

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ *CAMPUS* CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA:
RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO AMBIENTAL

**REMEDIÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS USANDO
BIOSURFACTANTE PRODUZIDO A PARTIR DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL**

LARISSA KUMMER

CASCAVEL - Paraná - Brasil

Fevereiro - 2014

LARISSA KUMMER

**REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS USANDO
BIOSURFACTANTE PRODUZIDO A PARTIR DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração em **Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental**.

Orientadora:

Profa. Dra. Simone Damasceno Gomes

Co-orientadores:

Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore

Prof. Dr. Vander de Freitas Melo

CASCADEL - Paraná - Brasil

Fevereiro - 2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Ficha catalográfica elaborada por Jeanine da Silva Barros CRB-9/1362

K98r Kummer, Larissa
Remediação de solos contaminados por metais pesados usando biossurfactante produzido a partir de resíduo agroindustrial. / Larissa Kummer — Cascavel, PR: UNIOESTE, 2014.
198 f.; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Damasceno Gomes
Coorientadora: Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore
Coorientador: Prof. Dr. Vander de Freitas Melo
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Agrícola,
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas.
Bibliografia.

1. Manipueira 2. Elementos-traço. 3. Isotermas. 4. Surfactina. 5. *Bacillus subtilis*. 6. Passivo ambiental. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

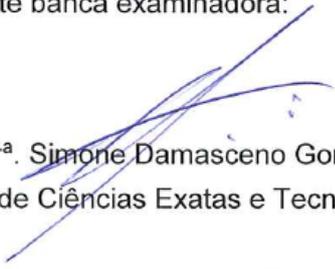
CDD 21. ed. 630

Texto revisado: português, inglês e normas por Dhandara Soares de Lima em 10/06/2014.

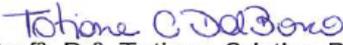
LARISSA KUMMER

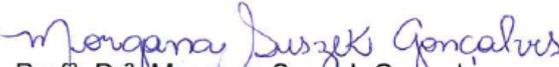
"Remediação de solos contaminados por metais pesados usando biossurfactante produzido a partir de resíduo agroindustrial"

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação "*Stricto Sensu*" em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, **aprovada** pela seguinte banca examinadora:

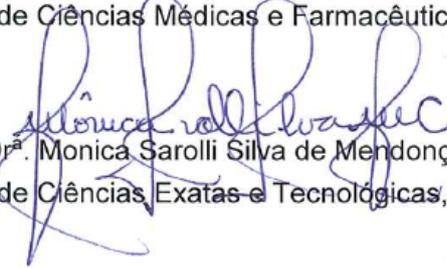


Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Damasceno Gomes
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Unioeste


Prof^a. Dr^a. Tatiane Cristina Dal Bosco
Coordenação de Engenharia Ambiental, UTFPR


Prof^a. Dr^a. Morgana Suszek Gonçalves
Departamento de Ambiental, UTFPR


Prof^a. Dr^a. Luciane Sene
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Unioeste


Prof^a. Dr^a. Monica Sarolli Silva de Mendonça Costa
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Unioeste

Cascavel, 21 de fevereiro 2014.

BIOGRAFIA RESUMIDA

Larissa Kummer, nascida em 27 de julho de 1983 na cidade de Curitiba, estado do Paraná. Graduada em Tecnologia em Química Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) câmpus Curitiba (2006) e mestre em Ciência do Solo pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) câmpus Curitiba (2008) com a dissertação intitulada “Mineralogia e fracionamento de metais pesados em solos de área de mineração e processamento de chumbo, Adrianópolis-PR”, sob orientação do Prof. Dr. Vander de Freitas Melo. No primeiro semestre de 2010 ingressou no Doutorado em Engenharia Agrícola: Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) Câmpus Cascavel, orientada pela Profa. Dra. Simone Damasceno Gomes. Em 2009 assumiu o cargo de professora de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico na UTFPR Câmpus Francisco Beltrão, onde permaneceu até 2012. Atualmente é professora da mesma instituição no câmpus Curitiba.

"Se tu estás verdadeiramente comprometido com tua meta, o universo inteiro conspira a teu favor para que apareçam os instrumentos e as pessoas que te permitirão lográ-la".

Goethe

"O sucesso nasce do querer, da determinação e da persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence os obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis".

José de Alencar

"Aquele que cede ante ao obstáculo, que desiste diante da dificuldade já perdeu a batalha sem a ter enfrentado. Não raro, o obstáculo e a dificuldade são mais aparentes que reais. Mais ameaçadores do que impeditivos. Só se pode avaliar após o enfrentamento. Ademais, cada vitória conseguida se torna aprimoramento da forma de vencer e cada derrota ensina a maneira como não se deve tentar a luta. Essa conquista é proporcionada mediante o esforço de prosseguir sem desfalecimento e insistir após cada pequeno ou grande insucesso. O objetivo deve ser conquistado, e, para tanto, a coragem do esforço contínuo é indispensável. Muitas vezes será necessário parar para refletir, recuar para renovar forças e avançar sempre. É uma salutar estratégia aquela que faculta perder agora o que é de pequena monta para ganhar resultados permanentes e de valor expressivo depois."

Joana De Ângelis

DEDICATÓRIA

Para que este projeto de enriquecimento profissional e pessoal se concretizasse foi necessário abdicar de muitas horas de convívio familiar, de muitos momentos de partilha e interação com aqueles que me são muito especiais.

Esta dedicatória vai para toda a minha família, especialmente meus pais, que me incentivaram, deram força e ajudaram sempre que necessário com toda a paciência. Dedico também aos meus amigos que me proporcionaram momentos de alegrias em diversas etapas em que me sentia desanimada e com dificuldades para continuar.

AGRADECIMENTOS

Quando iniciamos nossa jornada não imaginamos quanto trabalho vamos ter e então chega-se ao fim desta etapa e percebemos que sua conclusão só foi possível pois muitas pessoas colaboraram. Cada um foi muito especial durante todo este período de estudos e sou muito grata a todos, pois o valor de uma ajuda, orientação, análise, companhia, palavra e carinho são imensos! Quero aqui expressar de coração os meus agradecimentos a algumas pessoas em especial.

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela vida, pela saúde e pela força necessária para alcançar mais este objetivo;

A meus pais, por todo o amor, o carinho, os ensinamentos, pelo incentivo emocional e por serem meu porto seguro nas horas mais difíceis. A toda a minha família que sempre torceu pela minha vitória;

À minha orientadora, professora Simone Damasceno Gomes, pela confiança depositada em mim em todas as etapas desse trabalho, que aceitou o desafio de me orientar em uma nova área de pesquisa. Obrigada pela orientação, o carinho, a amizade, por toda a ajuda e por sempre acreditar em mim;

Ao professor Vander de Freitas Melo, pela co-orientação, em especial pela atenção, a paciência, os ensinamentos, a confiança e a amizade durante os já vários anos de convívio;

À co-orientadora professora Glaucia Maria Pastore, que gentilmente cedeu as instalações do laboratório de Bioaromas da Unicamp para a etapa de produção do biossurfactante;

À minha amiga e colega Morgana Suszek Gonçalves, pelo incentivo para iniciar o doutorado neste Programa de Pós-graduação e pelo seu companheirismo, sempre com palavras amigas de estímulo e encorajamento. Muito obrigada;

À querida amiga Natássia Jersak Cosmann, que me ajudou muito na preparação das amostras e análises no HPLC e que sempre esteve disposta a me auxiliar e trocar idéias sobre os biossurfactantes. Muito obrigada;

Aos amigos e colegas do programa, em especial a Shaiane Dal' Maso Lucas, Douglas Guedes Batista Torres, Cristiane Andreani, Natássia Jersak Cosmann, Larissa Schmatz Mallmann, que apesar de não termos a oportunidade de maior convívio, os encontros sempre foram agradáveis, de palavras de apoio uns com os outros. Agradeço pela amizade, pela cooperação e por sempre “quebrarem o galho” com matrículas e declarações quando da minha ausência em Cascavel;

À querida Adriana Zemiani, que mostrou ser muito mais que uma aluna que tive a oportunidade de orientar. Foi também a minha grande companheira de laboratório, incluindo feriados e finais de semana. Foi uma excelente amiga e colocou a “mão na massa”;

À Ana Paula Simiqueli, que gentilmente se dispôs a me ajudar e me acompanhar durante a etapa de preparação do biossurfactante na Unicamp. Sem você não teria sido possível. Muito obrigada;

Aos professores Sílvio César Sampaio, Vander de Freitas Melo, Luciane Sene e Marney Pascoli Cereda, que, como membros da banca de qualificação, contribuíram com importantes e enriquecedoras sugestões para a melhoria deste trabalho;

À banca de defesa, professoras Luciane Sene, Mônica Sarolli Silva de Mendonça Costa, Morgana Suszek Gonçalves e Tatiane Cristina Dal Bosco, pela disponibilidade em aceitar participar e compartilhar comigo deste momento tão importante, contribuindo com valiosas sugestões para o meu enriquecimento acadêmico e profissional;

Aos professores Marcio Antônio Vilas Boas e Pitágoras Augusto Piana pelos ensinamentos e a atenção durante a análise estatística dos dados experimentais;

Ao técnico do Laboratório de Saneamento Ambiental Edison Cunha, pela ajuda, a presteza, a boa vontade e o profissionalismo na realização das análises de absorção atômica;

Ao professor Ivo Mottin Demiate, pela boa vontade e a agilidade na realização das análises de infravermelho na Universidade Estadual de Ponta Grossa;

Ao professor Julio Cesar Klein das Neves e ao técnico de laboratório Alexandre, pela disponibilidade e atenção na realização das análises de Difração de Raios-X na UTFPR-CT;

À Maria Aparecida Carvalho e Brenda Buschle, que me ajudaram na preparação das amostras para análise da mineralogia;

À Panthy Michelle Boffe, aluna de iniciação científica que me ajudou nas atividades de laboratório;

À direção, aos docentes e aos funcionários do câmpus de Francisco Beltrão da UTFPR pelo apoio e a cooperação durante o período da realização deste trabalho;

Aos colegas do câmpus Curitiba da UTFPR pela colaboração e a troca de ideias em diversos momentos;

Ao professor Julio Cesar Rodrigues de Azevedo, que sempre esteve disposto a colaborar e ao seu aluno Mauricius, que foi fundamental para me auxiliar e para viabilizar o uso de diversos equipamentos no laboratório;

Ao senhor Ivanildo Passareli da Emater, que mostrou-se pronto e disposto a realizar a coleta das amostras de solo na região noroeste do Paraná;

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e a todos os seus docentes pela oportunidade e aprendizado;

À Fundação Araucária de Apoio à Pesquisa pelo financiamento deste projeto;

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS USANDO BIODISSURFACTANTE PRODUZIDO A PARTIR DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL

RESUMO

Concentrações elevadas de metais pesados no solo podem afetar a sustentabilidade dos ecossistemas e também a saúde dos seres humanos e animais. A disponibilidade do metal no ambiente está relacionada às características de cada elemento, histórico e fonte de contaminação, bem como às propriedades de cada solo. A presença de mais de um elemento em áreas contaminadas é comum e a interação entre eles pode afetar o seu comportamento no ambiente. Diante do problema, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de estudar o comportamento dos metais em diferentes tipos de solos e assim auxiliar nos processos de remediação. Nos últimos anos, a lavagem do solo com biodissurfactante tem sido apresentada como um método promissor de remediação com pequeno ou nenhum efeito sobre as características físico-químicas e microbiológicas do solo, porém os custos de obtenção deste biodissurfactante ainda são altos, pois a maioria dos fabricantes utiliza meios artificiais para sua produção. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo geral avaliar o potencial de remediação do biodissurfactante obtido a partir do bioprocessamento da manipueira pela ação de bactérias *Bacillus subtilis*. Este biodissurfactante foi caracterizado como surfactina, um lipopeptídeo aniônico. Foram utilizados solos de origens distintas, sendo um deles típico da região sudoeste do estado do Paraná e outro da região noroeste. Os solos utilizados foram primeiramente avaliados de acordo com o seu potencial de adsorção dos elementos cobre, zinco e chumbo em condições monometálicas e multimetálicas, representando condições não-competitivas e competitivas, respectivamente. Esta avaliação foi feita por meio de testes de adsorção e aplicação de modelos matemáticos de Langmuir e Freundlich. Os solos foram caracterizados química, física e mineralogicamente. A partir de então realizou-se o processo de contaminação artificial destes solos para posterior aplicação dos experimentos de lavagem com o biodissurfactante em diferentes condições, sendo as variáveis pH e concentração da solução de biodissurfactante como as principais. Além disso, também foi avaliada a capacidade de adsorção dos metais pelo próprio biodissurfactante, em meio líquido. Os resultados mostraram que os metais apresentam comportamentos distintos quanto a adsorção e dessorção ao solo e ao biodissurfactante. O tipo de solo também é muito importante para a avaliação da eficiência de remoção de metais. O solo argiloso apresentou maior capacidade de adsorção e conseqüentemente menor capacidade de remoção dos metais quando comparado ao solo arenoso. De modo geral, os solos apresentaram a seguinte seqüência de capacidade de adsorção: Pb > Cu > Zn. O Pb foi o elemento que menos dessorveu pelos processos de lavagem. Foi possível também concluir que quando os solos estão contaminados por mais de um elemento ao mesmo tempo, a capacidade de lixiviar-se é maior do que quando o elemento está sozinho no meio. Esta situação ocorre em virtude dos processos competitivos existentes entre os sítios ativos. Os experimentos de lavagem mostraram que o biodissurfactante não foi capaz de melhorar a eficiência de remoção dos metais. Os resultados obtidos pelos tratamentos controle (somente água pura) tiveram valores muito semelhantes aos que continham biodissurfactante. Quando a solução de lavagem continha o biodissurfactante em altas concentrações, foi encontrada, em algumas amostras, queda na eficiência de remoção. Análises de cromatografia líquida permitiram concluir que o biodissurfactante foi adsorvido às amostras de solo, sendo esta a conseqüência da não observação da eficácia do extrator na remoção dos metais. Cabe ressaltar, entretanto, que a surfactina obtida apresenta potencial de ligar-se aos metais, uma vez que os testes de adsorção desta aos metais foi confirmado pelos experimentos realizados. De acordo com os resultados encontrados, pode-se inferir que a surfactina tem maior potencial de remoção de metais em meio líquido do que em meio sólido, devido a menor possibilidade de adsorção na matriz sólida. Em solo, os resultados indicaram potencial de utilização deste biodissurfactante como agente de estabilização dos metais em métodos de remediação "in situ".

PALAVRAS-CHAVE: manipueira, elementos-traço, isotermas, surfactina, *Bacillus subtilis*, passivo ambiental.

REMEDICATION OF CONTAMINATED SOILS BY HEAVY METALS APPLYING BIOSURFACTANT PRODUCED FROM AGROINDUSTRIAL WASTE

ABSTRACT

High concentrations of heavy metals in the soil can affect the sustainability of ecosystems and the health of humans and animals. The metal availability in the environment is related to the characteristics of each element, historical and source of contamination, as well as the properties of each soil. The presence of more than one element is common in contaminated areas and their interaction can affect their behavior in the environment. Researches have been developed to study the behavior of metals in different types of soils and thus help in cases of remediation. In recent years, the soil washing with biosurfactant has been presented as a promising method of remediation with little or no effect on the physico-chemical and microbiological characteristics of the soil, but the costs of obtaining this biosurfactant are still high, because most manufacturers use artificial means for production. Thus, this study had the objective of evaluating the remediation potential of the biosurfactant obtained from the fermentation of cassava water through the action of the bacteria *Bacillus subtilis*. This biosurfactant was characterized as surfactin, an anionic lipopeptide. Soils of different origins were used, one of them typical of the southwestern state of Paraná and the other from the northwest. The soils were first evaluated according to their potential for adsorption of the elements copper, zinc and lead in monometallic and multimetallic conditions, representing non-competitive and competitive conditions respectively. This evaluation was carried out by tests of adsorption and application of the mathematical models of Langmuir and Freundlich. Soils were characterized chemically, physically and mineralogically. After that, it was performed the process of artificial contamination of these soils for application in the experiments of soil washing with biosurfactant in different conditions, having pH and concentration of biosurfactant solution as the main variables. Furthermore, it was also assessed the adsorption's capacity for metals by biosurfactant in liquid medium. The results showed that metals have different behaviors related to the adsorption and desorption to soil and to the biosurfactant. The soil type is also very important for the efficiency of metal removal. The clay soil showed higher adsorption capacity and therefore lower capacity of metal removal when compared to the sandy soil. In general, the soils showed the following sequence of adsorption capacity: $Pb > Cu > Zn$. The Pb was the element that less desorbed by the washing process. It can also be concluded that, when soils are contaminated by more than one element at the same time, its ability to leach is greater than when the element is alone in the medium. This situation occurs because of differences between the competitive processes that take place in the active sites. The washing experiments showed that the biosurfactant was not able to improve the efficiency of removal of metals. The results obtained by the control treatments (only pure water) had very similar values to those that contained biosurfactant. When the wash solution containing the biosurfactant was in high concentrations, decrease in removal efficiency was found in some of the samples. Analysis of high performance liquid chromatography showed that the biosurfactant was adsorbed to soil samples, which is the consequence of not observing the effectiveness of the extractor in the removal of metals. It is notable, however, that the surfactin obtained has the potential to bind to metals, since the tests of adsorption to metals was confirmed by experiments. According to the results obtained, it can be inferred that the surfactin has greater potential for metal removal in liquid media than in solid medium, because of the lower possibility of adsorption. In soil, the results indicated potential use of this biosurfactant as stabilizing of metals in methods of remediation "in situ".

KEY-WORDS: cassava water, trace elements, isotherms, surfactin, *Bacillus subtilis*, environmental liabilities.

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| LISTA DE ABREVIATURAS | xvi |
| LISTA DE FIGURAS..... | xvii |
| LISTA DE TABELAS..... | xix |
| ESTRUTURA DA TESE – APRESENTAÇÃO GERAL..... | xxi |
| | |
| CAPÍTULO 1 – ADSORÇÃO INDIVIDUAL E COMPETITIVA DE COBRE, ZINCO E CHUMBO EM DOIS TIPOS DE SOLOS | 1 |
| RESUMO | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| 1.1 INTRODUÇÃO | 3 |
| 1.2 OBJETIVOS | 5 |
| 1.2.1 Objetivo geral | 5 |
| 1.2.2 Objetivos específicos..... | 5 |
| 1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 6 |
| 1.3.1 Adsorção | 6 |
| 1.3.2 Isotermas de adsorção | 7 |
| 1.3.2.1 Isoterma de Freundlich..... | 7 |
| 1.3.2.2 Isoterma de Langmuir..... | 8 |
| 1.3.3 Comportamento de adsorção dos metais..... | 10 |
| 1.3.3.1 Comportamento individual de adsorção dos metais..... | 11 |
| 1.3.3.2 Adsorção em sistemas competitivos | 15 |
| 1.4 MATERIAL E MÉTODOS..... | 17 |
| 1.4.1 Solos e amostragem..... | 17 |
| 1.4.2 Preparação e caracterização das amostras | 19 |
| 1.4.2.1 Análises químicas dos solos | 19 |
| 1.4.2.2 Análise granulométrica dos solos..... | 19 |
| 1.4.2.3 Quantificação dos óxidos de ferro menos cristalinos | 19 |
| 1.4.2.4 Quantificação dos óxidos de ferro mais cristalinos | 19 |
| 1.4.2.5 Identificação mineralógica por difratometria de raios X (DRX)..... | 20 |
| 1.4.3 Ensaio de adsorção de metais | 20 |
| 1.4.3.1 Linearização das equações de adsorção | 21 |
| 1.4.4 Contaminação dos solos artificialmente | 22 |
| 1.4.5 Determinação dos teores totais de metais pesados no solo | 23 |
| 1.4.6 Fracionamento dos metais em diferentes constituintes do solo..... | 23 |

| | |
|--|----|
| 1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 26 |
| 1.5.1 Características das amostras de solo | 26 |
| 1.5.2 Composição mineralógica da fração argila | 27 |
| 1.5.3 Efeito das características das amostras de solo na adsorção dos metais | 29 |
| 1.5.4 Adsorção real dos metais após contaminação artificial..... | 39 |
| 1.5.5 Distribuição dos metais nas diferentes frações do solo | 41 |
| 1.6 CONCLUSÕES | 45 |
| 1.7 REFERÊNCIAS..... | 46 |

CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PRODUZIDO A PARTIR DA MANIPUEIRA E AVALIAÇÃO DA SUA CAPACIDADE DE ADSORÇÃO DE COBRE, ZINCO E CHUMBO

| | |
|--|----|
| RESUMO | 55 |
| ABSTRACT | 56 |
| 2.1 INTRODUÇÃO | 57 |
| 2.2 OBJETIVOS | 58 |
| 2.2.1 Objetivo geral | 58 |
| 2.2.2 Objetivos específicos..... | 58 |
| 2.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 59 |
| 2.3.1 Surfactantes químicos e biossurfactantes..... | 59 |
| 2.3.1.1 Saponina | 62 |
| 2.3.1.2 Ramnolípido..... | 62 |
| 2.3.1.3 Surfactina | 63 |
| 2.3.2 Concentração micelar crítica (CMC) | 64 |
| 2.3.3 Resíduos agroindustriais e a produção de biossurfactantes..... | 66 |
| 2.3.4 Equilíbrio e cinética de adsorção..... | 68 |
| 2.3.4.1 Bioadsorção..... | 69 |
| 2.4 MATERIAL E MÉTODOS..... | 70 |
| 2.4.1 Produção do biossurfactante..... | 70 |
| 2.4.1.1 Caracterização do substrato..... | 70 |
| 2.4.1.2 Extração do surfactante..... | 71 |
| 2.4.2 Estudo da atividade superficial nos extratos | 71 |
| 2.4.3 Índice de emulsificação do surfactante | 72 |
| 2.4.4 Caracterização do biossurfactante por espectroscopia de infravermelho..... | 72 |
| 2.4.5 Caracterização do biossurfactante por cromatografia líquida de alta eficiência ... | 73 |
| 2.4.6 Isotermas de adsorção para os íons Cu, Zn e Pb | 73 |
| 2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 74 |
| 2.5.1 Atividade superficial..... | 74 |

| | |
|--|-----|
| 2.5.2 Índice de emulsificação | 75 |
| 2.5.3 Caracterização do biossurfactante por espectroscopia de infravermelho | 77 |
| 2.5.4 Caracterização do biossurfactante por HPLC | 79 |
| 2.5.5 Adsorção dos metais pelo biossurfactante | 81 |
| 2.6 CONCLUSÕES | 84 |
| 2.7 REFERÊNCIAS | 85 |
| | |
| CAPÍTULO 3 – REMOÇÃO DE METAIS PESADOS COM BIOSURFACTANTE PELO MÉTODO DE LAVAGEM DO SOLO | 92 |
| RESUMO | 92 |
| ABSTRACT | 93 |
| 3.1 INTRODUÇÃO | 94 |
| 3.2 OBJETIVOS | 96 |
| 3.2.1 Objetivo geral | 96 |
| 3.2.2 Objetivos específicos | 96 |
| 3.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 97 |
| 3.3.1 Contaminação do solo por metais pesados | 97 |
| 3.3.2 Técnicas de remediação do solo | 101 |
| 3.3.3 Biossurfactantes e remediação de áreas contaminadas | 105 |
| 3.3.3.1 Ação dos surfactantes sobre os metais pesados | 106 |
| 3.3.3.2 Influência do pH e do tipo de surfactante | 110 |
| 3.3.3.3 Influência do tipo de solo e da combinação de metais no solo | 111 |
| 3.4 MATERIAL E MÉTODOS | 114 |
| 3.4.1 Origem dos solos | 114 |
| 3.4.2 Origem do biossurfactante | 115 |
| 3.4.3 Experimentos de lavagem do solo | 115 |
| 3.4.3.1 Planejamento experimental nº I | 116 |
| 3.4.3.2 Planejamento experimental nº II | 117 |
| 3.4.3.3 Planejamento experimental nº III | 118 |
| 3.4.3.4 Planejamento experimental nº IV | 119 |
| 3.4.4 Caracterização do biossurfactante por cromatografia líquida de alta eficiência | 119 |
| 3.4.5 Espectroscopia de infravermelho em solos lavados com biossurfactante | 119 |
| 3.4.6 Ensaio de lixiviação em colunas de solo | 120 |
| 3.4.7 Fracionamento de metais nos diferentes constituintes do solo | 121 |
| 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 124 |
| 3.5.1 Planejamento Experimental nº I | 124 |
| 3.5.2 Planejamento experimental nº II | 136 |

