

Capítulo 4- Resultados e Discussão

No capítulo que se segue serão apresentados os principais resultados obtidos durante a realização deste projecto e será feita a discussão dos mesmos.

4.1- Quantificação de polímeros e polissacáridos

O processo de biossorção ocorre como resultado das interações dos metais e/ou poluentes orgânicos com os grupos funcionais presentes nos polímeros orgânicos constituintes da superfície das células ou como resultado de processos metabólicos. É sabido que os grupos fosfato, carboxílico, amino e amida encontrados nos carboidratos, lípidos, proteínas e outros biopolímeros do envelope celular microbiano representam os principais locais para a adsorção de metais. A distribuição em termos de cargas e a geometria destes locais de ligação podem variar com a composição do envelope celular de cada microrganismo, resultando assim em nítidas diferenças nas afinidades metal-ligação.

O fenómeno de ligação de bactérias a uma superfície sólida formando um biofilme pode ser descrito por um processo com dois passos: primeiro, os microrganismos na proximidade imediata da superfície são fixados, de forma ligeira, por forças electrostáticas e podem ser facilmente removidos da superfície; segundo, as bactérias produzem exopolissacáridos que formam a matriz do biofilme, a qual está firmemente aderida ao substrato, sendo mais difícil a remoção dos microrganismos presos à superfície (Parkar *et al.*, 2001). As redes polissacarídica e polimérica dão importantes indicações sobre a capacidade de formação de biofilmes por microrganismos. A presença de locais de ligação possibilita aos EPS não só sequestrar minerais e nutrientes para o crescimento microbiano, mas também remover metais tóxicos em processos biológicos de tratamento de águas residuais (Liu e Fang, 2002).

A produção de polissacáridos foi maior para o *B. coagulans* seguido pelo *S. equisimilis*, *E. coli* e *A. viscosus* (9.19 mg/g_{biosorvente}, 7.24 mg/g_{biosorvente}, 4.77 mg/g_{biosorvente}, 0.57 mg/g_{biosorvente}) (Figura 4.1.1). Em termos de polímeros totais, o biofilme de *A. viscosus* foi o que apresentou maior valor (0.274 g/g_{biosorvente}), seguido dos biofilmes de *S. equisimilis* (0.173 g/g_{biosorvente}), *E. coli* (0.142 g/g_{biosorvente}) e *B. coagulans*

(0.070 g/g_{biosorvente}) (Figura 4.1.2). Estes resultados, em conjunto com as imagens dos biofilmes obtidas por microscopia electrónica (ver pontos 4.4 e 4.5), revelam que estas bactérias têm boa capacidade de adesão ao GAC e boas qualidades para capturar iões metálicos/ compostos orgânicos.

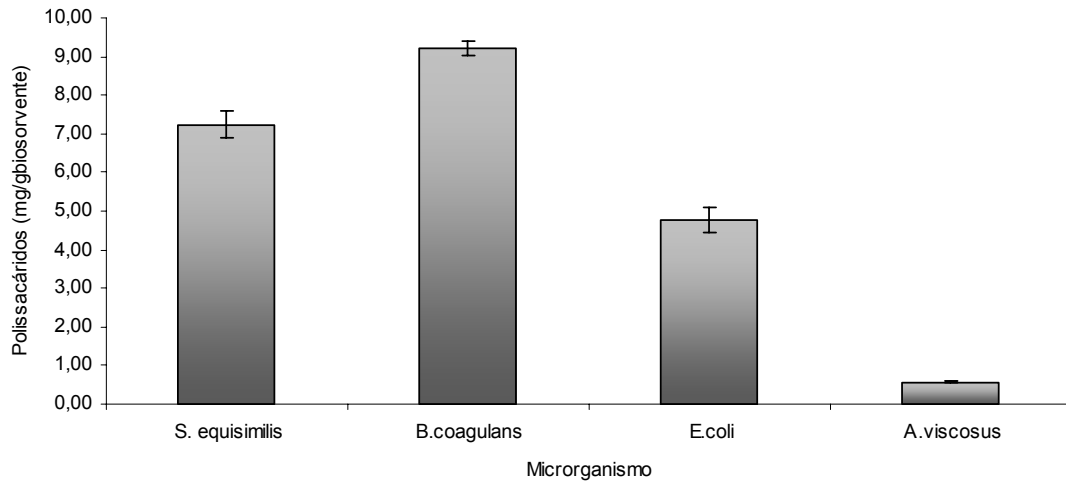


Figura 4.1.1- Quantificação de polissacáridos (mg/g_{biosorvente}) efectuada para os diferentes microrganismos estudados.

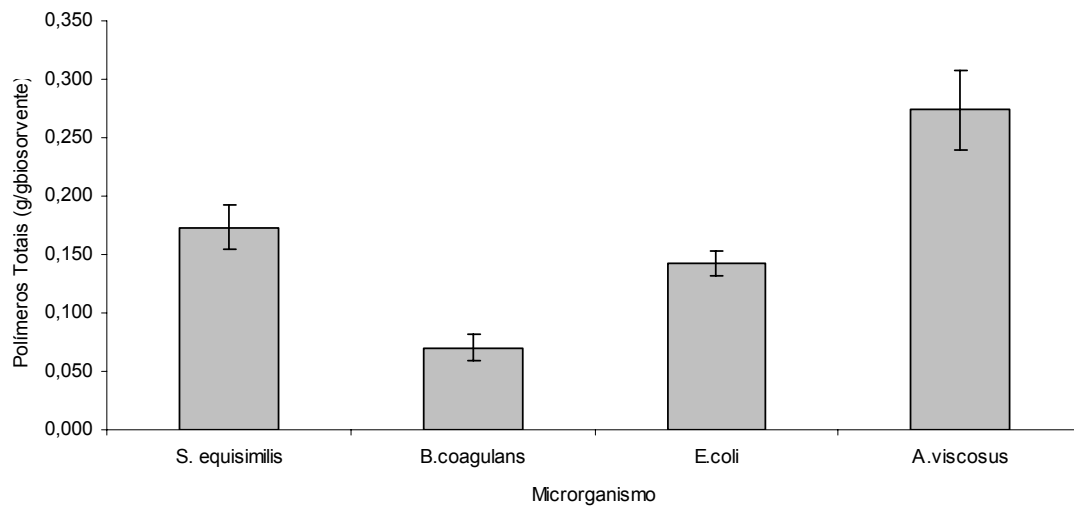


Figura 4.1.2- Quantificação de polímeros totais (g/g_{biosorvente}) efectuada para todos microrganismos estudados.

Vários autores têm estudado a bioadsorção de metais pelos EPS produzidos pelas bactérias. Destacam-se os trabalhos de Comte *et al.* (2006), onde foi estudada a afinidade dos EPS para com os metais Cu (II), Pb (II), Ni (II) e Cd (II). Guibaud *et al.* (2006) também se debruçaram sobre a bioadsorção de cádmio e chumbo e Morillo *et al.* (2006) estimularam a produção de exopolissacarídeos por parte da bactéria *Paenibacillus jamilae* com vista à sua utilização na remoção de metais, nomeadamente Pb (II), Cd (II), Cu (II), Zn (II), Co (II), e Ni (II).

Como se verificou uma maior produção de polímeros totais por parte da bactéria *Arthrobacter viscosus*, e portanto se prever ser esta a bactéria que melhor adere ao GAC, decidiu-se que seria esta a bactéria a ser usada nos estudos com o reactor piloto e iniciou-se uma série de experiências com o intuito de se verificar qual o comportamento desta bactéria na presença de outras substâncias como sejam os compostos orgânicos. No entanto foram também efectuados estudos de bioadsorção com os outros três biofilmes de modo a comparar a performance de bioadsorção entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Destes ensaios se dará conta no ponto seguinte, sendo os resultados relativos aos estudos de bioadsorção com o biofilme de *Arthrobacter viscosus* discutidos nos pontos 4.3 e 4.4.

4.2- Estudo comparativo da performance de bioadsorção entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

A mais básica distinção que se pode fazer entre bactérias prende-se com a estrutura da parede celular, mais especificamente com o facto da bactéria possuir uma parede celular Gram-positiva ou Gram-negativa. Ambos os tipos de paredes celulares apresentam na sua composição uma camada circundante de peptidoglicano a qual é rica em grupos carboxilato e envolve completamente a célula. A camada de peptidoglicano na parede celular das células Gram-positivas têm cerca de 25 nm de espessura, enquanto a mesma camada nas células Gram-negativas é muito mais fina (cerca de 7.5 nm). As bactérias Gram-positivas tem uma estrutura de peptidoglicano com polímeros secundários que contribuem para aumentar a natural reactividade da parede celular visto fornecerem grupos funcionais acídicos, tais como grupos fosfóricos dos ácidos teicóicos e grupos carboxilícos provenientes dos ácidos teicurónicos. Por outro lado, as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa composta por lipopolissacarídeos, proteínas e fosfolípidos. Os constituintes moleculares dessa membrana externa são os grupos funcionais fosfóricos,

carboxílicos e amino (Kulczycki *et al.*, 2002). O comportamento de três bactérias diferentes, duas Gram-positivas (*Bacillus coagulans* e *Streptococcus equisimilis*) e uma Gram-negativa (*Escherichia coli*), em termos de capacidade de bioadsorção, foi objecto de estudo deste trabalho e dos principais resultados se dará conta neste ponto.

Investigações efectuadas em processos de bioadsorção utilizando bactérias, na gama de pH ácida, demonstraram uma redução no número de locais de ligação disponíveis para os metais devido a protonação ou interacção entre catiões e cargas negativas presentes nos grupos funcionais acídicos dos polissacáridos (Prado Acosta *et al.*, 2005). Os estudos aqui apresentados foram realizados a valores de pH entre 7.2-7.4 (durante a fase de formação do biofilme) e tal facto garante que todos os locais de ligação para o metal estão disponíveis no início do processo de bioadsorção.

Para a realização deste estudo comparativo, em sistema aberto, foram utilizadas três concentrações diferentes de uma solução, preparada em laboratório, a partir de $K_2Cr_2O_7$ e um efluente proveniente duma estação de tratamento situada numa zona de forte implantação de indústrias de curtumes, características por utilizarem nos seus processos industriais o metal crómio. A utilização deste efluente permite analisar o comportamento das diferentes bactérias em ambiente dito industrial. Em sistema fechado foram utilizadas sete concentrações diferentes de uma solução preparada a partir de $K_2Cr_2O_7$.

4.2.1- Ensaio em sistema fechado

A dependência em termos de pH da adsorção de metais pode estar fortemente relacionada com o tipo e estado iónico dos grupos funcionais presentes no adsorvente e também com o estado químico do metal na solução. Valores elevados de adsorção de Cr (VI) a valores baixos de pH podem ser explicados pelas espécies de crómio envolvidas e pelas características da superfície do adsorvente. Acima de pH 8, apenas a espécie CrO_4^{2-} é estável e à medida que o valor de pH diminui até à região de pH 3–6, o equilíbrio muda para dicromato de acordo com a reacção:



A diminuição do valor de pH resulta na formação de espécies óxidas de crómio mais polimerizadas. Por outro lado, sob condições de pH ácidas, a superfície do adsorvente torna-se altamente protonada e favorece o uptake do Cr (VI) na forma aniónica. Com o aumento do valor de pH, o grau de protonação da superfície reduz-se gradualmente e a adsorção diminui. Além disso, à medida que o valor de pH aumenta, passa a existir competição entre os iões OH^- e os iões cromato (CrO_4^{2-}), dado que o primeiro é a espécie dominante a elevados valores de pH. O potencial positivo da superfície do sorvente decresce, resultando no enfraquecimento das forças electrostáticas entre o sorvente e o sorbato, o qual por fim conduz à redução da capacidade de sorção (Mor *et al.*, 2007). O estudo desenvolvido nesta fase do trabalho usou soluções de pH na gama entre 4.5 e 5.5.

Foram efectuados ensaios de adsorção utilizando para o efeito soluções de concentração inicial de Cr (VI) entre 50 e 1000 mg/l, às quais foi adicionada uma quantidade fixa (1.5 g/150 ml) de GAC recoberto por biofilme. Os resultados indicam que a percentagem de remoção de Cr (VI) decresce à medida que a concentração inicial de Cr (VI) aumenta (Tabela 4.2.1.1). A remoção de Cr (VI) varia desde 46.9% até 17.2% para as concentrações iniciais de Cr (VI) na gama entre 50-1000mg/l, para o biofilme de *B. coagulans*, desde 36.6% até 10.8%, para o biofilm de *E. coli* e desde 72% até 46.3%, para o biofilme de *S. equisimilis*. Padmesh *et al.* (2005) explicam esse decréscimo com o facto de a mais baixas concentrações, a razão entre o número de moles iniciais de crómio e a área superficial disponível ser mais baixa e conseqüentemente a adsorção revelar-se independente das concentrações iniciais e a concentrações mais elevadas os sítios activos disponíveis ficam em menor número comparado com o número de moles de crómio presentes e por este motivo a percentagem de remoção do crómio é dependente da concentração inicial. Horsfall Jr *et al.* (2006) afirmam que a menor distância média entre as espécies a adsorver afecta a distribuição de cargas dos seus vizinhos, o que em consequência, altera a capacidade das espécies de migrar para a superfície da biomassa, resultando num decréscimo da adsorção.

Tabela 4.2.1.1- Valores da concentração de equilíbrio e de percentagem de remoção de Cr (VI) obtidos para diferentes concentrações iniciais de metal (37 °C, 150 rpm), e para todos os diferentes biofilmes testados

C_0 (mg/l)	<i>Bacillus coagulans</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Streptococcus eq.</i>	
	C_{eq} (mg/l)	Rp (%)	C_{eq} (mg/l)	Rp (%)	C_{eq} (mg/l)	Rp (%)
73.2	38.9	46.9	46.4	36.6	20.5	72.0
105.9	62.6	40.9	74.8	29.4	37.8	64.3
247.0	169.5	31.4	198.8	19.5	138.2	44.1
365.2	251.5	31.1	303.0	17.0	222.4	39.1
546.9	393.0	28.1	462.9	15.4	355.2	35.1
743.6	579.8	22.0	655.1	11.9	498.8	32.9
947.4	784.9	17.2	845.3	10.8	508.5	46.3

Fazendo uma comparação com os valores de remoção obtidos com o microrganismo *Arthrobacter viscosus* é de referir que os valores de remoção obtidos para os mesmos valores de concentração inicial são maiores para este último microrganismo. Assim, para a concentração de 250 mg/l, foi obtido um valor de remoção de 63.7 % utilizando o *A. viscosus* enquanto que para o *B. coagulans* se obteve 31.4 %, para a *E. coli* 19.5 % e para o *S. equisimilis* 44.1% e para a concentração de 750 mg/l, foi obtido um valor de remoção de 46.2 % utilizando o *A. viscosus* enquanto que para o *B. coagulans* se obteve 22.0 %, para a *E. coli* 11.9 % e para o *S. equisimilis* 32.9%. Mais uma vez se realça o melhor desempenho obtido com o biofilme de *A. viscosus* e se confirma a escolha deste microrganismo para os estudos com o reactor piloto.

4.2.1.1- Modelação das isotérmicas de adsorção

O processo de adsorção duma substância numa superfície entre duas fases conduz a uma distribuição termodinamicamente definida dessa substância entre essas duas fases à medida que o sistema atinge o equilíbrio. Esta distribuição pode ser expressa

em termos de isotérmicas de adsorção, de acordo com a qual as espécies metálicas, confiscadas pelo sorvente pela acção de variados mecanismos, estão em equilíbrio com as espécies deixadas livres na solução (Lodeiro *et al.*, 2004). Para os biossorventes usados no desenvolvimento deste trabalho experimental (biofilme + GAC), foram determinadas experimentalmente isotérmicas de adsorção e os resultados encontram-se representados na Figura 4.2.1.1.1.

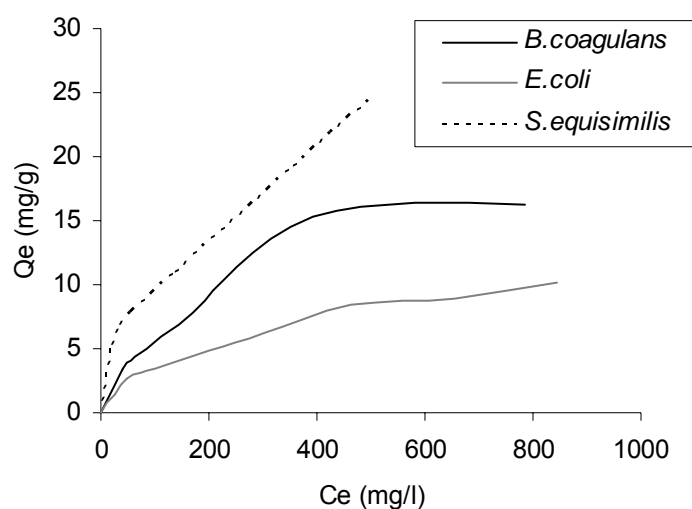


Figura 4.2.1.1.1- Isotérmicas de adsorção para o crómio (VI) a 37 °C usando três diferentes biofilmes suportados em GAC.

Um fenómeno de adsorção típico é formado por dois passos, um primeiro no qual ocorre uptake instantâneo ou muito rápido, seguido dum segundo passo caracterizado por um estado estacionário. Pehlivan e Arslan (2007) explicam que o fenómeno verificado no primeiro passo pode ser atribuído à utilização muito rápida dos sítios de adsorção disponíveis na superfície do adsorvente e a segunda parte da curva pode ser atribuída à lenta taxa de difusão do metal pelos microporos do adsorvente.

A estes resultados experimentais foram ajustados seis diferentes modelos - Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Dubinin-Radushkevich, Sips e Toth – e as constantes calculadas a partir do ajuste ao gráfico de cada um dos modelos são apresentadas na Tabela 4.2.1.1.1.

Tabela 4.2.1.1.1– Constantes das isotérmicas de adsorção obtidas para todos os modelos estudados, para a adsorção de Cr (VI) e para os três biofilmes testados

Langmuir				
	$Q_{\text{máx.}}$	b		R^2
<i>E. coli</i>	9.533	0.0077		0.943
<i>B. coagulans</i>	19.455	0.0052		0.976
<i>S. equisimilis</i>	16.077	0.0220		0.931
Freundlich				
	K_f	n		R^2
<i>E.coli</i>	0.408	2.091		0.991
<i>B. coagulans</i>	0.431	1.751		0.970
<i>S. equisimilis</i>	1.226	2.147		0.984
Dubinín-Radushkevich				
	q_D	B_D		R^2
<i>E.coli</i>	9.677	45.862		0.928
<i>B. coagulans</i>	17.264	36.438		0.989
<i>S. equisimilis</i>	14.415	1.951		0.740
Redlich-Peterson				
	K_R	a_R	β	R^2
<i>E.coli</i>	0.693	1.500	0.537	0.992
<i>B. coagulans</i>	0.088	0.0038	1.000	0.980
<i>S. equisimilis</i>	2.163E+5	2.415E+5	0.475	0.989
Sips				
	K_s	a_s	b_s	R^2
<i>E.coli</i>	0.321	0.0057	0.543	0.992
<i>B. coagulans</i>	0.051	0.0024	1.120	0.981
<i>S. equisimilis</i>	1.744	-0.279	0.169	0.999
Toth				
	K_t	a_t	t	R^2
<i>E.coli</i>	0.402	-0.205	1.928	0.992
<i>B. coagulans</i>	2.788E+7	1381	0.366	0.988
<i>S. equisimilis</i>	0.578	-13.880	2.480	0.995

Para o biofilme de *E. coli*, o pior ajuste foi obtido com os modelos de Langmuir e Dubinin-Radushkevich, sendo que para os outros quatro modelos usados o ajuste foi bastante bom (Figura 4.2.1.1.2). Para o biofilme de *B. coagulans* o melhor ajuste foi obtido com o modelo de isotérmicas de Toth (Figura 4.2.1.1.3) e para o biofilme de *S. equisimilis* o melhor ajuste foi obtido com o modelo de Sips (Figura 4.2.1.1.4). O facto do ajuste obtido, para todos os biofilmes, com o modelo de Langmuir representar o pior resultado sugere que a ligação do crómio (VI) não ocorre como uma monocamada na superfície do biossorbente e que esta superfície está longe de ser energeticamente homogénea.

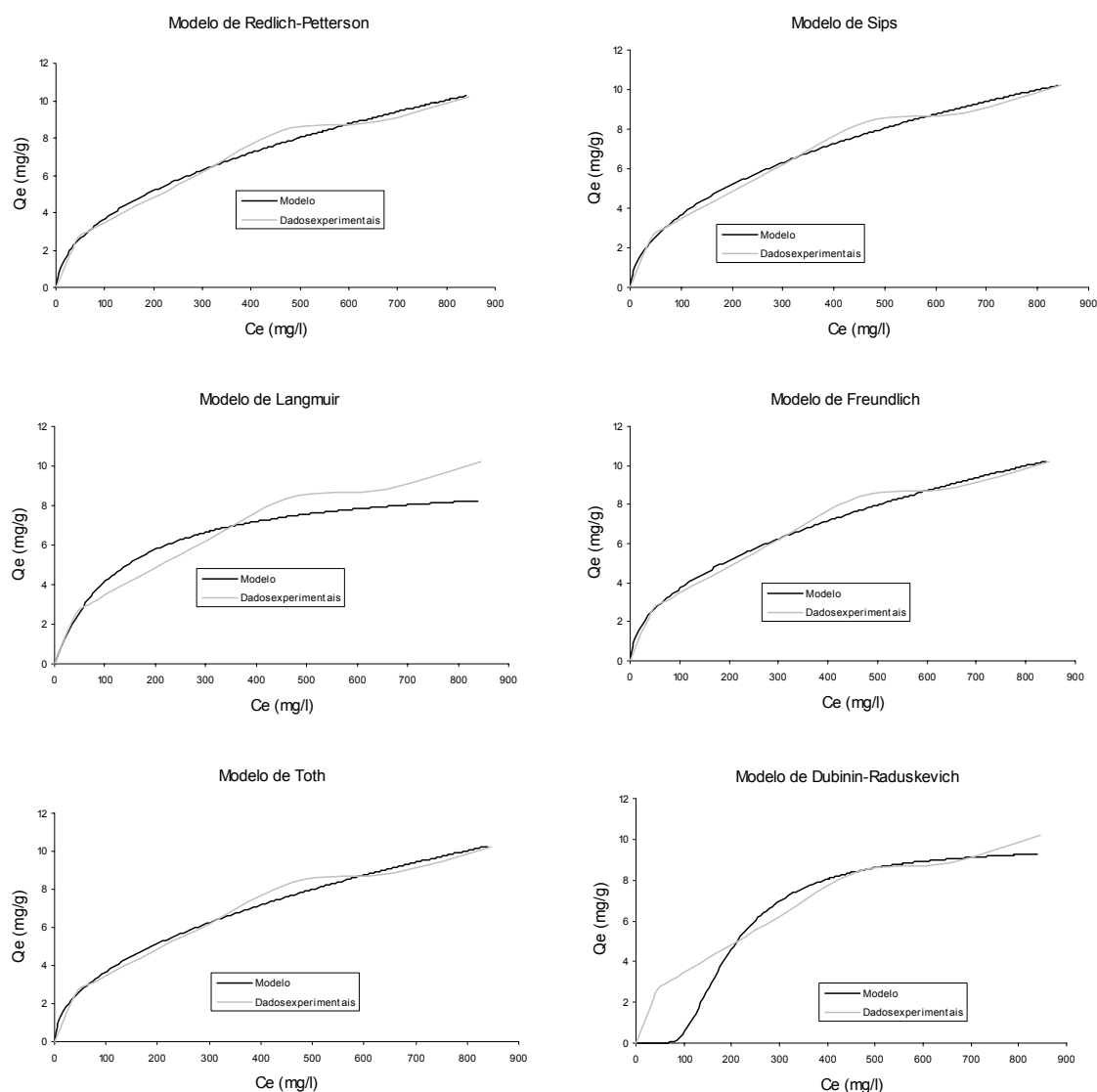


Figura 4.2.1.1.2- Aplicação de modelos de equilíbrio para a biossorção de Cr (VI) em *E. coli* suportada em GAC (— modelo, — dados experimentais).

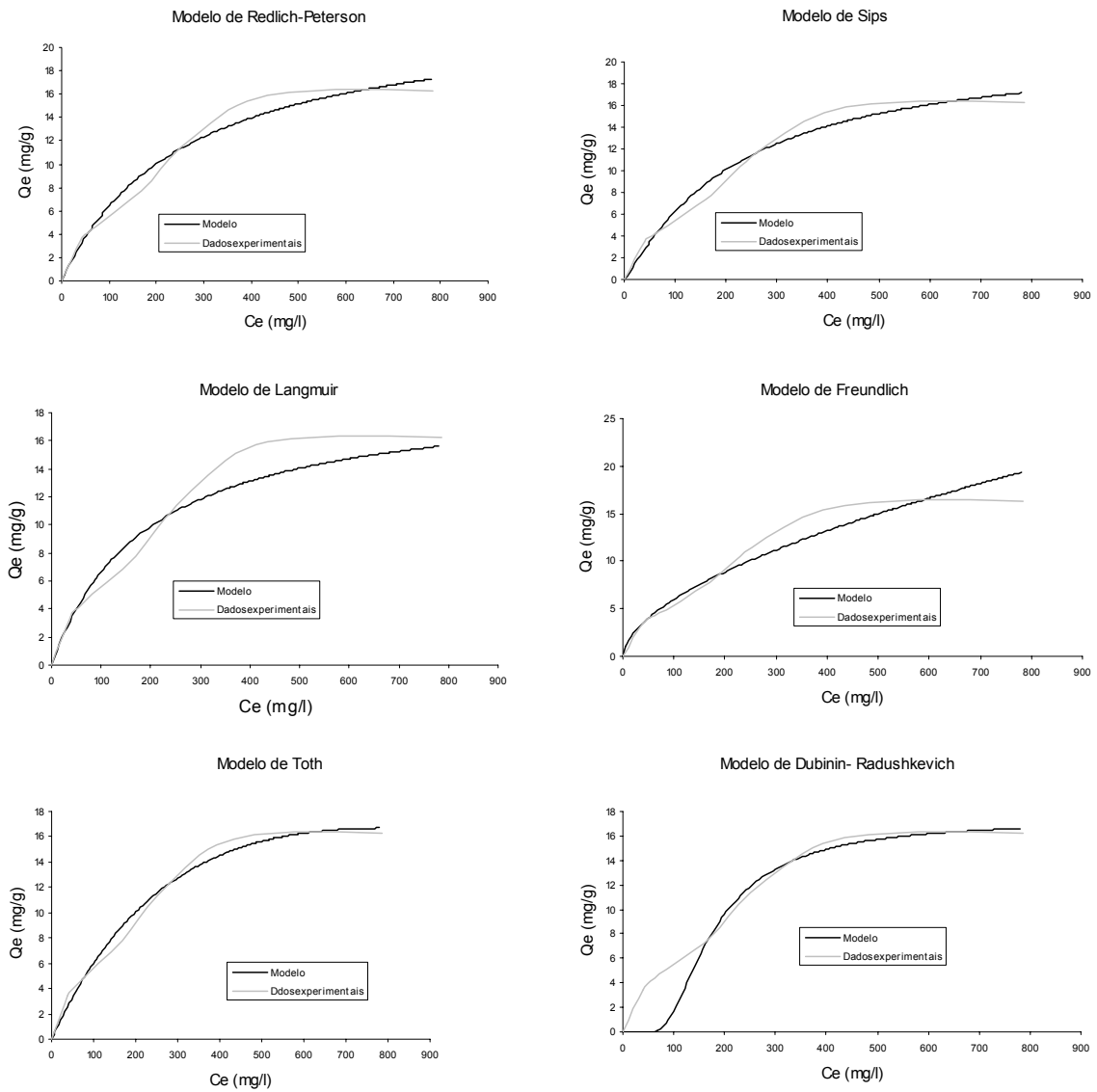


Figura 4.2.1.1.3- Aplicação de modelos de equilíbrio para a biossorção de Cr (VI) em *B. coagulans* suportado em GAC (— modelo, - - dados experimentais).

