



II-021 - ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS NO PROCESSO DE BIOSSORÇÃO EM EFLUENTES LÍQUIDOS UTILIZANDO PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS

Flávia Garrett Azevedo

Bióloga pela UFRPE. Mestre em Engenharia Química pela UFPE. Atualmente é doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFPE.

Ícaro Valença da Cunha Lima

Graduando do curso de Engenharia Química da UFPE.

Josemar Guerra de Andrade Câmara

Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Federal de Pernambuco. Mestre em Engenharia Química pela UFPE. Atualmente é doutorando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFPE.

Joelma Morais Ferreira

Engenheira Química e mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal da Paraíba e Doutora em Engenharia de processos pela Universidade Federal de Campina Grande. Atualmente é professora colaboradora do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco e Co-Orientadora do Programa de Pós-Graduação de Engenharia Química, da Universidade Federal de Pernambuco

Maurício Alves Motta Sobrinho⁽¹⁾

Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Católica de Pernambuco (1992), mestrado em Engenharia Química pela Universidade Federal de Campina Grande (1995) e doutorado em Engenharia de Processos pelo Institut National Polytechnique de Lorraine (2001). Atualmente é professor adjunto do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco e dos Programas de Pós-Graduação em Engenharia Química e em Engenharia Civil da UFPE. Pesquisador 2 do CNPq desde 2004.

Endereço⁽¹⁾: Laboratório de Processos e Tecnologia Ambiental (LPTA) - Departamento de Engenharia Química - CTG - Universidade Federal de Pernambuco - Cidade Universitária - 50740-521 - Recife - Pernambuco - Brasil - Tel.: (81) 2126-7268 - Fax: (81) 2126-7278 - e-mail: mottas@ufpe.br

RESUMO

Estudou-se o aproveitamento das leveduras da espécie *Saccharomyces carlsbergensis* e *Saccharomyces carlsbergensis*, em processos de sorção do íon metálico cobre presente em efluentes líquidos. Os biossorbentes foram submetidas a secagem, tamisação e armazenagem a 4° C. As soluções de Cobre, foram preparadas a partir da dissolução de soluções padrões e tamponadas a pH 4,5 , 6,0 e 7,5. A partir de um planejamento fatorial, os ensaios foram realizados em batelada, em mesa agitadora (60, 180 e 300rpm), com temperaturas de 50°, 60° e 70°C, com soluções a 4 ppm em intervalos de 30 min. Nos experimentos realizados utilizou-se a biomassa morta seca em estufa a 100^oC por 36 horas. Para verificação da morte celular da biomassa foram feitas análises microscópicas de coloração utilizando o azul de metileno. A concentração do metal foi determinada por um espectrofotômetro de absorção atômica em chama (AAC), modelo AA-6300 SHIMADZU. Todas as variáveis dependentes exerceram uma influência estatisticamente significativa sobre a variável resposta. Os resultados mostraram que as biomassas tiveram uma boa *capacidade de adsorção*. Obtendo uma remoção 95% do cobre. Para a *Saccharomyces carlsbergensis* a melhor região encontrada para a variável de resposta foi para menores faixas de pH e velocidade de agitação, enquanto que para a *Saccharomyces cerevisiae* os melhores resultados para a biossorção são no aumento da velocidade de agitação e o decréscimo do valor pH.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de efluentes, Biossorção, Cobre, *levedura*, *Saccharomyces*.



INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se dado uma atenção especial aos impactos causados pelos resíduos provenientes das indústrias, principalmente os que contêm metais pesados. As atividades industriais acabam lançando metais nas águas em quantidade muito maior do que seria natural, causando com isso a poluição aquática. Esses metais em excesso podem causar muitas doenças e sérios riscos à saúde. Os tratamentos convencionais contendo íons metálicos de metais potencialmente tóxicos envolvem processos físico-químicos, tais como osmose reversa, ultrafiltração, eletrodialise e adsorção (TAGLIAFERRO *et al.*, 2011).

Sabe-se que 75% da superfície terrestre é formada por oceanos, rios, e lagos. No entanto, somente uma pequena parte dessa água - da ordem de 113 trilhões de m³ - está à disposição da vida na Terra. Apesar de parecer um número muito grande, a Terra corre o risco de não mais dispor de água limpa, o que em última análise significa que a grande máquina viva pode parar (DIAS, 2000). O planeta está doente e está se tornando um elemento chave da questão ambiental. A sua ausência ou contaminação leva à redução dos espaços de vida e ocasiona, além de imensos custos humanos, uma perda de produtividade social. Com ela acaba adoecendo todos os seres vivos, porque todos nós dependemos dela pra sobreviver.

