horas, tempo em que a placa controle foi totalmente preenchida. O crescimento radial foi obtido a partir da medida do diâmetro médio do micélio do fungo a cada 24 h.

A inibição do crescimento micelial (PIC) é calculada pela equação 14, descrita por (EDGINGTON; KHEW; BAQRON, 1971 apud; MENTEN *et al.*, 1976) e modificada por Menten *et al.* (1976).

$$\%PIC = \frac{CRTE - CRT}{CRTE} \times 100 \quad (\text{Eq. 14})$$

Onde:

PIC é a inibição do crescimento micelial (%);

CRTE é o crescimento radial do controle (cm);

CRT é o crescimento radial do tratamento (cm).

Verificou-se, a concentração de ingrediente ativo (metal) capaz de inibir 50% do crescimento micelial do fungo (ED_{50}) com base nos resultados PIC, ou seja, a faixa na qual o valor de PIC corresponde à taxa de inibição de 50%. A taxa de crescimento micelial do fungo, em horas, para faixa de ED_{50} foi calculada dividindo-se, o crescimento micelial médio (cm) pelo tempo total do experimento (144h).

Os dados de PIC foram avaliados estatisticamente pelo Teste de Tukey, que mede a variação entre médias adotando um nível de significância de 5%.

4.5. Obtenção da biomassa fúngica

4.5.1. Preparo do meio de crescimento

O meio de crescimento foi preparado de acordo com as especificações do fabricante (8g de caldo.L⁻¹). A cada litro de caldo foi adicionado 1 mL de solução de Vishniac e 0,05 g de cloranfenicol. Após adição de nutrientes e antibiótico, para inibir da proliferação de bactérias, a mistura foi autoclavada por 30 min à $121 \pm 2^\circ\text{C}$, e distribuída em erlenmeyers de 250ml.

4.5.2. Preparo dos “pellets”

Em cada erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 100 ml de meio de crescimento e 2×10^6 esporos. Os erlenmeyers foram fechados com algodão hidrófobo e submetidos à agitação orbital a 120 rpm por 72 horas em temperatura de aproximadamente 28°C para formação dos “pellets” a serem utilizados nos experimentos de batelada. A Figura 2 mostra os “pellets” formados, (A) visão da mesa agitadora e (B) “pellets”.

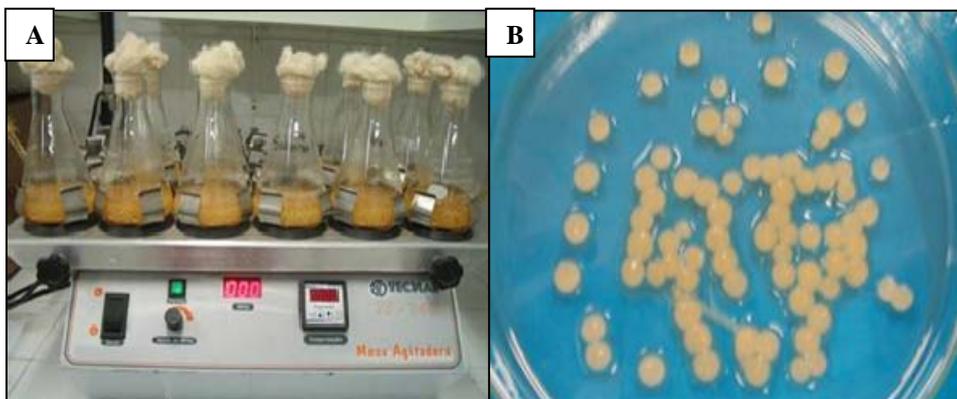


Figura 2- “Pellets” formados após 72h sob agitação orbital a 120rpm, (A) visão da mesa agitadora e (B) “pellets”.

4.5.3. Preparo da biomassa viva

Depois de formados, os “pellets” foram lavados com água destilada em abundância, peneirados, para retirada do excesso de umidade, e usados nos experimentos de adsorção em batelada e no experimento de identificação dos sítios de adsorção por espectroscopia na região do infravermelho.

Para cada parâmetro estudado nos experimentos em batelada foi necessário repetir as etapas de preparo do meio de crescimento e preparo dos “pellets”.

4.5.4. Preparo da biomassa morta

4.5.4.1. Biomassa autoclavada e seca

Após etapa de crescimento e lavagem dos pellets (itens 4.5.2 e 4.5.3), a biomassa foi autoclavada e seca em estufa a 50°C, por 24h. Após secagem, a biomassa foi macerada e usada nos experimentos de bioissorção de Cr(VI) e Zn(II).

Foram estudados dois outros tratamentos da biomassa morta para remoção de Cr(VI): tratamento da biomassa com NaOH 0,5 mol.L⁻¹ e tratamento da biomassa com 3-cloro-2-hidroxil- N,N,N-trimetil, 1-propanamina, QUAT 188 (Dow Brasil S.A.). Como esses tratamentos só foram testados para remoção do íon Cr(VI), a metodologia e os resultados estão apresentados no Apêndice A.

4.6. Caracterização do bioissorvente

A morfologia do fungo foi caracterizada por avaliação da forma, medida do diâmetro e análise de imagem através de microscopia eletrônica de varredura.

4.6.1. Caracterização morfológica da biomassa em forma de “pellets” por microscopia eletrônica de varredura.

Para a microscopia eletrônica de varredura os “pellets” foram inicialmente fixados em solução de Karnovsky (glutaraldeído 2,5% + paraformaldeído 2,5 %), lavados em tampão fosfato pH 7,4, pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%, por 2 horas e, novamente lavados no mesmo tampão. Posteriormente, foram desidratados em soluções de etanol em diferentes concentrações, iniciando-se em 30%, passando para 50, 70 e 90%, por 10 minutos, cada. Para completa retirada de água da amostra, os “pellets foram imersos em três banhos de álcool 100%, por 10 minutos cada.

Após a desidratação, os “pellets” foram submetidos à secagem em ponto crítica com CO₂ líquido, montados em suporte, metalizados em ouro, observados e

eletromicrografados em microscópio eletrônico de varredura a uma voltagem de aceleração de 15 kV.

4.6.2. Determinação dos sítios de adsorção na biomassa morta

A espectroscopia no infravermelho é uma ferramenta versátil que é aplicada à determinação qualitativa e quantitativa de espécies moleculares.

A biomassa foi analisada por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para determinação dos sítios de adsorção antes e depois da biossorção com metais.

O procedimento de obtenção dos espectros na região do infravermelho consistiu em dispersar a biomassa seca e pulverizada, em Brometo de potássio (KBr), utilizando-se pistilo e pedra de ágata. Em seguida, a mistura foi colocada em prensa para formar uma pastilha que foi analisada em FTIR para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho. As bandas de absorção foram identificadas pelos respectivos comprimentos de ondas, e determinaram-se os sítios de ligação dos metais.

4.6.3. Determinação do ponto de carga zero da biomassa morta

O ponto de carga zero foi determinado com base na metodologia de Valdés *et al.* (2002) e adaptação de Oliveira *et al.* (2008).

Três soluções de pH diferentes (3, 6 e 11) foram preparadas a partir de NaOH $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$ e HNO_3 $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$. Em seguida, 20 mL da solução de cada pH (3, 6 e 11) foram adicionados, separadamente, em 5 erlenmeyers de 250 mL, contendo massas de 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 g, ou seja, 0,05; 0,25; 0,5; 2,5 e 5% de biomassa autoclavada e seca (item 4.5.4).

A mistura foi submetida a agitação orbital de 120 rpm, por 24 horas, a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Após a agitação, as amostras foram filtradas em papel de filtro qualitativo e o pH de equilíbrio foi medido.

Os valores de pH obtidos foram usados na construção da curva de pH em função da massa, para determinação do ponto de carga zero.

4.7. Ensaios de adsorção em batelada para remoção de Cr(VI) e Zn(II)

Os ensaios de remoção de Zn(II) e Cr(VI) foram realizados com as biomassas viva e morta, em duplicata, para cada metal.

Os experimentos em batelada, para remoção dos metais, foram testados em três tampões: $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ e $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4/\text{HCl}$ ou $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4/\text{NaOH}$. No tampão de fosfato/ácido cítrico ocorreu precipitação de metal e, em tampão de acetato de sódio/ácido acético, a biomassa se desintegrou, portanto, o tampão escolhido foi o tampão de $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4/\text{HCl}$ ou $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4/\text{NaOH}$.

Os estudos de adsorção de Zn(II) e Cr(VI) na biomassa do *Aspergillus niger* estão apresentados resumidamente na Figura 3.

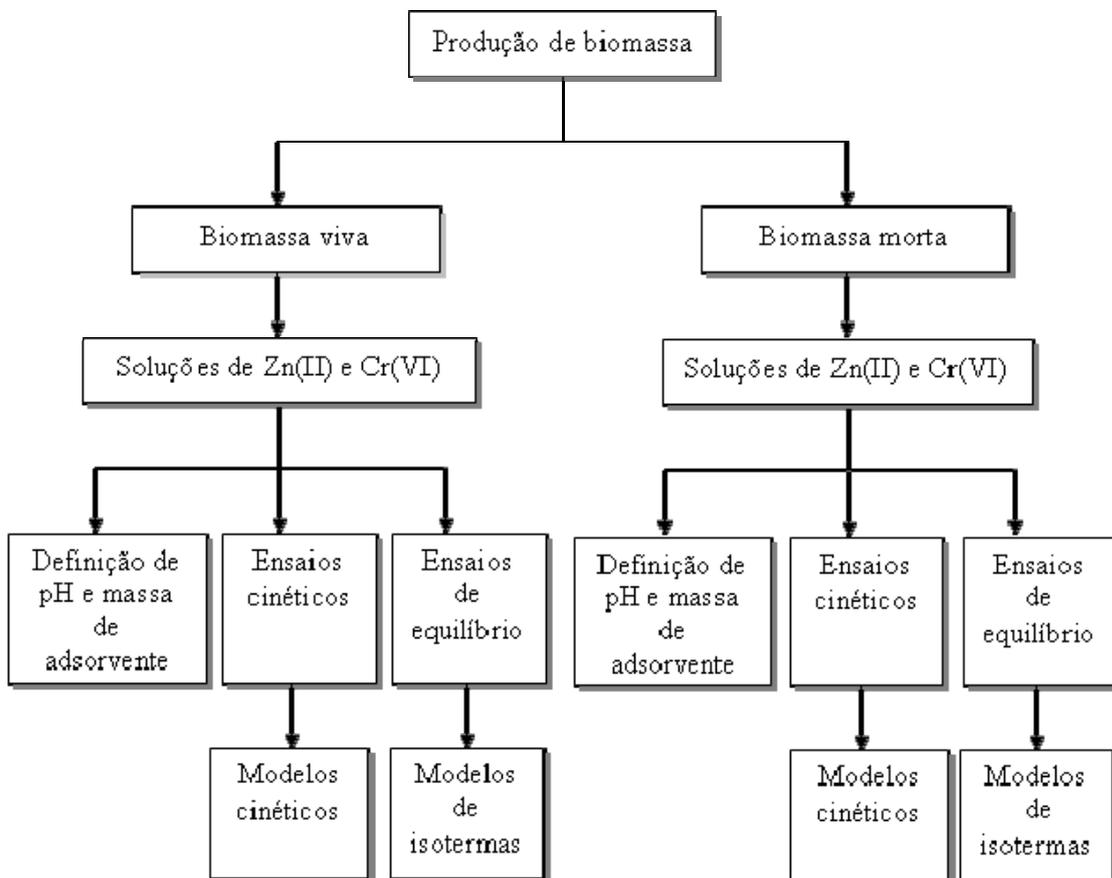


Figura 3- Diagrama das etapas do estudo de adsorção Zn(II) e Cr(VI) na biomassa de *Aspergillus niger*.

Os ensaios para avaliação da bioadsorção de Zn(II) e Cr(VI), pelas biomassas viva e morta, estão descritos nos itens 4.7.1 a 4.7.4. Ressalta-se que os procedimentos foram semelhantes para ambas as biomassas estudadas.

4.7.1. Efeito da variação do pH

Foram realizados experimentos em batelada para determinar a influência do pH na bioadsorção de Zn(II) e Cr(VI). No experimento de variação de pH, manteve-se constante, a concentração de massa, o tempo e o volume de adsorvato.

A avaliação do efeito do pH, sobre o processo de bioadsorção de Zn(II) e Cr(VI) consistiu em quatro bateladas de 10 erlenmeyers, de 250 mL, contendo a biomassa (viva ou morta). Em cada erlenmeyer foram adicionados 50 mL das soluções monoelementares de Zn(II) ou de Cr(VI) nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ e em pH de 2,5; 3; 4; 5 e 6 sob agitação orbital de 120 rpm por 24h, ou seja, 1440 minutos. Após a agitação, a solução foi filtrada em papel de filtro qualitativo, com poros de 14 µm. Em seguida, determinou-se a concentração residual de Zn(II) na solução por absorção atômica com chama (*Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer* – Modelo AA240FS – Varian) e a concentração de Cr(VI) foi determinada por espectrofotometria de absorção molecular empregando 1,5-difenilcarbazida como agente cromogênico (APHA/AWWA/WEF, 2005). Na Tabela 7 estão apresentados os parâmetros experimentais dos ensaios.

Tabela 7. Parâmetros experimentais empregados nos ensaios de verificação da influência do pH.

Parâmetros	Biomassa viva		Biomassa morta	
	Zn(II)	Cr(VI)	Zn(II)	Cr(VI)
Volume de solução de metal (mL)	50	50	50	50
Concentração inicial de metal (mg.L ⁻¹)	50	50	50	50
Concentração de biomassa (g.L ⁻¹)	100	100	20	20
Agitação (rpm)	120			
pH	2,5; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0			
Temperatura (°C)	28± 2			
Tempo (min)	1440			

4.7.2. Efeito da concentração de bioissorvente

Foram realizados ensaios em batelada para determinar a influência da concentração de bioissorvente na bioissorção de Zn(II) e Cr(VI), pelas biomassas viva e morta.

Os experimentos em batelada consistiram em quatro bateladas de 20 erlenmeyers, de 250 mL, contendo a biomassa (viva ou morta). Em cada erlenmeyer, foram adicionados 50 mL das soluções monoelementares de Zn(II) em pH 5 e Cr(VI) em pH 2,5, nas concentrações de 50 mg.L⁻¹. O bioissorvente foi adicionado em concentrações que variaram de 0 a 180 g biomassa.L⁻¹, sob agitação orbital de 120 rpm, por 1440 minutos (24 horas). Após a agitação, a solução foi filtrada em papel de filtro qualitativo, com poros de 14 µm, e em seguida determinou-se a concentração residual de Zn(II) na solução por absorção atômica com chama (*Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer* – Modelo AA240FS – Varian) e a concentração de Cr(VI) por espectrofotometria de absorção molecular, empregando 1,5-difenilcarbazida como agente cromogênico (APHA/AWWA/WEF, 2005). Na Tabela 8 estão apresentados os parâmetros experimentais dos ensaios.

Tabela 8. Parâmetros experimentais empregados nos ensaios de verificação da influência da concentração de biossorvente na remoção de Zn(II) e Cr(VI).

Parâmetros	Biomassa viva		Biomassa morta	
	Zn(II)	Cr(VI)	Zn(II)	Cr(VI)
Volume de solução de metal (mL)	50	50	50	50
Concentração inicial de metal (mg.L ⁻¹)	50	50	50	50
Concentração de biomassa (g.L ⁻¹)	0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180	0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180	0, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40	0, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40
Agitação (rpm)	120			
pH	5,0	2,5	5,0	2,5
Temperatura (°C)	28± 2			
Tempo (min)	1440			

4.7.3. Cinética de adsorção

A cinética de adsorção sobre o processo de biossorção de Zn(II) e Cr(VI) foi realizada em experimentos em batelada, e consistiu em quatro bateladas de 14 erlenmeyers, de 250 mL contendo a biomassa.

Massas de biossorvente pré-definidas (Tabela 9) foram colocadas em contato com alíquotas de 50 mL das soluções de 50 mg Zn(II).L⁻¹ em pH 5 e de 50 mg Cr(VI).L⁻¹, sob agitação orbital de 120 rpm, por intervalos de tempos predefinidos de 10, 30, 60, 120, 180, 360, 720, 1020 e 1440 minutos. Os frascos foram vedados com algodão hidrófobo.

Após a agitação, a solução foi filtrada em papel de filtro qualitativo, com poros de 14 µm e determinou-se a concentração residual de Zn(II) na solução, por absorção atômica com chama (*Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer* – Modelo AA240FS – Varian) e a concentração de Cr(VI) por espectrofotometria de absorção molecular, empregando 1,5-difenilcarbazida como agente cromogênico (APHA/AWWA/WEF, 2005). Na Tabela 9 estão apresentados os parâmetros experimentais dos ensaios cinéticos.

Tabela 9. Parâmetros experimentais empregados nos ensaios cinéticos.

Parâmetros	Biomassa viva		Biomassa morta	
	Zn(II)	Cr(VI)	Zn(II)	Cr(VI)
Volume de solução de metal (mL)	50	50	50	50
Concentração inicial de metal (mg.L ⁻¹)	50	50	50	50
Concentração de biomassa (g.L ⁻¹)	100	80	20	10
Agitação (rpm)			120	
pH	5,0	2,5	5,0	2,5
Temperatura (°C)			28± 2	
Tempo (min)	0, 10, 30, 60, 120, 180, 360, 720, 1020, 1440			

4.7.4. Isotermas de adsorção

A determinação das isotermas de adsorção sobre o processo de biossorção de Zn(II) e Cr(VI) foi realizada em experimentos em batelada para verificação da variação da concentração de adsorvato, e consistiu em quatro bateladas de 24 erlenmeyers, de 250 mL, sendo duas para biomassa viva e duas para biomassa morta.

Para a determinação das isotermas de adsorção, as massas de biossorvente (Tabela 10) foram colocadas em contato com alíquotas de 50 mL das soluções Zn(II) e Cr(VI), nas concentrações de 10 a 1000mg.L⁻¹, sob agitação orbital de 120 rpm. Os frascos foram vedados com algodão hidrófobo. Após agitação, determinou-se a concentração residual de Zn(II) na solução por absorção atômica com chama (*Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer – Modelo AA240FS – Varian*) e a concentração de Cr(VI) por espectrofotometria de absorção molecular, empregando 1,5-difenilcarbazida como agente cromogênico (APHA/AWWA/WEF, 2005). Na Tabela 10 estão apresentados os parâmetros experimentais para determinação das isotermas de adsorção.

Tabela 10. Parâmetros experimentais empregados na determinação das isotermas de adsorção.

Parâmetros	Biomassa viva		Biomassa morta	
	Zn(II)	Cr(VI)	Zn(II)	Cr(VI)
Volume de solução de metal (mL)	50	50	50	50
Concentração inicial de metal (mg.L⁻¹)	10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000	10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000	10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000	10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000
Concentração de biomassa (g.L⁻¹)	100	80	20	10
Agitação (rpm)			120	
pH	5,0	2,5	5,0	2,5
Temperatura (°C)			28± 2	
Tempo (min)			1440	

As isotermas de equilíbrio de adsorção foram descritas utilizando os modelos clássicos de Langmuir e Freundlich, representados pelas equações 3 (item 3.4.1) e 6 (item 3.4.2) deste trabalho, respectivamente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo está subdividido em itens que representam à seqüência lógica do desenvolvimento do experimento: contagem total de células na suspensão de esporos, teste de toxicidade, estudos de cinética e equilíbrio de adsorção.

5.1. Contagem total de células na suspensão de esporos

As primeiras etapas desenvolvidas neste trabalho foram à obtenção da suspensão de esporos e contagem das células. É importante que se faça a contagem células para que se trabalhe com uma concentração de células fixa.

A quantidade de esporos do fungo foi calculada após o procedimento de descrito no item 4.3.3 do capítulo da metodologia.

$$E = \frac{853}{4} \times 20 \times 10000 = 4,26 \times 10^7 \text{ esporos por mL.}$$

Como a quantidade de esporos contada foi de $4,26 \times 10^7$, foi necessário fazer uma diluição para se obter a quantidade de esporos desejada, que é $2,6 \times 10^6$ esporos por mL, conforme a quantidade padrão de esporos descritas em literatura (TAVARES; SOUZA, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2007).

5.2. Teste de toxicidade em placas

Muitos íons metálicos têm influência direta sobre processos fisiológicos e bioquímicos de microrganismos. Como o crescimento reflete o metabolismo celular, ele tem

sido usado como um indicador chave da toxicidade de metais pesados para microrganismos (URUNAKUMARA; XUECHENG, 2008).

Na Figura 4 são mostradas as placas inoculadas com *Aspergillus niger*, sem solução dos metais, após 24h e 144h, que foram usadas como controle. O mesmo controle foi usado para o teste com Zn(II) e Cr(VI).

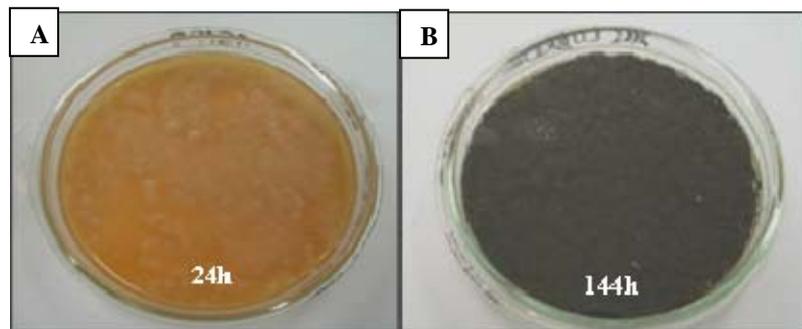


Figura 4- Controle do experimento: placas sem solução de metais, inoculadas com esporos de *Aspergillus niger*, após 24 h(4A) e após 144h (4B).

5.2.1. Efeito da concentração de Zn(II) na esporulação do fungo *Aspergillus niger* em placas

Nas Figuras 5 e 6 são mostradas as placas inoculadas com esporos de fungo, contendo solução de metais Zn(II), após 24 e 144 horas de incubação, respectivamente.

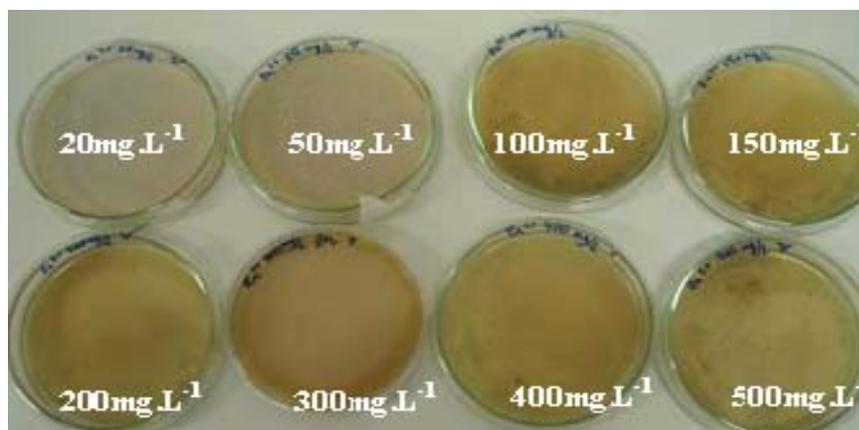


Figura 5- Placas inoculadas com esporos de *Aspergillus niger*, contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg Zn(II).L⁻¹ no meio de crescimento, após 24 horas de inoculação.