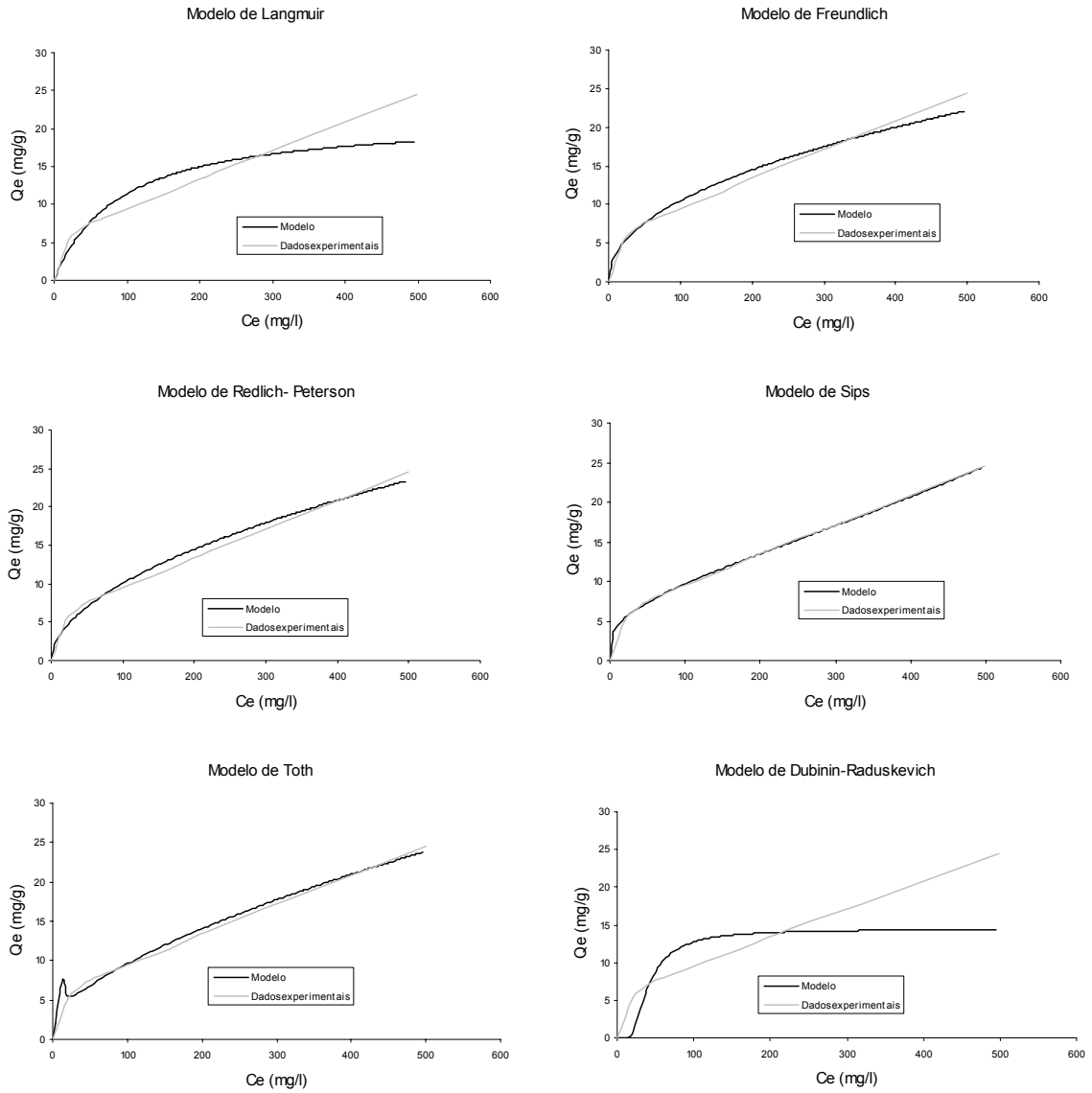


Figura 4.2.1.1.4- Aplicação de modelos de equilíbrio para a biossorção de Cr (VI) em *S. equisimilis* suportado em GAC (— modelo, - - dados experimentais).

4.2.2- Ensaio em sistema aberto

4.2.2.1- Efeito da concentração inicial de crómio na capacidade de bioadsorção

Os resultados mostram valores de uptake para o Cr (VI) de 5.82 mg/g_{biosorvente}, 5.35 mg/g_{biosorvente} e 4.12 mg/g_{biosorvente}, respectivamente para *S. equisimilis*, *B. coagulans* e *E. coli*, para a concentração inicial de 100 mg/l, 2.33 mg/g_{biosorvente}, 1.98 mg/g_{biosorvente} e 3.60 mg/g_{biosorvente}, para a concentração inicial de 50 mg/l e 0.66 mg/g_{biosorvente}, 1.51 mg/g_{biosorvente} e 1.12 mg/g_{biosorvente} para a solução mais diluída (10 mg/l) (Figura 4.2.2.1.1). A performance em termos de capacidade de bioadsorção das bactérias utilizadas nestes ensaios experimentais é comparável, apesar das diferenças entre as respectivas estruturas e composição das paredes celulares. Kulczycki *et al.* (2002) obtiveram idênticos resultados nos seus estudos e explicaram este facto com a reactividade química específica dos grupos funcionais (isto é, grupos carboxílicos e fosfóricos) que ocorre dentro dos polímeros estruturais das paredes das células de todas as bactérias.

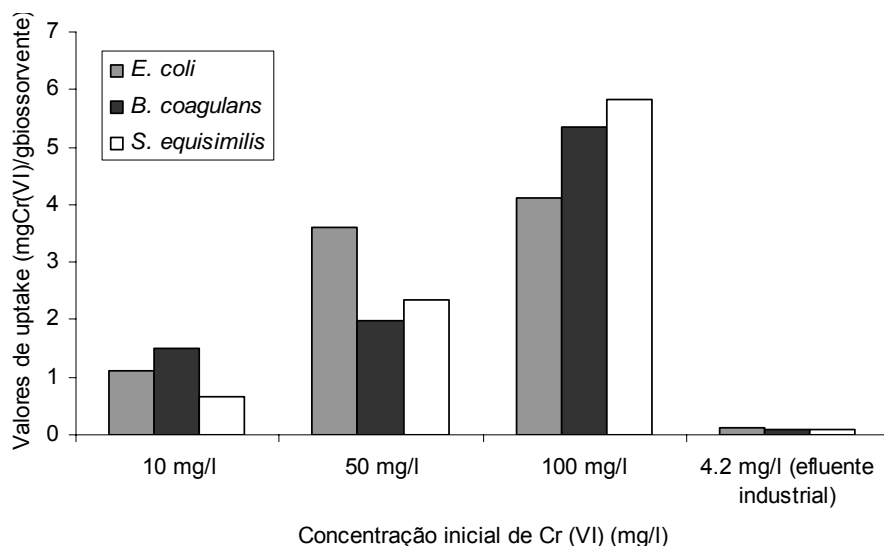


Figura 4.2.2.1.1- Valores de uptake obtidos para os ensaios em sistema aberto em função da concentração inicial de Cr (VI).

De entre os três biofilmes aqui discutidos aquele que produziu maior quantidade de polímeros totais foi o biofilme de *Streptococcus equisimilis* (ver ponto 4.1). Se uma boa adesão, por si só, fosse garantia de um bom comportamento em termos de biossorção, seria de esperar obter os melhores resultados com este biofilme. Tal não se verifica, pelo que se pode afirmar que a performance dum sistema de biossorção com recurso a biofilmes é afectado por vários factores, tais como uma boa adesão do biofilme, afinidade dos sítios activos das bactérias com determinado metal, efeito xenobiótico mais ou menos acentuado que um metal possa exercer sobre a bactéria, entre outros.

A Figura 4.2.2.1.2 representa as curvas de breakthrough para o Cr (VI) resultantes dos ensaios realizados, em minicolunas, a diferentes valores de concentração inicial e para os três biofilmes testados.

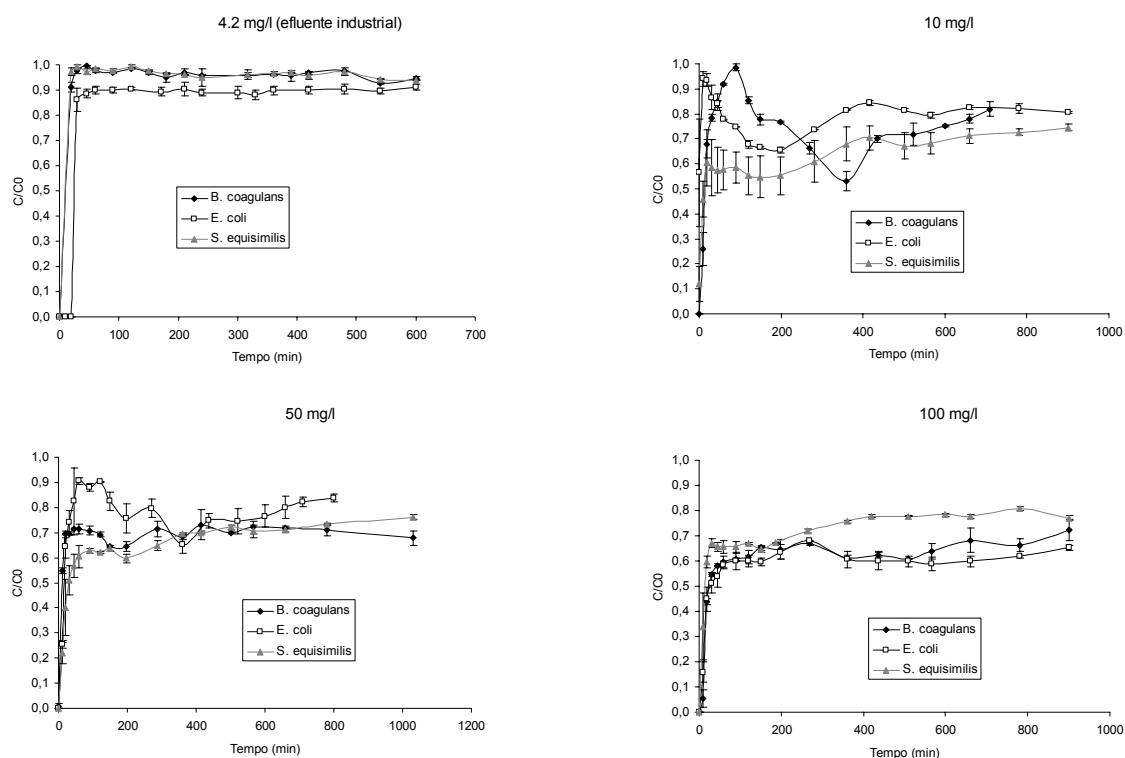


Figura 4.2.2.1.2 - Curvas de breakthrough para a biossorção de Cr (VI) utilizando biofilmes de *B. coagulans*, *E. coli* e *S. equisimilis* suportados em GAC, a diferentes valores de concentração inicial de metal.

Da análise da Figura 4.2.2.1.2 pode-se concluir que o processo de bioadsorção ocorre em dois patamares. Segundo Munõz e colaboradores (2006), o primeiro é muito rápido e reversível e é baseado essencialmente em adsorção física, troca iónica e quimisorção. O segundo é muito mais lento e irreversível e pode envolver ligações covalentes, precipitação superficial, reacções redox ou cristalização na superfície das células. Padmesh *et al.* (2005) afirmam que a capacidade de bioadsorção do biofilme aumenta com o aumento da concentração inicial de metal e explicam isto com o facto da força motriz da bioadsorção ser a diferença entre a concentração de crómio na solução e a concentração de crómio no bioadsorvente. Assim, a elevada força motriz resultante da elevada concentração de crómio na fase líquida resulta em melhor performance por parte da coluna de bioadsorção. Os estudos desenvolvidos no âmbito deste trabalho confirmam este pressuposto em termos de uptake (Figura 4.2.2.1.1).

Os picos iniciais obtidos para as concentrações de 10 mg/l e 50 mg/l (Figura 4.2.2.1.2) estão relacionados com o período de adaptação das bactérias a um ambiente adverso. Para a concentração de 100 mg/l a actividade metabólica já é menos intensa (pelo efeito tóxico que as altas concentrações exercem sobre o biofilme) e portanto o período de adaptação é menos “visível”. No caso do efluente industrial, e como este é constituído por vários iões (ferro, alumínio e vários compostos orgânicos), o efeito tóxico é ainda mais intenso e como tal a actividade metabólica é reduzida.

O facto de nos ensaios realizados com as soluções de Cr (VI) preparadas laboratorialmente não se atingir $C/C_0=1$ significa que paralelamente ao fenómeno de adsorção existe também reacção.

A percentagem de remoção, após 10 h de ensaio experimental, mostra que a capacidade de remoção aumenta com o aumento da concentração de crómio para o biofilme de *E. coli* e de *B. coagulans*. Para o biofilme de *S. equisimilis*, a capacidade de remoção decresce com o aumento da concentração, para as soluções de crómio preparadas laboratorialmente, Figura 4.2.2.1.3. Uma possível explicação para o sucedido poderá ser o facto desta bactéria ser mais sensível ao efeito xenobiótico causado pelo aumento da concentração de crómio.

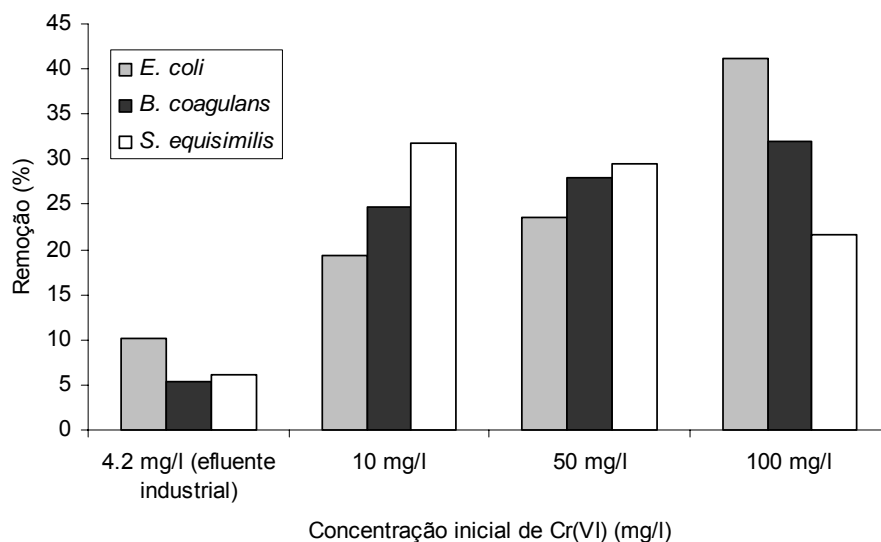


Figura 4.2.2.1.3.- Valores de percentagem de remoção, após 10 horas de ensaio experimental, para quatro concentrações de metal e para o efluente industrial, para os três biofilmes testados.

Em termos de percentagem de remoção, as bactérias Gram-positivas testadas (*B. coagulans* e *S. equisimilis*) apresentam os melhores resultados, nos estudos em sistema fechado (Tabela 4.2.1.1). Esta constatação está relacionada com o mais elevado tempo de contacto entre as soluções de crómio e o biofilme verificado nos ensaios em sistema fechado quando comparado com o tempo de residência nos estudos em coluna. No caso do sistema fechado é atingido um estado de equilíbrio, que não se verifica nos sistemas abertos devido à constante entrada de nova solução.

Amostras de biofilme foram recolhidas das colunas após biossorção e analisadas por Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM) de modo a confirmar a existência e boa adesão do biofilme. As imagens obtidas encontram-se representadas nas Figuras 4.2.2.1.4, 4.2.2.1.5 e 4.2.2.1.6. É de referir que estas figuras são um exemplo de várias fotografias tiradas ao biofilme percorrendo diferentes zonas das colunas, tentando abranger a maior área possível. A análise das figuras mostra que o biofilme cobre uniformemente a superfície do carvão, já que em todas as amostras foi possível observar uma camada gelatinosa de bactérias unidas entre si formando uma película ou filme. De referir que as amostras vieram de colunas que trataram soluções preparadas no laboratório e não efluente industrial.

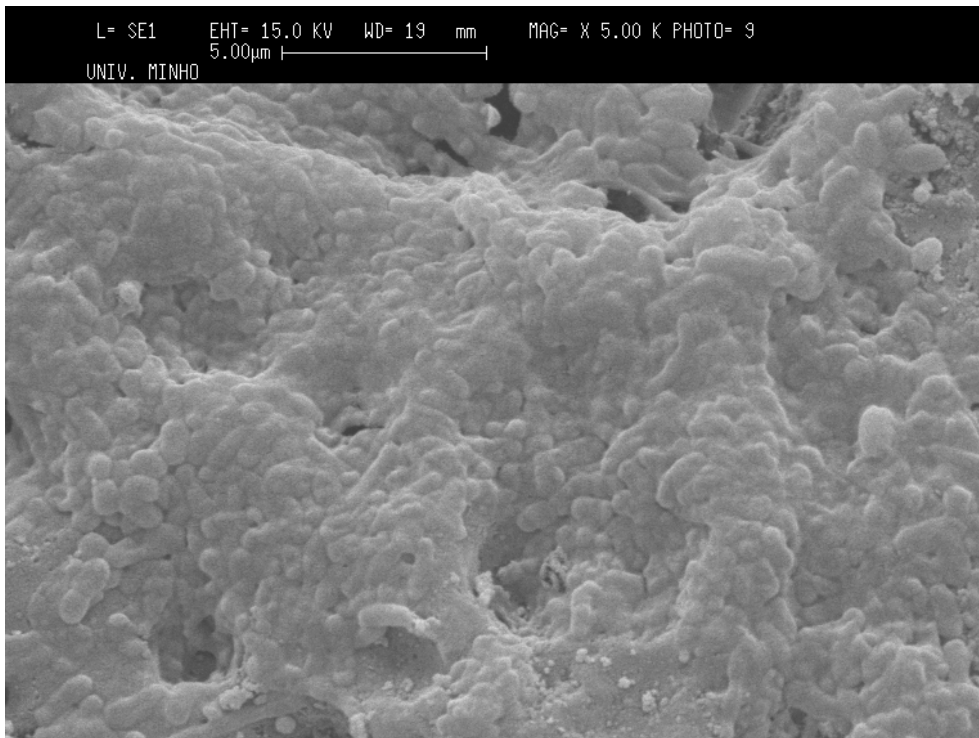


Figura 4.2.2.1.4- Imagem SEM do biofilme de *Bacillus coagulans* duma amostra de carvão retirada do reactor após 15h de ensaio. Ampliação de 5000x.

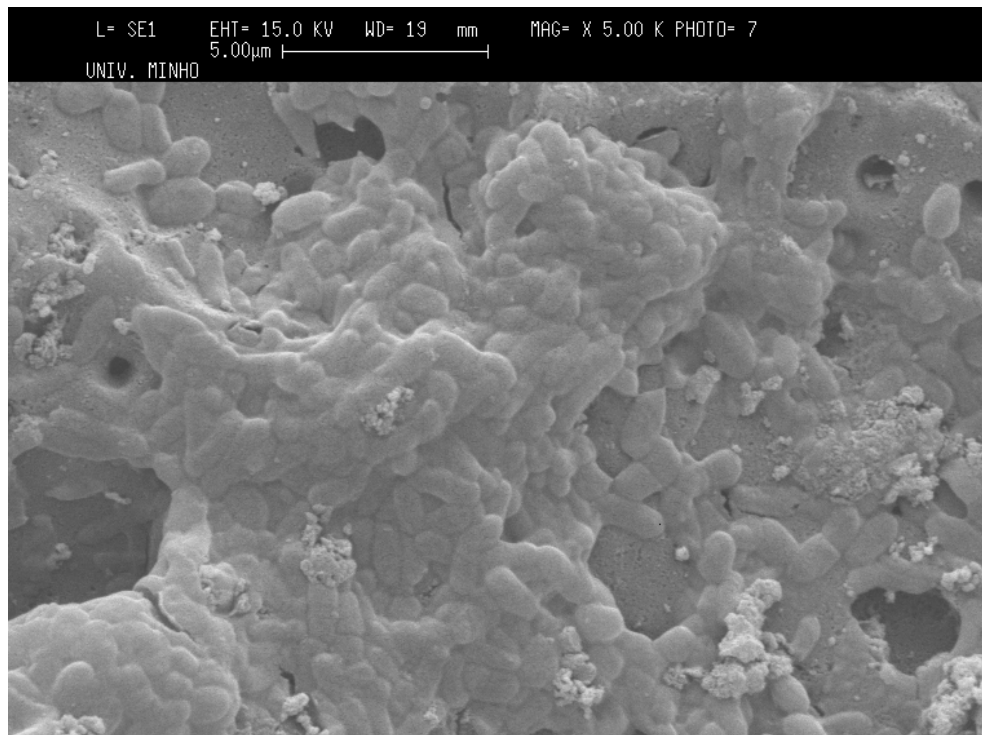


Figura 4.2.2.1.5- Imagem SEM do biofilme de *Escherichia coli* duma amostra de carvão retirada do reactor após 15h de ensaio. Ampliação de 5000x.

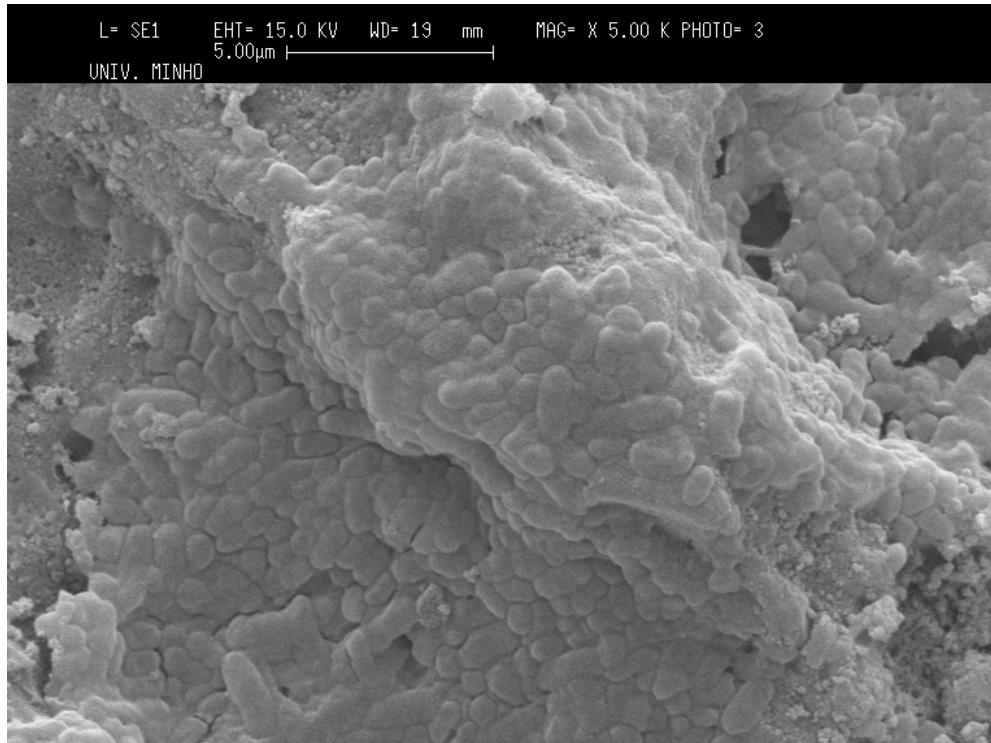


Figura 4.2.2.1.6- Imagem SEM do biofilme de *Streptococcus equisimilis* numa amostra de carvão retirada do reactor após 15h de ensaio. Ampliação de 5000x.

4.2.2.2- Modelação dos ensaios em sistema aberto: Aplicação dos modelos de Adams–Bohart e Wolborska

Os modelos de sorção de Adams–Bohart e Wolborska foram usados para descrever os dados experimentais. Esta aproximação baseia-se na estimativa dos parâmetros característicos dos dois modelos, ou seja, na estimativa da capacidade máxima de adsorção (N_0) e na constante cinética (k_{AB}) do modelo de Adams–Bohart e do coeficiente cinético de transferência de massa externa (β_a) do modelo de Wolborska.

É aqui lembrado, que os modelos de Adams-Bohart e de Wolborska são descritos pelas equações:

Modelo de Adams-Bohart:

$$\ln \frac{C}{C_0} = k_{AB}C_0t - k_{AB}N_0 \frac{Z}{U_0} \quad (13)$$

Modelo de Wolborska:

$$\ln \frac{C}{C_0} = \frac{\beta_a C_0}{N_0} t - \beta_a (C_b - C_s) \quad (16)$$

Após a aplicação da Eq. (13) e da Eq. (16) aos dados experimentais para diferentes concentrações iniciais de crómio, foi obtida uma relação linear entre os valores de $\ln C/C_0$ e t . Os respectivos valores de N_0 , k_{AB} e β_a foram calculados a partir do ajuste ao gráfico $\ln C/C_0$ versus t para todas as concentrações iniciais de crómio estudadas e são apresentados na Tabela 4.2.2.2.1, juntamente com os respectivos coeficientes de correlação. Estes dois modelos foram aplicados aos ensaios realizados com os três biofilmes atrás referidos. O valor da concentração de saturação (N_0) aumentou com o aumento da concentração de crómio de entrada, como esperado. As curvas de breakthrough, tanto as experimentais como as previstas pelo modelo, para cada uma das diferentes concentrações iniciais e diferentes microrganismos, encontram-se representadas na Figura 4.2.2.2.1.

Para a concentração mais diluída, as discrepâncias verificadas entre os resultados experimentais e os previstos pelo modelo são relativamente altas (não são mostrados os resultados, para a concentração de 10 mg/l), para os biofilmes de *B. coagulans* e *E. coli*. Os desvios relativamente elevados verificados para a mais baixa concentração de metal parecem estar relacionados com o facto da actividade metabólica não ser quantificada e conseqüentemente não ter sido introduzida no modelo. Para o biofilme de *S. equisimilis* o modelo ajusta-se devidamente aos dados experimentais. O motivo mais plausível para esta evidência poderá ser o facto da actividade metabólica para este microrganismo permanecer constante dentro da gama de concentrações usada. Embora o modelo de Adams–Bohart (ou Wolborska) forneça uma simples e compreensível aproximação para avaliar o desempenho duma coluna de biossorção, a sua validade é limitada à gama de condições usada.

Tabela 4.2.2.2.1- Parâmetros previstos pelos modelos de Adams-Bohart e de Wolborska para três concentrações iniciais de crômio e para os três biofilmes

<i>Bacillus coagulans</i>				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	658.5	4.44E-5	0.029	0.94
50	10436.7	1.76E-6	0.018	0.89
100	13091.3	2.15E-6	0.028	0.89
<i>Escherichia coli</i>				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	8049.8	6.22E-5	0.50	0.84
50	44801.6	1.26E-5	0.57	0.87
100	495370.4	1.08E-6	0.54	0.86
<i>Streptococcus equisimilis</i>				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	20424.8	2.66E-5	0.54	0.89
50	67768.9	7.53E-6	0.51	0.83
100	138421.1	3.23E-6	0.48	0.86

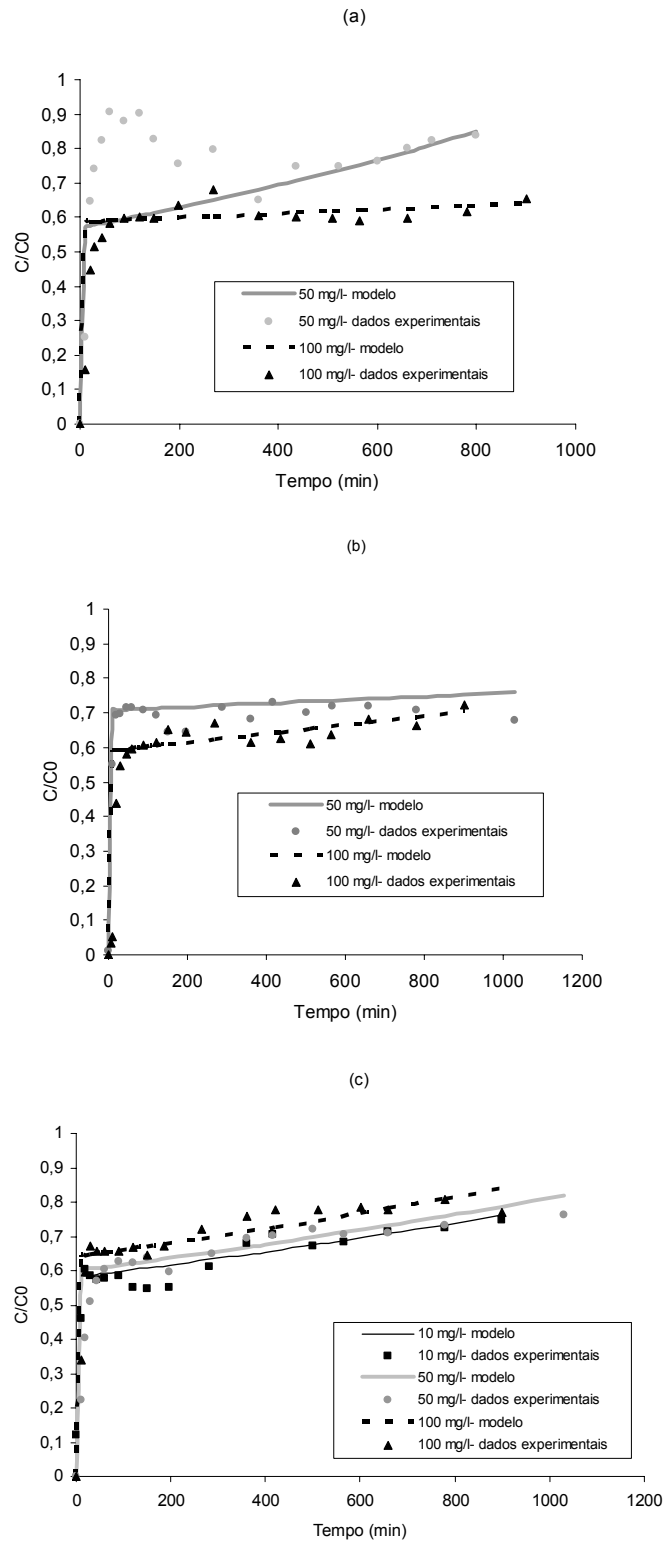


Figura 4.2.2.2.1- Aplicação dos modelos de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações de Cr (VI) à entrada da coluna. a) Biofilme de *E. coli* suportado em GAC, b) Biofilme de *B. coagulans* suportado em GAC, c) Biofilme de *S. equisimilis* suportado em GAC.

