



**Priscila dos Santos Gonçalves**

**Biossorção de tolueno na presença da estirpe  
*Rhodococcus opacus***

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia Química e Materiais da PUC – Rio.

Orientador: Prof. Maurício Leonardo Torem

Rio de Janeiro  
Abril de 2015



**Priscila dos Santos Gonçalves**

**Biossorção de tolueno na presença da estirpe  
*Rhodococcus opacus***

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia Química e Materiais da PUC – Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

**Prof. Maurício Leonardo Torem**

Orientador

Departamento de Engenharia Química e Materiais – PUC - Rio

**Antonio Gutiérrez Merma**

Departamento de Engenharia Química e Materiais – PUC - Rio

**Prof. Roberto José de Carvalho**

Departamento de Engenharia Química e Materiais – PUC - Rio

**Profa. Mônica Regina da Costa Marques**

Departamento de Química Orgânica – UERJ

**Prof. José Eugênio Leal**

Coordenador Setorial de Pós-Graduação do Centro Técnico Científico da  
PUC - Rio

Rio de Janeiro, 13 de abril de 2015

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização do autor, do orientador e da universidade.

### **Priscila dos Santos Gonçalves**

Graduou-se em Ciências Biológicas, bacharelado e licenciatura, pela Universidade Severino Sombra (Vassouras-RJ) em 2012.

#### Ficha Cartográfica

Gonçalves, Priscila dos Santos

Biossorção de tolueno na presença da estirpe *Rhodococcus opacus* / Priscila dos Santos Gonçalves; orientador: Maurício Leonardo Torem. – 2015.

77 f.: il. (color.) ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Química e de Materiais, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Engenharia Química – Teses. 2. Engenharia de materiais – Teses. 2. *Rhodococcus opacus*. 3. Tolueno. 4. BTEX. 5. Biossorção. I. Torem, Maurício Leonardo. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia Química e de Materiais. III. Título.

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos alcançadas e dificuldades superadas, a minha família, pelo amor incondicional e todo o apoio, a Gil Henriques, pelo companheirismo, paciência e muito amor.

Ao meu orientador, Maurício Leonardo Torem.

A professora Mônica Marques, e aos demais membros do Laboratório de Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, principalmente, Maria Elena e Rayça.

Aos amigos que fiz na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, por toda ajuda e motivação nos momentos de tristeza e desânimo, por fazerem desta caminhada mais leve e feliz.

Ao conselho de Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa.

## Resumo

Gonçalves, Priscila dos Santos; Torem, Mauricio Leonardo. **Biossorção de tolueno na presença da estirpe *Rhodococcus opacus***. Rio de Janeiro, 2015. 77p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Neste estudo foi avaliada a capacidade de adsorção do poluente orgânico tolueno em contato com a cepa *Rhodococcus opacus*. O tolueno foi selecionado por fazer parte do grupo de compostos BTEX (Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno), que possui elevada toxicidade, causando impacto ambiental em corpos hídricos, solo e ar, além de possuir características mutagênica e carcinogênica em humanos. A determinação e quantificação do tolueno na solução aquosa foram realizadas em um cromatógrafo a gás, acoplado ao espectrômetro de massas com amostrador automático *headspace*. A cepa *Rhodococcus opacus* foi caracterizada por análise de espectrometria no infravermelho e medição de potencial zeta, sendo a última realizada antes e após o contato com o tolueno. Os modelos de isothermas lineares de Langmuir, Freundlich e Temkin foram aplicados aos dados experimentais para descrever o processo de adsorção. Tendo o modelo de Langmuir se adaptado melhor ao processo em análise. As variáveis estudadas para otimizar as condições máximas de adsorção foram: tempo de contato, variação do pH, variação da biomassa. Este estudo mostrou que a cepa bacteriana *R. opacus* apresentou uma boa capacidade de biossorção, principalmente para concentrações baixas, onde removeu 95,99 % e 85,69% das respectivas concentrações de 0,6 e 0,8 mg/L de tolueno, atendendo a resolução do CONAMA 357/2005 para águas salobras de Classe I.

## Palavras chaves

*Rhodococcus opacus*; Tolueno; BTEX; Biossorção.

## Abstract

Gonçalves, Priscila dos Santos; Torem, Mauricio Leonardo (Advisor). **Biosorption of toluene in the presence of *Rhodococcus opacus* strain.** Rio de Janeiro, 2015. 77p. MSc. Dissertation – Departamento de Engenharia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

In this study was evaluated the adsorption capacity of the organic pollutant toluene by the *Rhodococcus opacus* strain. Toluene was chosen by being part of the group of BTEX compounds (benzene, toluene, ethylbenzene and xylene), which has high toxicity, causing environmental impact on water bodies, soil and air, and also are mutagenic and carcinogenic to humans. The determination and quantification of toluene in aqueous solution were performed on a gas chromatograph, coupled with a mass spectrometer with headspace autosampler. The strain *Rhodococcus opacus* was characterized by infrared spectrometry analysis and zeta potential measurement, the last done before and after the sorption. The isotherm linear models of Langmuir, Freundlich and Temkin were applied to the experimental data to describe the adsorption process. Having the Langmuir model better adapted to process analysed. The variables studied to optimize the maximum adsorption conditions were: contact time, pH variation, biomass variation. This study showed that the bacterial strain *R. opacus* has good biosorption capabilities, particularly at low concentrations, where it removed 95.99% and 85.69% of the respective concentrations of 0.6 and 0.8 mg/L of toluene, attending the CONAMA resolution 357/2005 for salt waters of Class I.

## Keywords

*Rhodococcus opacus*; Toluene; BTEX; Biosorption.

# Sumário

1 Introdução	11
2 Objetivos	13
2.1. Objetivos gerais	13
2.2. Objetivos específicos	13
3 Revisão Bibliográfica	14
3.1. Poluentes Orgânicos	14
3.1.1. Hidrocarbonetos Aromáticos	14
3.1.2. BTEX (Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno)	15
3.1.3. Tolueno	17
3.2. Legislação	17
3.3. Métodos Convencionais para Tratamento do Efluente Contendo Poluentes Orgânicos	18
3.3.1. Processos Não Biológicos	18
3.3.2. Processos Biológicos	19
3.4. Adsorção	20
3.4.1. Isotermas de Adsorção	23
3.4.1.1. Modelo da Isoterma de Langmuir	26
3.4.1.2. Modelo da Isoterma de Freundlich	27
3.4.1.3. Modelo da Isoterma de Temkin	28
3.4.2. Biossorção	29
3.4.2.1. Mecanismos da Biossorção	30
3.4.2.2. Fatores que Afetam a Biossorção	31
3.5. Biossorvente	32
3.5.1. <i>Rhodococcus opacus</i>	32
3.6. Cromatografia Gasosa	33
3.6.1. Headspace	35

4 Materiais e Métodos	37
4.1. Procedência e Preparo da Bactéria	37
4.1.1. Caracterização da Biomassa	39
4.1.1.1. Medições de Potencial Zeta	39
4.1.1.2. Espectrometria de Infravermelho	41
4.2. Experimentos de Biossorção	41
4.2.1. Preparo das Soluções Contendo Tolueno	42
4.2.2. Curva de Calibração	43
4.2.3. Efeito do Tempo de Contato	43
4.2.4. Efeito da Concentração da Biomassa	44
4.2.5. Efeito do pH	44
4.3. Condições Cromatográficas	45
4.4 Isotermas de Adsorção	46
5 Resultados e discussão	47
5.1. Caracterização da Bactéria	47
5.1.1. Estudos do Potencial Zeta	47
5.1.2. Espectrometria de Infravermelho	49
5.2. Estudos de Biossorção	50
5.2.1. Curva da Calibração	50
5.2.2. Efeito do Tempo de Contato	51
5.2.3. Efeito da Concentração da Biomassa	52
5.2.4. Efeito do pH	53
5.3. Isotermas de Adsorção	55
5.3.1. Langmuir	57
5.3.2. Freundlich	58
5.3.3. Temkin	60
6 Conclusões	62
7 Referências Bibliográficas	64



## Lista de Figuras

Figura 1 - Estruturas químicas das moléculas do composto BTEX	16
Figura 2 - Classificação das isothermas segundo a curvatura	24
Figura 3 - Tipos de isothermas baseadas nas inclinações das curvas	25
Figura 4 - Fases do frasco de headspace	36
Figura 5 - Cultivo da bactéria <i>R. opacus</i> em meio sólido	37
Figura 6 - Cultivo da bactéria <i>R. opacus</i> em meio líquido	38
Figura 7 - <i>R. opacus</i> após a centrifugação	39
Figura 8 - Potencial Zeta-Meter 4.0	40
Figura 9 - Célula de acrílico do Zeta-Meter 4.0	41
Figura 10 - Amostras no agitador horizontal	42
Figura 11 - Cromatógrafo a gás CG	46
Figura 12 - Diferentes concentrações dos eletrólitos indiferentes	47
Figura 13 - Curvas do Potencial Zeta antes e após a interação com tolueno	48
Figura 14 - Principais bandas presentes na biomassa	49
Figura 15 - Curva de calibração para faixa 0,10 a 5 mg\L	51
Figura 16 - Curva de remoção de tolueno x tempo em minutos	51
Figura 17 - Efeito da concentração da biomassa	52
Figura 18 - Efeito do pH na remoção de tolueno	54
Figura 19 - Isotherma de adsorção do Tolueno pela <i>R. opacus</i>	56
Figura 20 - Linearização da isotherma de Langmuir	58
Figura 21 - Linearização da isotherma de Freundlich	59
Figura 22 - Linearização da isotherma de Temkin	60

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características da adsorção física e química	23
Tabela 2 - Compostos utilizados no meio YMA	38
Tabela 3 - Condições empregadas para a determinação do efeito do tempo de contato no processo de bioadsorção	44
Tabela 4 - Condições empregadas para determinação da concentração da biomassa no processo de bioadsorção	44
Tabela 5 - Condições empregadas para determinação do efeito do pH no processo de bioadsorção	45
Tabela 6 - Possíveis grupos funcionais encontrados na <i>R. opacus</i>	50
Tabela 7 - Adsorção do Tolueno em contato <i>R. opacus</i>	55
Tabela 8 - Constante de adsorção do tolueno em contato Com a <i>R. opacus</i>	57
Tabela 9 - Valores do parâmetro de equilíbrio	57
Tabela 10 - Valores de RL na bioadsorção de tolueno em contato com a <i>R. opacus</i>	58

## Introdução

Os compostos BTEX (Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno) pertencem à classe de hidrocarbonetos aromáticos e estão presentes em diversos processos químicos, como na fabricação de detergentes, tintas, borracha, pesticidas, refino de petróleo, entre outros. A principal fonte de contaminação ao meio ambiente relacionado a estes compostos ocorre através das atividades de refino de petróleo e seus derivados (SILVA, 2004).

Esses compostos são extremamente tóxicos mesmo em baixas quantidades, tem propriedades mutagênicas e cancerígenas nos seres humanos, afetam o metabolismo da fauna e flora causando danos ao ecossistema, muitas vezes ficam absorvidos nesses organismos podendo chegar ao homem através da cadeia alimentar (AIVALIOTI *et al.*, 2011; MAZZEO *et al.*, 2010; GESAMP, 1993).

Por estarem presentes em variados setores e processos industriais há uma grande preocupação em relação aos tratamentos relacionados a efluentes que possuem estes compostos. Geralmente os processos físico-químicos convencionais utilizados para remoção de BTEX do meio ambiente não resolvem totalmente o problema, assim sendo, tratamentos adicionais fazem-se necessários, que além de gerar elevados custos operacionais, produzem resíduos de difícil tratamento. Os processos biológicos vêm sendo considerados tecnologia eficiente na remoção de BTEX de águas contaminadas e efluentes, devido a sua simplicidade operacional e baixo custo comparado a outros métodos (BERTIN *et al.*, 2007; MASSALHA *et al.*, 2007).

A biossorção está entre esses processos biológicos, que durante muito tempo foi relacionada e estudada somente para remoção de metais, demonstrando eficiência (ABBUD, 2011; PINO, 2005, 2008; ABU AL-RUB *et al.*, 2006; BISHNOI *et al.*, 2007). Possui vantagens como baixo custo operacional, o não fornecimento de nutrientes no processo, seletividade e, em casos de metais, a possibilidade de recuperação do metal e/ou reutilização do biossorvente (KRATOCHVIL e VOLESKY, 1997).

O fenômeno de bio sorção é relatado em vários grupos, gêneros e espécies de microrganismos ou vegetais, entre outros, como resíduos agrícolas, farmacêuticos e de alimentos, tendo assim uma elevada gama de bio sorventes disponíveis para realização do processo (BUENO, 2003; GOMES *et al.*, 1998; WASE e FORSTER, 1997).

Dos muitos bio sorventes utilizados no tratamento de efluentes, a estirpe microbiana *R. opacus* vem demonstrando bons resultados, principalmente no que se trata da remoção de metais (ABBUD, 2011; BUENO, 2003), sendo pouco relatado a utilização desta para a bio sorção de efluentes orgânicos. Com o intuito duplo de expandir a pesquisa para o tratamento de efluentes orgânicos e ampliar o uso da *R. opacus* fica justificada a presente pesquisa, buscando um maior conhecimento quanto ao potencial da referida cepa como bio sorvente.

## **2**

### **Objetivos**

#### **2.1.**

##### **Objetivos gerais**

Estudar o potencial da cepa bacteriana *Rhodococcus opacus* como bioissorvente para remoção de tolueno.

#### **2.2.**

##### **Objetivos específicos**

Determinar os valores para melhor eficiência da bioissorção como concentração inicial de biomassa, concentração inicial do Tolueno, tempo de contato e pH.

Caracterizar através de medições de Potencial Zeta a *R. opacus* antes e após a sorção.

### 3

## Revisão Bibliográfica

### 3.1.

#### Poluentes Orgânicos

Existem diversos poluentes aquáticos, estes são classificados de acordo com sua natureza e por seus impactos quando lançados no meio aquático. Podem ser poluentes orgânicos biodegradáveis, poluentes orgânicos recalcitrantes ou refratários, metais, nutrientes, organismos patogênicos, sólidos em suspensão, calor. Os poluentes orgânicos biodegradáveis são aqueles degradados por microrganismos decompositores presentes no meio aquático, como por exemplo, proteínas, carboidratos e gorduras (BRAGA *et al.*, 2005).

Já os poluentes orgânicos recalcitrantes ou refratários são aqueles compostos orgânicos de difícil degradação, pois possuem uma taxa de biodegradação muito lenta ou simplesmente não se degradam. Alguns exemplos de compostos orgânicos dessa natureza são: defensivos agrícolas, detergentes sintéticos, petróleo, Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), Hidrocarbonetos aromáticos-BTEX (Benzeno, Etilbenzeno, Tolueno e Xileno), Fenóis, entre outros (BRAGA *et al.*, 2005; CENPES, 2005).

#### 3.1.1.

##### Hidrocarbonetos Aromáticos

Os hidrocarbonetos são compostos orgânicos que apresentam ampla distribuição nos ambientes aquáticos, pois são originados de processos naturais e antrópicos (GESAMP, 1990).

São compostos orgânicos que contêm apenas os elementos carbono e hidrogênio, podendo ser classificados em alifáticos e aromáticos, na classificação estrutural dos alifáticos existem quatro classes denominadas: alcanos, alcenos, alcinos e cicloalcanos. Os aromáticos são divididos em monoaromáticos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (BAIRD, 2002; MORRISON e BOYD, 1993). Nos hidrocarbonetos aromáticos os átomos de carbono estão conectados

em uma estrutura de anel plano, unidos por ligações tanto  $\sigma$  quanto  $\pi$  entre os átomos de carbono. O membro mais simples dessa série é o benzeno ( $C_6H_6$ ), possui uma estrutura plana e altamente simétrica, com ângulos de ligação de  $120^\circ$ , mostra os aspectos estruturais característicos dos compostos aromáticos (BROWN *et al.*, 2005; RICHARDS *et al.*, 1971).

Quando hidrocarbonetos aromáticos são absorvidos pela flora e fauna, ligam-se às moléculas proteicas e ao tecido gorduroso, sendo transferidos através da cadeia alimentar sem alterar sua estrutura. Muitos seres expõem-se à contaminação por hidrocarbonetos derivados do petróleo por ingestão de cadáveres, ou de outros animais ou plantas que tenham acumulado hidrocarbonetos no seu organismo, em quantidades insuficientes para causar lesão. Isto traz sérios danos para a pesca e a saúde pública (TIBURTIUS *et al.*, 2004).

Podem sofrer alteração em sua estrutura, formando outros compostos através de reações químicas, sempre na presença de um catalisador, como: Cloreto de alumínio, ácido sulfúrico, entre outros (ARTILHEIRO, 2012).

### 3.1.2.

#### **BTEX (Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno)**

Entre os hidrocarbonetos aromáticos, encontra-se uma classe particular de compostos denominados BTEX: Benzeno, tolueno, Etilbenzeno e Xileno (figura 1) (CHAKRABORTY e COATES, 2004). Estes componentes são encontrados em derivados do petróleo e largamente utilizados em indústrias químicas, possuindo aplicações nas mais diversas áreas: como têxtil, papel e celulose, pesticidas, tintas, solventes, entre outras (PHELS e YOUNG, 2001; CLARKE *et al.*, 1980). Os compostos do BTEX são os hidrocarbonetos mais abundantes da gasolina, podendo representar uma parcela de 18% a 25% em massa (ANP, 2004).

Possuem como principais características a presença do anel benzênico em sua estrutura molecular, o caráter volátil, bem como a elevada solubilidade em água quando comparado a outros hidrocarbonetos presentes na gasolina, como os alifáticos alcanos, alcenos, alcinos (DOU *et al.*, 2008; FARHADIAN *et al.*, 2009).

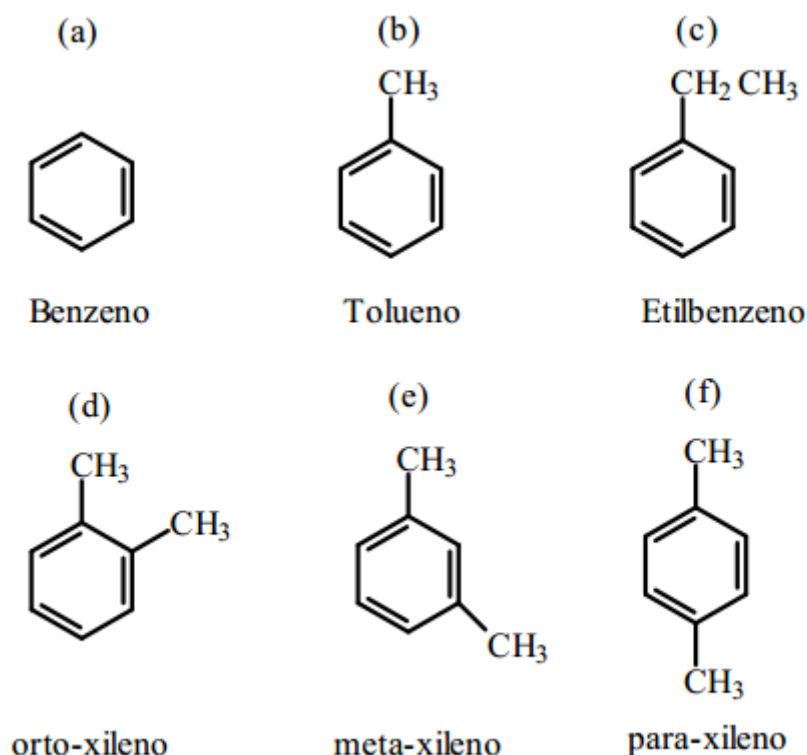


Figura 1: Estruturas químicas das moléculas do composto BTEX: (a) Benzeno, (b) Tolueno, (c) Etilbenzeno, (d) *orto*-xileno, (e) *meta*-xileno, (f) *para*-xileno.