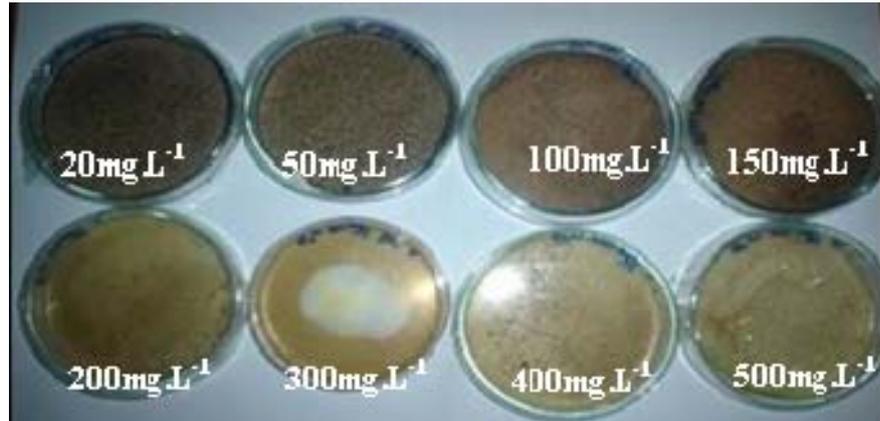


Figura 6- Placas inoculadas com esporos de *Aspergillus niger*, contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg Zn(II).L⁻¹, no meio de crescimento, após 144 horas de incubação.

Não houve inibição na germinação de esporos do fungo pelo metal em concentrações de 20 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹, no período de 24 horas. Ao contrário, notou-se maior intensidade na germinação dos esporos em comparação com a placa controle para as mesmas condições, ocorrendo crescimento das hifas e conseqüentemente formação de micélio. Como zinco é um elemento essencial para o metabolismo do fungo, este metal deve ter usado para atividades de germinação, o que deve ter favorecido maior desenvolvimento dos esporos na fase inicial da germinação. Entretanto, no decorrer do experimento foi observado que a germinação tornou-se lenta, como conseqüência da inibição na fase de esporulação em comparação com o controle, porém sem interromper completamente o desenvolvimento.

O aumento da concentração de zinco causa inibição a partir de 100 mg.L⁻¹, com completa inibição a partir de 200 mg.L⁻¹.

O zinco é um componente ou ativador de algumas enzimas, como dehidrogenases; mantêm a integridade de ribossomos, membranas biológicas e também é requerido para o crescimento de microrganismos, contudo concentrações elevadas deste metal podem ser inibitórias ou tóxicas para as atividades celulares e de crescimento, causar inibição da respiração e da germinação de esporos (BABICH; STORTZKY, 1978). Neste trabalho observou-se inibição na esporulação e crescimento do fungo em concentrações superiores a 100 mg Zn(II).L⁻¹.

5.2.2. Efeito da concentração de Cr(VI) na esporulação do fungo *Aspergillus niger* em placas

Nas Figuras 7 e 8 são mostradas as placas inoculadas com esporos de fungo, contendo solução de metais Cr(VI), após 24 e 144 horas de incubação, respectivamente.

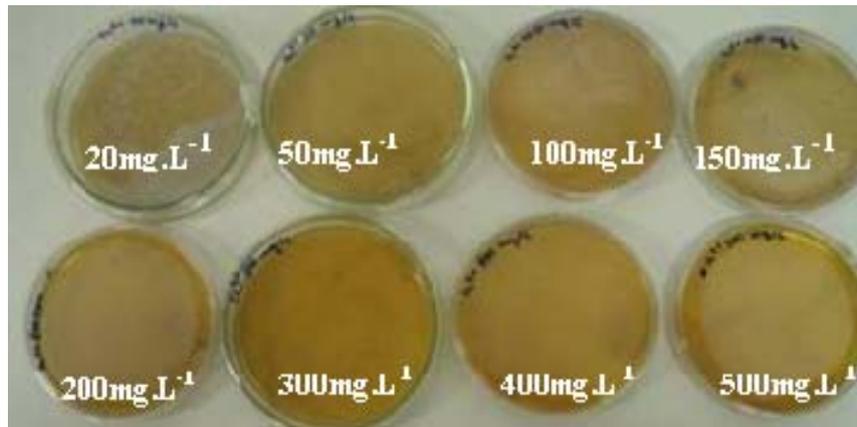


Figura 7- Placas contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 mg Cr(VI).L⁻¹, no meio de crescimento, após 24 horas de incubação.

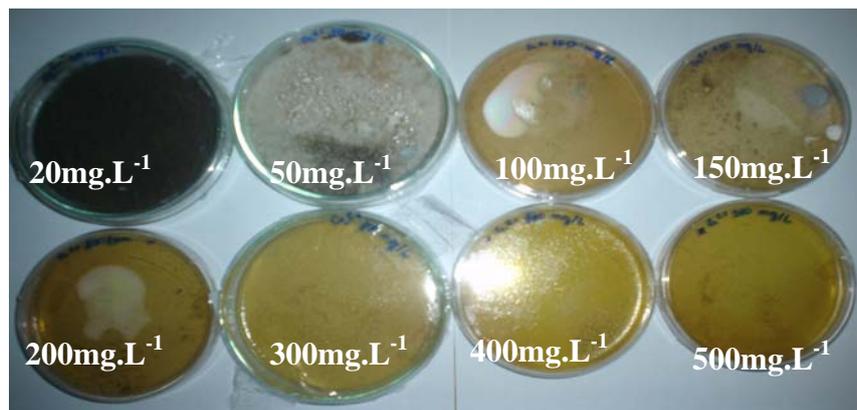


Figura 8- Placas contendo concentrações de 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 Cr(VI)mg .L⁻¹, no meio de crescimento, após 144 horas de incubação.

Para a concentração de 20mg Cr(VI).L⁻¹ não foi observado inibição da germinação de esporos do fungo, ou seja, após 24 horas de incubação a placa contendo 20 mg

Cr(VI).L⁻¹ apresentou crescimento dos esporos semelhante à placa controle, para as mesma condições.

Nas placas contendo 50mg Cr(VI).L⁻¹, observou-se inibição acentuada na fase germinativa do fungo. Entretanto, houve pequeno desenvolvimento entre 96 e 144h horas não chegando, porém, à completa esporulação, isso indica que se o tempo de contato fosse maior do que 144, possivelmente haveria adaptação do fungo a concentração de metal. Segundo Gadd (1992) devido à forte capacidade de formação de composto de coordenação com íons metálicos, os metais exercem efeitos perigosos, tais como bloqueios de grupos funcionais biologicamente importantes ou desnaturação de enzimas. Tais efeitos são inibidos pelos microrganismos através de processos de complexação ou precipitação por liberação de produtos extracelulares.

Para as concentrações superiores a 100mg Cr(VI).L⁻¹ não observou-se desenvolvimento do fungo no tempo de 144h de experimento.

De acordo com os resultados, o Cr(VI) foi mais tóxico ao fungo que o Zn(II), apresentando maior capacidade de inibição na fase germinativa, pois tal inibição ocorreu em concentrações menores quando comparado com o Zn(II).

5.2.3. Efeito da toxicidade de metais Zn(II) e Cr(VI) no crescimento micelial do fungo *Aspergillus niger*

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 11 não houve inibição no crescimento do fungo em concentrações menores que 50mg Zn(II).L⁻¹ e 50mg Cr(VI).L⁻¹ acima desta, foi observado aumento progressivo da inibição do crescimento micelial do fungo com o aumento da concentração dos metais.

Tabela 11. Efeito da dosagem de metais na percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) do *Aspergillus niger* em 144h de crescimento.

Concentração (mg/L)	PIC (%)	
	Zn(II)	Cr(VI)
0	0,00	0,00
20	0,00	0,00
50	0,00	0,00
100	29,38	11,00
150	59,13	100,00
200	72,88	100,00
300	77,88	100,00
400	86,25	100,00
500	100,00	100,00

As médias não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Ezzouhri *et al.* (2009), estudando a influência de metais no crescimento micelial de fungos, constataram que uma linhagem de *Aspergillus niger* isolada de solo contaminado com metais pesados tolerou maior concentração de Cr(VI), 480 mg Cr(VI).L⁻¹, que a registrada neste trabalho. Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os resultados obtidos por Ezzouhri *et al.* (2009), pode-se observar que em microrganismos de mesma espécie, devido à capacidade adaptativa dos fungos, as diferentes linhagens, isoladas de ambientes diferentes, apresentam capacidades de resistência e adaptação diferentes quando expostas ao mesmo metal.

O ED₅₀ para os dois metais está na faixa de concentração de 100 a 150 mg.L⁻¹, pois dos valores de PIC (Tabela 11), observa-se que nesta faixa tem-se inibição de 50% do crescimento micelial.

A taxa de crescimento que correspondeu à faixa de concentração onde se encontra o ED₅₀ foi a dosagem que possibilitou o crescimento do fungo à taxa de 0,025 cm.h⁻¹, ou seja, 50% da taxa de crescimento micelial na placa controle. A taxa de crescimento do fungo foi de 0,05 cm por hora na placa de controle (Tabela 12). Desta maneira, ED₅₀ determinado a partir da taxa de crescimento em horas para os dois metais encontra-se também na faixa entre 100 e 150 mg.L⁻¹.

Tabela 12. Crescimento médio do micélio de *Aspergillus niger* e taxa de crescimento em cm.h^{-1} , em concentrações de) a 500 mg.L^{-1} de Cr(VI) e Zn(II) em 144h de experimento.

Concentração (mg.L^{-1})	Crescimento médio (cm)		Taxa de crescimento (cm.h^{-1})	
	Zn(II)	Cr(VI)	Zn(II)	Cr(VI)
0	8,00	8,00	0,05	0,05
20	8,00	8,00	0,05	0,05
50	8,00	8,00	0,05	0,05
100	5,65	7,12	0,03	0,04
150	3,27	0,00	0,02	0,00
200	2,17	0,00	0,01	0,00
300	1,77	0,00	0,01	0,00
400	1,10	0,00	0,007	0,00
500	0,00	0,00	0,00	0,00

Observando-se a Tabela 12, confirma-se que o fungo apresenta maior tolerância ao Zn(II) do que ao Cr(VI), pois houve maior crescimento do fungo em presença de maiores concentrações de Zn(II) do que de Cr(VI), ratificando a menor toxicidade de zinco para o fungo, já que este é um elemento essencial, enquanto que o Cr(VI) não é.

A partir de 100 mg.L^{-1} observou-se o início da inibição no crescimento micelial do fungo, tanto para Zn(II) quanto para Cr(VI), o que reflete em menor taxa de crescimento micelial na presença de ambos metais (Tabela 12).

A presença de metais pode alterar também a coloração típica do fungo (EZZOUHRI *et al.*, 2009). No caso da Linhagem de *Aspergillus niger* estudada, foi observado um clareamento da pigmentação do micélio, tanto em presença de Zn(II) como em presença de Cr(VI), conforme pode ser observado nas figuras 6 e 8. Tais mudanças são comuns em espécies fungicas.

Em presença de $300 \text{ mg Zn(II).L}^{-1}$ houve inibição do crescimento micelial em 77,80% em relação ao controle (Tabela 11). Se comparado com os resultados obtidos por Babich e Stotzky (1978), em que a adição de $300 \text{ mg Zn(II).L}^{-1}$ ao meio de crescimento reduziu o crescimento micelial de *F. solani*, *C. echinulata*, *A. niger* e *T. viride* para aproximadamente 50% do controle (sem zinco), pode-se observar que a linhagem de

Aspergillus niger isolada do efluente da indústria petrolífera foi menos tolerante ao Zn(II) que a linhagem estudada por Babich e Stotzky (1978), que também observaram que as espécies por eles estudadas, mostraram-se tolerantes a Zn(II). Essa tolerância ao zinco deve ser consequência do requerimento deste metal como micronutriente essencial ao metabolismo de fungos e também na participação da síntese de enzimas.

Também foram observadas diferentes taxas de crescimento do fungo em presença de Zn(II) e Cr(VI) (Tabela 12), indicando que a tolerância do fungo aos metais vai depender do tipo e concentração de metal, e da sua capacidade de adaptação, fato que corrobora com o estudo de Zafar, Aqil e Ahmad (2007), no qual os autores verificaram que a variação na tolerância deve-se a um ou mais tipos de mecanismos de resistência, que podem ser produção de enzimas, como a redutase (SRIVASTAVA; THAKUR, 2006aa), imobilização de metais por formação de complexo, como os quelatos, bioacumulação ou biossorção, entre outros. Não sendo possível identificar o mecanismo de resistência atuante devido à falta de estudos genéticos e moleculares para os fenômenos de tolerância e detoxificação de metais, apresentados por microrganismos. Segundo Srivastava e Thakur (2006b) e Ezzouhri *et al.* (2009) a detoxificação de Cr(VI) por *Aspergillus niger* é mediada por enzimas antioxidantes, tais como as peroxidases, catalase e ascorbato peroxidase.

Nas Figuras 9 e 10 são mostrados o crescimento micelial do fungo nas diferentes concentrações dos metais Zn(II) e Cr(VI), respectivamente. Como o fungo não se desenvolveu nas placas contendo 500 mg Zn(II).L⁻¹ e 500 mg Cr(VI).L⁻¹, estas não estão mostradas nas Figuras 9 e 10.

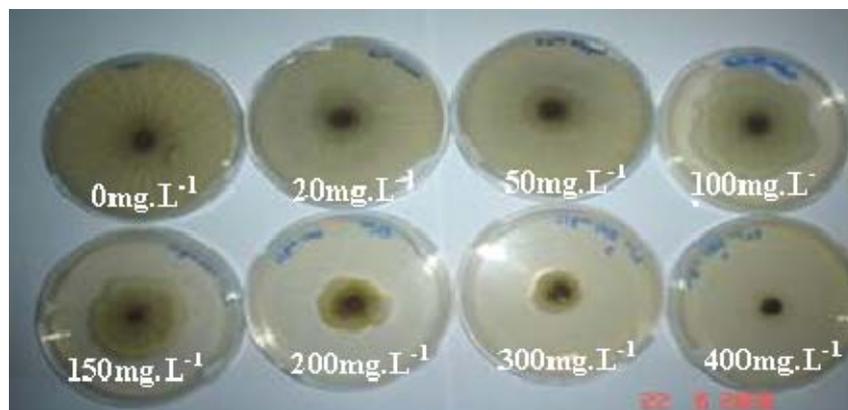


Figura 9- Placas contendo concentrações de 0 (controle), 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 Zn(II) mg.L⁻¹ após 144 horas de incubação.

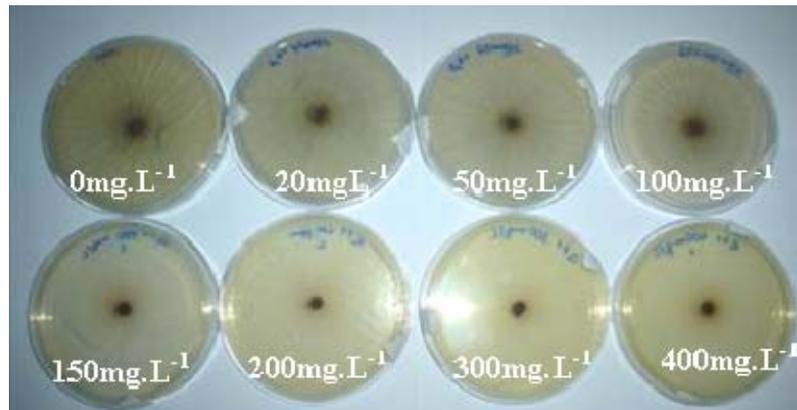


Figura 10- Placas contendo concentrações de 0 (controle), 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400 mg Cr(VI).L⁻¹ após 144 horas de incubação.

De acordo com as Figuras 9 e 10 pode-se observar que à medida que aumentou a concentração de metal houve diminuição no crescimento do micélio, ou seja, houve aumento da inibição, tanto para Zn(II) quanto para Cr(VI), sendo esta mais acentuada para o Cr(VI).

Como os esporos são estruturas muito resistentes é esperado que a fase vegetativa, aquela na qual o micélio já está formado, como no caso dos discos de micélio, seja bastante resistente a condições adversas. Se comparado com o mesmo teste para fase germinativa, observou-se que o fungo *Aspergillus niger*, na fase vegetativa, apresentou maior tolerância aos metais, o que significa que apesar da inibição ser menor na fase vegetativa, o crescimento do fungo não é impedido pela presença destes metais na fase germinativa.

A linhagem de fungo *Aspergillus niger* estudada apresentou níveis de tolerância diferentes para Zn(II) e Cr(VI), podendo ser usado no tratamento de efluentes poluídos com metais, como bio sorvente ou biorremediador, dependendo do tipo e da concentração de metal a ser removido.

Comparando os resultados do teste de inibição do crescimento micelial com os resultados do teste de inibição da esporulação do fungo pode-se observar que o micélio é bem mais tolerante ao Cr(VI) e Zn(II) que a forma germinativa, refletindo diferentes processos biológicos entre as duas formas do fungo (TAVARES; SOUZA, 2005). Como os esporos são estruturas muito resistentes é esperado que a fase vegetativa (micélio) seja bem mais resistente a condições adversas que a fase de germinação (formação dos esporos), como o observado no presente trabalho.

Foi observado também que para as primeiras horas de incubação não foi verificado crescimento, mas com o passar do tempo o fungo se desenvolveu, em ambos os

testes, confirmando sua capacidade de adaptação a condições adversas (VALIX; LOON, 2003). Segundo Zafar, Aqil e Ahmad (2007) a variação na tolerância deve ser devida a um ou mais tipos de mecanismos de resistência, que podem ser produção de enzimas, como a reductase, que convertem metais tóxicos em formas menos tóxicas (SRIVASTAVA; THAKUR, 2006a), imobilização de metais por formação de complexo, como os quelatos.

5.3. Caracterização da biomassa

A biomassa foi caracterizada quanto à morfologia, presença de sítios de adsorção e potencial de carga zero.

5.3.1. Caracterização morfológica da biomassa na forma de “pellets” por microscopia eletrônica de varredura

A morfologia da superfície do “pellet” fúngico é mostrada pela micrografia eletrônica de varredura na Figura 11, na qual é observado que os “pellets” do *Aspergillus niger* possuem estruturas de superfície fibrosa. Esta propriedade de superfície pode ser considerada como um fator que proporciona um aumento na área total de superfície, facilitando a remoção de metais. Aspecto morfológico similar foi observado para outros fungos, como o *Penicillium chrysogenum* (LOW; TING; DENG, 2008). Em estudos de remoção de metais com *Aspergillus niger* na forma micelial, Amini *et al.* (2008) observaram que a superfície interna do micélio do fungo parecia ter paredes com multicamadas, o que não foi observado na micrografia da Figura 11.

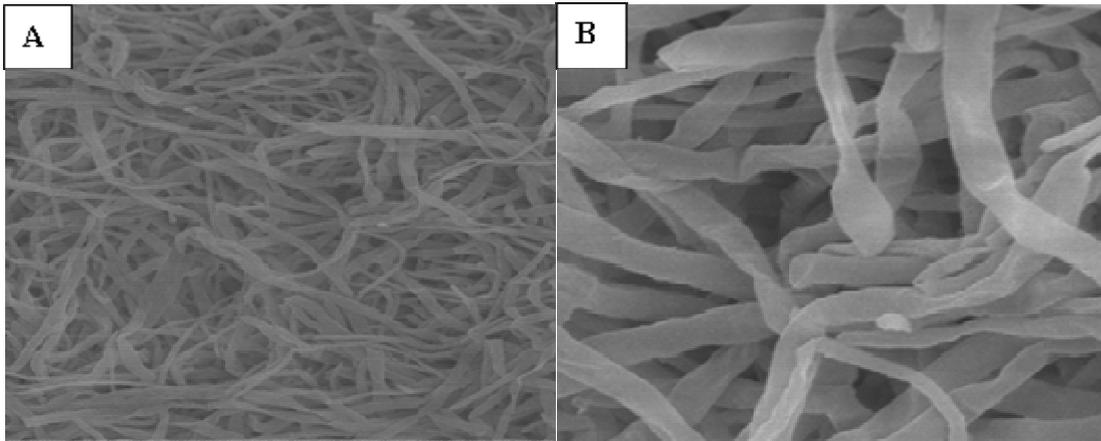


Figura 11- Morfologia da superfície dos ‘pellets’ por microscopia eletrônica de varredura em um aumento de 500 vezes a 20kV (A) e aumento de 2000 vezes a 20 kV(B).

5.3.2. Determinação dos sítios de adsorção empregando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A interpretação de um espectro no infravermelho envolve a correlação entre bandas de absorção do espectro de um composto desconhecido com frequências de absorção conhecidas para tipos de ligações. Os fatores que identificam a fonte de adsorção de uma banda são a intensidade, a forma e a posição da banda no espectro (PANDEY *et al.*, 2009).

O espectro na região do infravermelho para a amostra de biomassa de *Aspergillus niger* está apresentado na Figura 12. Este foi obtido para avaliação dos grupos funcionais presentes na biomassa do fungo, que possam estar envolvidos na bioadsorção e bioacumulação dos Zn(II) e Cr(VI).

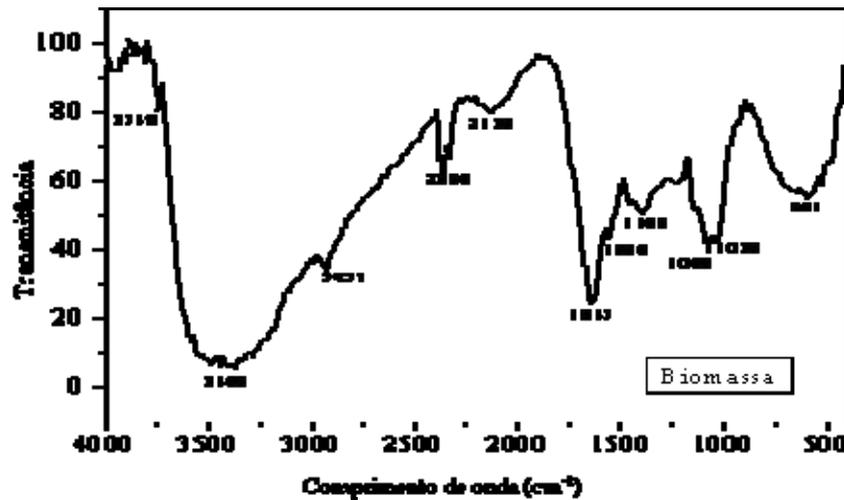


Figura 12- Espectro na região do infravermelho da biomassa do fungo *Aspergillus niger* em pastilha de KBr.