| | |
|---|-----|
| 3.5.3 Planejamento experimental nº III..... | 142 |
| 3.5.4 Planejamento Experimental nº IV..... | 146 |
| 3.5.5 Experimentos de lixiviação..... | 150 |
| 3.5.6 Extração sequencial..... | 154 |
| 3.5.6.1 Cobre no solo arenoso..... | 154 |
| 3.5.6.2 Zinco no solo arenoso..... | 155 |
| 3.6 CONCLUSÕES..... | 157 |
| 3.7 REFERÊNCIAS..... | 159 |
| | |
| CONCLUSÕES GERAIS..... | 171 |
| RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... | 172 |
| APÊNDICES..... | 173 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------|--|
| AAS | Espectrometria de Absorção Atômica |
| Al | Alumínio |
| Cd | Cádmio |
| CMC | Concentração micelar crítica |
| Cr | Cromo |
| Ct | Caulinita |
| CTC | Capacidade de troca de cátions |
| DCCR | Delineamento composto central rotacional |
| Cu | Cobre |
| Fe | Ferro |
| FTIR | Espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier |
| Gb | Gibbsita |
| Gt | Goethita |
| Hm | Hematita |
| HPLC | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| LAS | Alquilbenzeno sulfonato linear |
| Mi | Mica |
| Mn | Manganês |
| MO | Matéria orgânica |
| Ni | Níquel |
| Pb | Chumbo |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| Qz | Quartzo |
| SC | Sistema competitivo |
| SDBS | Dodecilbenzeno sulfonato de sódio |
| SDS | Dodecil sulfato de sódio |
| SNC | Sistema não-competitivo |
| TFSA | Terra fina seca ao ar |
| TS | Tensão superficial |
| UNICAMP | Universidade Estadual de Campinas |
| UNIOESTE | Universidade Estadual do Oeste do Paraná |
| UTFPR-CT | Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Curitiba |
| UTFPR-FB | Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão |
| Zn | Zinco |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|------|
| Figura 1 Fluxograma geral da estrutura da tese..... | xxii |
| Figura 2 Especificação química aquosa monomérica de Pb prevista em função do pH (a) e previsão de estabilidade de campo Eh-pH para o Pb (b). | 12 |
| Figura 3 Coleta dos solos em áreas de preservação permanente (APP): solo A – Francisco Beltrão (a) e solo B – São Pedro do Paraná (b) | 17 |
| Figura 4 Localização dos pontos de amostragem dos solos no estado do Paraná. | 18 |
| Figura 5 Esquema do método de extração sequencial aplicado nos solos em estudo. | 25 |
| Figura 6 Difração de raios X da fração argila do solo A (a) e do solo B (b). | 28 |
| Figura 7 Difractogramas de raios X de amostras orientadas da fração argila desferrificada do solo A ao serem submetidas aos tratamentos com Mg, Mg com etilenoglicol, K e K com aquecimento a 550 °C. | 29 |
| Figura 8 Isotermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema não-competitivo, para o solo argiloso (Solo A). | 31 |
| Figura 9 Isotermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema não-competitivo, para o solo arenoso (Solo B). | 32 |
| Figura 10 Isotermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema competitivo, para o solo argiloso (Solo A). | 33 |
| Figura 11 Isotermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema competitivo, para o solo arenoso (Solo B). | 34 |
| Figura 12 Distribuição relativa de Cu, Zn e Pb nas frações solúvel, trocável, ligada aos carbonatos, ligada aos óxidos, ligada à matéria orgânica, e residual, para os solos A e B.. | 42 |
| Figura 13 Representação esquemática de um surfactante | 59 |
| Figura 14 Estrutura da principal isoforma da surfactina. | 63 |
| Figura 15 Principais isoformas da surfactina..... | 64 |
| Figura 16 Exemplos de algumas estruturas típicas de uma micela: a) micela esférica normal; b) micela esférica invertida; c) micela lamelar; d) vesícula | 65 |
| Figura 17 Variação de algumas propriedades físico-químicas em função da concentração do surfactante: 1) Condutividade elétrica; 2) Tensão superficial; 3) Fluorescência | 65 |
| Figura 18 Representação das fases que compõem o processo de adsorção..... | 69 |
| Figura 19 Adsorção monocomponente e multicomponente. | 69 |
| Figura 20 Biorreator piloto utilizado no processo de produção do biossurfactante. | 70 |
| Figura 21 Tensiômetro para determinação da tensão superficial dos extratos recolhidos ao longo do processo de produção via biotecnológica..... | 71 |
| Figura 22 Tensão superficial nas amostras de espuma coletadas ao longo do período de produção do biossurfactante. | 74 |
| Figura 23 Fração de espuma recolhida após 24 horas de cultivo. | 75 |
| Figura 24 Aspecto das camadas formadas após as primeiras 24 horas de contato entre a soluções de biossurfactante e óleo de girassol..... | 77 |
| Figura 25 Espectro de infravermelho do biossurfactante obtido pelo bioprocessamento (a), surfactina obtida por Oliveira <i>et al.</i> (2013) (b) e surfactina padrão Sigma-Aldrich (c). | 79 |
| Figura 26 Cromatograma da surfactina padrão Sigma-Aldrich. | 80 |
| Figura 27 Isotermas obtidas a partir do ajuste das equações de adsorção aos dados obtidos experimentalmente para os valores de Zn (a) Cu (b) e Pb (c) na solução de equilíbrio. | 82 |
| Figura 28 Processos dinâmicos interativos que governam a solubilidade, disponibilidade e mobilidade de elementos nos solos..... | 100 |
| Figura 29 Sistema de lavagem do solo com biossurfactante “in situ”. | 104 |
| Figura 30 Mecanismo de remoção dos metais pesados por ação da surfactina..... | 109 |
| Figura 31 Localização de origem dos solos utilizados neste trabalho. | 115 |

| | |
|--|-----|
| Figura 32 Esquema representativo das etapas realizadas no teste de lavagem do solo – Planejamento experimental nº II..... | 118 |
| Figura 33 Esquema para a coleta de solução que atravessa a coluna de solo. | 121 |
| Figura 34 Esquema do método de extração sequencial aplicado..... | 123 |
| Figura 35 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a), Zn (b) e Pb (c) do solo argiloso, SC..... | 125 |
| Figura 36 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a) e Zn (b) do solo argiloso, SNC..... | 127 |
| Figura 37 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a), Zn (b) e Pb (c) do solo arenoso, SC. | 130 |
| Figura 38 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a), Zn (b) e Pb (c) do solo arenoso, SNC..... | 132 |
| Figura 39 Espectros de infravermelho do biossurfactante puro e das amostras de solo obtidas após os procedimentos de lavagem com biossurfactante ou água. | 138 |
| Figura 40 Fracionamento do Pb no solo argiloso e do Zn no solo arenoso antes e após a adição de calagem $\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$ | 145 |
| Figura 41 Leituras de pH nos lixiviados da coluna lavada com biossurfactante e apenas com água (controle)..... | 151 |
| Figura 42 Porcentagem acumulada de remoção dos metais na coluna percolada com solução de biossurfactante (a) e com água (controle) (b). | 153 |
| Figura 43 Fracionamento do Cu em solo arenoso (SNC), antes e após o processo de lavagem com biossurfactante: (a) [bioss] = 60 mg L^{-1} , pH = 6,5. | 155 |
| Figura 44 Fracionamento do Zn em solo arenoso (SNC), antes e após o processo de lavagem com biossurfactante: (a) [bioss] = 80 mg L^{-1} , pH = 6,5 | 156 |
| Figura 45 Superfície de resposta para o efeito do pH e da concentração de biossurfactante na remoção (%) de Cu do solo argiloso, SC. | 175 |
| Figura 46 Superfície de resposta para o efeito do pH e da concentração de biossurfactante na remoção (%) de Cu (a) e Zn (b) do solo arenoso, SC. | 175 |
| Figura 47 Superfície de resposta para o efeito do pH e da concentração de biossurfactante na remoção (%) de Zn (a) e Pb (b) do solo arenoso, SNC..... | 176 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1 Sequências de afinidade de metais baseadas em algumas propriedades metálicas | 11 |
| Tabela 2 Propriedades químicas e físicas das amostras de solo coletadas nas diferentes áreas..... | 26 |
| Tabela 3 Teores de Fe_2O_3 extraídos com ditionito citrato bicarbonato (DCB) e oxalato de amônio (OA) e relação $Fe_2O_3_{OA} / Fe_2O_3_{DCB}$ das amostras de solo coletadas na camada de 0-20 cm de profundidade..... | 27 |
| Tabela 4 Parâmetros de ajuste das equações de Langmuir e Freundlich para dados de adsorção de metais nos dois tipos de solos avaliados, tanto em sistema competitivo quanto não-competitivo | 30 |
| Tabela 5 Teores dos metais Cu, Zn e Pb nos solos estudados, após contaminação artificial em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC) | 39 |
| Tabela 6 Proporção de decréscimo na adsorção de Cu, Zn e Pb no sistema competitivo (SC) em relação ao sistema não-competitivo (SNC) | 39 |
| Tabela 7 Sequência de afinidade de metais divalentes pela matéria orgânica..... | 43 |
| Tabela 8 Exemplos de surfactantes de origem sintética | 60 |
| Tabela 9 Principais classes de biossurfactantes e micro-organismos produtores | 61 |
| Tabela 10 Composição da manipueira utilizada como substrato no processo de produção do biossurfactante | 71 |
| Tabela 11 Índice de emulsificação (IE) de diferentes emulsões de hidrocarbonetos com biossurfactante de <i>Bacillus subtilis</i> LB5a (BS) e dodecil sulfato de sódio (SDS) | 76 |
| Tabela 12 Parâmetros de adsorção das isotermas de Langmuir e Freundlich para adsorção de Zn, Cu e Pb no biossurfactante estudado | 81 |
| Tabela 13 Valores orientadores de metais pesados em solos de acordo com a Resolução CONAMA nº 420/2009..... | 98 |
| Tabela 14 Características dos surfactantes ramnolipídio, surfactina e dodecil sulfato de sódio | 110 |
| Tabela 15 Propriedades químicas e físicas das amostras de solo utilizadas nos experimentos de lavagem do solo..... | 114 |
| Tabela 16 Valores das variáveis independentes avaliadas nos experimentos de lavagem do solo contaminado artificialmente – Planejamento experimental nº I..... | 117 |
| Tabela 17 Matriz do planejamento fatorial $(2)^2$ com os fatores (codificados e reais), utilizado no estudo de remediação dos solos contaminados artificialmente – Planejamento experimental nº I..... | 117 |
| Tabela 18 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no solo argiloso, contaminado com os três metais (SC)..... | 124 |
| Tabela 19 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo argiloso, sistema competitivo (SC) | 126 |
| Tabela 20 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção de cada metal (Cu, Zn e Pb) no solo argiloso, em sistema não-competitivo (SNC)..... | 127 |
| Tabela 21 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo argiloso, sistema não-competitivo (SNC)..... | 128 |
| Tabela 22 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no solo arenoso, contaminado com os três metais (SC)..... | 128 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 23 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo arenoso, sistema competitivo (SC) | 129 |
| Tabela 24 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no solo arenoso, em sistema não-competitivo (SNC)..... | 131 |
| Tabela 25 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo arenoso, sistema não-competitivo (SNC)..... | 131 |
| Tabela 26 Valores de pH nos extratos antes e após contato com o solos argiloso e arenoso | 133 |
| Tabela 27 Teste de médias da eficiência de remoção dos metais no solo argiloso contaminado com Zn, Cu e Pb (SC) e coeficientes de determinação da regressão linear . | 136 |
| Tabela 28 Teste de médias e coeficiente de determinação linear da eficiência de remoção dos metais no solo argiloso contaminado com Zn, Cu e Pb em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC) | 143 |
| Tabela 29 Teste de médias e coeficiente de determinação linear da eficiência de remoção dos metais no solo arenoso contaminado com Zn, Cu e Pb em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC) | 144 |
| Tabela 30 Teste de médias da eficiência de remoção nos solos que receberam calagem: Zn no solo arenoso e Pb no solo argiloso, teste de Tukey | 145 |
| Tabela 31 Teste de médias e coeficiente de determinação linear da eficiência de remoção do Cu nos solos argiloso e arenoso contaminados (SNC) | 147 |
| Tabela 32 Coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de metais pesados e pH nos lixiviados das colunas por onde passou biossurfactante e água | 151 |
| Tabela 33 Equações de regressão da lixiviação de Cu, Zn e Pb | 154 |
| Tabela 34 Fracionamento dos metais Cu, Zn e Pb nas frações solúvel, trocável, óxidos de Fe e Mn, matéria orgânica e residual dos solos contaminados..... | 174 |

ESTRUTURA DA TESE – APRESENTAÇÃO GERAL

Esta tese está dividida em três capítulos. No primeiro capítulo, abordou-se o tema adsorção de metais em solos. Foram aplicados testes de adsorção dos metais cobre (Cu), zinco (Zn) e chumbo (Pb) em dois diferentes tipos de solos brasileiros, visando o estudo da capacidade máxima de adsorção destes metais pelos solos. Como subsídios de avaliação, foram aplicados os modelos físico-químicos de adsorção de Langmuir e Freundlich. Após esses testes, partiu-se para a efetiva contaminação dos solos, observando-se o comportamento desses metais em sistemas contendo apenas um desses metais (sistema não-competitivo) e em sistemas multimetálicos, no qual havia a presença dos três metais concomitantemente (sistema competitivo). Para auxiliar a avaliação dos processos de adsorção e distribuição dos metais nas diferentes frações do solo, aplicou-se a técnica de extração sequencial, que permitiu mostrar em qual fração do solo cada metal predominou. Esses solos já contaminados foram utilizados, posteriormente, nos experimentos de remediação pela aplicação de biossurfactante, que estão descritos no capítulo três.

No segundo capítulo, foram realizados também testes de adsorção dos mesmos metais, porém o adsorvente avaliado foi o biossurfactante produzido a partir de resíduo agroindustrial. Esse biossurfactante foi obtido a partir de bioprocessos (fermentação submersa) do resíduo líquido da indústria de farinha de mandioca, a manipuera, pela ação de bactérias *Bacillus subtilis*. Esse biossurfactante foi então caracterizado por meio de duas técnicas instrumentais: infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), que permitiram confirmar que se tratava de surfactante do tipo surfactina. Visando verificar a ação adsorvente desse bioproduto, seguiu-se com os testes de adsorção de metais, que estão todos apresentados neste capítulo.

No terceiro capítulo é abordada a questão relacionada à remediação de solos contaminados com metais pela ação de surfactantes. Avaliou-se o potencial de remediação dos solos contaminados anteriormente com os metais pesados Cu, Zn e Pb pela ação deste biossurfactante. Para isso, foram realizados testes de lavagem do solo, buscando-se a otimização do processo.

Os procedimentos experimentais contidos neste trabalho foram realizados em diferentes instituições. A etapa de preparação do biossurfactante ocorreu nas dependências do Laboratório de Bioaromas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). As análises de caracterização química e granulométrica dos solos foram realizadas no Laboratório de Solos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), câmpus Pato Branco. Já a etapa de preparação para a caracterização mineralógica ocorreu no Laboratório de Mineralogia da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os procedimentos experimentais de adsorção e dessorção dos metais pela aplicação do biossurfactante ocorreram tanto nas dependências da UTFPR câmpus Curitiba quanto Francisco Beltrão. As

análises de Difração de Raios X foram efetuadas na UTFPR câmpus Curitiba. As análises dos metais por espectrometria de absorção atômica e as análises quali e quantitativas do biossurfactante por HPLC aconteceram no Laboratório de Análises Agroambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), câmpus Cascavel. As análises de Infravermelho ocorreram no Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Na Figura 1 pode ser visualizado o esquema resumido dos capítulos, bem como da parte experimental.

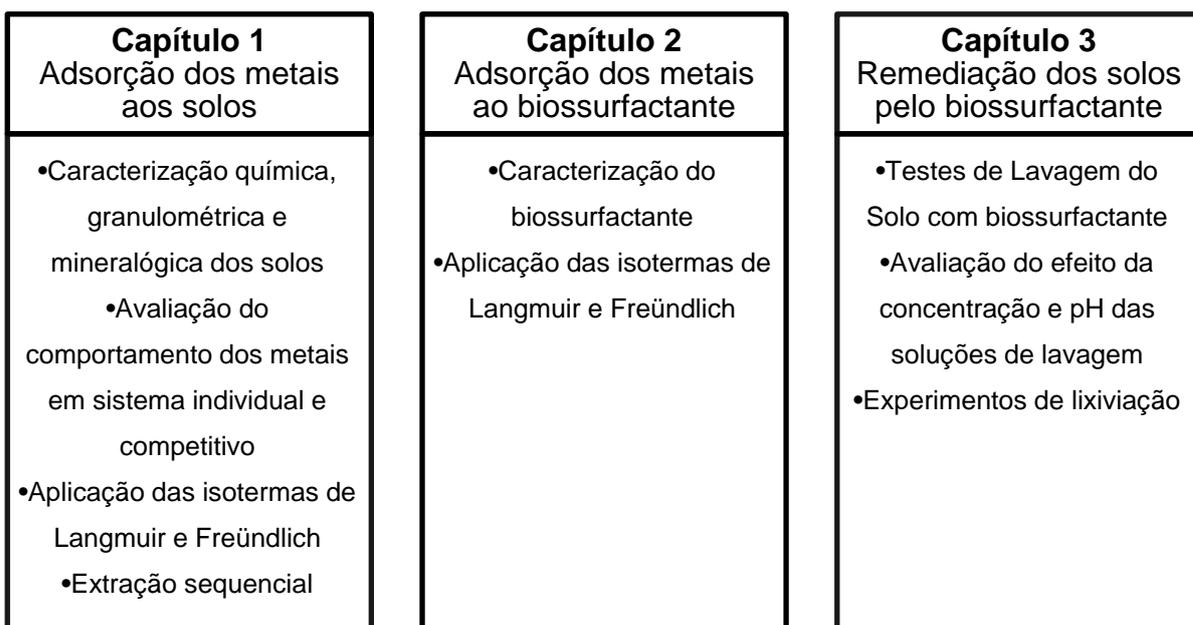


Figura 1 Fluxograma geral da estrutura da tese.

CAPÍTULO 1 – ADSORÇÃO INDIVIDUAL E COMPETITIVA DE COBRE, ZINCO E CHUMBO EM DOIS TIPOS DE SOLOS

RESUMO

É frequente a disposição de resíduos aos solos, especialmente contendo metais pesados. Muitos destes metais são prejudiciais aos humanos, animais e plantas, o que os torna alvo de cuidados e estudos para garantir a adequada qualidade ambiental. Sabe-se que a contaminação normalmente ocorre não somente por um metal, mas sim por dois ou mais elementos. Desta forma, é importante conhecer os mecanismos de retenção e transporte destes elementos para minimizar o seu impacto ao meio ambiente. Os estudos de adsorção são considerados como uma maneira de avaliação do comportamento dos diversos metais aos solos. Neste trabalho buscou-se avaliar o efeito da adsorção dos metais cobre (Cu), zinco (Zn) e chumbo (Pb), em sistema individual (SNC) e competitivo (SC), em amostras da camada superficial (0-20 cm) de 2 tipos de solos típicos do estado do Paraná, sendo um formado a partir do Arenito Caiuá da região noroeste (solo arenoso) e o outro formado a partir de Basalto da região sudoeste (solo argiloso). Os solos foram caracterizados por meio de análises químicas, granulométricas e mineralógicas. Isotermas de adsorção foram obtidas após a adição destes metais na forma de nitrato, tendo a solução de NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte. Após agitação das amostras e posterior centrifugação, foram feitas determinações dos metais na solução de equilíbrio. A quantidade de metal adsorvida foi calculada pela diferença entre a concentração adicionada e a remanescente na solução de equilíbrio. Com estes resultados experimentais, obtiveram-se parâmetros de adsorção derivados dos modelos de Langmuir e Freundlich. A partir destes valores, realizou-se também a efetiva contaminação do solo e então a distribuição dos metais nas diferentes frações do solo foram determinadas por meio da metodologia de extração sequencial, que separou os metais em seis frações: (i) solúvel, (ii) trocável, (iii) ligada aos carbonatos, (iv) ligada aos óxidos de ferro e manganês, (v) ligada à matéria orgânica e (vi) residual. A adequação das equações de Langmuir e de Freundlich aos resultados de adsorção não ocorreu para todas as situações, mas foi satisfatória e com altos coeficientes de correlação para a maioria das observações. O Pb apresentou os maiores valores de capacidade máxima de adsorção (CMA) estimados pelo modelo de Langmuir. A contaminação efetiva dos solos permitiu mostrar que o modelo de Langmuir, para o solo argiloso em SC, foi o mais adequado, uma vez que os teores efetivamente encontrados foram muito semelhantes ao previsto, especialmente para o Pb e Cu. A adsorção simultânea reduziu a adsorção dos três metais, sendo as maiores reduções observadas para o Zn. O menor poder competitivo do Zn, evidenciado pela redução da sua capacidade máxima de adsorção na presença dos outros metais, torna esse elemento altamente preocupante em solos tropicais mais intemperizados, por indicar maior predisposição deste elemento à movimentação no perfil ou nas águas superficiais. Esta preocupação é confirmada por meio do fracionamento químico, que mostrou ser este o elemento, quando comparado aos outros dois, que predominou nas frações mais disponíveis.

PALAVRAS-CHAVE: Langmuir, Freundlich, isoterma de adsorção, metais pesados, poluição do solo.

INDIVIDUAL AND COMPETITIVE ADSORPTION OF COPPER, ZINC AND LEAD IN TWO TYPES OF SOIL

ABSTRACT

The disposal of materials contaminated in soils, especially containing heavy metals is frequent. Many of these metals are harmful to humans, animals and plants, which makes them subject of care and studies to ensure adequate environmental quality. It is known that contamination normally occurs not only by one metal, but two or more elements. Thus, it is important to know the mechanisms of retention and transport of these elements to minimize your impact on the environment. Adsorption studies are considered as a way to evaluate the behavior of various metals to soils. In this study we evaluate the effect of adsorption of copper (Cu), zinc (Zn) and lead (Pb) in individual system (SNC) and competitive (SC), in samples from the surface layer (0-20 cm) of two types of soils typical of the state of Paraná, one formed from the sandstone Caiuá in the northwestern region (sandy soil) and the other formed from basalt in the southwest region (clay soil). The soils were characterized by chemical, textural and mineralogical analyzes. Adsorption isotherms were prepared after addition of these metals in the form of nitrate, and using the solution of NaNO_3 0.01 mol L^{-1} as supporting electrolyte. After stirring of the samples and subsequent centrifugation, determinations were made of metal in equilibrium solution. The amount of adsorbed metal was calculated from the difference between the concentration added to the solution and the remaining balance. With these experimental results, parameters of adsorption were obtained derived from the model and Langmuir Freundlich. From these values, it was carried the actual contamination of soil, and then the distribution of metals in different soil fractions were determined by sequential extraction methodology, when the metals were separated into six fractions: (i) soluble, (ii) exchangeable, (iii) linked to carbonates, (iv) bound to iron oxides and manganese, (v) organic matter and (vi) the residual. The equations of Langmuir and Freundlich were adequate to the results of the adsorption of the three metals to both types of soils, in individual and competitive system with high correlation coefficients for the most observations. Pb showed the highest values of maximum adsorption capacity (CMA) estimated by the Langmuir model. The effective soil contamination allowed to show that the Langmuir model for the clay soil in SC was the most appropriate, since the levels found were very similar to that provided, especially for Pb and Cu. The simultaneous adsorption reduced the adsorption of the three metals, with the greatest reductions observed for Zn. The lower competitive power of Zn, evidenced by the reduced of CMA in the presence of other metals, is alarming in weathered tropical soils, due the predisposition of this element to the movement into the profile or in surface waters. This concern was confirmed by the chemical fractionation, which proved that this element, when compared to the other two, predominated in the fractions.

KEY-WORDS: Langmuir, Freundlich, isotherm of adsorption, heavy metals, soil pollution

1.1 INTRODUÇÃO

O solo é um dos elementos-chave para todos os ecossistemas terrestres e é um meio heterogêneo muito complexo, consistindo na matriz sólida do solo, solução do solo e ar do solo, que interagem entre si (BRADL, 2004).

Íons de metais pesados são os poluentes inorgânicos mais tóxicos que ocorrem em solos e podem ser de origem natural ou antrópica (ALLOWAY, 1990). Os mecanismos de adsorção e dessorção, juntamente com processos de precipitação/dissolução, são considerados os principais processos que controlam a concentração de espécies químicas na solução do solo (PIERANGELI et al., 2007; ALLEONI et al., 2009).

A habilidade dos solos em adsorver íons metálicos de soluções aquosas é de especial interesse e apresenta consequências tanto para a agricultura, quanto para as questões ambientais e de fertilidade do solo, podendo-se citar a remediação de solos contaminados e a deposição de resíduos. Portanto, conhecer o comportamento desses elementos nos solos, da mesma forma que o seu comportamento adsorptivo pelos solos, é fundamental para prever os impactos ambientais causados pelos mesmos, uma vez que os efeitos desfavoráveis de altas concentrações no meio ambiente estão relacionados com a capacidade dos solos em adsorver tais substâncias (BRADL, 2004; CHAVES et al., 2009). Devido a esta significativa importância, a adsorção e a concentração de metais pesados em solos, seus componentes e sedimentos têm sido alvo de aumento de trabalhos nesta área nas recentes décadas (ASÇI et al., 2010).

A adsorção é o principal processo responsável pela acumulação de metais pesados no solo (FORD et al., 2001). Portanto, o estudo dos processos de adsorção tem importância fundamental para o entendimento de como os metais são transferidos de uma fase líquida móvel para a superfície de uma fase sólida (SPOSITO, 1989; BRADL, 2004).

As interfaces mais importantes envolvidos na adsorção de metais pesados em solos são predominantemente os colóides inorgânicos, tais como argilas, óxidos metálicos e hidróxidos, mas também a matéria orgânica coloidal fornece interfaces para adsorção de metais pesados (BRADL, 2004). Sendo assim, o estudo da adsorção de elementos no solo é fundamental para compreender as interações que ocorrem no sistema solo-água-planta-atmosfera (ALLEONI et al., 2009).

Uma boa maneira de estudar o comportamento de um metal no solo é aplicando modelos físico-químicos de adsorção. De um modo geral, a relação entre a quantidade de um metal adsorvido pela fase sólida do solo (q) e a concentração do mesmo na solução do solo (C) é quantificada por meio de uma isoterma (relação q/C) que permite conhecer mais a respeito da natureza dos processos de adsorção (SODRÉ et al., 2001).

Os dois modelos de adsorção frequentemente adotados para solos são os de Langmuir e Freundlich. A equação de Langmuir é adequada para ser aplicada na descrição

da adsorção de íons no solo, fornecendo dados pelos quais as propriedades relacionadas aos fenômenos de superfície podem ser interpretadas (SPOSITO, 1989). A teoria de Langmuir baseia-se no fato da adsorção ocorrer em sítios uniformes com recobrimento em monocamada e afinidade iônica independente da quantidade de material adsorvido (SODRÉ et al., 2001). O modelo de Freundlich considera a não-uniformidade das superfícies reais e, quando aplicado ao solo, descreve bem a adsorção iônica dentro de certos limites de concentração, mas acima deles apresenta dificuldades em considerar a quantidade de íons presentes no solo (BARROW, 1978; SPOSITO, 1989).

Este trabalho veio como uma oportunidade de aplicar os experimentos de adsorção de metais em solos, visando principalmente verificar a diferença que existe no fenômeno de adsorção quando mais de um metal está presente no meio como contaminante. A diferença ocorre em virtude das características de cada solo e de cada elemento químico. De posse dos dados calculados pela aplicação dos dois modelos de isotermas, partiu-se então para a efetiva contaminação do solo em maior escala, que teve como objetivo verificar se os modelos físico-químicos estimaram adequadamente o comportamento dos metais em situação real. Como forma de subsídio às análises de adsorção, também foram aplicadas extrações sequenciais que permitem o fracionamento dos metais nas diferentes frações do solo. Além disso, análises mineralógicas também foram realizadas nas amostras de solo. Assim, foi possível relacionar diferentes tipos de ensaios, que normalmente não são aplicados em conjunto, como forma de melhor avaliar o fenômeno de adsorção.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o comportamento dos metais Cu, Zn e Pb em solos argiloso e arenoso, por meio de testes de adsorção em sistemas individual e competitivo e verificar a aplicabilidade dos modelos de adsorção de Langmuir e Freundlich.

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as amostras de solo quanto aos parâmetros químicos, físicos e mineralógicos;
- Avaliar a aplicabilidade dos modelos físico-químicos de adsorção propostos por Freundlich e Langmuir em sistemas mono e multimetálicos (Cu, Zn e Pb);
- Estimar a capacidade máxima de adsorção dos metais Cu, Pb e Zn nos solos estudados;
- Verificar a distribuição dos metais nas diferentes frações do solo após o processo de contaminação artificial, por meio da técnica de extração sequencial.

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Adsorção

O termo adsorção é definido como o acúmulo de uma molécula (orgânica ou inorgânica) na interface sólido-líquido ou sólido-gás (SPOSITO, 1989; ALLEONI et al., 2009). É um processo de retenção altamente complexo, sendo resultado da heterogeneidade do solo e de suas interações com os organismos vivos, com a atmosfera e com os sistemas aquáticos. Por isso, uma das chaves para a compreensão dos mecanismos do processo de adsorção é o conhecimento detalhado da composição da matriz do solo. Além dos atributos dos solos, as características físico-químicas dos íons e/ou das moléculas também determinam a capacidade adsorptiva dos componentes e dos agregados do solo (ALLEONI et al., 2009).