A contaminação da água com substâncias que interferem na saúde das pessoas e qualidade de vida é causada pelas atividades humanas. Com o aumento populacional e o crescimento industrial, o risco de contaminação tornou-se maior.

Os efluentes originados dos processos industriais são um dos principais agentes responsáveis pelo aumento de doenças provenientes da contaminação da água, pois geram diferentes tipos de resíduos na forma líquida que, na maioria das vezes, são descartados de maneiras inadequadas. Tais efluentes contêm misturas tóxicas, como pesticidas, metais pesados, produtos industriais e uma variedade de outras substâncias onde as conseqüências dessas emissões podem levar a sérios problemas que muitas vezes são irreversíveis (DIAS, 2000).

Diante da panorâmica atual o setor industrial confronta com um grande desafio: usar a escassa água em seus processos produtivos, levando em consideração a crescente contaminação dos mananciais urbanos e a legislação ambiental, que regula o uso prioritário em momento de escassez.

Os efeitos tóxicos dos metais sempre foram considerados como eventos de curto prazo, agudos e evidentes, como anúria e diarreia sanguinolenta, decorrentes da ingestão de mercúrio. Atualmente, ocorrências a médio e longo prazo são observadas, e as relações causa-efeito são pouco evidentes e quase sempre subclínicas (CAMARGO *et al.*; 2008)

Geralmente esses efeitos são difíceis de serem distinguidos e perdem em especificidade, pois podem ser provocados por outras substâncias tóxicas ou por interações entre esses agentes químicos. A manifestação dos efeitos tóxicos está associada à dose e pode distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando os processos bioquímicos, organelas e membranas celulares.

Os sistemas de tratamentos de efluentes objetivam primordialmente atender à legislação ambiental e em alguns casos ao reúso de águas. Para a definição do processo de tratamento dos efluentes industriais são testadas e utilizadas diversas operações unitárias. Os processos podem ser classificados em físicos, químicos e biológicos em função da natureza dos poluentes a serem removidos e ou das operações unitárias utilizadas para o tratamento.

Os processos normalmente aplicados para a remoção de metais pesados em águas residuárias, como precipitação química, troca iônica, recuperação eletrolítica, extração por solvente, filtração em membranas, coagulação/flotação, são processos que demandam investimentos técnicos e econômicos e que geralmente inviabilizam a sua aplicação por indústrias de pequeno e médio porte, já em aplicações de grande porte muitas vezes o tratamento não é suficiente para remoção dos contaminantes dentro dos limites de descarte estabelecidos pelas regulamentações locais (em função do país).

Muitas pesquisas têm sido dirigidas na busca de processos e materiais alternativos de baixo custo, que removam os elementos metálicos do meio aquoso. O interesse pelo estudo da adsorção para o tratamento de efluentes

contendo metais pesados vem aumentando cada vez mais (Lo *et al.*, 1999). A adsorção é um fenômeno de transferência de massa, em que componentes de uma fase gasosa ou líquida são seletivamente transferidos para a superfície de um adsorvente sólido (Abreu, 1999).

A biossorção é um processo passivo, rápido, reversível e independente de energia metabólica, realizado tanto por biomassa viva quanto por biomassa morta, no qual atuam forças físico-químicas que promovem a atração e a ligação do íon metálico, molécula ou material particulado à biomassa. Dentre os mecanismos envolvidos em biossorção, destacam-se troca iônica, adsorção, complexação, precipitação e cristalização (Souza *et al.*; 2008).

Dessa forma, a biossorção de metais pesados utilizando biossorventes de baixo custo, como resíduos industriais, é uma via alternativa quando comparada com os métodos tradicionais para o tratamento de efluentes. Este vem sendo aplicada com sucesso na remoção de metais pesados tais como chumbo, cádmio e cobre. Segundo Souza *et al.*, (2008), a biomassa fúngica tem recebido considerável atenção devido à sua grande capacidade de fixação de metais, podendo ser usada em processos de tratamento de efluentes que podem superar as resinas de troca iônica.