Observou-se uma banda em 2368 cm^{-1} , que é característica da presença de CO_2 . A banda é detectada corriqueiramente nos espectros de FTIR, devido à respiração do analista. Esta banda não foi considerada no estudo por tratar-se de contaminação da amostra por CO_2 do ambiente, apesar de ter sido realizado teste em branco pela leitura da pastilha de KBr sem amostra.

A classificação dos grupos funcionais de acordo com o número de onda característico e suas atribuições é apresentada na Tabela 13.

Tabela 13. Tabela de atribuições de sítios de adsorção na região do infravermelho para a biomassa bruta do fungo *Aspergillus niger*.

Número de onda observado (cm^{-1})	Atribuições
3406	ν assimétrico de NH_2 de amina e grupos $-\text{OH}$ de hidroxilas.
2927	Grupo C-H de alifáticos
2135	Grupo $\text{C} \equiv \text{C}$
1647	ν -CO de amida primária
1558	δ -NH de amida secundária
1406	δ C-H de metil
1080	Ortofosfatos (PO_4^{3-})
1035	Ortofosfatos (PO_4^{3-})
601	δ N-H fora do plano.

$\nu \rightarrow$ Estiramento; $\delta \rightarrow$ Deformação angular.

As bandas que aparecem no espectro da biomassa foram atribuídas a diversos grupos e ligações de acordo com os seus respectivos comprimentos de onda como reportado na literatura (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1994; MUNGASAVALLI; VIRARAGHAVAN; JIN, 2007; PANDEY *et al.*, 2008; PANDEY *et al.*, 2009; SUN *et al.*, 2009; AMINI; YOUNESI; BAHRAMIFAR, 2009a; 2009b).

A banda em 3406 cm^{-1} representa o estiramento assimétrico de NH_2 de amina (AKAR *et al.*, 2009) e o arredondamento dessa banda indica a presença de grupos hidroxila (-OH). Estes grupos são decorrentes da presença de proteínas e grupos acetamina da fração quitina contida na parede celular de fungos e também de glicose (BAI; ABRAHAM, 2002; FISCHER *et al.*, 2006; SUN *et al.*, 2009). Mungasavalli, Viraraghavan e Jin (2007) observaram bandas nessa região em estudos com biomassa de *Aspergillus niger* para bioissorção de cromo. Estes autores observaram que o estiramento do grupo -OH ocorre também devido à presença de ácidos carboxílicos (-COOH), que podem ser identificados em bandas extremamente largas, na faixa de 3430 a 3400. Segundo Tobin, Cooper e Neufeld (1984).

A banda em 2925 cm^{-1} representa o estiramento CH de compostos alifáticos referentes a carboxilas. Kapoor e Viraraghavan (1997) observaram banda em comprimento de onda semelhante. A banda em 2135 é característica de grupos $\text{C} \equiv \text{C}$ de alcinos (DUDLEY; FLEMING, 1995).

Outras bandas importantes identificadas foram 1647 e 1558 cm^{-1} que representam amidas primárias e secundárias, respectivamente (característica de vibração de estiramento - $\text{C}=\text{O}$ de proteínas) e a banda em 3406 cm^{-1} ; estas bandas também foram observadas por Mungasavalli e colaboradores (2007) e reportadas como responsáveis pelo seqüestro de diferentes metais pela biomassa. A banda de intensidade fraca em 1406 foi identificada como banda de deformação axial simétrica de ânion carboxilato ($-\text{COO}^-$).

Outro grupo funcional importante para bioissorção de metais são os fosfatos ($-\text{PO}_4^{3-}$), identificados no espectro pela presença das bandas de absorção em 1080 e 1035 cm^{-1} , bandas identificadas também por Mungasavalli, Viraraghavan e Jin (2007) para biomassa do fungo *Aspergillus niger*. Grupos fosfatos estão presentes principalmente em glicoproteínas da membrana celular dos fungos e são grupos importantes para bioissorção, pois exibem carga negativa acima de pH 3 (SANGHI; SANKARARAMAKRISHNAN; DAVE, 2009).

Tobin, Cooper e Neufeld (1984) têm reportado que grupos funcionais semelhantes a amidas ($-\text{NH}_2$), fosfatos (PO_4^{3-}), carboxil ($-\text{COOH}$), e hidroxilas (-OH) são responsáveis por seqüestro de metais pela biomassa fúngica, como por exemplo, Cr, Th, Mo, V, Ni.

Outra banda encontrada que evidencia a presença de amins e amidas é a banda em 601 cm^{-1} , que representa a deformação angular da ligação N-H fora do plano. (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1994). A região entre 900 e 700 cm^{-1} é identificada como a região de identidade de microrganismos (FISCHER *et al.*, 2006).

Os vários grupos funcionais ionizados são os principais responsáveis pela bioadsorção de metais na parede celular de fungos. A superfície das células dos fungos tem caráter, principalmente, negativo, devido à presença de grupos ionizados em sua parede celular, tais como, carboxil, hidroxilas e fosfatos (DEEPA *et al.*, 2006), tendo assim grande afinidade em remover cátions metálicos, como, Zn(II), Cu(II), Pb(II).

Os grupos amino ionizam-se em solução aquosa aceitando um próton e adquirindo carga positiva, podendo, então, adsorver metais na forma de ânions, como no caso do Cr(VI) que em pH ácido encontra-se predominantemente nas formas $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, HCrO_4^- e Cr_2O_4^- (CONGEEVARAM *et al.*, 2007).

A presença dessas bandas de absorção confirma a capacidade do fungo em remover metais do meio aquoso, pois íons metálicos presentes em solução se ligam a esses grupos funcionais, seja por formação de complexos ou por atração eletrostática. Segundo Mungasavalli, Viraraghavan e Jin (2007) e Bai; Abraham (2002) os grupos amina são os principais responsáveis pela remoção de Cr (VI) na forma de cromatos em solução ácida. A carga negativa dos íons cromato é eletrostaticamente atraída pela carga positiva de amins protonadas presentes na parede celular de *Aspergillus niger*. Entretanto, cátions metálicos são removidos principalmente por grupos carboxila e hidroxilas

A confirmação de grupos amina, fosfato e carboxil sugerem que o bioadsorvente é composto principalmente por quitina e glucana. A parede celular do fungo pode ser considerada como um mosaico de diferentes grupos funcionais que atuam como complexos de coordenação quando em presença de íons metálicos (SANGHI; SANKARARAMAKRISHNAN; DAVE, 2009).

5.3.3. Determinação do ponto de carga zero

O ponto de carga zero (PCZ) da biomassa de *Aspergillus niger* está apresentado na Figura 13. Segundo Nomanbhay e Palanisamy (2005) o PCZ é o ponto em que a superfície ácida (ou básica) dos grupos funcionais não contribui para os valores de pH da solução, ou

seja, é definido como o pH em que a superfície da biomassa fúngica possui carga neutra e se mantém constante independente do pH inicial, comportando-se como um tampão.

Os resultados indicam que os valores de PCZ estão na faixa de 4,4 a 4,6, que é a faixa de convergência das curvas.

A dependência da remoção metais pode ser explicada em termos da carga da superfície do material adsorvente. A carga da superfície é neutra no ponto zero de carga, que se situa entre 4,4 a 4,6 para a biomassa de *Aspergillus niger* estudada. Para valores de pH abaixo do PCZ a superfície fica positivamente carregada e a adsorção de ânions ocorre por atração eletrostática. Acima do PCZ a superfície fica carregada negativamente e a adsorção de cátions é prevalente.

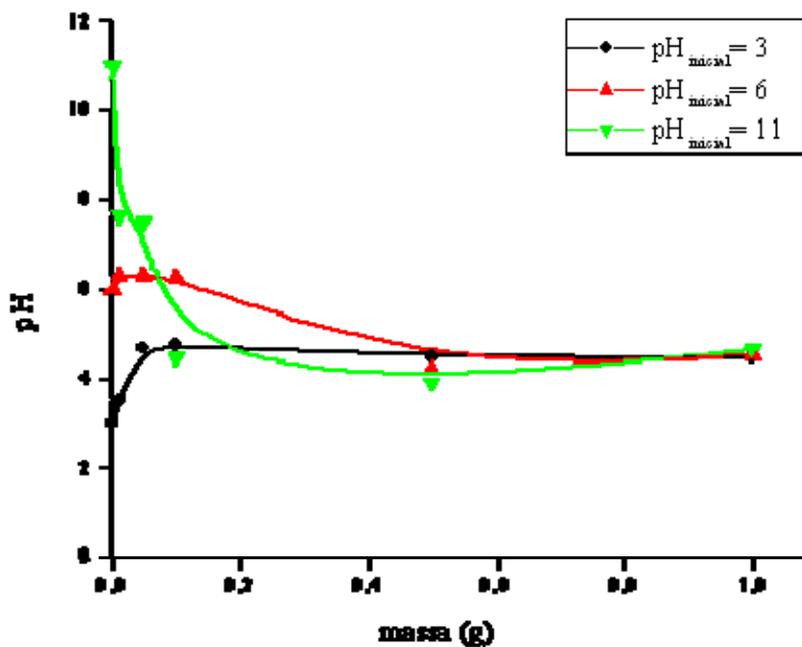


Figura 13- Curvas experimentais para determinação do ponto de carga zero.

5.4. Ensaio de adsorção em batelada para remoção de Cr (VI) e Zn(II)

No processo de adsorção normalmente são empregados os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich para interpretar os dados experimentais de adsorção, devido à facilidade de transformar estas equações para a forma linear e, conseqüentemente, os parâmetros podem ser estimados graficamente.

5.4.1. Efeito da variação do pH

A biossorção de íons metálicos por fungos é afetada por vários fatores, incluindo as propriedades específicas da superfície da parede celular do fungo, propriedades físico-químicas do meio de adsorção, como pH, dosagem de adsorvente e tempo de equilíbrio. Estudos têm mostrado a importância do controle do pH nos experimentos de biossorção (KAPOOR; VIRARAGHAVAN; CULLIMORE, 1999; VASUDEVAN; PADMAVATHY; DHINGRA, 2002; BINGOL; ASLANB; CAKICIA, 2009), pois este parâmetro influencia diretamente a remoção de metais, podendo interferir na especiação e na biodisponibilidade de espécies metálicas, e na carga dos sítios ativos da superfície da parede celular dos fungos (BLÁZQUEZ *et al.*, 2005).

O efeito do pH na remoção de Zn(II) e Cr(VI) foi investigado na faixa de 2,5 a 6,0 tanto para biomassa viva quanto pela biomassa morta.

Na Figura 14 são apresentados os resultados de efeito da variação de pH para a remoção de Zn(II) pela biomassa viva de *Aspergillus niger*. Mudanças no pH da solução mostram diferenças significativas da biossorção de Zn(II) e Cr(VI) pelos dois tipos de biomassa.

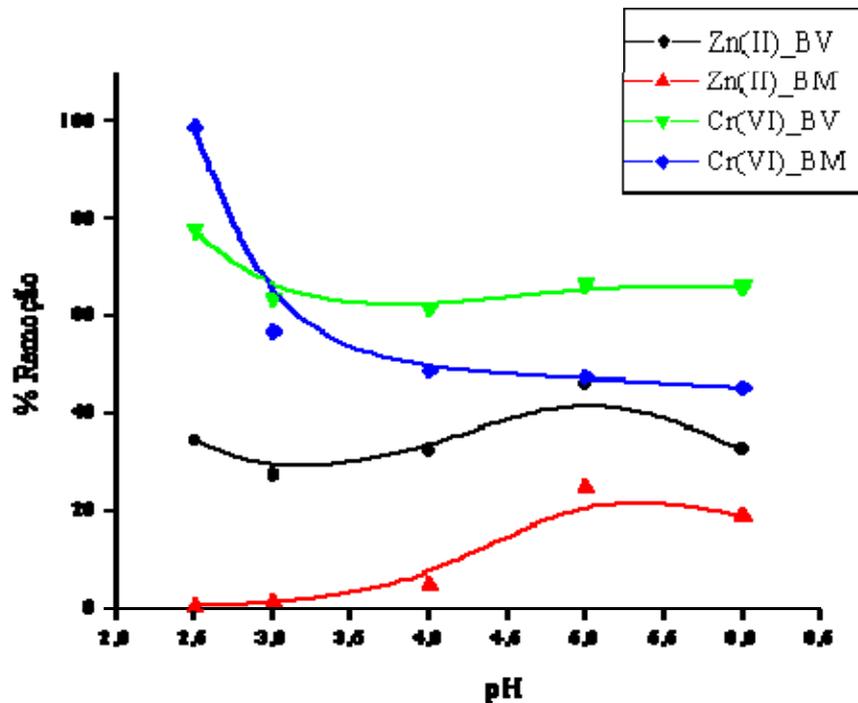


Figura 14- Efeito do pH na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, de *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelmentares de $50\text{mg Zn(II).L}^{-1}$, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50\text{mg Cr(VI).L}^{-1}$, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

De acordo com a Figura 14, observa-se que à medida que se incrementa o pH, a remoção Zn (II) tende a aumentar até atingir um percentual de 46,2% para biomassa viva e de 24,9% para biomassa morta, ambos em pH 5, a partir do qual há um decréscimo na capacidade de remoção de Zn(II). Para pH variando de 2 a 4, observou-se que as percentagens de remoção variaram de 27 a 34%, para biomassa viva e de 0,4 a 5,0% para biomassa morta. O pH ótimo para remoção de Zn(II) foi 5.

Verificando-se o diagrama de especiação de zinco (ANEXO A), observa-se que em pH <7 a espécie iônica predominante é o Zn(II), que está presente principalmente, na forma de Zn(II), encontrando também espécies Zn(OH)⁺, em pequena quantidade (CARROTT *et al.*, 1996; AGRAWAL; SAHU; PANDEY, 2004). Portanto no pH ótimo de remoção de zinco, neste trabalho, a espécie predominante é o Zn(II).

Observando-se o gráfico de ponto de carga zero (Figura 13) em pH 5 a superfície da biomassa encontra-se negativamente carregada o que favorece a adsorção de cátions, no caso Zn(II).

Sag, Kaya e Kutsal (1998) em estudos de remoção de Cu(II) e Zn(II), em batelada, pela biomassa morta de *Rizhopus arrizhus* fizeram ensaios de variação de pH na faixa de 1 a 7, para cada um dos metais isoladamente e observaram que o pH ótimo para remoção destes cátions metálicos encontrava-se na faixa de 4 a 5, o que corrobora com o resultado de pH ótimo, para a remoção de Zn(II) por *Aspergillus niger*, encontrado neste trabalho.

Segundo Pagnanelli *et al.* (2003), com a desprotonação dos sítios ativos, estes se tornam fracamente ácidos, favorecendo a biossorção de cátions metálicos. Entretanto, em pH 6 (tanto para biomassa viva, quanto para biomassa morta) houve redução da percentagem de remoção de Zn(II), ou seja, a remoção caiu para 32% e 18%, respectivamente. Em pH alcalino podem ocorrer outros efeitos que também diminuem a sorção de cátions metálicos pela biomassa, tais como, precipitação na forma de sal e hidratação das espécies metálicas.

A diminuição da percentagem de remoção Zn(II) em valores de pH inferiores, resulta da competição de íons hidrogênio com os cátions metálicos pelos sítios ativos disponíveis para biossorção. Em pH altamente ácido (pH<2), a carga global da superfície da parede celular do fungo fica positiva (SARI; TUZEN, 2009) então, cátions metálicos e prótons competem pelos sítios de ligação, o que diminui a capacidade biossortiva. Yun-Guo *et al.* (2006), reforçam a existência da competição entre H⁺ e o cátion metálico pelo sítio de adsorção.

De acordo com os estudos na região do infravermelho para determinação dos grupos funcionais presentes na superfície da biomassa (resultados mostrados no item 5.3.2)

foram encontrados grupos funcionais, como hidroxilas, carboxilas na superfície da biomassa do fungo *Aspergillus niger*. Em pH próximo de 5, que foi o pH ótimo encontrado neste estudo, estes grupos funcionais ficam negativamente carregados (QAISER; SALEEMI; AHMAD, 2007) facilitando a ligação com íon metálico Zn(II).

Para o Cr(VI), o incremento de pH faz com que a remoção diminua (Figura 14), e o pH ótimo para remoção de Cr(VI) é 2,5, para um percentual de remoção de 77,5% para biomassa viva e de 98,7% para biomassa morta. Observou-se que à medida que o pH aumentou a remoção de Cr(VI) diminuiu.

O cromo exibe diferentes tipos de equilíbrio dependendo do pH da solução (ANEXO B). Na faixa de pH de 2 a 6 as espécies predominantes no equilíbrio são HCrO_4^- e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Os íons HCrO_4^- predominam em pH ácido mas, conforme se aumenta o pH da solução, estes íons se convertem em $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Em $\text{pH} > 8$ predomina a existência de uma única espécie, o CrO_4^{2-} . Em $\text{pH} < 2$ há formação de espécies de óxidos de cromo polimerizadas $\text{Cr}_3\text{O}_{10}^{2-}$ e $\text{Cr}_4\text{O}_{13}^{2-}$ (KARTHIKEYAN; RAJGOPAL; MIRANDA, 2005; KUMAR; BISHNOI; GARIMA; BISHNOI, 2008). Considerando que o melhor desempenho de remoção de Cr(VI) ocorreu em pH 2,5 sugere-se que a forma HCrO_4^- foi a forma preferencialmente adsorvida pela biomassa estudada. Segundo Bingol *et al.* (2004) a espécie iônica HCrO_4^- é a forma iônica predominante de pH 2 a 4.

O pH ótimo para remoção de Cr(VI) foi 2,5. De acordo com o gráfico de ponto de carga zero (Figura 13) em pH 2,5 a superfície encontra-se positivamente carregada o que favorece a adsorção de espécies aniônicas. Escolheu-se trabalhar com pH superior a 2,5 para evitar a formação de espécies moleculares, H_2CrO_4 , em solução, pois nesta forma o cromo não está disponível para ser bioissorvido.

Com base no exposto, escolheu-se trabalhar com pH 5 para remoção de Zn(II) e com pH 2,5 para remoção de Cr(VI).

5.4.2. Efeito da dosagem do adsorvente

A dosagem de biomassa é um parâmetro importante por que determina a quantidade mínima de bioissorvente para capacidade máxima de remoção do íon metálico.

Foram realizados experimentos individuais para cada metal. A Figura 15 mostra a percentagem de remoção de Zn(II) e de Cr(VI) em função da dosagem de biomassa viva e a Figura 16, em função da dosagem de biomassa morta.

Na determinação da quantidade de biomassa ótima para a remoção de Zn(II) e Cr(VI) foram testadas dosagens de adsorvente variando na faixa 0 a 180g de biomassa viva por litro de solução de metal e dosagens de 0 a 40 g de biomassa morta por litro de solução de metal.

Observou-se que a percentagem de remoção dos metais pela biomassa viva (Figura 15) variou de 34 a 50% para Zn(II) para a concentração de 20g.L^{-1} e 100g.L^{-1} , respectivamente, sendo esta menor que a percentagem de remoção de Cr(VI), para biomassa viva, que variou de 43 a 99,6%. A remoção máxima foi observada em dosagens de biossorvente de 100mg.L^{-1} para Zn(II) e de 80mg.L^{-1} para o cromo, a partir destas concentrações há uma estabilização na remoção destes íons, indicando saturação dos sítios de adsorção na biomassa.

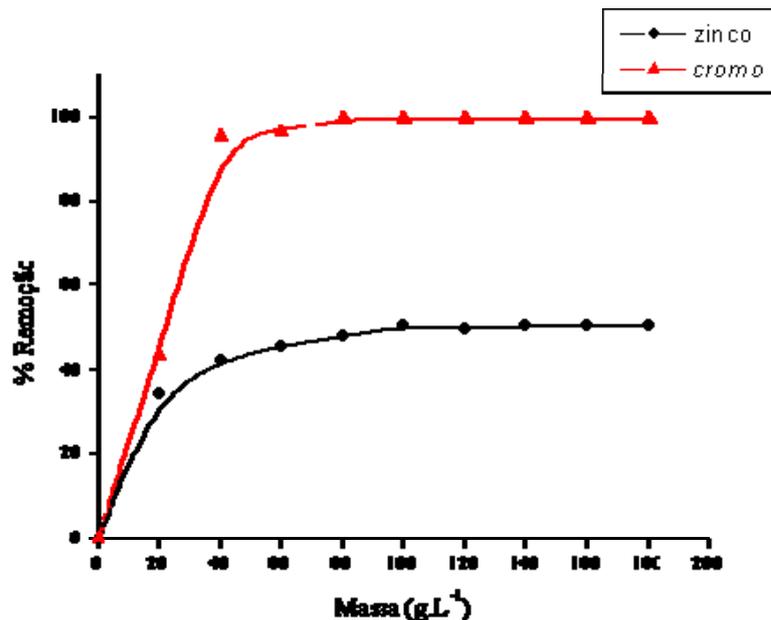


Figura 15- Efeito da dosagem de biomassa na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva. Condições: soluções monoelementares de $50\text{mg Zn(II).L}^{-1}$, pH 5,0, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e de $50\text{mg Cr (VI).L}^{-1}$, pH2,5, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

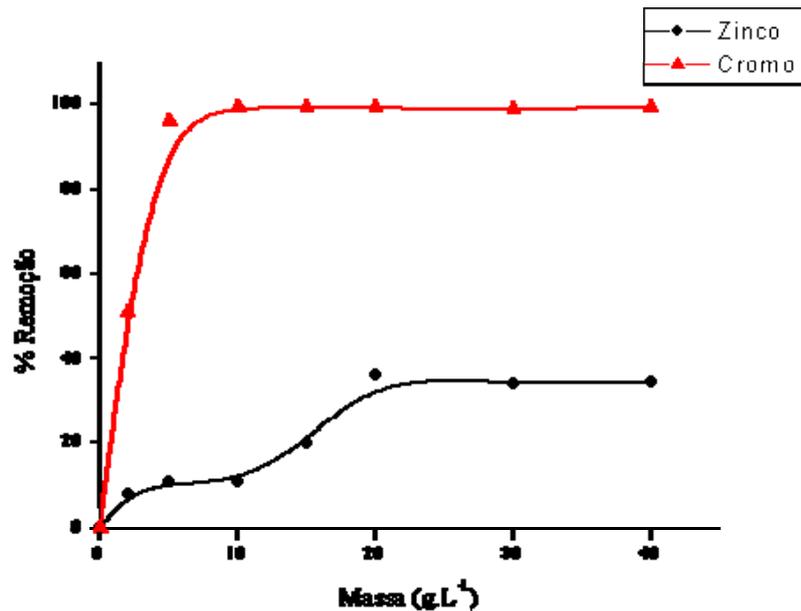


Figura 16- Efeito da dosagem de biomassa na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L⁻¹, pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L⁻¹, pH2,5, 24h, 28 ± 2°C.