4.2.2.3- Modelação dos ensaios em sistema aberto: Aplicação do modelo de Yoon e Nelson

O comportamento em termos de capacidade de bioadsorção de crómio, numa coluna contendo um biofilme suportado em carvão activado granular foi também avaliada recorrendo a um modelo teórico simples desenvolvido por Yoon–Nelson, para os três diferentes biofilmes. Os valores de k_{YN} e τ foram determinados através do ajuste ao desenho gráfico de $\ln[C/(C_0-C)]$ versus t , para diferentes concentrações de entrada, que variaram entre 10 e 100 mg/L.

É aqui lembrado que o modelo de Yoon-Nelson é descrito pela equação:

$$\ln \frac{C}{C_0 - C} = k_{YN}t - \tau k_{YN} \quad (19)$$

Os valores obtidos encontram-se listados na Tabela 4.2.2.3.1. As curvas teóricas foram comparadas com os correspondentes valores experimentais e o resultado encontra-se representado na Figura 4.2.2.3.1. Da sua análise pode-se concluir que as curvas de breakthrough experimentais estão muito próximas das curvas previstas pelo modelo de Yoon–Nelson para todas as concentrações de entrada testadas, para o biofilme de *S. equisimilis* suportado em GAC. Para o biofilme de *B. coagulans* existe uma boa correlação entre os resultados experimentais e os previstos pelo modelo para as concentrações mais altas. Tal como já tinha acontecido com os modelos de Adams–Bohart e Wolborska, a mais baixa concentração usada apresenta grandes discrepâncias provavelmente pelas mesmas razões apresentadas no ponto anterior. Para o biofilme de *E. coli* existe um bom ajuste entre os valores experimentais e os previstos para tempos superiores a 300 min, para as mais altas concentrações de entrada usadas. Apesar de existirem algumas discrepâncias entre os resultados experimentais e os resultantes da aplicação do modelo, o modelo proposto por Yoon–Nelson fornece em geral uma boa descrição dos efeitos da concentração de crómio à entrada do sistema.

Tabela 4.2.2.3.1- Parâmetros previstos pelo modelo de Yoon-Nelson para três concentrações de entrada de crômio e para três biofilmes

<i>Bacillus coagulans</i>			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	61.11	0.0018	0.91
50	519.25	0.0004	0.83
100	554.83	0.0006	0.84
<i>Escherichia coli</i>			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	358.36	0.0014	0.84
50	284.21	0.0014	0.85
100	186.2	0.0005	0.91
<i>Streptococcus equisimilis</i>			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	269.11	0.0009	0.99
50	490.38	0.0008	0.87
100	463.33	0.0012	0.90

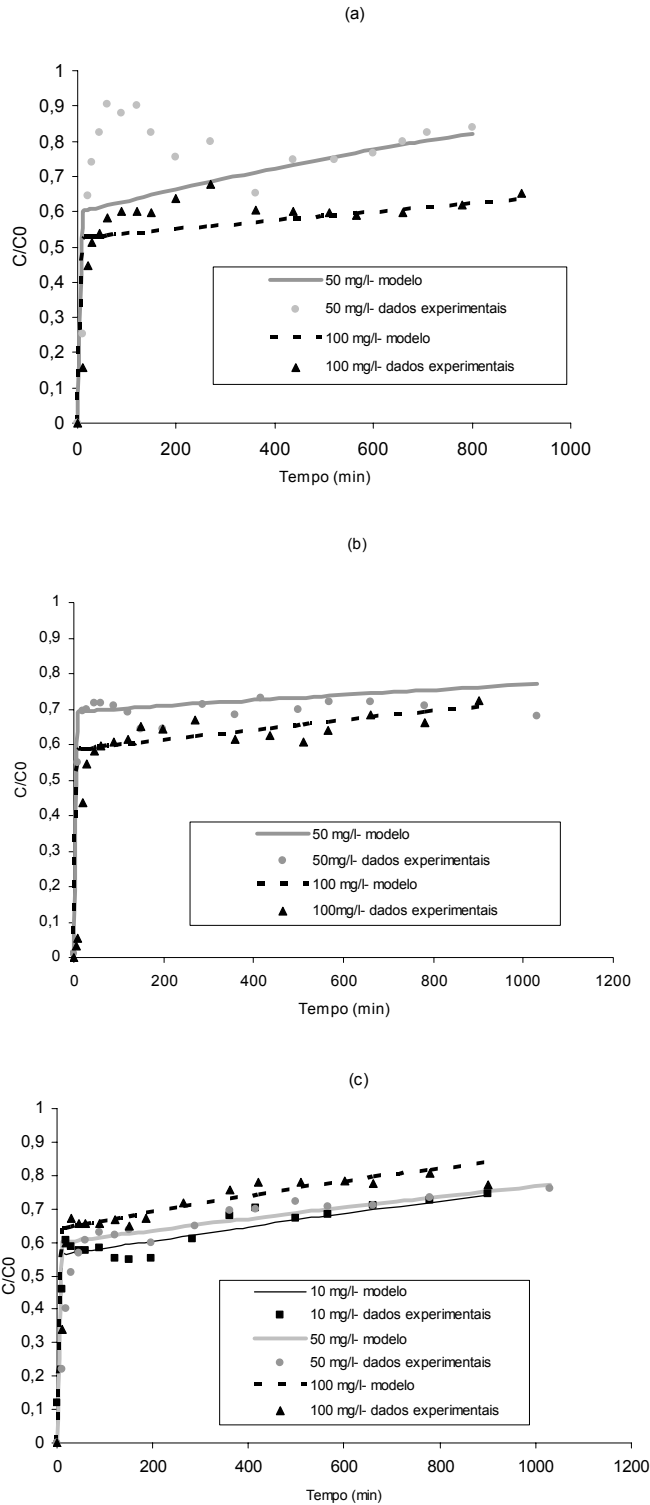


Figura 4.2.2.3.1- Aplicação do modelo de Yoon-Nelson para diferentes concentração de Cr (VI) à entrada da coluna. a) Biofilme de *E. coli* suportado em GAC, b) Biofilme de *B. coagulans* suportado em GAC, c) Biofilme de *S. equisimilis* suportado em GAC.

4.2.2.4- Efeito da presença de outros iões em solução

Estudos efectuados com um efluente industrial mostram valores de uptake para o crómio de 0.083 mg/g_{biosorvente}, 0.110 mg/g_{biosorvente} e 0.090 mg/g_{biosorvente}, respectivamente para os biofilmes de *S. equisimilis*, *E. coli* e *B. coagulans* para uma concentração inicial de crómio de 4.2 mg/l (Figura 4.2.2.1.1). Tal como para o valor de uptake, após 10 h de ensaio experimental, o melhor valor de percentagem de remoção foi obtido com o biofilme de *E. coli* (10.2%, Figura 4.2.2.1.3). Para as soluções preparadas em laboratório, o valor obtido para a percentagem de remoção com a mais baixa concentração de crómio usada (10 mg/l) foi de 19.3%, 24.7% e 31.8% (após 10 horas de ensaio), respectivamente para os biofilmes de *E. coli*, *B. coagulans* e *S. equisimilis*. Estes valores são muito mais elevados do que os valores obtidos com o efluente industrial (10.2%, 5.4% e 6.1%, respectivamente para os biofilmes de *E. coli*, *B. coagulans* e *S. equisimilis*), para o mesmo intervalo de tempo. Tal como se pode observar nas figuras 4.2.2.1.2 e 4.2.2.1.3, o processo de remoção de metais é inibido pela presença de outros iões e/ou compostos orgânicos específicos. Salehizadeh e Shojaosadati (2003) afirmam que a presença de uma multiplicidade de metais conduz a efeitos interactivos, extremamente complexos e que podem ser esperadas três tipos de resposta:

- 1- o efeito da mistura é superior aos efeitos individuais dos iões na mistura (Sinergia)
- 2- o efeito da mistura é inferior aos efeitos individuais dos iões na mistura (Antagonismo)
- 3- não é detectado nenhum efeito na mistura (Não existe interacção)

No presente trabalho os piores resultados foram obtidos com o efluente industrial e podem ser explicados pelo facto de outros elementos e compostos presentes no efluente industrial, poderem competir pelos mesmos sítios activos que o crómio. Aksu e Donmez (2006) referem que a intensidade de fixação dum biossorvente em relação a adsorbatos metálicos pode estar relacionada com as características dos locais de ligação (isto é, grupos funcionais, estrutura, etc.) e com as propriedades dos metais a adsorver (por exemplo, peso atómico, raio iónico, electronegatividade, potencial de redução do metal).

4.3- Bioissorção por *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC

4.3.1- Bioissorção de crómio- isotérmicas de equilíbrio

Foi efectuado o estudo das isotérmicas de adsorção do crómio hexavalente utilizando a bactéria *Arthrobacter viscosus* suportada em GAC e o resultado encontra-se representado na Figura 4.3.1.1. As concentrações iniciais de crómio utilizadas variaram entre 5 mg/l e 1000 mg/l, às quais foi adicionada uma quantidade fixa (1.5 g/150 ml) de GAC recoberto por biofilme.

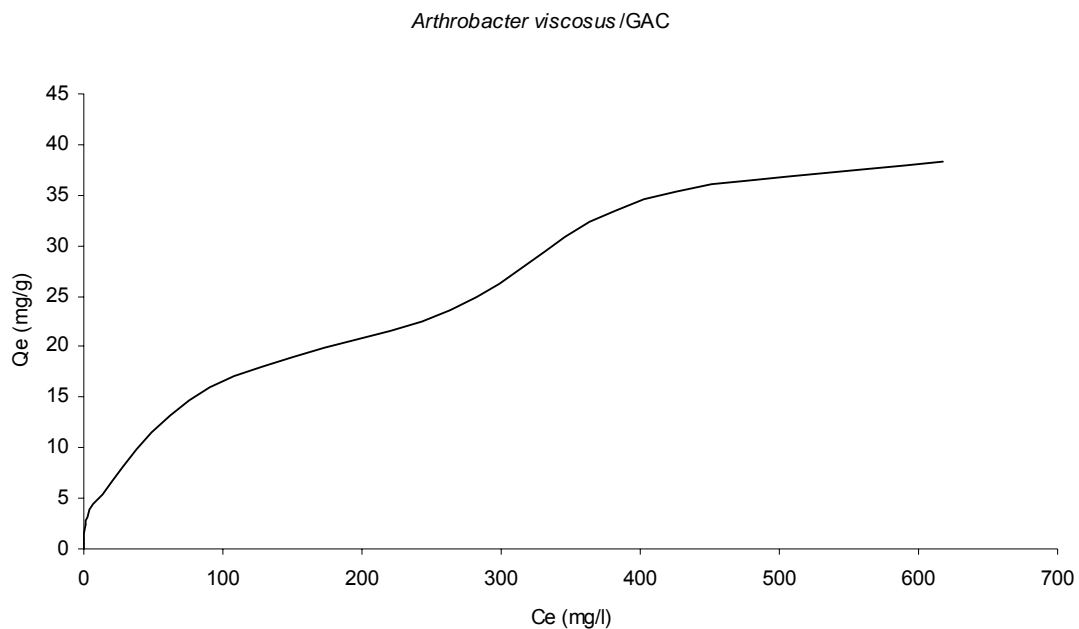


Figura 4.3.1.1- Isotérmica de adsorção do crómio (VI), a 28°C, usando um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC.

A forma da isotérmica representada na figura anterior sugere uma adsorção que não é monocamada, invulgar para adsorções metálicas. Uma possível explicação para a forma da isotérmica será a actividade metabólica do microrganismo, ou seja, a reacção do microrganismo com o metal. A eventual redução do estado de ionização do metal por parte da bactéria permitirá uma maior mobilidade do ião e possível migração deste para zonas mais internas do suporte onde se poderá fixar. O biofilme poderá, assim, fixar uma nova camada de iões metálicos.

Em termos de percentagem de remoção verifica-se que esta diminui à medida que a concentração inicial de crómio aumenta (Tabela 4.3.1.1). Padmesh *et al.* (2005) explicam esse decréscimo com o facto de a mais baixas concentrações, a razão entre o número de moles iniciais de composto e a área superficial disponível poder ser mais baixa e conseqüentemente a adsorção ser independente das concentrações iniciais. Por outro lado, a concentrações mais elevadas os sítios activos disponíveis ficam em menor número comparado com o número de moles de composto presentes e por este motivo a percentagem de remoção do composto é dependente da concentração inicial. Horsfall Jr *et al.* (2006) reforçam esta ideia e afirmam que a elevadas concentrações, a menor distância média entre as espécies a adsorver afecta a distribuição de cargas dos seus vizinhos, e por conseguinte altera a capacidade das espécies de migrar para a superfície da biomassa, o que resulta em redução da adsorção.

Tabela 4.3.1.1- Concentrações de equilíbrio e valores de remoção de Cr (VI) obtidos para diferentes concentrações iniciais de metal (28 °C, 150 rpm), e para o biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC

<i>Arthrobacter viscosus</i>		
C₀ (mg/l)	C_{eq} (mg/l)	Rp (%)
5	0.24	95.2
10	0.26	97.4
25	1.26	95.0
50	6.10	87.8
250	90.67	63.7
500	263.35	47.3
750	403.26	46.2
1000	617.23	38.3

Os resultados da isotérmica bem como os do ajuste efectuado com os modelos anteriormente descritos encontram-se expressos na Figura 4.3.1.2 e Tabela 4.3.1.2.

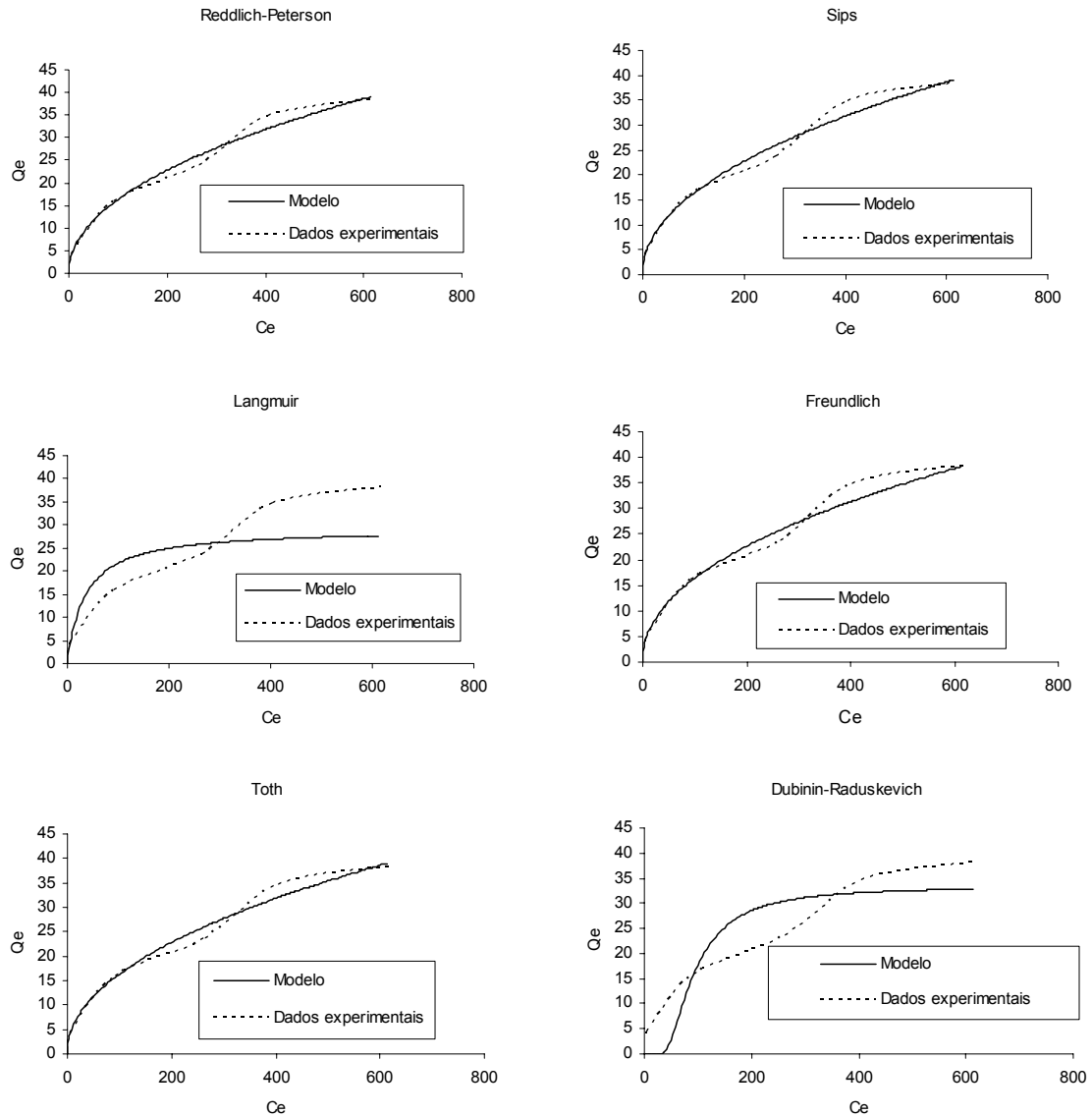


Figura 4.3.1.2- Aplicação dos modelos de equilíbrio para a biossorção de Cr (VI) em *A. viscosus* suportado em GAC (— modelo,----- dados experimentais).

Tabela 4.3.1.2- Valores das constantes das isotérmicas de adsorção obtidas para todos os modelos estudados, para a adsorção de crómio (VI) por um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC

Langmuir				
	$Q_{\text{máx}}$	b	R^2	
<i>A. viscosus</i>	29.240	0.0288	0.985	
Freundlich				
	K_f	n	R^2	
<i>A. viscosus</i>	1.935	2.144	0.998	
Dubinín-Radushkevich				
	q_D	B_D	R^2	
<i>A. viscosus</i>	33.385	9.811	0.804	
Redlich-Peterson				
	K_R	a_R	β	R^2
<i>A. viscosus</i>	61.220	33.680	0.522	0.992
Sips				
	K_s	a_s	b_s	R^2
<i>A. viscosus</i>	1.806	-0.0004	0.478	0.992
Toth				
	K_t	a_t	t	R^2
<i>A. viscosus</i>	1.811	0.0555	1.916	0.992

Os resultados experimentais são melhor ajustados pelos modelos de Redlich-Peterson, Sips, Freundlich e Toth. Os outros modelos apresentam desvios, os quais em alguns casos são bastante significativos. O desajuste em relação ao modelo de isotérmica de Langmuir pode resultar da heterogeneidade da superfície do carvão revestido com biofilme (Vázquez *et al.*, 2006).

4.3.2- Biossorção de compostos orgânicos

Um efluente industrial é normalmente constituído por um sem número de substâncias diferentes. A necessidade de implementar um sistema de biossorção capaz de remover crómio de efluentes provenientes de variadas actividades industriais fez com que se considerasse a existência de outras substâncias. Como os compostos orgânicos estão normalmente presentes neste tipo de efluentes, foram efectuados estudos no sentido de determinar a capacidade de remoção de compostos orgânicos por parte do sistema biossorvente e a influência que este tipo de compostos tem na remoção de Cr (VI). Neste ponto serão apresentados os resultados obtidos utilizando um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC para a remoção de compostos orgânicos (fenol, clorofenol e ortocresol) em soluções de um só componente e na presença de crómio, em sistema aberto. Apresentam-se também os resultados em termos de isotérmicas de equilíbrio para as soluções de fenol, clorofenol e ortocresol.

4.3.2.1- Ensaio em sistema fechado

As isotérmicas de adsorção expressam a relação específica entre a concentração de adsorvato em solução e a sua acumulação na superfície do adsorvente a temperatura constante (Sathishkumar *et al.*, 2007) ou, por outras palavras, a quantidade adsorvida por unidade de massa do adsorvente como função da concentração de equilíbrio em solução (Mourão *et al.*, 2006).

A capacidade de adsorção de compostos orgânicos por parte do biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC foi avaliada usando diferentes modelos de isotérmicas de adsorção: Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Sips, Toth e Dubinin-Radushkevich. A capacidade de adsorção está relacionada com a área superficial e porosidade do adsorvente. Maior área superficial e volume de poros resultam em maiores capacidades de adsorção (Sathishkumar *et al.*, 2007). Por este motivo, o carvão activado apresenta todas as características de um bom adsorvente.

Para o biossorvente usado no desenvolvimento deste trabalho experimental (biofilme de *Arthrobacter viscosus* + GAC), foram determinadas experimentalmente isotérmicas de adsorção para os compostos orgânicos - fenol, clorofenol e o-cresol- e os resultados encontram-se representados na Figura 4.3.2.1.1.

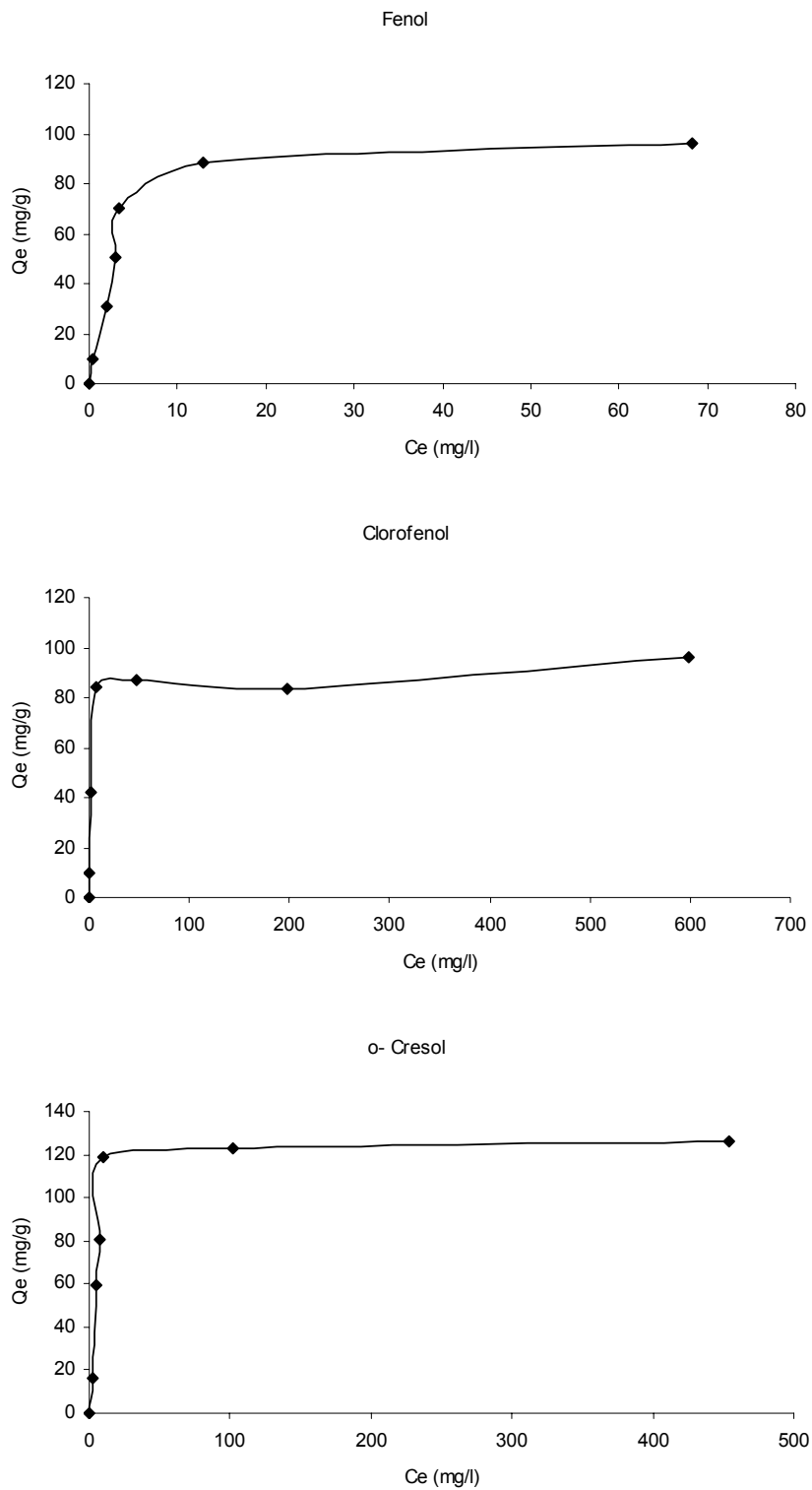


Figura 4.3.2.1.1 - Isotérmicas de adsorção para os compostos orgânicos - fenol, clorofenol e o-cresol, a 28 °C, usando um biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC.

Os ensaios de biossorção foram efectuados utilizando para o efeito soluções de concentração inicial de fenol entre 100 e 1000 mg/l, soluções de concentração inicial de clorofenol entre 100 e 1500 mg/l e soluções de concentração inicial de *o*-cresol entre 150 e 1700 mg/l, às quais foi adicionada uma quantidade fixa (1.5 g/150 ml) de GAC recoberto por biofilme. Os resultados indicam que a percentagem de remoção de composto orgânico decresce à medida que a concentração inicial do mesmo aumenta (Tabela 4.3.2.1.1). A remoção de fenol varia desde 99.5% até 93.4%, a remoção de clorofenol varia desde 99.3% até 61.6% e a remoção de *o*-cresol, varia desde 98.7% até 73.5%, para as gamas de concentração inicial de composto orgânico usadas. As justificações apontadas por Padmesh *et al.* (2005) e Horsfall Jr *et al.* (2006) e discutidas anteriormente a propósito dos ensaios realizados com o crómio também se podem aplicar à remoção de os compostos orgânicos. A comparação entre os resultados obtidos com o biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC entre os compostos orgânicos e o crómio (Tabela 4.3.1.1) permite concluir que a remoção é muito maior para os compostos orgânicos que para o crómio.

Estes resultados indicam que os compostos orgânicos testados (fenol, 4-clorofenol e *o*-cresol) apresentam maior afinidade para com o biofilme de *A. viscosus* que o crómio. No entanto, estudos desenvolvidos por Srivastava *et al.* (2007), utilizando um reactor inoculado com um consórcio bacteriano seguido de tratamento com fungos mostrou a remoção de 90% de Cr (VI) contra 67% de remoção de pentaclorofenol. Mais uma vez a questão da afinidade dum dado microrganismo para com os diferentes poluentes está aqui evidenciada.

O *o*-cresol é o composto que apresenta maiores remoções. Se se comparar valores de concentração aproximada (valores destacados a cinza na tabela 4.3.2.1.2) verifica-se uma remoção de 99.1% de *o*-cresol, contra uma remoção de 93.4% para o fenol e de 80.8% para o clorofenol. Os valores de remoção de compostos orgânicos obtidos em sistema fechado são muito superiores aos obtidos em sistema aberto. Esta constatação parece estar relacionada com o mais elevado tempo de contacto entre as soluções de composto orgânico e o biofilme verificado nos ensaios em sistema fechado quando comparado com o tempo de residência nos estudos em coluna, ou seja o mais elevado tempo de contacto permite atingir um estado de equilíbrio que não é possível obter nos ensaios em coluna devido à entrada constante de nova solução.

Tabela 4.3.2.1.1- Concentrações de equilíbrio e valores de remoção de fenol, clorofenol e o-cresol, obtidos para diferentes concentrações iniciais de composto orgânico (28 °C, 150 rpm), para o biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC

Fenol			Clorofenol			o-Cresol		
C ₀ (mg/l)	C _{eq} (mg/l)	Rp (%)	C ₀ (mg/l)	C _{eq} (mg/l)	Rp (%)	C ₀ (mg/l)	C _{eq} (mg/l)	Rp (%)
96.6	0.47	99.5	100.1	0.71	99.3	167.5	2.20	98.7
310.1	2.00	99.4	421.1	1.64	99.6	596.8	4.86	99.2
511.6	3.07	99.4	848.6	7.53	99.1	816.2	7.69	99.1
702.7	3.32	99.5	916.3	46.73	94.9	1198.6	10.57	99.1
897.6	12.82	98.6	1030.8	197.89	80.8	1329.6	102.24	92.3
1031.7	68.29	93.4	1560.2	598.45	61.6	1717.2	454.50	73.5

Aos resultados experimentais obtidos para as isotérmicas de adsorção foram ajustados por seis diferentes modelos - Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Dubinin-Radushkevich, Sips e Toth. Os resultados experimentais obtidos a 28 °C, bem como os ajustes pelos modelos, são apresentados nas Figuras 4.3.2.1.2, 4.3.2.1.3 e 4.3.2.1.4.