A levedura do gênero *Saccharomyces* além de ser um resíduo facilmente obtido em grandes quantidades como subproduto de processos industriais e a baixo custo, suprimindo uma fonte viável para aplicação em larga escala nos processos de remediação, a exemplo das destilarias, onde ela é obtida a partir do processo de fermentação do álcool. Tem como vantagem, o princípio ativo que o microrganismo pode oferecer para os processos industriais como: capacidade de desenvolvimento em substrato barato e facilmente disponível, facilidade de obtenção e de multiplicação, utilização de nutrientes nas suas formas mais simples, possibilidade de cultivo independente do ambiente, pequena exigência de água e de área e formação de produtos de valor nutritivo.

Face ao exposto, o presente trabalho propôs avaliar os efeitos das variáveis temperatura, pH e velocidade de agitação no processo de biossorção do íon metálico Cu^{2+} utilizando leveduras, através do desenvolvimento de um planejamento estatístico, possibilitando uma melhoria na qualidade dos resultados e uma redução de tempo e custos do processo de biossorção.

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – Biossorvente

Foram utilizadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* proveniente do fermento comercial da Fleischmann Royal® com umidade de 55% (base úmida) e 45% (base seca) e *Saccharomyces carlsbergensis* cedidas pela Frevo Brasil Indústrias de Bebidas, localizada no estado de Pernambuco, com umidade de 77% (base úmida) e 23% (base seca) mantidas sob refrigeração a 4°C. As leveduras foram submetidas a uma série de tratamentos (secagem, tamisação e armazenagem) de modo a adquirir certas condições consideradas importantes para a biossorção, como ausência de umidade nos poros do adsorvedor e a redução do tamanho das partículas. Nos experimentos realizados utilizou-se a biomassa morta seca em estufa a 100°C por 36 horas. Para verificação da morte celular da biomassa foram feitas análises microscópicas de coloração utilizando o azul de metileno.

2.2 – Efluente Sintético

O efluente sintético foi preparado a partir da dissolução de solução padrão de Tritisol[®] (Merck) de cobre a 1000 mg, sob a forma de cloretos. As concentrações do íon metálico presente nas amostras foram analisadas e quantificadas pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica realizada no Laboratório de Processos e Tecnologias Ambientais (LPTA) do Departamento de Engenharia Química da UFPE, que forneceu com precisão os valores das concentrações finais de cada um dos compostos.

2.3 – Planejamento Experimental e Otimização de Processos

Visando-se estudar os possíveis efeitos de fatores experimentais facilmente controláveis no processo de biossorção do Cu^{2+} , através do emprego de leveduras como biossorventes, utilizou-se a técnica de

planejamento experimental. O uso desta técnica estatística na identificação das variáveis mais importantes favoreceu uma redução na quantidade de experimentos. Segundo Trindade (2009) uma vez associado à análise de superfície de resposta, o planejamento experimental permite fornecer informações confiáveis do processo e minimiza o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro. Dentre os planejamentos experimentais existentes destacam-se os planejamentos fatoriais, os quais são amplamente utilizados em experimentos em que é necessário estudar os efeitos de interação dos fatores sobre a resposta. Como o próprio nome indica, essa técnica exige um planejamento prévio dos experimentos, que inclui a escolha das variáveis (fatores) e dos valores que estas assumirão nas corridas experimentais (níveis). Os níveis estabelecidos para cada fator indicam os valores máximos (+) e mínimos (-) que cada um pode ter, sem comprometimento do processo.

Para se obter uma boa estimativa dos erros, é normalmente incluído no centro do planejamento o valor médio dos níveis de todas as variáveis. São os conhecidos experimentos no ponto central (nível zero). Deste modo, é possível avaliar a significância dos efeitos ou coeficientes, tanto em planejamentos de triagem como em metodologias de superfície de resposta. Além desta vantagem, recomenda-se este tipo de experimento pelas seguintes razões: o risco de perder a relação não linear entre os intervalos é minimizado e é possível estimar um modelo e verificar se há falta de ajuste. Diante do exposto resolveu-se adotar para o presente estudo um planejamento fatorial completo 2^3 acrescido de três pontos centrais. As variáveis de entrada selecionadas para este estudo foram: Temperatura (T), pH e Velocidade de rotação (V) A seleção dos fatores e dos seus níveis se deu baseada na bibliografia existente (Barros Neto et al., 2003; Volesk & Holan, 1995), conforme Tabela 1 apresentada.

Tabela 1 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial completo

Variáveis	Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (+1)
pH	4,5	6,0	7,5
Temperatura	50	60	70
Velocidade de agitação (rpm)	60	180	300

Para ajuste do pH utilizou-se uma solução tampão de ácido cítrico e fosfato dissódico. A variável resposta foi a quantidade adsorvida (q) de íons metálicos pelo adsorvente. Para os ensaios da adsorção do íon metálico utilizou-se 0,1g da levedura.