O BTEX apresenta um potencial de poluição elevado e representa um sério risco ao meio ambiente e ao ser humano. De acordo com a lista de poluentes prioritários da Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (USEPA[a] - United States Environmental Protection Agency) o BTEX se destaca devido ao seu elevado potencial carcinogênico e mutagênico, além de possuir relativamente alta solubilidade em água, o que facilita a migração e contaminação rápida de águas subterrâneas e solos, devido à sua elevada volatilidade, os BTEX, geralmente, se encontram em baixas concentrações (nível de ppb) em águas superficiais (PEDROZO *et al.*, 2002; AIVALIOTI *et al.*, 2011; MAZZEO *et al.*, 2010; PAIXÃO *et al.*, 2007; JO *et al.*, 2008; SANTAELLA *et al.*, 2009). São frequentemente encontrados no meio ambiente através de processos bioquímicos naturais, deposição atmosférica, como resultado de vazamentos de tanques subterrâneos de armazenamento de gasolina ou dutos, disposição imprópria de efluentes, derrames acidentais no transporte de produtos petrolíferos e lixiviação dos aterros sanitários (CAVALCANTI *et al.*, 2010; DE NARDI *et al.*, 2007; PHELPS e YOUNG, 2001).

O Benzeno é classificado pela OMS Organização Mundial de Saúde o elemento mais tóxico do grupo, embora Tolueno, Etilbenzeno e Xileno sejam



considerados tóxicos também, nenhum tipo de câncer foi diagnosticado devido à exposição a estes elementos (BRITO *et al.*, 2005; FORTE, 2007).

### **3.1.3. Tolueno**

O tolueno ou metilbenzeno é um hidrocarboneto aromático, incolor e de odor característico. Sua fórmula é  $C_7H_8$  ou  $C_6H_5CH_3$  e possui peso molecular de 92,15. Esta substância sofre ebulição a  $116^{\circ}C$ ; sua pressão de vapor é de 22 mmHg a  $20^{\circ}C$ ; se auto inflama a  $480^{\circ}C$ . O principal uso do composto é a mistura BTX na gasolina. Também é empregado na produção e processo de refinamento de petróleo, solvente em tintas, revestimentos, óleos e resinas, matéria-prima na produção de benzeno, fenol e outros solventes orgânicos, e na fabricação de polímeros e borracha, tornando o um contaminante ambiental comum, encontrado em muitos locais de despejo de resíduos (CETESB, 2012; PEDROZO *et al.*, 2002).

A aspiração do produto nos pulmões pode produzir pneumonia química, o que pode ser fatal. Sua ingestão pode causar espasmos abdominais e outros sintomas análogos à exposição por inalação. O contato com a pele causa irritação, podendo ainda ser absorvido pela mesma e com os olhos causa severa irritação ocular e vermelhidão e dor (SILVA, 2004).

As principais fontes de liberação de tolueno para o ambiente são emissões pelos veículos automotores e sistemas de exaustão de aeronaves, manipulação de gasolina, derramamento de petróleo e a fumaça do cigarro (WORLD HEALTH ORGANIZATION).

## **3.2. Legislação**

Com o objetivo de controlar a emissão de efluentes altamente contaminantes nos corpos de água, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece critérios de lançamento de efluentes de qualquer fonte poluidora em corpos d'água receptores. Estes padrões de lançamento são definidos pela RESOLUÇÃO N° 357, de 17 de março de 2005 (CONAMA, 2005; MELLO, 2007)

A resolução 357/2005 do CONAMA dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluente. Os corpos hídricos são divididos em águas doces, salobras e salinas e classificados segundo seus usos preponderantes. O limite de descarte para o tolueno em águas doces de classe I e II é de 2 µg/L e para águas salinas de classe I e de 215 µg/L.

### 3.3.

#### **Métodos Convencionais para Tratamento do Efluente Contendo Poluentes Orgânicos**

Os métodos convencionais aplicados hoje para a remoção de poluentes orgânicos presentes em águas contaminadas são os não biológicos (físicos, químicos e físico-químicos) e os biológicos. Estes métodos podem ser divididos em tecnologias: *in situ* (remoção realizada no próprio ambiente contaminado), ou *ex situ* (remoção do material contaminado para tratamento em local externo a sua origem) (FARIAS, 2013; FARHADIAN *et al.*, 2009; PEDROZO *et al.*, 2002).

#### 3.3.1.

##### **Processos Não Biológicos**

- *Air Stripping*: é uma tecnologia não destrutiva de remoção por aeração que permite a transferência de contaminantes orgânicos da fase líquida (águas superficiais ou subterrâneas) para a fase gasosa, onde então o gás é coletado e tratado (USEPA[b], 2012). A técnica *air stripping* demonstrou ter uma boa eficiência na remoção de compostos orgânicos voláteis (COV), incluindo os BTEX, porém, tal técnica não era muito indicada sob um ponto de vista ambiental, já que apenas ocorre uma transferência de poluentes na fase líquida para a fase gasosa, e não sua degradação (TIBURTIUS *et al.*, 2004).
- *Air Sparging*: é uma tecnologia *in situ*, que introduz ar no aquífero contaminado para produzir borbulhamento na água criando uma aeração que remove os contaminantes por volatilização (SINDICOM).
- *Processos oxidativos avançados (POAs)*: são definidos como processos de oxidação em que radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) são gerados para atuar como

agentes oxidantes químicos e, devido a sua alta reatividade, podem reagir com uma grande variedade de compostos orgânicos. Esses radicais hidroxila, em alguns casos, o oxigênio singlete, quando em quantidade suficiente, provocam a mineralização da matéria orgânica a dióxido de carbono, água e íons inorgânicos. São processos limpos e não seletivos, podendo degradar inúmeros compostos, independente da presença de outros. Além disso, podem ser usados para destruir compostos orgânicos tanto em fase aquosa, tanto em fase gasosa ou adsorvidos em matriz sólida. Entretanto, os aspectos econômicos ainda são a maior desvantagem de tais processos (DONAIRE, 2007; FARHADIAN *et al.*, 2008).

- *Adsorção por carvão ativado*: O carvão ativado é usado no tratamento de águas de abastecimento e águas residuárias, principalmente por ser um adsorvente para a remoção de níveis, relativamente baixos, de contaminantes orgânicos e inorgânicos. Possui elevados custos com a recuperação do adsorvente tornam esse processo bastante oneroso (RIBEIRO *et al.*, 2012; DAIFULLAH *et al.*, 2003).

### 3.3.2. Processos Biológicos

- *Biodegradação*: é a capacidade metabólica de organismos transformarem ou mineralizarem contaminantes orgânicos em substâncias simples, que possam então se integrar aos ciclos biogeoquímicos. Este processo, juntamente com outros processos físicos e químicos, é responsável pela descontaminação de ambientes contaminados por compostos orgânicos tóxicos como os BTEX (MARGESIN e SCHINNER, 2001). A biodegradação pode ser dividida em três categorias: (a) mineralização, onde os compostos químicos orgânicos são transformados a compostos químicos inorgânicos como dióxido de carbono, água e amônia; (b) biotransformação, onde os compostos químicos orgânicos são transformados em estruturas menores e (c) co-metabolismo, onde outro composto é metabolizado primeiramente ou simultaneamente a um composto específico (DALTON *et al.*, 1982). Podendo ocorrer *in situ* ou *ex situ*, o processo *ex situ* pode ocorrer por meio de reatores biológicos sob

condições controladas como pH, temperatura, aeração e agitação e *in situ*, apesar de apresentar baixos custos, facilidade operacional e boa eficiência, não é uma técnica que está sob condições controladas, fazendo com que as variáveis presentes no meio possam interferir negativamente no processo (GUIEYSSE *et al.*, 2000; KRYST e KARAMANEV, 2001; OHLEN *et al.*, 2005; ZILOUEI *et al.*, 2006; DOTT *et al.*, 1995).

- *Processos aeróbios*: Os processos aeróbios de tratamento de efluentes são conduzidos por comunidades microbianas heterogêneas, que estabelecem complexas interações ecológicas. A biomassa é constituída de diversas espécies microbianas, incluindo predominantemente bactérias, fungos e protozoários (PEDROZO *et al.*, 2002). No tratamento biológico aeróbio, os microrganismos, mediante processos oxidativos, degradam as substâncias orgânicas, que são assimiladas como "alimento" e fonte de energia, transformando-as em produto de metabolismo, CO e H<sub>2</sub>O (MELLO *et al.*, 2006).
- *Processos anaeróbios*: O processo anaeróbio é um processo natural que ocorre na ausência de oxigênio molecular. Pode ser considerado como um ecossistema onde diversos grupos de microrganismos trabalham interativamente na conversão da matéria orgânica complexa (carboidratos, proteínas, lipídios) em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia, além de novas células bacterianas (MELLO, 2007).

### 3.4. Adsorção

A adsorção é um fenômeno físico-químico de grande importância devido a suas múltiplas aplicações na indústria (VOLESKY, 2003). Adsorção trata-se de um fenômeno em que componentes de uma fase fluída, líquida ou gasosa, chamado de adsorvato, são transferidos para a superfície de uma fase sólida (adsorvente). A migração destes componentes de uma fase para outra tem como força motriz a diferença de concentração entre o seio do fluido e a superfície do adsorvente. Usualmente o adsorvente é composto de partículas que são empacotadas em um leito fixo por onde passa a fase fluida continuamente até que não haja mais transferência de massa. Como o adsorvato concentra-se na

superfície do adsorvente, quanto maior for esta superfície, maior será a eficiência da adsorção. Por isso, geralmente os adsorventes são sólidos com partículas porosas (BORBA, 2010; HOMEM, 2001). O fenômeno de adsorção ocorre porque átomos da superfície têm uma posição incomum em relação aos átomos do interior do sólido. Os átomos da superfície apresentam uma força resultante na direção normal à superfície, para dentro, a qual deve ser balanceada. A tendência a neutralizar essa força gera uma energia superficial, atraindo e mantendo na superfície do adsorvente as moléculas de gases ou de substâncias de uma solução com que estejam em contato. Durante o processo, as moléculas encontradas na fase fluida são atraídas para a zona interfacial devido à existência de forças atrativas, tais quais ligações de Hidrogênio, ligações covalentes, interações dipolo-dipolo, forças de van der Waals, ligações eletrostáticas, entre outras (CAMARGO *et al.*, 2005). O tipo de ligação que se forma a partir deste tipo de energia superficial pode ser fraca ou forte. Quando o sólido é, por exemplo, iônico e a molécula que se adsorve é polarizável, a ligação formada é forte, e passa a ser conhecida como adsorção química ou quimissorção (tabela 1). Se a ligação é fraca, ao nível de forças de van der Waals (atração como a de moléculas no estado líquido), a adsorção é conhecida como adsorção física ou fisissorção (tabela 1). Na adsorção física podem formar-se camadas moleculares sobrepostas, enquanto que na adsorção química se forma uma única camada molecular adsorvida, monocamada. Embora as adsorções física e química sejam caracterizadas por diferentes efeitos, não existe uma diferença clara entre os dois mecanismos (FOUST, 1982).

Dependendo do tipo de ligação entre as moléculas e átomos que estão sendo adsorvidos e o adsorvente as interações podem ocorrer de duas maneiras na superfície do sólido (ROCHA, 2006).

*Adsorção não específica:* também pode ser conhecida como adsorção eletrostática ou troca iônica, caracteriza-se pelas reações reversíveis, relativamente fracas e rápidas. Para que esse processo aconteça é necessário a existência de cargas elétricas permanentes ou o desenvolvimento de carga dependentes de pH. Esse tipo de adsorção ocorre quando um íon carregado entra no campo de influência de uma superfície sólida que possui carga líquida superficial oposta. Esse tipo de adsorção é representado pelo modelo mais simples da dupla camada elétrica, que é composto por duas zonas - plano de carga sobre a

superfície do adsorvente (fixo) e o plano de carga difusa (móvel, dita camada de Gouy) (SPOSITO, 1989; FORD *et al.*, 2001; PARKS, 1975). Outras interações físicas entre moléculas, baseadas em forças eletrostáticas incluem interações dipolo-dipolo, interações de dispersão e ligações de hidrogênio. Nas interações dipolo-dipolo as moléculas com extremidades opostas (dipolo negativo e dipolo positivo) estabelecem uma força de atração, esse tipo de interação só ocorre em moléculas polares que tendem a orientar suas cargas para diminuir a sua energia livre combinada. No caso das ligações de hidrogênio, o hidrogênio, por ser uma molécula de carga positiva, atrai um átomo de carga negativa. As interações de dispersão ou força de London – van der Waals acontecem quando moléculas neutras se aproximam uma das outras e geram uma polarização fraca em cada uma delas, essa atração é caracterizada como fraca (RUSSELL, 1980; BUENO, 2003).

*Adsorção específica:* A adsorção específica pode ser química ou física, dependendo do tipo de ligação envolvida. Envolve interações estáveis, governada pela formação de ligações químicas de alta energia entre grupos funcionais da superfície sólida e as espécies em solução (MONTE e PERES, 2004; SPOSITO, 1989). Esse tipo de adsorção específica é melhor representada pelo modelo da dupla camada elétrica composto por três zonas: plano de carga de superfície do adsorvente, plano de carga adsorvida especificamente (plano interno de Helmholtz) e o plano de carga da camada difusa (PARKS, 1975).

Tabela 1: Características da adsorção física e química. Fonte: VOLESKY, 2003; RUTHVEN, 1984.

Adsorção Física	Adsorção Química
❖ Baixa energia ( $< 20 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ )	❖ Alta energia ( $> 20 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ )
❖ Adsorção reversível	❖ Adsorção irreversível
❖ Pouca seletiva	❖ Muito seletiva
❖ Rápida adsorção	❖ Demora a ocorrer adsorção
❖ A espécie conserva sua natureza	❖ A espécie adsorvida sobre uma transformação dando origem a uma espécie diferente.
❖ Forças de van de Waals	❖ Forças comparáveis a ligações químicas
❖ Formação de monocamada ou multicamada	❖ Somente formação em monocamada

### 3.4.1. Isotermas de Adsorção

As isotermas de adsorção permitem a determinação dos parâmetros relacionados ao equilíbrio do processo (ADAMSON e GAST, 1997). Nos processos de adsorção em solução, a concentração vai decrescendo até alcançar um valor constante. Neste ponto, a quantidade do adsorvato que está sendo adsorvida encontra-se em equilíbrio dinâmico com a quantidade dessorvida (adsorvato). O tempo requerido para alcançar este estágio é chamado tempo de equilíbrio e a quantidade do analito retido reflete a capacidade de adsorção ( $Q_e$ ) do adsorvente no equilíbrio, variando a concentração inicial e mantendo a temperatura constante. A massa de adsorvato retido (mg) por unidade de massa de

adsorvente (g) pode ser calculada por meio de um balanço de massa de acordo com a equação 1 (DOTTO *et al.*, 2011).

$$Q_e = \frac{(C_o - C_e)}{m_s} * V \quad \text{Equação (1)}$$

Na qual  $C_o$  e  $C_e$  são as concentrações em (mg.L<sup>-1</sup>) no início e no final do equilíbrio, respectivamente,  $m_s$  representa a massa (g) do adsorvente e  $V$  o volume (L) da solução tratada.

A forma que a isoterma adquire é uma ferramenta experimental frequentemente utilizada para conhecer o tipo de interação que ocorre entre o adsorvato e o adsorvente. Algumas formas mais comuns podem ser observadas na figura 2 (OLIVEIRA, 2011).

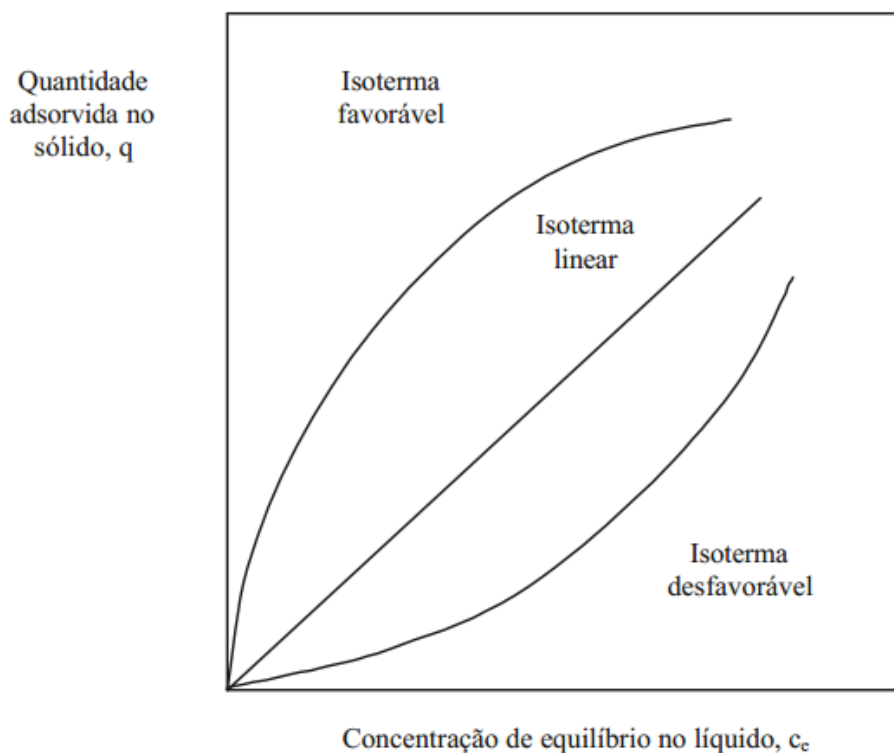


Figura 2: Classificação da isotermas segundo a curvatura. Fonte: BRINQUES, 2005.