Portanto, segundo vários autores e como resumidos em Bradl (2004), os principais parâmetros que controlam a adsorção dos metais e suas distribuições no solo e água são: tipo de solo, especiação e concentração do metal, pH do solo, relação de massa solo:solução e tempo de contato. Normalmente, a maior retenção de metais e menor solubilidade ocorre em solos com elevados valores de pH.

De acordo com Zachara (1992), em valores de pH abaixo de 6,5, a magnitude da adsorção parece ser controlada pela capacidade de troca de cátions (CTC) dos principais constituintes isolados do solo, dentre eles a matéria orgânica e os minerais de argila, sendo que a CTC é diretamente relacionada com a superfície específica dos isolados.

Durante o processo de adsorção, a força de retenção dos íons na interface solo-solução é determinada pelo tipo de interação entre o íon e a superfície. Os metais podem ser adsorvidos por atração eletrostática na dupla camada difusa, sendo então os íons retidos por forças físicas (van der Waals), o que caracteriza a adsorção não específica. Já quando os íons são adsorvidos por meio de ligações covalentes, estes são fortemente retidos e a este fenômeno denomina-se adsorção específica, que reduz a mobilidade do metal na matriz (SPOSITO, 1989; BRADL, 2004).

A adsorção não-específica caracteriza-se por reações rápidas, reversíveis e relativamente fracas. Este mecanismo envolve a formação de complexos de esfera externa, nos quais uma molécula de água é interposta entre a superfície e a espécie adsorvida (SPOSITO, 1989). Neste caso, a CTC do solo é fator decisivo, visto que representa a quantidade de sítios de troca nas interfaces coloidais do sistema em que o metal pode ser adsorvido. Esta quantidade de sítios, por sua vez, é função da natureza dos colóides (minerais e orgânicos) presentes nos solos e do seu pH (SPOSITO, 1989).

Cabe ressaltar que a superfície carregada do solo apresenta preferência por determinados íons (MEURER, 2000), sendo a valência o principal fator que determina a seletividade de adsorção. Quanto maior a valência, maior a probabilidade do íon ser

adsorvido. No caso de íons com mesma valência, os íons hidratados, com menor raio de hidratação são preferidos, sendo retidos com maior energia (RAIJ, 1991). Entretanto, é necessário lembrar que o aumento da concentração de íons de menor valência na solução do solo pode provocar o deslocamento de íons com maior valência que ocupam as cargas dos colóides, alterando-se a sequência de afinidade metálica (MEURER, 2000).

Em relação à adsorção específica, o resultado é a formação de moléculas estáveis com alta energia de ligação entre grupos funcionais da superfície sólida e as espécies em solução. A esta formação denomina-se complexos de esfera interna (SPOSITO, 1989). Esse tipo de ligação é, muitas vezes, não afetado pela força iônica da solução do solo, caracterizando alta irreversibilidade (MOUTA, 2007). De acordo com Meurer (2000), esta reação é favorecida pelo baixo pH da solução do solo e ocorre, preferencialmente, na superfície de óxidos. Outra característica importante com relação à ocorrência de adsorção específica, ou seja, com maior força de ligação, é que na superfície dos óxidos, os sítios de adsorção de metais pesados são mais específicos a baixas concentrações e a energia de ligação é maior se comparada com os íons adsorvidos aos sítios de troca de argilominerais (CLARK; McBRIDE, 1984).

1.3.2 Isotermas de adsorção

Uma maneira de se estudar o comportamento de um metal no solo é por meio de uso de modelos físico-químicos, como as isotermas de adsorção. Estas representam graficamente a relação matemática entre a quantidade de um metal adsorvido (adsorvato) pela fase sólida do solo (adsorvente) e sua concentração na solução do solo. Desta forma, é possível conhecer mais a respeito da natureza do processo de adsorção, uma vez que estas isotermas fornecem subsídios a respeito da capacidade de retenção e da força pelo qual o metal é adsorvido pelo solo (BRADL, 2004; PIERANGELI et al., 2007; ALLEONI et al., 2009; LOPES, 2009).

Na área de Ciência do Solo, as isotermas mais conhecidas e utilizadas são as que seguem o modelo de Langmuir e Freundlich (BRADL, 2004; ALLEONI et al., 2009; CHAVES et al., 2009). A isoterma de Langmuir permite estimar a adsorção máxima do adsorvato, pois presume que a superfície do adsorvente é homogênea, o que teoricamente permite a formação de uma camada monoelementar completa do adsorvato sobre a superfície adsorvente. Já a isoterma de Freundlich admite que a superfície de adsorção é heterogênea e que a energia de adsorção decresce logaritmicamente à medida que a superfície se torna coberta pelo adsorvato (LOPES, 2009).

1.3.2.1 Isoterma de Freundlich

O modelo de Freundlich considera a não uniformidade das superfícies reais e, quando aplicado ao solo, descreve bem a adsorção iônica dentro de certos limites de

concentração, mas acima deles apresenta dificuldade em considerar a quantidade de íons presentes no solo (BARROW, 1978).

A isoterma de Freundlich é uma equação que relaciona a massa do elemento adsorvido em relação à massa da fase sólida adsorvente (q) e a concentração de equilíbrio do adsorvato em solução (C_{eq}) (Equação 1):

$$q = K C_{eq}^{1/n} \quad \text{Eq. 1}$$

onde “n” indica, qualitativamente, a reatividade dos sítios energéticos do solo e K pode sugerir a adsorção do íon no solo, sendo ambas constantes ajustadas pelo modelo.

Também pode-se utilizar a sua forma linearizada, que se obtém ao aplicar logaritmo em ambos os lados da equação, sendo esta representada pela Equação 2:

$$\log q = \log K + 1/n \log C_{eq} \quad \text{Eq. 2}$$

Esta forma pode ser usada para relacionar a quantidade de metal adsorvido no solo e a concentração livre de íons metálicos dissolvidos (BRADL, 2004). Valores de $n > 1$ indicam que o processo de adsorção é favorável (WANG et al., 2007).

Sodré *et al.* (2001) avaliaram e compararam a aplicabilidade de três diferentes modelos, Freundlich, Langmuir e Temkin, na adsorção de Cu em três tipos de solos. Os solos tinham como material de origem o basalto e foram classificados como Latossolo Roxo, Solo Litólico e Vertissolo, respectivamente. O modelo de Freundlich foi o que melhor representou a adsorção, especialmente para o Latossolo Roxo. O uso da equação de Langmuir para este solo proporcionou uma superestimativa dos valores de Cu na solução de equilíbrio. Os valores de n para os solos estudados apresentaram valores acima de 1 (1,36 a 1,90), indicando a presença de sítios altamente energéticos e sugerindo que estes são os primeiros a serem ocupados pelo Cu. É interessante observar que houve correlação negativa entre o valor de n e K, ou seja, quanto maior o valor de K (variou de 13 a 482), menor o valor de n.

1.3.2.2 Isoterma de Langmuir

O modelo de Langmuir tem sua equação derivada teoricamente e foi desenvolvida originalmente para descrever a adsorção de gases em superfícies sólidas (BRADL, 2004). A teoria de Langmuir se baseia no fato da adsorção ocorrer em sítios uniformes com recobrimento em monocamada e afinidade iônica, independente da quantidade de material adsorvido (ATKINS, 1994).

Como suas pressuposições não são totalmente aplicadas ao sistema solo, seu uso em química dos solos e sedimentos é considerado um modelo empírico. O interessante deste modelo de Langmuir é a possibilidade de obtenção da adsorção máxima (ALLEONI et al., 2009). É muito aplicada para adsorção de metais pesados em solos ou nos componentes do solo, de acordo com a fórmula apresentada na Equação 3:

$$q = \frac{Kb C_{eq}}{1 + K C_{eq}} \quad \text{Eq. 3}$$

em que

q - massa do elemento adsorvido por unidade de massa da fase sólida adsorvente;

C_{eq} - concentração de equilíbrio do adsorvato em solução;

K - constante relacionada à afinidade do adsorvente pelo adsorvato;

b - adsorção máxima.

A forma linearizada da isoterma de Langmuir é dada pela equação a seguir (Equação 4):

$$\frac{C_{eq}}{q} = \frac{1}{Kb} + \frac{1}{b} C_{eq} \quad \text{Eq. 4}$$

Por meio desta equação, obtém-se um gráfico de C_{eq} / q no eixo Y e C_{eq} no eixo X, que produzirá uma reta com declividade $(1/b)$ e intercepto $1/(Kb)$. Caso o ajuste dos dados seja satisfatório, a isoterma de Langmuir pode ser usada para calcular os valores de adsorção máxima e da constante de afinidade (ALLEONI et al., 2009).

Estas equações possuem limitações que, segundo Sposito (1989), não oferecem informações a respeito dos mecanismos químicos envolvidos na adsorção, constituindo-se apenas de um procedimento de ajuste matemático. Porém, mesmo apresentando tais limitações, os modelos de Freundlich e Langmuir têm sido bastante utilizados em estudos de adsorção tanto de ânions quanto de metais (ALLEONI et al., 2005; CHAVES et al., 2009; SINEGANI; ARAKI, 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

Pierangeli *et al.* (2001) estudaram a capacidade de adsorção de Pb em solos tropicais altamente intemperizados do Brasil (Latosolos) e encontraram valores de adsorção máxima (estimada pela isoterma de Langmuir), variando de 2115 a 19465 mg kg⁻¹. Sinegani e Araki (2010) avaliaram a adsorção de Pb em solos de regiões temperadas e semi-áridas do Irã e observado um bom ajuste dos dados experimentais para as isotermas de Langmuir e Freundlich. As concentrações adicionadas aos solos variaram de 2 a 150 mg L⁻¹, e os valores de adsorção máxima estimada pela equação de Langmuir variou 23,8 a 39,4 mmol kg⁻¹.

Alleoni *et al.* (2005) avaliaram a adsorção máxima de Cu e Cd estimada pela equação linearizada de Langmuir em amostras de horizontes superficiais e subsuperficiais de três classes de solos, Latossolos, Nitossolos e Argissolo. Os valores de adsorção máxima de Cd variaram de 21,5 a 3.333,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto para o Cu a variação nos valores foi de 434,8 a 1.666,6 $\mu\text{g g}^{-1}$.

1.3.3 Comportamento de adsorção dos metais

O formato das isotermas, principalmente sua inclinação inicial, é muito utilizado para descrever o comportamento dos sítios de superfície com respeito à adsorção. De acordo com Sposito (1989) e Fontes e Alleoni (2006), em solos essa relação pode ser descrita por quatro tipos de isotermas: tipo L, tipo S, tipo C e tipo H. A isoterma do tipo L (Langmuir) indica que o adsorvato tem afinidade relativamente alta pela superfície em baixas coberturas. Contudo, à medida que a cobertura da superfície aumenta, a afinidade do adsorvato pela superfície das partículas diminui; na do tipo S (formato sigmoidal), em baixas concentrações, ocorre afinidade do adsorvato pelo adsorvente, devido a interferências de outras substâncias, como no caso da matéria orgânica na quimiossorção de Cu. Na isoterma do tipo C (constante), há uma inclinação constante da curva desde o seu princípio até a adsorção máxima, independentemente do decréscimo da superfície recoberta. Essa isoterma tipo C evidencia uma afinidade constante do adsorvato pelo adsorvente, e os íons ou moléculas distribuem-se entre a interface sólido-solução sem nenhuma ligação específica (complexo de esfera interna) entre o adsorvente e o adsorvato. Na isoterma do tipo H, o adsorvato apresenta altíssima afinidade pelo adsorvente, o que indica a formação de complexos de esfera interna.

Considerando alguns metais no solo, como o Cu, o Cd, o Zn e, possivelmente o Ni, o mecanismo de adsorção predominante é do tipo específico, com formação de complexos de esfera interna (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; LOPES, 2009). Os constituintes do solo mais relacionados com a adsorção e o comportamento destes metais são os hidróxidos e oxihidróxidos de Fe e Mn. Kabata-Pendias e Pendias (2001) salientam que os hidróxidos de Al podem ter importância até relativamente maior que a dos óxidos de Fe na adsorção dos metais no solo.

As ligações formadas entre os metais e as superfície dos óxidos são altamente dependentes do pH (ALLEONI *et al.*, 2005). Os metais também apresentam forte afinidade pela matéria orgânica do solo. Esta deve-se aos ligantes ou grupos funcionais que formam complexos ou quelatos com esses elementos. Os principais grupos funcionais que participam dessas reações são os carboxílicos, fenólicos, alcoólicos, enólicos, quinonas, cetônicas, aminos, sulfidrilas e alguns do grupo carbonila (ABREU *et al.*, 2007). A força de ligação dos metais com a matéria orgânica do solo pode variar desde ligações consideradas fracas (ditas atrações eletrostáticas) até ligações fortemente covalentes (CAMARGO *et al.*,

2001). A formação de quelatos e complexos tem influência na disponibilidade dos metais no solo e podem promover a mobilização vertical de quelatos organometálicos solúveis (ROSS, 1994). De acordo com McBride (1989), a sequência de preferência na complexação pela matéria orgânica é a seguinte: Cu > Ni > Pb > Co > Ca > Zn > Mn > Mg. Isto significa que os metais listados no início dessa ordem tendem a formar complexos de esfera interna com os grupos funcionais por coordenação direta, enquanto os últimos tendem a formar complexos de esfera externa, tornando-se trocáveis.

É muito difícil estabelecer uma sequência universal de afinidade entre adsorvato e superfícies adsorventes, pois as afinidades variam de acordo com diversos fatores, tais como tipo e concentração do adsorvato, pH da solução, eletrólito suporte, força iônica, etc (ALLEONI et al., 2009). A ação combinada desses fatores resulta em maior ou menor impacto ambiental devido à presença desses elementos nos solos (PIERANGELI et al., 2007).

Na Tabela 1 tem-se uma série de sequências de afinidade baseadas em algumas propriedades metálicas para alguns tipos de metais.

Tabela 1 Sequências de afinidade de metais baseadas em algumas propriedades metálicas.

| Propriedade metálica | Sequência de afinidade metálica |
|---------------------------------------|---|
| Constante de hidrólise ⁽¹⁾ | Pb (7,7) > Cu (8,0) > Zn (9,0) > Ni (9,9) > Cd (10,1) |
| Grau de "dureza" | Cd (3,04) > Cu (2,89) > Ni (2,82) > Zn (2,34) > Pb (1,50) |
| Eletronegatividade | Pb (2,33) > Cu (2,0) > Ni (1,91) > Cd (1,69) > Zn (1,65) |
| Potencial iônico | Ni (5,71) > Cu (5,48) > Zn (5,33) > Cd (4,21) |

⁽¹⁾ Logaritmo negativo da primeira constante de hidrólise.

Fonte: ALLEONI et al. (2009)

O conhecimento destas sequências é importante quando se quer estudar a adsorção competitiva de vários metais. Caso o intuito seja a remediação de solos contaminados por vários metais ao mesmo tempo, recomenda-se o estudo mais aprofundado destas sequências de afinidades de metais.

1.3.3.1 Comportamento individual de adsorção dos metais

Neste item estão apresentados os comportamentos individuais dos metais de interesse.

Chumbo

A química do Pb nos solos é afetada principalmente por três fatores: (i) adsorção específica a várias fases sólidas, (ii) a precipitação de compostos pouco solúveis ou altamente estáveis, e (iii) formação de complexos relativamente estáveis ou quelatos que resultam da interação com a matéria orgânica do solo (BRADL, 2004).

O Pb sofre hidrólise a baixos valores de pH e apresenta várias reações de hidrólise. Acima de pH 9, a formação de Pb(OH)₂ é importante, enquanto que o Pb(OH)⁺ é

predominante entre pH 6 e 10. Na Figura 2 (a) é possível observar a especiação química aquosa monomérica preditiva do Pb em função dos valores de pH, enquanto na Figura 2 (b) é apresentado o diagrama potencial/pH que exibe a estabilidade preditiva de potencial de oxi-redução (Eh) e pH.

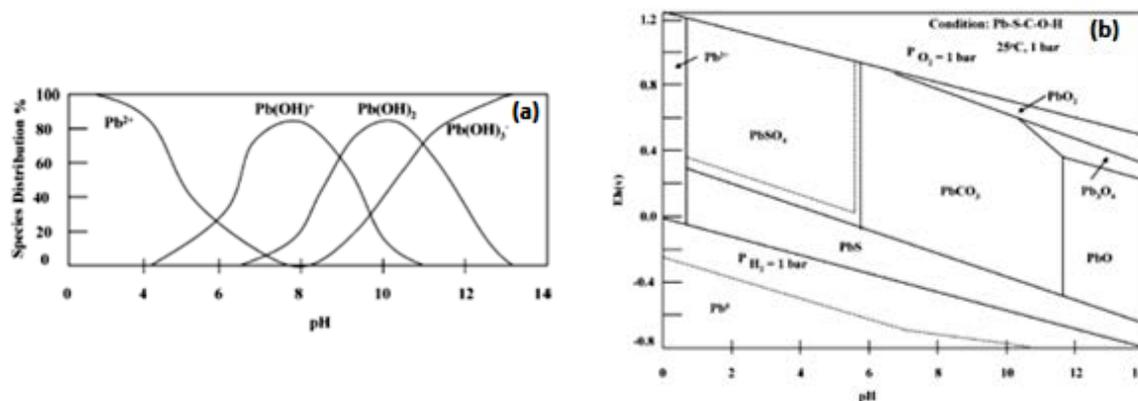


Figura 2 Especiação química aquosa monomérica de Pb prevista em função do pH (a) e previsão de estabilidade de campo Eh-pH para o Pb (b).

Fonte: BRADL (2004)

A adsorção de Pb em solos e minerais de argila foi encontrada em conformidade com qualquer uma das isotermas, de Langmuir ou Freündlich, em uma ampla faixa de concentrações (MOREIRA, 2004; LINHARES et al., 2009).

Em solos não calcáreos, a solubilidade do Pb é controlada por diferentes hidróxidos e fosfatos de Pb, tais como $Pb(OH)_2$, $Pb_3(PO_4)_2$, $Pb_4O(PO_4)_2$ ou $Pb_5(PO_4)_3OH$, dependendo do pH (SANTILLAN-MEDRANO; JURINAK, 1975). A presença de óxidos de Fe ou Mn pode exercer um papel predominante na adsorção de Pb nos solos. Foi encontrado que a adsorção de Pb em óxido sintético de Mn foi de até 40 vezes maior do que em óxido de Fe, e que o Pb foi adsorvido mais fortemente do que qualquer outro metal estudado (Co, Cu, Mn, Ni e Zn) (McKENZIE, 1980).

A presença de matéria orgânica no solo também desempenha um importante papel na adsorção de Pb. A matéria orgânica pode imobilizar o Pb via reações de adsorção específicas, enquanto a sua mobilização também pode ser facilitada pela sua complexação com matéria orgânica dissolvida ou ácidos fúlvicos (PINHEIRO et al., 1999).

No trabalho desenvolvido por Linhares et al. (2009), a adsorção máxima b (Langmuir) e o parâmetro K_F do Pb (Freündlich) variaram de 988,34 a 1.659,67 $\mu g g^{-1}$ e de 66,05 a 722,57 $\mu g g^{-1}$, respectivamente. Os autores trabalharam com diferentes tipos de solos e, de acordo com os resultados de correlação linear entre os diferentes atributos do solo e os parâmetros das isotermas de adsorção, concluíram que os principais responsáveis pelo aumento da energia de ligação (K) foram os teores de óxidos de Fe e Al. Segundo estes autores, as correlações significativas das energias de adsorção (K), com os teores de

óxidos, e nenhuma correlação com a CTC são característicos de adsorção específica, que forma complexos de esfera interna, independentemente da carga da superfície.

As interações de Pb com os colóides dos solos são predominantemente mais específicas e menos dependentes das cargas superficiais (PIERANGELI et al., 2001). A adsorção específica envolve a troca de metais com ligantes presentes na superfície dos colóides, o que forma ligações covalentes e tem sido indicada como causa de alguns solos adsorverem metais acima da sua capacidade prevista com base na CTC (ABD-ELFATAH; WADA, 1981).

Cobre

O Cu pode ocorrer de várias formas que estão divididas entre a solução e as fases sólidas. A distribuição do Cu entre os diferentes constituintes do solo é principalmente influenciada pela presença de matéria orgânica e óxidos de Fe e Mn (BRADL, 2004).

A adsorção máxima entre os constituintes do solo decresce na ordem óxidos de Mn > matéria orgânica > óxidos de Fe > argilominerais (BRADL, 2004).

O Cu apresenta uma forte afinidade pela matéria orgânica do solo, sendo que a fração orgânica de Cu é alta comparada aos demais metais, mesmo em baixas concentrações (McGRATH et al., 1998). A complexação pela matéria orgânica nas formas dos ácidos húmicos e fúlvicos é um mecanismo efetivo de retenção de Cu no solo. Comparado a outros metais, o Cu é o que mais complexa-se a materiais húmicos (BLOOMFIELD; SANDERS, 1977).

No trabalho realizado por Araújo e Amaral Sobrinho (2000), o Cu foi adsorvido predominantemente por adsorção específica na fração mineral dos solos estudados e por complexação com a matéria orgânica.

Para Chaves *et al.* (2009), os teores de matéria orgânica e a capacidade de troca catiônica das amostras de solo compõem as propriedades que mais influenciaram na adsorção do Cu em amostras de Plintossolo. Silveira e Alleoni (2003) e Nascimento e Fontes (2004) também observaram que os teores de argila e de matéria orgânica foram as características mais bem relacionadas com a capacidade de adsorção do Cu por Latossolos.

Como as reações físico-químicas processam-se, em grande parte, na superfície dos colóides, a fração argila, que é formada por colóides com superfícies específicas reativas, exerce um controle considerável na adsorção do Cu (ALLEONI et al., 2005).

Para solos muito intemperizados, com predominância de mineralogia oxidada na fração argila, os óxidos e os hidróxidos de Fe e de Al, mesmo em baixas concentrações, influem de forma marcante na adsorção de metais como o Cu, devido à acentuada afinidade do metal pela superfície reativa desses componentes (SILVEIRA et al., 1999). Entretanto, não é apenas o conteúdo dos óxidos que interessa, mas sua natureza e o seu grau de cristalinidade. A mineralogia tem implicações na magnitude das cargas elétricas nesses

solos, sobretudo nos horizontes subsuperficiais, nas quais há altos teores de gibbsita (Gb) e de caulinita (Ct), além de menores teores de matéria orgânica em relação à camada superficial (SILVEIRA; ALLEONI, 2003).

Alleoni *et al.* (2005) correlacionaram a adsorção máxima estimada pela equação linearizada de Langmuir com vários atributos dos solos. Avaliaram a adsorção de Cu em amostras de horizontes superficiais e subsuperficiais de três classes de solos: Latossolos, Nitossolos e Argissolo. A adsorção máxima de Cu foi positivamente correlacionada com a saturação por Al e com os teores de argila, de óxidos de Al total e mal cristalizado no horizonte A e com pH e teores de argila e de óxido de Al mal cristalizado no horizonte B. Neste mesmo estudo, o pH do solo teve influência significativa na adsorção do Cu nos solos, provocando alterações na densidade de carga elétrica da superfície dos minerais de carga variável. Com o aumento do pH, ocorre a dissociação de H^+ de grupos OH da matéria orgânica e de óxidos de Fe e de Al, aumentando assim as cargas negativas, o que possibilita maior adsorção do Cu (ALLEONI *et al.*, 2005).

Segundo Hoog *et al.* (1993), condições de pH acima de 6 favorecem a retenção do Cu, enquanto ambientes ácidos determinam sua maior mobilidade. Outros autores também observaram o aumento da adsorção de Cu em pH mais altos (CASAGRANDE *et al.*, 2004a; PILS *et al.*, 2004; CHAVES *et al.*, 2009). Além disso, de acordo com Saha *et al.* (1995), com o aumento do pH, a concentração dos íons $CuOH^+$ aumenta rapidamente, e esta é a forma adsorvida em maior quantidade em relação aos íons Cu^{2+} .

Zinco

A adsorção é um fator importante que rege a concentração de Zn no solo e é influenciada por vários fatores, como pH, teor de minerais de argila, CTC, matéria orgânica do solo e tipo de solo. Minerais de argila apresentam variações em sua capacidade de adsorção, devido à sua diferente CTC, área superficial específica e composição estrutural básica. Argilas 2:1, tais como montmorilonita e illita apresentam maior capacidade de fixação de Zn do que argilas 1:1, tais como caulinita (BRADL, 2004).

Em solos calcários e alcalinos, a indisponibilidade do Zn é devido à sorção de Zn por carbonatos, precipitação em hidróxidos ou carbonatos de Zn, ou formação de zincato de cálcio insolúvel (ADRIANO, 2001).

Nascimento e Fontes (2004) estudaram o comportamento adsorptivo do Cu e do Zn em seis tipos de Latossolos do estado de Minas Gerais e observaram que as equações de Langmuir e Freundlich foram eficientes na determinação dos parâmetros de adsorção de ambos os elementos. Para o Zn e Cu, os teores de argila e de matéria orgânica foram as características melhor relacionadas, respectivamente, com a capacidade de adsorção. Para o Zn, a estimada capacidade máxima de adsorção nestes solos variou de 1,11 a 2,18 $mg\ g^{-1}$. Shuman (1975) e Machado e Pavan (1987) também encontraram maiores valores de

adsorção máxima de Zn para solos mais argilosos, independentemente dos teores de matéria orgânica. Os solos estudados apresentaram maior energia de ligação dos sítios de troca e maior capacidade de adsorção máxima para Cu relativamente ao Zn. Os autores também sugerem que em solos com alto conteúdo de matéria orgânica possa existir maior dificuldade de previsão da adsorção deste elemento (NASCIMENTO; FONTES, 2004).

1.3.3.2 Adsorção em sistemas competitivos

Os solos, quando poluídos, estão normalmente contaminados simultaneamente por vários elementos. Acaba por acontecer uma competição entre esses elementos, o que pode influenciar tanto a mobilidade no solo, quanto sua biodisponibilidade (McBRIDE, 1994; LOPES, 2009). Em condições naturais, a adsorção de metais é um processo competitivo entre os íons na solução e aqueles retidos pela fase sólida do solo. Assim, a presença de cátions competidores na composição química da solução do solo pode aumentar a mobilidade dos metais (HARTER; NAIDU, 2001). Desta forma, a adsorção competitiva ou multielementar, necessita ser melhor investigada, bem como a comparação entre os comportamentos individual e competitivo (ANTONIADIS; TSADILAS, 2007).

Normalmente, quando a adsorção competitiva de metais é comparada com o seu comportamento monometálico, a sua adsorção é menor nos sistemas competitivos (HARTER, 1992; CHOROM et al., 2013). Metais mais fortemente adsorvidos, tais como Pb e Cu, são menos afetados pela concorrência de metais móveis, tais como Cd e Zn (BASTA; TABATABAI, 1992). Segundo Chorom et al. (2013), o efeito de competição entre os metais mais móveis, tais como Cd, Ni e Zn, especialmente em solos orgânicos, ainda é pouco estudado/publicado. Além disso, os autores salientam que ainda não é totalmente claro o modo como a adsorção competitiva de metais pesados fracamente adsorvidos afeta o seu comportamento e sua disponibilidade ao longo do tempo.