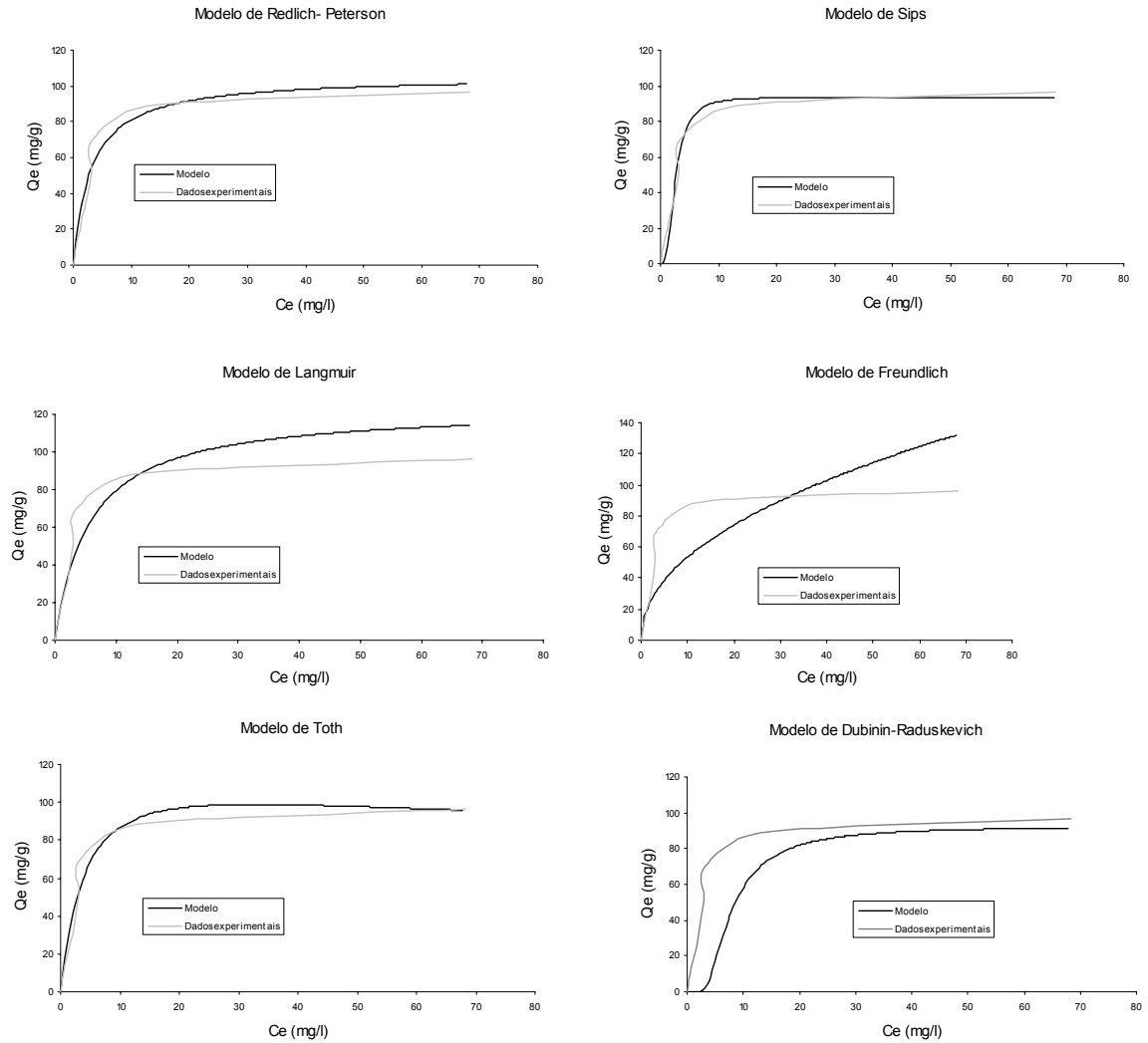


Figura 4.3.2.1.2- Aplicação dos modelos de equilíbrio para a biossorção do fenol em *A. viscosus* suportado em GAC (— modelo, - - - dados experimentais).

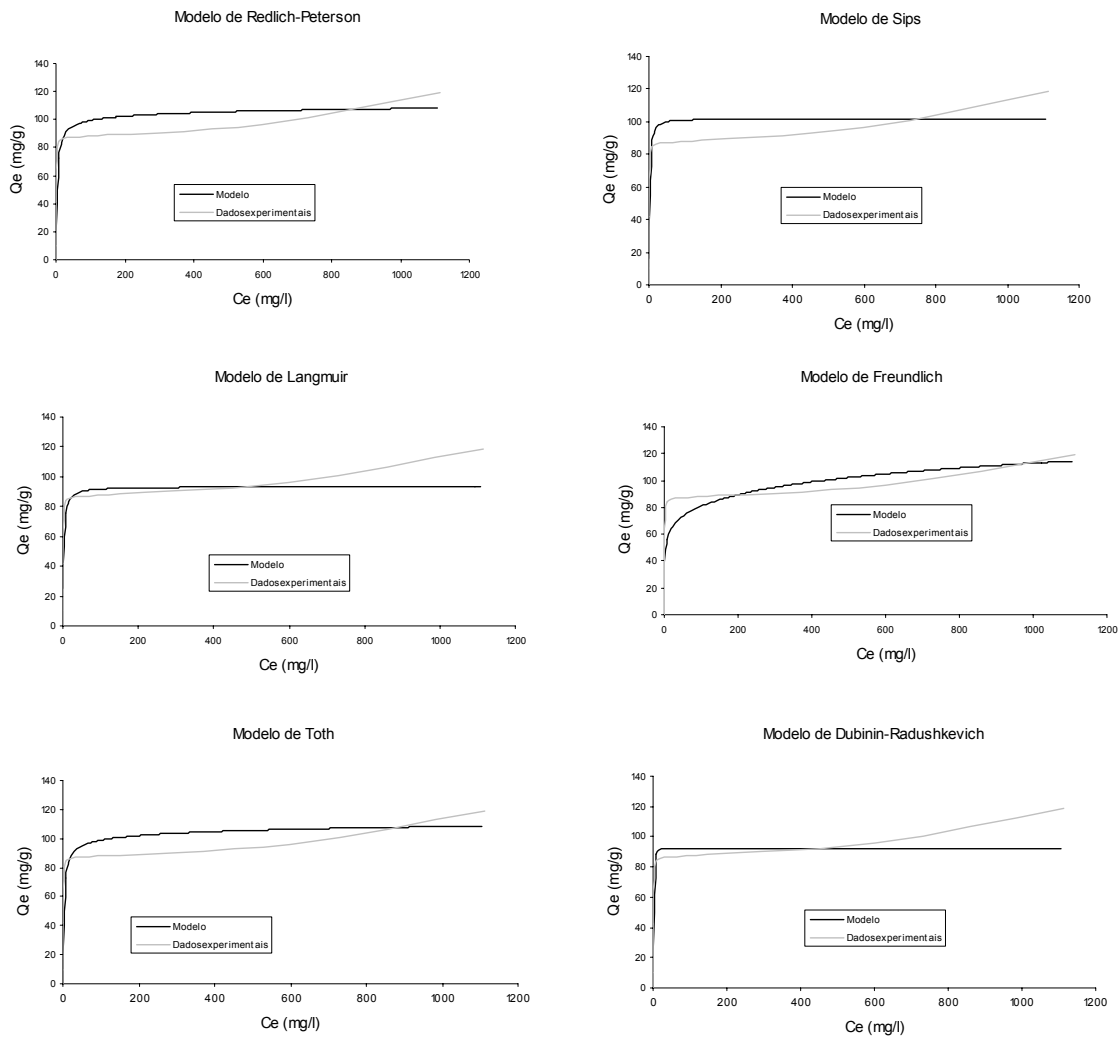


Figura 4.3.2.1.3- Aplicação dos modelos de equilíbrio para a biossorção do clorofenol em *A. viscosus* suportado em GAC (— modelo, - - dados experimentais).

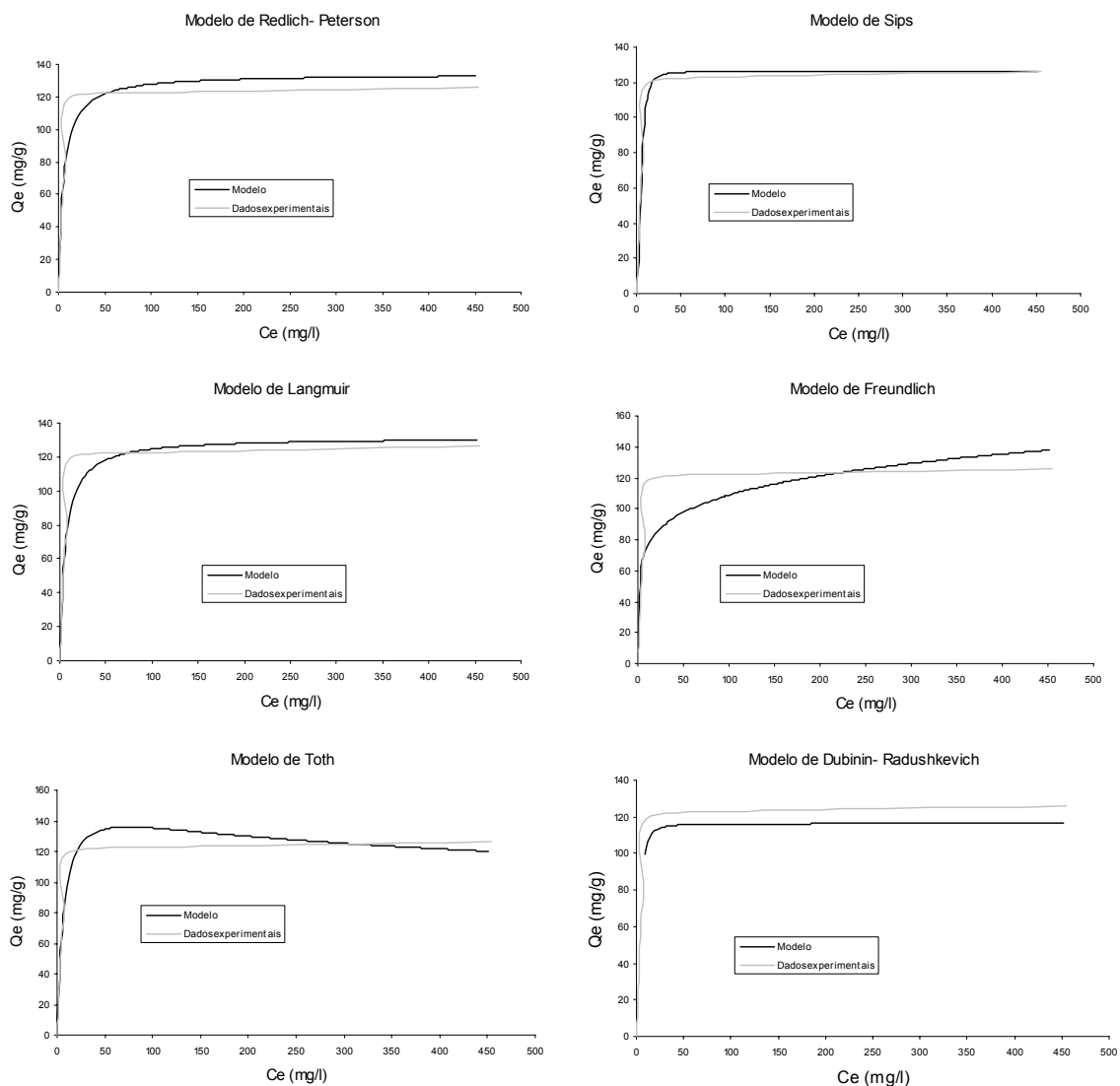


Figura 4.3.2.1.4- Aplicação dos modelos de equilíbrio para a biossorção do o-cresol em *A. viscosus* suportado em GAC (— modelo, — dados experimentais).

O modelo de isotérmica que melhor se adapta aos dados experimentais obtidos com o biofilme de *A. viscosus* para a remoção de fenol é o modelo de Sips, seguido pelos modelos de Redlich- Peterson e Toth (Figura 4.3.2.1.2). Os outros modelos apresentam desvios, em alguns casos significativos. Para o clorofenol, e usando o mesmo biofilme, o melhor ajuste verificou-se para o modelo de Freundlich (Figura 4.3.2.1.3), enquanto o melhor ajuste obtido para o o-cresol foi obtido com o modelo de Sips. Os parâmetros das isotérmicas são apresentados na Tabela 4.3.2.1.2.

Tabela 4.3.2.1.2- Valores das constantes das isotérmicas de adsorção obtidas para todos os modelos estudados, para a adsorção de diferentes compostos orgânicos por *A. viscosus* suportado em GAC

Langmuir				
	$Q_{máx.}$	b		R^2
Fenol	123.46	0.18		0.99
Clorofenol	93.46	0.51		0.97
o- Cresol	131.58	0.18		0.98
Freundlich				
	K_f	n		R^2
Fenol	18.09	2.12		0.89
Clorofenol	41.53	6.91		0.92
o- Cresol	52.78	6.34		0.87
Dubinini-Radushkevich				
	q_D	B_D		R^2
Fenol	97.83	0.050		0.99
Clorofenol	92.30	0.0045		0.98
o- Cresol	116.33	0.022		0.97
Redlich-Peterson				
	K_R	a_R	β	R^2
Fenol	35.12	0.33	1.00	0.95
Clorofenol	42.06	0.47	0.97	0.95
o- Cresol	26.28	0.20	1.00	0.99
Sips				
	K_s	a_s	b_s	R^2
Fenol	8.02	0.086	2.60	0.98
Clorofenol	30.42	0.30	1.37	0.96
o- Cresol	2.28	0.020	2.43	0.98
Toth				
	K_t	a_t	t	R^2
Fenol	209.20	5.41	0.86	0.96
Clorofenol	37.22	-0.71	1.20	0.85
o- Cresol	87.22	2.15	1.03	0.96

As equações que representam isotérmicas de equilíbrio são usadas para descrever dados de sorção experimentais. Os respectivos parâmetros e condições termodinâmicas assumidas por estes modelos de equilíbrio normalmente proporcionam algum conhecimento acerca dos mecanismos de sorção e das propriedades e grau de afinidade do sorvente (Gerente *et al.*, 2007). Estes autores afirmam também que a importância de obter o melhor ajuste por parte das isotérmicas torna-se mais e mais significativo, já que com o desenvolvimento de novas aplicações, os modelos de isotérmicas necessários para o projecto dos referidos sistemas devem ser mais precisos e detalhados.

4.3.2.2- Ensaio em sistema aberto

Efeito do crómio na bio sorção de compostos orgânicos

A figura seguinte representa os valores de uptake obtidos para os compostos orgânicos a diferentes concentrações iniciais (10, 50, 100 mg/l) na presença de Cr (VI) numa concentração fixa de 60 mg/l.

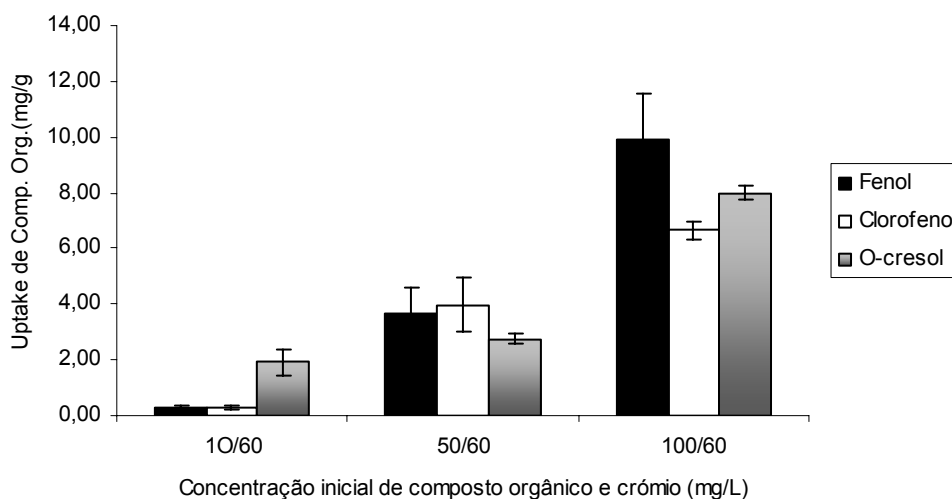


Figura 4.3.2.2.1- Valores de uptake para os compostos orgânicos a diferentes concentrações iniciais (10, 50, 100 mg/l) na presença de Cr (VI) (60 mg/l). O tempo dos ensaios foi 15 h.

Na figura seguinte estão representados os valores de uptake para os compostos orgânicos na presença de Cr (VI) a diferentes concentrações iniciais (10, 60, 100 mg/l). Ou seja, nestes ensaios a concentração de composto orgânico foi fixa a 100 mg/l, tendo-se variado a concentração de Cr (VI).

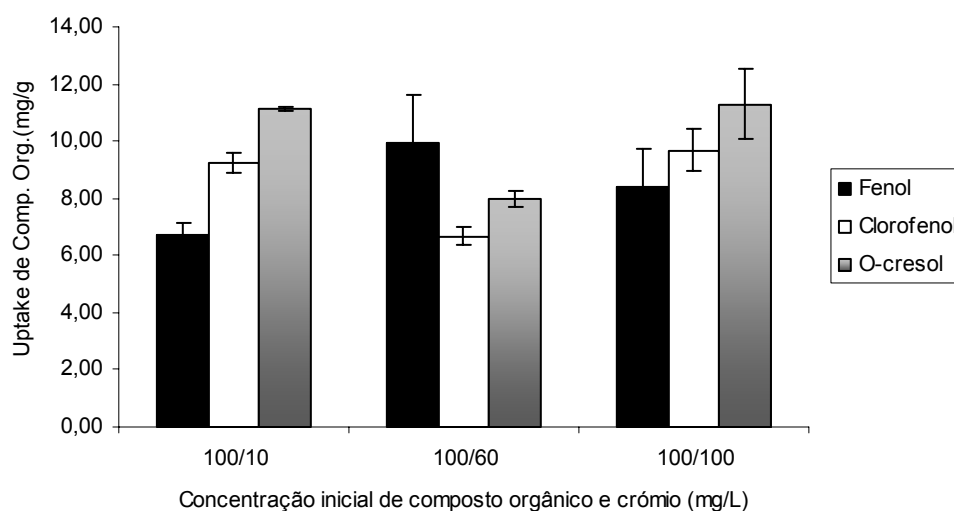


Figura 4.3.2.2.2- Valores de uptake para os compostos orgânicos na presença de Cr (VI) a diferentes concentrações iniciais (10, 60, 100 mg/l). O tempo dos ensaios foi cerca de 15 h.

Na figura seguinte são apresentados os resultados obtidos, em termos de uptake, para as soluções de um só componente. As concentrações testadas foram de 10, 60 e 100 mg/l, tanto para o crômio como para os compostos orgânicos.

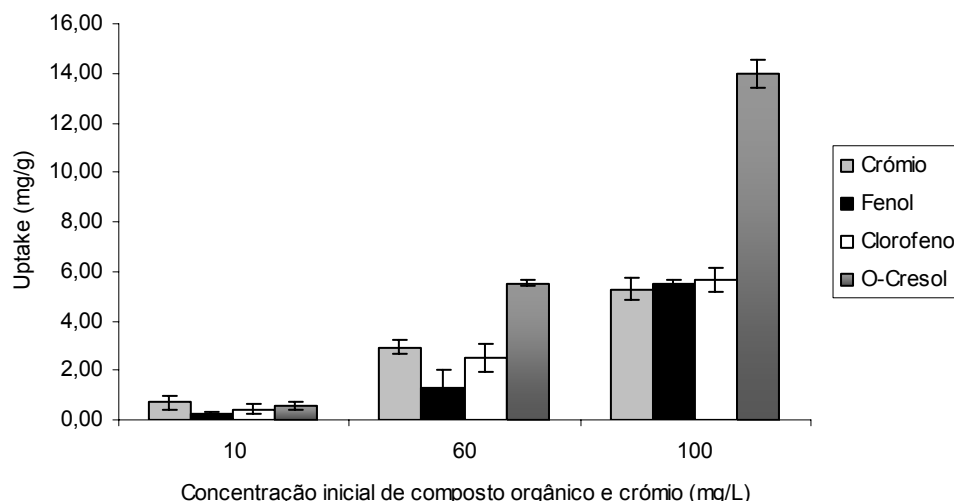


Figura 4.3.2.2.3- Valores de uptake para os compostos orgânicos e para o Cr (VI) como soluções monocomponentes. O tempo dos ensaios foi 15 h.

Após a análise das Figuras 4.3.2.2.1, 4.3.2.2.2 e 4.3.2.2.3, verifica-se que existem claras diferenças no comportamento em termos de biossorção dos compostos fenol, clorofenol e *o*-cresol. As diferenças de tamanho molecular, solubilidade, equilíbrio de dissociação e reactividade do anel benzénico podem explicar estas observações (Tabela 4.3.2.2.1) (Streat *et al.*, 1995).

Tabela 4.3.2.2.1- Pesos moleculares e solubilidades aquosas do clorofenol, fenol e *o*-cresol

Composto orgânico	Fórmula	Peso molecular (g/mol)	Solubilidade (g/l)
Clorofenol	C ₆ H ₅ ClO	128.56	28
Fenol	C ₆ H ₆ O	94.11	70
O-cresol	C ₇ H ₈ O	108.14	26

Estudos realizados por Brasquet *et al.* (1997) mostram que a capacidade de adsorção do carvão activado na presença de 14 compostos aromáticos aumenta com o aumento do peso molecular do composto e decresce com o aumento do número de heteroátomos e grau de insaturação. Os resultados obtidos no âmbito desta tese, em termos de uptake, mostram melhores resultados para o clorofenol e *o*-cresol do que para o fenol (Figura 4.3.2.2.2), o que está de acordo com os resultados de Brasquet *et al.* em termos de pesos moleculares. Aksu e Yener (2001, 1998), após estudar a

biossorção de fenol e fenóis monoclorados (*o*-clorofenol e *p*-clorofenol) por lamas activadas, sugerem que a parede celular das bactérias, a qual é essencialmente constituída por vários compostos orgânicos tais como chitina, polissacáridos acídicos, lípidos, aminoácidos e outros, é a responsável pelo uptake de poluentes orgânicos. Estes autores conseguiram maior capacidade de adsorção para o *o*-clorofenol e *p*-clorofenol do que para o fenol. A explicação apontada para este comportamento é a activação do anel aromático do monoclorofenol pelo cloro. Este fenómeno favorece a formação de interacções doador-aceitador entre o composto fenólico e os grupos da superfície do biossorvente.

A performance de biossorção aumentou significativamente com o aumento da concentração inicial de composto orgânico (Figuras 4.3.2.2.1 e 4.3.2.2.2). O valor de uptake do fenol e do clorofenol cresce, numa maneira geral, na presença de Cr (VI), Tabela 4.3.2.2.2. Esta evidência pode ser explicada pelo facto da cinética de redução de Cr (VI) poder ser melhorada pela sinergia entre a redução do Cr (VI) e outras reacções tais como a degradação do fenol e clorofenol (Chirwa e Wang, 2000). Para o *o*-cresol, o valor de uptake aumenta na presença de crómio apenas para a concentração de composto orgânico mais baixa (10 mg/l). São dois os mecanismos responsáveis pela remoção de compostos orgânicos: a biodegradação e a adsorção pelo carvão activado. O fenol é facilmente degradável: o *o*-cresol e o clorofenol são de degradação mais difícil e a maior contribuição para a sua diluição provém da adsorção pelo carvão (Talinli e El- Mabrouk, 1994). Os autores Mattson *et al.* (1969) sugeriram que a adsorção de compostos orgânicos em carvão ocorre através de um complexo mecanismo de doador-aceitador, envolvendo os grupos oxo-carbonílicos da superfície do carvão que actuam como dadores de electrões, sendo o anel aromático o aceitador dos mesmos electrões. Por outro lado, o fenol, o 4- clorofenol e o *o*-cresol possuem um pK_a (constante de dissociação dos ácidos) de 9.89, 9.18 e 10.2, respectivamente (Lide, 1999). O pH das soluções foi sempre menor que 8 em todos os ensaios experimentais e, portanto, os compostos permanecem na sua maioria na forma não dissociada. A reacção de adsorção pode então resultar principalmente da ligação de hidrogénio entre os grupos hidroxilo dos fenóis e os grupos funcionais, tais como os grupos carboxílicos, da superfície do carvão (Tseng *et al.*, 2003). Calace *et al.* (2002) afirmam que a solubilidade e o pK_a são as principais características químicas que desempenham um importante papel em mecanismos de biossorção de compostos fenólicos.

Outros autores propõem mecanismos para justificar a remoção de compostos orgânicos por parte de microrganismos. Brandt *et al.* (1997) investigaram a bioadsorção de pentaclorofenol por parte da bactéria *Mycobacterium chlorophenolicum* PCP-1, uma bactéria Gram-positiva. Estes autores sugerem que o mecanismo de adsorção é uma combinação de processos de adsorção reversíveis e irreversíveis, sendo que a adsorção reversível é devido a uma adsorção física (troca iónica) entre o pentaclorofenol na forma ionizada e a parede celular da bactéria, enquanto a adsorção irreversível é devido à interacção química entre o altamente hidrofóbico pentaclorofenol e a membrana celular hidrofóbica. Wang *et al.* (2002) estudaram a bioadsorção do *p*-clorofenol (4-clorofenol) por um biofilme. Estes autores escolheram como componentes do biofilme caulino revestido, bactérias e exopolissacáridos bacterianos (EPS), para a adsorção de 4-clorofenol. A bactéria seleccionada foi a *Kluvera cryocrescens*. O mecanismo apontado por estes autores consiste na protonação dos grupos funcionais carboxílicos, fosfato e hidróxidos da superfície da bactéria *Kluvera cryocrescens*. A superfície bacteriana desenvolve assim um potencial eléctrico negativo que afecta a hidrofobicidade da mesma superfície, e isto influencia as interacções entre os sítios activos da superfície e as espécies iónicas em solução.

Tabela 4.3.2.2.2- Valores de uptake para os compostos orgânicos, obtidos com as soluções de um só componente e na presença de crómio

Composto	Concentração inicial	Valores de uptake (mg/g)	
		Sem crómio	Na presença de crómio (60 mg/l)
Fenol	10	0.24	0.29
	50	1.28	3.67
	100	5.52	9.94
Clorofenol	10	0.43	0.29
	50	2.54	3.98
	100	5.67	6.67
o- Cresol	10	0.55	1.92
	50	5.53	2.75
	100	13.99	7.99

Os valores máximos de uptake obtidos para a remoção dos compostos orgânicos pelo biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em carvão activado granular foram de 5.52 mg/g para o fenol, 5.67 mg/g para o clorofenol e 13.99 mg/g para o o-cresol, para

as soluções de um só soluto e de 9.94 mg/g para o fenol, 9.70 mg/g para o clorofenol e de 11.30 mg/g para o *o*-cresol, para as soluções constituídas pelo composto orgânico na presença de crómio. A capacidade de adsorção para o clorofenol e para o *o*-cresol é maior do que a obtida para o fenol, provavelmente devido à maior solubilidade do fenol em água (Tabela 4.3.2.2.1) (Denizli *et al.*, 2005). Estudos desenvolvidos por Efremenko e Sheintuch (2006) permitem concluir que as interações entre o fenol e os grupos funcionais presentes na superfície do carvão activado são caracterizadas por interações de baixa energia e, no caso de soluções aquosas, estas interações são negligenciáveis devido às competitivas e muito mais fortes interações entre as moléculas de água com os sítios polares de adsorção no carvão. No entanto, o fenol exhibe uma elevada afinidade para com os grupos hidrofóbicos da superfície do carvão activado, locais onde a adsorção de moléculas de água é energeticamente desfavorável. Assim se conclui que as moléculas de água e de fenol são adsorvidas por diferentes grupos da superfície do carvão.

Nas tabelas seguintes apresentam-se os valores de percentagem de remoção, após 15 h de ensaio experimental, para as soluções de um só componente e para as soluções binárias crómio/composto orgânico.