Na Figura 16 são observadas as curvas de remoção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta. Observou-se que a dosagem de biomassa em que se teve maior percentagem de remoção de Zn(II) foi de 20g.L⁻¹, com remoção de 36% e de Cr(VI) foi de 10g.L⁻¹, com remoção de 99,1%. A partir dessas concentrações de bioissorvente houve estabilização na remoção, assim como para biomassa viva, indicando saturação dos sítios de adsorção da biomassa.

O aumento de remoção dos metais pelo aumento da dosagem de biomassa pode ser atribuído ao aumento do número de sítios de adsorção disponíveis, mas se este aumento for superior à dosagem ótima de bioissorvente, a bioissorção pode ficar comprometida, tanto pela saturação do bioissorvente quanto pelas interações eletrostáticas entre os sítios ativos do bioissorvente. Segundo Romera *et al.* (2007) concentrações elevadas de bioissorvente por volume de solução podem exercer um efeito de carapaça sobre os sítios de adsorção, protegendo-os de serem ocupados por íons metálicos.

Comparando-se as Figuras 15 e 16, observou-se que a remoção de Cr(VI) foi maior que a remoção de Zn(II), tanto para biomassa morta quanto para biomassa viva.

As dosagens de bioissorvente ótimas obtidas experimentalmente para remoção de Zn(II) foram 100g de biomassa viva. L⁻¹ e 20g de biomassa morta. L⁻¹ e para remoção de Cr(VI) foram 80g de biomassa viva. L⁻¹ e 10g de biomassa morta. L⁻¹.

5.4.3. Cinética de adsorção

O estudo cinético foi realizado para se estabelecer o tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio de adsorção, mantendo constantes a concentração, o pH e a dosagem de biossorvente.

5.4.3.1. Efeito do tempo de contato

O tempo necessário para que o equilíbrio seja atingido em sistemas de biossorção é função de vários fatores tais como, o tipo de biomassa (quantidade e tipos de grupos funcionais envolvidos na biossorção), o tamanho e a forma da biomassa, o estado da biomassa (viva ou morta), além do metal envolvido no sistema (WANG; QIN, 2006).

Para determinar o tempo de equilíbrio para a biossorção de Zn(II) e Cr(VI), tanto pela biomassa viva quanto pela biomassa morta, variou-se o tempo de contato de 0 a 1440 minutos em 28 ± 2 °C, mantendo-se massa de adsorvente, pH e concentração de adsorvato constantes.

Na Figura 17 estão apresentados os resultados referentes à percentagem de remoção de Zn(II) e Cr(VI), pela biomassa viva, em função do tempo.

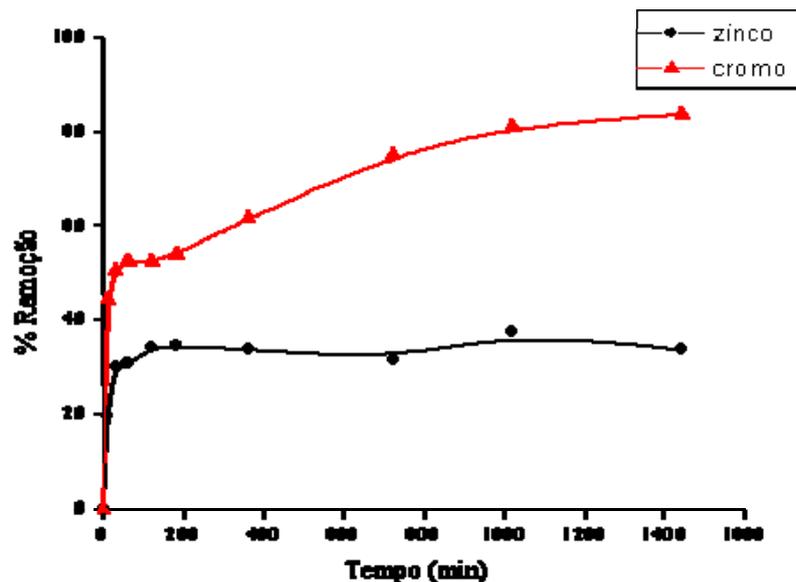


Figura 17- Efeito do tempo de contato na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva. Condições: soluções monoelementares de $50\text{mg Zn(II).L}^{-1}$, $C_{\text{biomassa}} = 100\text{mg. L}^{-1}$, pH 5,0, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e de $50\text{mg Cr (VI).L}^{-1}$, $C_{\text{biomassa}} = 80\text{mg. L}^{-1}$, pH 2,5, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

De acordo com o gráfico da Figura 17 verificou-se que o processo de adsorção de Zn(II) pela biomassa viva ocorre em duas fases, uma fase inicial rápida, na qual houve remoção de aproximadamente 31% com 30 minutos de experimento, seguida de uma fase lenta, na qual a remoção foi de 7% em comparação com a fase rápida. O equilíbrio foi atingido após aproximadamente 180 minutos de contato, ou seja, somente após 3h. No tempo de equilíbrio foi observada remoção de 37,3 % de Zn(II). Após esse período a remoção de íons Zn(II) houve pequena variação com o tempo. O processo de biossorção pode ser considerado rápido, pois nos primeiros 10 minutos, 84% da quantidade total de metal retido pela biomassa já havia sido biossorvido pela biomassa.

A biossorção de Cr(VI) pela biomassa viva (Figura 17) também ocorreu em duas etapas, como para o Zn(II). Nos primeiros 10 minutos foi observada remoção de 44% de Cr(VI) da solução. Numa segunda etapa, que se processa por um longo período de tempo, de aproximadamente 1430 minutos, a remoção continuou até um total de 83%, e a curva tendeu para o equilíbrio após 1020 minutos de experimento (17h). Khambhaty *et al.* (2009) observaram o mesmo perfil de curva cinética para biossorção de Cr(VI) por uma espécie marinha de *Aspergillus niger*.

Para ambos os metais, Zn(II) e Cr(VI) a cinética de remoção pela biomassa viva pode ser considerada rápida, pois os maiores percentuais da remoção ocorreram nos primeiros 30 minutos de contato para a remoção de Zn(II) e primeiros 10 minutos de contato para Cr(VI).

Na Figura 18 observou-se os resultados referentes à remoção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta de *Aspergillus niger* em função do tempo de contato. A partir dos resultados obtidos para remoção de Zn(II) pela biomassa morta observou-se, que a maior parcela da adsorção de Zn(II) ocorreu nos primeiros 10 min (25%). O equilíbrio foi atingido após 180 minutos de experimento. Portanto, a cinética é descrita em duas fases, uma fase rápida (fisissorção) seguida por uma fase lenta (quimissorção).

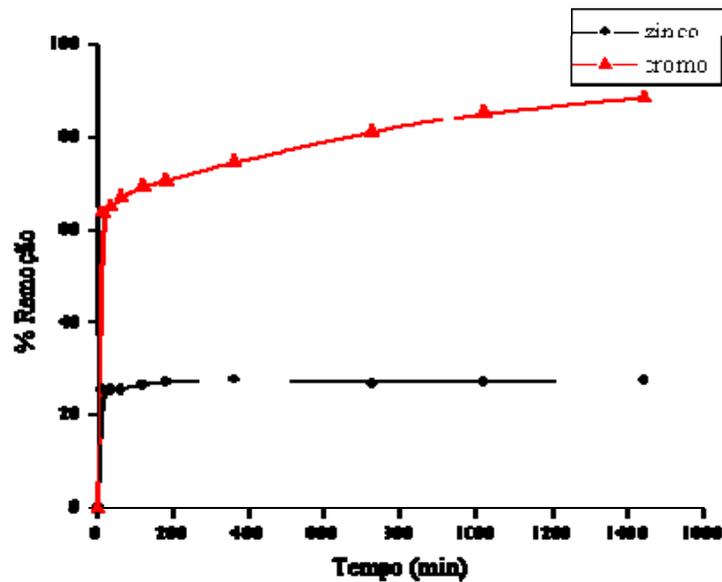


Figura 18- Efeito do tempo de contato na remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L⁻¹, C_{biomassa}= 20mg. L⁻¹, pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L⁻¹, C_{biomassa}= 10mg. L⁻¹, pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.

Para o Cr(VI) (Figura 18) a remoção também se processou em duas fases, a primeira caracterizada como rápida, na qual observou-se remoção de 63%, nos primeiros 30 minutos de contato, seguida por uma fase lenta. Não foi alcançado equilíbrio no tempo máximo estudado (1440 minutos).

Para ambos os tipos de biomassa observou-se maior afinidade por Cr(VI) que por Zn(II).

De acordo com Chen *et al.* (2005) a bioissorção com biomassa viva acontece em duas fases, pois a remoção do metal ocorre tanto por processos metabolicamente independentes (bioissorção na superfície do adsorvente, considerado como rápido) quanto por processos metabolicamente dependentes (a bioacumulação, considerada como processo lento).

Nos experimentos de cinética de adsorção (Figuras 17 e 18) a maior parte do metal foi bioissorvido na superfície do adsorvente (na etapa rápida), indicando que o processo de bioissorção prevaleceu em relação à bioacumulação para remoção de Zn(II) e de Cr(VI) pelo fungo estudado, tanto para biomassa viva quanto para biomassa morta. O mesmo comportamento foi observado por Liu *et al.* (2006) para remoção de Zn(II) pela biomassa viva de *Aspergillus niger*.

A rápida razão de adsorção observada no início do experimento pode ser explicada pela grande disponibilidade de sítios ativos vazios aptos a adsorver íons metálicos. Isto é um indicativo de que a adsorção ocorre principalmente na camada superficial externa do biossorvente e se dá por interações físicas e químicas entre biomassa e íons metálicos (CHEN *et al.*, 2005). Com a ocupação gradual destes sítios a sorção começa a perder eficiência na fase lenta, como foi observado nos gráficos de percentual de remoção em função do tempo (Figuras 17 e 18).

É desejável que a adsorção ocorra rapidamente para o sucesso da aplicação de biomassas como adsorvente, pois desta forma há pouco tempo de contato entre o adsorvente e adsorvato (SAG; KUTSAL, 2000), além de ser um indicativo de que o metal foi retido pela biomassa através de interações físico-químicas (CHEN *et al.*, 2005).

5.4.3.2. Aplicação dos modelos cinéticos

Nas Figuras 19 e 20 pode-se observar os gráficos resultantes da aplicação dos dados de remoção de Zn(II) e Cr(VI), pelas biomassas viva e morta, em função do tempo, obtidos experimentalmente, ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem que é representado pela equação 8:

$$\log(Q_e - Qt) = \log Q_e - \left(\frac{K_1}{2,303} \right) t \quad (\text{Eq. 8})$$

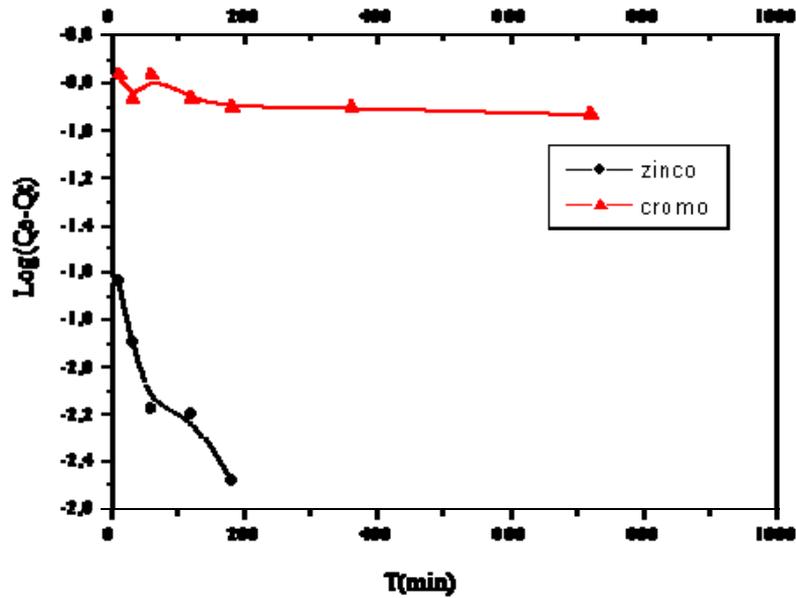


Figura 19- Modelo cinético de pseudo-primeira ordem para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do fungo *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelementares de $50\text{mg Zn(II).L}^{-1}$, $C_{\text{biomassa}} = 100\text{mg. L}^{-1}$, pH 5,0, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e de $50\text{mg Cr (VI).L}^{-1}$, $C_{\text{biomassa}} = 80\text{mg. L}^{-1}$, pH 2,5, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

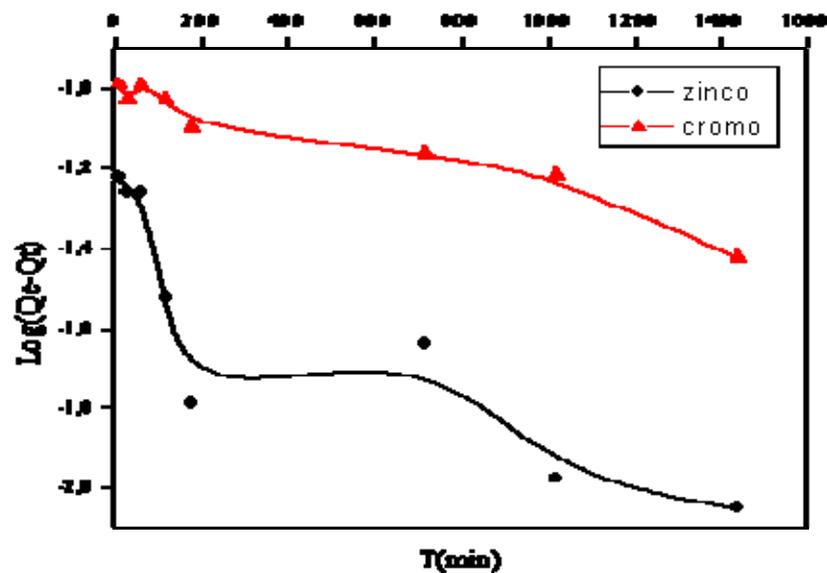


Figura 20- Modelo cinético de pseudo-primeira ordem para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta do fungo *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelementares de $50\text{mg Zn(II).L}^{-1}$, $C_{\text{biomassa}} = 20\text{mg. L}^{-1}$, pH 5,0, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e de $50\text{mg Cr (VI).L}^{-1}$, $C_{\text{biomassa}} = 10\text{mg. L}^{-1}$, pH 2,5, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

Nas Figuras 21 e 22 são mostrados os gráficos resultantes da aplicação dos dados de remoção em função do tempo obtidos experimentalmente, ao modelo de pseudo-segunda ordem, para as biomassas, viva e morta. Este modelo cinético é representado pela equação 11:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \left(\frac{1}{Q_e} \right) t \quad (\text{Eq. 11})$$

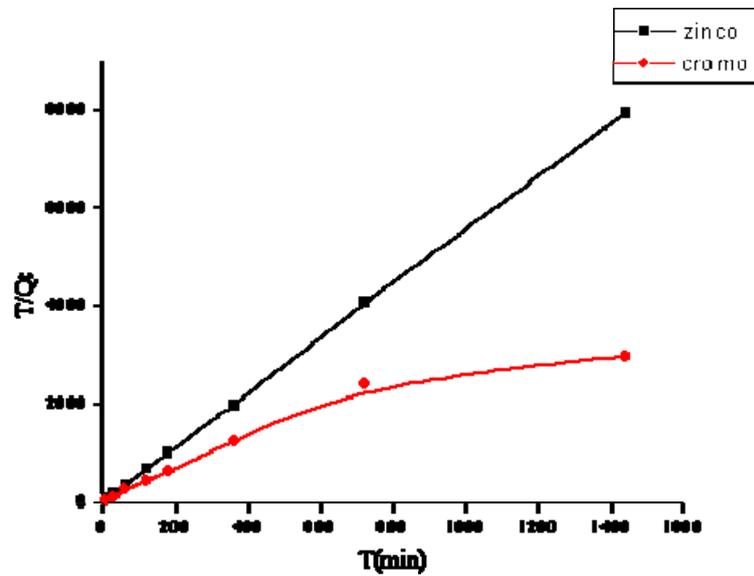


Figura 21- Modelo cinético de pseudo-segunda ordem para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do fungo *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L⁻¹, C_{biomassa}= 100mg.L⁻¹, pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L⁻¹, C_{biomassa}= 80mg. L⁻¹, pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.

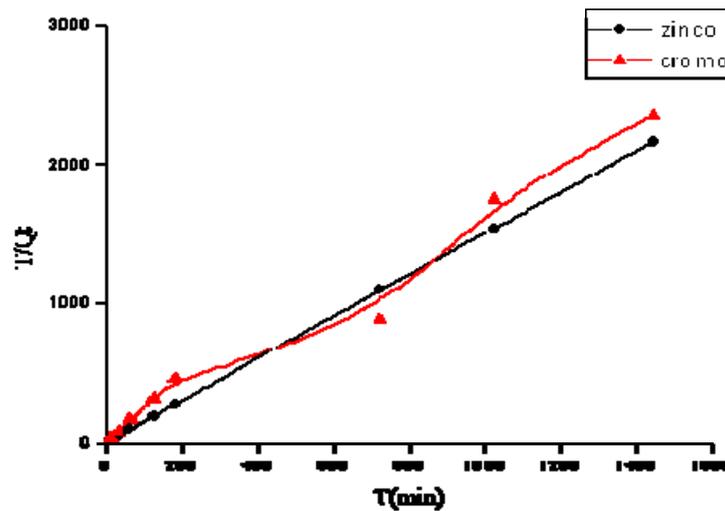


Figura 22- Modelo cinético de pseudo-segunda ordem para remoção dos íons Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta do fungo *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L⁻¹, C_{biomassa}= 20mg. L⁻¹, pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L⁻¹, C_{biomassa}= 10mg. L⁻¹, pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.

Nas Figuras 23 e 24 estão apresentados os gráficos do modelo cinético de difusão intrapartícula para remoção de Zn(III) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, respectivamente. O modelo de difusão intrapartícula foi obtido pela curva de Q_t em função de $T^{1/2}$. Se a difusão intrapartícula ocorre o gráfico obtido deverá ser linear e passar pela origem (NAMASIVAYAM; KAVITHA, 2003; KHAMBHATY *et al.*, 2009), caso estas condições não sejam atendidas, o modelo não se torna representativo para o mecanismo de adsorção estudado.

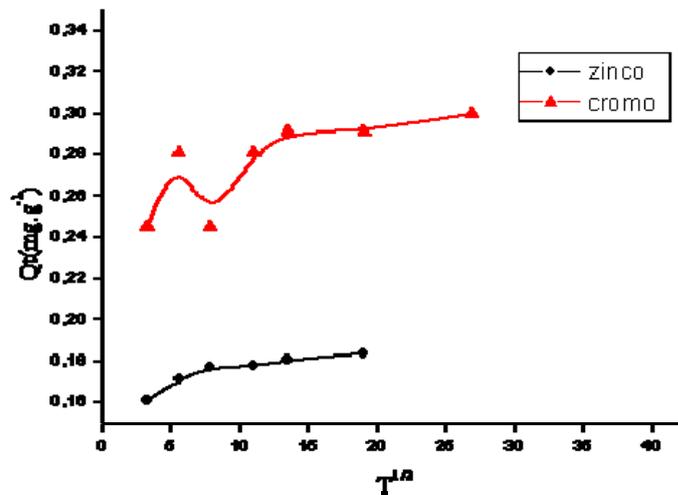


Figura 23- Modelo cinético de difusão intrapartícula para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do fungo *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L⁻¹, C_{biomassa}= 100mg. L⁻¹, pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L⁻¹, C_{biomassa}= 80mg. L⁻¹, pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.

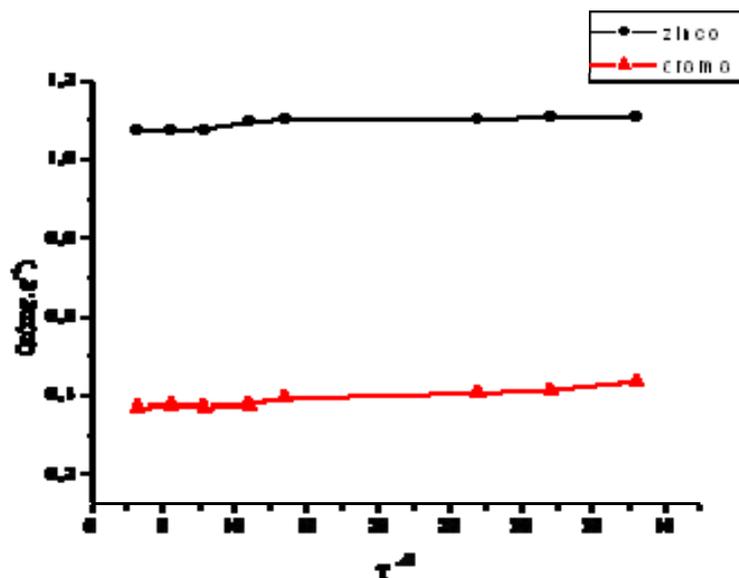


Figura 24- Modelo cinético de difusão intrapartícula para remoção do íon Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa morta do fungo *Aspergillus niger*. Condições: soluções monoelementares de 50mg Zn(II).L⁻¹, C_{biomassa}= 20mg. L⁻¹, pH 5,0, 24h, 28 ± 2°C e de 50mg Cr (VI).L⁻¹, C_{biomassa}= 10mg. L⁻¹, pH 2,5, 24h, 28 ± 2°C.

Os valores de capacidade de sorção (Q), constantes de velocidade (K) e respectivos coeficientes de correlação linear (R^2) que foram obtidos por regressão linear dos dados dos gráficos experimentais dos modelos de pseudo-primeira, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula são mostrados na Tabela 14.

Os resultados mostrados na Tabela 14, indicaram que os valores de capacidade de sorção calculados, Q_1 e Q_2 , apresentam concordância com os valores de Q_{exp} , tanto para Zn(II) quanto para Cr(VI), para as biomassas viva e morta, indicando que a cinética de adsorção estudada é melhor representada pelos modelos de pseudo-primeira ordem e pseudo segunda ordem, em conjunto, ou seja, o processo de adsorção se dá, tanto por forças de natureza física quanto química.

Os mecanismos físicos envolvem forças mais fracas como de Vander Waals, enquanto que os mecanismos envolvem reações de compartilhamento de elétrons através de forças de valência ou troca iônica, entre adsorvente e o adsorvato (MOHAN; SINGH; SINGH, 2006)

Uma avaliação quantitativa dos modelos cinéticos requer que os coeficientes de correlação (R^2) sejam comparados. Através dos coeficientes de correlação calculados para os gráficos obtidos nas Figuras 19 a 24, observou-se que modelo de pseudo-segunda ordem apresentou valores R^2 superiores a 0,99 para remoção de Zn(II) e Cr(VI), pelos dois tipos de biomassa, enquanto os modelos de pseudo-primeira ordem e difusão intrapartícula apresentaram valores de R^2 que variaram de 0,39 a 0,95.