Kuo e Baker (1980) estudaram a adsorção competitiva de Cu, Zn e Cd por solos ácidos e verificaram que o Cu era preferencialmente adsorvido em relação aos demais. Além disso, concluíram que a retenção do Cd e do Zn também foi afetada pela presença do Cu. Basta e Tabatabai (1992) obtiveram isotermas de adsorção competitiva e verificaram aumento da competição dos metais à medida que eram aumentadas suas concentrações iniciais. Neste estudo, os autores encontraram a seguinte ordem de afinidade dos metais $Pb > Cu > Ni \geq Cd \sim Zn$. Echeverria *et al.* (1998) também concluíram que o Cu e o Pb foram adsorvidos em grandes quantidades e com força de ligação relativamente mais elevada que para o Cd, Ni e Zn. Estes autores atribuíram esta afinidade devido ao teor de matéria orgânica nos solos, que promoveu a formação de complexos estáveis.

Fontes *et al.* (2000), quando avaliaram Cu, Pb, Cd e Ni encontraram que as isotermas de adsorção em sistema competitivo eram melhor ajustadas em um modelo polinomial quadrático. Chorom *et al.* (2013) quiseram avaliar o comportamento individual e

competitivo da adsorção de Cd, Ni e Zn em solos tratados com diferentes doses de esterco bovino. Os resultados mostraram que as isotermas seguiram o modelo de curva L e que a competição entre os metais reduziu significativamente os resultados de K_d (obtido pela aplicação da isoterma de Freundlich), especialmente para o Ni e Cd. Além disso, a quantidade adsorvida foi menor quando em sistema competitivo do que quando em condição monometálica.

1.4 MATERIAL E MÉTODOS

1.4.1 Solos e amostragem

Selecionaram-se dois tipos de solos com origens distintas, ambos coletados na camada de 0 a 20 cm de profundidade, em locais pertencentes a áreas de preservação permanente (APP) próximas a corpos hídricos (Figura 3). Foram coletados cerca de 5 kg de cada amostra.

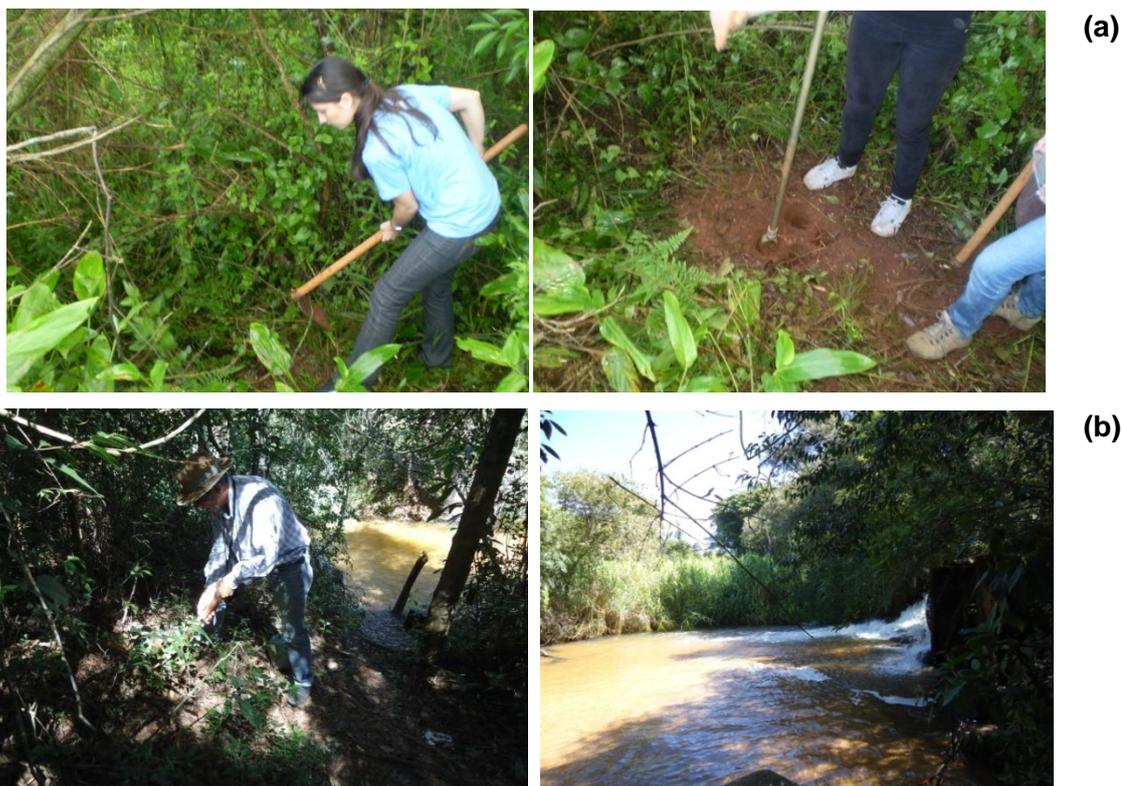


Figura 3 Coleta dos solos em áreas de preservação permanente (APP): solo A – Francisco Beltrão (a) e solo B – São Pedro do Paraná (b).

Uma das amostras (Solo A) foi coletada no município de Francisco Beltrão, no câmpus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), sendo este classificado como Latossolo Vermelho distroférico (Latitude Sul $-26,086856^{\circ}$ e Longitude Oeste $53,088951^{\circ}$) (Figura 4). Este solo é típico da região sudoeste do Paraná, tendo como material de origem a rocha basáltica, resultante das rochas vulcânicas básicas da Formação Serra Geral. O clima da região é classificado, segundo Köppen (1978), como Subtropical Cfa, com tendência da concentração das chuvas no verão e sem estação seca definida. As temperaturas no inverno são inferiores a 18°C e as geadas ocorrem com pouca frequência. Os verões são quentes com temperaturas superiores a 22°C e a precipitação pluviométrica média anual varia entre 1.250 e 1.500 mm.

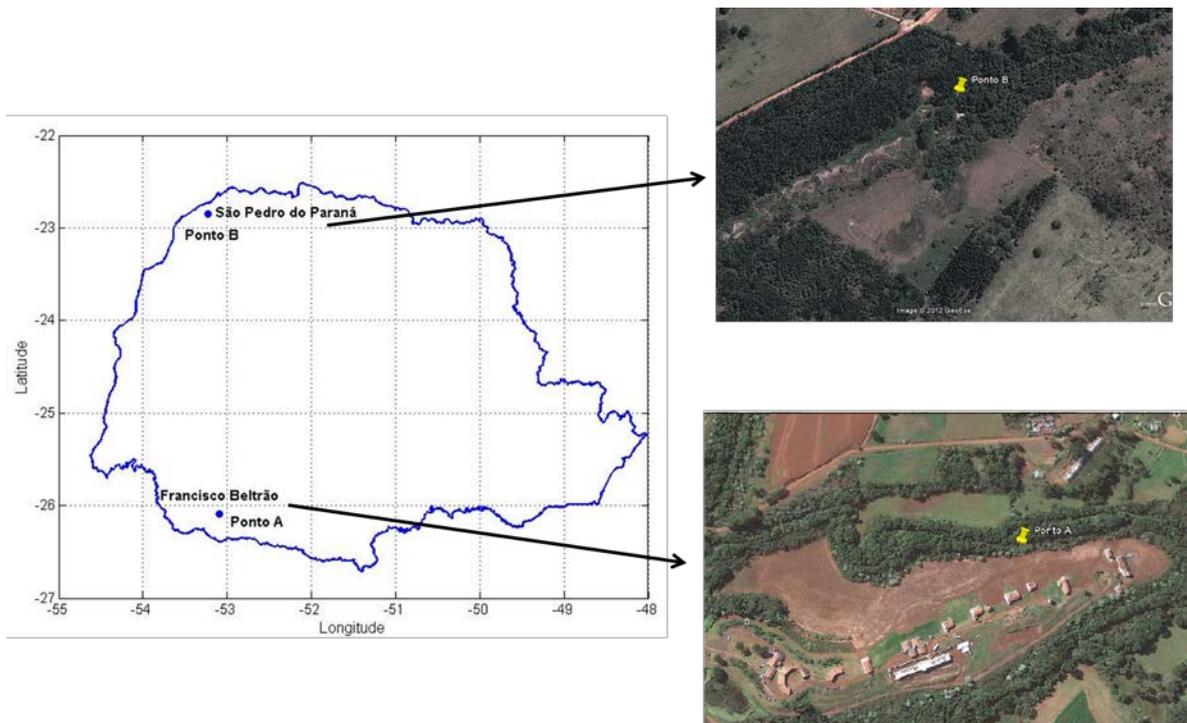


Figura 4 Localização dos pontos de amostragem dos solos no estado do Paraná.

O outro solo (Solo B) foi coletado no município de São Pedro do Paraná (Latitude Sul $-22,845222^\circ$ e Longitude Oeste $-53,229028^\circ$), na região de Paranaíba, PR (Figura 4). Este foi coletado por representar os solos típicos das regiões que tem como material de origem o arenito Caiuá, material este que ocupa 16% da área total do estado do Paraná (SÁ; CAVIGLIONE, 1999).

A região noroeste do estado do Paraná ocupa 18% da área total do estado, abrange 100 municípios e totaliza 3.510.800 hectares (EMATER-PR, 1998), dos quais, aproximadamente, 2.640.000 hectares são formados a partir de rochas sedimentares arenosas da Formação Caiuá, do Cretáceo, resultado de um processo de sedimentação eólica posterior aos últimos derrames de lava da Formação Serra Geral (EMBRAPA, 1984). Desta forma, caracterizam-se por possuírem textura arenosa e baixas concentrações de cátions, tais como: cálcio, magnésio e potássio (EMBRAPA, 1984). Os solos presentes nesta formação são o Latossolo Vermelho-Escuro, Podzólico Vermelho-Escuro, Podzólico Vermelho-Amarelo e Areias Quartzosas, de textura média e arenosa (EMATER-PR, 1998), classificados, no atual sistema brasileiro de classificação de solos, como: Latossolos Vermelhos, Argissolos Vermelhos, Argissolos Vermelho-Amarelos e Neossolos Quartzarênicos, respectivamente (EMBRAPA, 2006). Em relação à mineralogia, os arenitos são constituídos basicamente por quartzo, feldspato potássico e óxidos de ferro (SOUZA; GASPARETTO, 2010).

1.4.2 Preparação e caracterização das amostras

As amostras foram destorroadas, secas ao ar e passadas em peneiras de 2 mm de diâmetro de malha (terra fina seca ao ar – TFSA) para posteriormente serem caracterizadas química, granulométrica e mineralogicamente.

1.4.2.1 Análises químicas dos solos

Uma alíquota das amostras homogeneizadas e já passadas em peneira 2 mm foi utilizada para as análises químicas de rotina, podendo-se citar os parâmetros de pH, acidez potencial, teores de alumínio (Al^{3+}), cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), teores trocáveis de potássio (K^+), sódio (Na^+) e fósforo (P), CTC e carbono orgânico (C). Para isso foram adotados os procedimentos de Embrapa (1999).

1.4.2.2 Análise granulométrica dos solos

Parte das amostras que passaram em peneira de 2 mm (TFSA) foram utilizadas para realização das análises granulométricas. Os procedimentos para a determinação de análise textural seguiram as metodologias descritas em Embrapa (1997).

1.4.2.3 Quantificação dos óxidos de ferro menos cristalinos

Primeiramente realizou-se a separação da fração argila das frações areia e silte. A fração areia foi retida em peneira de 0,05 mm e as frações argila e silte foram separadas por sedimentação com base na lei de Stokes (GEE; BAUDER, 1986).

Foram pesados precisamente 0,4 g de argila em tubo de centrífuga de vidro com capacidade de 15 mL e adicionou-se 10 mL de solução de oxalato de amônio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com o pH ajustado em 3, utilizando-se solução de 0,2 de HCl mol L^{-1} . O sistema foi agitado por 2 horas e protegido da luz. O material foi centrifugado e seu sobrenadante foi recolhido para posterior análise dos teores de Fe pelo método do colorímetro com o uso de ortofenantrolina. Ao final da extração, o excesso de sais foi removido lavando-se o resíduo duas vezes com 80 mL de carbonato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, e outra com 80 mL de água deionizada. A argila tratada foi então seca em estufa e sua massa final foi determinada para os cálculos de remoção dos óxidos de ferro amorfos (CAMARGO et al., 1986).

1.4.2.4 Quantificação dos óxidos de ferro mais cristalinos

Amostras da fração argila natural foram submetidas a tratamento com ditionito-citrato-bicarbonato (DCB) (MEHRA; JACKSON, 1960) para remoção dos óxidos de ferro mais cristalinos. Foram pesados precisamente 2,5 g de argila em tubo de centrífuga com capacidade de 100 mL. Em seguida adicionou-se 40 mL de solução de citrato de sódio $0,3 \text{ mol L}^{-1}$, 5 mL de bicarbonato de sódio 1 mol L^{-1} e 1 g de ditionito de sódio em pó. A mistura

foi mantida em banho-maria por 30 min a 70 °C, sendo que após os 15 min iniciais, foi adicionada outra porção de 1 g de ditionito, agitando-se continuamente. A temperatura foi monitorada para não exceder 75 °C, evitando-se, assim, a formação de sulfato de ferro. A suspensão foi centrifugada a 3500 rpm por 10 minutos e o sobrenadante acondicionado em frasco de 200 mL, previamente tarado; a operação foi repetida mais 3 vezes (total de 4 extrações), guardando sempre o extrato no mesmo frasco para a mesma amostra. Determinou-se o teor de ferro nas amostras por espectrofotometria de UV-VIS. O excesso de sais foi removido ao final das extrações, lavando-se o resíduo duas vezes com 80 mL de carbonato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ 0,5 mol L⁻¹, e outra com 80 mL de água deionizada. Em seguida, o resíduo foi seco em estufa (70 °C) e pesado para determinação da massa de amostra removida pela extração com DCB.

1.4.2.5 Identificação mineralógica por difratometria de raios X (DRX)

Amostras da fração argila foram moídas em almofariz e montadas em placa de Koch (amostras não-orientadas) (BESOAIN, 1985) para análise por DRX, em difratômetro com goniômetro vertical Shimadzu, modelo XRD-7000, com velocidade angular do goniômetro de 1°2θ/min e com amplitude de 4 a 65 °2θ.

Para a amostra da fração argila do solo argiloso (Solo A), foram feitos ainda vários tratamentos para diferenciar os seus minerais 2:1 (WHITTIG; ALLARDICE, 1986), mas para isso foi feita a desferrificação prévia da amostra com ditionito-citrato-bicarbonato (DCB) de acordo com a metodologia descrita em Mehra e Jackson (1960) (item 4.2.4).

Os tratamentos foram os seguintes (WHITTIG; ALLARDICE, 1986):

- a) saturação com Mg e secagem ao ar: diferenciar minerais do tipo 2:1 expansivos (vermiculita e montmorilonita) dos não-expansivos (micas);
- b) saturação com Mg e solvatação com glicerol: diferenciar vermiculita e esmectitas (montmorilonita);
- c) saturação com K e secagem ao ar: diferenciar clorita, vermiculita e vermiculita com hidróxi entre camadas (VHE);
- d) saturação com K e aquecimento a 550°C: diferenciar clorita e minerais interstratificados e concentrar minerais do tipo 2:1.

Após os tratamentos, foram montadas lâminas orientadas (técnica do esfregaço) e analisadas por DRX.

1.4.3 Ensaio de adsorção de metais

Os ensaios de adsorção foram baseados no método de “batch”, ou em batelada, utilizado em diversos estudos de adsorção (HARTER; NAIDU, 2001; PIRES; MATIAZZO, 2007; LOPES, 2009). O método é utilizado para avaliar o equilíbrio de distribuição de um soluto entre o sorvente e a solução do solo (LAVORENTI et al., 2003). Foram pesados 2 g

de terra fina seca ao ar (TFSA) e adicionados 20 mL de solução metálica (Cu, Pb e Zn) em diferentes concentrações iniciais. Estas soluções metálicas foram preparadas com os metais na forma de sais de nitrato ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 (relação solo:solução = 1:10). O nitrato de sódio foi escolhido como eletrólito suporte devido à sua baixa afinidade em complexar cátions metálicos (SILVEIRA, 1999; PIERANGELI, 1999). Os experimentos foram realizados com a adição de solução monometálica (Sistema Não-Competitivo – SNC) e também com a solução contendo os três metais, em condição multimetálica (Sistema Competitivo – SC), sendo todos os experimentos realizados em triplicata. As concentrações iniciais do metal variaram entre 50 e 2.000 mg L^{-1} . Este ensaio foi realizado em tubos de centrífuga de polietileno com capacidade de 50 mL que permaneceram em agitação durante 24 h a 200 rpm, temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Após este período, o material foi centrifugado (5000 rpm, 10 minutos) e o extrato foi reservado para posterior quantificação dos teores de metais na concentração de equilíbrio por espectrometria de absorção atômica (AAS).

A quantidade de metal adsorvido (q) foi calculada subtraindo-se da concentração do metal inicialmente adicionada, a concentração de equilíbrio (C_e) determinada nos extratos. A partir dos dados obtidos experimentalmente foram construídas as isotermas de adsorção segundo as relações lineares dos modelos de adsorção, plotando-se a quantidade de metal adsorvido na ordenada e a concentração na solução de equilíbrio na abscissa. Obtiveram-se os coeficientes das equações de Freundlich e Langmuir a partir das equações linearizadas apresentadas a seguir. Os coeficientes obtidos a partir destas equações foram utilizados para ajustar os modelos teóricos aos dados obtidos experimentalmente.

1.4.3.1 Linearização das equações de adsorção

A equação de Langmuir é a seguinte (Equação 5):

$$q_e = \frac{K_L b C_e}{1 + K_L C_e} \quad \text{Eq. 5}$$

em que:

q_e - quantidade de metal adsorvido por unidade de massa do adsorvente (mg kg^{-1});

K_L - constante de Langmuir relacionada à energia de ligação do metal ao adsorvente (L mg^{-1});

b - adsorção máxima (mg kg^{-1});

C_e - concentração do metal na solução de equilíbrio (mg L^{-1}).

A forma linearizada da isoterma de Langmuir é dada pela Equação 6:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_L b} + \frac{C_e}{b} \quad \text{Eq. 6}$$

Por meio desta equação obtém-se o gráfico de C_e/q_e (eixo y) *versus* C_e (eixo x), produzindo uma reta com declividade $(1/b)$ e intercepto $(1/K_L b)$. Caso o ajuste dos dados seja satisfatório, a isoterma de Langmuir pode ser usada para calcular os valores de adsorção máxima e da constante de afinidade.

A equação de Freundlich é a seguinte (Equação 7):

$$q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad \text{Eq. 7}$$

em que:

q_e - quantidade de metal adsorvido por unidade de massa do adsorvente (mg kg^{-1});

K_F - constante de adsorção de Freundlich (L mg^{-1});

n - indica qualitativamente a reatividade dos sítios energéticos do solo (adimensional);

C_e - concentração do metal na solução de equilíbrio (mg L^{-1}).

Aplicando propriedades logarítmicas tem-se:

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Eq. 8}$$

Fazendo-se o gráfico de $\log q_e$ *versus* $\log C_e$, obtém-se os valores de K_F e n , onde $\log K_F$ é o coeficiente linear e $1/n$ é o coeficiente angular da reta.

1.4.4 Contaminação dos solos artificialmente

Os solos A e B passaram pelo processo de contaminação artificial e resultaram em oito situações de solos contaminados: 6 amostras de solos contaminados apenas com um metal (Solos A e B com metais Cu, Zn ou Pb $\rightarrow 2 \times 3 = 6$) e 2 amostras de solos contaminados concomitantemente pelos três metais (Solo A e Solo B com Cu+Zn+Pb).

Soluções metálicas ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ou com os três sais) foram adicionadas ao solo (sem ajustar o valor de pH). O solo permaneceu em contato com a solução durante 24h em shaker (200 rpm / 25 °C), e posteriormente foi deixado em repouso. O sobrenadante foi descartado para remover os metais não adsorvidos e o solo contaminado foi seco em estufa a 50°C por 24 h, sendo então passado em peneira 2 mm (JUWARKAR et al., 2007; FRANZETTI et al., 2009).

As concentrações das soluções foram calculadas visando o contato de cada grama de solo com 3 mg de cada metal, uma vez que os ensaios preliminares pela aplicação das

isotermas indicaram este valor como próximo à capacidade máxima de adsorção (CMA). Cabe ressaltar que também quis-se manter a mesma relação solo:solução (1:10) do método de batch/batelada para diminuir eventuais erros. Com isso, foram adicionados, a cada 50 g de solo, 50 mL de solução contendo 750 mg L^{-1} de cada metal. Esta concentração também foi mantida para a solução multimetálica.

1.4.5 Determinação dos teores totais de metais pesados no solo

A determinação dos teores de metais nos solos (Pb, Zn e Cu) foi realizada tanto para as amostras recém contaminadas (contaminação artificial em laboratório), quanto para as livres de contaminação, para se saber a concentração de metais provindas do material de origem dos solos. O método empregado foi o da digestão com a solução de “água régia” (HCl:HNO₃, 3:1, v/v) (McGRATH; CUNLIFFE, 1985). A digestão das amostras de solo foi realizada em bloco digestor pela adição de HCl e HNO₃ (3:1), à temperatura máxima de 150 °C durante 2 horas. Os extratos foram filtrados e colocados em balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com água ultra pura. O material foi então acondicionado em frascos para posterior determinação dos teores de metais por AAS, na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) – câmpus Cascavel.

1.4.6 Fracionamento dos metais em diferentes constituintes do solo

O objetivo de realizar os estudos de extração sequencial é avaliar as formas químicas de metais pesados no solo (HONG *et al.*, 2002) e assim determinar a presença dos metais nas frações solúvel, trocável, carbonatos, óxidos, orgânica e residual. Este procedimento foi adotado para os solos argilosos e arenosos contaminados com os metais Cu, Zn e Pb, em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC).

O método de extração aplicado baseou-se na metodologia descrita por Tessier *et al.* (1979). As extrações foram realizadas em triplicata, em tubo de centrífuga de polietileno de 50 mL. Os extratos, após cada etapa de extração, foram estocados em frascos de polietileno para evitar a adsorção dos metais às paredes dos frascos, como alertado por Kim e Hill (1993). Os detalhes metodológicos estão descritos a seguir e podem também ser visualizados por fluxograma (Figura 5).

Os resultados foram apresentados em função da concentração dos metais em cada fração e também a contribuição percentual de cada fração em relação ao conteúdo total.

Fração solúvel: alíquotas de 1,0 g de TFSA foram colocadas em tubos de centrífuga com capacidade de 50 mL. Em seguida, foram transferidos 8 mL de água ultra pura em cada tubo e procedeu-se agitação em agitador horizontal a 200 rpm por 1 hora. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante reservado em um frasco.

Fração trocável: 8 mL de solução de MgCl_2 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7) foi adicionado a cada tubo contendo o resíduo da etapa anterior e procedeu-se a agitação em agitador horizontal a 200 rpm por 1 hora. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante reservado em um frasco. O resíduo foi ressuspensionado com 5 mL de água ultra pura para lavagem do material, centrifugado novamente (10 minutos, 5000 rpm) e o sobrenadante descartado.

Fração ligada aos carbonatos: 8 mL de solução de acetato de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5 ajustado com ácido acético) foram adicionados ao tubo de centrífuga contendo o resíduo anterior, que foi ressuspensionado, e procedeu-se agitação em agitador horizontal a 200 rpm por 6 horas. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante reservado em frasco. O resíduo foi lavado com 5 mL de água ultra pura para lavagem do material, centrifugado novamente (10 minutos, 5000 rpm) e o sobrenadante descartado.

Fração ligada aos óxidos de ferro e manganês: ao tubo de centrífuga contendo o resíduo anterior foram adicionados 20 mL de solução de cloridrato de hidroxilamina $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ em 25% (v/v) de ácido acético. O material foi levado a banho-maria a $96 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ por 6 horas, com agitação ocasional. O material foi centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante colocado em balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com água ultra pura. O procedimento de lavagem também foi realizado, conforme descrito anteriormente.

Fração ligada à matéria orgânica: 3 mL de solução de HNO_3 $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e 5 mL de H_2O_2 30% (pH 2) foram adicionados ao tubo de centrífuga contendo o resíduo anterior, que foi ressuspensionado e levado a banho-maria a $85 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 horas, com agitação ocasional. Em seguida, adicionou-se mais uma alíquota de 2 mL de H_2O_2 30% (pH 2) e deixado por mais 3 horas no banho-maria. Após esfriar, adicionou-se 5 mL de acetato de amônio $3,2 \text{ mol L}^{-1}$ em 20% (v/v) de HNO_3 e levou-se para agitação durante 30 minutos. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante colocado em balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com água ultra pura. Procedeu-se em seguida a lavagem do material residual, conforme já descrito e então o material foi seco em estufa para seguir-se na etapa posterior.

Fração residual: 0,5 g do resíduo seco foi pesado e colocado em tubo de vidro para proceder-se à digestão. Foram adicionados 3 mL de HCl e 1 mL de HNO_3 e levados para bloco digestor por 2 horas, a $150 \text{ }^\circ\text{C}$. Depois de frio, o conteúdo foi filtrado e recolhido o seu extrato em balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com água ultra pura.