Tabela 4.3.2.2.3- Percentagem de remoção (%), após 15 h de ensaio experimental, para as soluções de um só componente

Composto	Concentração inicial (mg/l)	Remoção (%)
Fenol	10	97
	50	85
	100	40
Clorofenol	10	93
	50	74
	100	71
<i>o</i> - Cresol	10	87
	50	42
	100	36
Crómio	10	35
	60	8
	100	12

Tabela 4.3.2.2.4- Percentagem de remoção (%) para o Cr (VI) e para os compostos orgânicos, após 15 h de ensaio experimental, para as soluções binárias crômio/composto orgânico

Composto	Conc. inicial (mg/l)	Remoção de Cr (VI) (%)	Remoção de Comp. Org. (%)
Fenol/Cr(VI) ^a	10	7.7	63
	50	6.6	38
	100	11.3	7
Clorofenol/Cr(VI) ^a	10	3.6	81.2
	50	9.9	60.4
	100	0	55.5
o-Cresol/Cr(VI) ^a	10	4.6	52.8
	50	8	50.6
	100	8.5	33.2
Cr(VI)/Fenol ^b	10	23.1	57
	60	13.9	7
	100	12.2	40.2
Cr(VI)/Clorofenol ^b	10	16	64.3
	60	0	60.4
	100	9.8	49.1
Cr(VI)/o-Cresol ^b	10	5.2	67
	60	8.5	33.2
	100	14.1	46.9

^a A concentração inicial de Cr(VI) foi de 60 mg/l e a concentração inicial de composto orgânico variou entre 10 e 100 mg/l.

^b A concentração inicial de composto orgânico foi de 100 mg/l e a concentração inicial de Cr(VI) variou entre 10 e 100 mg/l.

Em termos de percentagem de remoção, após 15 h de ensaio experimental e a partir de soluções simples, a afinidade entre o composto orgânico e o bioissorvente segue a seguinte ordem: fenol > clorofenol > o-cresol. A percentagem de remoção situa-se nos 97, 93 e 87%, respectivamente para o fenol, clorofenol e o-cresol, para a concentração inicial de 10 mg/l. Estes valores decrescem na presença de Cr (VI), provavelmente porque os compostos orgânicos entram em competição com o ião metálico pelos

mesmos sítios activos e pela diminuição do número de sítios activos disponíveis (Aksu, 2005) (Tabelas 4.3.2.2.3 e 4.3.2.2.4).

No ponto seguinte serão apresentados e discutidos os resultados obtidos dos estudos de bio sorção realizados para o ião crómio em presença ou não de composto orgânico.

Efeito dos compostos orgânicos na bio sorção de Cr (VI)

Os valores máximos de uptake de Cr (VI) obtidos pelo biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em carvão activado granular foram de 5.27 mg/g, para a solução apenas com crómio e para a mais alta concentração de crómio testada (100 mg/l) (Figura 4.3.2.2.3) e 5.44 mg/g na presença de fenol para a combinação 100 mg/l fenol/100 mg/l Cr (VI), 5.83 mg/g na presença de clorofenol para a combinação 100 mg/l clorofenol/60 mg/l Cr (VI) e 5.62 mg/g na presença de *o*-cresol para a combinação 50 mg/l *o*-cresol/60 mg/l Cr (VI) (Figuras 4.3.2.2.4 e 4.3.2.2.5). Como se pode verificar da análise das figuras e da tabela 4.3.2.2.5, geralmente, o valor de uptake do Cr (VI) cresce na presença de compostos orgânicos (a única excepção foi o valor obtido para a combinação 100 mg/l de crómio com 100 mg/l de *o*-cresol). Como já referido anteriormente, isto pode ser explicado pelo facto da cinética de redução de Cr (VI) poder ser melhorada pela sinergia entre a redução do Cr (VI) com outras reacções tais como a degradação do fenol e clorofenol (Chirwa e Wang, 2000).

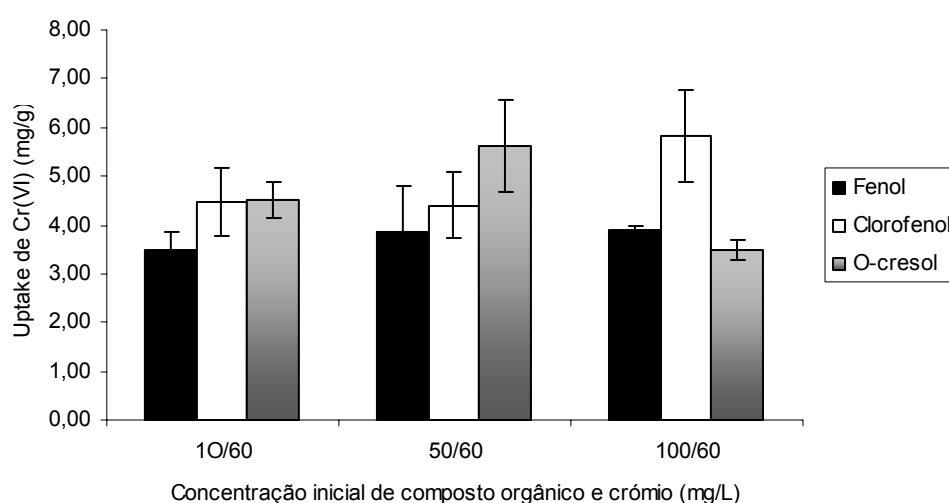


Figura 4.3.2.2.4- Valores de uptake para o Cr (VI) na presença de compostos orgânicos a diferentes concentrações iniciais (10, 50, 100 mg/l).

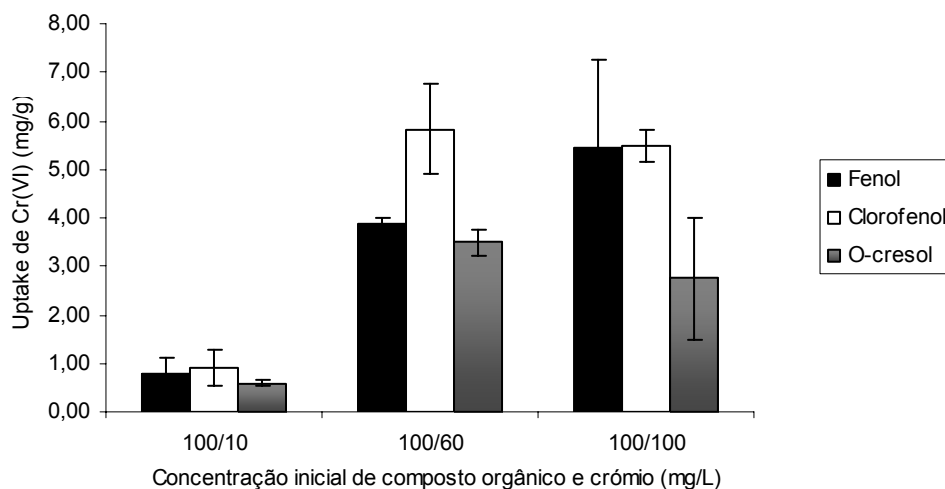


Figura 4.3.2.2.5- Valores de uptake para o Cr (VI) a diferentes concentrações iniciais (10, 60, 100 mg/l) na presença de compostos orgânicos. A concentração inicial de composto orgânico foi de 100 mg/l em todos os ensaios experimentais.

Tabela 4.3.2.2.5- Valores de uptake para o crómio, obtidos com as soluções de um só componente e na presença de compostos orgânicos. A concentração de crómio variou entre 10 e 100 mg/l e a concentração de composto orgânico foi de 100 mg/l para todos os ensaios realizados

Uptake de Cr na presença de comp. orgânico (mg/g)				
Conc. de Cr (VI) (mg/l)	Uptake (mg/g)	Fenol	Clorofenol	o-Cresol
10	0.72	0.77	0.91	0.59
60	2.94	3.89	5.83	3.49
100	5.27	5.44	5.50	2.76

Como se pode verificar da análise das Tabelas 4.3.2.2.3 e 4.3.2.2.4 a remoção de crómio para os ensaios realizados na presença de compostos orgânicos é, de um modo geral, significativamente mais baixa que a obtida com as soluções de crómio apenas. A percentagem de remoção situa-se nos 35%, após 15 h de ensaio

experimental, para a solução de crómio com concentração inicial de 10 mg/l (e sem adição de composto orgânico), e um máximo de 23.1%, para as soluções crómio-composto orgânico na combinação 100 mg/l de fenol com 10 mg/l de Cr (VI). Para maiores concentrações de crómio a percentagem final de remoção decresce. Uma possível explicação é que o ião cromato (CrO_4^{2-}) com o seu efeito tóxico e grande potencial oxidativo pode inibir a actividade biológica do biofilme.

Modelação dos ensaios em sistema aberto: Aplicação dos modelos de Adams–Bohart e Wolborska

O modelo de Adams–Bohart é um modelo baseado na teoria de reactividade superficial e assume que o equilíbrio não é instantâneo; a taxa de adsorção é proporcional à fracção da capacidade de adsorção que permanece no sorvente (Malcok *et al.*, 2006). O modelo de Wolborska baseia-se nas equações gerais de transferência de massa para mecanismos de difusão na gama de baixas concentrações da curva de breakthrough (Hamdaoui, 2006). Estes dois modelos de sorção (Adams–Bohart e Wolborska) foram usados para descrever os dados experimentais. Esta aproximação baseia-se na estimativa dos parâmetros característicos dos dois modelos, ou seja, na estimativa da capacidade máxima de adsorção (N_0) e na constante cinética (k_{AB}) do modelo de Adams–Bohart e do coeficiente cinético de transferência de massa externa (β_a) do modelo de Wolborska.

Após a aplicação das Eq. (13) e Eq. (16) aos dados experimentais para diferentes concentrações iniciais de adsorbato, quer seja composto orgânico ou crómio como soluções monocomponentes ou como soluções binárias, foi obtida uma relação linear entre os valores de $\ln C/C_0$ e t . Os respectivos valores de N_0 , k_{AB} e β_a foram calculados a partir do gráfico $\ln C/C_0$ versus t para todas as concentrações iniciais de adsorbato estudadas e são apresentados nas Tabelas 4.3.2.2.6, 4.3.2.2.7 e 4.3.2.2.8, juntamente com os respectivos coeficientes de correlação. O valor da concentração de saturação (N_0) aumentou com o aumento da concentração de entrada, como esperado, para todos os compostos orgânicos usados e para o metal, tanto em soluções de um só soluto como em soluções binárias. Apenas se verificou uma única excepção, o valor de N_0 obtido para a concentração de crómio de 100 mg/l, nas soluções de um só componente, sofreu uma ligeira diminuição comparado com as soluções mais diluídas. O valor β_a , que é o coeficiente cinético de transferência de massa externo reflete não

só o efeito da transferência de massa em fase líquida como o efeito da dispersão axial (Aksu e Gönen, 2004). Estes autores verificaram que este coeficiente é positiva e fortemente influenciado pelo caudal, já que o aumento da turbulência reduz a espessura da camada limite que circunda as partículas imobilizadas. Como no trabalho aqui descrito não houve alterações de caudal entre os vários ensaios realizados, o valor de β_a permaneceu dentro da mesma ordem de grandeza. As curvas de breakthrough, tanto as experimentais como as previstas pelo modelo, para cada uma das diferentes concentrações iniciais e diferentes compostos, quer na forma de soluções de um só soluto, quer na forma de soluções de composto orgânico na presença de metal, encontram-se representadas nas Figuras 4.3.2.2.6, 4.3.2.2.7 e 4.3.2.2.8.

Para os compostos orgânicos, em solução simples, o modelo ajusta-se devidamente aos dados experimentais, para todas as concentrações iniciais, para o fenol e *o*-cresol. Para o clorofenol e para a concentração de entrada de 100 mg/l, as discrepâncias verificadas entre os resultados experimentais e os previstos pelo modelo são relativamente altas, pelo que se optou por não colocar no gráfico o ajuste relativo a essa concentração. Para as soluções de composto orgânico na presença de crómio (60 mg/l), verifica-se igualmente que o modelo ajusta relativamente bem, para todas as concentrações iniciais, para o *o*-cresol. Para o fenol e clorofenol, encontraram-se divergências significativas para a concentração de 10 mg/l. Apesar do modelo se ajustar bastante bem a quase todas as concentrações iniciais e para os três compostos orgânicos, verifica-se que os ajustes obtidos para as soluções de composto orgânico na presença de crómio são de qualidade ligeiramente inferior. Esta evidência pode ser justificada pelo facto de existir competição, não contabilizada pelo modelo, entre os compostos orgânicos e o metal. É importante referir que apesar do modelo ajustar bem, apresenta grandes discrepâncias para os valores iniciais da curva de breakthrough, para os primeiros 120-150 minutos. Este facto poderá ser devido à intensa actividade metabólica e à adaptação do microrganismo ao ambiente hostil. A actividade metabólica e o necessário período de adaptação das bactérias não foram contabilizados no modelo, pelo que estarão justificadas as discrepâncias nos valores iniciais.

Para o crómio, tanto em soluções de um só soluto, como nas soluções em presença de composto orgânico, o modelo ajusta-se adequadamente, para todas as concentrações iniciais testadas, apenas com as já justificadas discrepâncias para os primeiros valores dos ensaios.

Embora os modelos de Adams–Bohart e de Wolborska forneçam uma simples e compreensível aproximação ao desempenho numa coluna de biossorção, a sua validade é limitada à gama de condições usada.

Nas tabelas seguintes são apresentados os valores dos parâmetros do modelo de Adams-Bohart (N_0 e k_{AB}) e do modelo de Wolborska (β_0), para os compostos orgânicos e para o crómio, em soluções de um só soluto e para as soluções de composto orgânico com crómio (nas combinações composto orgânico a variar entre as concentrações de 10 mg/l e 100 mg/l com soluções de crómio a 60 mg/l, e crómio a variar entre 10 mg/l e 100 mg/l com soluções de composto orgânico a 100 mg/l).

Tabela 4.3.2.2.6- Parâmetros de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações iniciais de composto orgânico, com um só componente, usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Fenol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	2651.8	6.27E-5	0.17	0.85
50	7962.4	1.89E-5	0.15	0.85
100	10792.5	4.52E-6	0.049	0.83
Clorofenol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	1765.8	9.31E-5	0.16	0.89
50	5294.6	2.22E-5	0.12	0.87
100	10061.3	1.21E-5	0.12	0.83
o-Cresol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	3340.3	3.73E-5	0.13	0.85
50	4723.7	1.38E-5	0.065	0.90
100	8604.3	7.08E-6	0.061	0.94

Tabela 4.3.2.2.7- Parâmetros de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações iniciais de composto orgânico, na presença de crômio (60 mg/l), usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Fenol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	539.0	1.37E-4	0.074	0.80
50	3772.9	1.43E-6	0.054	0.85
100	7085.8	1.79E-6	0.013	0.73
Clorofenol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	1052.4	9.63E-5	0.10	0.80
50	3166.7	2.89E-5	0.091	0.84
100	11471.3	6.52E-6	0.075	0.82
o-Cresol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	1263.8	6.03E-5	0.076	0.93
50	2521.9	2.95E-5	0.074	0.85
100	7947.0	6.00E-6	0.048	0.80

Tabela 4.3.2.2.8- Parâmetros de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações iniciais de crômio, como um só componente e na presença de compostos orgânicos (100 mg/l), usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Crômio- soluções de um só componente				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	1659.1	2.04E-5	0.034	0.85
60	7355.5	1.59E-6	0.012	0.89
100	6871.0	2.76E-6	0.019	0.91

Crômio- na presença de fenol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	1758.4	8.90E-6	0.016	0.84
60	5015.1	2.87E-6	0.014	0.87
100	7746.1	2.08E-6	0.016	0.82

Crômio- na presença de clorofenol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	574.9	3.17E-5	0.018	0.84
60	3361.7	4.18E-6	0.014	0.86
100	8132.0	1.58E-6	0.013	0.87

Crômio- na presença de o-cresol				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	504.6	2.11E-5	0.011	0.88
60	3321.9	4.47E-6	0.015	0.84
100	9956.8	1.63E-6	0.016	0.97

Nas figuras seguintes são apresentadas as curvas de breakthrough para o modelo e para os dados experimentais para todos os ensaios realizados.

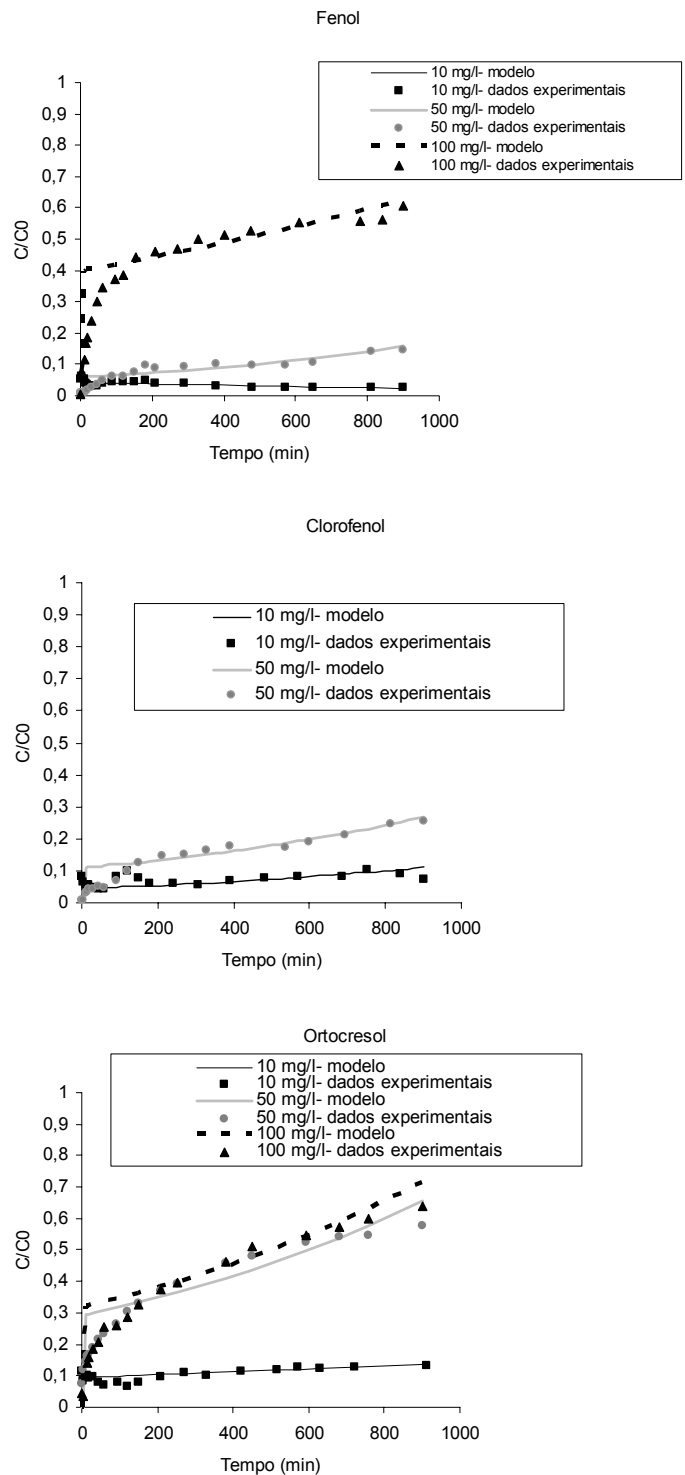


Figura 4.3.2.2.6- Aplicação dos modelos de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações de entrada dos três compostos orgânicos.

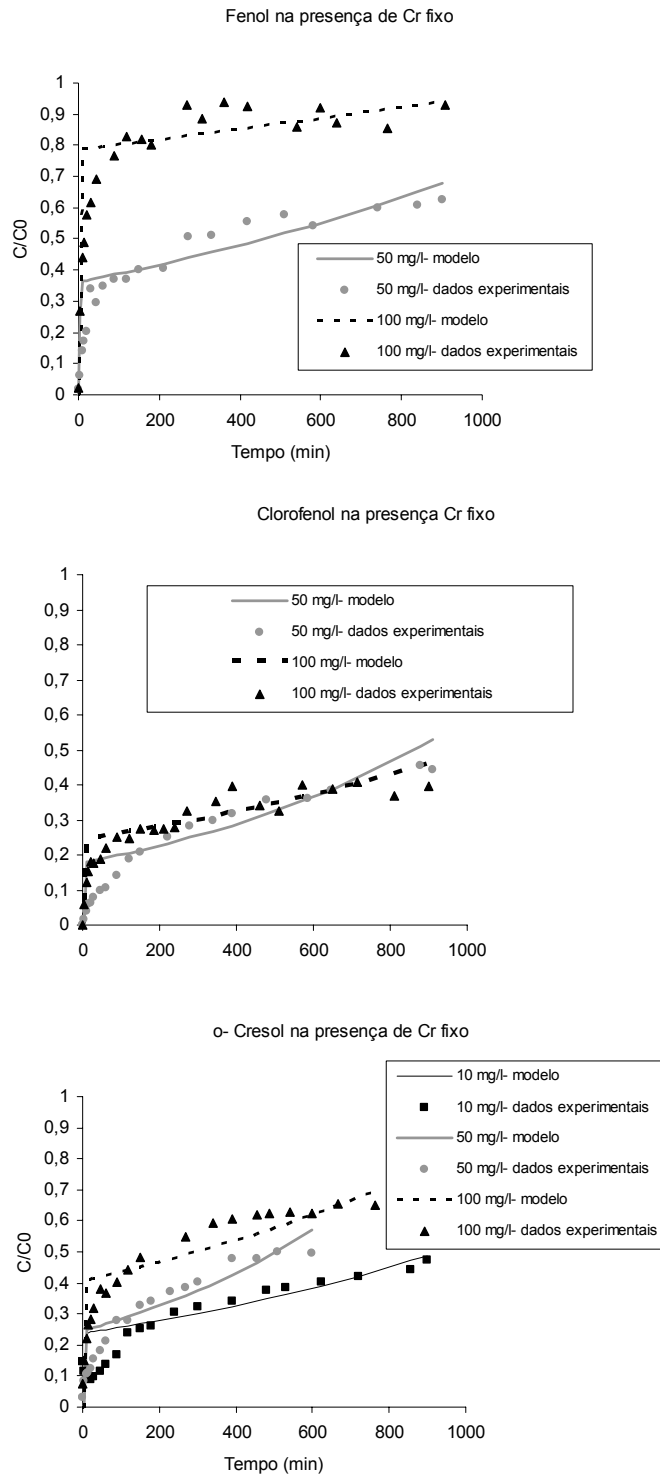


Figura 4.3.2.2.7- Aplicação dos modelos de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações de entrada dos três compostos orgânicos, na presença de Cr (VI) (60 mg/l).

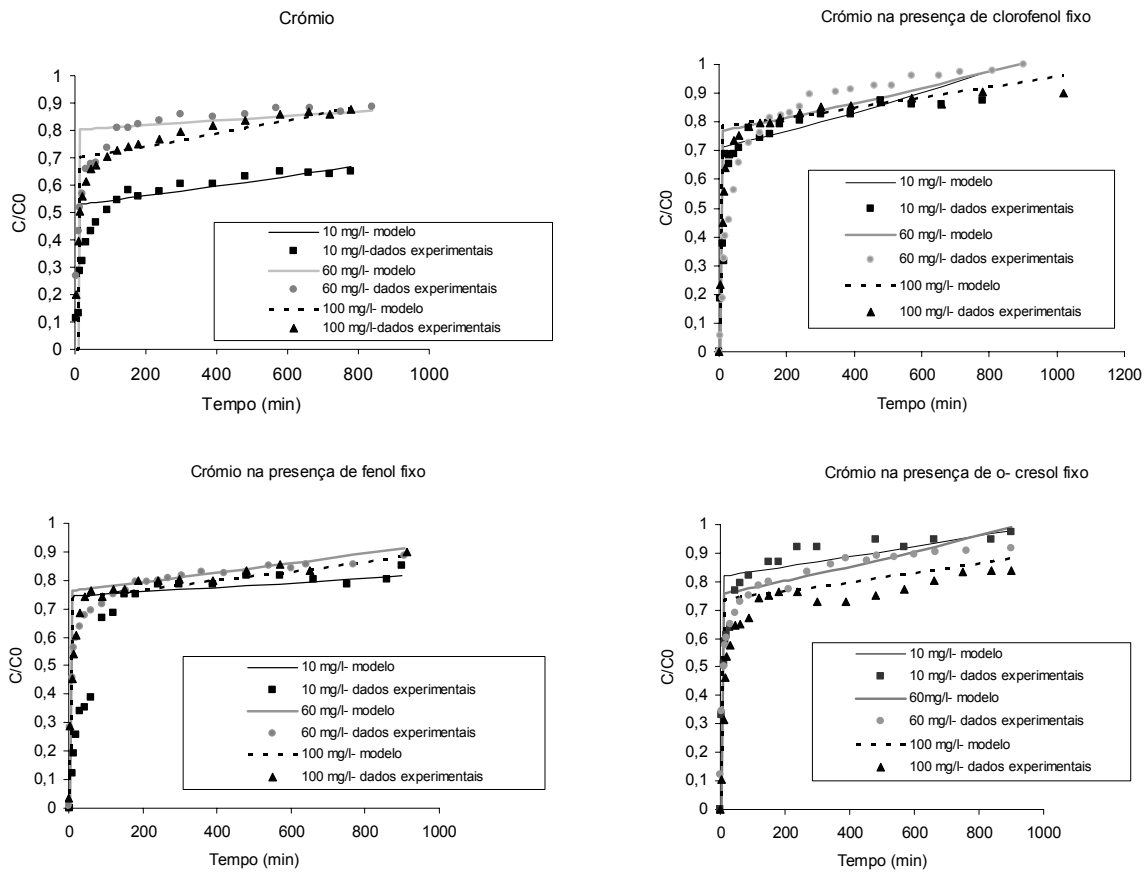


Figura 4.3.2.2.8- Aplicação dos modelos de Adams-Bohart e de Wolborska para diferentes concentrações de entrada de Cr (VI), em solução monocomponente ou na presença de composto orgânico (100 mg/l).

Modelação dos ensaios em sistema aberto: Aplicação do modelo de Yoon e Nelson

O modelo de Yoon e Nelson assume que a probabilidade de adsorção de uma molécula de sorbato é inversamente proporcional à cobertura da superfície e à probabilidade de breakthrough do leito (Vijayaraghavan e Prabu, 2006). O modelo de Yoon e Nelson sendo um modelo simples, apresenta a vantagem de não precisar de dados detalhados relativos ao adsorbato, nem das propriedades físicas do leito de adsorção (Hamdaoui, 2006).

As Tabelas 4.3.2.2.9, 4.3.2.2.10 e 4.3.2.2.11 mostram valores de k_{YN} e τ para os diferentes compostos orgânicos testados e para diferentes valores de concentração inicial, para o crómio nas gama de concentrações testada e para as soluções composto orgânico - crómio. Os valores de k_{YN} e τ foram determinados através do ajuste do desenho gráfico de $\ln[C/(C_0-C)]$ versus t , para diferentes concentrações de entrada, que variaram entre 10 e 100 mg/L, para as seguintes combinações: um só composto, compostos orgânicos na presença de crómio a 60 mg/l e crómio na presença de compostos orgânicos a 100 mg/l. O valor da constante cinética (k_{YN}) é da mesma ordem de grandeza para as soluções dos diferentes poluentes, dentro do mesmo tipo de ensaio. É esperado que o valor de τ (tempo de saturação) diminua com o aumento da concentração de entrada, pois quanto maior a concentração de entrada, menor o tempo que demora a saturar a coluna. Verificou-se este pressuposto na maioria dos ensaios realizados.

As curvas teóricas foram comparadas com os correspondentes valores experimentais e o resultado encontra-se representado nas Figuras 4.3.2.2.9, 4.3.2.2.10 e 4.3.2.2.11. Da sua análise pode-se concluir que as curvas de breakthrough experimentais estão muito próximas das curvas previstas pelo modelo de Yoon e Nelson para todas as concentrações de entrada testadas, e tipo de ensaio, solução de um só soluto ou na presença de crómio, para o *o*-cresol. Para o fenol, o modelo ajusta muito bem aos ensaios realizados com este composto apenas, mas apresenta grandes discrepâncias quando em presença de crómio para a concentração de entrada de 10 mg/l. Este facto é explicado pela conjugação de dois factores, o efeito competitivo entre o ião metálico e o composto orgânico e a actividade metabólica do microrganismo (mais intensa para concentrações mais diluídas, devido à diminuição do efeito xenobiótico), ambos não contabilizados pelo modelo. As grandes discrepâncias obtidas com o fenol a 10 mg/l

na presença de crómio verificam-se também para o clorofenol na presença de crómio, para a mesma concentração.