Quando a isoterma se mostra linear, a massa do adsorvato retida por unidade de massa do adsorvente é proporcional à concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluída, quando a curvatura é descendente são referidas como favoráveis, pois a massa do adsorvato retida por unidade de massa do adsorvente é alta para



uma baixa concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluída. A isoterma é considerada desfavorável quando a massa do adsorvato retido por unidade de massa do adsorvente é baixa mesmo para uma alta concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluída e, considerada irreversível quando a massa do adsorvado retida por unidade de massa do adsorvente é independente da concentração de equilíbrio do adsorvado na fase fluída (McCABE *et al.*, 1993)

Giles e colaboradores (1960) propuseram outra classificação mais detalhada, as isotermas foram classificadas baseando-se nas inclinações e curvas (figura 3). De acordo com essa classificação foram divididas em quatro principais classes, nomeadas de: S (*Spherical*), L (*Langmuir*), H (*High Affinity*), e C (*Constant Partition*).

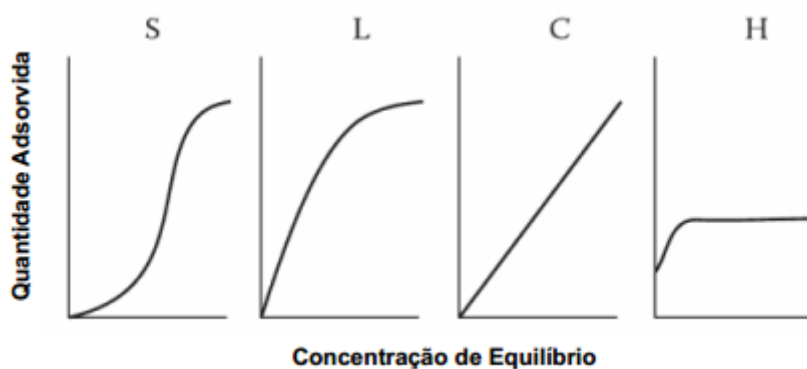


Figura 3: Tipos de isotermas baseadas nas inclinações das curvas. Fonte: TAN, 2011.

A isoterma tipo S tem uma inclinação linear e convexa em relação à abscissa. Indica que a adsorção inicial é muito baixa e aumenta à medida que o número de moléculas absorvidas aumenta. A isoterma tipo L tem inclinação não linear e côncava em relação à abscissa. É caracterizada por um decréscimo na inclinação da curva à medida que o número de sítios disponíveis para a adsorção diminui devido ao recobrimento da superfície adsorvedora. A curva do tipo L é geralmente observada quando a superfície do adsorvente possui alta afinidade com o soluto. A isoterma tipo C representa uma partição constante do soluto entre o adsorvente, dando a esta curva um aspecto linear (OLIVEIRA, 2011; BARROS e ARROYO, 2002). Existem diversas isotermas que são usadas para descrever o processo de equilíbrio, destacam-se: Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Temkin e BET. Muitas destas equações são empíricas e desenvolvidas para

melhor ajustar os dados experimentais as expressões matemáticas (FEBRIANTO, 2009; OLIVEIRA, 2011).

### 3.4.1.1.

#### Modelo da Isoterma de Langmuir

O modelo da isoterma de Langmuir é amplamente utilizado para descrever o comportamento do adsorvato no equilíbrio para os mais diversos sistemas (LIU, 2006). Este modelo foi originalmente derivado da adsorção de gás em carvão ativado, segundo Reynolds e Richards (1992), com as seguintes suposições:

1. A superfície contém um número fixo de sítios de adsorção;
2. Todas as espécies adsorvidas interagem somente com um sítio e não entre si;
3. A adsorção é limitada à monocamada;
4. A energia de adsorção de todos os sítios ativos é idêntica e independente da presença de espécies adsorvidas nas vizinhanças dos sítios;
5. A adsorção é reversível.

O modelo de Langmuir descrito em forma de equação linearizada, como mostra a equação 2.

$$Q_e = \frac{q_{max} * K_L * C_e}{1 + K_L * C_e} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde  $C_e$  (mg/L) é a concentração do equilíbrio. O parâmetro  $q_{max}$  (mg/g) está relacionado a capacidade máxima de adsorção, e  $K_L$  (constante de Langmuir) (L/mg) é a razão entre a constante cinética de adsorção e a constante cinética de dessorção.

Os valores de  $q_{max}$  e  $K$  podem ser determinados graficamente reorganizando a equação 2 na forma:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{q_{max} * K} + \frac{C_e}{q_{max}} \quad \text{Equação (3)}$$

A representação gráfica de  $C_e/q$  versus  $C_e$  é uma função linear, cuja inclinação é igual a  $1/q_{max}$  e a interseção com eixo  $C_e/q$  igual a  $1/(q_{max}*K)$ .

Através do coeficiente angular e da reta podemos calcular o  $q_{\max}$  que é a capacidade de adsorção máxima considerando uma cobertura em monocamada e a partir desse valor, através do coeficiente linear podemos calcular o valor da constante de adsorção  $K$ . (DORNELLAS, et al., 2000; GOMES, 2000; WANG, 2005)

O modelo de Langmuir tem sido usado, e nisso muito bem sucedido, para descrever o equilíbrio de bioadsorção. Bons adsorventes serão aqueles que possuem valor alto de  $q_{\max}$  e uma isoterma íngreme de sorção inicial (ou seja, baixo valor de  $b$ ) (SAY *et al.*, 2001; YAN e VIRARAGHAVAN, 2003; OZER e OZER, 2003; VEGLIÓ *et al.*, 1997; MATHEICKAL e YU, 1999; KRATOCHVIL e VOLESKY, 1997).

### 3.4.1.2.

#### Modelo da Isotherma de Freundlich

A isoterma de Freundlich é caracterizada por ser uma equação empírica, aplicável a sistemas caracterizados por heterogeneidade. O modelo sugere que não há limite para capacidade de adsorção, pois a quantidade adsorvida tende ao infinito, ou seja, não prevê saturação. A isoterma de Freundlich é apresentada pela equação 4 (SHENG *et al.*, 2010)

$$Q_e = K_F * C_e^{1/n} \quad \text{Equação (4)}$$

Onde, a constante  $K_F$  é a constante de Freundlich (L/mg) e  $1/n$  é o fator de heterogeneidade. A constante de Freundlich está relacionada à capacidade de adsorção do sólido e o fator  $n$  indica se o processo é ou não favorável. Valores de  $n$  compreendidos de 1 a 10 são indicativos de condições favoráveis ao processo de adsorção (SHENG *et al.*, 2010, NAMASIVAYAM, *et al.*, 2011).

Para facilitar o ajuste do modelo aos dados experimentais a equação 4 pode ser transformada em uma expressão linear, equação 5.

$$\ln q = \ln K + \left(\frac{1}{n}\right) \ln C_e \quad \text{Equação (5)}$$

Este modelo tem como principal limitação não determinar a sorção máxima que pode ser realizada por parte do adsorvente (FETTER, 1993).

### 3.4.1.3.

#### Modelo da Isoterma de Temkin

Na equação de Temkin existem dois parâmetros que levam em consideração as interações adsorvente-adsorvato e a distribuição uniforme de energia (FOO; HAMEED, 2010). Segundo Temkin e Pyzhev (1940) que estudaram o calor de adsorção e suas interações, sugeriram que o calor de adsorção de todas as moléculas da camada diminui linearmente com a cobertura devido às interações existentes (ALLEN 2003; SEKAR, 2004; HAMDOAUI, 2007, NASCIMENTO, et al 2014)

Sua equação é expressa segundo a equação 7.

$$Q_e = \frac{RT}{b} \ln (A_T C_e) \quad \text{Equação (7)}$$

Onde  $Q_e$  é a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio;  $R$  a constante universal dos gases ( $8,314 \text{ J.K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ );  $T$  temperatura (K);  $b$  constante de Temkin em relação ao calor de sorção;  $A_t$  constante da isoterma de Temkin ( $\text{L.mg}^{-1}$ ) e  $C_e$  concentração do adsorvato em solução, no equilíbrio (NASCIMENTO, et al. 2014).

Sua forma linearizada é demonstrada na equação 8, já a equação 9 permite o cálculo da constante  $B_t$ .

$$Q_e = B_t \ln A_t + B_t \ln C_e \quad \text{Equação (8)}$$

$$B_t = \frac{RT}{b} \quad \text{Equação (9)}$$

A adsorção é avaliada de acordo com a equação 9. Um gráfico de  $Q_e$  versus  $(\ln C_e)$ , permite determinar as constantes  $A_t$  e  $B_t$  através dos coeficientes angular e linear, respectivamente. (ALLEN 2003; SEKAR, 2004; ABBUD 2010).

Em geral o modelo não descreve bem equilíbrios de adsorção de íons metálicos e bioissorvente (FEBRIANTO, *et al.*, 2009). Porém, Moura *et al.* (2011) e Vidal *et al.* (2011) utilizaram a equação de Temkin na adsorção de tolueno por organossílica modificada e obtiveram melhores resultados neste modelo do que os de Freundlich e Redlich-Peterson.

### 3.4.2. Bioissorção

O termo bioissorção é multidimensional e foi evoluindo ao longo das últimas décadas, este termo vem sendo utilizado por diferentes autores para uma variada gama de processos, incluindo bioissorção, bioabsorção, bioissorção utilizando a biomassa viva ou morta e um diversificado leque de substâncias. As dificuldades com a definição do termo estão relacionadas com a existência dos diversos fatores citados acima (VOLESKY, 2007; GADD, 2009; GADD e FOMINA 2014).

Tradicionalmente, bioissorção refere-se especificamente ao processo que tem metais como adsorvato e, muitas vezes, o material microbiano como bioissorvente. A maioria das pesquisas ainda concentra-se em metais e elementos relacionados a eles, por causa disso, vários autores relacionam a definição de bioissorção somente para íons metálicos (GADD, 2009).

Porém, a palavra bioissorção vai além da remoção de metais, podendo referir-se também há processos que envolvam outro tipo de compostos, como compostos orgânicos e radionuclídeos. Assim o termo bioissorção pode descrever qualquer sistema em que uma superfície sólida de uma matriz biológica interage como um adsorvato, resultando na redução da concentração desse adsorvato na solução (GADD, 2009). Outro ponto envolvido na controvérsia sobre o termo bioissorção refere-se quanto à utilização do mesmo para caracterizar a existência de processos passivos ou ativos. Existem três definições que são utilizadas envolvendo este termo: (I) uma definição restrita quando bioissorção, define-se como um processo passivo, metabolicamente independente; (II) uma definição mais ampla, incluindo processos ativos e passivos, em caso da biomassa viva,

chamando-a de bioacumulação e, por fim; (III) bioissorção como uma generalização fundamental que abrange todos os aspectos das interações de qualquer adsorvato com uma matriz (GADD, 2009).

Para facilitar o uso do termo, a maioria dos pesquisadores opta pelo sentido restrito do mesmo, onde bioissorção é um processo passivo, metabolicamente independente, ou seja, em que biomassa morta ou fragmentos de células e de tecidos são utilizados (VOLESKY, 1990; MALIK, 2004; GADD, 2009; GADD e FOMINA, 2014). O processo que envolve a biomassa viva e seu metabolismo é definido com processo de bioacumulação (KADUKOVÁ, 2005).

O uso de biomassa inativa torna-se uma vantagem em relação ao uso da biomassa viva, uma vez que não sofrem limitações devido à toxicidade do meio e não requerem renovação do meio de cultura (KIRAN *et al.*, 2005).

Um dos benefícios da bioissorção é o baixo custo do material bioissorvente, já que podem ser empregados como biomassa, subprodutos de algum processo industrial (indústria de alimentos, indústria farmacêutica, subprodutos de processos de fermentação e resíduos agrícolas) (ESPÓSITO *et al.*, 2001; VOLESKEY, 2001; WANG, 2005).

#### **3.4.2.1. Mecanismos da Bioissorção**

Os mecanismos relacionados à bioissorção dependem de vários fatores, como composição química da parede celular do bioissorvente, as condições físico-químicas do meio e as propriedades químicas do adsorbato em questão (TAVARES, 2009). O material biológico é muito complexo, possuindo muitos grupos funcionais que são capazes de interagir com o adsorbato presente na solução de diversas formas (GADD e FOMINA, 2014).

Volesky (1896) e Gadd (2009, 2014) citam como os principais mecanismos ou combinação de mecanismos em diferentes graus: adsorção, troca iônica, complexação/coordenação.

- *Adsorção*: É o processo físico-químico pela qual uma substância (gasosa ou líquida) se torna ligada a superfície de um sólido. A atração se baseia geralmente nas cargas eletrostáticas.

- *Troca iônica*: É definida como o intercâmbio de íons, que se encontram formando espécies moleculares ou atômicas, que perdem ou ganham elétrons.
- *Complexação*: É definida como a formação de espécies devido à associação de outras duas ou mais espécies. Quando uma espécie é um íon metálico, o resultado é conhecido como complexo metálico.
- *Coordenação*: Quando um átomo central de um complexo está unido a outro átomo por ligações covalentes, formadas como o resultado da aceitação de um par de elétrons de um átomo não metálico.

#### 3.4.2.2.

#### Fatores que Afetam a Biossorção

- *Velocidade de agitação*: Em alguns casos o aumento da velocidade aumenta a taxa de remoção dos poluentes. Já em outras situações pode influenciar a adsorção devido à redução da resistência da camada periférica ao redor da partícula do adsorvente, danificando a estrutura física do mesmo (McKAY, 1982; PARK *et al.*, 2010).
- *Temperatura*: O principal efeito da temperatura neste processo é que a mesma afeta a constante de velocidade de adsorção. Um aumento da temperatura pode ocasionar aumento da energia cinética e na mobilidade das moléculas do adsorvato e afetar a solubilidade e o potencial químico do mesmo. Desta forma, a alteração na temperatura de um processo conduz a uma mudança na capacidade de adsorção (JIMENEZ *et al.*, 2004; KHATTRI, 2000). O processo de adsorção geralmente é exotérmico. Na maioria dos sistemas um aumento da temperatura implica na diminuição da quantidade adsorvida (MELLAH *et al.*, 1997). Em alguns casos a temperatura pode danificar a estrutura física do biossorvente (PARK *et al.*, 2010)
- *pH*: Afeta a adsorção na medida em que determina o grau de ionização de compostos ácidos ou básicos. A intensidade desse efeito pode ser maior ou menor conforme o adsorvente, uma vez que as cargas da superfície do adsorvente dependem da sua composição e das características da superfície (AL-DEGS, 2000). Nos microrganismos pode ativar grupos funcionais

existentes em sua parede celular, podendo aumentar ou diminuir aderência do adsorvato (BUENO, 2003).

- *Concentração do poluente*: Quando aumentada a concentração inicial do poluente, há um acréscimo de poluente por unidade de peso do biossorvente, diminuindo a eficiência de remoção e aumentando o tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio (PARK *et al.*, 2010).
- *Natureza do adsorvente*: A estrutura molecular do adsorvente tem grande influência no grau de adsorção em função do tipo e posição do grupo funcional (MELLAH *et al.*, 1997; BARROS, 2001).

### 3.5. Biossorvente

Os biossorventes são qualquer tipo de material biológico que tem afinidade com poluentes orgânicos e inorgânicos onde há um enorme potencial de biossorção (GADD, 2009; DHANKHAR *et al.*, 2011; GADD e FOMINA 2014). Possuem diversas características atrativas, como baixo custo, fácil utilização e eficiência, são geralmente encontrados em abundância na natureza (XIE *et al.*, 1996; BOUKHLIFI *et al.*, 2000).

A capacidade de biossorção de diversos biossorventes vem sendo relatada em milhares de trabalhos de pesquisas (GADD e FOMINA 2014). Dentre os biossorventes pesquisados estão: biomassa microbiana (bactérias, cianobactérias, fungos e leveduras), algas, resíduos industriais (fermentações de alimentos), resíduos agrícolas (resíduos de frutas/vegetais, casca de arroz, farelo de trigo, polpa de beterraba, etc.), resíduos naturais (resíduos vegetais, serragem, casca de árvores, ervas daninhas, etc.) e outros materiais (quitosana, celulose, etc.) (PARK *et al.*, 2010; DHANKHAR *et al.*, 2011).

Um bom biossorvente é aquele que possui um grande número de sítios ativos disponíveis para interação com a espécie de interesse (agente tóxico). Os sítios são pontos de adsorção constituídos por um ou mais grupos funcionais químicos distribuídos pela superfície do biossorvente (DEMIRBAS, 2008).



### 3.5.1.

#### ***Rhodococcus opacus***

*Rhodococcus* são aeróbias, Gram-positivas, com alto conteúdo de Guanina e Citosina contido em seu DNA (FINNERTY, 1992). São amplamente distribuídas no ambiente e habitam diversos nichos ecológicos como: os ambientes marinhos, solos Alpinos, o Ártico, a Antártica, águas subterrâneas, excretas de animais, intestinos de insetos, e plantas (BELL *et al.*, 1998; WHYTE *et al.*, 2002; CARVALHO e FONSECA, 2005). Bactérias do gênero *Rhodococcus* costumam ser excelentes degradadoras de compostos hidrofóbicos.

São capazes de atuar em vários compostos recalcitrantes e possuem uma excepcional capacidade de transformar ou biodegradar compostos hidrofóbicos como parafinas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, bifenilas, poliaromáticos, policlorados, esteróides e lignina (BICCA *et al.*, 1999; CARVALHO e FONSECA, 2005; CIAPINA, 2006). A capacidade de degradação de compostos hidrofóbicos por essas bactérias está associada à produção de agentes surfactantes que poderiam auxiliar na assimilação de substratos hidrofóbicos modificando a hidrofobicidade na superfície celular (WHYTE *et al.*, 1999; CIAPINA, 2006).

O *Rhodococcus opacus* é uma espécie que pertencente ao gênero *Rhodococcus*, não possui natureza patogênica, e possui as mesmas características referentes ao seu gênero citadas acima, pode ser isolada de solos e das usinas de tratamentos de águas (IVSHINA *et al.*, 1998; STRATTON *et al.*, 2002). O *R. opacus* possui na sua parede celular diversos componentes, tais como, polissacarídeos, ácidos micólicos e lipídeos, que conferem um caráter anfótero à superfície celular, semelhante aos surfactantes comerciais (MESQUITA *et al.*, 2003).

Segundo Bueno (2003) a *R. opacus* é um ótimo bioissorvente por possuir as seguintes características: ausência de patogenicidade, fácil aquisição em coleção de culturas nacionais, fácil manipulação, propagação e manutenção das células.

Os trabalhos realizados com a cepa *R. opacus* demonstram que ela possui grande afinidade com íons metálicos, podendo remover 95%, 73%, 52% dos íons de Pb(II), Hg e Cu(II) (BUENO, 2003; ABBUD, 2010).

### 3.6. Cromatografia Gasosa

O termo cromatografia foi primeiramente empregado em 1906 e sua utilização foi atribuída a um botânico russo, M. Tswett, ao descrever suas experiências na separação dos componentes de extratos de folhas. Apesar desse estudo e de outros anteriores, que também poderiam ser considerados precursores do uso dessa técnica, a cromatografia foi ignorada até a década de 30, quando foi redescoberta. A partir daí, diversos trabalhos na área possibilitaram seu aperfeiçoamento e, em conjunto com outras tecnologias, levaram-na a um grau de sofisticação que resultou em sua vasta aplicação nas mais diversas áreas (DEGANI *et al.*, 1998).