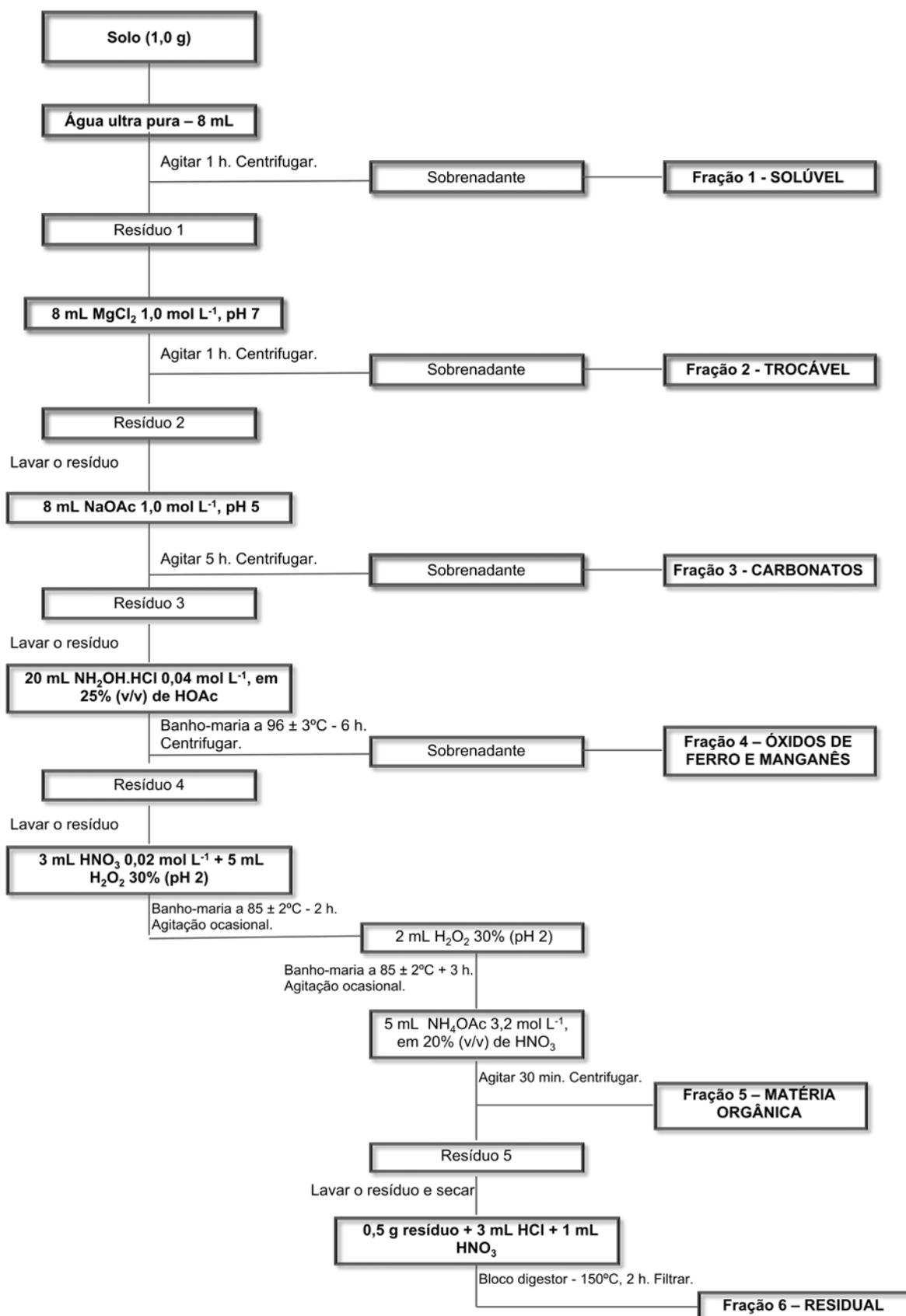


Figura 5 Esquema do método de extração sequencial aplicado nos solos em estudo.

1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.5.1 Características das amostras de solo

As amostras de solo utilizadas neste trabalho apresentaram variações em suas propriedades físicas e químicas (Tabela 2).

Tabela 2 Propriedades químicas e físicas das amostras de solo coletadas nas diferentes áreas.

| Solo | Areia | Silte | Argila | pH CaCl ₂ | pH H ₂ O | MO ¹ | SB ² | CTC ³ | P | K | Mg | Ca | Al ³⁺ | V ⁴ |
|--------|-------------|-------|--------|----------------------|---------------------|-----------------|-----------------|------------------|------|------|------|------|------------------|----------------|
| | -----%----- | | | | | | | | | | | | | |
| Solo A | 4,90 | 36,10 | 69,00 | 4,6 | 5,5 | 33,51 | 7,48 | 13,69 | 6,07 | 0,43 | 2,84 | 4,21 | 0,14 | 54,64 |
| Solo B | 86,60 | 4,00 | 9,40 | 4,5 | 5,0 | 10,72 | 3,50 | 6,68 | 2,98 | 0,15 | 1,44 | 1,91 | 0,06 | 52,40 |

¹ MO – matéria orgânica; ² SB – soma de bases trocáveis; ³ CTC – capacidade de troca catiônica; ⁴ V – porcentagem de bases trocáveis

Os teores de argila variaram de 69 a 9,40% entre os solos A e B, respectivamente. O solo A classifica-se como de textura muito argilosa e o solo B como textura arenosa (EMBRAPA, 2006). Os valores de pH em CaCl₂ ficaram próximos a 4,5 para ambos os solos, representando, segundo Lopes e Guidollin (1989), acidez média.

Os valores de matéria orgânica (MO) nos solos A e B são considerados médio e baixos, respectivamente (FAGERIA, 2004). Os valores de CTC variaram de 13,69 a 6,68 cmol_c kg⁻¹, classificados como médio e alto, respectivamente (Tabela 2).

Os valores de pH e V% apresentaram correlação positiva, o que já era esperado devido a amostras retiradas das camadas superficiais do solo (MOREIRA, 2004). No solo A, o Ca apresentou-se como o principal contribuinte das bases trocáveis, seguido pelo Mg, refletindo assim a natureza do material de origem. Comparando-se rochas básicas com ácidas, observa-se a maior concentração de sílica nos materiais ácidos, enquanto nos básicos encontram-se teores mais elevados, principalmente, de Fe, Ca e Mg (PEDRON, 2007).

A textura arenosa e os baixos teores de matéria orgânica do solo B conferem a este um baixo poder-tampão, diferenciando os solos provenientes da região do arenito Caiuá da maioria dos solos do restante do estado (EMATER-PR, 1998).

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados das análises de Fe₂O₃ extraídos com ditionito citrato bicarbonato (DCB) e oxalato de amônio (OA). É importante a determinação do teor dos óxidos de Fe por estes terem a capacidade de retenção de metais pesados com elevada energia, mesmo em pequenas quantidades.

Os maiores teores de Fe_{DCB} (extração com DCB) e Fe_{OA} (extração com OA) foram no solo A (Tabela 3). Este fato deve-se aos óxidos de Fe de alta e baixa cristalinidade estarem relacionados à fração argila dos solos. Vendrame *et al.* (2011) também obtiveram situação semelhante. De acordo com Pötter e Kämpf (1981) e Kämpf e Dick (1984), rochas mais ácidas, como o riólito e o dacito, conferem aos solos valores inferiores de Fe_{DCB} que as rochas básicas, como o basalto. No trabalho de Pedron (2007) os teores de Fe_{DCB} em solos

originados de basalto foram menores que os aqui encontrados, variando de 17 a 74 g kg⁻¹. Já Kämpf e Schwertmann (1995), em saprólitos de basaltos e riólitos, encontraram de 47 a 354 g kg⁻¹. Já Ghidin *et al.* (2006), também em solos provenientes de basalto, encontraram concentrações de Fe₂O₃ acima de 200 mg kg⁻¹. Horizontes com teores de Fe₂O₃ inferiores a 50 g kg⁻¹ são considerados pobres em Fe (MELFI *et al.*, 1979), o que acontece com o solo B. O material de origem da região (arenito) é pobre em minerais primários com Fe estrutural.

Tabela 3 Teores de Fe₂O₃ extraídos com ditionito citrato bicarbonato (DCB) e oxalato de amônio (OA) e relação Fe₂O₃_{OA} / Fe₂O₃_{DCB} das amostras de solo coletadas na camada de 0-20 cm de profundidade.

| Solo | Fe ₂ O ₃ _{DCB} | Fe ₂ O ₃ _{OA} | Fe ₂ O ₃ _{OA} / Fe ₂ O ₃ _{DCB} |
|--------|---|--|--|
| | ----- g kg ⁻¹ ----- | | |
| Solo A | 113,8 | 11,4 | 0,1002 |
| Solo B | 48,0 | 5,3 | 0,1104 |

Os teores de Fe_{OA} são extremamente baixos se comparados aos de Fe_{DCB}, o que pode ser confirmado pela baixa razão Fe_{OA}/Fe_{DCB} (valor máximo de 0,11), evidenciando o predomínio de formas mais cristalinas de óxidos de Fe, característica de solos em avançado estágio de intemperismo (KÄMPF *et al.*, 2000). Em solo com maior grau de intemperismo é comum encontrar valores para essa relação inferiores a 0,01 (MELO, 1998). O predomínio destas formas cristalinas deve-se à boa drenagem dos solos, não ocorrendo hidromorfismo.

1.5.2 Composição mineralógica da fração argila

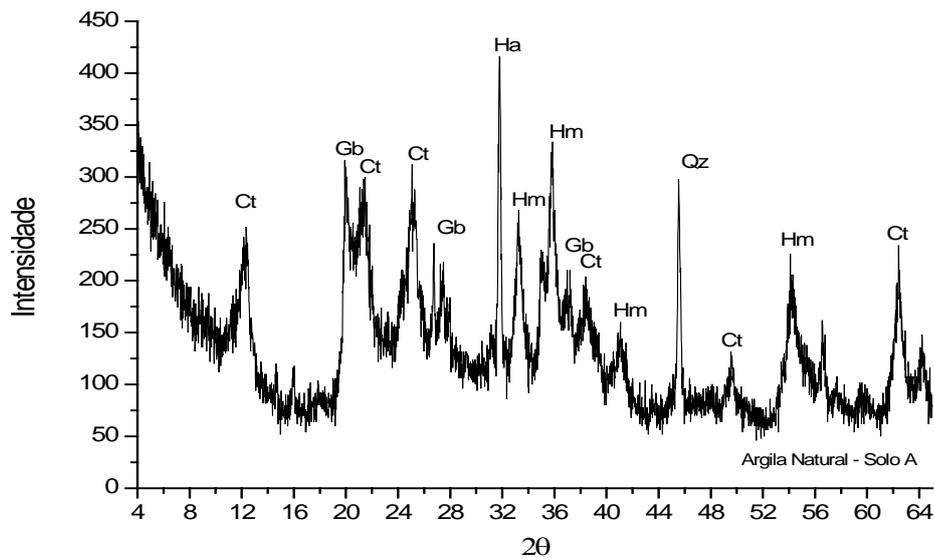
Tanto as propriedades químicas quanto as físicas do solo são amplamente controladas por seus minerais, de maneira especial por aqueles constituintes da fração argila. A identificação, a caracterização e o entendimento das propriedades dos diferentes minerais do solo ajudam na avaliação da sua gênese, dinâmica dos metais e nas suas propriedades relacionadas com a classificação e práticas agronômicas.

Na Figura 6 são apresentados os difratogramas de raios X da fração argila dos solos A e B. A DRX revelou a presença de óxidos de Fe de alta cristalinidade (goethita e hematita), principalmente no solo A. Foi identificado também, o quartzo, cuja presença deve-se à sua alta resistência ao intemperismo. No solo A, observam-se os picos característicos do Quartzo (Qz), Caulinita (Ct), Hematita (Hm) e Gibbsita (Gb). Teve-se dificuldade de identificação da Goethita (Gt) em virtude da sobreposição de picos, principalmente com os picos característicos da Hm. No solo B, há predominância de picos de Qz, além de também estarem presentes Ct, Gb, Gt e Mica (Mi). Nesta amostra não foi possível observar a presença de Hm. A caulinita é um mineral tipicamente formado em associação com perfis de intemperismo e sua formação está associada à hidrólise de silicatos precursores, sendo favorecida sob condições de boa drenagem e pH baixo (GONÇALVES *et al.*, 2006). Estes

resultados confirmam que a composição mineralógica destes solos é diferente, por possuírem materiais de origens diferentes.

A presença considerável de oxi-hidróxidos de ferro (hematita e goethita) e alumínio (gibbsita), os quais possuem elevado pH no ponto de carga zero (PCZ), proporcionam uma elevada capacidade de retenção de metais em solos através de diferentes processos físico-químicos, tais como adsorção, co-precipitação, oclusão, entre outros (SPOSITO, 1989; McBRIDE, 1994).

(a)



(b)

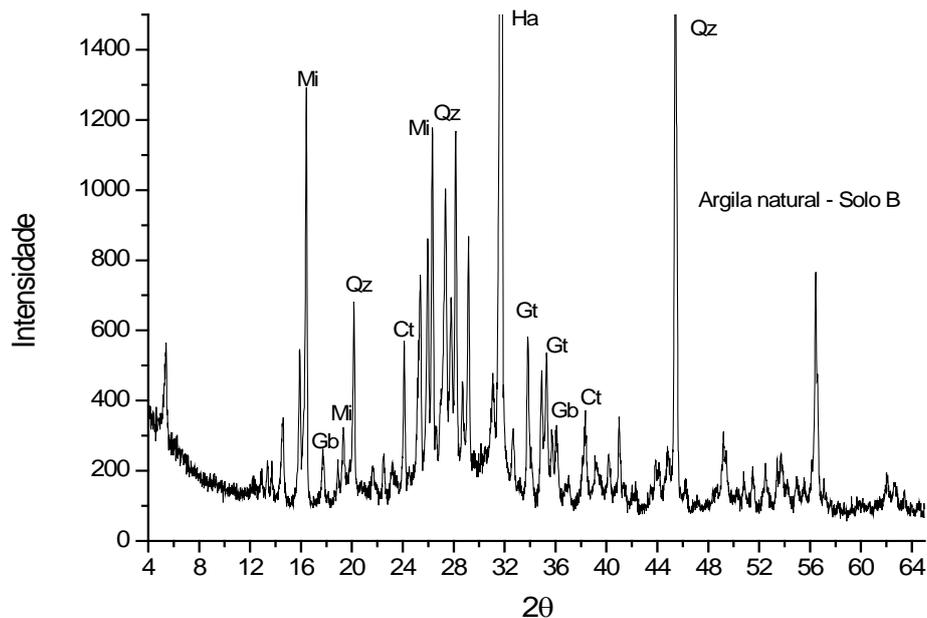


Figura 6 Difração de raios X da fração argila do solo A (a) e do solo B (b).
Ct – caulinita, Hm – hematita, Qz – quartzo, Gb – gibbsita, Ha – halita, Mi – mica, Gt – goethita

Com o objetivo de verificar se no solo A havia minerais do tipo 2:1, minerais estes normalmente responsáveis por aumento da capacidade de adsorção, foram realizados os tratamentos necessários, porém os difratogramas (Figura 7) mostraram não haver este tipo de mineral neste solo. Este resultado era o esperado, uma vez que o material de origem e idade deste solo indica ser altamente intemperizado, já não existindo este tipo de mineral secundário.

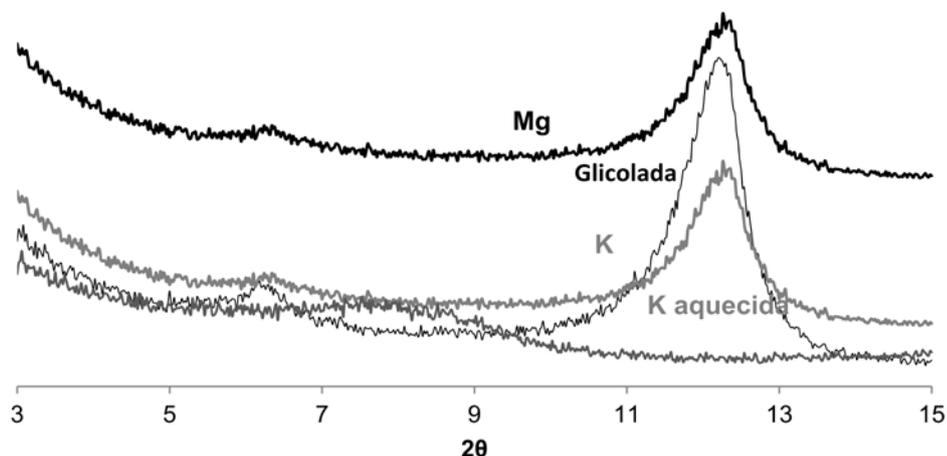


Figura 7 Difratogramas de raios X de amostras orientadas da fração argila desferrificada do solo A ao serem submetidas aos tratamentos com Mg, Mg com etilenoglicol, K e K com aquecimento a 550 °C.

1.5.3 Efeito das características das amostras de solo na adsorção dos metais

Os ajustes dos resultados experimentais pelos modelos de Freundlich e Langmuir estão apresentados nas Figuras 8 e 9 (SNC) e Figura 10 e 11 (SC), e os parâmetros quantitativos de ajuste da reação de adsorção estão na Tabela 4.

As isotermas de equilíbrio de adsorção para os três metais foram determinadas com os resultados experimentais das concentrações de equilíbrio na fase líquida C_e versus q_e , que representa a concentração da fase sólida. Nos gráficos apresentados, os pontos representam os dados experimentais que compõem as isotermas de adsorção e as curvas referem-se aos modelos de Langmuir e Freundlich.

No solo A foi possível observar que ocorreu ajuste a ambos os modelos de adsorção. Já no Solo B houve situações de alguns metais não se ajustarem adequadamente aos modelos matemáticos. Em SNC, somente o Pb que ajustou-se a ambos os modelos. Os dados de Cu e Zn não se ajustaram ao modelo de Langmuir, somente no de Freundlich. Já quando em SC, não foi possível ajustar a adsorção do Zn apenas ao modelo de Freundlich (Tabela 4).

Tabela 4 Parâmetros de ajuste das equações de Langmuir e Freundlich para dados de adsorção de metais nos dois tipos de solos avaliados, tanto em sistema competitivo quanto não-competitivo.

| Metal | Solo | Langmuir | | | Freundlich | | |
|--------------------------------------|--------|---------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|-------|
| | | K_L | CMA (b_L) | R^2 | K_F | 1/n | R^2 |
| | | $L \text{ mg}^{-1}$ | mg g^{-1} | | $L \text{ mg}^{-1}$ | | |
| <i>Sistema Não-Competitivo (SNC)</i> | | | | | | | |
| Pb | Solo A | 0,0988 | 1,25 | 0,98 | 370,94 | 0,284 | 0,89 |
| | Solo B | 0,0885 | 1,00 | 0,98 | 391,74 | 0,168 | 0,88 |
| Cu | Solo A | 0,0152 | 0,83 | 0,92 | 813,21 | 0,223 | 0,91 |
| | Solo B | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. |
| Zn | Solo A | 0,0338 | 0,63 | 0,93 | 134,74 | 0,260 | 0,82 |
| | Solo B | n.a. | n.a. | n.a. | 66,24 | 0,345 | 0,77 |
| <i>Sistema Competitivo (SC)</i> | | | | | | | |
| Pb | Solo A | 0,0851 | 2,50 | 0,98 | 367,28 | 0,384 | 1,00 |
| | Solo B | 0,0483 | 1,00 | 0,99 | 166,34 | 0,324 | 0,86 |
| Cu | Solo A | 0,0565 | 1,43 | 1,00 | 302,55 | 0,276 | 1,00 |
| | Solo B | 0,1393 | 0,29 | 0,99 | 250,61 | 0,039 | 0,13 |
| Zn | Solo A | 0,0173 | 0,63 | 0,99 | 45,95 | 0,436 | 0,95 |
| | Solo B | 0,0237 | 0,32 | 0,93 | n.a. | n.a. | n.a. |

K_L - constante relacionada à afinidade do adsorvente pelo adsorvato; CMA – capacidade máxima de adsorção, parâmetro b do modelo de Langmuir; R^2 – coeficiente de determinação; K_F – constante de adsorção de Freundlich
n.a. - o modelo não se ajusta aos dados experimentais

Observando-se todos os gráficos de adsorção, é possível perceber que em todos os casos, seja em SC ou SNC, a maior adsorção foi sempre no solo argiloso, independentemente do tipo do metal. É sabido que as reações que promovem a retenção de metais pesados ocorrem sempre nas frações mais finas e que solos de textura mais grosseira devem favorecer a mobilidade desses metais (LINHARES et al., 2009; LINHARES et al., 2010).

O fato dos valores das concentrações do metal na solução de equilíbrio serem diferentes nos dois tipos de solos ocorre devido à capacidade máxima de adsorção do elemento pelos solos. Relata-se que, quanto maior for a capacidade de adsorver o elemento pelo solo, menor será sua concentração na solução de equilíbrio (SODRÉ et al., 2001).

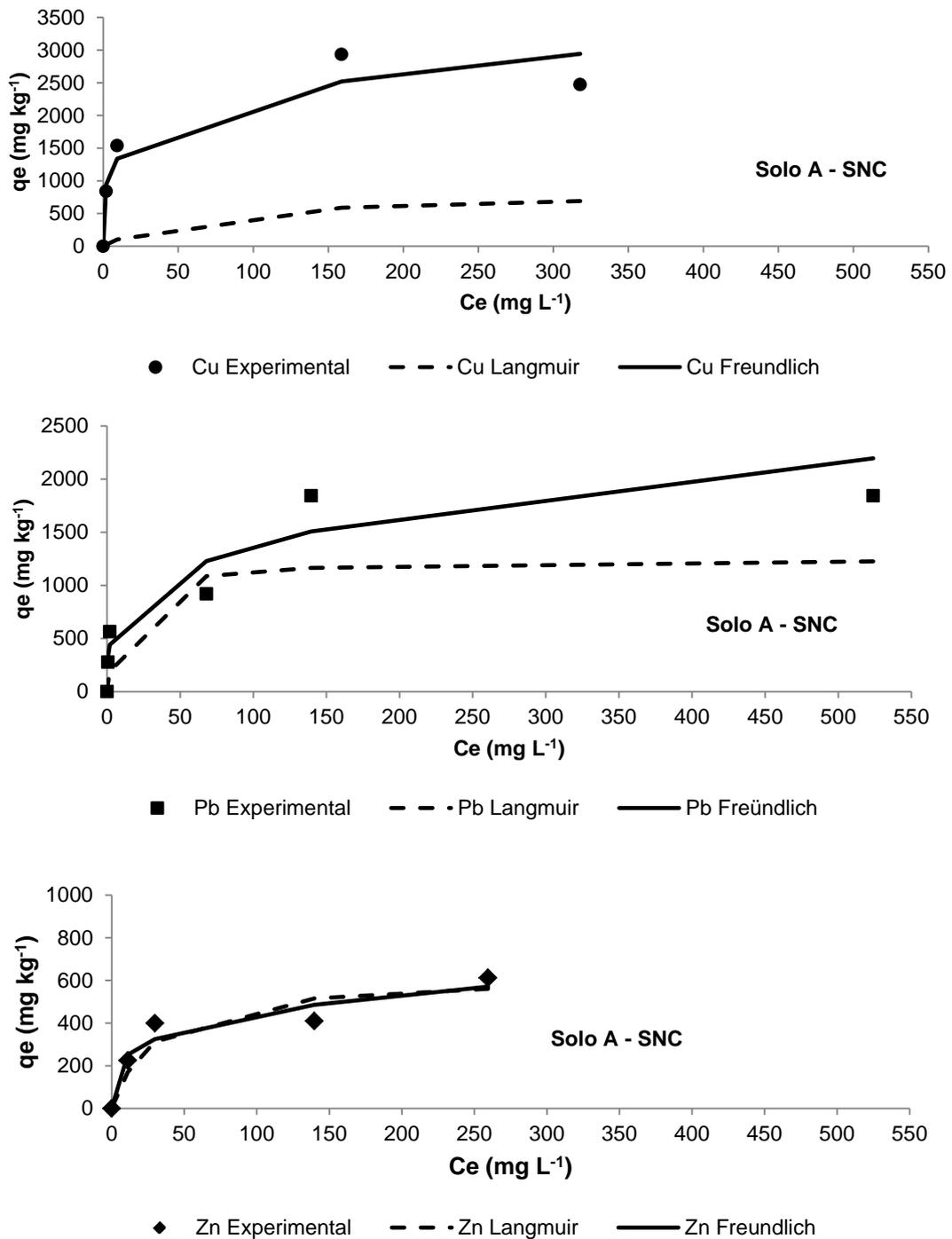


Figura 8 Isothermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema não-competitivo, para o solo argiloso (Solo A).

Os íons de Cu, Zn e Pb apresentaram comportamentos distintos no processo de adsorção, o que indica que diferentes mecanismos de adsorção podem ser envolvidos na adsorção de cada metal da solução. Antunes (2012), quando avaliou o potencial de adsorção de zeólita, observou esta diferença para os íons Fe e Mn, sendo que a maior adsorção ocorreu para o íon Fe, atribuindo tal comportamento em função da maior eletronegatividade deste, o que fez com que a adsorção ocorresse de maneira mais rápida e também em maior proporção. Amarasinghe e Williams (2007) também observaram estas diferenças de adsorção entre os metais Cu e Pb.

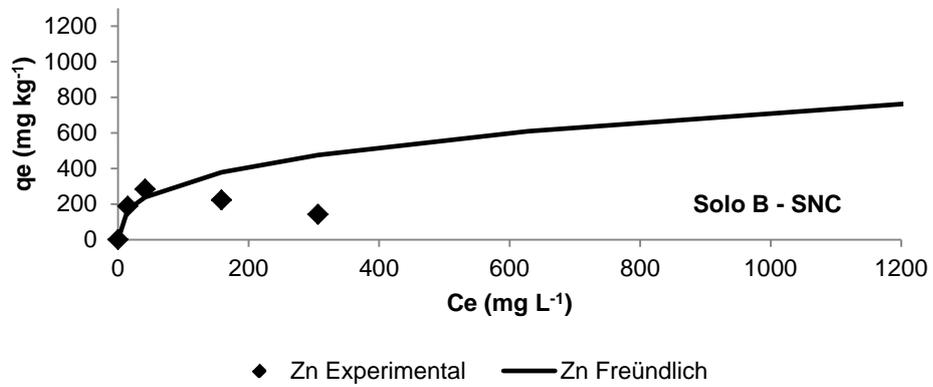
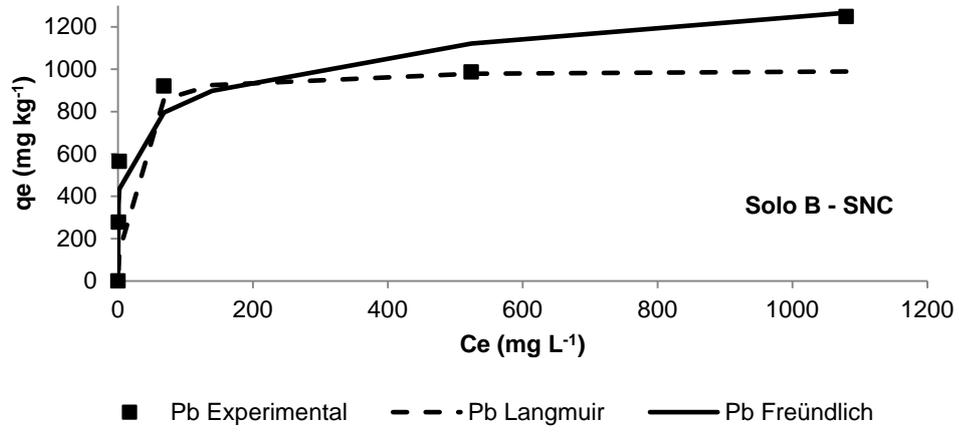
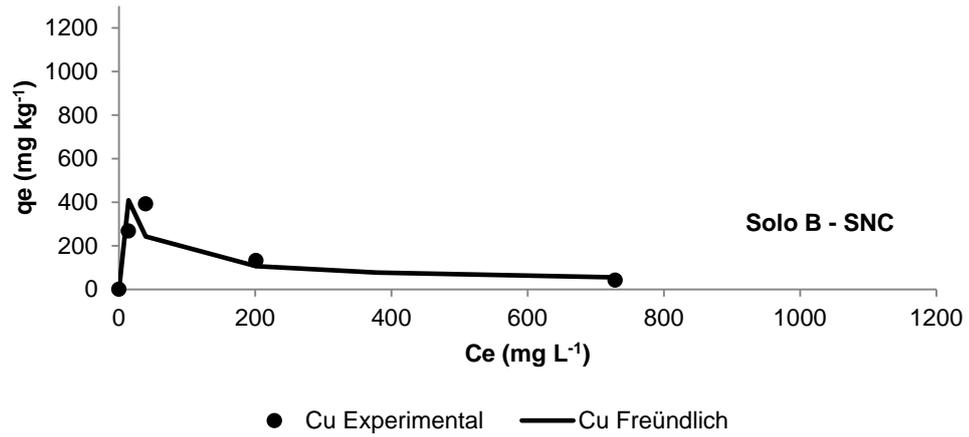


Figura 9 Isothermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema não-competitivo, para o solo arenoso (Solo B).