A variável resposta do planejamento fatorial em estudo foi a quantidade adsorvida de íon metálico por unidade de massa da levedura (Q), calculada conforme a Equação 1:

$$q = \frac{(C_i - C_f)}{M} \times V \quad (1)$$

Onde: C_i é a concentração inicial do adsorbato (mg/L); C_f é a concentração final do adsorbato, (mg/L); M é a massa do adsorvente (g) e V é o volume da solução (L).

3. RESULTADOS E DISCURSÕES

A significância dos efeitos das variáveis dependentes e das possíveis interações entre elas foi checada com base no gráfico de Pareto ao um nível de confiança de 95%, exposto nas Figuras 1a e 1b para levedura comercial e industrial respectivamente. O gráfico de Pareto fornece uma representação gráfica para os fatores principais (variáveis de entrada) e permite observar a magnitude e a importância de um determinado efeito. No gráfico de Pareto, as barras dos fatores que graficamente ultrapassarem a linha de significância ($p = 0,05$) exercem uma influência estatisticamente significativa sobre o resultado.

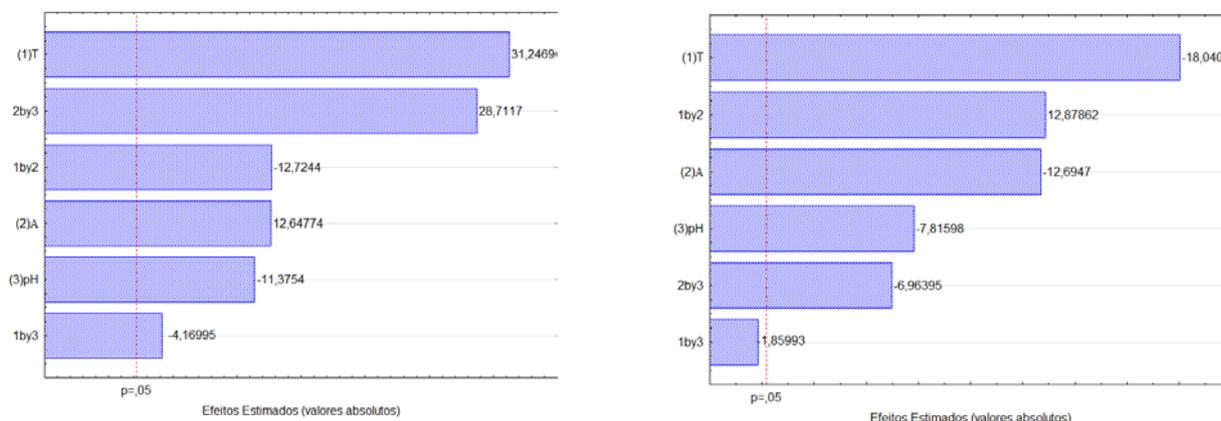


Figura 1 - Gráficos de Pareto das variáveis que influenciam no processo de adsorção do Cu^{2+} pela levedura comercial (a) e industrial (b)

Foi possível verificar através dos gráficos de Pareto (Figura 1), que tanto para o processo com a levedura comercial como para a industrial, todas as variáveis dependentes exerceram uma influência estatisticamente significativa sobre a variável resposta ao nível de confiança de 95%. A temperatura (T) foi a variável mais importante, dentre os níveis em estudo, do processo global da biossorção do íon de Cu^{2+} para os dois casos. Na Figura 2 estão apresentados os gráficos de médias marginais para a biossorção do Cu^{2+} , onde é possível verificar a tendência de deslocamento do ponto ótimo para uma região com maior quantidade adsorvida de íon metálico.