Para os ensaios com o crómio, é de salientar que o modelo ajusta os dados experimentais devidamente e para todas as concentrações apenas quando na presença de *o*-cresol. Quando em solução simples apresenta discrepâncias para a concentração de 60 mg/l, quando na presença de clorofenol ajusta apenas para a concentração de entrada de 60 mg/l e quando na presença de fenol ajusta devidamente para as concentrações de 10 e 60 mg/l.

Tal como para os modelos de Adams–Bohart e Wolborska, são verificadas discrepâncias para os valores iniciais da curva de breakthrough e concerteza, pelos mesmos motivos, ou seja pelo facto de nem a actividade metabólica nem o necessário período de adaptação das bactérias ser contabilizado no modelo.

Nas tabelas seguintes são apresentados os valores dos parâmetros do modelo de Yoon e Nelson (τ e k_{YN}), para os compostos orgânicos e o crómio, em soluções de um só soluto e para as soluções de composto orgânico com crómio (nas combinações composto orgânico a variar entre as concentrações de 10 mg/l e 100 mg/l com soluções de crómio a 60 mg/l, e crómio a variar entre 10 mg/l e 100 mg/l com soluções de composto orgânico a 100 mg/l).

Tabela 4.3.2.2.9- Parâmetros de Yoon e Nelson para diferentes concentrações iniciais de composto orgânico, usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Fenol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	3998.40	0.0010	0.97
50	2711.70	0.0010	0.87
100	486.80	0.0010	0.86
Clorofenol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	4318.57	0.0007	0.87
50	1554.93	0.0015	0.85
100	1282.79	0.0019	0.90
o-Cresol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	5020.60	0.0005	0.85
50	594.67	0.0018	0.90
100	530.52	0.0021	0.94

Tabela 4.3.2.2.10- Parâmetros de Yoon e Nelson para diferentes concentrações iniciais de composto orgânico, na presença de crômio, usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Fenol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	485.35	0.0020	0.73
50	456.64	0.0014	0.87
100	11.94	0.0090	0.82
Clorofenol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	1077.82	0.0011	0.81
50	958.27	0.0015	0.93
100	1087.73	0.0011	0.81
o-Cresol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	996.75	0.0012	0.95
50	495.26	0.0023	0.85
100	305.39	0.0018	0.83

Tabela 4.3.2.2.11- Parâmetros de Yoon e Nelson para diferentes concentrações iniciais de crômio, como um só componente e na presença de compostos orgânicos, usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Crômio- soluções de um só componente			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	70.46	0.0013	0.83
50	32.73	0.0030	0.86
100	326.63	0.0019	0.90

Crômio- na presença de fenol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	716.64	0.0011	0.86
50	493.41	0.0017	0.83
100	116.27	0.0117	0.80

Crômio- na presença de clorofenol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	26.74	0.0267	0.63
50	69.94	0.0138	0.69
100	16.58	0.0343	0.70

Crômio- na presença de o-cresol			
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²
10	447.21	0.0028	0.82
50	293.46	0.0024	0.83
100	358.13	0.0008	0.83

Nas figuras seguintes são apresentadas as curvas de breakthrough para o modelo e para os dados experimentais para todos os ensaios realizados.

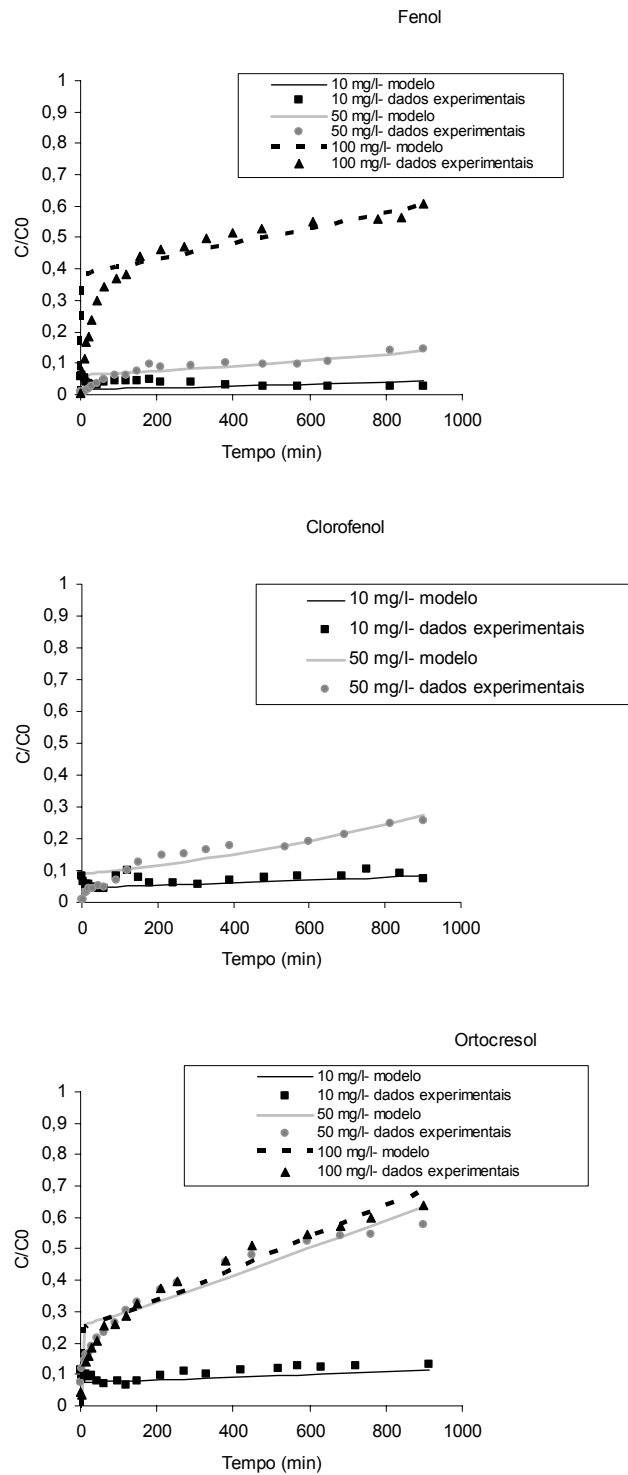


Figura 4.3.2.2.9- Aplicação do modelo de Yoon e Nelson para diferentes concentrações de entrada dos três compostos orgânicos.

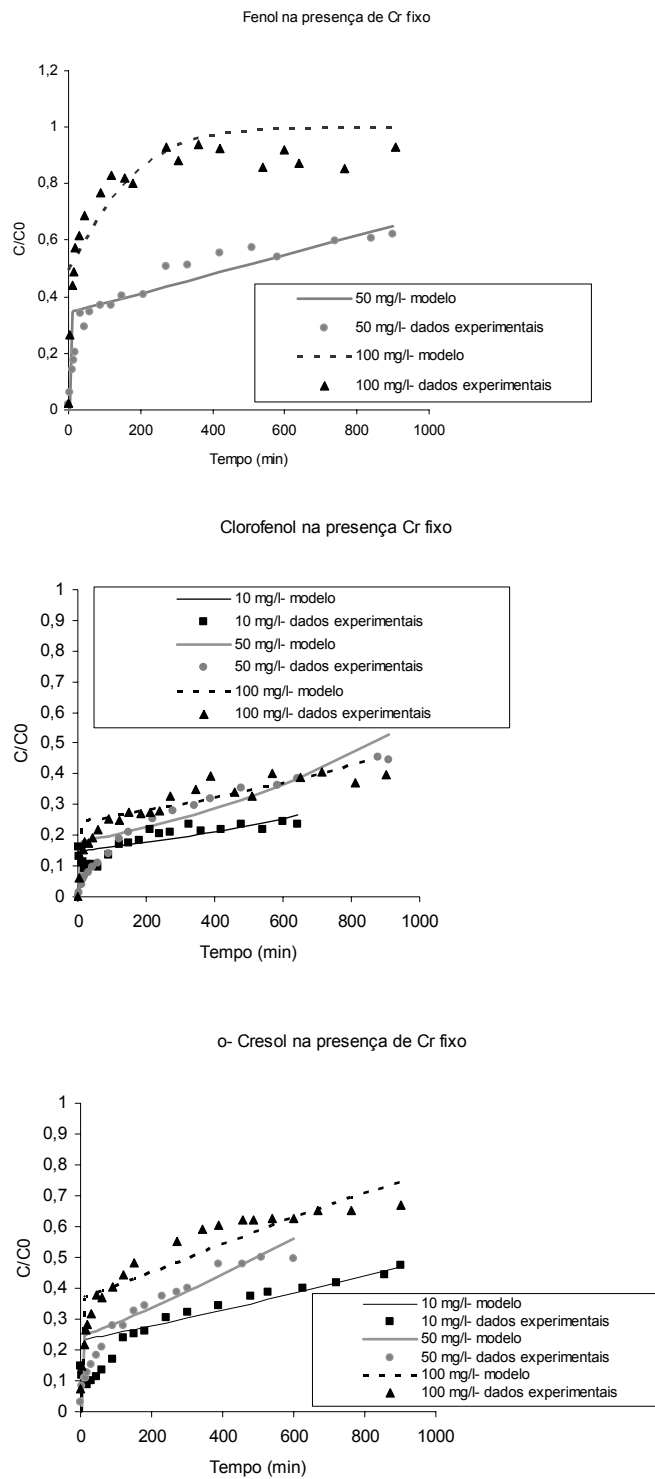


Figura 4.3.2.2.10- Aplicação do modelo de Yoon e Nelson para diferentes concentrações de entrada dos três compostos orgânicos, na presença de Cr (VI) (60 mg/l).

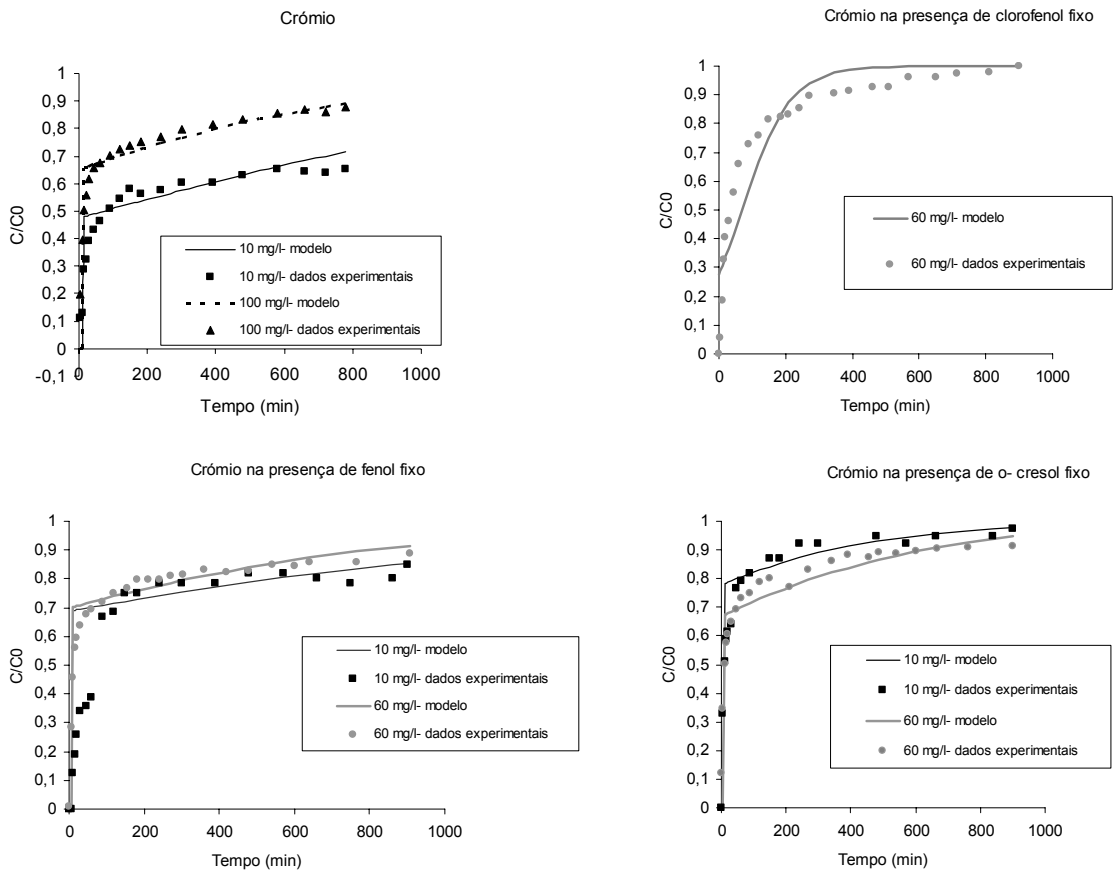


Figura 4.3.2.2.11- Aplicação do modelo de Yoon e Nelson para diferentes concentrações de entrada de Cr (VI), em solução monocomponente ou na presença de composto orgânico (100 mg/l).

De um modo geral pode-se afirmar que os modelos de Adams- Bohart e Wolborska se adaptam melhor aos ensaios realizados no âmbito desta tese, no que diz respeito aos ensaios realizados com compostos orgânicos, como soluções de um só soluto ou na presença de crômio.

4.4- Biossorção em reactor piloto

O objectivo primeiro desta dissertação prende-se com a implementação de um sistema de biossorção capaz de tratar de forma eficiente grandes quantidades de efluentes contaminados, tendo em vista uma futura utilização a nível industrial do sistema desenvolvido. Este sistema vem na sequência do trabalho desenvolvido anteriormente a este projecto (Quintelas C, 2001; Quintelas e Tavares 2002, 2001). Durante esse trabalho foram efectuados estudos em minicoluna, nos quais se testou a remoção de Cr (VI), Pb (II), Cd (II) e Fe (II) utilizando para tal um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC.

Como foi discutido no ponto 4.1, o facto da bactéria *Arthrobacter viscosus* produzir uma maior quantidade de polímeros totais e por isso se prever uma maior adesão por parte do microrganismo ao carvão (GAC) e a formação de uma camada protectora mais eficaz contra os efeitos prejudiciais, neste caso a presença de crómio (Comte *et al.*, 2006), levou a que esta bactéria fosse a escolhida para o desenvolvimento dos estudos em reactor piloto. Os estudos com os outros microrganismos prosseguiram em minicolunas e foram objecto de discussão mais aprofundada no ponto 4.2 deste Capítulo.

As bactérias do género *Arthrobacter* são de grande interesse devido ao seu elevado potencial para a bioremediação. Estas bactérias podem remover crómio de duas maneiras: por redução ou acumulação dentro da bactéria e/ou por absorção na sua superfície (Asatiani 2004). Ainda segundo estes autores, as bactérias capazes de reduzir o Cr (VI) com subsequente efluxo de produtos de crómio reduzidos são muito importantes pois, uma vez dentro da célula, o Cr (VI) como metal de transição pode ser reduzido a Cr (V/IV/III) por diferentes agentes reductores não específicos tais como, a glutathione, a glutathione reductase, cisteína, carboidratos, NADH, NADHP, nucleótidos e ácido ascórbico. Os produtos resultantes do processo de redução do Cr (VI) podem atacar e danificar o DNA e as proteínas das células. Por outro lado, considerando a composição da parede celular das bactérias (ácido teicóico, polícarboidratos e outras substâncias com capacidade de redução) e a actividade de diferentes reductases associados à membrana, específicos e não-específicos, sugere-se que o Cr (VI) possa ser reduzido nas membranas das paredes celulares das bactérias, pelo menos parcialmente.

O biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC foi testado para duas concentrações iniciais de crómio. O ensaio com a solução de concentração inicial de 10 mg/l foi efectuado durante 226 dias (cerca de 7.5 meses) e o ensaio realizado com a concentração inicial de 100 mg/l foi efectuado durante 104 dias (aproximadamente 3.5 meses). O volume de solução de crómio tratado foi de 8140 litros para o ensaio realizado a 10 mg/l e de 3732 litros para o ensaio realizado a 100 mg/l.

Os resultados em termos de concentração normalizada versus tempo, para a concentração inicial de Cr (VI) de 10 mg/l estão representados na Figura 4.4.1.

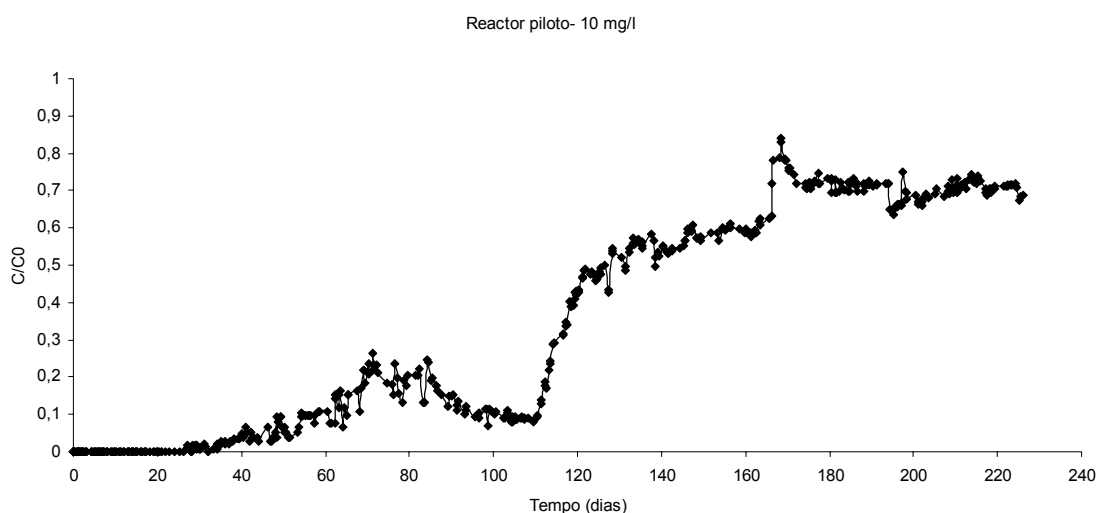


Figura 4.4.1 - Curva de breakthrough para a biossorção de Cr (VI) utilizando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC, para uma concentração inicial de metal de 10 mg/l. Duração do ensaio: 226 dias. Caudal de 25 ml/min (1.5 l/h).

E de referir que, após 3 meses de ensaio experimental, foi feita uma sementeira, em placa de Petri, da solução de saída de modo a verificar se o microrganismo ainda se encontrava metabolicamente activo (Figura 4.4.2). A inoculação da placa foi efectuada à temperatura de 26 °C, temperatura óptima de crescimento do microrganismo.



Figura 4.4.2- Teste de viabilidade do microrganismo efectuado 3 meses após o início do ensaio experimental.

Como facilmente se observa na visualização da Figura 4.4.2, o microrganismo presente na solução de saída e entretanto incubado na placa de Petri previamente atestada com meio de cultura adequado ao seu crescimento, foi capaz de crescer de forma uniforme, cobrindo quase toda a totalidade da placa. Esta observação permite afirmar que o microrganismo se encontrava vivo após 3 meses de exposição ao crómio. É de realçar que depois do processo de formação do biofilme, o microrganismo fica privado de qualquer tipo de nutriente. Ou seja, durante a passagem da solução de crómio, o microrganismo não é alimentado com qualquer espécie de nutriente. Assim sendo, é possível concluir que o microrganismo passou a incorporar no seu metabolismo o crómio, razão pela qual se encontra vivo após tantos meses sem alimento. Esta conclusão é de extrema importância pois a adição do elemento que se pretende eliminar à cadeia alimentar de um microrganismo é um passo fundamental no êxito de qualquer sistema de bioremoção de compostos nocivos.

No término do ensaio experimental foram efectuadas imagens SEM (Scanning Electron Micrographs) no sentido de avaliar a presença de bactérias e o estado de degradação do carvão activado. A Figura 4.4.3 corresponde à imagem, obtida por

microscopia electrónica, de uma amostra de carvão retirada do reactor, após tratamento de uma solução de crómio de concentração inicial 10 mg/l.

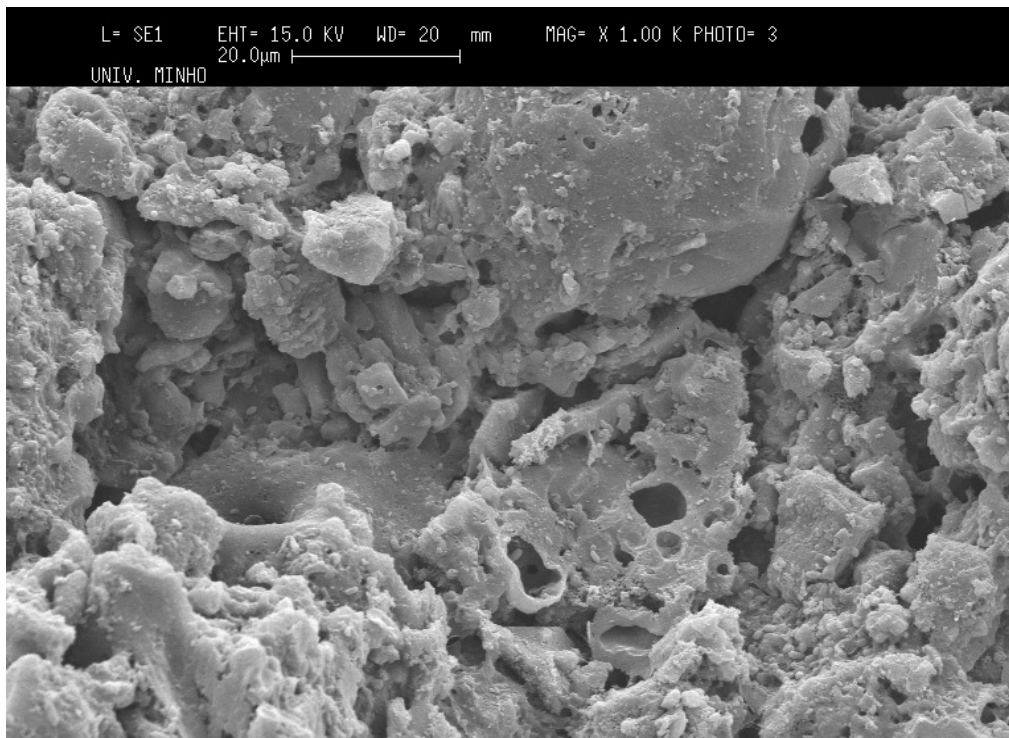


Figura 4.4.3- Imagem SEM duma amostra de carvão retirada do reactor após 226 dias de exposição a uma solução de crómio com uma concentração inicial de 10 mg/l. Ampliação de 1000x.

Como se pode observar na Figura 4.4.3, existem algumas bactérias presentes na superfície do carvão, bactérias estas que serão mais visíveis na Figura 4.4.4. O pormenor que mais se destaca da cuidada observação desta figura prende-se com o estado de degradação do carvão activado. O estado de degradação é uma consequência da forte erosão sofrida pelo carvão, motivada pelos efeitos hidrodinâmicos da passagem do efluente pelo sistema carvão-biofilme durante 226 dias consecutivos.

Na Figura 4.4.4 apresenta-se uma imagem SEM de uma outra amostra do mesmo reactor e ensaio.

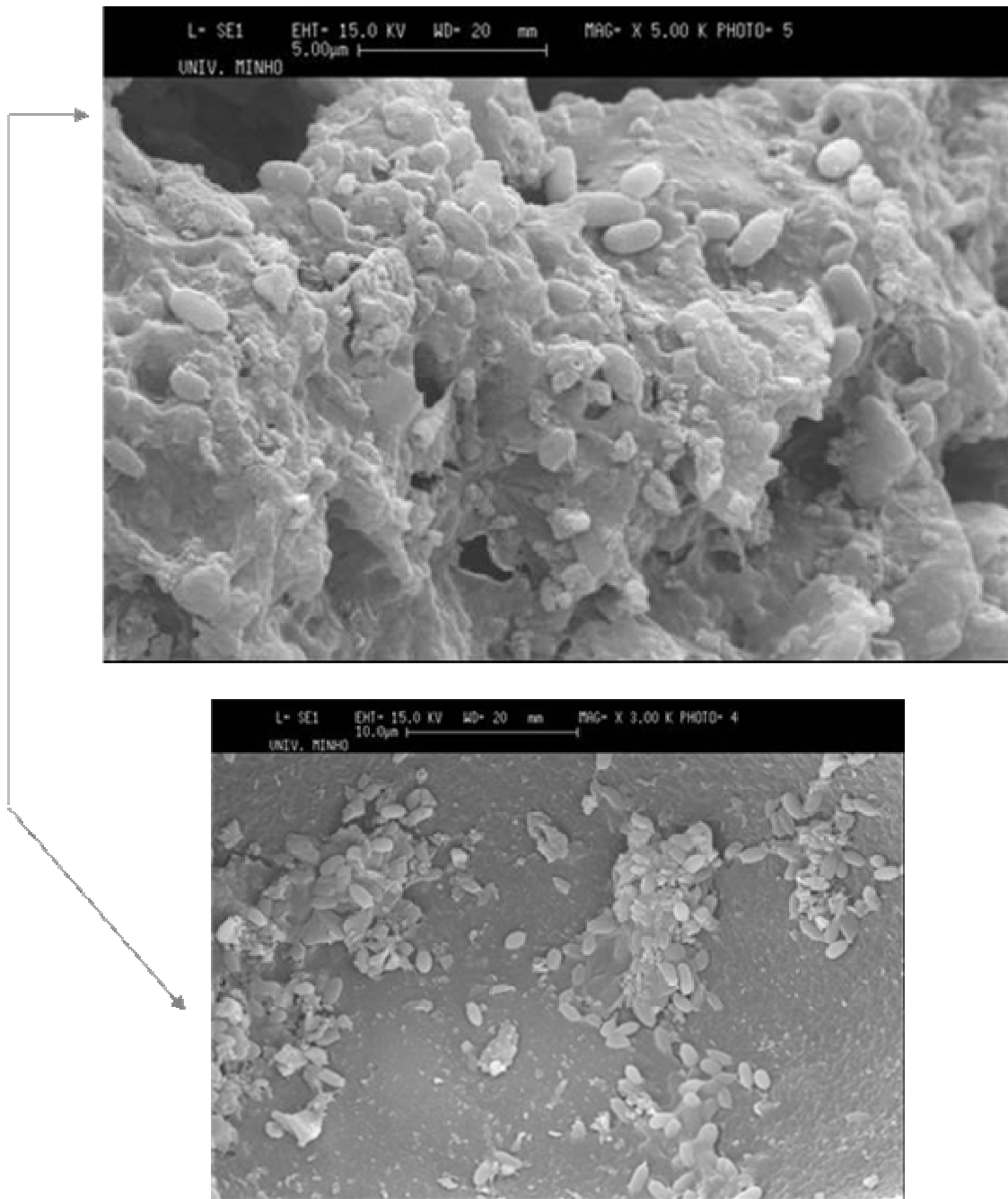


Figura 4.4.4- Imagem SEM duma amostra de carvão retirada do reactor após 226 dias de exposição a uma solução de crómio com uma concentração inicial de 10 mg/l. Ampliação de 5000x. A imagem mais pequena corresponde à observação do interior da concavidade assinalado na figura (Ampliação 3000x).

Nesta figura é bem visível a presença de biofilme. Este não recobre uniformemente a totalidade do carvão mas apresenta-se em quantidades significativas tendo em conta o tempo de ensaio experimental.

Os resultados em termos de concentração normalizada versus tempo, para a concentração inicial de Cr (VI) de 100 mg/l estão representados na Figura 4.4.5.

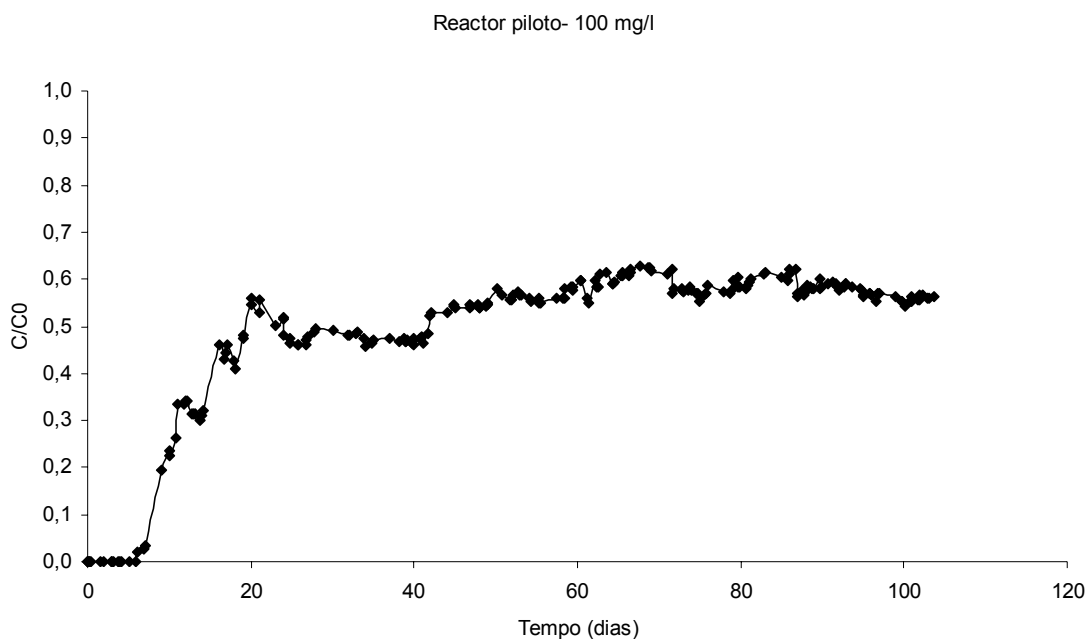


Figura 4.4.5 - Curva de breakthrough para a biossorção de Cr (VI) utilizando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC, para uma concentração inicial de metal de 100 mg/l. Duração do ensaio: 104 dias. Caudal de 25 ml/min (1.5 l/h).