Apesar do modelo de pseudo-primeira ordem apresentar menores valores de R^2 que o modelo de pseudo-segundo ordem, para os dois metais estudados, tanto os valores de Q_1 quanto de Q_2 apresentaram boa correlação com os valores de Q_{exp} indicando que o processo de biossorção de Cr(VI) e Zn(II) pelas biomassas, viva e morta, é controlado por uma combinação dos dois mecanismos, físico e químico.

Em estudos de biossorção de Cr(VI) e Zn(II) por biomassa algal, Vilar *et al.*(2007) também observou que o processo de biossorção apresentava dois mecanismos limitantes, a difusão do adsorvato para superfície externa do adsorvente e a reação química. A presença de mais de um mecanismo é um indicativo de que o processo de biossorção é complexo (LIU; LIU, 2008; LIU; SHEN, 2008).

Segundo Shek (2009) a reação de pseudo-primeira ordem (Lagergren), geralmente, é mais adequada para os estágios iniciais do processo de adsorção, ou seja, primeiros 30 minutos de contato entre o adsorvente e o adsorvato (ASKU; TEZER, 2000; MOHAN; SINGH; SINGH, 2006) o que corrobora com os resultados obtidos, nesta pesquisa,

para a biossorção de metais por biomassa fúngica, na qual observou-se que nos primeiros minutos de contato entre o adsorvente e o adsorvato ocorreu rápida adsorção dos íons metálicos, Cr(VI) e Zn(II), o que é característico de ligação por físicas, tais como as forças de Vander Waals (MOHAN; SINGH; SINGH, 2006).

Entretanto o modelo de difusão intrapartícula (Figuras 23 e 24) não se ajustou adequadamente aos dados experimentais. Este modelo não é representativo, pois a reta Q_t versus $t^{1/2}$ não passa pela origem, como mostrado nos gráficos das Figuras 23 e 24. Portanto, o processo de adsorção estudado, tanto para biomassa viva quanto para biomassa morta, não é controlado pela difusão da solução de metal nos microporos do adsorvente, no caso a biomassa.

Tendo em vista, que os modelos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem apresentaram maiores valores coeficiente de correlação e os valores de capacidade de sorção foram muito próximos aos valores de capacidade de sorção experimental, conclui-se que o processo de adsorção é controlado por interações de natureza físicas e químicas entre os grupos funcionais presentes nas biomassas e os metais em estudo.

Tabela 14. Parâmetros cinéticos para adsorção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva e morta do fungo *Aspergillus niger*.

Tipo de biomassa	Íon	Experimental		Cinética de 1ª ordem			Cinética de 2ª ordem			Difusão Intrapartícula	
		C _o (mg.L ⁻¹)	Q _{exp} (mg.g ⁻¹)	K ₁ (min ⁻¹)	Q ₁ (mg.g ⁻¹)	R ²	K ₂ (g.mg ⁻¹ .min ⁻¹)	Q ₂ (mg.g ⁻¹)	R ²	K _f (g.mg ⁻¹ .min ^{-1/2})	R ²
Viva	Zn(II)	50	0,1836	0,0099	0,1503	0,864	2,397	0,1813	0,999	0,1700	0,399
Morta	Zn(II)	50	0,6753	0,0011	0,6212	0,744	0,3996	0,6661	0,999	1,0741	0,739
Viva	Cr(VI)	50	0,4163	0,0007	0,0338	0,806	0,1306	0,3330	0,992	0,2614	0,756
Morta	Cr(VI)	50	0,4346	0,0009	0,4326	0,951	5,5250	0,43146	0,998	0,3733	0,931

5.4.4. Isotermas de adsorção

O equilíbrio de adsorção fornece dados físico-químicos fundamentais para a avaliação da aplicabilidade de processos de sorção como unidade de operação.

O estado de equilíbrio é descrito, geralmente, por uma equação de isoterma, cujos parâmetros expressam as propriedades de superfície e a afinidade do adsorvente, em temperatura e pH fixos (YAMAMURA; YAMAMURA, 2005). Assim, é essencial que se faça uma descrição matemática exata da isoterma de equilíbrio para uso de um determinado adsorvente em um processo de separação.

Nas Figuras 25 a 28 estão apresentadas as isotermas de adsorção experimentais para remoção de Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, de *Aspergillus niger*.

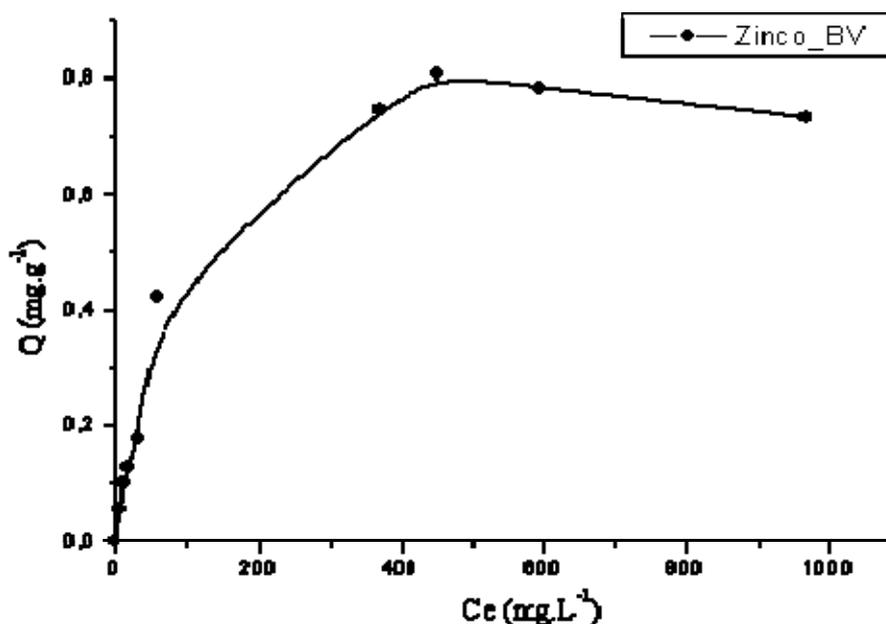


Figura 25- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Zn(II) pela biomassa viva do fungo *Aspergillus niger*. Condições: $C_{\text{biomassa}} = 100 \text{ mg. L}^{-1}$, pH 5,0, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

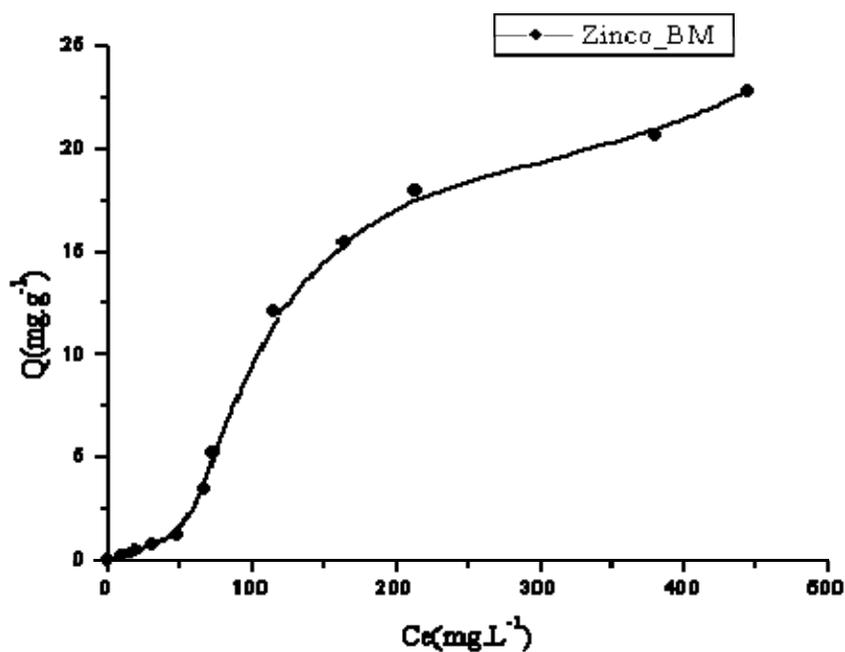


Figura 26- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Zn(II) pela biomassa morta do fungo *Aspergillus niger*. Condições: $C_{\text{biomassa}} = 20 \text{ mg. L}^{-1}$, pH 5,0, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

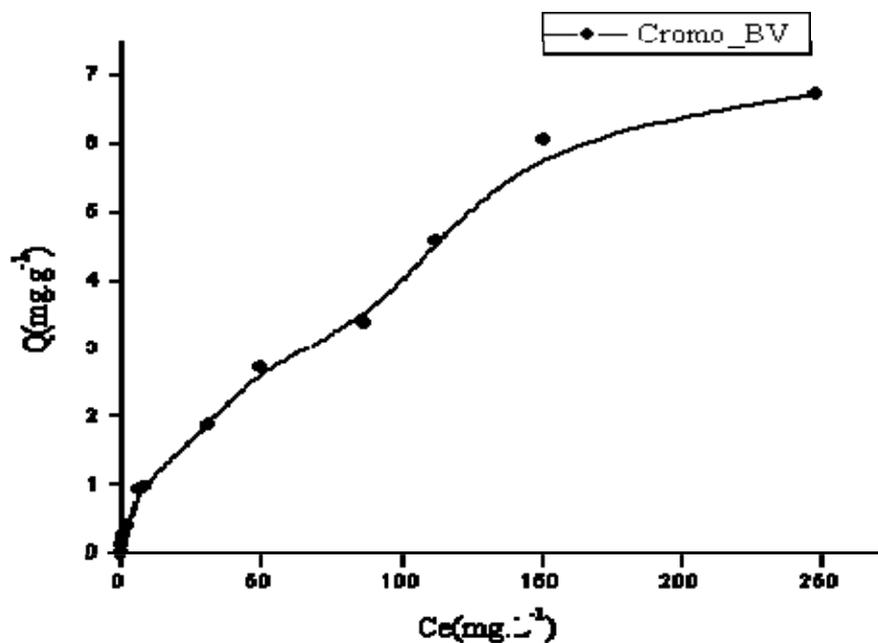


Figura 27- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Cr(VI) pela biomassa viva do fungo *Aspergillus niger*. Condições: $C_{\text{biomassa}} = 80 \text{ mg. L}^{-1}$, pH 2,5, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

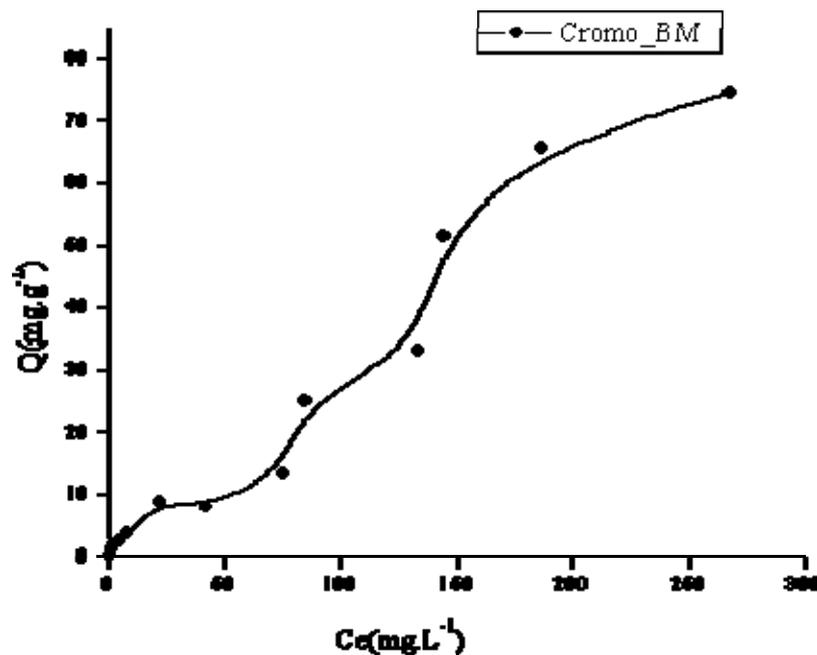


Figura 28- Isoterma de adsorção experimental para remoção de Cr(VI) pela biomassa morta do fungo *Aspergillus niger*. Condições: $C_{\text{biomassa}} = 10 \text{ mg. L}^{-1}$, pH 2,5, 24h, $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

O formato das isotermas fornece informações importantes sobre o processo de sorção. As isotermas obtidas podem ser classificadas quanto à forma, de acordo com a classificação de Giles *et al.* (1974) apud Hinz (2001) que dividiu as isotermas em quatro tipos principais: isotermas do tipo S (esférica), L (Langmuir), H (alta afinidade) e C (partição constante).

As isotermas obtidas nas Figuras 25 e 27 para remoção de Zn(II) e Cr(VI), pela biomassa viva, enquadram-se na classe de isoterma tipo L, a qual possui inclinação não linear e côncava em relação ao eixo da concentração de adsorvato. Este tipo de classe baseia-se no comportamento de sorção a baixas concentrações (HINZ, 2001). Segundo Giles *et al.* (1974) a medida em que os sítios vão sendo preenchidos, torna-se mais difícil para íons metálicos encontrar sítios vazios no adsorvente.

A isoterma para remoção Zn(II) pela biomassa morta (Figura 26) apresenta forma sigmoide, enquadrando-se na classe de isoterma tipo S. Este tipo de curva apresenta baixa adsorção inicial, que aumenta à medida que o número de moléculas adsorvidas aumenta, isso significa que há uma associação entre moléculas adsorptivas chamada de adsorção cooperativa (FALONE; VIEIRA, 2004).

A isoterma experimental para remoção de Cr(VI) pela biomassa morta (Figura 28) enquadra-se na classe L-4 da classificação de Giles *et al.* (1974), que representa adsorção em multi-camadas.

Na Figuras 29 a 32 são apresentadas curvas comparativas entre as isotermas experimentais obtidas pela adsorção de Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, com os modelos de isotermas de Langmuir e Freundlich.

De acordo com a análise dos gráficos das Figuras 29 a 32, observou-se que para baixas concentrações de adsorvato (menores que 50 mg.L⁻¹) o processo de adsorção de Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassas viva e morta ajustaram-se tanto ao modelo de isoterma de Langmuir quanto ao modelo de Freundlich. Em concentrações maiores de adsorvato (superiores a 50 mg.L⁻¹) prevaleceu o modelo de Freundlich para ambos tipos de biomassa.

No processo de adsorção normalmente são empregados os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich para interpretar os dados experimentais de adsorção, devido à facilidade de transformar estas equações para a forma linear e, conseqüentemente, os parâmetros podem ser estimados graficamente.

Os dados da isoterma experimental foram aplicados aos modelos de Langmuir e Freundlich. Estes modelos descrevem o equilíbrio estabelecido entre a quantidade de adsorvato presente na superfície da biomassa (Q_{\max}) e a quantidade de adsorvato que fica na solução (C_e).

O modelo proposto por Langmuir baseia-se no pressuposto de que todos os sítios de adsorção na superfície do adsorvente possuem mesma afinidade pelo adsorvato e que a adsorção ocorre em monocamadas (HINZ, 2001; DAVIS; VOLESKY; MUCCI, 2003) e obedece a equação 3, linearizada:

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_m} + \frac{1}{bQ_m C_e} \quad \text{(Eq. 3)}$$

Mediante a linearização do modelo de Langmuir, podem ser estimados os principais parâmetros envolvidos na adsorção do metal, Q_{\max} e “ b ” (capacidade máxima de sorção e afinidade do biossorvente pelo metal, respectivamente), quando da construção do gráfico de $1/Q$ versus $1/C_e$. Q_{\max} é obtido pelo coeficiente linear da reta (A) e o b pelo coeficiente angular da reta (B). Quanto menor o valor de b menor será afinidade da biomassa pelo metal.

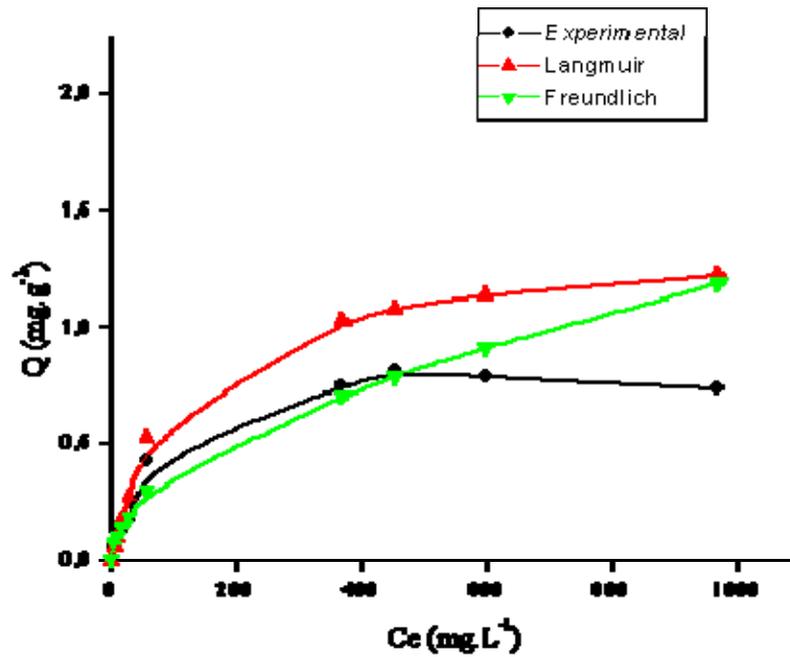


Figura 29- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Zn(II) pela biomassa viva de *Aspergillus niger* com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: $C_{\text{biomassa}}=100\text{mg.L}^{-1}$, $\text{pH}=5,0$ e 28°C .

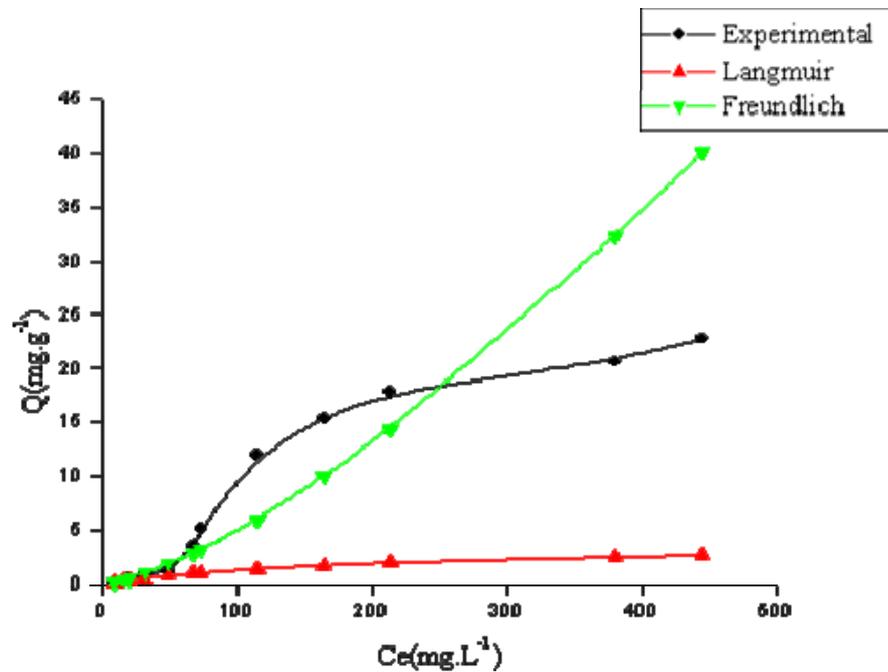


Figura 30- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Zn(II) pela biomassa morta de *Aspergillus niger* com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: $C_{\text{biomassa}}=20\text{mg.L}^{-1}$, $\text{pH}=5$ e 28°C .

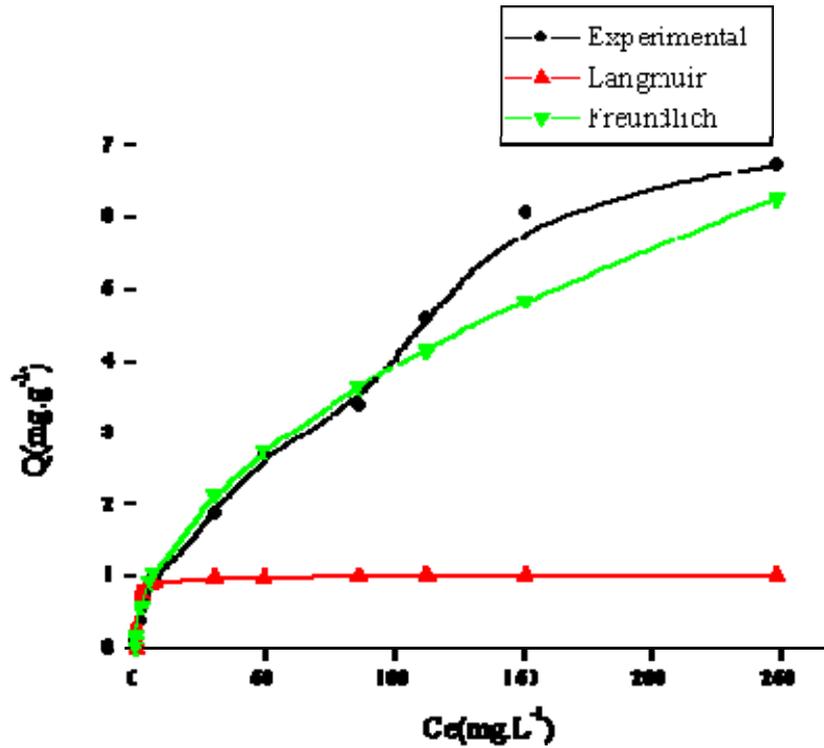


Figura 31- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Cr(VI) pela biomassa viva de *Aspergillus niger* com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: $C_{\text{biomassa}}=80\text{mg.L}^{-1}$, $\text{pH}=2,5$ e 28°C .

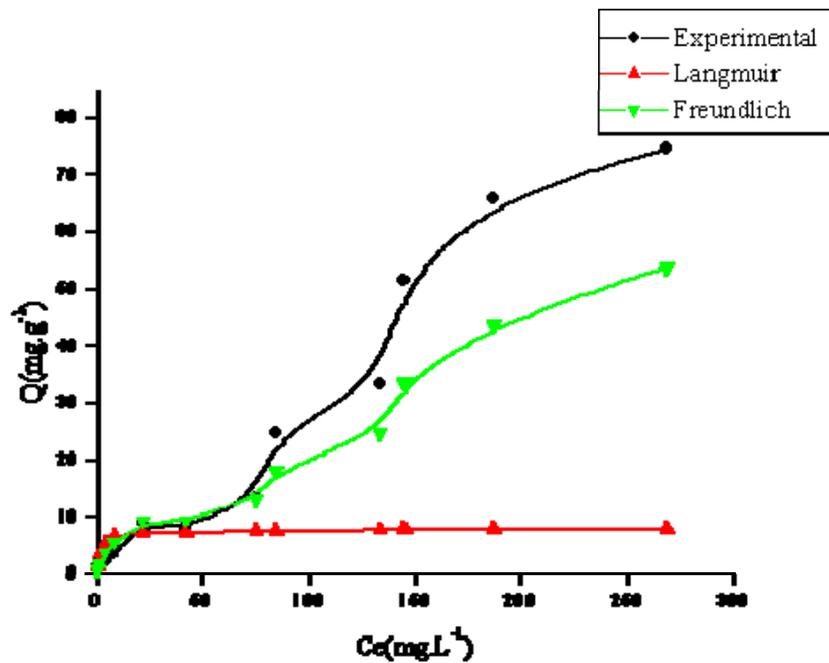


Figura 32- Comparação da isoterma experimental de adsorção de Cr(VI) pela biomassa morta de *Aspergillus niger* com os modelos de Langmuir e Freundlich. Condições: $C_{\text{biomassa}}=10\text{mg.L}^{-1}$, $\text{pH}=2,5$ e 28°C .