A cromatografia é um método físico de separação, no qual os componentes a serem separados são distribuídos em duas fases: uma fixa de grande área superficial denominada fase estacionária, e a outra um fluido que percola através dela sendo denominada fase móvel. Pode ser utilizada para: identificação de compostos por comparação de padrões previamente existentes; separação; quantificação de espécies químicas (LANÇAS, 1993; DEGANI *et al.*, 1998).

As técnicas de cromatografia utilizadas para identificação e quantificação de BTEX, grupos de compostos que incluem o tolueno, são: cromatografia a gás (CG), a cromatografia a gás associada à espectrometria de massa (GC-MS), a cromatografia líquida de alta eficiência, a cromatografia de fluido supercrítico (SFC), a cromatografia de camada delgada (TLC) (VALENTIN, 2006).

A técnica utilizada nesta dissertação foi a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa, por possuir alta sensibilidade para a determinação e quantificação de compostos orgânicos a níveis de traços.

Na cromatografia gasosa, a separação se baseia na distribuição dos compostos em duas fases: a fase estacionária, que pode ser sólida ou líquida, e uma fase móvel gasosa, aplicando-se tanto para análises de gases como para compostos voláteis. Na cromatografia, a amostra é introduzida por um sistema de injeção em uma coluna contendo a fase estacionária. O uso de temperaturas adequadas no local de injeção da amostra e na coluna possibilita a vaporização das espécies químicas que, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, são retidas diferentemente, e chegam à saída da coluna em tempos distintos.

Existem vários detectores que podem ser utilizados, o uso do detector adequado possibilita a melhor detecção e quantificação dos compostos de interesse (VALENTIN, 2006). O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina vantagens da cromatografia (alta seletividade eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade) (VÉKEY, 2001).

A cromatografia gasosa depende da qualidade da amostra, pois nenhuma matriz pode ser diretamente injetada num cromatógrafo a gás. As matrizes ambientais, além de possuir particulados não voláteis em água, possuem quantidades incompatíveis com as colunas cromatográficas e detectores de GC. Portanto, a viabilização da análise por GC depende de um método adequado de preparo da amostra. As principais metodologias de preparo de amostras contendo BTEX em matrizes aquosas são: por meio de amostragem direta da fase gasosa (*headspace* estático), enriquecimento do analito de interesse, (*headspace* dinâmico, como *Purge & Trap*) e por adsorção (como microextração em fase sólida – SPME) (MARSILI, 1997; VALENTE e AUGUSTO, 2000).

### **3.6.1. Headspace**

Segundo Marsili (1997) as técnicas de amostragem no *headspace* podem ser divididas em *headspace* estático e *headspace* dinâmico. Os métodos que utilizam a amostragem por *headspace* visam minimizar a formação de artefatos e/ou destruição da fração volátil, possuem uma alta reprodutibilidade e mantém a integridade química das moléculas (AUGUSTO *et al.*, 2003; MARSILI, 1997).

A principal característica do *headspace* é a possibilidade da determinação de componentes voláteis, da amostra a ser estudada, de forma direta. Além disso, o *headspace* possibilita a introdução da amostra sem pré-tratamento no cromatógrafo a gás (GOBATO *et al.*, 2001).

O *headspace* dinâmico (*Purge & Trap*) é uma técnica de extração e concentração, a amostra é confinada em um recipiente (*vial*) fechado onde é carregada por um fluxo de gás inerte de alta pureza. Estes encontram no caminho um material polimérico de grande afinidade (*trap*) e lá ficam retidos. O fluxo se mantém por certo período de tempo, até que o *trap* começa a ser aquecido para

dissolver os analitos. Os compostos são arrastados para dentro da coluna cromatográfica onde serão separados e, posteriormente, quantificados (ROSELL *et al.*, 2003).

As diferenças do procedimento encontram-se no tipo de trap utilizadas, podendo ser criogênica ou com adsorventes. As criogênicas utilizam recipientes refrigerados para captura dos compostos voláteis, podendo coletar água junto com os compostos, o que tornam as *traps* com adsorventes mais convenientes. Já adsorventes, como carvão ativado e vários polímeros porosos, podem ser usados para coletar compostos voláteis do *headspace* (NOGUEIRA, 2002; COLE, 1980).

Na análise de *headspace* estático (figura 4) a amostra também é confinada em um recipiente (*vial*), em seguida esse *vial* é aquecido a uma temperatura pré-estabelecida para promover a fase volátil, assim os analitos são extraídos do *vial* por uma seringa própria para gases, também aquecida, que também é introduzida no injetor do cromatógrafo gasoso para posterior separação, detecção e quantificação dos compostos (VALENTIN, 2006). É uma técnica fácil e rápida, esse método provavelmente é o mais simples, permanecendo, até hoje, como a técnica de preparação de amostra livre de solvente mais utilizada (ALVES, 2012).

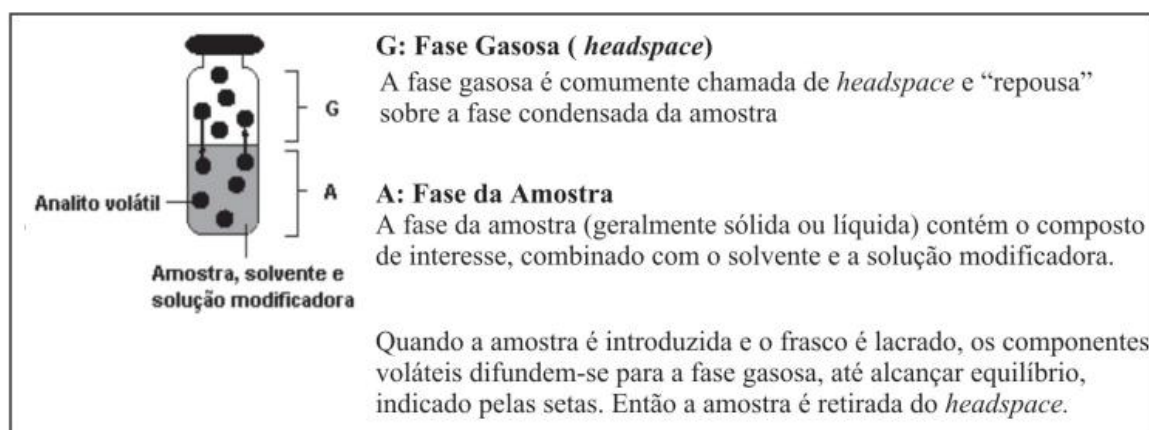


Figura 4: Fases do frasco de *headspace*. *Headspace* estático. Fonte: RESTEK, 2004.

## 4

### Materiais e Métodos

Neste capítulo serão apresentados os equipamentos, materiais e reagentes utilizados no desenvolvimento do processo de biossorção para remoção do composto orgânico tolueno, utilizando a estirpe microbiana *R. opacus*. Será descrito também a metodologia experimental do estudo em questão.

#### 4.1.

##### Procedência e Preparo da Bactéria

A estirpe microbiana *R. opacus* foi fornecida pela Coleção Brasileira de microrganismo de Ambiente e Indústria (CBMAI) de Campinas, São Paulo. A *R. opacus* foi subcultivada no meio de cultura YMA, a tabela 2 mostra os compostos utilizados na preparação deste meio. O meio de cultura é esterilizado em uma autoclave (Primatec) durante 20 minutos em 1 atm de pressão.

Primeiramente a bactéria *R. opacus* foi cultivada em meio sólido (figura 5) para que cresça e origine massas isoladas, visíveis, denominadas colônias. Para se obter o concentrado que irá ser usado nos experimentos de biossorção é necessário que após a bactéria ser cultivada no meio sólido ser cultivada no meio líquido (figura 6), que é feito da mesma maneira que o sólido, exceto pela adição do agente gelificante agar-agar. O meio líquido é feito para que se obtenha células concentradas de *R. opacus*.



Figura 5: Cultivo da bactéria *R. opacus* em meio sólido. Fonte: ABBUD, 2011.



Figura 6: Cultivo da bactéria *R. opacus* em meio líquido.

Tabela 2: Compostos utilizados no meio YMA.

YMA	Meio Sólido	Meio Líquido
10 g.L <sup>-1</sup> Glicose	✓	✓
5 g.L <sup>-1</sup> Peptona	✓	✓
3 g.L <sup>-1</sup> Extrato de Malto	✓	✓
3 g.L <sup>-1</sup> Levedura	✓	✓
20 g.L <sup>-1</sup> Agar	✓	

O crescimento da bactéria *R. opacus* foi realizado em fracos Erlenmeyer de 500 ml, contendo 250 ml de meio líquido, por um período de 72 horas a temperatura de 30°C em uma incubadora shaker de bancada (CIENTEC CT-712T) com velocidade de rotação de 175 rpm. Após o crescimento, a suspensão celular foi centrifugada (figura 7) em uma centrífuga digital (CIENTEC CT 5000) à velocidade de 4600 rpm durante 8 minutos em tubos de falcon de 50 mL. O precipitado da centrifugação, constituído pelas células da *R. opacus*, foi lavado 3 vezes com água deionizada para retirada de resíduos do meio de cultura líquido. O concentrado bacteriano foi homogeneizado com água deionizada e colocada em frasco de reagente graduado para ser levado a autoclave durante 20 minutos em 1 atm de pressão, esse procedimento é realizado a fim de matar a *R. opacus* e assim usa-la como biossorvente inativo para os ensaios de biossorção. A determinação do concentrado bacteriano foi realizada pelo método de Sólidos Suspenso Totais - SST (peso seco), a amostra bacteriana, com volume específico de 2 µL, foi colocada em millipore de 0,45 µm e filtrada, logo após a amostra foi colocada em uma estufa (ICAMO - Modelo 3 - Estufa para Esterilização) a 60°C por duas

horas e pesada em uma balança de precisão (Eletronic Balance FA-2104N - BIOPRECISA).



Figura 7: *R. opacus* após a centrifugação.

#### **4.1.1. Caracterização da Biomassa**

As técnicas para a caracterização da *R. opacus* utilizadas foram a determinação da carga global da superfície (potencial zeta), e a espectrometria de infravermelho, ambas descritas a seguir.

##### **4.1.1.1. Medições de Potencial Zeta**

A determinação do potencial zeta em diferentes valores de pH permite a obtenção de curvas de potencial zeta e, conseqüentemente, a determinação do ponto isoelétrico (PIE: logaritmo negativo da atividade da espécie determinadora do potencial correspondente ao potencial zeta nulo, na presença do eletrólito indiferente) e a avaliação da carga superficial das partículas em estudo (BUENO, 2003).

As medições de potencial zeta das células de *R. opacus* antes e após o contato com o composto orgânico tolueno foram realizados utilizando o equipamento Zeta-Meter System 4.0 (figura 8) para diferentes valores de pH, visando estudar o possível mecanismo de biossorção e a influência do tolueno nas propriedades de superfície do microrganismo.



Na determinação do ponto isoelétrico (PIE) das células de *R. opacus*, diferentes medidas de potencial zeta foram realizadas, empregando-se como eletrólito indiferente soluções de NaCl de diferentes concentrações:  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ .

Para determinação do potencial zeta da *R. opacus*, utilizou-se solução contendo eletrólito indiferente e bactéria na concentração de 0,1 g/L. Já para a medição após a interação bactéria-tolueno, foi utilizada uma solução contendo *R. opacus* e tolueno nas respectivas concentrações de 0,1g/L e 0.05 mg/L, juntamente com eletrólito indiferente NaCl  $10^{-3}$ .

As leituras realizadas pelo aparelho foram geradas retirando-se amostras de 40 mL da solução mãe de 500 mL, e introduzindo-as na célula de acrílico do Zeta-Meter 4.0 (figura 9), para o ajuste do pH desejado foram utilizadas soluções de HCl ou NaOH.



Figura 8: Potencial Zeta-Meter 4.0 Fonte: Carlos Olivera.





Figura 9: Célula de acrílico do Zeta-Meter 4.0.

#### 4.1.1.2. Espectrometria de Infravermelho

As análises de espectrometria de infravermelho da *R. opacus* foram realizados no Laboratório de Tecnologia Ambiental e Mineral da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, utilizando o espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF) Nicolet 6700.

Para se obter o espectro de infravermelho deve-se preparar uma pastilha que contenha 0,01g de amostra dos ensaios de bioadsorção secas, finamente homogeneizadas, e 0,1g de KBr, esta mistura deve ser levada a uma prensa para que se forme a pastilha translúcida. Esta pastilha é levada então a um detector do tipo sulfato de glicina deuterado (DTGS), obtendo-se assim, os espectros em resolução  $4\text{ cm}^{-1}$  usando 120 varreduras.

#### 4.2. Experimentos de Bioadsorção

Os experimentos de Bioadsorção foram realizados na Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ.

Os fatores que afetam a taxa de adsorção e a capacidade de captação do bioadsorvente foram examinados em escala de bancada. Todos os ensaios foram realizados em tubos Falcon de 50 ml, empregando o volume de solução de tolueno de 30 mL, velocidade de rotação 70 rpm em um agitador horizontal (figura 10)

(Kline – Nova técnica), por 20 minutos (exceto para o tempo de contato) em temperatura ambiente. Após esse período foi realizada a centrifugação da solução em uma centrífuga (Fanem – Excelsa II) com 3850 rpm durante 30 minutos. O sobrenadante foi retirado e colocado em um *vial* de 20 mL contendo apenas 10 mL de solução. Este *vial* foi lacrado por septo de teflon/silicone e uma tampa de alumínio, levado ao cromatografo a gás (BRUKER – scion- 456- CG), acoplado a espectrometria de massas CG-MS com amostrado automático *Headspace* estático (CAMBIPAL), para realização da quantificação e identificação do tolueno presente após o teste de biossorção.



Figura 10: Amostras no agitador horizontal (Kline – Nova técnica).

Para elucidar as melhores condições do processo de biossorção para a concentração de 1 mg/L, as variáveis escolhidas para determinar as condições ótimas foram: tempo de contato; concentração da bactéria; e pH.

#### **4.2.1. Preparo das Soluções Contendo Tolueno**

As soluções de tolueno foram preparadas a partir de uma solução mãe de 500 mg/L de tolueno, de onde foram retiradas soluções 1 mg/L para preparar os testes de adsorção, estas feitas em duplicatas. Foi utilizado tolueno Vetec, 99,5% de pureza.

#### 4.2.2. Curva de Calibração

Para realização da curva de calibração do tolueno foram preparadas concentrações: 0,10 - 0,15 - 0,25 - 0,4 - 0,6 - 0,8 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 mg/L a partir da solução mãe. A curva foi avaliada com base no coeficiente de determinação ( $r^2$ ). A equação de regressão foi obtida empregando o programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

A quantificação e validação da curva foram realizadas no cromatógrafo a gás acoplado a espectrometria de massas CG-MS (BRUKER – scion – 456 - CG) com amostrado automático *Headspace* estático (CAMBIPAL). A solução foi colocada em um vial de 20 mL contendo apenas 10 mL de solução, este *vial* foi lacrado por septo de teflon/silicone e uma tampa de alumínio.

A determinação da faixa de calibração de tolueno nas soluções padrões foi motivada pelo relatório feito para caracterizar o efluente gerado pela Plataforma Curimã (PCR-1), localizada na Bacia do Ceará, onde os compostos orgânicos BTEX representaram 97% dos compostos orgânicos presente no efluente e, o valor encontrado para tolueno foi de 5712 mg/L. Já o valor mínimo utilizado foi escolhido devido a sensibilidade do aparelho de cromatografia. Segundo Lima (2010) a água de produção tratada possui 0,4 mg/L de tolueno, um valor acima do permitido pelo COMANA 357/2005 para águas doces de classe II e para águas salobras de classe II, 0,002 mg/L e 0,215 mg/L, respectivamente. 1 mg/L foi um valor intermediário escolhido.

O objetivo foi trabalhar com soluções que representem o valor encontrado em um efluente sem tratamento e um efluente com tratamento.

#### 4.2.3. Efeito do Tempo de Contato

O efeito do tempo de contato entre a biomassa e a solução contendo tolueno foi estudada a fim de conhecer o tempo de residência necessário para obter a melhor remoção de tolueno pela *R. opacus*.

Para isso foram coletadas amostras em diferentes intervalos de tempo até verificar-se se foi atingido o equilíbrio. O valor do pH, concentração da biomassa, concentração inicial de tolueno mantem-se constantes e são apresentados na tabela

3.

Tabela 3: Condições empregadas para a determinação do efeito do tempo de contato no processo de bio sorção.

Parâmetros

**Tempo de contato (min) 10, 15, 20, 40, 60, 120, 180**

Volume da solução com tolueno 30 mL

Concentração inicial da biomassa 1 g/L

Concentração inicial do tolueno 1mg/L

pH 6,0

#### 4.2.4.

#### Efeito da Concentração da Biomassa

O efeito da concentração da biomassa foi estudado para conhecer a concentração adequada de *R. opacus* para obter-se a máxima remoção de tolueno. Para isso foram realizados os ensaios com diferentes concentrações de bio sorvente, empregando o valor de tempo em que se obteve melhor eficiência no ensaio apresentado anteriormente. Na tabela 4 estão apresentadas as condições experimentais empregadas.

Tabela 4: Condições empregadas para determinação da concentração da biomassa no processo de bio sorção.

Parâmetros

Tempo de contato (min)

20

Volume da solução com tolueno

30 mL

**Concentração inicial da biomassa**

**1 g/L, 1,5 g/L, 2 g/L, 2,5 g/L**

Concentração inicial do poluente

1 mg/L

pH

6

#### 4.2.5.

#### Efeito do pH

Para determinação do efeito do pH no processo de bio sorção de tolueno pela *R. opacus*, ajustou-se o pH da solução para uma faixa de 2 a 11, para tal foram empregadas soluções NaOH ou HCl. Na tabela 5 estão apresentadas as condições experimentais empregadas, utilizando-se as melhores condições do tempo de contato e variação da biomassa.

Tabela 5: Condições empregadas para determinação do efeito do pH no processo de biossorção.

Parâmetros	
Tempo de contato (min)	20
Volume da solução com tolueno	30 mL
Concentração inicial da biomassa	2,5 g/L
Concentração inicial do poluente	1 mg/L
<b>pH</b>	<b>2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,10,11</b>

### 4.3. Condições Cromatográficas

A quantificação e identificação do tolueno foram realizadas em um cromatógrafo a gás CG, acoplado a um espectrômetro de massas (BRUKER – scion - 456 - CG) com amostrador automático *Headspace* estático (CAMBIPAL) (figura 11). As amostras foram introduzidas no injetor através do sistema Split (1:10) a 150 °C utilizando gás de arraste hélio ( $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ). A separação foi feita com uma coluna BR-5ms (30 cm, 0,25 mm, 0,25 micrometro), tempo de análise 8 minutos. O volume injetado no *headspace* estático foi de 1mL, temperatura da seringa 100°C, tempo de agitação 8 min e temperatura de agitação 60 °C. Tempo de retenção do tolueno 1,9 minutos.