Em termos de percentagem de remoção é de salientar que na experiência realizada com a solução de concentração inicial de 10 mg/l se obteve uma remoção de 100 % durante os primeiros 26 dias de ensaio experimental. Ao 27º dia a percentagem de remoção começou a descer ligeiramente, situando-se nos 32 % quando se deu por terminado este ensaio, ao fim de 226 dias. Para o reactor a funcionar com uma concentração de entrada de 100 mg/l, obteve-se 100 % de remoção durante os primeiros 6 dias de ensaio experimental. Quando o ensaio experimental foi interrompido, 104 dias depois de iniciado, a taxa de remoção situava-se nos 38%.

Estudos realizados por Battaglia-Brunet *et al.* (2006) mostram uma remoção de Cr (VI) de 100% nos primeiros 18 dias de ensaio experimental. O ensaio destes autores foi realizado num bioreactor de 200 dm³ de volume, inoculado com uma população

bacteriana contendo o microrganismo sultacto-reductor *Desulfomicrobium norvegicum* e uma solução de crómio de 15 mg/l.

Barros *et al.*, (2007) inocularam um reactor com lamas provenientes duma estação de tratamento e fizeram passar pelo reactor um efluente de crómio com uma concentração inicial de 10 mg/l. Este reactor esteve a operar durante 30 dias e os autores verificaram que a percentagem de remoção média foi de 90.4%, variando entre os 96.1% e os 60.8%. O reactor utilizado no presente trabalho, e usando para comparação os resultados obtidos nos primeiros 30 dias de operação, obteve uma percentagem média de remoção de 99.9%, variando entre os 100% e os 99.3%.

Após o ensaio experimental foram efectuadas imagens SEM, em amostras de leito, no sentido de avaliar a presença de bactérias e o estado de degradação do carvão activado. A Figura 4.3.6 corresponde à imagem, obtida por microscopia electrónica, de uma amostra de carvão retirada do reactor, após tratamento de uma solução de crómio de concentração inicial 100mg/l.

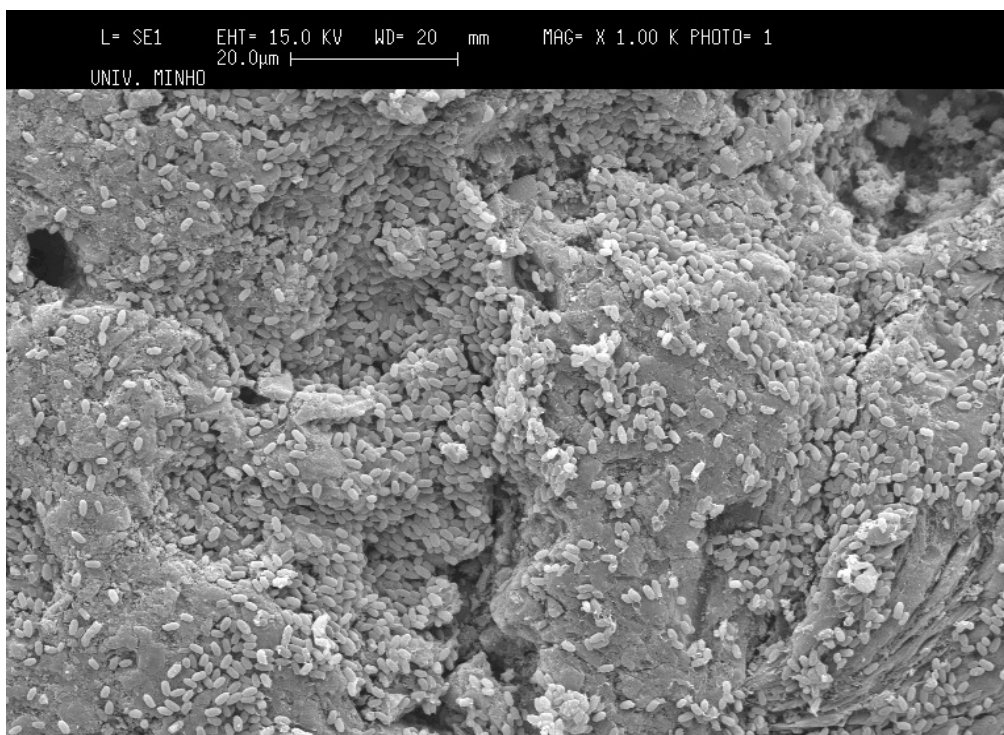


Figura 4.4.6- Imagem SEM duma amostra de carvão retirada do reactor após 104 dias de exposição a uma solução de crómio com uma concentração inicial de 100 mg/l. Ampliação de 1000x.

Como se pode observar na Figura 4.4.6, o biofilme está bem presente e cobre quase uniformemente a superfície do carvão. O carvão encontra-se bastante menos degradado do que o carvão presente na Figura 4.4.3, o que se justifica, já que este ensaio foi de duração muito mais curta que o anterior e portanto este carvão sofreu muito menos do efeito erosivo das forças hidrodinâmicas.

A figura seguinte, Figura 4.4.7, apresenta uma imagem mais ampliada do carvão observado na figura anterior. Esta imagem pretende mostrar que o biofilme é constituído na sua quase totalidade por bactérias do género *Arthrobacter*, visto as células apresentarem todas o mesmo aspecto.

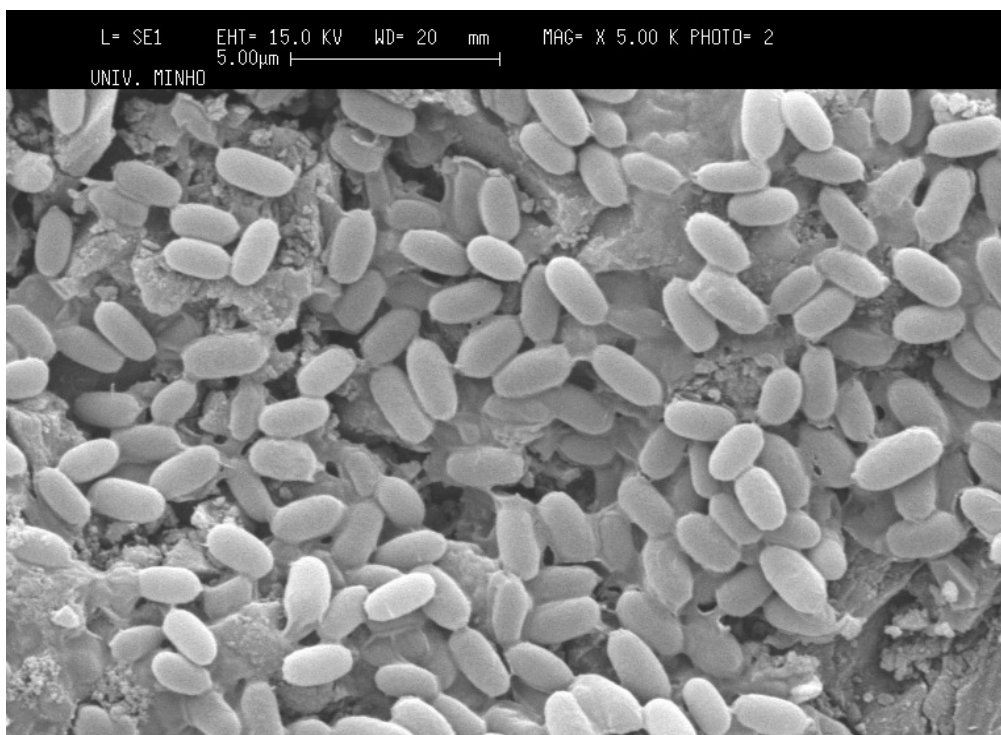


Figura 4.4.7- Imagem SEM duma amostra de carvão retirada do reactor após 104 dias de exposição a uma solução de crómio com uma concentração inicial de 100 mg/l. Ampliação de 5000x.

A utilização de um biofilme permite elevadas concentrações de biomassa por unidade de volume, já que as bactérias podem permanecer dentro do reactor por um tempo ilimitado, permitindo assim às bactérias um melhor ajuste às condições ambientais (Dermou *et al.* 2005).

Foram também efectuadas análises de espectroscopia de dispersão de energia de raios X, com o objectivo de verificar se o crómio se encontrava efectivamente retido pelo sistema biofilme-carvão activado. Aplicaram-se os valores de energia de 10 keV, 15 keV e 20 keV, a que corresponde as profundidades de análise de 1.0 μm , 2.9 μm e 4.8 μm . Como se pode verificar pela análise da Figura 4.4.8 o ião crómio encontra-se no interior do sistema e quanto maior a profundidade de análise maior a quantidade relativa de crómio encontrada.

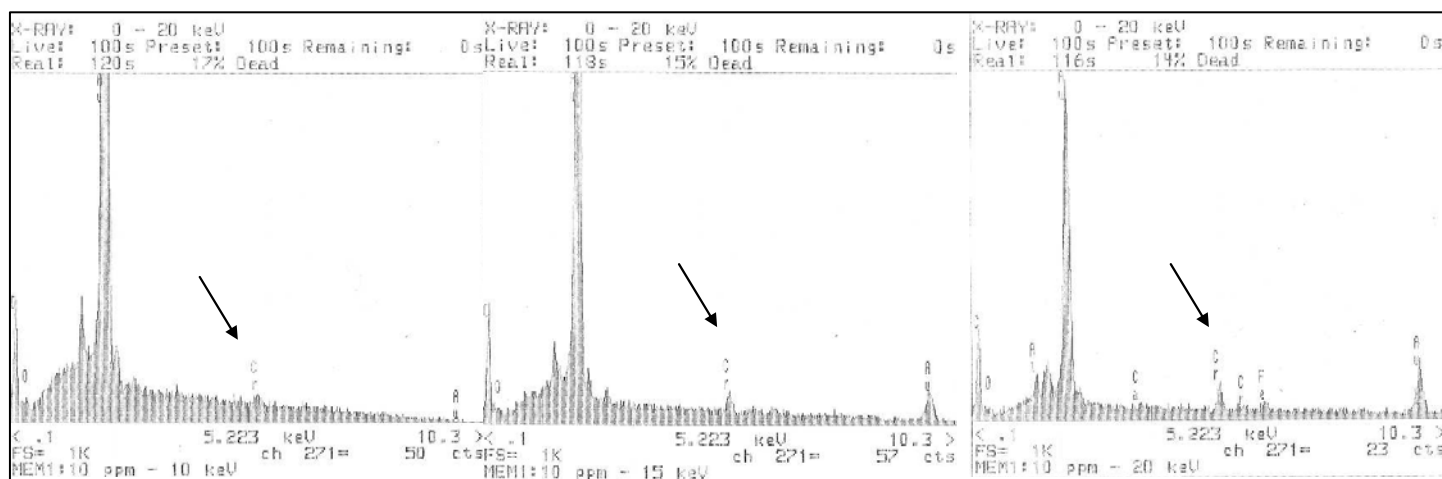


Figura 4.4.8- Análise por espectroscopia de dispersão de energia de raios X, efectuada a 1.0 μm , 2.9 μm e 4.8 μm de profundidade em amostras de carvão com biofilme retiradas do reactor piloto após passagem de solução de crómio a 10 mg/l. A seta indica o ião crómio.

Como se podia esperar a quantidade de crómio encontrada nos espectros realizados nas amostras retiradas do reactor piloto após passagem de solução de crómio com concentração inicial de 100 mg/l é maior do que a obtida nas amostras retiradas do reactor alimentado com solução de crómio a 10 mg/l. Tal como para as amostras da solução a 10 mg/l, também para estas se verifica um aumento do pico correspondente ao ião crómio com o aumento da profundidade de análise.

O espectro encontra-se representado na Figura 4.4.9.

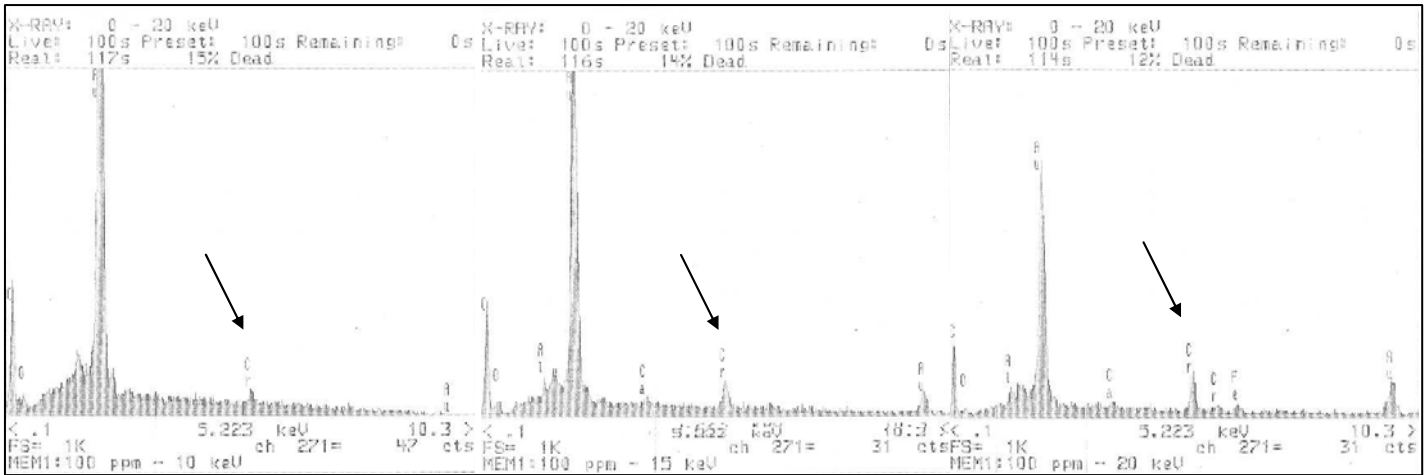


Figura 4.4.9- Análise por espectroscopia de dispersão de energia de raios X, efectuada a 1.0 μm , 2.9 μm e 4.8 μm de profundidade em amostras de carvão com biofilme retiradas do reactor piloto após passagem de solução de crómio a 100 mg/l. A seta indica o ão crómio.

Para efeitos comparativos entre o reactor piloto e as minicolunas, a figura seguinte mostra o comportamento do biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC, quando a funcionar em minicolunas, para as concentrações de entrada de crómio de 10 mg/l e 100 mg/l.

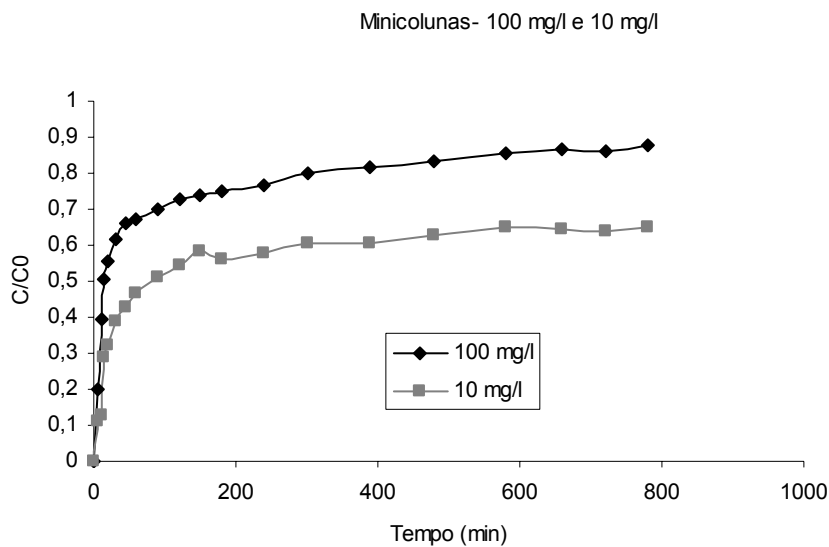


Figura 4.4.10 - Curvas de breakthrough para a biossorção de Cr (VI) utilizando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC, para uma concentração inicial de metal de 100 mg/l e de 10 mg/l e para um sistema de minicolunas. Duração do ensaio: 13 h.

A observação da Figura 4.4.10 mostra que a saída de crómio se dá logo nos primeiros minutos de ensaio. A concentração normalizada, C/C_0 , atinge o valor de 0.55 (para C_0 de 10 mg/l) e 0.8 (para C_0 de 100 mg/l) ao fim de poucas horas, apesar de se dispor apenas de 14 g de carvão. Estes resultados revelavam-se bastante promissores, pois indicam a ocorrência de reacção metabólica ($C/C_0 < 1$).

O reactor piloto, cujo volume é 168 vezes superior ao das minicolunas, apresenta assim excelentes resultados em termos de biossorção de crómio. O aumento da massa de carvão e conseqüente aumento da quantidade de biomassa e o aumento do tempo de retenção estão na origem da melhoria de resultados.

A tabela seguinte apresenta os valores de uptake para os ensaios realizados com o reactor piloto, para as duas concentrações iniciais de crómio testadas, bem como os valores obtidos para os ensaios com as minicolunas.

Tabela 4.4.1- Valores de uptake para o crómio a diferentes concentrações iniciais (10, 100 mg/l), para o reactor piloto e para as minicolunas

Valores de uptake (mg/g)		
Concentração de Cr (VI)	Reactor piloto	Minicolunas
10 mg/l	11.35	0.72
100 mg/l	14.55	5.30

Como facilmente se constata os valores de uptake obtidos com o reactor piloto são muito superiores aos obtidos com recurso a minicolunas.

A presença de outros iões foi também testada, utilizando as minicolunas. Para tal, avaliou-se a performance de biossorção do biofilme de *Arthrobacter viscosus* suportado em GAC, no tratamento de um efluente proveniente duma estação de tratamento de águas residuais numa zona com forte implantação de indústrias de curtumes e calçado. Os resultados deste ensaio encontram-se representados na Figura 4.4.11.

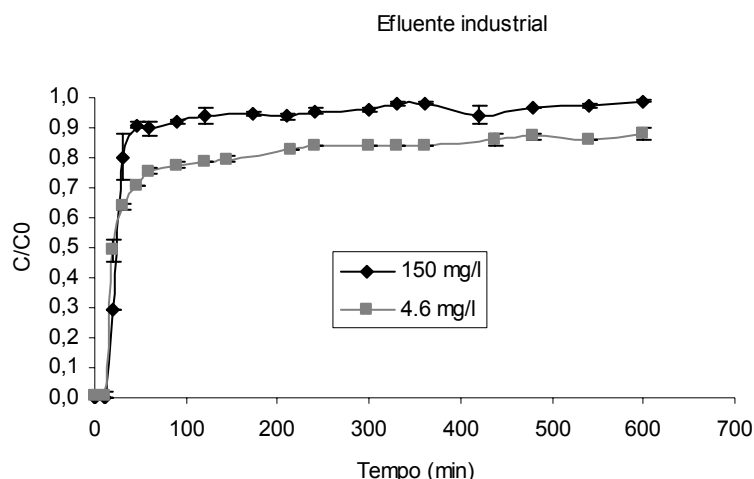


Figura 4.4.11- Curvas de breakthrough para a biossorção de Cr (VI) utilizando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC, para o tratamento dum efluente industrial. Duração do ensaio: 10 h.

Os valores de uptake obtidos nos ensaios com as minicolunas e para o tratamento do efluente real foram de 0.16 mg/g_{bioissorvente} para o ensaio a 4.6 mg/l e de 4.6 mg/g_{bioissorvente} para o ensaio a 150 mg/l. Pode-se concluir, tanto da análise das Figuras 4.4.10 e 4.4.11, como pela comparação dos valores de uptake, a capacidade de biossorção sofre uma diminuição quando em presença de outros iões.

4.4.1- Modelação dos ensaios em reactor piloto

A capacidade de sorção do bioissorvente, obtida a partir de estudos de equilíbrio em sistema fechado, é útil para a previsão da aplicabilidade do sistema metal-bioissorvente. No entanto, esse dado não é suficiente para descrever operações em coluna, já que aqui o tempo de contacto não é suficiente para se atingir o equilíbrio (Vijayaraghavan e Prabu, 2006). Assim, existe a necessidade de modelar a biossorção em sistemas de colunas. Da modelação se dará conta nos pontos seguintes.

4.4.1.1- Modelação dos ensaios em sistema aberto: Aplicação dos modelos de Adams–Bohart, Wolborska e de Yoon e Nelson

Os modelos de Adams-Bohart e Wolborska foram aplicados aos resultados experimentais e a comparação entre estes e os modelos encontra-se representada na Figura 4.4.1.1.1.

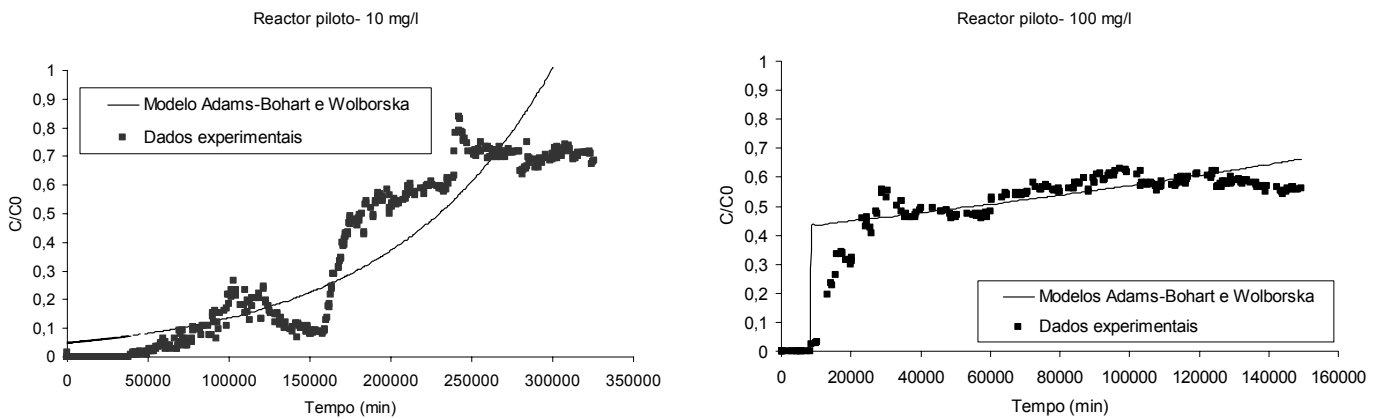


Figura 4.4.1.1.1- Comparação entre os resultados experimentais e os previstos pelos modelos de Adams-Bohart e de Wolborska, para a remoção de crómio no reactor piloto.

Como se verifica pela análise da figura os modelos ajustam razoavelmente bem os dados experimentais. Os parâmetros calculados a partir dos modelos encontram-se na Tabela 4.4.1.1.1.

A figura seguinte traduz a comparação entre os resultados experimentais e os previstos pelos modelos para as duas de entrada, de acordo com o modelo de Yoon e Nelson, para a remoção de crómio, no reactor piloto.

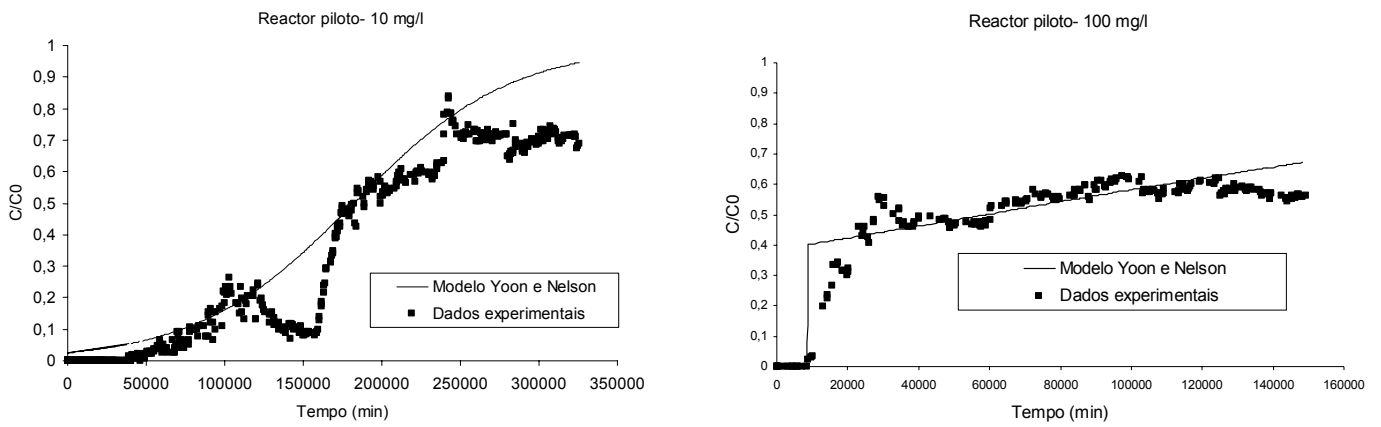


Figura 4.4.1.1.2- Comparação entre os resultados experimentais e os previstos pelo modelo de Yoon e Nelson, para a remoção de crómio no reactor piloto.

Tal como para os modelos de Adams-Bohart e de Wolborska, também o modelo de Yoon e Nelson ajusta razoavelmente bem os dados experimentais. Os parâmetros calculados a partir do modelo encontram-se na Tabela 4.4.1.1.1.

Tabela 4.4.1.1.1- Parâmetros previstos pelos modelos de Adams-Bohart, de Wolborska e de Yoon e Nelson, para as duas concentrações iniciais de crómio, para os ensaios realizados em reactor piloto, usando um biofilme de *A. viscosus* suportado em GAC

Reactor piloto				
Modelos Adams-Bohart e Wolborska				
C₀ (mg/l)	N₀ (mg/l)	k_{AB} (l/(mg.min))	β_a (1/min)	R²
10	4825.9	3.6E-7	0.002	0.79
100	47158.8	2.9E-8	0.001	0.76
Modelo de Yoon e Nelson				
C₀ (mg/l)	τ (min)	k_{YN} (min⁻¹)	R²	
10	182235	2.0E-5	0.79	
100	58888	8.0E-6	0.73	

O valor da concentração de saturação (N₀) aumentou com o aumento da concentração de crómio de entrada, como esperado. O valor de β_a, que como já foi dito anteriormente, é fortemente influenciado pelo caudal, permaneceu dentro da mesma ordem de grandeza, pois o caudal foi o mesmo para os dois ensaios. O valor de τ diminuiu com o aumento da concentração, como seria de esperar.

4.5- Análise dos resultados obtidos com espectroscopia FTIR

A Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR- Fourier Transform Infrared Spectroscopy) é uma técnica analítica usada para identificar materiais orgânicos e em alguns casos inorgânicos. Esta técnica mede a absorção de luz a vários comprimentos de onda na zona de infravermelhos pelo material em estudo. Estas bandas de absorção na zona de infravermelhos identificam componentes moleculares específicos e estruturas. Bandas de absorção na gama de 4000 - 1500 cm^{-1} são típicas de grupos funcionais (i.e. -OH, C=O, N-H, CH₃, etc.). A região entre 1500 - 400 cm^{-1} é referenciada como a região de “impressão digital”, isto porque bandas de absorção nesta região são geralmente devidas a fenómenos intramoleculares e são altamente específicas de cada material. A especificidade destas bandas permite fazer uma procura em extensas bases de dados ou em bibliotecas de bandas de absorção de modo a identificar o material em causa.

O espectro FTIR do *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus equisilimis* e *Arthrobacter viscosus*, antes e depois do contacto com crómio, foi efectuado na gama entre 4000 – 500 cm^{-1} com o objectivo de descobrir quais os grupos funcionais que são responsáveis pelo processo de bioabsorção. Os resultados são apresentados nas Figuras 4.5.1, 4.5.2, 4.5.3 e 4.5.4. Como se pode facilmente visualizar nas figuras os espectros da biomassa antes do contacto com o crómio exibem um grande número de picos de absorção, reflectido assim a natureza complexa da biomassa. A Figura 4.5.1, correspondente à biomassa de *B. coagulans*, mostra que o espectro obtido para a biomassa antes do contacto com o crómio apresenta diferenças em certas bandas na região entre 1600 - 750 cm^{-1} e 3000 - 2800 cm^{-1} quando comparado com o espectro da biomassa após contacto com o crómio. As principais alterações observadas correspondem a desvios verificados nas bandas de absorção para os sinais a 3350 cm^{-1} (indicativo da ligação do grupo hidroxilo e do estiramento do pico -NH) (Park *et al.*, 2005), 1546 cm^{-1} (indicativo do estiramento do grupo C-N e deformação do grupo N-H), 1398 cm^{-1} (indicativo de aniões COO-), 1238 cm^{-1} (indicativo de grupos -SO₃) e a 861 cm^{-1} (estiramento do pico -CH aromático) (Tunali *et al.*, 2006). Estas mudanças observadas no espectros indicam o possível envolvimento no processo de bioabsorção de grupos funcionais da superfície da biomassa. Estas alterações das bandas são tanto maiores quanto mais alta é a concentração de crómio.