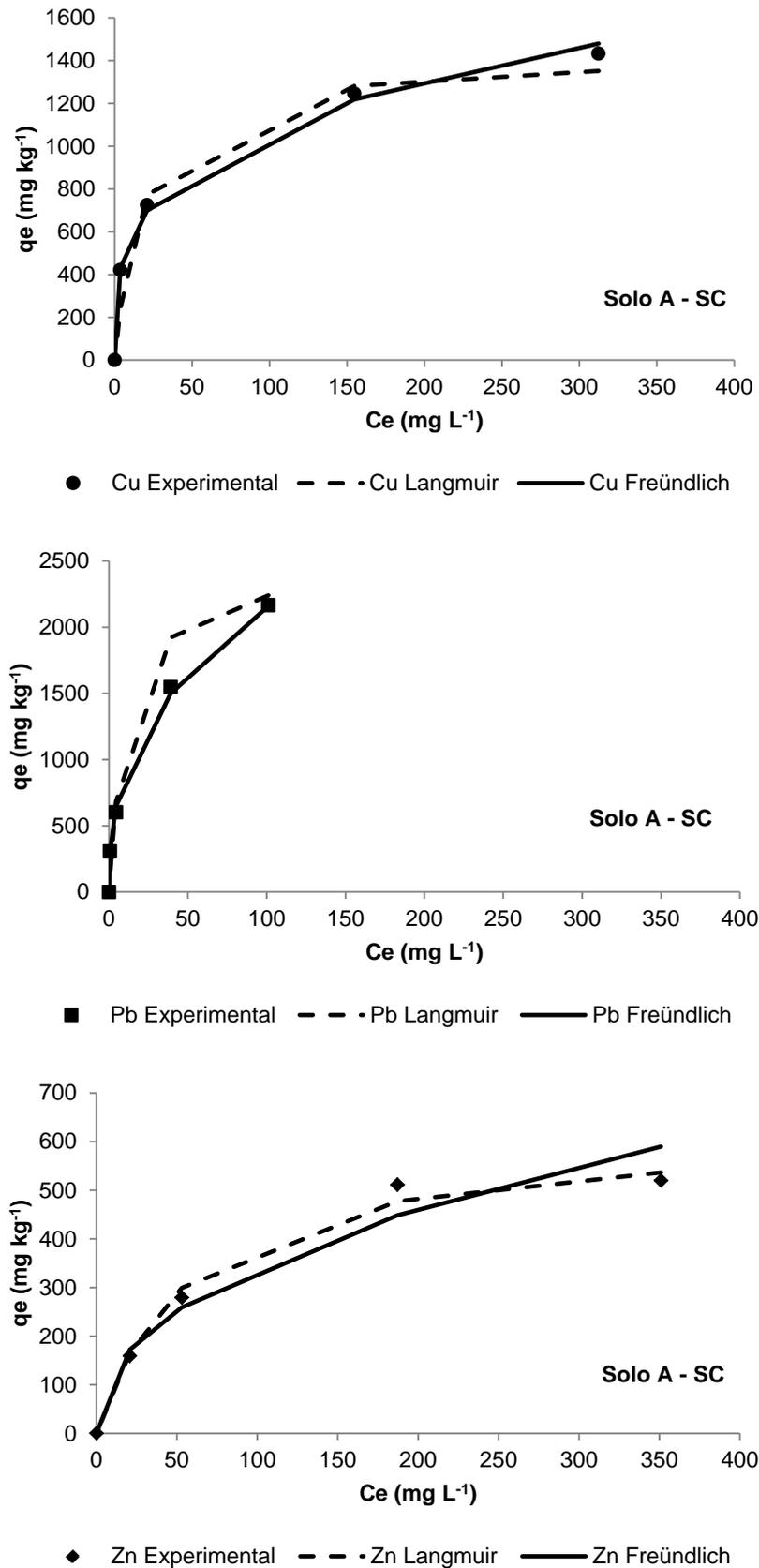


Figura 10 Isothermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema competitivo, para o solo argiloso (Solo A).

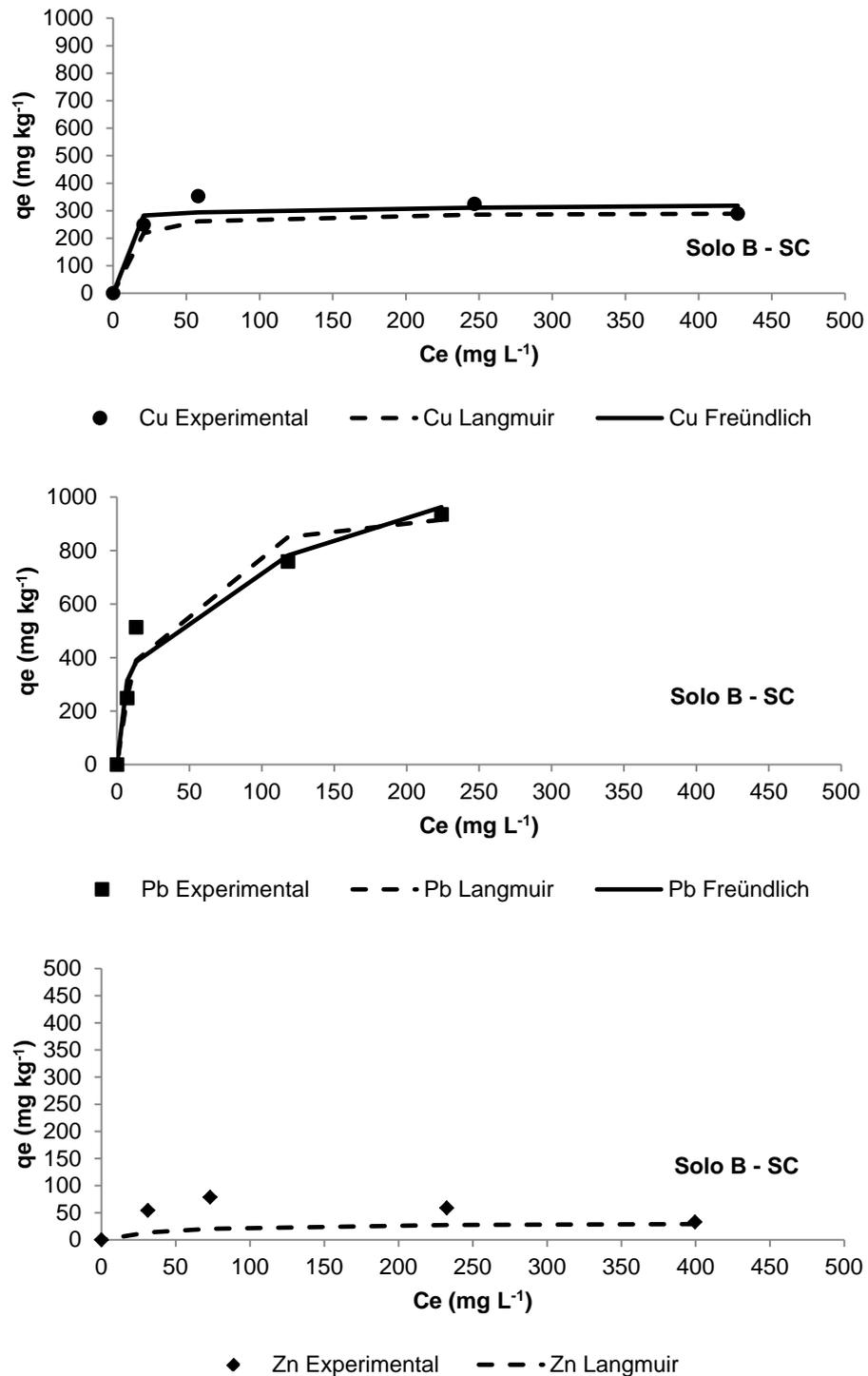


Figura 11 Isothermas de adsorção de Cu, Pb e Zn, em sistema competitivo, para o solo arenoso (Solo B).

O parâmetro b da equação de Langmuir tem sido utilizado para estimar a capacidade máxima de adsorção (CMA) para vários elementos químicos presentes nos solos. O solo A apresentou sempre maior CMA do que o solo B, para os três metais analisados. Esta diferença deve-se às características físicas e químicas entre os solos (Tabela 2). Pode-se inferir que o alto teor de argila do solo A, bem como seu alto teor de matéria orgânica, devem ser os principais responsáveis pelo fenômeno de adsorção dos metais. Segundo

Araújo e Amaral Sobrinho (2000), os atributos argila e carbono orgânico são as principais causas de variação da adsorção do Cu. Corroborando com esta informação, Polo *et al.* (1999) ainda ressaltam que é a afinidade do metal em formar complexos com a matéria orgânica que confere esta forte retenção do Cu pelo solo. Estes complexos se formam devido, principalmente, à presença de ácidos húmicos e fúlvicos (ABREU *et al.*, 2001). Desta forma, a amostra de solo B apresentou menor CMA decorrente do fato da mesma apresentar menor teor de argila, menor teor de MO e, conseqüentemente, menor CTC (Tabela 2), o que significa menor número de cargas negativas em seus colóides, em que os metais poderiam ser adsorvidos.

Quando possível o ajuste aos modelos estudados, os coeficientes de determinação (R^2) obtidos mostraram-se significativos (Tabela 4) para quase todos os casos avaliados, sendo exceção apenas para o elemento Cu quando no solo B em SC.

No caso do solo A, em SNC, obtiveram-se bons coeficientes de correlação das equações correspondentes aos modelos de Langmuir e Freündlich (Tabela 4), variando entre 0,82 e 0,98, porém o modelo de Langmuir subestimou a capacidade de adsorção do Cu e do Pb (Figura 8). Para estes dois metais, a isoterma de Freündlich mostrou-se mais próxima aos valores encontrados experimentalmente. Araújo e Amaral Sobrinho (2000) e Arias *et al.* (2006) ressaltam que a adsorção de Cu é mais bem representada pela equação de Freündlich devido ao fato da heterogeneidade da superfície de adsorção. Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos realizados por Araújo e Amaral Sobrinho (2000), Sodr e *et al.* (2001), Silveira e Alleoni (2003), Nascimento e Fontes (2004) e Chaves *et al.* (2009), que também encontraram resultados que indicavam o modelo de Freündlich adequado à adsorção de Cu.

Já a adsorção do Zn no solo A (SNC) foi bem representada por ambos os modelos testados (Figura 8). É possível observar também que o Zn foi o metal que teve menor capacidade de adsorção quando comparado aos demais. O parâmetro de capacidade máxima de adsorção (b) obtido pela isoterma de Langmuir mostra que este foi de $0,63 \text{ mg g}^{-1}$. Linhares *et al.* (2010), quando compararam a adsorção de Zn e Cu a diferentes tipos de solos intemperizados, também observaram que o Zn foi o elemento com menor capacidade de adsorção ($0,25$ a $0,63 \text{ mg g}^{-1}$). Chaves *et al.* (2008), que analisaram esta capacidade máxima em argissolos do estado da Paraíba encontraram valores variando entre $0,11$ a $0,78 \text{ mg g}^{-1}$. Os maiores valores foram atribuídos aos solos que apresentaram os maiores valores de potencial elétrico negativo e não aos solos com os maiores teores de argila. De acordo com Casagrande *et al.* (2004b), quanto maior for o potencial elétrico negativo das superfícies dos colóides, maior será a adsorção de Zn nessas superfícies.

Já Souza *et al.* (2006) correlacionaram as diferentes propriedades químicas e físicas de diferentes solos à capacidade máxima de adsorção de Zn e chegaram ao resultado que a CTC foi a variável que melhor se correlacionou, sendo que pH, carbono orgânico e teor de

argila dos solos não se correlacionaram com os parâmetros de adsorção de Zn. Estes autores encontraram os menores valores de capacidade de adsorção ($0,21$ a $0,38 \text{ mg g}^{-1}$) naqueles solos mais intemperizados. Já Nascimento e Fontes (2004) e Chorom *et al.* (2013) verificaram que as maiores capacidades de adsorção do Zn estavam relacionadas aos teores de argila, independente dos teores de matéria orgânica.

Pelos resultados experimentais, é possível observar que para o Cu e o Pb, ocorre um acréscimo rápido da capacidade de adsorção nas concentrações mais baixas. Logo depois ocorre um decréscimo na inclinação da curva (isoterma do tipo "L"). Segundo Petruzzelli *et al.* (1985) e Dias *et al.* (2001), esta situação ocorre sempre que os sítios disponíveis para a adsorção vão diminuindo, ou seja, acaba por ocorrer o recobrimento da superfície de adsorção, o que indica, em baixas concentrações, que a superfície tem alta afinidade pela substância adsorvida, sendo que esta afinidade diminui em maiores concentrações. Linhares *et al.* (2009) também obtiveram na maioria dos solos intemperizados estudados, isotermas do tipo L para o Pb. Para o Cu, Linhares *et al.* (2010) obtiveram isotermas do tipo L e do tipo H. Mouta (2007) encontraram o mesmo tipo de isoterma L em Latossolos do estado de Minas Gerais quando avaliaram a adsorção de selênio (Se).

No solo B, em SNC, o único metal que teve seu comportamento adequado aos modelos das isotermas de Langmuir e Freündlich foi o Pb (Figura 9). Para este metal, a capacidade máxima de adsorção (b) obtida pela isoterma de Langmuir foi de $1,00 \text{ mg g}^{-1}$. Devido à adsorção dos outros metais não terem se adequado a este modelo, não é possível a comparação entre valores. Segundo Harter (1983), quando a forma da isoterma obtida por este modelo não coincide com a experimental, e somente baixas concentrações são empregadas na sua obtenção, os erros advindos da estimativa da adsorção máxima podem atingir 50% ou mais.

Moreira (2004) também não conseguiu ajustar seus resultados para vários tipos de solos estudados, sendo que a maior falta de ajuste ocorreu naqueles solos onde a adsorção foi muito alta, mesmo quando há baixas concentrações inicialmente adicionadas.

No sistema competitivo, observa-se que tanto o modelo de Langmuir quanto de Freündlich tiveram ajustes adequados aos dados experimentais no solo A (Figura 10). No caso do solo B, apenas o modelo de Freündlich que não se ajustou adequadamente ao Zn (Figura 11). Sabe-se que estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de verificar o comportamento dos metais em sistemas multimetálicos, mas estes modelos nem sempre mostram-se adequados quando nesta realidade.

A retenção dos metais é um processo competitivo entre os íons em solução e aqueles adsorvidos na superfície do solo. Conseqüentemente, a composição iônica da solução exerce grande efeito na adsorção desses íons nas partículas do solo. Devido a diversos fatores, como tipo de adsorbato e condições experimentais, diferentes sequências de afinidade podem surgir, sendo praticamente impossível estabelecer uma sequência

universal (MOREIRA, 2004). O mesmo autor avaliou a adsorção competitiva de Cd, Cu, Ni e Zn em solos de diferentes composições e verificou que à medida que a concentração inicial foi aumentando, ocorreu a competição entre os metais, o que afetou a adsorção de todos os metais, em diferentes proporções. Fontes e Gomes (2003) avaliaram a adsorção competitiva de Cu, Cr, Pb, Ni, Zn e Cd em solos tropicais e observaram que alguns, como o Cu, Cr e Pb mantiveram sua elevada afinidade com a superfície dos solos, enquanto Ni, Zn e Cd foram deslocados nas superfícies adsorventes. Esta diferença ocorre em virtude do tipo de interação metal-superfície do solo. Segundo McBride (1994), Ni, Zn e Cd são elementos mais dependentes de interações eletrostáticas com os sítios de troca da fase sólida, enquanto o Cu é mais dependente de interações covalentes com as estruturas dos minerais.

Cabe ressaltar que se a habilidade do metal em ser retido fosse baseada somente em ligações eletrostáticas, as ligações mais fortes seriam aquelas formadas entre os metais com a maior relação carga:raio iônico. Para ligações eletrostáticas de metais com cargas iguais, a afinidade seria inversamente proporcional ao raio iônico não hidratado. Assim, a afinidade seria proporcional ao potencial iônico (Z^2/r), em que Z é a carga e r é o raio iônico do metal. No entanto, destaca-se que as ligações metálicas não são inteiramente eletrostáticas (McBRIDE, 1989; MOREIRA, 2004).

Avalia-se que essa seletividade está também relacionada ao tamanho do raio iônico hidratado dos íons: quanto menor, maior a retenção do íon pelo mineral. Um íon com raio iônico hidratado grande é retido com menor intensidade, enquanto um com raio pequeno chega mais perto da superfície e, assim, a atração coulômbica é maior (SHINZATO et al., 2009). Além disso, segundo Lee (1999), as medidas de mobilidade ou condutividade iônica em soluções aquosas revelam que, quanto maior o raio do íon hidratado, menor é a sua mobilidade.

Dentre os metais avaliados, o raio iônico hidratado segue a seguinte sequência decrescente: Zn (0,430 nm), Cu (0,419 nm), Pb (0,401 nm) (SHINZATO, 2007). Desta forma, como o raio hidratado do Pb^{2+} é menor que dos outros elementos, as interações coulombianas do Pb com os sítios de troca são favorecidas.

No solo argiloso, em SC, o Pb foi o elemento que teve os maiores valores de K_F , seguido do Cu e do Zn (Tabela 4). Este parâmetro permite identificar a capacidade de um solo reter determinado soluto. Neste caso, portanto, quando os três metais estão juntos competindo pelos mesmos sítios ativos, a tendência é que o Pb fique retido com maior força. O parâmetro de K_L (K de Langmuir) também teve esta mesma sequência.

No caso do solo arenoso, também em SC, o elemento com maior K_F foi o Cu, seguido do Pb (Zn não foi determinado devido à falta de ajuste ao modelo de Freundlich). Neste caso, devido ao solo arenoso conter pouca argila, o fator que mais influenciou a adsorção provavelmente foi o conteúdo de matéria orgânica, que, embora também seja pequeno, garante forte adsorção com o Cu (McBRIDE, 1994).

Para Chaves *et al.* (2009), os teores de matéria orgânica e a CTC das amostras de solo compõem as propriedades que mais influenciaram na adsorção do Cu em amostras de Plintossolo. Silveira e Alleoni (2003) e Nascimento e Fontes (2004) também observaram que os teores de argila e de matéria orgânica foram as características melhor relacionadas com a capacidade de adsorção do Cu por Latossolos. De acordo com McLaren e Crawford (1973) e Cavallaro e McBride (1984) a matéria orgânica tem elevada afinidade com o Cu, especialmente sob condições ácidas, tendendo a formar complexos Cu-MO, o que pode provocar elevada capacidade de adsorção do elemento.

Outra questão interessante para ser observada é com relação ao grau de humificação da matéria orgânica. Segundo diversos autores, quanto maior o grau de humificação (STEVENSON; FITCH, 1981) e maior pH, a força de ligação do Cu também aumenta, o que o torna mais indisponível para o ambiente (YONEBAYASHI *et al.*, 1994). Chaves *et al.* (2009) obtiveram a CMA de Cu variando entre 0,6485 a 0,8398 mg g⁻¹ em amostras de Plintossolo de diferentes origens.

Ressalta-se também a grande afinidade que o elemento Pb apresenta pela maioria dos grupos funcionais da matéria orgânica, inclusive com os grupos carboxílicos e fenólicos, que são fortes bases de Lewis. O Pb, além de ser um forte ácido de Lewis, tem uma maior eletronegatividade (2,33, 2,00 e 1,65 para Pb, Cu e Zn, respectivamente), e menor pKH (log negativo da constante de hidrólise: 7,71, 8,00 e 9,00, para Pb, Cu e Zn, respectivamente) (McBRIDE, 1989; MOREIRA, 2004). Cada um desses fatores faz o Pb ter preferência para reações de sorção/complexação, com formação de complexos de esfera interna, quando comparado aos demais (McBRIDE, 1994).

Cabe ainda frisar que embora a energia de adsorção (K) seja de extrema importância na fixação dos metais ao solo, o que reduz sua movimentação e disponibilização ao ambiente, a quantidade máxima de adsorção (b) pode não guardar relação direta com a energia de adsorção (Tabela 4). Linhares *et al.* (2009), quando avaliaram a adsorção de Cd em diferentes tipos de solos, obtiveram, apesar das baixas energias de retenção, as maiores quantidades de adsorção do metal em alguns solos. Isso significa que, apesar de adsorver muito Cd, esse solo facilmente poderia disponibilizar o metal, e que a maior parte dos sítios de adsorção eram de baixa afinidade pelo elemento.

Por fim, analisando-se os dados sob o aspecto da disponibilidade dos metais para as plantas ou sob o aspecto de contaminação ambiental, a amostra de solo arenoso (B), em seu pH original, por apresentar menor energia de ligação e menor capacidade de adsorção, seria aquela na qual o elemento, presente no solo, ficaria mais disponível, tanto para ser absorvido pelas plantas quanto para ser lixiviado, podendo contaminar o lençol freático.

1.5.4 Adsorção real dos metais após contaminação artificial

Após a contaminação dos solos artificialmente, observa-se que a sequência de adsorção predominante foi a seguinte: Pb > Cu > Zn, com exceção para o solo B em SNC, no qual houve inversão entre o Zn e o Cu (Tabela 5). A Tabela 6 apresenta a porcentagem de redução de adsorção dos metais Cu, Zn e Pb no sistema competitivo em relação ao sistema não-competitivo.

Tabela 5 Teores dos metais Cu, Zn e Pb nos solos estudados, após contaminação artificial em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC).

| Amostra de Solo | Cu | Zn | Pb |
|-----------------|---------------------------------|----------|----------|
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | |
| Solo A - SNC | 1.834,78 | 1.558,44 | 2.621,14 |
| Solo A - SC | 1.495,66 | 985,47 | 1.531,61 |
| Solo B - SNC | 673,80 | 795,86 | 1.732,22 |
| Solo B - SC | 603,97 | 437,79 | 1.410,56 |

Tabela 6 Proporção de decréscimo na adsorção de Cu, Zn e Pb no sistema competitivo (SC) em relação ao sistema não-competitivo (SNC).

| Solo | Cu | Zn | Pb |
|--------|---------------|--------|--------|
| | ----- % ----- | | |
| Solo A | -18,48 | -36,76 | -41,57 |
| Solo B | -10,36 | -44,99 | -18,57 |

No caso dos solos nos quais desejava-se os três metais presentes (SC), cabe lembrar que tomou-se o cuidado metodológico de colocar a mesma quantidade inicial de cada metal para assim não ocorrer problemas devido à competição em baixas ou altas concentrações, o que poderia favorecer a adsorção de um ou outro metal. Morera *et al.* (2001) estudaram isotermas de adsorção em sistema competitivo e a partir da inclinação inicial das isotermas os autores mostraram que os solos têm um grande número de sítios de superfície de alta afinidade pelo Pb e Cu em relação ao Zn. A sequência obtida também está de acordo com os resultados encontrados por Kuo e Baker (1980), Basta e Tabatabai (1992), Echeverria *et al.* (1998), Fontes e Gomes (2003) e Lopes (2009).

É possível observar que o Pb foi adsorvido preferencialmente em relação ao Cu e Zn e que a presença desses metais no mesmo sistema interfere na retenção dos demais. O mesmo foi obtido por Kuo e Baker (1980). Pierangeli *et al.* (2007), quando comparou a capacidade de adsorção de Cu, Pb e Cd em sistema individual e competitivo, também verificaram que todos os metais tiveram menor adsorção quando em sistema competitivo, porém a diferença foi menor para o Cu e Pb.

Fontes e Gomes (2003) estudaram a adsorção competitiva de metais em amostras de solos de regiões tropicais e observaram que com o aumento das concentrações adicionadas, alguns metais como o Cu, mantêm sua elevada afinidade com a superfície dos

solos, enquanto Ni, Zn e Cd são deslocados das superfícies adsorventes do mesmo. Moreira (2004) verificou que na maioria dos solos estudados (estado de São Paulo), o Cu e o Zn apresentaram maior afinidade de adsorção que o Ni. Mellis (2006) também obteve a sequência $Cu > Cd > Zn > Ni$ quando avaliou a adsorção destes metais em solos tratados com lodo de esgoto.

A sequência obtida pode ser interpretada com base em critérios que evidenciam a formação de complexos de esfera interna ou complexos de esfera externa, tais como: potencial iônico, eletronegatividade, grau de dureza e constante de hidrólise. A dificuldade de conclusão com base nesta abordagem foi percebida em estudos de McBride (1989), Basta e Tabatabai (1992) e Moreira (2004).

Com relação aos valores de capacidade máxima de adsorção (parâmetro b) determinados pela aplicação da isoterma de Langmuir (Tabela 4) e os valores realmente encontrados após o processo de contaminação efetiva dos solos, pode-se observar que no SC, o Cu ficou com valores muito próximos ao calculado, tanto para o solo argiloso quanto arenoso. Para o solo argiloso, o valor estimado foi de $1,43 \text{ mg g}^{-1}$ (correspondente a 1.430 mg kg^{-1}) e o valor realmente encontrado foi de $1.495,66 \text{ mg kg}^{-1}$. No solo arenoso, a estimativa foi de $0,63 \text{ (630 mg kg}^{-1})$ e o valor encontrado após a contaminação foi de $603,97 \text{ mg kg}^{-1}$. Para o Zn, a diferença foi um pouco maior, sendo que o estimado no solo argiloso foi de $0,625 \text{ mg g}^{-1}$ (625 mg kg^{-1}) e o real de $985,47 \text{ mg kg}^{-1}$. Para o Pb, a CMA estimada em $2,5 \text{ mg g}^{-1}$ (correspondente a 2.500 mg kg^{-1}) e o valor realmente encontrado foi de $1.531,61 \text{ mg kg}^{-1}$, o que significa que o modelo de Langmuir acabou por superestimar o valor encontrado na prática. No caso do solo arenoso, em SC, a isoterma de Langmuir subestimou o valor que foi realmente encontrado, principalmente para o Cu e Pb.

No sistema individual (SNC), a sequência de maior adsorção dos metais para o solo A foi $Pb > Cu > Zn$, e para o solo B foi $Pb > Zn > Cu$. Lopes (2009) e Moreira (2004) obtiveram a mesma sequência obtida pelo solo argiloso ($Pb > Cu > Zn$).