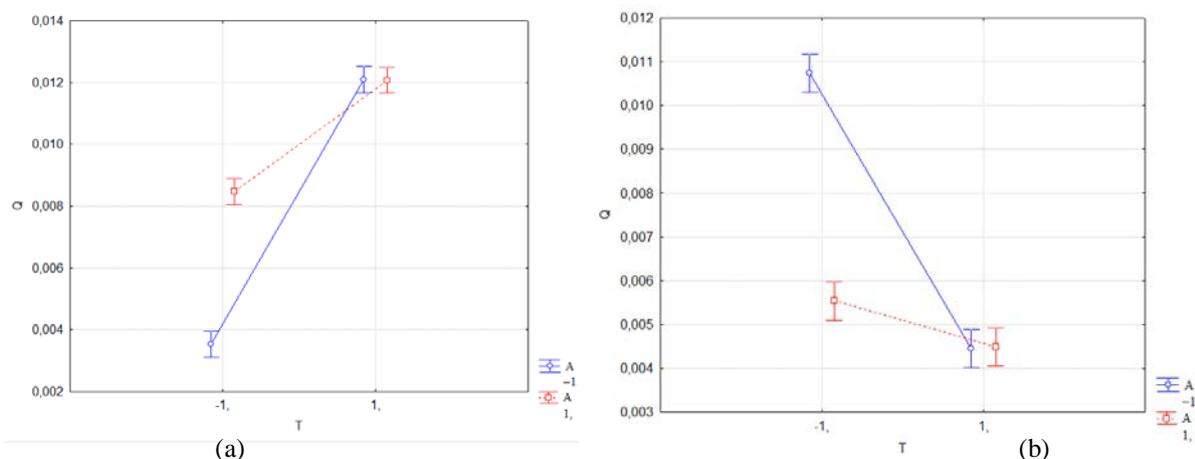


Figura 2 - Gráfico de médias marginais para a biossorção de Cu^{2+} tendo como resposta a quantidade adsorvida (Q) utilizando como bioadsorvente a *Saccharomyces cerevisiae* (a) e a *Saccharomyces carlsbergensis* (b)

No gráfico de médias marginais, quando as linhas são paralelas, indica que não há interação entre os fatores. Na Figura 2 fica evidente, neste caso, a influência da variável temperatura sobre o processo de biossorção do Cu^{2+} , observa-se que melhores valores de Q foram obtidos para temperatura maiores (nível +1) quando utilizou-se a *Saccharomyces cerevisiae*, por outro lado quando trabalhou-se com a levedura industrial foi verificado que a temperatura influenciou negativamente, ou seja em menores faixas de temperaturas observou-se maiores remoções do Cu^{2+} para uma menor velocidade de agitação.

Diferente de Ferreira et al. (2005), que avaliaram a adsorção do Cádmiio, a quantidade máxima adsorvida por unidade de massa de adsorvente (q) para o cádmio foi de aproximadamente 160 mg/g, operando com as seguintes condições: temperatura de 30°C, quantidade de biomassa igual a 0,01g (0,0028g em base seca),

concentração inicial de Cd^{2+} de 4 ppm. Foi ainda observado que o pH não influenciou o processo, assim como o estado do microorganismo.

Os dados do planejamento fatorial também foram submetidos a uma análise de variância, análise de regressão e teste F. Verificou-se, que o modelo para a quantidade adsorvida pela levedura comercial apresentou um coeficiente de determinação ($R^2 = 0,8$) satisfatório e uma regressão estatisticamente significativa ($F_{calculado} > F_{tabelado}$), ao nível de 95% de confiança. Para a levedura industrial o teste F confirmou para regressão, o baixo valor de R^2 (0,5), pois o $F_{calculado}$ foi inferior ao $F_{tabelado}$, no entanto é necessário um ajuste neste modelo. A Figura 3 representa as superfícies de resposta tridimensionais geradas a partir dos dados estatísticos. Observa-se que as combinações dos parâmetros nos níveis máximos ou mínimos influenciam fortemente o resultado da função resposta, ou seja o deslocamento nas direções de máxima ascendente ou mínima descendente provocou um incremento adicional na resposta. Na Figura 3a verifica-se que condições otimizadas da variável Q, para a levedura comercial, foram encontradas com o aumento da velocidade de agitação e o decréscimo do valor pH. Para a bioadsorção com a levedura industrial (Figura 3b), a melhor região encontrada para a variável resposta foi para menores faixas de pH e velocidade de agitação.