Figura 11: Cromatógrafo a gás CG, acoplado a um espectrômetro de massas com amostrador automático *Headspace* estático.

#### 4.4. Isotermas de Adsorção

Para obtenção das isotermas de adsorção serão realizados ensaios de adsorção com a concentração estabelecida nos experimentos de biossorção, variando as concentrações iniciais de Tolueno de 0,6 a 5 mg.L<sup>-1</sup>. O pH da solução é ajustado para 6 com soluções de HCl e NaOH. Os ensaios são realizados em tubos Falcon de 50 ml, empregando o volume de solução de tolueno de 30 mL, velocidade de rotação 70 rpm em um agitador horizontal (Kline – Nova técnica) por 20 minutos. Após esse período é realizada a centrifugação da solução em uma centrífuga (Fanem – Excelsa II) com 3850 rpm durante 30 minutos. O sobrenadante é retirado e colocado em um *vial* de 20 mL contendo apenas 10 mL de solução. Este *vial* é lacrado por septo de teflon/silicone e uma tampa de alumínio, levado ao cromatografo a gás (BRUKER – scion- 456- CG), acoplado a espectrometria de massas CG-MS com amostrado automático *Headspace* estático (CAMBIPAL), para realização da quantificação e identificação do tolueno presente após o teste de biossorção.

Serão avaliados os modelos das isotermas nas formas lineares de Langmuir e Freundlich.

## 5

## Resultados e discussão

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos ao decorrer da pesquisa, referentes a caracterizada da biomassa antes e após a interação com tolueno e os estudos de bioissorção para 1mg/L.

## 5.1.

## Caracterização da Bactéria

## 5.1.1.

## Estudos do Potencial Zeta

Com a finalidade de avaliar a possível variação nas propriedades eletrocinéticas da *R. opacus* em contato com o tolueno, foram efetuadas medidas do potencial zeta antes e após a interação bactéria-tolueno. Antes da interação com tolueno, foram usadas três concentrações de NaCl como eletrólito indiferente (figura 12).

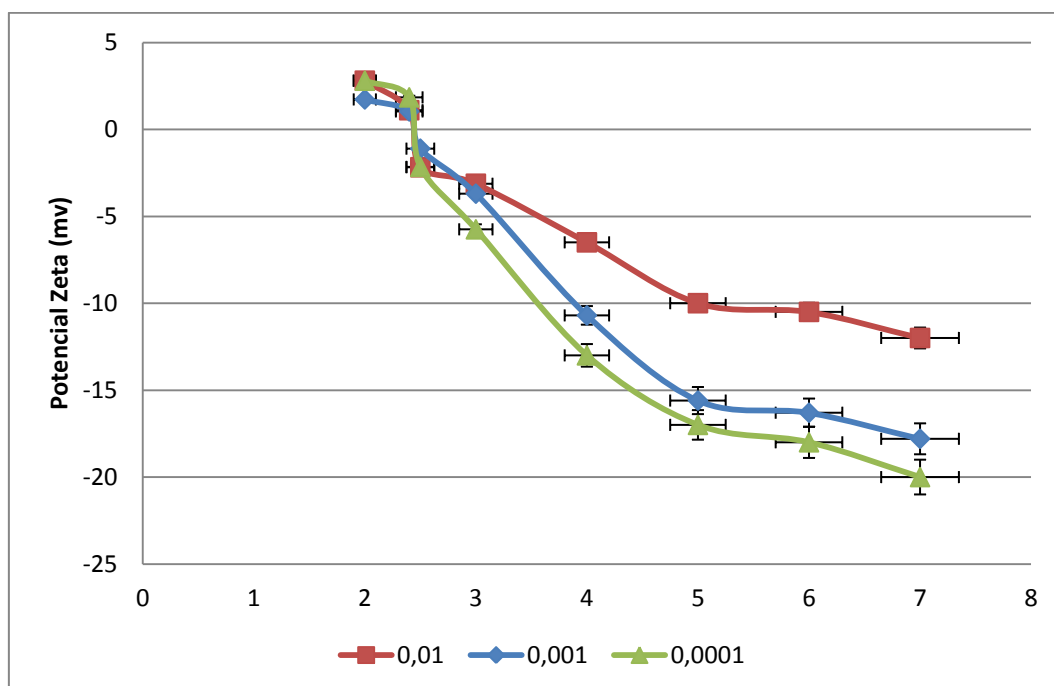


Figura 12: Diferentes concentrações NaCl (eletrólito indiferente)  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  M. Concentração da biomassa 0,1g/L.

A figura 12 apresenta os valores experimentais do potencial zeta da *R. opacus* em função da concentração do pH e da concentração de NaCl. As curvas passam pelo mesmo ponto isoelétrico, em torno de 2,4 (MONTE e PERES, 2004).

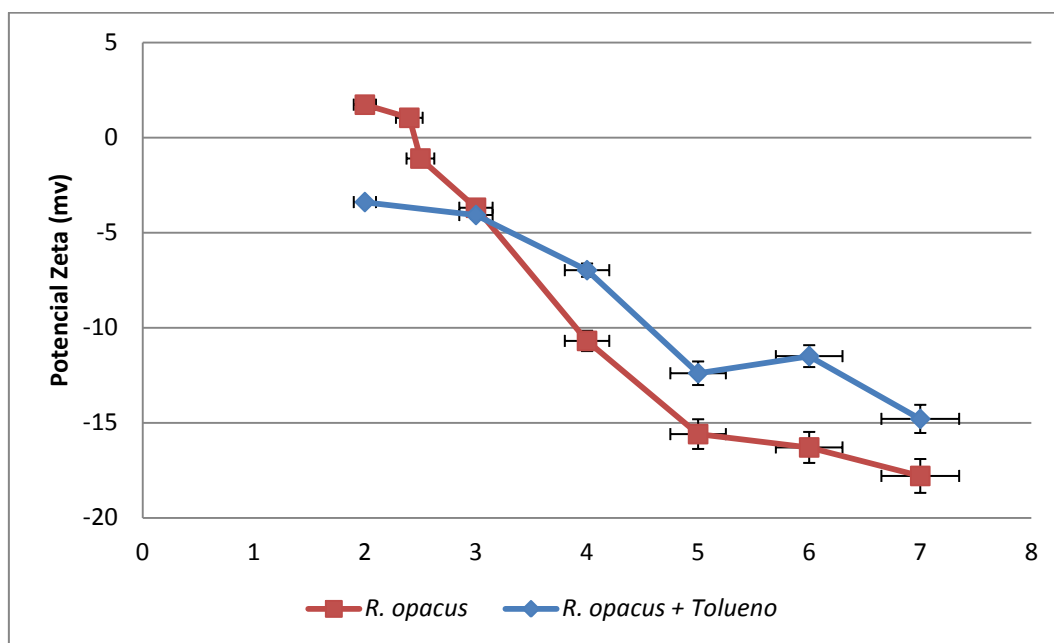


Figura 13: Curvas do Potencial Zeta antes e após a interação com tolueno. Concentração de NaCl  $10^{-3}$  M, biomassa 0,1 g/L e tolueno 0,05 mg/L.

A figura 13 mostra as curvas de potencial zeta antes e após a biossorção de tolueno para faixa de pH de 2 a 7. Estes resultados mostram que o ponto isoelétrico da bactéria é em torno de 2,4. Embora este valor não esteja semelhante a outros trabalhos que encontram o ponto isoelétrico em torno de 2,8 (BUENO, 2003; MERMA, 2012), essa diferença pode ocorrer relacionada a fatores como cultivo da estirpe microbiana ou sua procedência, que foi mencionada anteriormente na seção 4.2. (MERMA, 2008). Pode-se observar também que a interação do tolueno com a bactéria modificou o perfil da curva do potencial zeta, tornando a carga superficial da *R. opacus* negativa em todos os valores de pH, este resultado indica que houve uma possível interação entre o tolueno e os sítios ativos da bactéria, já que a carga superficial bacteriana sofre grande influência dos grupos funcionais que constituem sua parede (VENEU, 2011). Dentre os pH estudados não foi possível observar o ponto isoelétrico após a interação com tolueno.



O aumento do pH faz com que a carga superficial da *R. opacus* adquira carga mais negativa, o mesmo ocorre após a interação da *R. opacus* com o tolueno, porém com o decaimento menos acentuado, mostrando que as curvas possuem um comportamento semelhante entre si.

Segundo Gonçalves (2014) na parede da *R. opacus* os grupos funcionais que aparecem em maior quantidade são os -OH e C-H. A formação de cargas superficiais negativas após a interação com o tolueno pode ter ocorrido devido a dissociação dos grupos de hidroxilos presentes na *R. opacus* (CHAVES, 1999; RAIJ, 1973). A dissociação dos grupos funcionais depende do pH, com o aumento do pH há uma maior dissociação desses grupos, como carboxilas e hidroxilos, tornando a carga mais negativa em valores de pH básicos, o que pode ser observado na figura 13 (SELATNNIA, 2004).

### 5.1.2. Espectrometria de Infravermelho

As análises em espectro de infravermelho têm como objetivo detectar grupos funcionais presentes na parede da biomassa, os grupos detectados podem estar disponíveis e possivelmente envolvidos no processo de biossorção do tolueno. O espectro foi obtido entre 500 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  com a biomassa *R. opacus*, caracterizando suas principais bandas. A figura 14 apresenta os possíveis grupos.

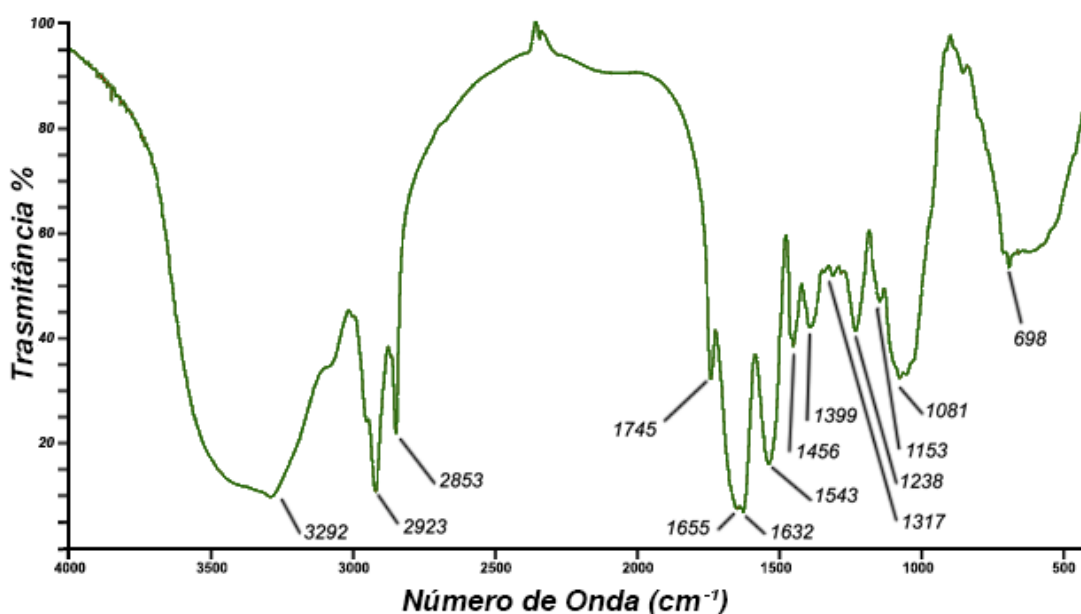


Figura 14: Principais bandas presentes na biomassa.

Tabela 6: Possíveis grupos funcionais encontrados na *R. opacus*. Fonte: BUENO, 2007.

Grupos Funcionais	Amostras $\text{cm}^{-1}$
-OH	3295
C-H	2920
C-H	2851
Grupo Amida I	1654
Grupo Amida II	1543
C-N	1458
C=O	1400
P=O	1250-1220
C-O	1064

A banda larga localizada entre  $3500 \text{ cm}^{-1}$  e  $3292 \text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à presença do grupo -OH presentes na maioria nas proteínas, ácidos graxos, carboidratos (STUARD, 2004; ASHKENAZY *et al.*, 1997). As regiões próximas a  $2920 \text{ cm}^{-1}$  e  $2851 \text{ cm}^{-1}$  podem ser avaliadas como vibrações do radical C-H, já a região  $1654 \text{ cm}^{-1}$  e  $1543 \text{ cm}^{-1}$  pode ser associada a grupos de Amida I e Amida II respectivamente (YUN *et al.*, 2001). As bandas para região  $1458 \text{ cm}^{-1}$  são associadas ao grupo C-N, indicando frações de proteínas. A banda de absorção que ocorre  $1400 \text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao grupo C=O e  $\text{COO}^-$  e, a de  $1250 \text{ cm}^{-1}$  e  $1220$  atribuídas aos grupos P=O (KAPOOR e VIRARAGHAVAN, 1997). A banda vibracional que ocorre no pico  $1064 \text{ cm}^{-1}$  são correspondentes ao grupo C-O.

Os grupos funcionais identificados acima estão de acordo com estruturas celulares descritas em bactérias gram-positivas, caracterizando a presença de proteínas, peptídeoglicano, ácidos teióicos e fosfolípidos (SILVAS, 2010).

## 5.2.

### Estudos de Biossorção

#### 5.2.1.

##### Curva da Calibração

Foi realizada curva de calibração para o tolueno (figura 15), que apresentou um comportamento linear para a faixa de concentração de 0,10 a 5 ppm, com coeficiente de correlação ( $R^2$ ) 0,9814, demonstrando uma boa relação de linearidade entre a concentração e o sinal analítico.

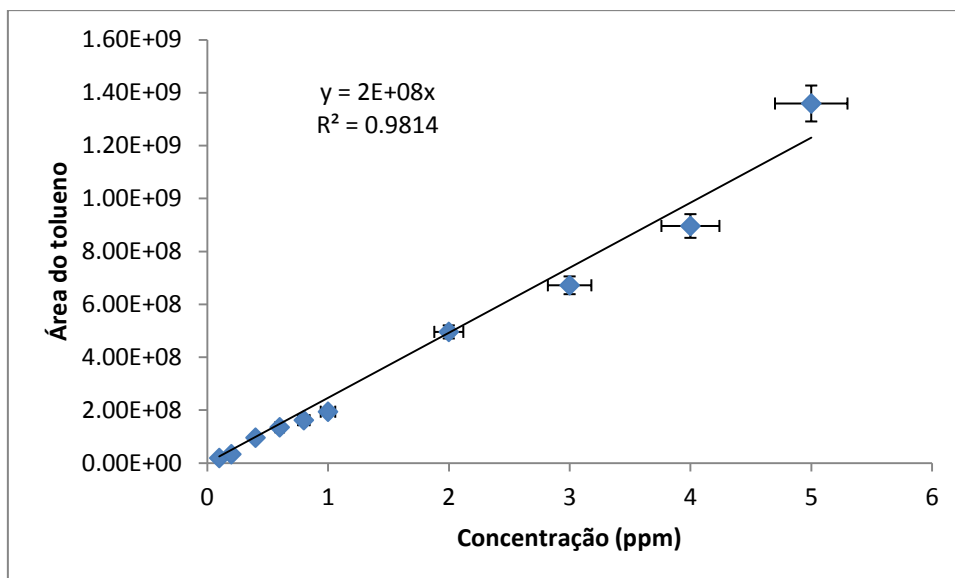


Figura 15: Curva de calibração para faixa 0,10 a 5 mg/L.

### 5.2.2. Efeito do Tempo de Contato

O primeiro experimento realizado foi o do tempo de contato, com o objetivo de verificar a influência do tempo de contato sobre a capacidade de adsorção da *R. opacus*.

A figura 16 mostra os resultados adquirido para a concentração de 1 mg/L de tolueno.

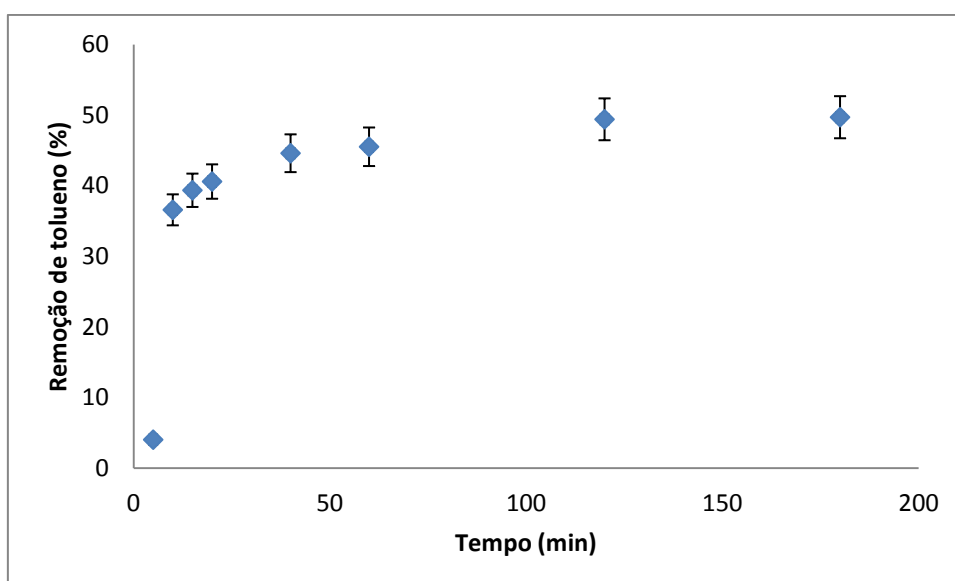


Figura 16: Curva de remoção de tolueno versus tempo em minutos. Com a concentração inicial de biomassa 1g/L. Concentração de tolueno 1 mg/L e pH 6.

Observa-se que na figura 16 que as porcentagens de remoção de tolueno pela *R. opacus* apresenta aumento consideráveis até 20 minutos, logo após esse tempo não houve um aumento significativo, por este motivo o tempo de 20 minutos foi escolhido como ótimo. Nos primeiros 10 minutos houve um grande acréscimo na remoção, segundo Srivastava (2005) este comportamento ocorre no início, pois há uma grande quantidade de sítios vazios para que ocorra a adsorção, com o decorrer do tempo, o número de sítios ativos diminui. Embora nos primeiros 5 minutos ainda exista uma grande quantidade de sítios vazios, esse intervalo de tempo não foi suficiente para ocorrer uma boa remoção. Um comportamento parecido ocorre na Biossorção do Corante azul 5G (Blue 5G dye) no bagaço de laranja (FIORENTIN *et al.*, 2010).