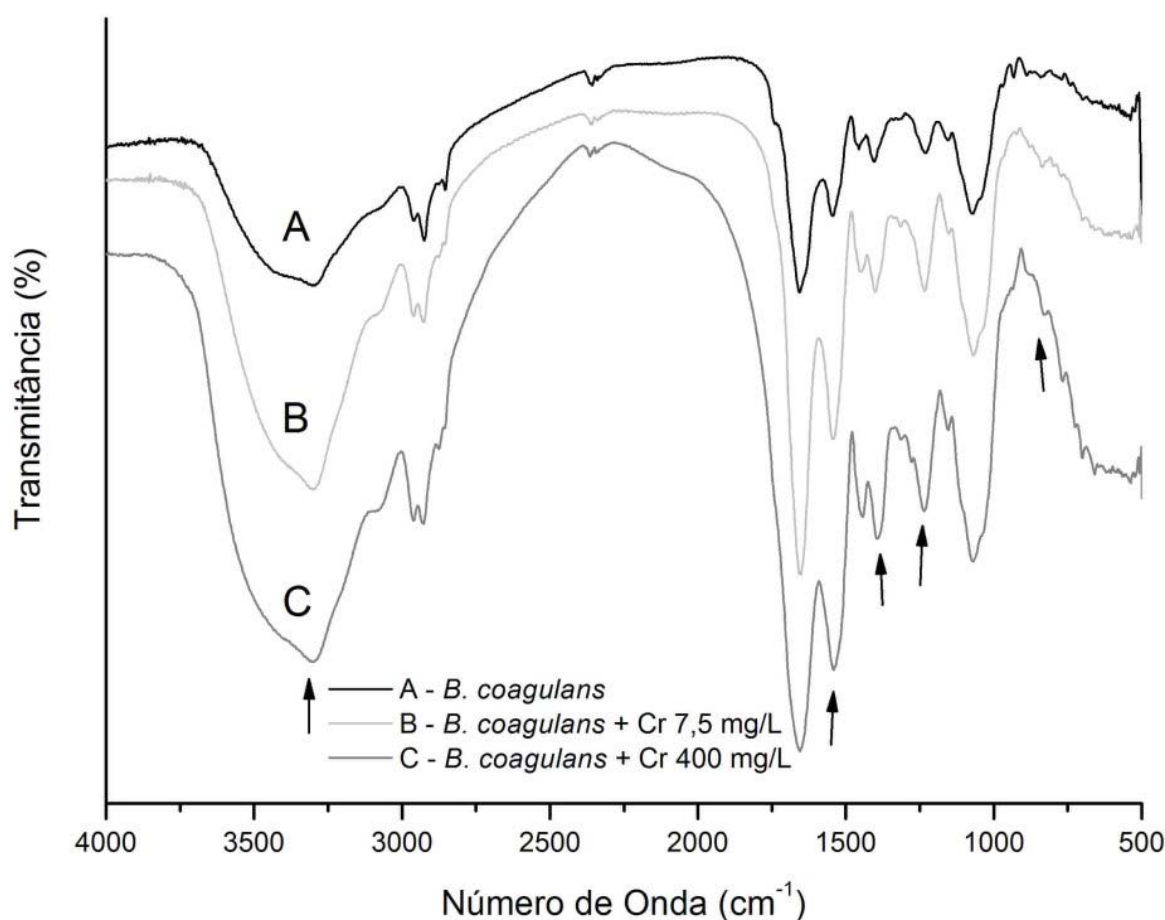


Figura 4.5.1 - Espectro FTIR obtido para a bactéria *B. coagulans* antes e após o contacto com o metal.

Analisando o espectro de FTIR para a *E. coli* (Figura 4.5.2) observa-se que existem determinados picos característicos que confirmam a existência dos principais grupos funcionais na biomassa deste microrganismo. No espectro da biomassa antes do contacto com o crómio, verifica-se a existência de um pico na região entre 3500 – 3200 cm⁻¹ correspondente ao alongamento da ligação N–H dos grupos amina. Uma mudança na posição do pico no espectro da biomassa após contacto com o crómio (de 3400 para 3293-3294) indica a ligação do crómio com os grupos amino e hidroxilo. Os picos de absorção a 2900 – 3000 cm⁻¹ são atribuídos ao alongamento assimétrico da ligação γ C–H nos grupos –CH₂ em combinação com a mesma ligação nos grupos CH₃ (Kazy *et al.*, 2006). No espectro correspondente à biomassa sem contacto com o crómio, a ligação γ C=O do grupo amida I e a combinação γ NH/ γ C=O do grupo amida II estão presentes a 1650 e 1544 cm⁻¹, respectivamente, indicando a presença de

grupos carboxílicos. É interessante referir que o pico a 1544 cm^{-1} aumenta na presença de crómio e aumenta também com o incremento verificado na concentração de crómio sugerindo assim, uma forte interacção do Cr com os grupos carboxílicos. Os picos situados na gama entre $1300 - 1067\text{ cm}^{-1}$ são atribuídos à presença de grupos carboxílicos e fosfatos (Pistorius, 1995). O aumento do número de picos nesta região indica também uma possível interacção do Cr com estes grupos.

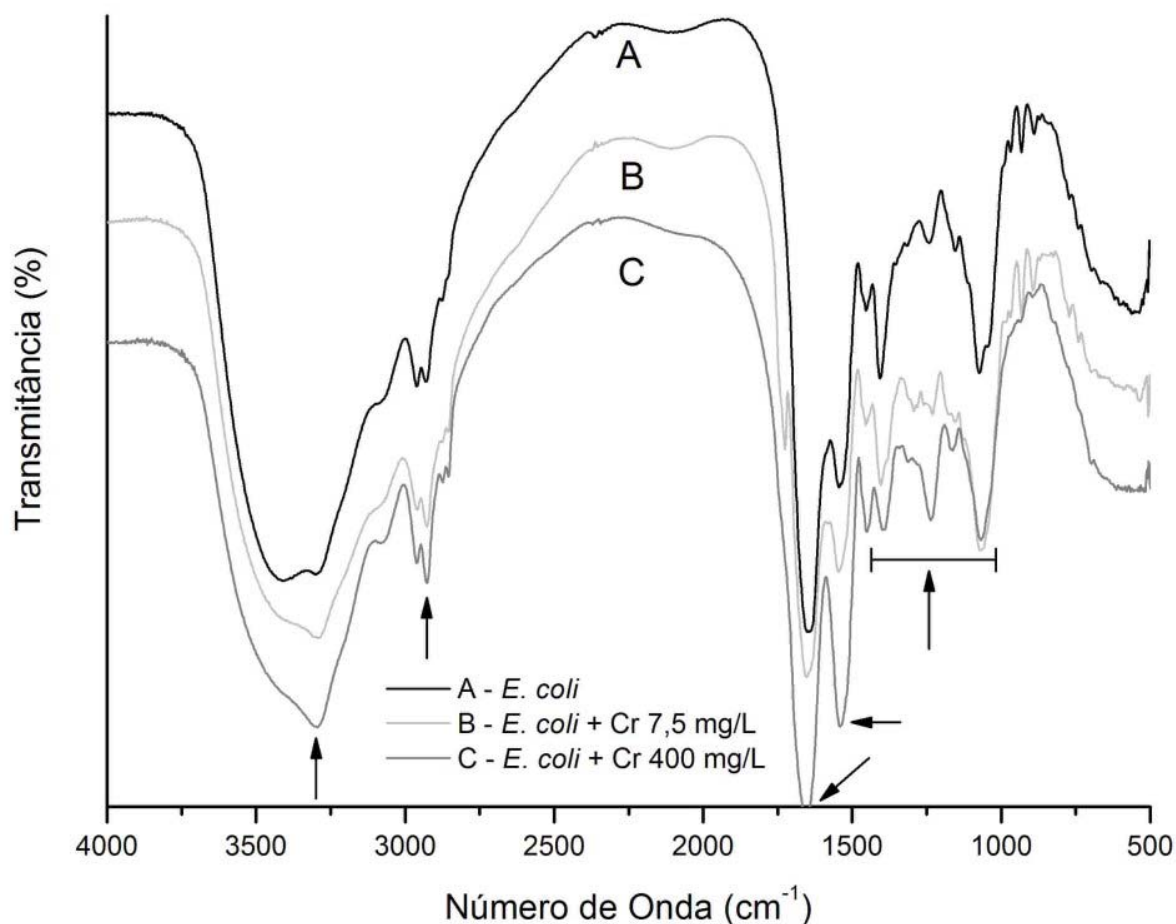


Figura 4.5.2 - Espectro FTIR obtido para a bactéria *E. coli* antes e após o contacto com o metal.

As considerações efectuadas acerca das Figuras 4.5.1 e 4.5.2 podem também ser tecidas acerca da Figura 4.5.3 (espectro FTIR da biomassa de *S. equisimilis* antes e após contacto com o crómio), sendo que a maior diferença reside na existência de um novo pico a 1538 cm^{-1} devido à ligação N-H da banda amina II e ao alongamento da ligação C-N no grupo CO-NH- (Li *et al.*, 2006). Este novo pico pode ser o resultado da complexação do grupo funcional carboxilato por coordenação com o ião metálico. Lin

et al. (2005) sugerem que a ligação de iões metálicos a microrganismos está relacionada com os grupos funcionais contendo oxigénio ou azoto, presentes na parede celular da biomassa microbiana.

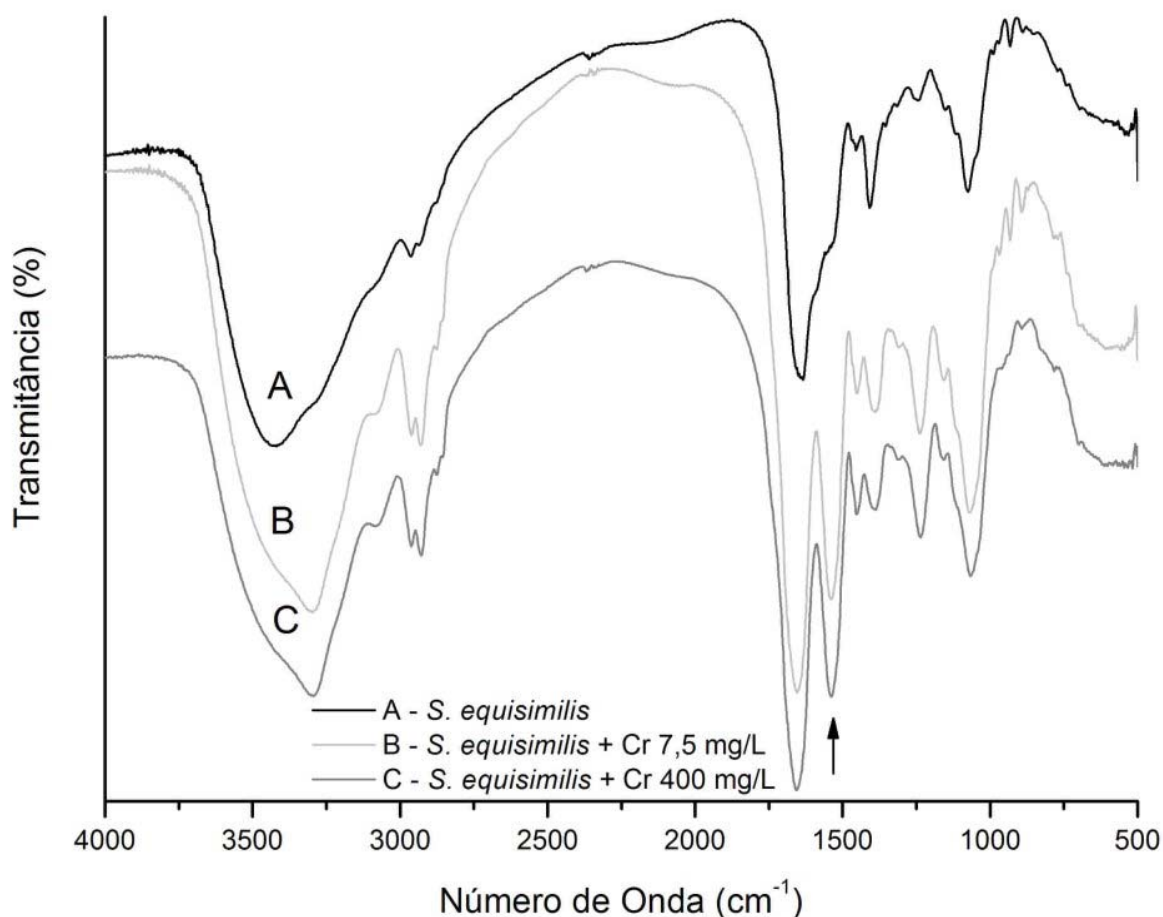


Figura 4.5.3 - Espectro FTIR obtido para a bactéria *S. equisimilis* antes e após o contacto com o metal.

O espectro FTIR referente à biomassa de *Arthrobacter viscosus* antes e após o contacto com o crómio encontra-se representado na Figura 4.5.4 para o intervalo entre 4000 – 500 cm⁻¹ e, como para todas as figuras anteriores, foi efectuado com o objectivo de definir quais os grupos funcionais responsáveis pelo processo de bioadsorção. Também para o espectro referente à biomassa de *A. viscosus* antes do contacto com o crómio se pode afirmar que o elevado número de picos de absorção obtidos reflete a natureza complexa da biomassa. Este espectro apresenta ligeiras alterações em certas bandas na região entre 1700 – 750 cm⁻¹ quando comparado com o espectro da biomassa após contacto com o crómio. Observam-se também

alterações de banda para os sinais a 3400 cm^{-1} (indicativo da ligação do grupo hidroxilo e alongamento do pico -NH) (Park *et al.*, 2005), 1546 cm^{-1} (indicativo de alongamento da ligação C-N e deformação da ligação N-H), 1398 cm^{-1} (indicativo de aniões COO-), 1238 cm^{-1} (indicativo de grupos -SO_3) e a 861 cm^{-1} (alongamento do -CH , aromático) (Tunali *et al.*, 2006). Estas alterações observadas no espectro indicam o possível envolvimento no processo de biossorção desses grupos funcionais presentes na superfície da biomassa.

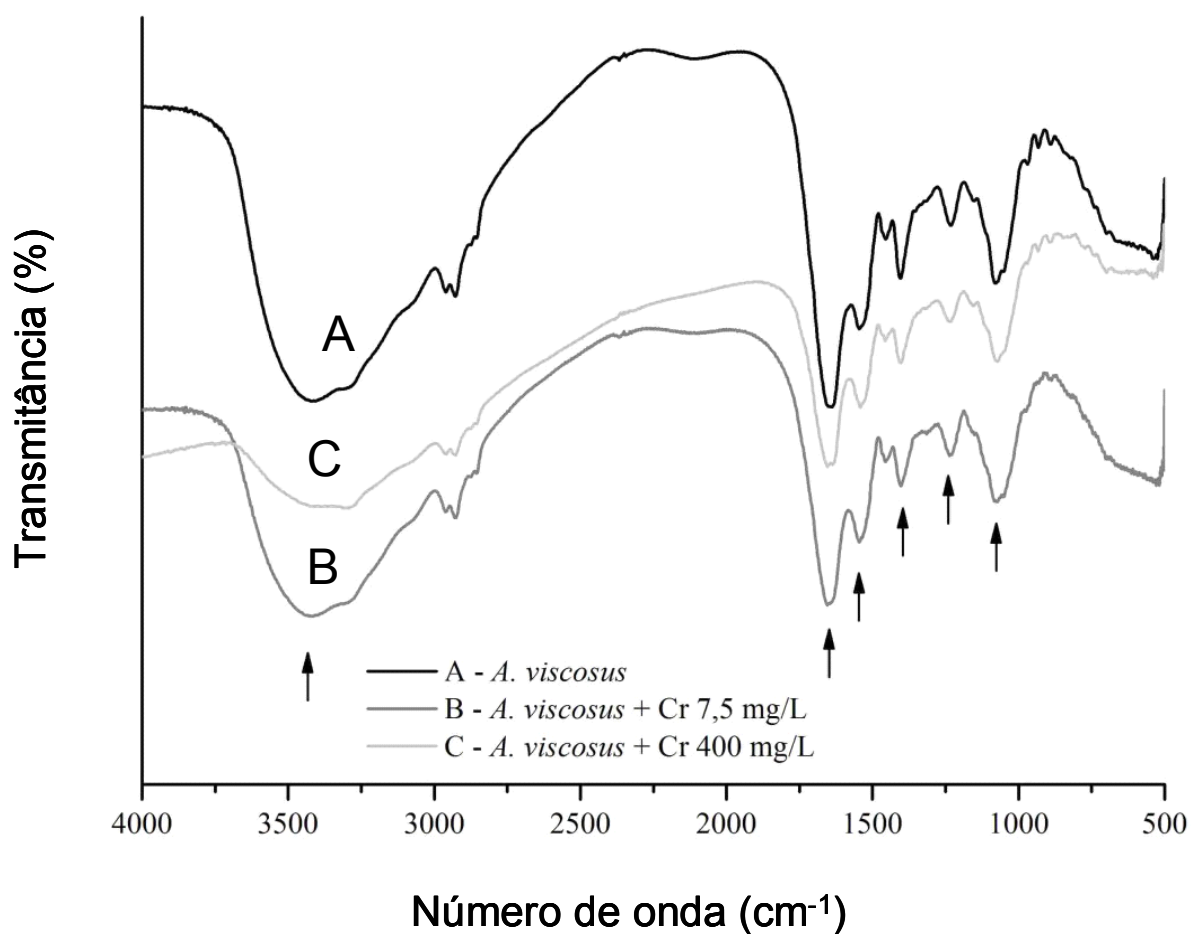


Figura 4.5.4 - Espectro FTIR obtido para a bactéria *A. viscosus* antes e após o contacto com o metal.

4.6- Referências bibliográficas

- Asatiani NV, Abuladze MK, Kartvelishvili TM, Bakradze NG, Sapojnikova NA, Tsibakhashvili NY, Tabatadze LV, Lejava LV, Asanishvili LL, Holman H-Y.** 2004. Effect of chromium(VI) action on *Arthrobacter oxydans*. *Current Microbiology* 49: 321- 326.
- Aksu Z.** 2005. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry* 40: 997-1026.
- Aksu Z, Donmez G.** 2006. Binary biosorption of cadmium (II) and nickel (II) onto dried *Chlorella vulgaris*: Co-ion effect on mono-component isotherm parameters. *Process Biochemistry* 41: 860–868.
- Aksu Z, Gönen F.** 2004. Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves. *Process Biochemistry* 39: 599- 613.
- Aksu Z, Yener J.** 2001. A comparative adsorption/biosorption study of mono-chlorinated phenols onto various sorbents. *Waste Management* 21: 695–702.
- Aksu Z, Yener J.** 1998. Investigation of the biosorption of phenol and monochlorinated phenols on the dried activated sludge. *Process Biochemistry* 33: 649–655.
- Barros AJM, Prasad S, Leite VD, Souza AG.** 2007. Biosorption of heavy metals in upflow sludge columns. *Bioresource Technology* 98: 1418–1425.
- Battaglia-Brunet F, Touzé S, Michel C, Ignatiadis I.** 2006. Treatment of chromate-polluted groundwater in a 200 dm³ pilot bioreactor fed with hydrogen. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81: 1506–1513.
- Brandt S, Zeng A-P, Deckwer W-D.** 1997. Adsorption and desorption of pentachlorophenol on cells of *Mycobacterium chlorophenicum* PCP-1. *Biotechnology and Bioengineering* 55: 480–489.
- Brasquet C, Subrenat E, Le Cloirec P.** 1997. Selective adsorption on fibrous activated carbon of organics from aqueous solutions: correlation between adsorption and molecular structure. *Water Science and technology* 35: 251-259.
- Calace N, Nardi E, Petronio BM, Pietroletti M.** 2002. Adsorption of phenols by papermill sludges. *Environmental Pollution* 118: 315–319.

- Chirwa EN, Wang Y-T.** 2000. Simultaneous chromium (VI) reduction and phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria. *Water Research* 34: 2376-2384.
- Comte S, Guibaud G, Baudu M.** 2006. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) resulting from activated sludge according to their type: Soluble or bound. *Process Biochemistry* 41: 815–823.
- Denizli A, Cihangir N, Tuzmem N, Alsancak G.** 2005. Removal of chlorophenols from aquatic systems using the dried and dead fungus *Pleurotus sajor caju*. *Bioresource Technology* 96: 59-62.
- Dermou E, Velissariou A, Xenos D, Vayenas DV.** 2005. Biological chromium (VI) reduction using a trickling filter. *Journal of Hazardous Materials B126*: 78–85.
- Efremenko I, Sheintuch M.** 2006. Predicting solute adsorption on activated carbon: fenol. *Langmuir* 22: 3614-3621.
- Gerente C, Lee VKC, Le Cloirec P, McKay G.** 2007. Application of chitosan for the removal of metals from wastewaters by adsorption- mechanisms and models review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 37: 41- 127.
- Guibaud G, van Hullebusch E, Bordas F.** 2006. Lead and cadmium biosorption by extracellular polymeric substances (EPS) extracted from activated sludges: pH-sorption edge tests and mathematical equilibrium modelling. *Chemosphere* 64: 1955- 1962.
- Hamdaoui O.** 2006. Dynamic sorption of methylene blue by cedar sawdust and crushed brick in fixed bed columns. *Journal of Hazardous Materials B138*: 293–303.
- Horsfall Jr M, Ogban F, Akporhonor EE.** 2006. Sorption of chromium (VI) from aqueous solution by cassava (*Manihot sculenta* CRANZ) waste biomass, *Chemistry & Biodiversity* 3: 161-173.
- Kazy S, Das SK, Sar P.** 2006. Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas sp.*: equilibrium studies and chemical characterization, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 33: 773- 783.

- Kulczycki E, Ferris FG, Fortin D.** 2002. Impact of cell wall structure on the behaviour of bacterial cells as sorbents of cadmium and lead. *Geomicrobiology Journal* 19: 553-565.
- Li S, Jin-Lan X, Huan H, Zhen-Yuan.** 2006. Biosorption mechanism of Cr (VI) onto cells of *Synechococcus* sp. *Sciencepaper Online* (<http://www.paper.edu.cn>)
- Lide DR (Ed).** 1999. In: 80th ed, CRC handbook of chemistry and physics, Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 8.46-8.56.
- Lin Z, Zhou C, Wu J, Zhou J, Wang L.** 2005. A further insight into the mechanism of Ag⁺ biosorption by *Lactobacillus* sp. strain A09. *Spectrochimica Acta Part A* 61: 1195–1200.
- Liu H, Fang HP.** 2002. Characterization of electrostatic binding sites of extracellular polymers by linear programming analysis of titration data. *Biotechnology Bioengineering* 80: 806-811.
- Lodeiro P, Cordero B, Grille Z, Herrero R, Sastre de Vicente ME.** 2004. Physicochemical studies of cadmium (II) biosorption by the invasive alga in europe *Sargassum muticum*. *Biotechnology and Bioengineering* 88: 237-247.
- Malkoc E, Nuhoglu Y, Abali Y.** 2006. Cr (VI) adsorption by waste acorn of *Quercus ithaburensis* in fixed beds: Prediction of breakthrough curves. *Chemical Engineering Journal* 119: 61–68.
- Malkoc E, Nuhoglu Y, Dundar M.** 2006. Adsorption of chromium (VI) on pomace-An olive oil industry waste: Batch and column studies *Journal of Hazardous Materials B138*: 142–151.
- Mattson JS, Mark JHB, Malbin MD, Weber WJ, Crittenden JC.** 1969. Surface chemistry of active carbon: specific adsorption of phenol. *Journal of Colloid Science* 31: 116-130.
- Mor S, Ravindra K, Bishnoi NR.** 2007. Adsorption of chromium from aqueous solution by activated alumina and activated charcoal. *Bioresource Technology* 98: 954-957.
- Morillo JA, Aguilera M, Ramos-Cormenzana A, Monteoliva-Sanchez M.** 2006. Production of a metal-binding exopolysaccharide by *Paenibacillus jamilae* using two-phase olive-mill waste as fermentation substrate. *Current Microbiology* 53: 189–193.

- Mourão PAM, Carrott PJM, Ribeiro Carrott MML.** 2006. Application of different equations to adsorption isotherms of phenolic compounds on activated carbons prepared from cork. *Carbon* 44: 2422-2429.
- Munoz R, Alvarez MT, Munoz A, Terrazas E, Guieysse B, Mattiasson B.** 2006. Sequential removal of heavy metals ions and organic pollutants using an algal-bacterial consortium. *Chemosphere* 63: 903-911.
- Padmesh TVN, Vijayaraghavan K, Sekaran G, Velan M.** 2005. Batch and column studies on biosorption of acid dyes on fresh water macro alga *Azolla filiculoides*. *Journal of Hazardous Materials B125*: 121-129.
- Park D, Yun Y-S, Park JM.** 2005. Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp. *Chemosphere* 60: 1356-1364.
- Parkar SG, Flint SH, Palmer JS, Brooks JD.** 2001. Factors influencing attachment of thermophilic bacilli to stainless steel. *Journal of Applied Microbiology* 90: 901-908.
- Pehlivan E, Arslan G.** 2007. Removal of metal ions using lignite in aqueous solution- Low cost biosorbents. *Fuel Processing Technology* **88**: 99- 106 (2007).
- Pistorius A.** 1995. Biochemical applications of FT-IR spectroscopy, *Spectroscopy Europe* 7: 8-15.
- Prado Acosta M, Valdman E, Leite SGF, Battaglini F, Ruzal SM.** 2005. Biosorption of copper by *Paenibacillus polymyxa* cells and their exopolysaccharide. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 21: 1157-1163.
- Quintelas C.** 2001. Recuperação e reutilização de metais pesados. Departamento de Engenharia Biológica, Tese de Mestrado, Universidade do Minho.
- Quintelas C, Tavares T.** 2001. Removal of chromium (VI) and cadmium (II) from aqueous solution by a bacterial biofilm supported on granular activated carbon. *Biotechnology Letters* 23: 1349-1353.
- Quintelas C, Tavares T.** 2002. Lead (II) and iron (II) removal from aqueous solution: Biosorption by a bacterial biofilm supported on granular activated carbon. *Journal of Resource and Environmental Biotechnology* 3: 196-202.
- Salehizadeh H, Shojaosadati SA.** 2003. Removal of metal ions from aqueous solution by polysaccharide produced from *Bacillus firmus*. *Water Research* 37: 4231-4235.

- Sathishkumar M, Binupriya AR, Kavitha D, Yun SE.** 2007. Kinetic and isothermal studies on liquid- phase adsorption of 2,4- dichlorophenol by palm pith carbon. *Bioresource Technology* 98: 866-873.
- Srivastava S, Ahmad AH, Thakur IS.** 2007. Removal of chromium and pentachlorophenol from tannery effluents. *Bioresource Technology* 98: 1128–1132.
- Streat M, Patrick JW, Camporro Perez MJ.** 1995. Sorption of phenol and p-chlorophenol from water using conventional and novel activated carbon. *Water Research* 29: 467-472.
- Talinli I, El-Mabrouk F.** 1994. Enhanced removal of phenol and m-cresol in PAC additional activated sludge system. *Environmental Technology* 15: 1121-1134.
- Tseng R-L, Wu F-C, Juang R-S.** 2003. Liquid-phase adsorption of dyes and phenols using pinewood-based activated carbons. *Carbon* 41: 487-495.
- Tunali S, Çabuk A, Akar T.** 2006. Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. *Chemical Engineering Journal* 115: 203-211.
- Vázquez G, González-Álvarez J, Garcia AI, Freire MS, Antorrena G.** 2006. Adsorption of phenol on formaldehyde-pretreated *Pinus pinaster* bark: Equilibrium and kinetics. *Bioresource Technology* 98: 1535- 1540.
- Vijayaraghavan K, Prabu D.** 2006. Potential of *Sargassum wightii* biomass for copper(II) removal from aqueous solutions: Application of different mathematical models to batch and continuous biosorption data. *Journal of Hazardous Materials* B137: 558–564.
- Wang W, Zhang X, Wang D.** 2002. Adsorption of *p*-chlorophenol by biofilm components. *Water Research* 36: 551–60.