Fazendo-se aqui o paralelo entre os resultados estimados pela isoterma de Langmuir e os efetivamente encontrados pela contaminação artificial, é possível confirmar que no SNC, a isoterma de Langmuir subestimou os valores de capacidade máxima de adsorção do Pb, Cu e Zn (Tabela 4), tanto para o solo argiloso quanto arenoso (para Pb), uma vez que os valores efetivamente encontrados foram maiores que os anteriormente estimados pelo modelo físico-químico.

Com relação à proporção de decréscimo de adsorção dos metais em SC (Tabela 6), nota-se que o Cu foi o elemento que apresentou menor variação para ambos os solos. Moreira (2004) também observou que o Cu foi o metal que apresentou menor variação quando comparado aos demais metais e então concluiu que a competição iônica não impede sua ligação preferencial nos sítios de adsorção do solo. Fontes e Gomes (2003) também observaram resultados semelhantes. No caso do Zn, Moreira (2004) encontrou

valores diminuindo de 37,5 a 82,5% entre o sistema não-competitivo e competitivo e nos estudos de Charon *et al.* (2013) esta diminuição variou entre 21,2 e 51,3% quando a competição ocorreu entre o Zn e o Cd e Ni.

Fontes *et al.* (2000) estudaram a adsorção competitiva de Cd, Cu, Zn e Pb em solos tropicais e verificaram que, nas soluções mais concentradas, houve decréscimo na adsorção de Zn e Cd. Já o Cu e o Pb praticamente não foram afetados pelos demais elementos, indicando um mecanismo de retenção mais específico, envolvendo ligações covalentes entre esses elementos e as estruturas dos minerais presentes no solo.

1.5.5 Distribuição dos metais nas diferentes frações do solo

Em estudos de extração sequencial, pode-se quantificar e qualificar as formas de retenção de um metal nos diferentes componentes coloidais do solo. No solo, os metais se dividem entre a fase sólida e a solução do solo, com preferência para a fase sólida. Os metais adicionados ao solo na forma solúvel são geralmente transferidos e se distribuem entre os componentes da fase sólida do solo, seguindo um padrão natural de distribuição, o que é característico de cada solo e de cada elemento e depende, em grande parte, das propriedades do solo (HAN; BANIN, 1999). A distribuição percentual dos metais nas frações do solo está apresentada na Figura 12 e os teores encontrados em cada fração estão disponíveis no Apêndice (Tabela 34).

No caso do solo arenoso (Solo B - SNC), o Cu ficou, em ordem decrescente, nas seguintes frações: Trocável > Óxidos > Carbonatos > Solúvel > Matéria orgânica > Residual. Amaral Sobrinho *et al.* (1997) verificaram em um Argissolo com baixos teores de matéria orgânica que o Cu adicionado via resíduo siderúrgico, estava em sua maioria ligado à fração residual e óxidos de Fe. A baixa afinidade pela matéria orgânica deve-se ao fato desta estar presente em baixíssima concentração no solo arenoso ($10,72 \text{ g kg}^{-1}$) (Tabela 2), dificultando a interação que normalmente o elemento Cu apresenta com este componente do solo. O Cu é um metal que apresenta grande afinidade por ligantes orgânicos (SAUVÉ *et al.*, 2000). De acordo com Polo *et al.* (1999), esta afinidade do metal formar complexos com a matéria orgânica é um dos mecanismos mais efetivos de retenção do elemento pelo solo.

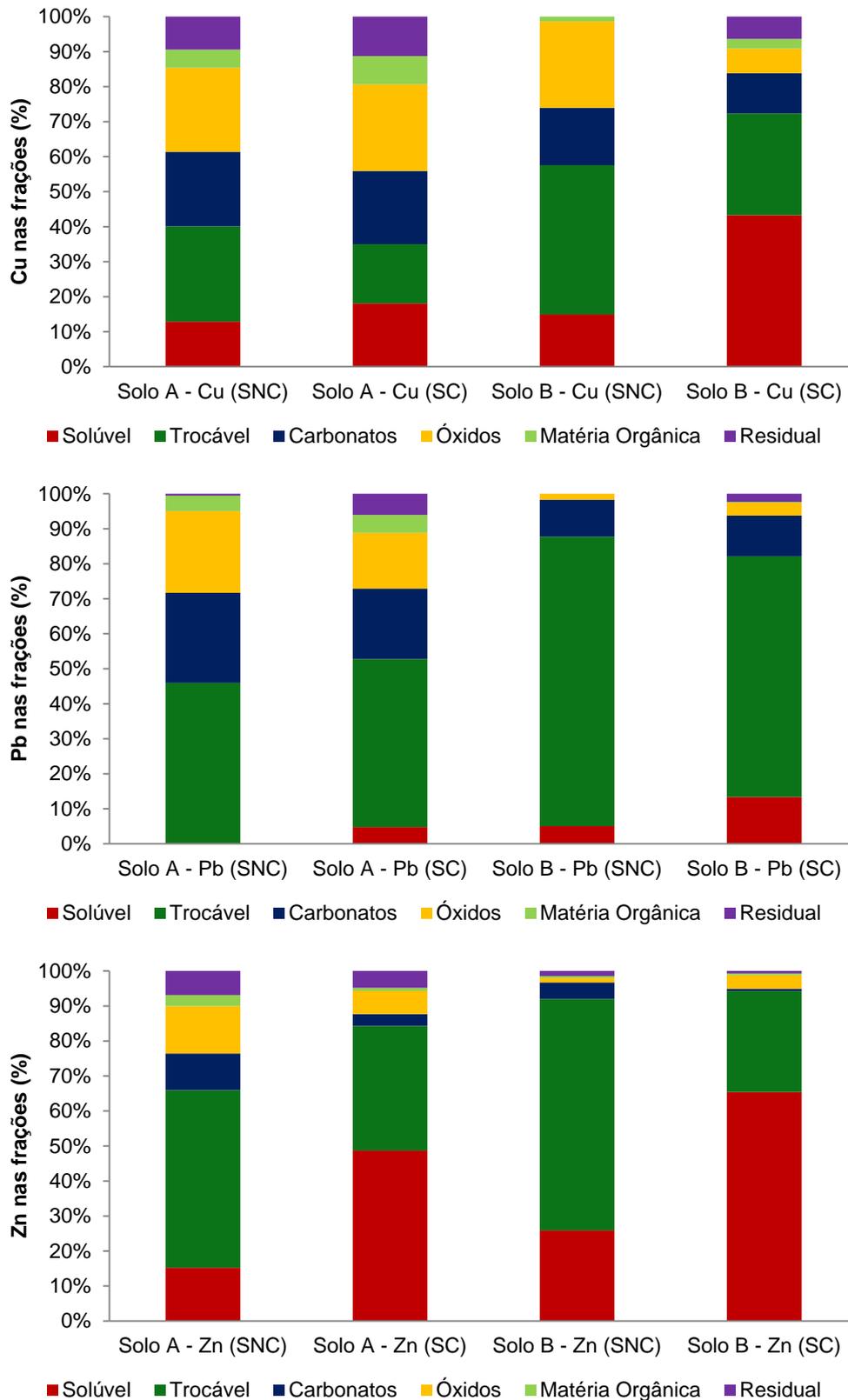


Figura 12 Distribuição relativa de Cu, Zn e Pb nas frações solúvel, trocável, ligada aos carbonatos, ligada aos óxidos, ligada à matéria orgânica, e residual, para os solos A e B.

McBride (1989) apresentou uma sequência típica de afinidade entre metais e a matéria orgânica a pH = 5 (Tabela 7). Esta sequência está relacionada à eletronegatividade

destes metais, ou seja, íons metálicos com maior eletronegatividade ligam-se à matéria orgânica com maior intensidade, evidenciando ligação do tipo covalente.

Tabela 7 Sequência de afinidade de metais divalentes pela matéria orgânica.

| | |
|-------------------------------|--|
| Sequência de afinidade | Cu (2,0) > Ni (1,91) > Pb (2,33) > Co (1,88) > Ca (1,00) > Zn (1,65) > Mn (1,55) > Mg (1,31) |
|-------------------------------|--|

O número entre parênteses representa a eletronegatividade.
Fonte: McBRIDE (1989)

O processo de contaminação artificial do solo argiloso (Solo A- SNC) fez com que o elemento Cu se distribuísse em ordem decrescente nas seguintes frações: Trocável > Óxidos > Carbonatos > Solúvel > Residual > Matéria Orgânica. Melo *et al.* (2008) encontraram os teores de Cu em solo ligados principalmente às frações trocável e matéria orgânica. Já Matos *et al.* (1996) observaram que aproximadamente 40% do total de Cu adicionado a um Latossolo Vermelho-Amarelo Húmico, via $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, ficou retido na fração residual. No presente estudo, o pequeno percentual de Cu ligado à matéria orgânica não era esperado, já que esta está presente em quantidades altas neste solo ($33,51 \text{ g dm}^{-3}$) (Tabela 2). Acredita-se que ocorreu a falta de seletividade dos reagentes utilizados anteriormente à etapa de extração dos metais ligados a matéria orgânica. Devido a este solo não conter originalmente materiais carbonatados em grandes quantidades em virtude de seu material de origem ser basalto, a adição de acetato de sódio a pH 5 deve ter removido os metais que estavam ligados à matéria orgânica. Kummer (2008) também observou que este extrator foi um dos responsáveis pela falta de seletividade e acabou removendo os metais ligados tanto aos óxidos quanto à matéria orgânica.

Vários autores já observaram problemas resultantes da aplicação de distintas técnicas de extrações sequenciais (LIMA *et al.*, 2001). Dentre os principais problemas encontrados estão a baixa seletividade dos extratores (SHAN; CHEN, 1993; SHIOWATANA *et al.*, 2001), a redistribuição dos metais durante os processos de extração (TU *et al.*, 1994; RAKASASALAYA *et al.*, 1996) e a dependência dos resultados das condições operacionais (SAHUQUILLO *et al.*, 1999). Outra deficiência, apontada por Baffi *et al.* (1998) é a influência da composição mineralógica da amostra na eficiência das extrações. Mehra e Jackson (1960) e Egreja Filho (2000) concluíram que não basta a destruição de uma determinada fase sólida para que os metais pesados ligados a ela sejam extraídos quantitativamente, dados os problemas de precipitação e readsorção. Porém, em resposta a todas essas limitações, tais métodos ainda oferecem a melhor medida de associações químicas entre os elementos em estudo e as formas amorfas e cristalinas do solo, que não são facilmente avaliadas por outros tipos de medida (AMACHER, 1996).

Para o Pb, nas quatro situações, a fração que predominou é a trocável. No solo A, em SNC, a sequência decrescente foi a seguinte: Trocável > Carbonatos ~ Óxidos > Matéria Orgânica > Residual ~ Solúvel. A distribuição foi semelhante para o SC, cabendo observar

que os maiores teores encontrados na fração trocável e solúvel em SC deve-se ao fato da competição existente entre os metais Cu e Zn pelos sítios de adsorção, o que acabou por ficar mais metal nas frações mais disponíveis. Cabe ressaltar que as quantidades de metais adicionadas inicialmente foram as mesmas, tanto no sistema multimetálico quanto monometálico (3 mg do metal/g de solo). Villar e Garcia (2002) também obtiveram frações significativas de Pb para as fases trocável. A quantidade significativa de Pb na fração ligada aos óxidos também deve ser levada em consideração. Segundo McKenzie (1980), a adsorção específica de cátions metálicos por óxidos de Mn segue a seguinte ordem: Pb > Cu > Mn > Co > Co > Zn > Ni. Tal comportamento baseia-se na elevada superfície específica desses minerais microcristalinos e em suas estruturas cristalinas e características de carga. Pelo fato de os óxidos de Mn apresentarem cargas dependentes de pH e PCZ variando de 1,5 a 4,6, desenvolvem elevado potencial de carga negativa em uma faixa normal de pH dos solos (>5).

Para o Zn, a soma das frações mais disponíveis (Solúvel + Trocável) representou mais de 60% do total de Zn no solo A – SNC e praticamente 90% no SC. No solo B, esta proporção chegou a ser ainda mais alta (acima de 90% em ambas as situações).

Dentre os três metais avaliados na fração solúvel, o Zn foi o que apresentou os maiores teores. Esta fração sempre foi maior quando os outros metais foram adicionados, ou seja, no sistema multimetálico (SC). Esta situação ocorre pois o Zn é o metal que apresenta menor afinidade pelas frações do solo, o que em um processo competitivo pelos sítios de adsorção faz com que este, sendo adicionado nas mesmas concentrações que os outros (Pb e Cu), acabe sendo menos adsorvido às frações mais energéticas. Desta forma, grande parte acaba por ficar na solução do solo (fração solúvel), ficando então mais prontamente disponível para as plantas ou à lixiviação.

Nestas condições, portanto, o Zn é o metal que pode oferecer os maiores riscos de contaminação do ambiente, principalmente para as plantas e para as águas subterrâneas. Uma alternativa para tentar diminuir os riscos ambientais deste metal é a elevação do pH dos solos. De acordo com Moraghan e Mascagni (1991), acima de pH 5,5, o Zn é adsorvido a hidróxidos de Al, de Fe e de Mn. Em testes de adsorção, o aumento de uma unidade no valor de pH entre 5 e 7 causa diminuição de 30 vezes na concentração de Zn em solos ácidos. Porém, esta elevação também deve ser cautelosa, uma vez que Malavolta (2006) lembra que, em alguns solos, a elevação do valor de pH pode incrementar a disponibilidade de Zn devido à dissolução da matéria orgânica ou à formação de $Zn(OH)^+$.

1.6 CONCLUSÕES

- Os solos estudados, por serem resultantes de materiais de origens distintas, apresentaram caracterização química, física e mineralógica diferentes. De acordo com o triângulo textural, foram classificados como muito argiloso (Solo A) e arenoso (Solo B). Em ambos os solos não foi observada a presença de minerais do tipo 2:1, estando presentes principalmente caulinita e óxidos de ferro e alumínio, predominando aqueles com maior cristalinidade;
- O Pb é o metal com maior capacidade de adsorção se comparado ao Cu e Zn, tanto em solo argiloso quanto no solo arenoso, em sistema competitivo ou não;
- No solo argiloso, os modelos físico-químicos propostos por Langmuir e Freundlich mostraram-se adequados para representar o comportamento de adsorção dos metais Cu, Pb e Zn em sistema multimetálico;
- As estimativas de capacidade máxima de adsorção de Cu propostas pelo modelo de Langmuir foram perfeitamente confirmadas após o processo de contaminação de ambos os solos testados em sistema multimetálico;
- O modelo de Langmuir subestimou os valores de capacidade máxima de adsorção de Cu e Pb no solo argiloso, em sistema monometálico;
- A competição entre os metais afetou a magnitude de adsorção de todos os metais, sendo a menor variação para o Cu;
- O comportamento distinto dos metais, em ambos os sistemas avaliados, evidenciou que a adsorção competitiva deve ser considerada para se avaliar, de maneira mais realista, a biodisponibilidade, a toxicidade e o potencial de lixiviação dos metais pesados em solos;
- Enfim, pode-se concluir que as características dos solos influenciaram a adsorção dos metais e que cada metal também apresentou comportamento distinto. Embora para nem todas as situações os modelos de Langmuir e Freundlich tenham se ajustado adequadamente, é importante o estudo destes modelos para facilitar o entendimento e a tomada de decisões quando em situações de contaminação por metais pesados. Em caso de contaminação do solo simultânea com os três metais, Cu, Pb e Zn, o Zn é o que apresenta o maior potencial de ocasionar danos ao ambiente, especialmente às plantas e águas subterrâneas, por apresentar o menor potencial de ligação às frações menos disponíveis do solo.

1.7 REFERÊNCIAS

- ABD-ELFATTAH, A.; WADA, K. Adsorption of lead, copper, zinc, cobalt and cadmium by soils that differ in cation exchange materials. **The Journal of Soil Science**, London, v. 32, p. 271-183, 1981.
- ABREU, C.A.; LOPES, A.S.; SANTOS, G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Eds). **Fertilidade do solo**, Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 645-736. 2007.
- ABREU, C.A.; FERREIRA, M.E.; BORKERT, C.M. Disponibilidade e avaliação de elementos catiônicos: zinco e cobre. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. Van; ABREU, C.A. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**, Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. p. 125-150.
- ADRIANO, D.C. **Trace Elements in Terrestrial Environments**, Springer- Verlag, New York/Berlin/Heidelberg, 2001.
- ALLEONI, L. R. F.; IGLESIAS, C. S.M.; MELLO, S.C.; CAMARGO, O.A.; CASAGRANDE, J.C.; LAVORENTI, N.A. Atributos do solo relacionados à adsorção de cádmio e cobre em solos tropicais. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 27, p. 729-737, 2005.
- ALLEONI, L.R.F., MELLO, J.W.V., ROCHA, W.S.D. Eletroquímica, adsorção e troca iônica no solo. In: MELO, V.F., ALLEONI, L.R.F. (Eds.). **Química e Mineralogia do Solo** – volume 2, Aplicações. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2009. p.69-129.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: J. Wiley, 1990. 339 p.
- AMACHER, M.C. Nickel, Cadmium and Lead. In: SPARKS, D.L. (Ed.). **Methods of soil analysis. Chemical Methods. Part 3**. Madison: Soil Science of América, 1996. p. 739-768.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; OLIVEIRA, C. Solubilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.21, p.9-16, 1997.
- AMARASINGHE, B.M.W.P.K.; WILLIAMS, R.A. Teawaste as a low cost adsorbent for the removal of Cu and Pb from wastewater. **Chemical Engineering Journal**, online, v. 132, p. 299–309, 2007.
- ANTONIADIS, V.; TSADILAS, C.D. Sorption of cadmium, nickel and zinc in mono and multimetal systems. **Applied Geochemistry**, online, v. 22, p. 2375-2380, 2007.
- ANTUNES, L. **Estudo da cinética de adsorção de metais pesados no tratamento de drenagem ácida de mineração utilizando zeólitas do tipo 4A**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. 2012. 100p.
- ARAÚJO, W. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Influência das propriedades físicas e químicas de solos intemperizados na adsorção de chumbo, cobre e zinco. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 7, p. 167-180, 2000.
- ARIAS, M.; PÉREZ-NOVO, C.; LÓPEZ, E.; SOTO, B. Competitive adsorption and desorption of copper and zinc in acid soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 133, p.151-159, 2006.
- ASÇI, Y.; NURBAS, M.; AÇIKEL, S.Y. Investigation of sorption/desorption equilibria of heavy metal ions on/from quartz using rhamnolipid biosurfactant. **Journal of Environmental Management**, online, v. 91, p. 724–731, 2010.

ATKINS, P. W. **Physical chemistry**. 5.ed. Oxford: Oxford University Press, 1994. 279p.

BAFFI, F.; IANNI, C.; RAVERA, M.; SOGGIA, F.; MAGI, E. Evaluation of the acetate buffer attack. of a sequential extraction scheme for marine paniculate. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 360, p. 27-34, 1998.

BARROW, N. J. The description of phosphorus adsorption curves. **Journal of Soil Science**, online, v. 29, p. 447-462, 1978.

BASTA, N.T.; TABATABAI, M.A. Effect of cropping systems on adsorption of metals by soils. II. Competitive adsorption. **Soil Science**, Baltimore, v. 153, p. 331-336, 1992.

BELHATECHE, D. H. Choose appropriate wastewater treatment technologies. **Chemical Engineering Progress**, online, v. 91, p. 32, 1995.

BESOAIN, E. **Mineralogia de arcillas de suelos**. Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura, San José, 1985. 1205p.

BLOOMFIELD, C., SANDERS, J.R. The complexing of copper by humified organic matter from laboratory preparations, soil and peat. **Journal of Soil Science**, online, v. 28, p. 435-444, 1977.

BRADL, H.B. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. **Journal of Colloid and Interface Science**, online, v. 277, p. 1-18, 2004.

CAMARGO, O. A.; ALLEONI, L. R. F.; CASAGRANDE, J. C. **Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos**; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; VAN RAIJ, B.; ABREU, C. A., eds.; CNPq/FAPESP/POTAFOS: Jaboticabal, 2001.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1986. 94p. (Boletim técnico, 106).

CASAGRANDE, J.C.; JORDÃO, C.B.; ALLEONI, L.R.F.; CAMARGO, O.A. Copper desorption in a soil with variable charge. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, p. 196- 202, 2004 (a).

CASAGRANDE, J.C.; ALLEONI, L.R.F.; DE CAMARGO, O.A.; ARNONE, A.D. Effects of pH and ionic strength on zinc sorption by a variable charge soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v.35, p.2087-2095, 2004 (b).

CAVALLARO, N.; McBRIDE, M.B. Zinc and copper sorption and fixation by an acid soil clay: Effect of selective dissolution. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 48, p. 1050-1054, 1984.

CHAVES, L.H.G.; BRITO, M.E.B.; CARVALHO, A.P.; DANIEL, R.; RIBEIRO, S.; SANTOS, R.T. Adsorção de cobre em amostras de Plintossolo do Estado do Piauí, com diferentes características. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, p. 226-232, 2009.

CHAVES, L.H.G.; SOUZA, R.S.S.; TITO, G.A. Adsorção de zinco em Argissolos do Estado da Paraíba: efeito do pH. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, p. 511-516, 2008

CHOROM, M.; KARKARAGH, R.M.; KAVIANI, B.; KALKHAJEH, Y.K. Monometal and Competitive Adsorption of Cd, Ni, and Zn in Soil Treated with Different Contents of Cow Manure. **Applied and Environmental Soil Science**, online, v. 2013, p. 1-8, 2013.

CLARK, C.J.; McBRIDE, M.B. Chemisorptions of Cu (II) and Co (II) on allophane and inogolite. **Clays and Clay Minerals**, online, v. 32, p. 300-310, 1984.

DIAS, N.M.P.; ALLEONI, L.R.F.; CASAGRANDE, J.C.; CAMARGO, O.A. Isotermas de adsorção de cádmio em solos ácidos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 5, p. 229–234, 2001.

ECHEVERRIA, J.C.; MORERA, M.T.; MAZKIARAN, C.; GARRIDO, J.J. Competitive sorption of heavy metal by soils. Isotherms and fractional factorial experiments. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 101, p. 275-284, 1998.

EGREJA FILHO, F.B. **Extração seqüencial de metais pesados em solos altamente intemperizados: utilização de componentes - modelo e planejamento com misturas ternárias na otimização do método**. 2000. 287 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Agronomia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2000.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p. : il.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Paraná**. Londrina, Embrapa-SNLCS/SUDESUL/IAPAR, 1984. v.1. 791p. (Embrapa-SNLCS. Boletim de Pesquisa, 27; IAPAR. Boletim Técnico, 16)

EMATER-PR – EMPRESA PARANAENSE DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL Vinculada à Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. Arenito Caiuá, Integração Agricultura e Pecuária. Curitiba, 1998. 52p. (Informação Técnica, 41)

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análises de solo**. Rio de Janeiro. 2.ed. 1997. 212 p.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Rio de Janeiro. 1.ed. 1999. 370 p.

FAGERIA, N.K. **Produção de Sementes Sadias de Feijão Comum em Várzeas Tropicais**. Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de Produção, N°4 ISSN 1679-8869 Versão eletrônica Dez/2004. Disponível em: <
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoVarzeaTropical/solo.s.htm#mo>> Acesso em 23 set. 2013.

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

FONTES, M.P.F.; ALLEONI, L.R.F. Atributos eletroquímicos e disponibilidade de nutrientes, elementos tóxicos e metais pesados em solos tropicais. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, p. 589-608, 2006.

FONTES, M.P.F.; GOMES, P.C. Simultaneous competitive adsorption of heavy metals by the mineral matrix of tropical soils. **Applied Geochemistry**, online, v. 18, p. 795-804, 2003.

FONTES, M.P.F.; MATOS, A.T.; COSTA, L.M.; NEVES, J.C.L. Competitive adsorption of zinc, cadmium, copper and lead in three highly-weathered Brazilian soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 31, p. 2939-2958, 2000.

FRANZETTI, A.; CAREDDA, P.; RUGGERI, C.; LA COLLA, P.; TAMBURINI, E.; PAPACCHINI, M.; BESTETTI, G. Potential applications of surface active compounds by *Gordonia* sp. strain BS29 in soil remediation technologies. **Chemosphere**, online, 75, p. 801–807, 2009.

GEE, G.W.; BAUDER, J.W. Particle-size analysis. In: KLUTE, A., ed. **Methods of soil analysis. Parte 1: Physical and mineralogical methods**. Madison, Soil Science Society of America, 1986. p.383-412.

GHIDIN, A.A.; MELO, V.F.; LIMA, V.C.; LIMA, J.M.J.C. Topossequências de Latossolos originados de rochas basálticas no Paraná. I-Mineralogia da fração de argila. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 293-306, 2006.

GONÇALVES, D.F.; ROSSETTI, D.F.; TRUCKENBRODT, W.; MENDES, A. C. Argilominerais da Formação Codó (Aptiano Superior), Bacia de Grajaú, Nordeste do Brasil. **Latin American Journal of Sedimentology and Basin Analysis**, La Plata, v. 13, p. 59–75. 2006.

HAN, F.X.; BANIN, A. Long-term transformations of heavy metals in soils at field capacity moisture. **Water, Air, & Soil Pollution**, online, v. 114, p. 221-250, 1999.

HARTER, R.D. Competitive sorption of cobalt, copper, and nickel ions by a calcium-saturated soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, p. 444–449, 1992.

HARTER, R.D. Effect of soil pH on adsorption of lead, Cooper, zinc and nickel. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 47, p. 47-51, 1983.

HARTER, R.D.; NAIDU, R. Na assessment of environmental and solution parameter impact on trace-metal sorption by soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 597-612, 2001.

HONG, K.J.; TOKUNAGA, S.; KAJIUCHI, T. Evaluation of remediation process with plant-derived biosurfactant for recovery of heavy metals from contaminated soils. **Chemosphere**, online, v. 49, p. 379-387, 2002.

HOOG, D. S.; MCLAREN, R. G.; SWIFT, R. S. Desorption of copper from some New Zealand soils. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 57, p. 361-366, 1993.

JUWARKAR, A.A.; NAIR, A.; DUBEY, K.V.; SINGH, S.K.; DEVOTTA, S. Biosurfactant technology for remediation of cadmium and lead contaminated soils. **Chemosphere**, online, v. 68, p. 1996–2002, 2007.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3.ed. Boca Raton, CRC Press, 2001. 413p.

KÄMPF, N.; DICK, D. P. Óxidos de ferro em cambissolos brunos do Rio Grande do Sul e sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 8, p. 183-188, 1984.

KÄMPF, N.; SCHEINOST, A. C.; SCHULZE, D. G. Oxide minerals. In: SUMNER, M. E. (Ed.). **Handbook of soil science**. University of Georgia, Athens, GA, USA: CRC Press, 2000. p. 125-168.

KÄMPF, N.; SCHWERTMANN, U. Goethitas na interface solo-rocha em amostras do Rio Grande do Sul e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, p. 359-366, 1995.