### 5.2.3.

#### Efeito da Concentração da Biomassa

O efeito da concentração de biossorvente na taxa inicial de captação do tolueno é mostrada na figura 17. A concentração foi variada de 1 a 2,5 g.L<sup>-1</sup> para determinar o efeito da concentração do microrganismo na taxa inicial de sorção.

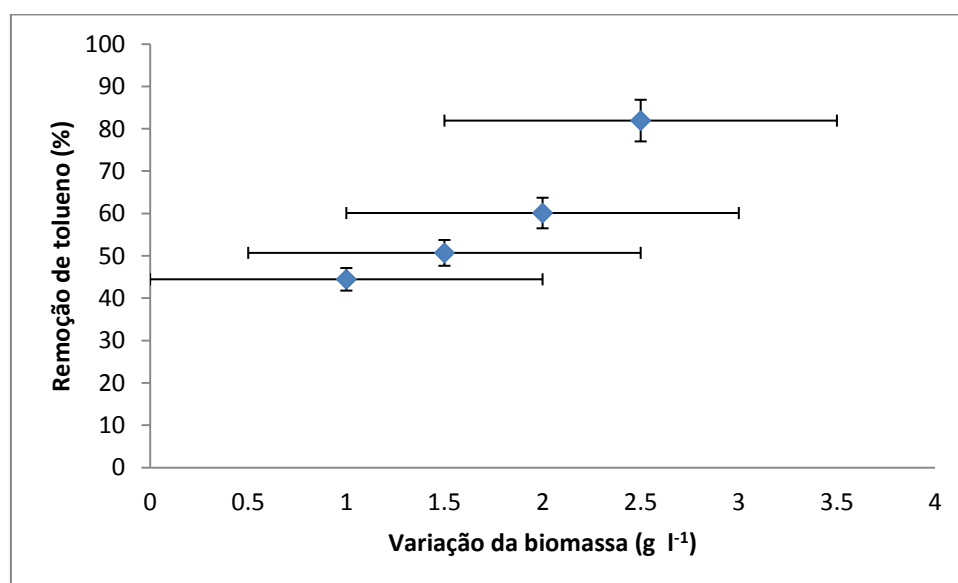


Figura 17: Efeito da concentração da biomassa. Concentração de tolueno 1 mg/L, tempo de contato 20 minutos e pH da solução 6.

Observa-se que houve um crescimento significativo ao longo da curva, e que com o aumento da concentração da biomassa a remoção foi maior, em torno de 82% para 2,5 g.L<sup>-1</sup>, esse valor pode ser atribuído ao aumento da área superficial

e o aumento de sítios livres. Sendo a área superficial uma das principais características que afeta a capacidade adsorptiva de um determinado adsorvente (SOARES, 2003). A figura 17 ainda mostra que existe um possível aumento na remoção de tolueno, já que não ocorreu o alcance do equilíbrio dentro da variação da biomassa estudada.

Em estudo realizado para avaliar a remoção de Pb (II) e Cr (III) pela *R. opacus*, observou-se que a maior remoção ocorreu com a concentração  $1\text{g.L}^{-1}$ , em torno de 80%, logo após houve um decaimento da curva de remoção, demonstrando que para esses metais é necessária uma concentração menor de bactéria, ou seja, uma menor área superficial para atingir o mesmo grau de remoção (BUENO, 2003).

#### 5.2.4. Efeito do pH

O pH mostra-se um parâmetro muito importante no processo de biossorção (ATKINSON *et al.*, 1998). Sua influência vai depender das características da superfície do adsorvente, como relatado na seção 3.2.2.2.

Verificou-se que a remoção de tolueno pela *R. opacus* não sofreu influência do pH, conforme mostra o gráfico da figura 18.

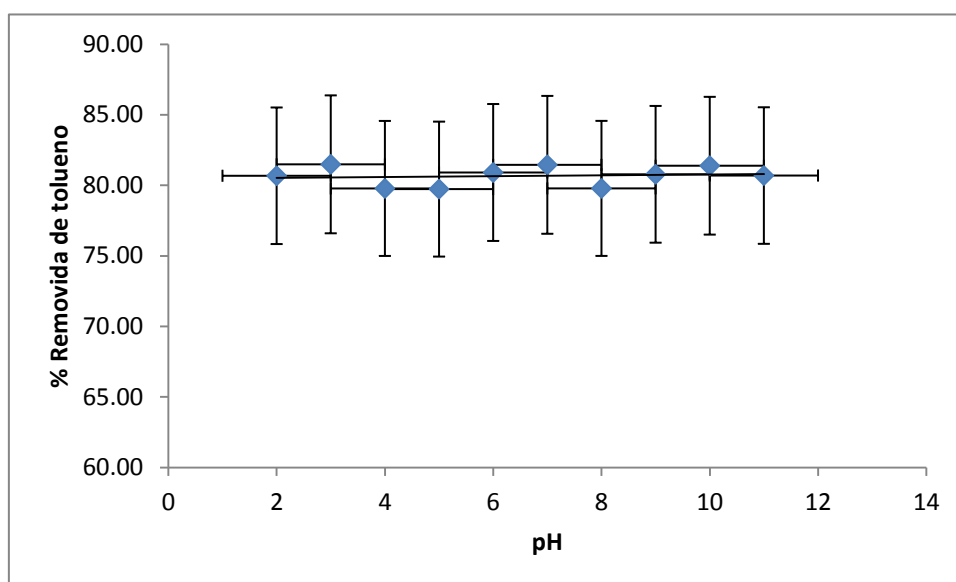


Figura 18: Efeito do pH na remoção de tolueno. Tempo de contato 20 minutos, concentração da biomassa 2,5 g/L e concentração de tolueno 1mg/L.

Sharma e Bhattacharyya (2005) relataram, ao estudar o efeito do pH em bioadsorção de corantes, que a capacidade de remoção se mantém constante com a variação de pH quando o mecanismo de interação eletrostática entre as moléculas do corante e os sítios ativos do adsorvente é fraco ou inexistente. Sugerindo uma possível adsorção envolvendo outro mecanismo de bioadsorção, já que cada um desses mecanismos não depende do pH da mesma maneira (LJUPKOVIC *et al.*, 2011).

Um comportamento semelhante foi descrito na remoção do corante azul de Metileno sobre zeólitas sintetizadas a partir de cinzas de carvão na faixa de 2 a 11 e também na adsorção do corante azul de metileno sobre resíduo de biogás na faixa de 4 a 10,5 (BRUNO, 2008; NAMASIVAYAM e YAMUNA, 1994).

Já na remoção de BTEX realizada com a semente de *Moringa oleífera*, ocorreu influência do pH na remoção de tolueno, uma maior remoção ocorreu no pH 7, próximo ao ponto isoelétrico da biomassa, caracterizado entre 7,08 e 8,13. Próximo ao ponto isoelétrico há uma maior interação eletrostática entre os grupos carregados e interações mínima com a água, ocorrendo, portanto, maior adsorção. Para valores de pH elevados ou menores que o ponto de carga zero, as proteínas presentes na superfície celular da *Moringa oleífera* apresentam, cargas elétricas positivas e negativas respectivamente, e as moléculas de água podem interagir com estas cargas, diminuindo a adsorção (ALMEIDA, 2004).

Como relatado na seção 3.4.2.2, o tipo de bioadsorvente pode influenciar na bioadsorção, em função do tipo e posição dos grupos funcionais (MELLAH *et al.*, 1997; BARROS, 2001).

Levando em consideração os dados apontados, uma vez que o pH não influencia o processo de bioadsorção, pode-se levantar a possibilidade de realização de tratamento de um efluente contaminado contendo não só tolueno, como algum outro metal também tratável através da utilização da *R. opacus*. A determinação do pH utilizado para realização do processo se apoiaria nos parâmetros definidos para adsorção do metal, já que para adsorção do tolueno qualquer pH utilizado acarretaria na mesma eficiência.

### 5.3 Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção descrevem a relação entre a quantidade de adsorvato removido pelo adsorvente  $Q_e$ , e a concentração de adsorvato restante na solução após o sistema ter atingido o equilíbrio. A quantidade adsorvida de tolueno foi determinada utilizando a equação (1). E testadas nos modelos de isoterma de Langmuir, Freundlich e Temkin.

$$Q_e = \frac{(C_o - C_e)}{m_s} * V \quad \text{Equação (1)}$$

Na qual  $C_o$  e  $C_e$  são as concentrações em (mg/L) no início e no final do equilíbrio respectivamente,  $m_s$  representa a massa (g) do adsorvente e  $V$  o volume (L) da solução tratada.

As condições experimentais utilizadas neste experimento foram: 2,5 g/L de adsorvente foram agitadas a 70 rpm em um agitador horizontal (Kline – Nova técnica) por 20 minutos com 0,03 L de solução de tolueno (pH 6), nas concentrações 0,6 a 5 mg/L à temperatura ambiente. Após esse período foi realizada a centrifugação da solução em uma centrífuga (Fanem – Excelsa II) com 3850 rpm durante 30 minutos. O sobrenadante é retirado e colocado em um *vial* de 20 mL contendo apenas 10 mL de solução. Este *vial* é lacrado por septo de teflon/silicone e uma tampa de alumínio, levado ao cromatografo a gás (BRUKER – scion- 456- CG), acoplado a espectrometria de massas CG-MS com amostrado automático *Headspace* estático (CAMBIPAL).

A partir dos resultados das análises do cromatografo a gás, acoplado a espectrometria de massas CG-MS com amostrado automático *Headspace* estático, pode-se calcular os valores de  $Q_e$  e  $C_e$  através da equação (1).

Tabela 7: Adsorção do Tolueno em contato *R. opacus*.

<i>R. opacus</i> (g/L)	$C_o$ (mg.L <sup>-1</sup> )	$C_e$ (mg.L <sup>-1</sup> )	$Q_e$ (mg.g <sup>-1</sup> )	% removida
2,5	0,6	0,02	0,232	95,99
2,5	0,8	0,11	0,276	85,69
2,5	1	0,18	0,328	82,00
2,5	2	0,47	0,612	76,35
2,5	3	0,87	0,852	70,90
2,5	4	1,28	1,088	68,09
2,5	5	1,99	1,204	60,24

A partir dos valores de  $C_e$  versus  $Q_e$  foi obtido a isoterma de adsorção do Tolueno em contato com a *R. opacus* (figura 19).

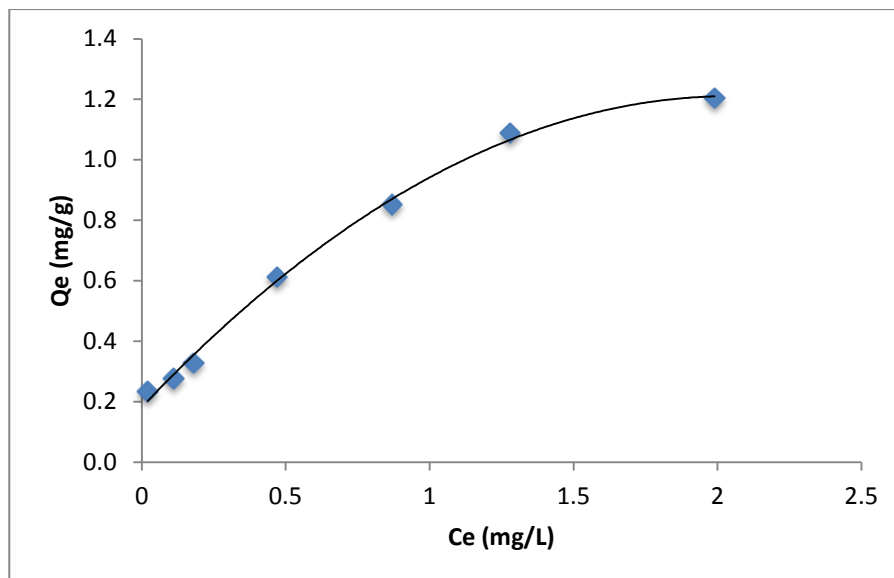


Figura 19: Isotherma de adsorção do Tolueno pela *R. opacus*; Concentração da Biomassa  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ ; tempo de contato de 20 minutos; pH 6.

A isoterma de adsorção do tolueno realizada na presença de *R. opacus* nos apresenta um comportamento favorável para a faixa de concentração estudada, 0,6- 0,8- 1- 2- 3- 4- 5 mg/L.

De acordo com McCABE (1993) o comportamento favorável significa que a massa do adsorvato retida por unidade de massa do adsorvente é alta para uma baixa concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluída. Giles e colaboradores (1960) classificaram as isotermas de uma forma mais detalhada baseado nas suas inclinações e curvas, o comportamento L descreve melhor a inclinação indicando que, quando os sítios disponíveis vão sendo preenchidos, fica mais difícil para as espécies do adsorvato encontrarem um sítio vazio (OLIVEIRA, 2011).

As linearizações das isotermas de adsorção do tolueno na presença de *R. opacus* foram realizadas para o modelo de Langmuir (figura 20), o modelo de Freundlich (figura 21) e Temkin (figura 22) utilizando as equações 1, 5, 9 e 8.



Tabela 8: Constante de adsorção do tolueno em contato com a *R. opacus*.

Langmuir			Freundlich			Temkin		
$Q_{\max}(\text{mg/g})$	$K(\text{L/mg})$	$R^2$	$K_f(\text{L/mg})$	$N$	$R^2$	$b$	$A(\text{L/mg})$	$R^2$
1,42	2,22	0,94	0,85	2,47	0,92	10861,7	54,0023	0,84

### 5.3.1 Langmuir

Observa-se na tabela 8 os valores obtidos pela isoterma do modelo de Langmuir, os dados experimentais ajustam-se de forma razoável a isoterma de Langmuir, como pode ser observado pelo valor do coeficiente de correlação  $R^2$ . O valor  $Q_{\max}$  obtido foi relativamente baixo, o que de acordo com a literatura indica pouca capacidade de adsorção. Na figura 20 observa-se o gráfico da isoterma de Langmuir com a aplicação dos dados experimentais.

A isoterma de Langmuir apresenta uma característica essencial, que é o fato de poder ser expressa em uma constante adimensional, conhecido como fator de separação ou parâmetro de equilíbrio ( $R_L$ ), definido pela equação 15, onde será indicada a forma da isoterma e se o processo de sorção é favorável, desfavorável, linear ou irreversível (ABBUD, 2010; OLIVEIRA, 2011).

$$R_L = \frac{1}{1 + k \cdot C_0} \quad \text{Equação (10)}$$

Onde  $K$  é a constante de Langmuir e  $C_0$  é a concentração inicial do tolueno. Este parâmetro irá indicar a forma da isoterma segundo a tabela 9. (Ho et al, 2003 apud ABBUD 2010).

Tabela 9: Valores do parâmetro de equilíbrio.

Valores de $R_L$	Tipos de isotermas
$R_L > 1$	Desfavorável
$R_L = 1$	Linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$R_L = 0$	Irreversível

Os valores de  $R_L$  para bioadsorção de Tolueno em contato com a *R. opacus* foram calculados de acordo com a equação 15, a uma temperatura de 25°C e foram apresentadas na tabela 8.

Tabela 10: Valores de  $R_L$  na bioadsorção de tolueno em contato com a *R. opacus*.

Temperatura °C	Concentração inicial (ppm)						
25	0,6	0,8	1	2	3	4	5
Valores de $R_L$ :	0,42	0,36	0,31	0,18	0,13	0,10	0,08

Como foi visto na tabela 9 os valores de  $R_L$  entre 0 e 1 sugerem uma adsorção favorável. Os valores de  $R_L$  das concentrações de tolueno encontra-se na faixa de 0 até 1, sendo assim uma adsorção favorável.

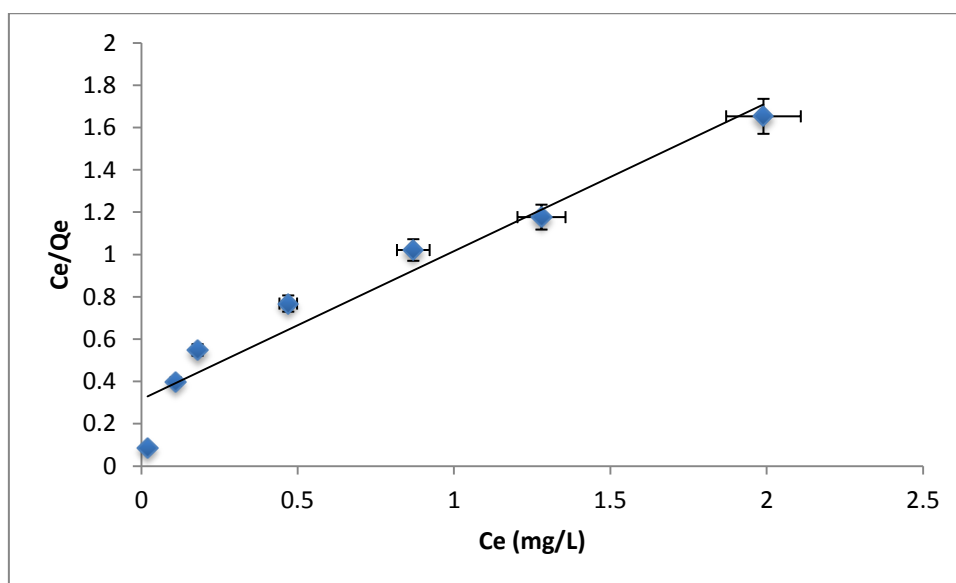


Figura 20: Linearização da isoterma de Langmuir para tolueno na presença de *R. opacus*; pH 6, biomassa 2,5 g/L, tempo de 20 minutos.

### 5.3.2 Freundlich

Na tabela 8 observam-se os dados para os valores do modelo de Freundlich, que apresentou também um valor razoável para o coeficiente de correlação  $R^2$ , porém um valor menor que para o modelo de Langmuir. O valor da constante  $N$  foi superior o valor da unidade, o que indica que o tolueno é adsorvido de forma favorável.

Segundo Brinques (2005), que utilizou o leito de carvão ativado para realizar a adsorção de tolueno, a equação de Freundlich falha na representação de dados de equilíbrio a baixas concentrações, pois não incorpora a lei de Henry, que relaciona a solubilidade de gases em líquidos.

Na figura 21 observa-se o gráfico da isoterma linearizada de Freundlich com a aplicação dos dados experimentais.