O modelo de Freundlich baseia-se no pressuposto de que a adsorção ocorre em multicamadas e a energia de distribuição para os sítios de adsorção é essencialmente exponencial, ou seja, a adsorção das espécies aumentará com o aumento da sua concentração (HO; MCKAY, 1998). Este modelo é freqüentemente utilizado para descrever o equilíbrio de adsorção em sistema com superfície heterogênea e é descrito na sua forma linearizada pela equação 6:

$$\log Q = \log P + \left(\frac{1}{n}\right) \log C_e \quad (\text{Eq.6})$$

Onde P é um indicador da capacidade de sorção do adsorvente (L.mg^{-1}) e n é a constante relacionada à intensidade de adsorção (QAISER *et al.*, 2007; BINGOL *et al.*, 2009).

Mediante a linearização do modelo de Freundlich, Equação 6, podem ser estimados os principais parâmetros envolvidos na adsorção do metal, P e 1/n, quando da construção do gráfico de Log Qe versus Log Ce. Sendo P obtido pelo através do coeficiente linear (A) e 1/n obtido pelo coeficiente angular (B) da equação da reta.

Os dados experimentais foram aplicados aos modelos de Langmuir e Freundlich, a partir das respectivas equações linearizadas, Equações 3 e 6, obtendo-se as isotermas de adsorção de Langmuir e Freundlich para adsorção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva do *Aspergillus niger* mostradas nas Figuras 29 e 32.

As constantes de Langmuir (*b*) e Freundlich (1/n), obtidas a partir das isotermas e os coeficientes de correlação são apresentados na Tabela 15, onde também se observou as capacidades máximas de sorção (Q_{\max}) pela biomassa viva e morta.

Os valores de capacidade de sorção (Q_{\max}) obtidos através do modelo de Langmuir, foram de 1,397 mg Zn(II).g⁻¹ e 1,174 mg Cr(VI).g⁻¹ para biomassa viva e de 3,833 mg Zn(II).g⁻¹ e 4,997 mg Cr(VI).g⁻¹ pela biomassa morta. Portanto a biomassa morta apresentou maior capacidade de sorção de Zn(II) e Cr(VI) que a biomassa viva. Isto se deve ao tratamento físico (aquecimento em autoclave), usado para obtenção da biomassa morta, que aumenta a estabilização da biomassa através da remoção de impurezas e exposição de grupos funcionais aptos a remoção dos metais de interesse (AMINI; YOUNESI; BAHRAMIFAR, 2009b).

A diferença na capacidade de sorção entre a viva biomassa e a biomassa morta, para diferentes metais, também está relacionada à complexidade da composição da parede celular dos fungos (GADD *et al.*, 2001; VOLESKY, 2007; CASADEVALL *et al.*, 2009;

GADD, 2009), ou seja a presença que diferentes grupos funcionais (sítios de adsorção), que é evidenciada através dos estudos de determinação dos sítios de adsorção empregando espectroscopia no infravermelho, para biomassa de *Aspergillus niger*, mostrados nos itens 5.3.2.e 5.5.2., desta pesquisa.

Akar *et al.* (2005) observou que a capacidade de sorção pela biomassa morta pode ser maior, igual ou menor, que pela biomassa viva, dependendo do tipo de tratamento dado a biomassa, tipo de biomassa e do tipo de íons metálicos envolvidos. No caso da biomassa do fungo *Aspergillus niger*, usada nesta pesquisa, houve aumento na capacidade de sorção após morte das células da biomassa por aquecimento em autoclave.

Através da análise dos dados de afinidade do adsorvente (b) pelos metais estudados (Tabela 15), verificou-se que tanto a biomassa viva, quanto a biomassa morta apresentaram maior afinidade pelo Cr(VI) do que pelo Zn(II). Bai e Abraham (2003).

Tabela 15. Parâmetros de Langmuir e Freundlich, e coeficiente de correlação (R^2) para a biossorção de Zn(II) e Cr(VI) pela biomassa viva e morta de *Aspergillus niger*.

Tipo de biomassa	Íon	Isoterma de Langmuir			Isoterma de Freundlich		
		Q_{max} ($mg \cdot g^{-1}$)	b ($L \cdot mg^{-1}$)	R^2	P ($L \cdot mg^{-1}$)	1/n	R^2
Viva	Zn(II)	1,397	0,008	0,91	0,029	0,536	0,93
Morta	Zn(II)	3,833	0,005	0,99	0,008	1,399	0,95
Viva	Cr(VI)	1,174	1,245	0,93	0,368	0,514	0,98
Morta	Cr(VI)	4,997	21,967	0,78	1,585	0,666	0,97

Os valores dos coeficientes de correlação observados na Tabela 15 para a adsorção de Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, estão todos acima de 0,90, com exceção do R^2 do modelo de Langmuir para remoção de Cr(VI) pela biomassa morta, indicando boa correlação dos dados com os dois modelos de isotermas. Porém pela análise dos gráficos das Figuras 29 a 32, observa-se que em baixas concentrações houve predominância dos dois modelos de isotermas e em altas concentrações, maiores que $50 \text{ mg} \cdot L^{-1}$, prevaleceu o modelo de Freundlich, o qual pressupõe que a adsorção ocorre em superfície heterogênea dos sítios de adsorção, sendo que os sítios com maior força de ligação são ocupados primeiro (DAVIS; VOLESKY; MUCCI, 2003).

Portanto, a remoção de Cr(VI) e Zn(II) pela biomassa, viva e morta, de *Aspergillus niger*, em baixas concentrações de adsorvato, segue tanto ao modelo de Langmuir quanto ao modelo de Freundlich e em altas concentrações de adsorvato, segue ao modelo de Freundlich. King (2008) *et al.* observaram o mesmo comportamento para remoção de Zn(II) pelas folhas da *Syzygium cumini* L.

As características essenciais da isoterma de Langmuir podem ser expressas por uma constante adimensional chamada de fator de separação ou parâmetro de equilíbrio, R_L , que é expressa pela equação 4:

$$R_L = \frac{1}{1 + b * C_o} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde b é a constante de Langmuir ($L \cdot mg^{-1}$) e C_o é a concentração inicial ($mg \cdot L^{-1}$).

O parâmetro R_L pode ser utilizado para determinar se a adsorção é favorável ou não, de acordo com os critérios definidos na Tabela 16.

Tabela 16. Características da isoterma de Langmuir em função do valor do fator de separação (R_L).

Valores R_L	Tipo de isoterma
$R_L > 1$	Desfavorável
$R_L = 1$	Linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$R_L < 0$	Irreversível

Os valores de R_L encontrados para biossorção de Zn (II) e Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, do *Aspergillus niger* encontram-se todos na faixa entre 0 e 1 confirmando a biossorção favorável. As formas das curvas de R_L versus C_o , de Zn(II) e Cr(VI) para o biossorvente estudado, são mostradas nas Figuras 33 e 34, respectivamente (BINGOL; ASLANB; CAKICIA, 2009).

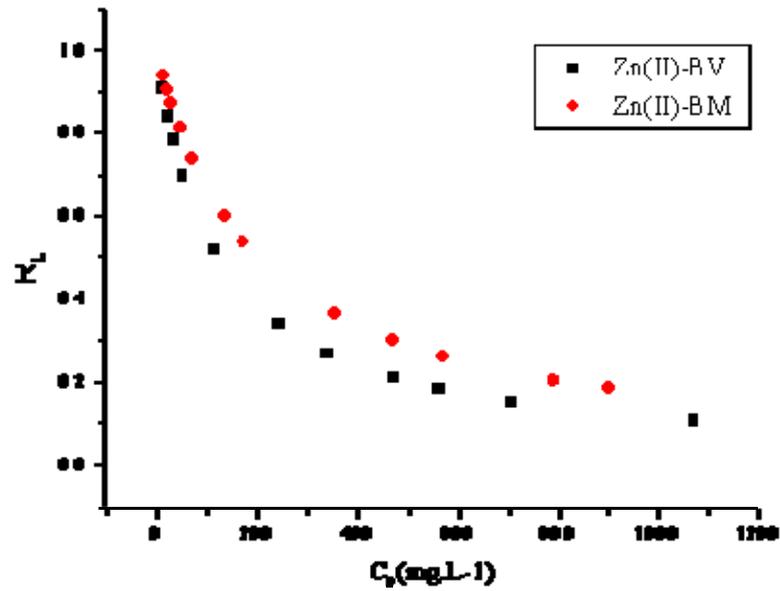


Figura 33- Fator de separação para a biossorção de Zn(II) pelas biomassas, viva e morta, de *Aspergillus niger*.

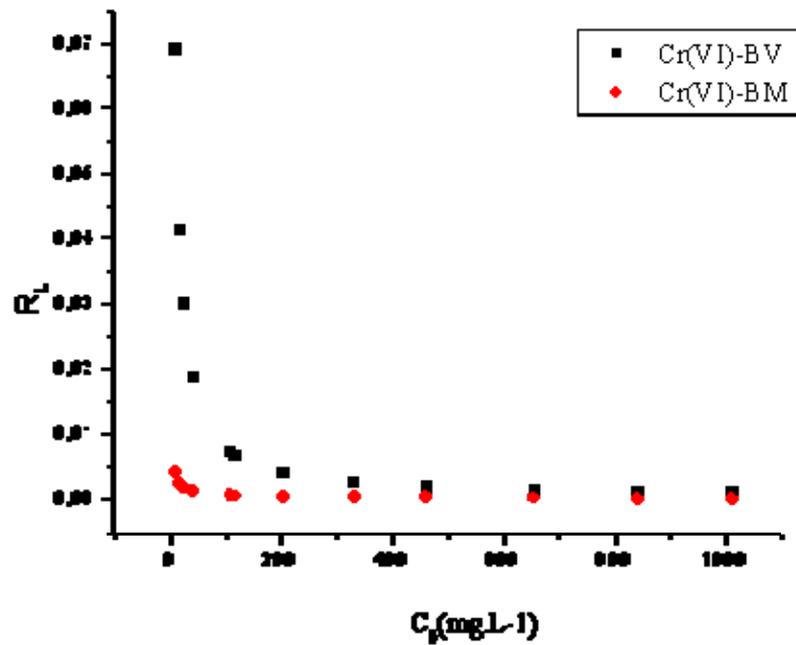


Figura 34- Fator de separação para a biossorção de Cr(VI) pelas biomassas, viva e morta, de *Aspergillus niger*.

5.5. Determinação das características morfológicas após bioissorção

5.5.1. Microscopia eletrônica de varredura

Nas Figuras 35(A e B) são mostradas as micrografias do “pellet” antes e após a bioissorção de Zn(II), na qual pode-se observar a formação de uma camada por cima das hifas, como se fosse um filme. Isto pode ser resultado de algum tipo de mecanismo de resistência, de complexação ou de precipitação extracelular de metal na camada externa do micélio. Segundo Veglio e Beolchini (1997) a precipitação pode ocorrer em consequência da interação química entre o metal e grupamentos funcionais na superfície da biomassa.

Comparando-se as Figuras 35(A) e 35(B) pode-se observar que as hifas ficam espessas após a bioissorção de Zn(II), provavelmente devido à bioissorção do metal.

Não foram feitas micrografias para biomassa após bioissorção com Cr(VI) devido a problemas no microscópio eletrônico de varredura.

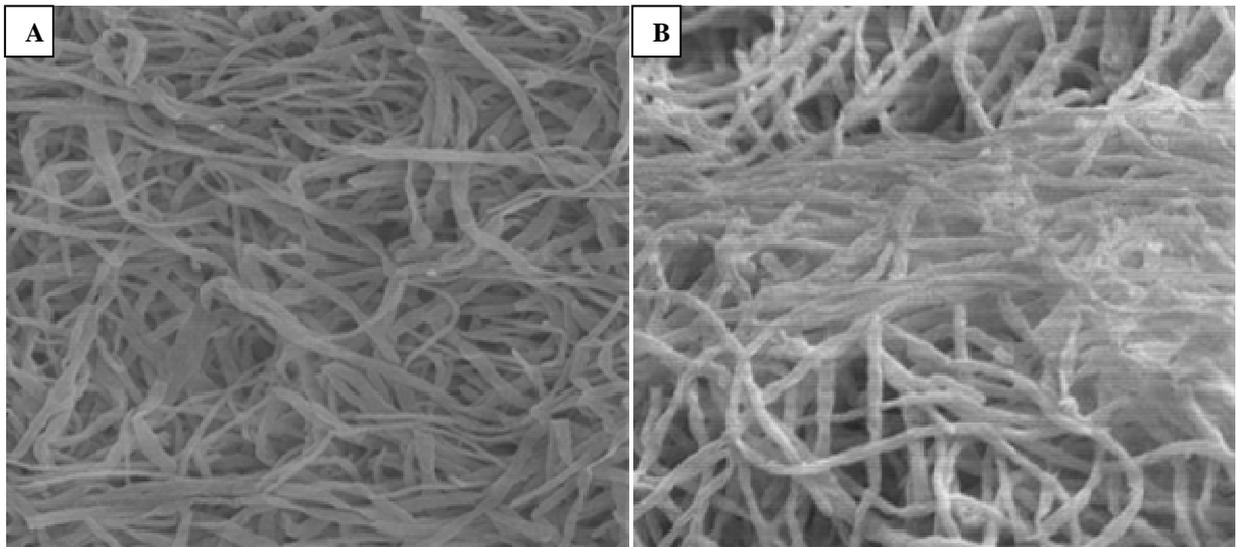


Figura 35- Morfologia da superfície dos “pellets” antes da bioissorção (A) e após bioissorção com solução de 300 mg Zn(II).L⁻¹ (B) por microscopia eletrônica de varredura em um aumento de 500 vezes a 20kV.

5.5.2. Determinação dos sítios de adsorção empregando espectroscopia no infravermelho, após bioadsorção com solução de Zn(II) e Cr(VI).

Foi feita a comparação dos espectros antes e após a bioadsorção de soluções monoelementares de 50 mg Zn(II). L⁻¹ e 50 mg Cr(VI).L⁻¹ para identificar os sítios de adsorção presentes na remoção destes metais.

Os espectros da biomassa antes e após a bioadsorção estão apresentados na Figura 36.

Analisando os espectros da Figura 36, observou-se que houve redução de intensidade em todas as bandas de absorção do espectro da biomassa após a bioadsorção de Zn(II) e Cr(VI) com relação ao espectro da biomassa antes da bioadsorção (Controle).

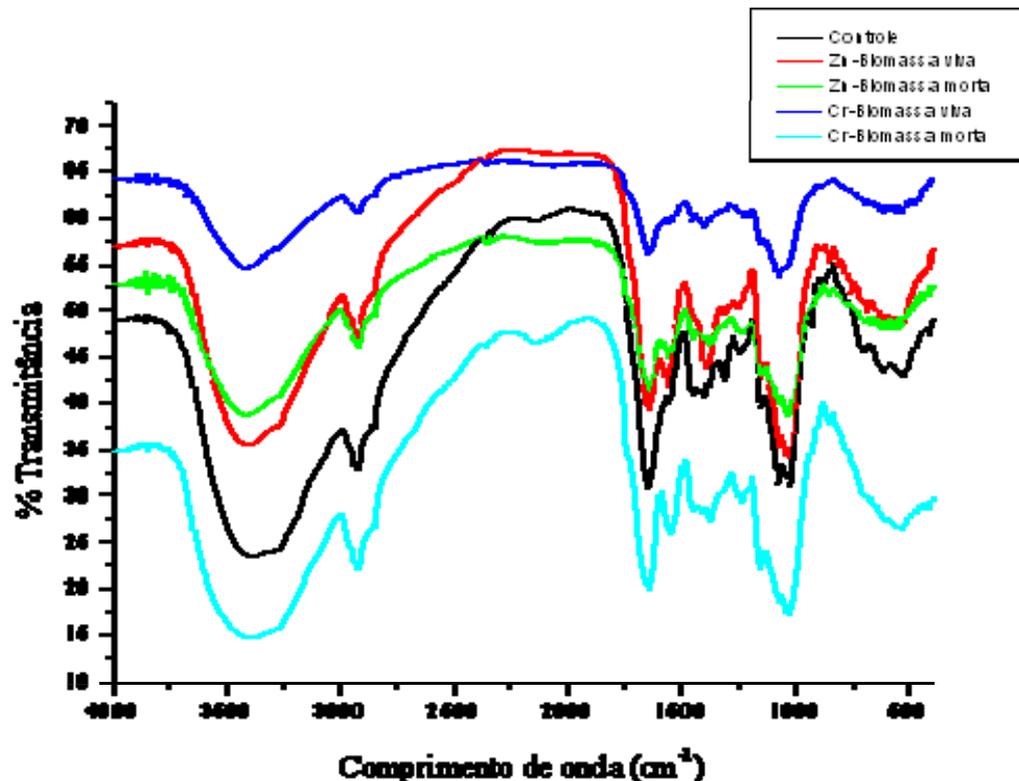


Figura 36- Espectro na região do infravermelho da biomassa de *Aspergillus niger* em pastilha de KBr, antes (controle) e após a bioadsorção de Zn(II) e Cr(VI) pelas biomassa, viva e morta.

A diferença mais marcante entre todos os espectros é a intensidade das bandas em 3406, 1647, 1080 e 1035 cm⁻¹ identificadas como grupos hidroxil, amins, carboxil e fosfatos. Tem sido reportado na literatura (VOLESKY, 2007; PANDEY *et al.*, 2008; AMINI; YOUNESI; BAHRAMIFAR, 2009a; 2009b) que grupos hidroxil são os principais envolvidos na bioadsorção de cátions metálicos, como no caso o Zn(II). Esses grupos funcionais possuem

cargas negativas que interagem com as cargas positivas dos íons metálicos, promovendo a ligação metal-biomassa.

Bandas na região de baixo comprimento de onda ($<800\text{ cm}^{-1}$) foram identificadas no espectro da biomassa após bioissorção de Zn(II). Segundo AKAR *et al.*(2009), bandas arredondadas na região de baixo comprimento de onda ($<800\text{ cm}^{-1}$) podem ser atribuídas à interação entre Zn (II) e os bioligantes contendo nitrogênio.

Existe um decréscimo substancial na intensidade das bandas em 1647 (amida) e 3406 cm^{-1} (v NH de amina) após bioissorção de Cr(VI) pelas biomassas indicando que estes grupos devem ser os responsáveis pela bioissorção de íons cromato na biomassa (BAI; ABRAHAM, 2002).

6. CONCLUSÕES

- **Primeira etapa: Toxicidade dos metais ao fungo *Aspergillus niger***

✓ O fungo foi completamente inibido em concentrações acima de 500 mg Zn(II).L⁻¹ e 150mg Cr(VI).L⁻¹.

✓ A concentração de ingrediente ativo capaz de inibir 50% do crescimento micelial do fungo (ED₅₀) para os dois íons metálicos, nas condições estudadas, está na faixa de 100 a 150 mg.L⁻¹.

✓ De acordo com os resultados, o Cr(VI) foi mais tóxico ao fungo que o Zn(II) , apresentando maior capacidade de inibição da esporulação, pois tal inibição ocorreu em menores concentrações quando comparado com o Zn(II).

✓ A forma micelial é bem mais tolerante ao Cr(VI) e Zn(II) que a forma germinativa.

- **Segunda etapa: Caracterização da biomassa e adsorção em batelada.**

✓ De acordo com a microscopia eletrônica de varredura os “pellets” de *Aspergillus niger* apresentam estrutura fibrosa na superfície, o que favorece a adsorção de metais.

✓ Através de espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier foram identificados grupos funcionais tais como grupos hidroxila, carboxílicos, fosfatos e amina, na biomassa de *Aspergillus niger*, que lhe conferem capacidade de retenção de metais à biomassa.

✓ O Ponto de carga zero da biomassa de *Aspergillus niger* está na faixa de 4,4 a 4,6.

✓ Os parâmetros ótimos para biossorção de Zn(II) pela biomassa viva do *Aspergillus niger* são: pH igual a 5, concentração de biossorvente de 100mg.L⁻¹, tempo de equilíbrio de 180 min (3h). Enquanto que para biomassa morta o pH e o tempo de equilíbrio foram os mesmos que para biomassa viva, variando apenas a concentração e adsorvente que foi 20 mg.L⁻¹.

✓ Os parâmetros ótimos para bioadsorção de Cr(VI) pela biomassa viva do *Aspergillus niger* são: pH igual a 2,5, concentração de bioadsorvente de 80mg.L⁻¹. Enquanto que para biomassa morta o pH igual a 2,5 e concentração de bioadsorvente de 10mg.L⁻¹

✓ A cinética do processo de bioadsorção de Cr(VI) e Zn(II), tanto para biomassa viva quanto para biomassa morta, se ajustaram aos modelos de pseudo primeira ordem e de pseudo-segunda ordem, indicando que adsorção destes íons metálicos se dá tanto por forças de natureza física quanto por forças de natureza química;

✓ Os valores de capacidade de adsorção (Q_{max}), da biomassa viva, obtidas pelo do modelo de Langmuir, foram de 1,369 mg Zn(II).g⁻¹ e 1,174 mg Cr(VI).g⁻¹ e pela biomassa morta foram 3,833 mg Zn(II).g⁻¹ e 4,997 mg Cr(VI).g⁻¹.

✓ O modelo de isotermas para bioadsorção de a bioadsorção Cr(VI) e Zn(II) se ajustaram aos modelos de Langmuir e Freundlich para concentrações menores que 50 mg.L⁻¹ e ao modelo de Freundlich para concentrações de adsorvato maiores que 50 mg.L⁻¹.

✓ O fungo *Aspergillus niger* apresenta potencial para remoção de Zn(II) e Cr(VI).