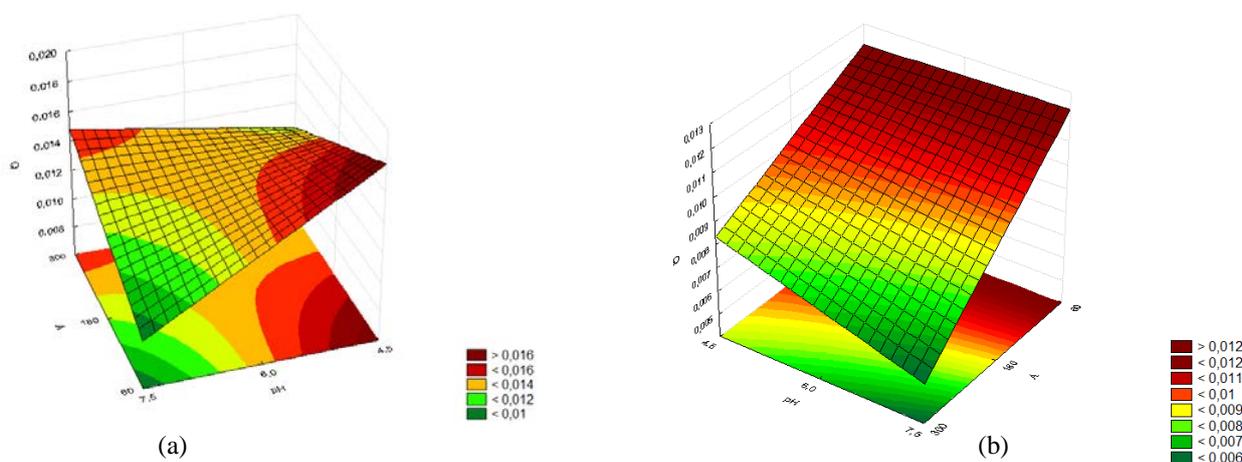


Figura 3 – Gráfico da superfície de resposta da quantidade adsorvida em função do pH e velocidade de agitação para bioadsorção do Cu^{2+} utilizando como bioadsorvente a *Saccharomyces cerevisiae* (a) e a *Saccharomyces carlsbergensis* (b)

CONCLUSÕES

Com o auxílio da técnica de planejamento experimental foi possível obter informações quanto a importância e influência dos efeitos das variáveis de entrada estudadas nesse trabalho sobre a resposta (Q). A análise estatística dos resultados mostrou que a temperatura foi a variável que apresentou maior influência nos dois casos estudados e que a combinação das variáveis pH e velocidade de agitação em seus níveis inferiores levaram à um crescimento da quantidade bioadsorvida da levedura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, C.A.M., MEDEIROS, N., Adsorção. Departamento de Engenharia Química da UFPE, 1999.
2. BARROS JÚNIOR, L.M.; MACEDO, G.R.; DUARTE, M.M.L.; SILVA, E.P.; LOBATO, A.K.C.L. Biosorption of cadmium using the fungus *Aspergillus niger*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Vol.20 No.3. 2003.
3. CASTRO, R.S.D. FERREIRA, G.; CAETANO, L., MARTINES, M.A.U.; PADILHA, P.M.; CASTRO, G.R. Uso de biomassa (casca de banana triturada) na remoção de cobre e chumbo em meio aquoso. In: Anais do 50º Congresso Brasileiro de Química. 10à 14 de outubro de 2010. Cuiabá. 2010.
4. DIAS, E. R. A.. Preservação da água - Questão de sobrevivência. *Jornal da Agricultura Orgânica*. Julho 2000.
5. DI BERNARDO, L, Comunicação pessoal sobre Técnicas de Tratabilidade, 1993/1995.



6. FERREIRA, J. M; MELO, J. C. S ; CONRADO, L .S; VILAR, E. O; CAVALCANTI, E .B; ALSINA; O. L.S; SILVA, F. L .H Estudo da remoção do cádmio em efluentes de indústrias petroquímicas utilizando a *saccharomyces cerevisiae*. In: Anais do 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. 2 a 5 de outubro de 2005, Salvador. 2005.
7. SOUZA, J. I.; CRUSIUS, I. H.; ZOTTARELLI, C. L. A. P.; SCHOENLEIN, N. C., Biossorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas de *Saprolegnia subterranea* (Disssmann) R.L. Seym. e *Pythium torulosum* Coker & P. Patt. (Oomycetes). In: Acta botânica Brasileira. 22(1): 217-223. 2008.
8. TAGLIAFERRO, G. V., PEREIRA, P. H. F., RODRIGUES, L.A, SILVA, M. L. C. P., Adsorção de chumbo, cádmio e prata em óxido de nióbio (V) hidratado preparado pelo método da precipitação em solução homogênea. **Química Nova**. 2011, vol.34, n.1, pp. 101-105.
9. TRINDADE, J. M. Otimização de um procedimento eletroanalítico usando planejamento experimental para determinação de metais em gasolina comum. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba. 2009.
10. VOLESKY, B. AND HOLAN, Z.R., Biosorption of Heavy Metals. **Biotechnology Progress**, 11, 250, 1995