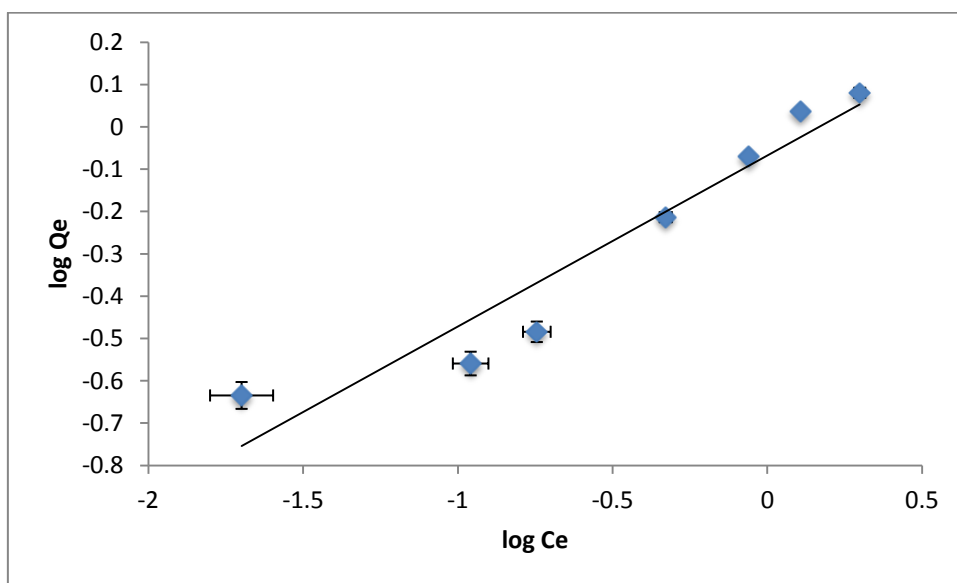


Figura 21: Linearização da isoterma de Freundlich para tolueno na presença de *R. opacus*; pH 6, biomassa 2,5 g/L, tempo de 20 minutos.

### 5.3.3 Temkin

Na figura 22 observa-se o gráfico da isoterma linearizada de Temkin.

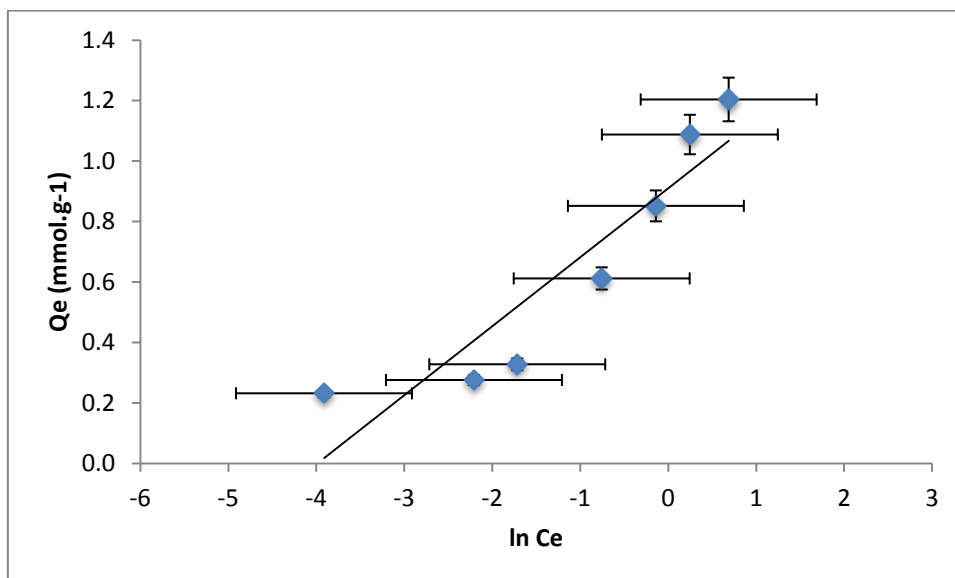


Figura 22: Linearização da isoterma de Temkin para tolueno na presença de *R. opacus*; pH 6, biomassa 2,5 g/L, tempo de 20 minutos.

Embora os estudos realizados por Moura *et al.* (2011) e Vital *et al.* (2011) sobre a adsorção de tolueno por organossílica modificada se ajustaram melhor a isoterma de Temkin, os resultados obtidos nesta dissertação se correlacionaram melhor com a isoterma de Langmuir, mesmo apresentando um baixo valor de  $Q_{max}$ . Este resultado sugere uma adsorção reversível, em monocamada, onde as espécies adsorvidas interagem somente com um sítio e não entre si, a energia de adsorção, que é a força de ligação criada entre a superfície e a espécie adsorvida, é a mesma em todos os sítios (REYNOLDS e RICHARDS, 1992; COONEY, 1999).

Nos trabalhos realizados por Hindarso *et al.* (2011) e Briques (2005) para remoção de tolueno, ambos utilizando leito de carvão ativado, os autores consideram que o modelo de Freundlich não descreveu adequadamente o equilíbrio a baixas concentrações, assim como no presente trabalho.

Os resultados encontrados por Santos (2015) foram os que mais se assemelharam aos resultados desta dissertação, onde foi utilizado casca de laranja para adsorção de Etilbenzeno, tendo o modelo de Langmuir ajustado de melhor forma aos dados experimentais, para as temperaturas de 250°C, 350 °C e 450°C.

Nenhum outro trabalho foi encontrado na literatura que possuísse um sistema semelhante a presente pesquisa, com sistema de bioissorção de tolueno em fase aquosa em contato com um bioissorvente.

## 6 Conclusões

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a remoção de tolueno de soluções aquosas através do processo de bioissorção utilizando bactéria *Rhodococcus opacus* como bioissorvente. O composto tolueno foi escolhido devido a sua alta toxicidade, periculosidade à saúde humana e ao meio ambiente, além de sua presença em diversos efluentes industriais, o que justifica uma busca de meios alternativos mais eficientes para o tratamento de águas em que este se encontre presente.

Os estudos de potencial zeta mostram que o ponto isoelétrico da estirpe analisada ficou entorno de 2,4. Para a interação entre a cepa *R. opacus* e o tolueno não foi possível caracterizar o ponto isoelétrico na faixa de pH estudada (2 a 11).

O estudo do tempo do processo bioissorção apontou que com 20 minutos de contato há alta taxa de remoção de tolueno. Verificou-se também que a interação entre a biomassa e o tolueno é consideravelmente rápida nos primeiros minutos, começando uma estabilização após 20 minutos de contato, a partir deste momento os sítios livres da bactéria começam a ficar mais escassos e a estabilização se inicia.

O aumento na concentração da biomassa repercute em um aumento da taxa de captação do tolueno através da bioissorção, o que pode ser atribuído ao aumento da área superficial e o aumento de sítios livres.

A capacidade de bioissorção do tolueno pela *R. opacus* não é influenciada pelo pH do meio, como os testes do referido parâmetro mostraram. Isto possibilitaria seu uso eficiente no processo de bioissorção de uma outra substância de forma simultânea.

Os dados obtidos experimentalmente foram aplicados aos modelos das isotermas de adsorção de Langmuir, Freundlich e Temkin, correlacionando melhor com a isoterma de Langmuir. O parâmetro RL indicou um processo de adsorção favorável para a faixa de concentração utilizada nos ensaios.

Os resultados obtidos apontaram a *R. opacus* como um promissor bioissorvente para a remoção de tolueno, principalmente para concentrações baixas, onde removeu 95,99 % e 85,69% das respectivas concentrações de 0,6 e

0,8 mg/L de tolueno, atendendo a resolução do CONAMA 357/2005 para águas salobras de Classe I.

## 7

## Referências Bibliográficas

ABBUD, J. S. **Biocaptation of Hg (II) by bacterium *Rhodococcus opacus***. Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro: Departamento de Engenharia de Materiais - PUC/RJ, 2010.

ABU AL-RUB, F. A.; EL-NAAS, M. H.; ASHOUR I.; AL-MARZOUQI, M. **Biosorption of copper on *Chlorella vulgaris* from single binary and ternary metal aqueous solutions**. Process Biochemistry, 2006. v. 41, p. 457- 464.

ADAMSON, A. W.; GAST, A. P. **Physical Chemistry of Surface**. ed. 6. New York: John Wiles e Sons, 1997.

AIVALIOTI, M. et al. **Removal of BTEX, MTBE and TAME from aqueous solutions by adsorption onto raw and thermally treated lignite**. Journal of Hazardous Materials, article in press, 2011.

AL-DEGS, Y.; KHRAISHEH, M. A. M.; ALLEN, S. J.; AHMAD, M. N. **Effect of carbon surface chemistry on the removal of reactive dyes from textile effluent**. Water Research, 2000. v. 34, n. 3, p. 927-935.

ALMEIDA, I. L. S. **Avaliação da capacidade de adsorção da torta de *Moringa oleifera* para BTEX em amostras aquosas**. Dissertação (Mestrado). Programa de pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2004.

ALVES, C. G. R. **Degradação de Compostos Orgânicos Voláteis Usando Catalisador SBA-15 Contendo Titânio**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Grande do Norte, 2012.

ANP. **Glossário do Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo e do Gás Natural – 2004**. Agência Nacional do Petróleo, 2004. Disponível em: <[www.anp.gov.br/doc/anuario2004/Glossario\\_do\\_Anuario\\_2004.pdf](http://www.anp.gov.br/doc/anuario2004/Glossario_do_Anuario_2004.pdf)> Acessado em: 16 mar. 2006.

ARTILHEIRO, A.S. **Química Orgânica II**. São Paulo: 2012.

ASHKENAZY, R.; GOTTLIEB, L.; YANNAI, S. **Characterization of acetone-washed yeast biomass functional groups involved in lead biosorption**. Biotechnology & Bioengineering, 1997. v. 55, p. 1-10.

ATKINSON, B. W.; BUX, B.; KASAN, H. C. **Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-**



**contaminated industrial effluents.** Water SA, abril 1998. v. 24, n. 2, p. 129-35.

AUGUSTO, F.; LOPES, A. L.; ZINI, C. A.; **Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances.** Trends in Analytical Chemistry, 2003. v. 22, p. 160-168.

BAIRD, C. **Química Ambiental.** Tradução Maria A. L. R. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622p.

BARROS, A. R. B. **Remoção de íons metálicos em água utilizando diversos adsorventes.** Florianópolis: 2001. Dissertação (Mestrado). Centro Tecnológico - UFSC. 89p.

BARROS, M. A. S. D.; ARROYO, P. A. **Métodos de remoção de Cromo de Águas Residuais.** In: Métodos de adsorção. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002.

BELL, K. S.; PHILP, D. W. J.; CHRISTOFI, N. **The genus *Rhodococcus*.** Journal of Applied Microbiology, 1998. v. 85, p. 195-210.

BERTIN, L. et al. **Biodegradation of polyethoxylated nonylphenols in packed-bed biofilm reactors.** Industrial & Engineering Chemistry Research, 2007. v. 46, p. 6681-6687.

BICCA, F. C.; FLECK, L. C.; AYUB, M. A. Z. **Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*.** Revista de Microbiologia, 1999. v. 30, p. 231- 236.

BISHNOI, N. R.; KUMAR, R.; KUMAR, S.; RANI, S. **Biosorption of Cr(III) from aqueous solution using algal biomass *spirogyra* spp.** Journal of Hazardous Materials, 2007. v. 145, n. 25, p. 142-147.

BORBA, T. R. **Estudo de Aplicação de biossorvente no tratamento de rejeitos radioativos líquidos contendo Amerício-241.** Dissertação (Mestrado). São Paulo: Ipen, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, Área Tecnologia Nuclear, 2010.

BOUKHLIFI, F.; BENCHEIKH, A. **Characterization of natural biosorbents used for the depollution of waste water.** Annales de Chimie Science des Matériaux, 2000. v. 25, p. 153-160.

BRAGA, B. et al. **Introdução à Engenharia Ambiental - O desafio do desenvolvimento sustentável.** 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.

BRINQUES, G.B. **Adsorção de Tolueno de solução Aquoso em Leito de Carvão Ativado em Planta Piloto.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

BRITO, F. V. et al. **Estudo da contaminação de águas subterrâneas por BTEX oriundas de postos de distribuição no Brasil**. In: 3º Congresso Brasileiro de P & D em Petróleo e Gás, 2005, Salvador. Salvador: Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás - IBP, 2005. Disponível em: <[http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0563\\_05.pdf](http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0563_05.pdf)>. Acessado em: 7 abr. 2015.

BROWN, T. L.; LeMAY Jr., H. E.; BURSTEN, B. E.; BURDGE, J. R. **Química - A ciência central**. 9. ed. São Paulo: Person Prentice Hall, 2005. 919p.

BRUNO, M. **Utilização de Zeolitas sintetizadas a partir de cinzas de carvão na remoção de corante em água**. São Paulo: 2008. Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - USP.

BUENO, B. Y. M. **Remoção de Pb, Cr e Cu por processo combinado de biossorção/bioflotação utilizando a cepa *Rhodococcus opacus***. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2003.

CAMARGO, J. R. et al. **An evaporative and desiccant cooling system for air conditioning in humid climates**. Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering, 2005. v. 27. p. 243-247.

CARVALHO, C. C. C. R.; FONSECA, M. M. R. **The remarkable *Rhododoccus erthropolis***. Applied Microbiology Biotchnology, 2005. v. 67, p. 715-726.

CAVALCANTI, R. M. et al. **Development of a headspace-gas chromatography (HS-GC-PIDFID) method for the determination of VOCs in environmental aqueous matrices**: Optimization, verification and elimination of matrix effect and VOC distribution on the Fortaleza Coast, Brazil. Microchemical Journal, 2010. v. 96, p. 337-343.

CENPES. **Caracterização do Efluente da Plataforma Curimã (PCR-1)**. 2005. RT AMA 024/2005. Relatório Técnico Parcial. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/C657C5D3/GTCONAMA ApresPetrobras.pdf](http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/C657C5D3/GTCONAMAApresPetrobras.pdf)> Acessado em: 3 abr. 2015.

CETESB. **Tolueno**. Companhia Nacional da Cidade de São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/tolueno.pdf>> Acessado em: 7 abr. 2015.

CHAKRABORTY, R.; COATES, J.D. **Anaerobic degradation of monoaromatic hydrocarbons**. Appl. Microbiol. Biotechnol, 2004. v. 64, p. 437-446.

CHAVES, H.G.L. **Alterações físico-hídricas relacionadas as propriedades eletroquímicas do solo**. Agropecuária Técnica. 1999. v. 20, n 1.

CIAPINA, E. M. P. et al. **Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* grown on glycerol as sole carbon source.** Applied Biochemistry Biotechnology, 2006. v. 131, p. 880-886.

CLARKE, E. A.; ANLIKER, R. **Organic dyes and pigments.** In: Handbook of environmental chemistry, anthropogenic compounds, vol. 3, part A. New York: Springer-Verlag, 1980. p. 181-215.

COLE, R. A. **The use of porous polymer for the collection of plant volatile.** Journal Science and Food Agriculture, 1980. v. 31, p. 1242-1249.

CONAMA. **Resolução 357.** Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acessado em: 7 abr. 2015.

DAIFULLAH, A. A. M.; GIRGIS, B. S.; GAD, H. M. H. **Utilization of agro-residues (rice husk) in small waste water treatment plans.** Materials Letters, 2003. v. 57, n. 11, p. 1723-1731.

DALTON, H.; STIRLING, D. I.; QUAYLE, J. R. **Co-metabolism.** Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1982. v. 297, p. 481-496.

DE NARDI, I. R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. **Kinetics of BTEX degradation in a packed-bed anaerobic reactor.** Biodegradation, 2007. v. 18, p. 83-90.

DEGANI, A.L.G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P.C. **Cromatografia: Um breve ensaio.** Química Nova na Escola, 1998. n. 7, p. 21-25.

DEMIRBAS, A. **Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review.** Journal of Hazardous Materials, 2008. v. 157, n. 2, p. 220-229.

DHANKHAR, R.; HOODA, A. **Fungal Biosorption** - an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. Environ. Techno., 2011. v. 32, p. 467-491.

DONAIRE, P. P. R. D. **Tratamento de água subterrânea contaminada com BTEX utilizando fotocatalise heterogênea.** Tese (Doutorado em Química Analítica). São Paulo: Instituto de Química, Unicamp, 2007. 100p.

DORNELLAS DE BARROS, M.A.; et al.; **Remoção de metais em água utilizando diversos adsorventes,** Revista Tecnológica, Ed especial, p.65-72, 2000.

DOTT, W. et al. **Comparison of *ex situ* and *in situ* techniques for bioremediation of hydrocarbon-polluted soils.** International biodeterioration and biodegradation, 1995. v. 35, p.301-316.

DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L. G.; GONÇALVES, J. O.; PINTO, L. A. A. **Remoção dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina de soluções aquosas utilizando carvão ativado, terra ativada, terra diatomácea, quitina e quitosana: estudos de equilíbrio e termodinâmica.** Química Nova: 2011. p. 1-7.

DOU, J.; LIU, X.; HU, Z. **Substrate interactions during anaerobic biodegradation of BTEX by the mixed cultures under nitrate reducing conditions.** Journal of Hazardous Materials, 2008. v. 158, p. 264-272.

ESPÓSITO, A. et al. **Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentration.** Hydrometallurgy, 2001. v. 60, p. 129-141.

FARHADIAN, M. et al. **Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors - A review.** Water research, 2008. v. 42, p. 1325-1341.

FARHADIAN, M. et al. **Accurate quatitative determination of monoaromatic compounds for the monitoring of bioremediation processes.** Bioresource Technology, 2009. v. 100, p. 173-178.

FARHADIAN, M. et al. **Biodegradation of toluene at high initial concentration in an organic-aqueous phase bioprocess with nitrate respiration.** Process Biochemistry, 2010. v. 45, p. 1758-1762.

FARIAS, R. S. **Avaliação de diferentes estratégias de remoção de BTEX em condições anaeróbias.** Ceará: 2013. Dissertação (Mestrado). Centro de Tecnologia - Departamento de Engenharia Hidráulica Ambiental - UFC.

FEBRIANTO, J. et al. **Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies.** Journal of Hazardous Materials, 2009. v. 162, p. 616-645.

FETTER, C. W. **Contaminant hydrogeology.** New York: Macmillan Publishing Company, 1993. 458p.

FINNERTY, W. R. **The biology and genetics of genus *Rhodococcus*.** Annual Reviews Microbiology, 1992. v. 46, p. 193-218.

FIORENTIN, D. L. **Isotermas de sorção do resíduo agroindustrial bagaço de laranja.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. Campina Grande: 2010. v. 14, n. 6.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. **Insights into the modeling of adsorption isotherm systems.** Chemical Engineering Journal, v. 156, p. 2-10, 1 jan. 2010. Disponível em:  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894709006147>>.

FORD, R. G.; SCHEINOST, A. C.; SPARKS, D. L. **Frontiers in metal sorption/precipitation mechanisms on soil mineral surfaces**. Advances in Agronomy, 2001. v. 74, p. 41-62.

FORTE, E. J. et al. **Contaminação de aquíferos por hidrocarboneto: estudo de caso na vila Tubi, Porto Velho-Rondônia**. Química Nova, 2007. v. 30, p. 1539-1544.

FOUST, A. S. **Princípios das operações unitárias**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982. 670p.

GADD, G. M. **Biosorption**: Critical Review of Science Rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. J. Chem. Technol. Biotechnol, 2009. v. 84, p. 13-28.