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS POSTERIORES

Partindo-se do pressuposto de que a Pesquisa é um processo contínuo, ao se “concluir” um trabalho científico, surgem novos pontos que poderiam ser estudados em pesquisas subseqüentes. Seguindo esse raciocínio, as seguintes sugestões podem ser apresentadas para trabalhos posteriores:

1. Estudar a toxicidade dos metais, em solução multielementar, para o fungo.
2. Fazer um estudo mais detalhado das características morfológicas do adsorvente.
3. Avaliar a adsorção em soluções multielementar para verificar a influência de um íon sob a adsorção de outro.
4. Fazer o estudo de adsorção em coluna, ou seja, biomassa imobilizada;
5. Estudar a recuperação e reuso da biomassa;
6. Estudar o efeito de ânios;
7. Estudar o tratamento de efluentes distintos contaminados por vários metais, através de adsorção para verificar a seletividade do processo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRIO, J. L.; DEMAIN, A. L. Fungal biotechnology. **International Microbiology**, v.6, p.191-199. 2003.
- AGRAWAL, A.; SAHU, K. K.; PANDEY, B. D. Removal of zinc from aqueous solutions using sea nodule residue. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.237, p.133-140. 2004.
- AGUIAR, M. R. M. P.; NOVAES, A. C.; GUARINO, A. W. S. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Química nova**, v.25, n.6B, p.1145-1154. 2002.
- AHALYA, N.; RAMACHANDRA, T. V.; KANAMADI, R. D. Biosorption of Heavy Metals. **Research journal of chemistry and environment**, v.7, n.4, p.71-79. 2003.
- AHMAD, I.; ZAFAR, S.; AHAMAD, F. Heavy metal biosorption potencial os *Aspergillus and Rizopus sp.* Isolated from wastewater treated soil. **Journal of applied Sciences and Environmental Management**, v.9, n.1, p.123-126. 2005.
- AKAR, S. T.; GORGULO, A.; ANILAN, B.; KAYANAK, Z.; AKAR, T. Investigation of the biosorption characteristics of lead(II) ions onto *Symphoricarpus albus*: Batch and dynamic flow studies. **Journal of hazardous materials**, v.165, p.126-133. 2009.
- AKAR, T.; TUNALI, S. A., T.; KIRAN, I. *Botrytis cinera* as a new fungal biosorbent for removal of Pb(II) from aqueous solutions. **Biochemical Engineering Journal**, v.25, p.227-235. 2005.
- ALVES, A. C. M. **Avaliação do tratamento de efluentes líquidos contendo cobre e chumbo por adsorção em carvão ativado**. 2007. f., Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2007.
- AMINI, M.; YOUNESI, H.; BAHRAMIFAR, N. Biosorption of nickel (II) from aqueous solution by *Aspergillus niger*: response surface methodology and isotherm study. **Chemosphere**, v.75, p.7483-1491. 2009a.
- _____. Statistical modeling and optimization of the cadmium biosorption process in an aqueous solution using *Aspergillus niger*. **Colloids and surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, v.337, p.67-73. 2009b.

AMINI, M.; YOUNESI, H.; BAHRAMIFAR, N.; LORESTANI, A. A. Z.; GHORBANI, F.; DANESHI, A.; SHARIFZADEH, M. Application of response surface methodology for optimization of lead biosorption in an aqueous solution by *Aspergillus niger*. **Journal of Hazardous Materials**, v.154, n.1-3, p.694-702. 2008.

APHA/AWWA/WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington: D.C. American Health Association, 2005.

ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; XUECHENG, Z. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. **Journal of Ocean University of China**, v.7, n.1, p. 60-64. 2008.

ASKU, Z.; TEZER, S. Equilibrium and kinetic modelling of remazol black B by *Rhizopus arrhizus* in batch system: effect of temperature. **Process biochemical**, v.34, p.431-439. 2000.

BABEL, S.; KURNIAWAN, T. A. Cr(VI) removal from synthetic wastewater using coconut shell charcoal and commercial activated carbon modified with oxidizing agents and/or chitosan. **Chemosphere**, v.54, p.951-967. 2004.

BABICH, H.; STORTZKY, G. Toxicity of zinc to fungi, bacteria and coliphages: influence of chloride ions. **Applied and Environmental microbiology**, v.36, n.6, p.906-914. 1978.

BAGGIO, A. **Proposta para remoção de fenóis e aplicação de análise quimiométrica no estudo de subproduto líquido da indústria petroquímica**. 2007. 99 f. Dissertação - Mestrado em Química. Centro de Ciências exatas, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2007.

BAI, R. S.; ABRAHAM, T. E. Studies on chromium (VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass. **Bioresource Technology**, v.87, p.17-26. 2003.

BAIK, W. Y.; BAE, J. H.; CHO, K. M.; HARTMEIER, W. Biosorption of heavy metals using whole mold mycelia and parts thereof. **Bioresource Technology**, v.81, n.3, p.167-170. 2002.

BAILEY, S. E.; OLIN, T. J.; BRICKA, R. M.; ADRIAN, D. A review of potentially low cost sorbents for heavy metals. **Water Research**, v.33, n.11, p.2469-2479. 1999.

BAKER, S. E. *Aspergillus niger* genomics: past, present and into the future. **Medical mycology**, v.44, p.17-21. 2006.

BAYATI, M. R.; SHARIAT, M. H.; JANGHORBAN, K. Design of chemical composition and optimum working conditions for trivalent black chromium electroplating bath used for solar thermal collectors. **Renewable Energy** v.30, p.2163-2178. 2005.

BINGOL, A.; ASLANB, A.; CAKICIA, A. Biosorption of chromate anions from aqueous solution by a cationic surfactant-modified lichen (*Cladonia angiformis* (L.)). **Journal of Hazardous Materials** v.161, p.747-752. 2009.

BINGOL, A.; UCUN, H.; BAYHAN, Y. K.; KARAGUNDUZ, A.; CAKICI, A.; KESKINLER, B. Removal of chromate anions from aqueous stream by a cationic surfactant-modified yeast. **Bioresource Technology**, v.94, p.245-249. 2004.

BLÁZQUEZ, G.; HERNÁINZ, F.; CALERO, M.; RUIZ-NÚÑEZ, L. F. Removal of cadmium ions with olive stones: the effect of some parameters. **Process Biochemistry**, v.40, p.2649-2654. 2005.

BRADY, J. M.; TOBIN, J. M. Binding of hard and soft metals ions to *Rhizopus arrhizus* biomass. **Enzyme and Microbial Technology**, v.17, p.791-796. 1995.

BRANDÃO, P. C. **Avaliação do bagaço da cana como adsorvente para remoção de contaminantes, derivados de petróleo de efluentes**. 2006. 160 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química. Centro de Ciências exatas, Universidade Federal da Uberlândia, Minas Gerais, 2006.

BRUINS, M. R.; KAPIL, S.; OEHME, F. W. Microbial resistance to metals in the environment. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.45, p.198-207. 1999.

CARROTT, P. J. M.; CARROTT, R. M. M. L.; NABAIS, J. M. V.; RAMALHO, P. J. P. Influence of surface ionization on the adsorption of aqueous zinc species by activated carbons. **carbon**, v.35, n.3, p.403-410. 1996.

CASADEVALL, A.; NOSANCHUK, J. D.; WILLIAMSON, P.; RODRIGUES, M. L. Vesicular Transport across the fungal cell wall. **Trends in microbiology**, v.17, n.4, p.158-162. 2009.

CHAALAL, O.; ZEKRI, A. Y.; ISLAM, R. Uptake of Heavy Metals by Microorganisms: An Experimental Approach. **Energy Sources**, v.27, p.87-100. 2005.

CHEN, X. C.; WANG, Y. P.; LIN, Q.; SHI, J. Y.; WU, W. X.; XU, Y.; CHEN, X. D. Biosorption of copper(II) and zinc(II) from aqueous Pollution by *Pseudomonas putida* Z1. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.46, p.101-107. 2005.

CHIPASA, K. B. Accumulation and fate of selected heavy metals in a biological wastewater treatment system. **Waste Management**, v.23, p.135–143. 2003.

CIOLA, R. Fundamentos da Catálise. São Paulo: Editora da USP. Moderna. 1981. 377 p.

COGEEVARAM, S.; DHANARANI, S.; PARK, J.; DEXILIN, M.; THAMARAISELVI, K. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. **Journal Hazardous Materials**, v.146, p.270-277. 2007.

CONAMA. Resolução n. 357 de 17 de março de 2005. AMBIENTE-CONAMA, C. N. D. M. 2005.

CONGEEVARAM, S.; DHANARANI, S.; PARK, J.; DEXILIN, M.; THAMARAISELVI, K. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. **Journal Hazardous Materials**, v.146, p.270-277. 2007.

COONEY, D. O. Adsorption Design for Wastewater Treatment: Ed. CRC Press LLC. 1999. 190 p.

COSTA, G. B.; SANTIAGO, B. H.; CASTRO, J. S.; SELVAM, P. P. Estudo técnico-comparativo de estações de tratamento de efluentes de refinaria de petróleo. 2º congresso brasileiro de P & D em petróleo e gás. Rio de Janeiro, 2003.

COULIBALY, L.; GOURENE, G.; AGATHOS, N. S. Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewater. **African journal of biotechnology**, v.2, n.12, p.620-630. 2003.

DABROWSKI, A. Adsorption -- from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.93, n.1-3, p.135-224. 2001.

DAS, N. V., R.; KARTHIKA, P. Biosorption of heavy metals- An overview **Indian journal of biotechnology**, v.7, p.159-169. 2008.

DAVIS, T. A.; VOLESKY, B.; MUCCI, A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae **Water Research**, v.37, p.4311–4330. 2003.

DEAN, J. G.; BOSQUI, F. L.; LANOUILLE, H. Removal of heavy metals from wastewater. **Environmental Science & Technology**, v.6, p.518-522. 1972.

DEEPA, K. K.; SATHISHKUMAR, M.; BINUPRIYA, A. R.; MURUGESAN, G. S.; SWAMINATHAN, K.; YUN, S. E. Sorption of Cr(VI) from dilute solutions and wastewater by live pretreated biomass of *Aspergillus flavous*. **Chemosphere**, v.62, p.833-840. 2006.

DUDLEY, H. W.; FLEMING, I. Spectroscopic methods in organic chemistry. Cambridge. 1995. 329 p.

DURSUN, A. Y. A comparative study on determination of the equilibrium, kinetic, and thermodynamic parameters of biosorption of copper(II) and lead(II) ions onto pretreated *Aspergillus niger*. **Biochemical Engineering Journal**, v.28, p.187-195. 2006.

DURSUN, A. Y.; USLU, G.; CUCI, Y.; ASKSU, Z. Bioaccumulation of copper (II), lead (II) and chromium (VI) by growing *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, v.38, p.1647-1651. 2003.

DURUIBE, J. O.; OGWUEGBU, M. O. C.; EGWURUGWU, J. N. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. **International Journal of Physical Sciences**, v.2, n.5, p.112-118. 2007.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BAQRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, v.61, p.42-44. 1971 apud MENTEN, J. O. M.; MACHADO, C. C.; MINUSSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de Alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macro-phomina phaseolina* (TASS.) GOID. "In vitro". **Fitopatologia Brasileira**, v.1, n.2, p.57-66. 1976.

ERRASQUÍN, E. L.; VÁZQUEZ, C. Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. **Chemosphere**, v.50, p.137-143. 2003.

ESPÓSITO, E.; AZEVEDO, J. L. Fungos - uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. 2004. 510 p.

EZZOUHRI, L.; CASTRO, E.; MOYA, M.; ESPINOLA, F.; LAIRINI, K. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier. **African journal of microbiology research**, v.3, n.2, p.35-48. 2009.

FALONE, S. Z.; VIEIRA, E. M. Adsorção e dessorção do explosivo tetril em turfa e em argilossolo vermelho amarelo. **Química Nova**, v.27, n.6, p.849-854. 2004.

FAN, T.; LIU, Y.; FENG, B.; ZENG, G.; YANG, C.; ZHOU, M.; H., Z.; TAN, Z.; WANG, X. Biosorption of cadmium(II), zinc(II) and lead(II) by *Penicillium simplicissimum*:

Isotherms, kinetics and thermodynamics. **Journal of Hazardous Materials**, v.160, p.655-661. 2008.

FISCHER, G.; BRAUN, S.; THISSEN, R.; DOTT, W. FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intra-species characterization of airborne filamentous fungi. **Journal of microbiological methods**, v.64, p.63- 67. 2006.

FOUNTOULAKIS, M. S.; DOKIANAKIS, S. N.; KORNAROS, M. E.; AGGELIS, G. G.; LYBERATOS, G. Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Water Research**, v.36, p.4735–4744. 2002.

FOUREST, E.; ROUX, J. C. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by products: mechanism and influence of pH. **Applied Microbiology & Biotechnology**, v.37, p.399-403. 1992.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química nova**, v.23, n.4, p.504-511. 2000.

FREUNDLICH, H. Ueber dye adsorption in loesungen. **Zeitschrift fur Physikalische Chemie** v.57, p.385-470. 1907.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Dye biosorption sites in *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v.82, n.2, p.139-145. 2002.

GADD, G. M. Metals and microorganisms: a problem of definition. **FEMS Microbiology Letters**, v.100, p.197-204. 1992.

_____. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. **Journal of chemical technology & biotechnology**, v.84, p.13-28. 2009.

GADD, G. M.; RAMSAY, L.; CRAWFORD, J. W.; RITZ, K. Nutritional influence on fungal colony growth and biomass distribution in response to toxic metals. **FEMS Microbiology Letters**, v.204, p.311-316. 2001.

GADD, G. M.; WHITE, C. Determination of metals and metals fluxes in algae and fungi. **The Science of the Total Environment**, v.176, p.107-115. 1995.

GILES, C. H.; SMITH, D.; HUITSON, A. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I: Theoretical. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.47, p.755-765. 1974 apud HINZ, C. Description of sorption data with isotherm equations. **Geoderma** v.99, p.225-243. 2001.

GIRARD, L.; HUBERT, J. Speciation of chromium (VI) and total chromium determination in welding dust samples by flow-injection analysis coupled to atomic absorption spectrometry. **Talanta** v.43, p.1965-1974. 1996.

GOYAL, N.; JAIN, S. C.; BANERJEE, U. C. Comparative Studies on the Microbial Adsorption of Heavy Metals. **Advances in Environmental Research**, v.7, p.311-319. 2003.

GREWAL, H. S.; KALRA, K. L. Fungal production of citric acid. **Biotechnology Advances**, v.13, n.2, p.209-234. 1995.

GRIFFIN, D. H. Fungal Physiology. New York. 1994

GUPTA, R.; AHUJA, P.; KHAN, S.; SAXENA, R. K.; MOHAPATRA, H. Microbial biosorbents: Meeting challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. **Current Science**, v.78, n.8, p.967-973. 2000.

GUPTA, V. K.; ALI, I. Removal of lead and chromium from wastewater using bagasse fly ash—a sugar industry waste. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.271, p.321-328. 2004.

HO, Y. S. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions. **Scientometrics**, v.59, n.1, p.171-177. 2004.

HO, Y. S.; MCKAY, G. A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents. **Trans. Inst. Chem. Eng.**, v.76B, p.332-340. 1998.

HO, Y. S.; OFOMAJA, A. E. Biosorption thermodynamics of cadmium on coconut copra meal as biosorbent. **Biochemical Engineering Journal** v.30, p.117-123. 2006.

IARC. (International Agency Research for cancer)- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chromium, nickel and welding. WHO. 49 1997.

KADIRVELU, K.; THAMARAISELVI, K.; NAMASIVAYAM, C. Adsorption of nickel(II) from aqueous solution onto activated carbon prepared from coirpith. **Separation and purification technology**, v.24, p.497- 505. 2001.

KAO, W. C.; HUANG, C. C.; CHANG, J. S. Biosorption of nickel, chromium and zinc by merP-expressing recombinant *Escherichia coli*. . **Journal Hazard Materials**. 2008.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal biosorption - an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. **Bioresource Technonology**, v.53, p.195-206. 1995.

_____. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v.61, p.221-227. 1997.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T.; CULLIMORE, D. R. Removal of Heavy metals using fungus *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v.70, p.95-104. 1999.

KARGI, F.; CIKLA, S. Biosorption of zinc(II) ions onto powdered waste sludge (PWS): kinetics and isotherms. **Enzyme and microbial technology**, v.38, p.705-710. 2006.

KARTHIKEYAN, T.; RAJGOPAL, S.; MIRANDA, L. R. Chromium(VI) adsorption from aqueous solution by *Hevea Brasilinesis* sawdust activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v.124, n.1-3, p.192-199. 2005.

KAVITHA, D.; NAMASIVAYAM, C. Experimental and kinetics studies on methylene blue adsorption by coir pith carbon. **Bioresource Technology**, v.98, p.14-21. 2007.

KHALED, A.; NEMR, A. E.; EL-SIKAILY, A.; ABDELWAHAB, O. Treatment of artificial textile dye effluent containing direct yellow 12 orange peel carbon. **Desalination**, v.238, p.210-232. 2009.

KHAMBHATY, Y.; MODY, K.; BASHA, S.; JHA, B. Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine *Aspergillus niger*. **Chemical Engineering Journal**, v.145, p.489-495. 2009.

KING, P.; RAKESH, N.; BEENA, S. L.; KUMAR, P. Y.; PRASAD, V. S. R. K. Biosorption of zinc onto *Syzygium cumini L.*: Equilibrium and kinetic studies. **chemical Engineering Journal**, v.144, p.181-187. 2008.

KUMAR, R.; BISHNOI, N. R.; GARIMA; BISHNOI, K. Biosorption of Chromium (VI) from aqueous solutions and electroplating wastewater using fungal biomass. **Chemical engineering journal**, v.135, p.202-208. 2008.

LASZLO, J. A. Preparing an ion exchange resin from sugarcane bagasse to remove reactive dye from wastewater. **Textile chemist and coloist**, v.28, n.5, p.13-17. 1996.

LEE, J. D. Química Inorgânica não tão concisa. São Paulo: Editora Edgard Blucher. 1996. 527 p.

LESMANA, S. O.; FEBRIANA, N.; SOETAREDJO, F. E.; SUNARSO, J.; ISMADJI, S. Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater. **Biochemical engineering journal**, v.44, p.19-41. 2009.

LIU, Y.; FAN, T.; ZENG, G.; LI, X.; TONG, Q.; YE, F.; ZHOU, M.; XU, W.; HUANG, Y. Removal of cadmium and zinc ions from aqueous solution by living *Aspergillus niger*. **Trans. Nonferrous Met. Soc. China**, v.16, p.681-686. 2006.

LIU, Y.; LIU, Y.-J. Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics. **Separation and purification technology**, v.61, p.229-242. 2008.

LIU, Y.; SHEN, L. A general rate law equation for biosorption. **Biochemical Engineering Journal**, v.38, p.390-394. 2008.

LOW, B.; TING, Y.; DENG, S. Surface modification of *Penicillium chrysogenum* mycelium for enhanced anionic dye removal. **Chemical Engineering Journal**, v.141, p.9-17. 2008.

MAHESHWARI, R.; BHARADWAJ, G.; BHAT, K. M. Thermophilic Fungi: Their Physiology and Enzymes. **Microbiology and molecular biology reviews**, v.64, n.3, p.461-488. 2000.

MATHEICKAL, J. T.; YU, Q.; WOODBURN, G. M. Biosorption of Cadmium(II) from aqueous solution by pretreated biomass of marine algae *Durvillaea potatorum*. **Water Research**, v.33, p.335-342. 1998.

MILHOME, M. A. L. **Estudo da adsorção de fenol em quitina e quitosana visando o tratamento de efluentes de refinarias de petróleo**. 2006. f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil - área de concentração em Saneamento Ambiental. Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MOHAN, D.; SINGH, K. P.; SINGH, V. K. Trivalent chromium removal from wastewater using low cost activated carbon derived from agricultural waste material and activated carbon fabric cloth. **Journal of Hazardous Materials**, v.135, n.1-3, p.280-295. 2006.

MONSER, L.; ADHOUM, N. Modified activated carbon for the removal of copper, zinc, chromium and cyanide from wastewater. **Separation and Purification Technology**, v.26, p.137-146. 2002.

MUKHOPADHYAY, M. Role of surface properties during biosorption of copper by pretreated *Aspergillus niger* biomass. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.329, n.1-2, p.95-99. 2008.

MUKHOPADHYAY, M.; NORONHA, S. B.; SURAIISKUMAR, G. K. Kinetic modeling for the biosorption of copper by pretreated *Aspergillus niger* biomass. **Bioresource Technology**, v.98, n.9, p.1781-1787. 2007.

MUNGASAVALLI, D. P.; VIRARAGHAVAN, T.; JIN, Y. C. Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *Aspergillus niger*: batch and column studies. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.301, p.214-223. 2007.

NAGDA, G. K.; GHOLE, V. S.; DIWAN, A. M. Tendu leaves refuse as a Biosorbent for COD removal from Molasses Fermentation based Bulk Drug Industry Effluent. **Journal of applied Sciences and Environmental Management**, v.10, n.3, p.15-20. 2006.

NAIR, R. K. G.; MADHAVAN, P. Chitin, chitosan and their derivatives, production and applications. Proc VIII Carbohydrate Conf Trivandrum. 18-20 nov, 1992. 59-65 p apud BAI, R. S.; ABRAHAM, T. E. Studies on enhancement of Cr (VI) biosorption by chemically modified biomass of *Rhizopus nigricans*. **Water Research**, v.36, p.1224-1236. 2002.

NAKAJIMA, A.; SAKAGUCHI, T. Selective accumulation of heavy metals by microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.24, p.59-64. 1986.

NAMASIVAYAM, C.; KAVITHA, D. Adsorptive removal of 2-chlorophenol by low-cost coir pith carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v.98 B, p.257-274. 2003.

NOMANBHAY, S. M.; PALANISAMY, K. Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.8, n.1, p.43-53. 2005.

O'BRIEN, T. J.; CERYAK, S.; PATIERNO, S. R. Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. **Mutation Research** v.533, p.3-36. 2003.

OLIVEIRA, A. H. A. **Remoção de Pb(II) e Cr(VI) de efluentes industriais utilizando resíduos de ipê (Tabebuia spp.), maçaranduba (Manilkara spp.) e Pequiá (Caryocar spp.)**. 2008. 61 f. Dissertação de Mestrado em Química. Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

OLIVEIRA, W. E.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; ROCHA, S. D. Untreated coffee husks as biosorbents for the removal of heavy metals from aqueous solutions. **Journal Hazard Materials**, v.152, p.1073-1081. 2008.

PAGNANELLI, F.; ESPOSITO, A.; TORO, L.; VEGLIÒ, F. Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto *Sphaerotilus natans*: Langmuir-type empirical model. **Water Research**, v.37, n.3, p.627-633. 2003.

PAGNANELLI, F.; MAINELLI, S.; BORNORONI, L.; DIONISI, D.; TORO, L. Mechanisms of heavy-metal removal by activated sludge. **Chemosphere** v.75, p.1028-1034. 2009.

PANDEY, P. K.; CHOUBEY, S.; VERMA, Y.; PANDEY, M.; CHANDRASHEKHAR, K. Biosorptive removal of arsenic from drinking water. **Bioresource Technology**, v.100, n.2, p.634-637. 2009.

PANDEY, P. K.; VERMA, Y.; CHOUBEY, S.; PANDEY, M.; CHANDRASEKHAR, K. Biosorptive removal of cadmium from contaminated groundwater and industrial effluents. **Bioresource Technology**, v.99, n.10, p.4420-4427. 2008.

PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial process. **Biotechnology Advances**, v.22, p.189-259. 2004.

PARK, D.; YUN, Y.; JO, J. H.; PARK, J. M. Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. **Water Research**, v.39, p.533-540. 2005.

PARVATHI, K.; NAGENDRAN, R.; NARESHKUMAR, R. Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.10, n.1, p.92-105. 2007.

PEL, J. H., ET AL. Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CBS 513.88. **Nature biotechnology**, v.25, n.2, p.221-231. 2007.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. *Microbiologia*. São Paulo: Editora McGraw-Hill, v.1. 1980. 556 p.

PIVELI, R. P.; KATO, M. T. *Qualidade das Águas e Poluição: aspectos Físico-químicos*. São Paulo: Editora ABES. 2005

PORCEL, E. M. R.; LOPEZ, J. L.; PEREZ, J. A. S.; SEVILLA, J. M. F.; CHISTI, Y. Effects of pellet morphology on broth rheology in fermentations of *Aspergillus terreus*. **Biochemical Engineering Journal**, v.26, p.139-144. 2005.

PRICE, M. S.; CLASSEN, J. J.; PAYNE, G. P. *Aspergillus niger* absorbs copper and zinc from swine. **Bioresource Technology**, v.77, p.41-49. 2001.

QAISER, S.; SALEEMI, A. R.; AHMAD, M. M. Heavy metal uptake by agro based waste materials. **Electronic Journal of biotechnology**, v.10, n.3, p.409-416. 2007.

RAJI, C.; ANIRUDHAN, T. S. Batch Cr(VI) removal by polyacrylamide-grafted sawdust: Kinetics and thermodynamics. **Water Research**, v.32, n.12, p.3772-3780. 1998.

REIS, M. O.; OLIVEIRA, L. S.; ROCHA, S. D. Adsorventes de resíduos do beneficiamento de café. VI congresso Brasileiro de Engenharia Química em iniciação científica - Unicamp. São Paulo, 2005.

RODRIGUES, K. A.; SAMPAIO, G. M. M. S.; ZAIAT, M.; SANTAELLA, S. T. Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.12, n.2, p.222-228. 2007.

ROMERA, E.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, M. L.; MUNOZ, J. A. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. **Bioresource Technology** v.98, p.3344-3353. 2007.

ROZADA, F.; OTERO, M.; MORÁN, A.; GARCÍA, A. I. Adsorption of heavy metals onto sewage sludge-derived materials. **Bioresource technology**, v.99, p.6332- 6338. 2008.

RUDZINSKI, W.; PLANZINSKI, W. Kinetics of solute adsorption at solid/solution interfaces: a theoretical development of the empirical pseudo-first and pseudo-second order kinetic rate equations, based on applying the statistical rate theory of interfacial transport. **Journal of Physical Chemistry B.**, v.110B, p.16514-16525. 2006.

RUTHVEN, D. M. Principles of Adsorption and Adsorption Process. New York: Editora John Wiley&Sons. 1984. 431 p.

SAG, Y.; KAYA, A.; KUTSAL, T. The simultaneous biosorption of Cu(II) and Zn on *Rhizopus arrhizus*: application of the adsorption models. **Hydrometallurgy** v.50, p.297-314. 1998.

SAG, Y.; KUTSAL, T. The simultaneous biosorption of Cr(VI), Fe(III) and Cu(II) on *Rhizopus arrhizus*. **Process Biochemistry**, v.33, n.5, p.571-579. 1998.

_____. Determination of the biosorption activation energies of heavy metal ions on *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus*. **Process Biochemistry** v.35, n.801-807. 2000.

SAG, Y.; YALCUK, A.; KUTSAL, T. Mono and multi-component biosorption of heavy metal ions on *Rhizopus arrhizus* in a CFST. **Process Biochemistry**, v. 35, p.787-799. 2000.

SANGHI, R.; SANKARARAMAKRISHNAN, N.; DAVE, B. C. Fungal bioremediation of chromates: conformational changes of biomass during Sequestration, Binding, and Reduction of hexavalent chromium Ions. **Journal of hazardous materials**, v.169, p.1074-1080. 2009.

SANTOS, I. N.; HORBE, A. M. C.; SILVA, S. Á. F. Influência de um aterro sanitário e de efluentes domésticos nas águas superficiais do Rio Tarumã e afluentes - AM. **Acta Amazonica**, v.36, n.2, p.229-236. 2009.

SARI, A.; TUZEN, M. Kinetic and equilibrium studies of biosorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution by macrofungus (*Amanita rubescens*) biomass. **Journal of Hazardous Materials**, v.164, n.2-3, p.1004-1011. 2009.

SAÚDE, M. Ministério da saúde. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518.pdf, acessado em 8 de abril de 2010.

SAY, R.; DENNIZLI, A.; ARICA, M. Y. Biosorption of cadmium(II), lead(II), copper(II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Bioresource Technology**, v.76, p.67-70. 2001.

SELVI, K.; PATTABHI, S.; KARDIVELU, K. Removal of Cr (VI) from aqueous solution by adsorption onto activated carbon. **Bioresource Technology**, v.80, p.87-89. 2001.

SEMACE. Superintendência Estadual do Meio ambiente- Ceará- SEMACE - Portaria nº154 de 22 de julho 2002.

SEMOVA, N.; STORMS, R.; JOHN, T.; GAUDET, P.; ULYCZNYJ, P.; MIN, X. J.; SUN, J.; BUTLER, G.; TSANG, A. Generation, annotation, and analysis of an extensive *Aspergillus niger* EST collection. **BMC Microbiology**, v.6, n.7, p.1-10. 2006.

SENTHILKUMAAR, S.; BHARATHI, S.; NITHYANANDHI, D.; SUBBURAM, V. Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solutions. **Bioresource Technology** v.75, p.163-165. 2000.

SHEK, T.-H.; MA, A.; LEE, V. K. C.; MCKAY, G. Kinetics of zinc ions removal from effluents using ion exchange resin. **Chemical engineering journal**, v.146, p.63-70. 2009.

SHENG, P. X.; TING, Y. P.; CHEN, J. P.; HONG, L. Sorption of lead, copper, cadmium, zinc, and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.275, p.131-141. 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A. 1994. 387 p.

SMITH, W. H. Influence of heavy leaf contaminants on the in vitro growth of urban-tree phylloplane-fungi. **Microbial Ecology**, v.3, p.231-239. 1977.

SOUSA, F. W. **Adsorção de metais tóxicos em efluente aquoso usando a casca de coco verde tratado**. 2007. 125 f. Dissertação de Mestrado em engenharia Civil - área de concentração em Saneamento Ambiental. Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

SOUZA, R. S.; CHAVES, L. H. G.; FERNANDES, J. D. Isotermas de Langmuir e de Freundlich na descrição da adsorção de zinco em solos do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de ciências agrárias**, v.2, n.2, p.123-127. 2007.

SRIVASTAVA, S.; AHMAD, A. H.; THAKUR, I. S. Removal of chromium and pentachlorophenol from tannery e Zuent. **Bioresource Technology**, v.98, p.1128-1132. 2007.

SRIVASTAVA, S.; THAKUR, I. S. Evaluation of bioremediation and detoxification potentiality of *Aspergillus niger* for removal hexavalent chromium in soil microcosm. **Soil Biology & Biochemistry**, v.38, p.1904-1911. 2006a.

_____. Biosorption potency of *Aspergillus niger* for removal of chromium (VI). **Current Microbiology**, v.53, p.232-237. 2006b.

SUH, J.; YUN, J. W.; KIM, D. S. Effect of pH on Pb(II) accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* and *Aerobasidium pullulans*. **Bioprocess Engineering**, v.20, p.471-474. 1999.

SUH, J. H.; YUN, J. W.; KIM, D. S.; SONG, S. K. A comparative study on Pb(II) accumulation between *Saccharomyces cerevisiae* and *Aerobasidium pullulans* by SEM (scanning Electron Microscopy) and EDX (Energy Dispersive X-ray) Analyses. **Journal of bioscience and bioengineering**, v.87, n.1, p.112-115. 1999.

SUN, X.-F.; WANG, S.-G.; ZHANG, X.-M.; PAUL CHEN, J.; LI, X.-M.; GAO, B.-Y.; MA, Y. Spectroscopic study of Zn²⁺ and Co²⁺ binding to extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic granules. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.335, n.1, p.11-17. 2009.

TAN, I. A. W.; AHAMAD, A. L.; HAMEED, B. H. Adsorption isotherms, kinetics, thermodynamics and desorption studies of 2,4,6-trichlorophenol on oil palm empty fruit bunch-based activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v.164, p.473-482. 2009.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. Efeito de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya L.*). **Ciências agrotécnicas**, v.29, n.1, p.52-59. 2005.

TOBIN, J. M.; COOPER, D. G.; NEUFELD, R. J. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. **Applied Environmental Microbiology**, v.47, p.821-824. 1984.

TOES, A. C. M.; MASS, B. A.; GEELHOED, J. S.; KUENEN, J. G.; MUYER, G. Interactions between microorganisms and heavy metals. European Symposium on Biotechnology, 2004. 55

TUITE, J. Plant pathological methods: fungi and bacteria. Indiana: Burgess publishing company. 1971

TUNALI, S. A., T. Zn(II) biosorption properties of *Botrytis cinerea* biomass. **Journal of Hazardous Materials**, v.131 B, p.137-145. 2006.

URUNAKUMARA, K. K. I. U.; XUECHENG, Z. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. **Journal of ocean university of china**, v.7, n.1, p.60-64. 2008.

VÁLDES, H.; SÁNCHEZ-POLO, M.; RIVERA-UTRILLA, J. Effect of ozone treatment on surface properties of activated carbon. **Langmuir**, v.18, p.2111-2116. 2002.

VALIX, M.; LOON, L. O. Adaptative tolerance behaviour of fungi in heavy metals. **Minerals Engineering**, v.16, p.193-198. 2003.

VASUDEVAN, P.; PADMAVATHY, V.; DHINGRA, S. C. Biosorption of monovalent and divalent ions on baker's yeast. **Bioresource Technology**, v.82, n.3, p.285-289. 2002.

VEGLIO, F.; BEOLCHINI, F. Removal biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, v.44, p.301-316. 1997.

VILAR, V. J. P.; BOTELHO, C. M. S.; BOAVENTURA, R. A. R. Chromium and zinc uptake by algae *Gelidium* and agar extraction algal waste: kinetics and equilibrium. **Journal of Hazardous Materials**, v.149, p.643-649. 2007.

VOLESKY, B. Biosorption and Biosorbent. In: (Ed.). Biosorption of heavy metals. Boston: CRC Press Inc., 1990. Biosorption and Biosorbent, p. 3-5

_____. Biosorption and me. **Water resource**, v.41, p.4017-4029. 2007.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**, v.11, p.235-250. 1995.

WANG, J.; CHEN, C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. **Biotechnology Advances**, v.27, p.195-226. 2009.

WANG, X. S.; QIN, Y. Removal of Ni(II), Zn(II) e Cr(VI) from aqueous solution by *Alternanthera philoxeroides* biomass. **Journal of hazardous materials**, v.138 B, p.582- 588. 2006.

WASE, J.; FORSTER, C. Biosorbents for metals íons. Inglaterra: Editora Taylor e Francis Ltd. 1997

WEBER JR., W. J.; MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solution. **Journal of the Sanitary Engineering Division**, v.ASCE 89 (SA2), p.31-59. 1963.

WHITE, C.; SAYER, J. A.; GADD, G. M. Microbial solubilization and immobilization of toxic metals: key biogeochemical process for treatment contamination. **FEMS microbiology reviews**, v.20, p.503-516. 1997.

WHO. Environmental Health Criteria 61: chromium, Geneva 1998.

_____. Environmental Health Criteria 221: zinc, Geneva 2001.

YALÇIN, M.; GURSES, A.; DOGAR, Ç.; SOZBILIR, M. The Adsorption Kinetics of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) onto powdered active Carbon. **Adsorption**, v.10, p.339-348. 2004.

YAMAMURA, A. P. G.; YAMAMURA, M. Estudo da cinética e das isotermas de adsorção de U pelo bagaço de cana-de-açúcar. International nuclear atlantic conference - INAC 2005. São Paulo 2005.

YIN, P.; YU, Q.; JIN, B.; LING, Z. Biosorption removal of cadmium from aqueous solution by using pretreated fungal biomass cultured from starch wastewater. **Water Research**, v.33, p.1960-1963. 1998.

YUN-GUO, L.; TING, F.; GUAN-MING, Z.; XIN, L.; QUING, T.; FEI, Y.; MING, Z.; WEI-HUA, X.; YU-E, H. Removal of cadmium and zinc ions from aqueous solutions by living *Aspergillus niger*. **Transactions of Nonferrous Metals Society**, v.16, p.681-686. 2006.

ZAFAR, S.; AQIL, F.; AHAMAD, I. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. **Bioresource Technology**, v.98, p.2557-2561. 2007.

ZHOU, J. L.; HUANG, P. L.; LIN, R. G. Sorption and desorption de Cu e Cd by macroalgae e microalgae. **Environmental pollution**, v.101, p.67-75. 1998.

ZINDARSIC, P.; KOMEL, R.; PAVKO, A. Studies of a pelleted growth form of *Rhizopus nigricans* as a biocatalyst for progesterone 11 α -hydroxylation. **Journal of Biotechnology**, v. 60, p.207-216. 1998.

ZOUBOLIOUS, A. I.; MATIS, K. A.; LOULIDOU, M.; SEBESTA, F. Metal biosorption by PAN-immobilized fungal biomass in simulated wastewaters. **Colloids and surfaces A: Physicochemistry and Engineering Aspects**, v.212, p.185-195. 2003.

APÊNDICE

9. APÊNDICE A – Tratamento da biomassa para remoção de Cr(VI)

Foram estudados três diferentes tratamentos da biomassa morta para remoção de Cr(VI). Os tratamentos foram comparados quanto ao percentual de remoção de Cr(VI) e só um deles foi usado no trabalho.

9.1. Metodologia

9.1.1. Tratamento da biomassa por aquecimento em autoclave

Descrito no item 4.5.4.1.

9.1.2. Tratamento da bioamassa com NaOH

Após etapa de crescimento e lavagem dos pellets (itens 4.5.2 e 4.5.3) a biomassa úmida, foi pesada (120g) e aquecida a 100°C, em 400mL de NaOH 0,5N, por 15 min. Em seguida, a biomassa foi lavada abundantemente com água deionizada até que o pH da água de lavagem ficasse próximo a neutralidade ($7,0 \pm 0,2$), e seca em estufa a 50°C por 8h e usada como biossorvente para remoção de Cr(VI).

9.1.3. Tratamento da biomassa com reagente à base de 3-cloro-2-hidroxil-N,N,N- trimetil,1-propanamina (QUAT 188)

A metodologia de tratamento da biomassa foi adaptada do trabalho de Laszlo (1996).

Após etapa de crescimento e lavagem dos pellets (itens 4.5.2 e 4.5.3), 120 g de biomassa foi seca em estufa a 50°C por 24h, depois ela foi colocada em contato com NaOH 5N, na proporção de 1,25 mL de NaOH para cada 1g de biomassa, e deixada em repouso por 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, 1mL do reagente a base de 3-cloro-2-

hidroxil- N,N,N-trimetil, 1-propanamina foi adicionado a mistura, e o produto resultante foi transferido para um roto-evaporador a temperatura de 60°C, por 20 minutos, sob condições de vácuo, para reduzir a quantidade de água no material. Após o tratamento a vácuo, a reação foi continuada a pressão atmosférica por 3 horas. Então, a biomassa foi suspensa em água destilada e a suspensão foi ajustada para pH 2 com HCl, filtrada, lavada novamente com águas destilada, centrifugada, seca em estufa a 50°C, macerada e usada como biossorvente para remoção de Cr(VI).

Após tratamento as biomassas foram utilizadas como biossorvente de Cr(VI) em experimento em batelada. O ensaio consistiu em adicionar 50 mL de solução 50mg Cr(VI).L⁻¹ a 9 erlenmeyers contendo 1g.L⁻¹ de biomassa tratada, sendo três erlenmeyers para cada tratamento. A mistura foi submetida agitação orbital de 120 rpm por 24h, na temperatura de 28± °C e em seguida, filtradas em papel de filtro qualitativo.

A concentração residual de Cr(VI) após biossorção foi medida por espectrofotometria de absorção molecular no UV-VIS, empregando 1,5-difenilcarbazida como agente cromogênico.

9.2. Resultado

9.1.2. Pré-tratamento da biomassa morta para remoção de Cr(VI)

Com intuito de aumentar o poder de adsorção de Cr(VI) foram estudados três tratamentos diferentes da biomassa. Os tratamentos foram aquecimento por autoclave, tratamento com hidróxido de sódio e Quat 188. Na Figura 37 estão apresentados os resultados de porcentagem de remoção de Cr(VI) em função do tratamento da biomassa morta.

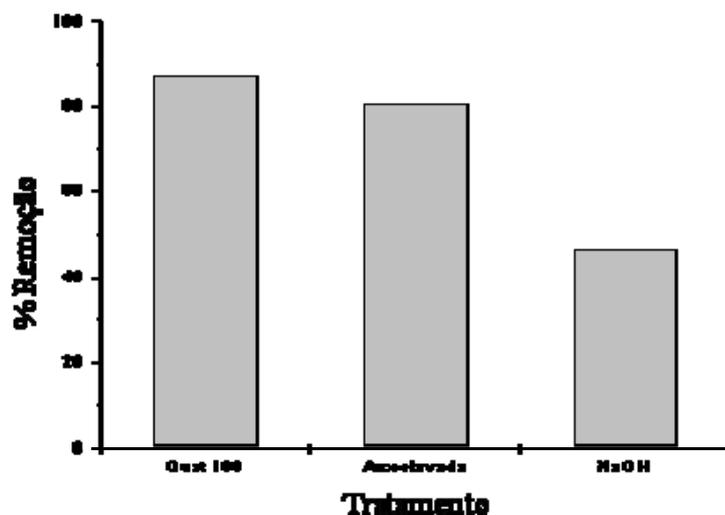


Figura 37- Percentual de remoção de Cr(VI).em função do tratamento da biomassa.

De acordo com o gráfico comparativo dos três tratamentos aplicados a biomassa observou-se que o tratamento com Quat 188 obteve maior percentual de remoção de Cr(VI) que o tratamento por aquecimento em autoclave e tratamento com NaOH 0,5 Mol.L⁻¹. Como a diferença entre o tratamento 1 e 2 foi apenas de 7% , optou-se em se trabalhar com a biomassa morta por aquecimento em autoclave, já que o tratamento com Quat 188 é muito complicado e apresentou baixo rendimento (resultados não mostrados) e necessita de uma grande quantidade de biomassa.

ANEXOS

10. ANEXO A – Diagrama de especiação de Zn em água.

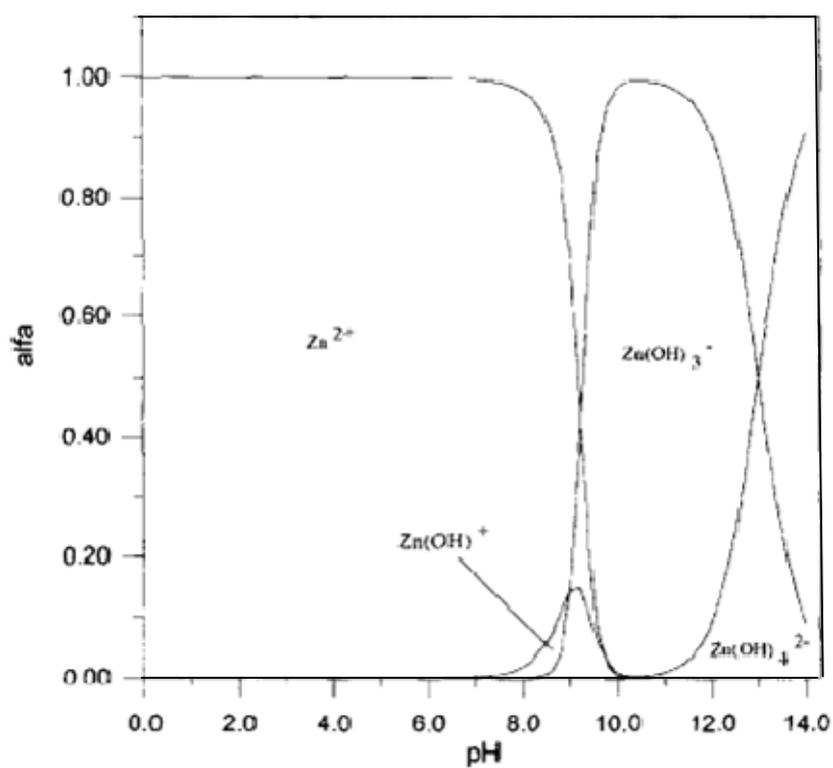


Figura 38- Diagrama de especiação de Zn em solução aquosa (CARROTT *et al.*, 1996)

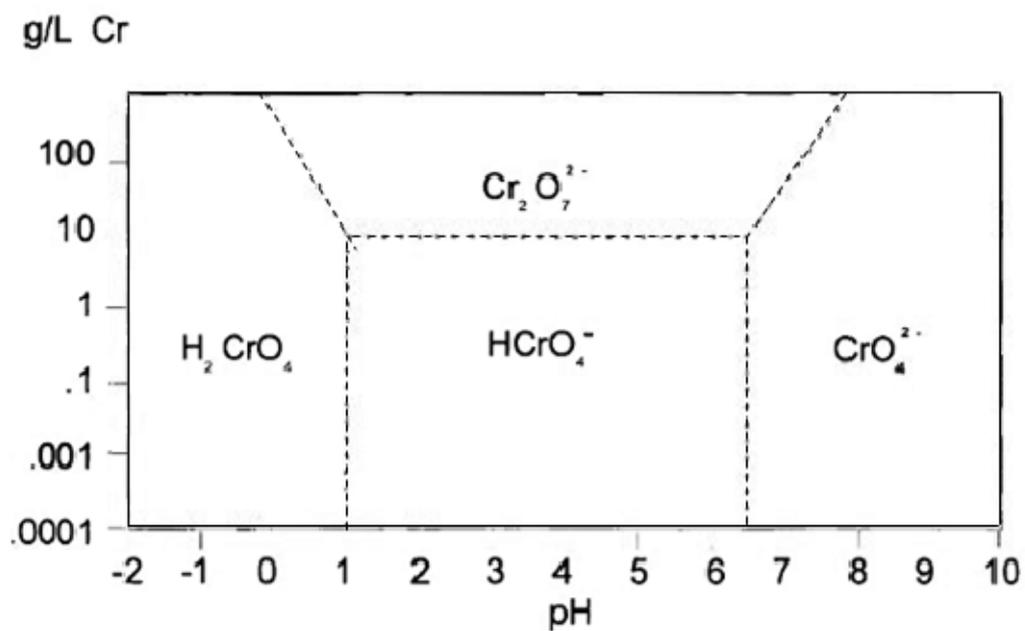
11. ANEXO B – Diagrama de especiação de Cr(VI) em água.

Figura 39- Diagrama de especiação de Cr(VI) em solução aquosa (Dionex, 1990).