GADD, G. M.; FOMINA, M. **Biosorption**: Current perspectives on concept, definition and application. Bioresource Technology, 2014. v. 160, p. 3-14.

GESAMP. **The state of the marine environment**. Group of experts on the scientific aspects of Marine Pollution, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1990. 146p.

GESAMP. **The state of the marine environment**. Group of experts on the scientific aspects of Marine Pollution. Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment. Report and Study. GESAMP, 1993. n. 50, 180p.

GILES, C.H.; MAC EWAN, T.H.; NAKHWA, S.N. **Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids**. Journal of the Chemical Society, 1960. p. 3973-3993.

GOBATO, E. A. A. F; LANÇAS, F. M. **Comparação entre injeção na coluna ("on-column") e headspace dinâmico na determinação de benzeno, tolueno e xilenos (BTX) em amostras de água**. In: Quím. Nova. São Paulo: 2001. v. 24, n. 2, p. 176-179.

GOMES, L.M.B. **Remoção do cádmio de soluções aquosas utilizando fibra de coco da baía visando o tratamento de efluentes**. Tese de doutorado. UFRJ, 2000.

GOMES, N.C.M.; MENDOÇA-HAGLER, L.C.S.; SAVAIDIS, I. **Metal biorremediation by Microorganisms**. Revista de Microbiologia, 1998. n. 29, p. 359-371.

GUIEYSSE, B. et al. **Degradation of acenaphthene, phenanthrene and pyrene in a packed-bed biofilm reactor**. Applied microbiology and biotechnology, 2000. v. 54, n. 6, p. 826-831.

HAMDAOUI, O.; NAFFRECHOUX, E.; J. HAZARD. **Mater.** 2007, 147, 381-401.

HAMEED, B. H.; TAN, I. A. W.; AHMADA.L. **Adsorption isotherm, kinetic modeling and mechanism of 2,4,6-trichlorophenol on coconut husk-based activated carbon.** Chemical Engineering Journal, v. 144, p. 235-244, 15 out. 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894708000594>>

HINDARSO, H.; ISAMADJI, S.; WICAKSANA, F.; MUDJIJATI; INDRASWATI, N. **Adsorption of Benzene and Toluene from Aqueous Solution onto Granular Activated Carbon.** Journal of Chemical and Engineering Data, 2001. v. 46, p. 788.

HOMEM, E. M. **Remoção de chumbo, níquel e zinco em zeólita utilizando sistema de leito fluidizado.** Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, 2001. Tese (Mestrado). 112p.

IVSHINA, I. B.; KUYUKINA, M. S.; PHILP, J. C.; CHRISTOFI, N. **Oil desorption from mineral and organic materials using biosurfactant complexes produced by *Rhodococcus* species.** World Journal Microbiology Biotechnology, 1998. v. 14, p. 711-717.

JIMENEZ, R. S.; DAL BOSCO, S. M.; CARVALHO, W. A. **Remoção de metais pesados de efluentes aquosos pela zeólita natural escolecita - influência da temperatura e do pH na adsorção em sistemas monoelementares.** Química Nova, 2004. v. 27, n. 5, p.734-738.

JO, M. S. et al. **An analysis of synergistic and antagonistic behavior during BTEX removal in batch system using response surface methodology.** Journal of Hazardous Materials, 2008. v. 152, p. 1276-1284.

KADUKOVÁ, J.; VIRCIKOVÁ, E. **Comparison of differences between cooper bioacumation and biosorption.** Environment International, 2005. v. 31, p. 227-232.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. **Heavy metals biosorption sites in *Aspergillus niger*.** Bioresource Technology, 1997. v. 61, p. 221-227.

KHATTRI, S. D.; SINGH, M. K. **Colour Removal from synthetic dye wastewater using a bioadsorbent.** Water, Air, and Pollution, 2000. v. 120, p. 283-294.

KIRAN, I. et al. **Biosorption of Pb(II) and Cu(II) from aqueous solutions by pretreated biomass of *Neurospora crassa*.** Process Biochemistry, 2005. v. 40, p. 3550-3558.

KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B.; DEMOPOULOS, G. **Optimizing Cu removal/recovery in a biosorption column.** Water Research, 1997. v. 31, n. 9, p. 2327-2339.

KRYST, K.; KARAMANEV, D.G. **Aerobic phenol biodegradation in an inverse fluidized bed biofilm reactor.** Industrial & Engineering Chemistry Research, 2001. v. 40, n. 23, p. 5436-5439.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em Fase Gasosa.** São Carlos: Acta, 1993.

LIU, Y. **Some considerations on the Langmuir isotherm equation.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2006. v. 274, p. 34-36.

LJUPKOVIC, R. B. et al. **Removal Cu(II) ions from water using sulphuric acid treated Lagenaria vulgaris Shell (Cucurbitaceae).** 2011. Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Niš.

MALIK, A. **Metal bioremediation through growing cells.** Environ Int., 2004. v. 30, n. 2, p. 261-278.

MARGESIN, R.; SCHINNER, F. **Potencial of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology.** Extremophiles, 2001. v. 5, p. 73-83.

MARSILI, R. **Techniques for analyzing food aroma.** New York: Marcel Dekker Inc., 1997.

MASSALHA, N.; BASHERR, S.; SABBAH, I. **Effect of adsorption and bead size of immobilized biomass on the rate of biodegradation of phenol at high concentration levels.** Industrial & Engineering Chemistry Research, 2007. v. 46, p. 6820-6824.

MATHEICKAL, J. T.; YU, Q. **Biosorption of lead (II) and copper (II) from aqueous solutions by pretreated biomass of Australian marine algae.** Bioresource Technology, 1999. v. 69, p. 223-229.

MAZZEO, D. E. C. et al. **BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery.** Science of the Total Environment. 2010. v. 408, p. 4334-4340.

McCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit operations of chemical engineering.** 5. ed. New York: McGraw-Hill International Editions, 1993. 1130p.

McKAY, G. **Adsorption of dyestuffs from aqueous solutions with activated carbon I: Equilibrium and batch contact-time studies.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology. London: 1982. v. 32, n. 7, p. 759.

MELLAH, A.; CHEGROUCHE, S. **The Removal of Zinc from aqueous solutions by natural bentonite**. Centre de Developpement des Materiaux, Lab. The Trait. Des. Minerais, 1997. p.621-629.

MELLO, J. M. M. et al. **Simulação Numérica do Benzeno em um Reator de Leito Fluidizado**. Rio Oil & Gás 2006. Anais em CD, Rio de Janeiro, Brasil, 2006.

MELLO, J. M. M. **Biodegradação dos BTEX em um reator com biofilme**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Florianópolis: Centro de Tecnologia, UFSC, 2007. 151p.

MERMA, A. G. **Aspectos Fundamentais da Bioflotação do Sistema Apatita Quartzo usando a bactéria *Rhodococcus opacus* como Bioreagente**. Tese (Doutorado). Rio de Janeiro: Departamento de Engenharia de Materiais - PUC/RJ, 2012.

MERMA, A. G. **Eletrocoagulação aplicada a meios aquosos contendo óleo**. Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro: Departamento de Engenharia de Materiais - PUC/RJ, 2008.

MESQUITA, L. M. S.; LINS F. F.; TOREM M. L. **Interaction of a hydrophobic bacterium strain in a hematite-quartz flotation System**. International Journal of Mineral Processing, 2003. v. 71, p. 31-44.

MONTE, M. B. M.; PERES, A. E. C. **Química de superfície na flotação**. 2004. Disponível em: <<http://www.cetem.gov.br/publicacao/CTs/CT2004-187-00.pdf>>. Acesso em: 03 abr. 2015.

MONTE, M. B. M.; PERES, A. E. C. **Tratamento de minérios**. 4. ed. CETEM, 2004. p. 383.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Química Orgânica**. 10. ed. Tradução M. Alves da Silva. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1993. 1639p.

MOURA, C. P. et al. **Adsorption of BTX (benzene, toluene, o-xylene, and p-xylene) from aqueous solutions by modified periodic mesoporous organosilica**. Journal of Colloid and Interface Science, v. 363, p. 626-634, 15 nov. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979711009192>>.

NAMASIVAYAM, C.; YAMUNA, R.T. **Utilizing biogas residual slurry for dye adsorption**. Am. Dyestuff Rep., 1994. v. 83, p. 22-28.

NAMASIVAYAM, C. et al. **Waste Coir Pith – a potential biomass for the treatment of dyeing wastewasters**. Biomass and Bioenergy, 2001. v. 21, p. 477-483.



NASCIMENTO, R.F; LIMA, A.C.A; VIDAL, C.B; MELO, D.Q; RAULINO, G.S.C. **Adsorção: Aspectos Teóricos e Aplicações Ambientais**. Fortaleza, 2014. Editora Imprensa Universitária.

NOGUEIRA, P. C. L.; **Contribuição à química dos compostos voláteis e interações com os organismos receptores**. Campinas: 2002. Tese (Doutorado). Unicamp. 211p.

OHLEN, K. et al. **Enhanced degradation of chlorinated ethylenes in groundwater from a paint contaminated site by two-stage fluidizedbed reactor**. Chemosphere, 2005. v. 58, n. 3, p. 373-377.

OLIVEIRA, S. A. **Estudo de adsorção de Metais Pesados em Zeólitas Para Fins de Uso em Barreira Reativa**. Dissertação (Mestrado). Pós Graduação em Engenharia Civil, COPPE, URFJ, 2011.

OZER, A.; OZER, D. **Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae***: determination of biosorption heats. Journal of Hazardous Materials, 2003. v. B100, p. 219-229.

PAIXÃO, J. F. et al. **Estimating the gasoline components and formulations toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk**. Environmental Research, 2007. v. 103, n. 3, p. 365-374.

PARK, D.; YUN, Y-S.; PARK, J. M. **The past, present, and future trends of biosorption**. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2010. v. 15, n. 1, p. 86-102.

PARKS, G.A. **Adsorption in the Marine Environment**. In: SKIRROW, G; RILEY, J. P. Chemical Oceanography. 2 ed. New York: Academic Press, 1975. v. 6.

PARKS, G. A. **Aqueous surface chemistry of oxides and complex oxide minerals**. Isoelectric point and zero point of charge. Advances in Chemistry. 2009. v 67, p 121-160.

PEDROZO, M. F. M. et al. **Ecotoxicologia e Avaliação de Risco do Petróleo**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, Governo da Bahia, Secretaria do Planejamento, Ciência e Tecnologia, Salvador, 2002. 229p.

PHELPS, C. D.; YOUNG, L. Y. **Biodegradation of BTEX under anaerobic conditions**: a review. Advances in Agronomy, 2001. v. 70, p. 329-357.

PINO, G.A.H. **Biossorção da de Metais Pesados Utilizando Pó da Casca de Coco Verde (*Cocos nucifera*)**. Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro: Departamento de Engenharia de Materiais - PUC/RJ, 2005.

RAIJ, V. B. **Determinação do Ponto de Carga Zero em Solos**. Revista Científica do Instituto de Agronomia do Estado de São Paulo. 1973. v. 32, n. 18.

REDLICH, O.; PETERSON, D. L. **A useful adsorption isotherm**. Journal Chemistry and Physics, 1959. v. 63, p. 1024.

RESENDE, A. A. **Mecanismos de Gerais de Degradação Bacteriana dos Compostos Hidrocarbonetos Monoaromáticos (BTEX)**. Monografia, Pós graduação em Microbiologia Ambiental e Industrial. Belo Horizonte: Departamento de Microbiologia, UFMG, 2007.

RESTEK. **A technical guide for static headspace analysis using GC**. 2004. Disponível em: <<http://www.restek.com/pdfs/59895B.pdf>> Acessado em: 8 abr. 2015.

REYNOLDS, T. D.; RICHARDS, P. A. **Unit operations and processes in environmental engineering**. Boston: PWS publishing company, 1992.

RIBEIRO, R. et al. **BTEX removal in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor under denitrifying conditions**. Biodegradation, 2012. p. 269-278.

RICHARDS, J. H.; CRAM, D. J.; HAMMOND, G. S. **Elementos de Química Orgânica**. Tradução J. A. Alonso Folgueira; F. J. Aguilar Bartolome. México: Libros McGraw-Hill, 1971. 476p.

ROCHA, W. D. **Carvão ativado a partir de resíduos agrícolas e suas aplicações na adsorção de íons metálicos**. Ouro Preto: Escola de Minas da UFOP, 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral). 106p.

ROSELL, M.; LACORTE, S.; GINEBRED, A.; BARCELO, D. **Simultaneous determination of methyl tert-butyl ether and its degradation products, other gasoline oxygenates and benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in catalan groundwater by purge-and-trap-gas chromatography-mass spectrometry**. Journal of Chromatography A, 2003. v. 995, p. 171-184.

RUSSELL, J. B. **General Chemistry**. New York: McGraw-Hill, 1980.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption process**. United States of America: Wiley – Interscience Publication, 1984. p. 1-13, 221-270.

SANTAELLA, S. T. et al. **Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger***. Engenharia Sanitária e Ambiental, 2009. v. 14, p. 139-148. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/esa/v14n1/v14n1a15.pdf>> Acessado em: 7 abr. 2015.

SANTOS, C.M. **Uso de cascas de laranja como adsorvente de contaminantes no tratamento de água.** Dissertação de mestrado. Sorocaba, UNESP, 2015.

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

SELATNNIA, A. Et al. **Biosorption of Cd (II) from aqueous solutions by NaOH - treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass.** Hydrometallurgy, 2004. v. 75, p. 11-24.

SHENG, G. D. et al. **Kinetics and thermodynamics of adsorption of ionizable aromatic compounds from aqueous solutions by as-prepared and oxidized multiwalled carbon nanotubes.** Journal of Hazardous Materials, 2010. v. 178, n 1-3, p. 505-516.

SILVA, C. C. G. **Otimização de uma unidade de air stripping para remover BTEX de águas residuárias.** Dissertação (Mestrado). Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, 2004.

SILVAS, F. P. C. **Biotecnologia aplicada ao tratamento de drenagem ácida de mina.** Dissertação (Mestrado). USP, 2010.

SINDICOM. **Air Sparring.** Sindicato Nacional das Empresas Distribuidoras de Combustíveis e de Lubrificantes. Disponível em: <<http://www.nupprar.ufrr.br/site/sendfileDoc.php?file=YjM5MGYwNmJlZTA4OWYyNjQ4YzlwYjM3YzMyOTYwZmE=>> Acessado em: 7 abr. 2015.

SOARES, K.C.C. **Avaliação do uso de Bentonita na Preparação de Nanosistemas com Atividade Biológica.** 2003. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências da Saúde Faculdade de Farmácia - UFRJ.

SPOSITO, G. **The Chemistry of Soils.** New York: Oxford, 1989. 276p.

SRIVASTAVA, V.C. et al. **Adsorptive removal of phenol by bagasse fly ash and activated carbon:** Equilibrium, kinetics and thermodynamics. Colloids and Surfaces A: Physicochem, Engineering Aspects. Setembro 2005. v. 272, p. 89-104.

STRATTON, H.; BROOKS, P.; SERVIOUR, R. **Cell surface hydrophobicity and mycolic acid composition of *Rhodococcus* strains isolated from activated sludge foam.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2002. v. 28, p. 264-267.

STUART **Infrared Spectroscopy:** Fundamentals and Applications. ed. 1. John Wiley e Sons, Inc, 2004.

TAN, K. H. **Principles of Soil Chemistry**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2011. 362p.

TAVARES, T; SILVA, I. S.; GONÇALVES, J. **Desenvolvimento de biossorventes para remoção de crómio de efluentes industriais**. Portugal: 2009.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E. S. **Contamination of waters by BTXs and processes used in the remediation of contaminated sites**. Química Nova, 2004. v. 27, n. 3, p. 441-446.

USEPA. [a] **Priority Pollutants**. United States Environmental Protection Agency, 2012. Disponível em: <<http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm>> Acessado em: 7 abr. 2015.

USEPA. [b] **A Citizen's Guide to Air Stripping**. United States Environmental Protection Agency, setembro 2012. Disponível em: <<http://www.cluin.org/download/citizens/airstripping.pdf>> Acessado em: 7 abr. 2015.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. **Microextração em fase sólida**. Química nova, 2000. v. 23, p. 523-530.

VALENTIN, L. A. **Boas Práticas de Laboratório**: Aplicação para avaliar o Impacto Ambiental causado pelo Derrame de Derivados de Petróleo. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química de São Carlos, 2006.

VEGLIÓ, F.; BEOLCHINI, F. **Removal of metals by biosorption - a review**. Hydrometallurgy, 1997. v. 44, p. 301-316.

VENEU, D. M. **Tratamento de soluções aquosas contendo Zinco, Cobre e Cádmio por processo de combinado de Biossorção\Bioflotação**. Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro: Departamento de Matérias, PUC-Rio, 2011.

VÉKEY, K. **Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography**. Journal of Chromatography A., 2001. v. 921, p. 227-236.

VIDAL, C. B. et al. **Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons from aqueous solutions by modified periodic mesoporous organosilica**. Journal of Colloid and Interface Science, v. 357, p. 466-473, 15 maio 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979711001731>>.

VOLESKY, B. **Biosorbent materials**. Biotechnology and Bioengineering Symposium, 1986. v. 16, p. 121-126.

VOLESKY, B. **Biosorption of Heavy Metals**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990.

VOLESKY, B. **Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century**. Hydrometallurgy, 2001. v. 59, p. 203-216.

VOLESKY, B. **Sorption and Biosorption**. Canada: BV Sorbex, Montreal-St.Lambert, 2003. 316p.

WANG, X.S.; QIN, Y. **Equilibrium sorption isotherms for Cu (II) on rice bran**. Process Biochemistry, 2005. v. 40, p. 677-680.

WASE, J.; FORSTER, C. **Biosorbents for Metal Ions**. Taylor & Francis Ltd, 1997.

WHYTE, L. G. et al. **Physiological adaptations involved in alkane assimilation at a low temperature by *Rhodococcus* sp. Strain Q15**. Applied Environmental Microbiology, 1999. v. 65, n. 7, p. 2961-2968.

WHYTE, L. G. et al. **Prevalence of alkane monooxygenase genes in Arctic and Antarctic hydrocarbon-contaminated and pristine soils**. FEMS Microbiology Ecology, 2002. v. 41, p. 141-150.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Toluene in Drinking-water**. Disponível em: <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/toluene.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/toluene.pdf)> Acessado em: 7 abr. 2015.

XIE, J. Z.; CHANG, H. L.; KILBANE II, J. J. **Removal and Recovery of Metal Ions from Wastewater Using Biosorbents and Chemically Modified Biosorbents**. Bioresource Technology, 1996. v.57, p. 127-136.

YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. **Heavy metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii***. Water Research, 2003. v. 37, p. 4486-4496.

ZILOUEI, H. et al. **Biological degradation of chlorophenols in packed-bed bioreactors Using Mixed Bacterial Consortia**. Process Biochemistry, 2006. v. 41, n 5, p. 1083-1089.