KIM, N.D.; HILL, S.J. Sorption of lead and thallium on borosilicate glass and polypropylene: implications for analytical chemistry and soil science. **Environmental Technology**, online, v. 14, p. 1015-1026, 1993.

KÖPPEN, W. **Climatologia**. Mexico: Fondo de Cultura Economica, 1978. 478p.

KUMMER, L. **Mineralogia e fracionamento de metais pesados em solos de área de mineração e processamento de chumbo, Adrianópolis (PR)**. (Dissertação de Mestrado) Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 2008. 140p.

KUO, S.; BAKER, A.S. Sorption of copper, zinc and cadmium by some acid soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p.969-974, 1980.

LAVORENTI, A.; PRATA, F.; REGITANO, J. Comportamento de pesticidas em solos brasileiros. In: CURI, N.; MARQUES, J.J.; GUILHERME, G.L.R.; LIMA, J.M.; LOPES, A.S.; AVAREZ V., V.H., eds. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2003.v.3 p.335-400.

LEE, J.D. **Química inorgânica**. São Paulo, Editora Edgrad Blücher, 527 p. 1999.

LIMA, M.C.; GIACOMELLI, M.B.O.; STÜPP, V.; ROBERGE, F.D.; BARRERA, P.B. Especificação de Cobre e Chumbo em Sedimento do Rio Tubarão (SC) pelo Método Tessier. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 734-742, 2001.

LINHARES, L.A.; EGREJA FILHO, F.B.; OLIVEIRA, C.V.; BELLIS, V.M. Adsorção de cádmio e chumbo em solos tropicais altamente intemperizados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, p.291-299, 2009.

LINHARES, L.A.; EGREJA FILHO, F.B.; BELLIS, V.M.; SANTOS, E.A. IANHEZ, R. Utilização dos modelos de Langmuir e de Freundlich na adsorção de cobre e zinco em solos brasileiros. **Acta Agronômica**, Palmira, v. 59, p 303-315, 2010.

LOPES, A. S.; GUIDOLIN, J. A. **Interpretação de análise do solo: conceitos e aplicações**. 2.ed. São Paulo: Comitê de Pesquisa/ Técnico/ANDA, 1989. 64p.

LOPES, C.M. **Adsorção individual e competitiva de Cd, Cu, Ni e Zn em solos em função da variação de pH**. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em Agronomia, Piracicaba. 100p. ESALQ/USP. 2009.

MACHADO, P.L.O.A.; PAVAN, M.A. Adsorção de zinco por alguns solos do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 11, p. 253-256, 1987.

MATOS, A.T.; FONTES, M.P.F.; JORDÃO, C.P.; COSTA, L.M. Mobilidade e formas de retenção de metais pesados em Latossolo Vermelho-Amarelo **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 20, p. 379-386, 1996.

McBRIDE, M.B. **Environmental Chemistry of Soils**. New York: Oxford University Press, 1994. 415 p.

McBRIDE, M.C. Reactions controlling heavy metal solubility in soils. **Advances in Soil Science**, online, v.10, p.1-56, 1989.

McGRATH, S.P.; SANDERS, J.R.; SHALABY, M.H. The effects of soil organic matter levels on soil solution concentrations and extractabilities of manganese, zinc and copper. **Geoderma**, Amsterdam, v. 42, p. 177-188, 1998.

McGRATH, S.P.; CUNLIFFE, C.H. A simplified method for the extraction of metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. **Journal of Science of Food and Agriculture**, Barking, v. 36, p. 794-798, 1985.

McKENZIE, R.M. The adsorption of lead and other metals on oxides of manganese and iron. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 18, p. 61-73, 1980.

McLAREN, R.G.; CRAWFORD, D.V. Studies of soil copper. II. The specific adsorption of copper by soils. **European Journal of Soil Science**, online, v. 24, p. 443-452, 1973.

MEHRA, O.P.; JACKSON, M.L. Iron oxide removal from soils and clay by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. **Clays and Clay Minerals**, online, v. 7, p. 317-327, 1960.

MELFI, A.J.; PEDRO, G.; VOLKOFF, B. Natureza e distribuição dos compostos ferríferos nos solos do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 3, p. 47-54, 1979.

MELLIS, E.V. **Adsorção e dessorção de Cd, Cu, Ni e Zn, em solo tratado com lodo de esgoto**. 2006. Tese (Doutorado em Agronomia). Piracicaba, SP. ESALQ/USP. 174 p.

MELO, É. E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; SANTOS, A.C.Q.; SILVA, A.S. Disponibilidade e fracionamento de Cd, Pb, Cu e Zn em função do pH e tempo de incubação com o solo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 776-784, 2008.

MELO, V.F. **Potássio e magnésio em minerais de solos e relação entre propriedades da caulinita com formas não trocáveis destes nutrientes**. Viçosa, 1998. 205 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa.

MEURER, J.E. Fundamentos de Química do Solo. Porto Alegre: Gênese, 2000. 174p.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Ceres, Potafos, 1991. 343p.

MORAGHAN, J.T.; MASCAGNI JR., H.J. Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities. In: MORTVEDT, J.J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M.; WELCH, R.M. (Ed.) **Micronutrients in agriculture**. 2.ed. Madison: SSSA, 1991. p. 371-425.

MOREIRA, C.S. **Adsorção competitiva de cádmio, cobre, níquel e zinco em solos**. 2004. 108p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MORERA, M.T.; ECHEVERRIA, J.C.; MAKZIARÁN, C.; GARRIDO, J.J. Isotherms and sequential extraction procedures for evaluating sorption and distribution of heavy metals in soils. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 113, p. 113-144, 2001.

MOUTA, E.R. **Adsorção e coeficientes de distribuição de selênio em solos do estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, Programa de Pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo). 2007. 98p.

MULLIGAN, C.N.; WANG, S. Remediation of a heavy metal-contaminated soil by a rhamnolipid foam. **Engineering Geology**, online, v. 85, p. 75-81, 2006.

NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F. Correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, p. 965-971, 2004.

OLIVEIRA, L.F.C.; NOGUEIRA, J.G.; FRIZZARIM, S.S.; FIA, R.; FREITAS, J. S; FIA, F.R.L. Sorção e mobilidade do lítio em solos de áreas de disposição final de resíduos sólidos urbanos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.18, p. 139-148, 2013.

PEDRON, F.A. **Mineralogia, Morfologia e Classificação de Saprolitos e Neossolos Derivados de Rochas Vulcânicas no Rio Grande do Sul**. Tese de Doutorado. 2007. Santa Maria, Rio Grande do Sul. Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo. 160f.

PETRUZZELLI, G.; GUIDI, G.; LUBRANO, L. Ionic strength effect on heavy metal adsorption by soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 16, p. 971-986, 1985.

PIERANGELI, M.A.P., GUILHERME, L.R.G.; CURTI, N.; COSTA, E.T.S.; LIMA, J.M.; MARQUES, J.J.G.S.M.; FIGUEIREDO, L.F.P. Comportamento sortivo, individual e competitivo, de metais pesados em Latossolos com mineralogia contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 819-826, 2007.

PIERANGELI, M.A.P. **Pb em latossolos brasileiros: adsorção e dessorção sob efeito do pH e força iônica**. 1999. 108 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo), Universidade Federal de Lavras, Lavras. 1999.

PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURTI, N.; SILVA, M.L.N.; OLIVEIRA, L.R.; LIMA, J.M. Teor total e capacidade máxima de adsorção de chumbo em Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.279-288, 2001.

PILS, J.R.V. KARATHANASIS, A D; MUELLER, T G. Concentration and distribution of six trace metals in northern Kentucky soils. **Soil & Sediment Contamination**, Philadelphia, v. 13, p. 37-51 2004.

PINHEIRO, J.P.; MOTA, A.M.; BENEDETTI, M.F. Lead and calcium binding to fulvic acids: salt effect and competition. **Environmental Science & Technology**, online, v. 33, p. 3398-3404, 1999.

PIRES, A.M.M.; MATTIAZZO, M.E. Cinética de solubilização de metais pesados por ácidos orgânicos em solos tratados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 143-151, 2007.

POLO, M.J.; ORDONEZ, R. GIRALDEZ, J.V. Copper and zinc adsorption by sewage sludge-treated soil in southern Spain. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 30, p. 1063-1079, 1999.

POTTER, R. O.; KÄMPF, N. Argilo-minerais e óxidos de ferro em Cambissolos e Latossolos sob regime climático térmico údico no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.5, p. 153-159, 1981.

RAKASASALAYA, M.; LANGDON, A.G.; KIM, N.D. Assessment of the extend of lead distribution during sequential extraction by two different methods. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 332, p. 1-14, 1996.

ROSS, S.M. Retention, transformation and mobility of toxic metals in soil-plant systems. In: ROSS, S.M., ed. **Toxic metals in soil-plant system**. Chichester, John Wiley, 1994. p.63-152.

SÁ, J.P.G.; CAVIGLIONE, J.H. **Arenito Caiuá – Capacidade de Lotação das Pastagens**. Informe da Pesquisa. IAPAR. Ano XVII, nº 132. 14p. Disponível em: <http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/IP132.pdf>. Acesso em 02 set. 2013.

SAHA, J.K.; MANDAL B.; MANDAL L.N. Adsorption of copper in Alfisols in relation to soil properties. **Journal of the Indian Society of Soil Science**, New Delhi, v. 43, p. 196-199, 1995.

SAHUQUILLO, A.; LOPEZ-SANCHEZ, J.F.; RUBIO, R.; RAURET, G.; THOMAS, R.P.; DAVIDSON, C.M.; URE, A.M. Use of a certified reference material for extractable trace metals to assess sources of uncertainty in the BCR three-stage sequential extraction procedure. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 382, p. 317–327, 1999.

SANTILLAN-MEDRANO, J.; JURINAK, J.J The chemistry of lead and cadmium in soil: Solid-phase formation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 29, p. 851-858. 1975.

SAUVÉ, S.; NORVELL, W.A.; McBRIDE, M.; HENDERSHOT, M. Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 34, p. 291-296, 2000.

SEMMENS, M.J.; SEYFARTH, M. The selectivity of clinoptilolite for certain heavy metals. In: SAND, L.B.; MUMPTON F.A. (ed.). **Natural zeolites: occurrence properties**, 517- 526. 1978.

SHAN, X.Q.; CHEN, B. Evaluation of sequential extraction for speciation of trace metals in model soil containing natural minerals and humic acid. **Analytical Chemistry**, Illinois, v. 65, p.802–807, 1993.

SHINZATO, M.C. Remoção de metais pesados em solução por zeólitas naturais: revisão crítica. **Revista do Instituto Geológico**, São Paulo, 27-28 (1/2), 65-78, 2007.

SHINZATO, M.C.; MONTANHEIRO, T.J.; JANASI, V.A.; ANDRADE, S.; YAMAMOTO, J.K. Remoção de Pb^{2+} e Cr^{3+} em solução por zeólitas naturais associadas a rochas eruptivas da formação serra geral, bacia sedimentar do Paraná. **Química Nova**, São Paulo, v.32, p. 1989-1994, 2009.

SHIOWATANA, J.; TANTIDANAI, N.; NOOKABKAEW, S.; NACAPRICHA, D.A Novel Continuous-Flow Sequential Extraction Procedure for Metal Speciation in Solids. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 30, p. 1195-1205, 2001.

SHUMAN, L.M. The effect of soil properties on zinc adsorption by soils. **Soil Science Society of America, Proceedings**, online, v. 39, p. 454-458, 1975.

SILVEIRA, M. L. A.; ALLEONI, L. R. F. Copper adsorption in tropical oxisols. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, p. 529-536, 2003.

SILVEIRA, M.L.A. **Adsorção de cobre em Latossolos ácidos paulistas**. 1999. 91f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Agronomia), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

SILVEIRA, M.L.A.; ALLEONI, L. R.F.; CASAGRANDE, J.C.; CAMARGO, O.A. Energia livre de reação de adsorção de cobre em Latossolos Ácidos, **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 1117-1122, 1999.

SINEGANI, A.A.S.; ARAKI, H.M. The effects of soil properties and temperature on the adsorption isotherms of lead on some temperate and semiarid surface soils of Iran. **Environmental Chemistry Letters**, online, v. 8, p. 129–137, 2010.

SODRÉ, F.F.; LENZI, E.; COSTA, A.C.S. Utilização de modelos físicos-químicos de adsorção no estudo do comportamento do cobre em solos argilosos. **Química Nova**, São Paulo, v.24, p.324-330, 2001.

SOUZA, R.S.; CHAVES, L.H.G.; FERNANDES, J.D. Adsorção de zinco e sua relação com características de solos do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.1, p.1–6, out.-dez., 2006.

SOUZA, V.; GASPARETTO, N.V.L. Avaliação da erodibilidade de algumas classes de solos do município de Maringá – PR por meio de análises físicas e geotécnicas. **Boletim de Geografia**, Maringá, v. 28, p. 5-16, 2010.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1989. 277p.

STEVENSON, F.J.; FITCH, A. Reactions with organic matter. In: LONEGRAN, J. F., ROBSON, A. D. (Ed.). **Copper in soils and plants**. Sydney: Academic Press, 1981. p. 69-96.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C.; BISSON, M. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. **Analytical Chemistry**, online, v. 51, p. 844-851, 1979.

TU, Q.; SHAN, X.Q.; QIAN, J.; NI, Z.M. Trace metal redistribution during extraction of model soils by acetic acid/sodium acetate. **Analytical Chemistry**, online, v. 66, p. 3562–3598, 1994.

VENDRAME, P.R.S.; EBERHARDT, D.N.; BRITO, O.R.; MARCHÃO, R.L.; QUANTIN, C.; BECQUER, T. Formas de ferro e alumínio e suas relações com textura, mineralogia e carbono orgânico em Latossolos do Cerrado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1657-1666, 2011.

VILLAR, L.D.; GARCIA JR, O. Caracterização do resíduo gerado no tratamento de águas residuárias domésticas quanto à presença de metais: estudo de caso. In: VIII Encontro de Iniciação Científica e Pós-Graduação do ITA, 2002, São José dos Campos. **Anais... VIII Encontro de Iniciação Científica e Pós-Graduação do ITA**. São José dos Campos : ITA, 2002. p. 379-384.

WANG, X.-S.; HUANG, J.; HU, H.-Q.; WANG, J.; QIN, Y. Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Ni(II) from aqueous solutions by Namordenite. **Journal of Hazardous Materials**, online, n. 142, p. 468-476, 2007.

WHITTIG, L.D.; ALLARDICE, W.R. X-ray diffraction techniques. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1986. Parte 1: Physical and mineralogical methods analysis. p. 331-362.

YONEBAYASHI, K.; OKAZAKI, M.; PECHAYAPISIT, J.; VIJARNSORN, P.; ZHARI, A.B.; KYUMA, K. Distribution of heavy-metals among different bonding forms in tropical peat soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, Bunkyo-Ku, v. 40, p. 425-434, 1994.

ZACHARA, J.M. SMITH, S.C.; RESCH, C.T.; COWAN, C.E. Cadmium sorption to soil separates containing layer silicates and iron and aluminum oxides. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, p. 1974-1084, 1992.

CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO DE BIOSSURFACTANTE PRODUZIDO A PARTIR DA MANIPUEIRA E AVALIAÇÃO DA SUA CAPACIDADE DE ADSORÇÃO DE COBRE, ZINCO E CHUMBO

RESUMO

Os biossurfactantes são compostos amplamente estudados em todo o mundo e suas características os tornam muito atrativos em relação aos surfactantes sintéticos. No entanto, o custo de produção dos biossurfactantes ainda inviabiliza sua produção em escala industrial. Diversos tipos de resíduos agroindustriais têm sido alvo de estudos como substratos para processos industriais de forma a tornar viável a produção e a comercialização dos biossurfactantes em larga escala. Essas matérias-primas possuem vantagens de serem encontradas em excesso e produzidas em regiões de clima tropical ou temperado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar e caracterizar o biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* a partir da manipueira, resíduo líquido da indústria de farinha de mandioca, e verificar sua capacidade de adsorver os metais cobre, zinco e chumbo. Realizaram-se as seguintes avaliações: índice de emulsificação (IE), espectroscopia de infravermelho (FTIR), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e testes de adsorção dos metais cobre (Cu), zinco (Zn) e chumbo (Pb) ao biossurfactante. Com o propósito de verificar a possibilidade de adsorção do biossurfactante ao solo, foram também colocadas em contato com dois tipos de solos, soluções contendo o biossurfactante e então, após centrifugação, a avaliação desta solução por IE. O biossurfactante produzido apresentou propriedades emulsificantes e estabilidade, sendo que o índice de emulsificação ficou em torno de 60%, mesmo após 72 h de formação da emulsão. As análises de FTIR e HPLC permitiram afirmar que o biossurfactante produzido é composto fundamentalmente de surfactina, estando esta em concentração 0,28 mg g⁻¹. Com relação ao potencial de adsorção de Cu, Zn e Pb, o biossurfactante foi capaz de adsorver estes metais em sua estrutura. O modelo de adsorção de Langmuir ajustou-se bem ao Cu e Zn, sendo que a capacidade máxima de adsorção foi estimada em 10 e 5 mg g⁻¹, respectivamente. No processo de adsorção do Pb, o biossurfactante apresentou-se como um bom adsorvente, porém não se ajustou satisfatoriamente aos modelos de Langmuir e de Freundlich.

Palavras-chave: metais pesados, surfactina, resíduo agroindustrial, *Bacillus subtilis*.

CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCED FROM CASSAVA WATER AND EVALUATION OF ITS CAPACITY OF ADSORPTION OF COPPER, ZINC AND LEAD

ABSTRACT

Biosurfactants are extensively studied worldwide compounds and its features make it very attractive in comparison with synthetic surfactants. However, biosurfactants have not yet been employed extensively in industry because of their relatively high production costs. Various types of organic residues have been investigated as substrates for industrial fermentations in order to make feasible the production and commercialization of biosurfactants on a large scale. These raw materials have the advantage of being found in excess and produced in regions with a tropical or temperate climate. This study aimed to evaluate and characterize the biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* from cassava water, liquid waste from the cassava flour industry. The following assessments were made: emulsifying index (IE), infrared spectroscopy (FTIR), high performance liquid chromatography (HPLC) and testing of adsorption of copper (Cu), zinc (Zn) and lead (Pb) to the biosurfactant. In order to verify the possibility of adsorption of the biosurfactant to the soil, two different soil types were placed in contact with solutions containing the biosurfactant and then, after centrifugation, evaluation of this solution by IE was carried out. The biosurfactant showed stability and emulsifying properties, and the emulsification index was around 60% even after 72 h of the emulsion formation. The analyzes FTIR and HPLC allow affirm that the biosurfactant produced is formed mainly of surfactin, being in concentration 0.28 mg g^{-1} . With respect to the potential adsorption of Cu, Zn and Pb, the biosurfactant was able to adsorb these metals in their structure. The Langmuir adsorption model fits well to Cu and Zn, and the maximum adsorption capacity was estimated at 10 and 5 mg g^{-1} , respectively. In the adsorption process of Pb, the biosurfactant was a good adsorbent, but not satisfactorily fitted by Langmuir model.

KEY-WORDS: heavy metals, trace elements, surfactin, agroindustrial waste, *Bacillus subtilis*.

2.1 INTRODUÇÃO

Os surfactantes constituem uma importante classe de compostos químicos amplamente utilizados em diversos setores industriais, sendo que a maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente são sintetizados a partir de derivados de petróleo. Entretanto, o crescimento da preocupação ambiental entre os consumidores, combinado com novas legislações de controle do meio ambiente, levam à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes. Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes são denominados biosurfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras.

Os biosurfactantes apresentam a vantagem de poderem ser sintetizados a partir de substratos renováveis e possuem grande diversidade química, possibilitando aplicações específicas para cada caso particular. O tipo de surfactante produzido varia em função de diversos fatores, tais como tipo de substrato, micro-organismo produtor e condições de operação do cultivo, como pH, temperatura, aeração, etc.

Tem sido comum a aplicação de surfactantes com o objetivo de remediar solos contaminados com hidrocarbonetos e/ou metais pesados e o uso de biosurfactantes torna-se atrativo, uma vez que estes possuem maior biodegradabilidade e baixa toxicidade. O sucesso da aplicação destes compostos na eficiente remoção dos metais depende de vários mecanismos físico-químicos de interação e condições ambientais. Entre os fatores básicos envolvidos, pode-se citar o tipo de surfactante, o tipo de solo, o tipo de contaminante e a respectiva complexa interação entre solo:metal:surfactante.

Uma classificação existente entre os surfactantes baseia-se na presença de cargas no seu grupo polar, sendo divididos em catiônicos, aniônicos, não iônicos (neutros) e anfóteros. Os surfactantes aniônicos, podendo-se citar como exemplo a surfactina, possuem carga elétrica negativa em sua estrutura e, portanto, quando em contato com cátions metálicos, pode resultar na ligação entre os elementos. Esta possibilidade de ligação é um dos motivos que levam surfactantes a serem utilizados na remoção de metais de meios onde há a presença destes. Cabe ressaltar que a avaliação desta capacidade de adsorção também tem por objetivo a possibilidade de aplicação deste biosurfactante como agente de remoção de metais em meio líquido, tais como efluentes e/ou águas contaminadas por metais pesados.

Tendo em vista o exposto acima, este capítulo irá apresentar algumas das características do biosurfactante produzido a partir do processo de cultivo de *Bacillus subtilis* em manipueira, bem como irá apontar os resultados do potencial de adsorção dos metais cobre (Cu), zinco (Zn) e chumbo (Pb) a este biocomposto.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Avaliar e caracterizar o biossurfactante produzido a partir de maipueira e verificar sua capacidade de adsorver os metais cobre, zinco e chumbo.

2.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o biossurfactante obtido pelo processo de cultivo de *Bacillus subtilis* em maipueira utilizando a técnica de FTIR e HPLC;
- Avaliar a capacidade do biossurfactante em adsorver os metais Cu, Zn e Pb;
- Verificar a adequação das equações de Langmuir e Freundlich para descrever a adsorção dos metais no biossurfactante.

2.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.3.1 Surfactantes químicos e biosurfactantes

Os surfactantes são moléculas anfipáticas, constituídas de um grupo polar (hidrofílico) e um grupo não-polar (hidrofóbico) (BANAT, 1995) (Figura 13). É um composto caracterizado pela capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido (BARROS et al., 2008; DARVISHI et al., 2011). Além disso, devido a sua estrutura e dependendo da sua concentração, pode haver interação das moléculas de surfactantes com formação de agregados denominados micelas (MULLIGAN, 2005).

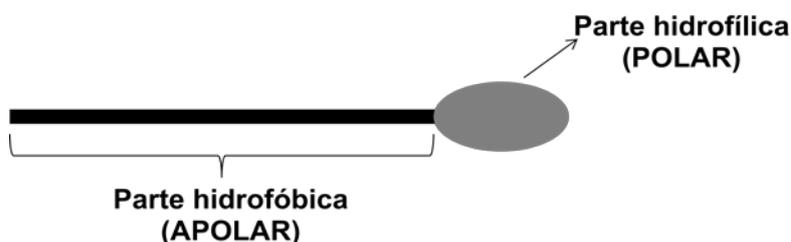


Figura 13 Representação esquemática de um surfactante.

A parte hidrofóbica é uma cadeia de hidrocarbonetos variando de 8 a 18 átomos de carbono, já é a parte hidrofílica que determina se um surfactante é não iônico, aniônico, catiônico ou anfótero. Os grupos hidrofílicos podem conter sulfonato, sulfato, carboxilato (aniônicos), amônio quaternário (catiônico) ou polioxietileno (não iônico) (MILLIOLI, 2009).

A solubilidade é uma das propriedades mais importantes de um surfactante, estando diretamente relacionada com o tamanho do grupo hidrofóbico ou hidrofílico. Para um mesmo grupo hidrofílico, o aumento do grupo hidrofóbico causa o aumento da massa molecular do surfactante que, por sua vez, torna-se menos solúvel em água. Similarmente, à medida que aumenta a quantidade do grupo hidrofílico, para a mesma quantidade do grupo hidrofóbico, o surfactante torna-se mais solúvel em água (MILLIOLI, 2009).

Outra característica dos surfactantes muito aplicada é sua capacidade de detergência, ou seja, é um processo de remoção de uma substância indesejável de uma superfície sólida, geralmente com aplicação de uma força mecânica na presença de uma substância química, como um surfactante (NITSCHKE; PASTORE, 2002; GOUVEIA et al., 2003). O efeito de detergência envolve uma série de fenômenos que atuam de modo a remover partículas oleosas (MILLIOLI, 2009).

Os tensoativos ou surfactantes são utilizados industrialmente como adesivos, floculantes, espumantes, desemulsificantes e penetrantes. Na indústria petroquímica são tradicionalmente usados na extração de óleo, aumentando a solubilidade dos componentes do petróleo ou diminuem a tensão interfacial, colaborando com sua mobilização (NITSCHKE; PASTORE, 2002; BUENO, 2008).

De acordo com dados publicados por Shaligram e Singhal (2010), a indústria surfactante ultrapassa US\$ 9 milhões por ano. A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo (NITSCHKE; PASTORE, 2002; MAKKAR; CAMEOTRA, 2002; BUENO, 2008). Nos países industrializados, cerca de 70 a 75% dos surfactantes consumidos são de origem petroquímica (BUENO, 2008). Os surfactantes produzidos a partir do petróleo requerem síntese e várias etapas de purificação, tornando-se um processo de alto custo, além do que novas aplicações aumentaram a sua demanda no mundo. Desta forma, embora a maioria seja de origem petroquímica, os biossurfactantes estão ganhando importância e necessidade de competir com surfactantes químicos com relação à funcionalidade, ao custo e à capacidade de produção para atender a demanda (SHALIGRAM; SINGHAL, 2010).

Na Tabela 8 são apresentados exemplos de surfactantes de origem sintética muito utilizados.

Tabela 8 Exemplos de surfactantes de origem sintética.

| TIPO | AGENTE TENSOATIVO | FÓRMULA |
|--------------------|---|---|
| Catiônicos | Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$ |
| | Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$ |
| Anônico | Dodecil sulfato de sódio (SDS) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^- \text{Na}^+$ |
| | Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio (Aerosol OT) | $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{OCO}]_2\text{CHSO}_3^- \text{Na}^+$ |
| | Dihexadecil fosfato (DHF) | $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}]$ |
| Não iônicos | Polioxietileno (9-10) p-tercotil fenol (Triton X-100) | $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ |
| | Polioxietileno (23) dodecanol (brij 35) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}$ |
| Anfóteros | 3-(dodecilmetil amônio) propano 1-sulfato (SB-12) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{OSO}_3^-$ |
| | 4-(dodecilmetil amônio) butirato (DAB) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-$ |

Fonte: Adaptado de Maniasso (2001)

O termo biossurfactante surgiu para diferenciar aqueles surfactantes que não eram de origem petroquímica. A classificação, no entanto, é usada livremente na comunidade científica, quer para surfactantes derivados de recursos renováveis por meios químicos (por exemplo, transesterificação para a produção de poliglicósidos de alquilo, APGs) ou para biomoléculas com propriedades surfactantes semelhantes produzidos por micro-organismos ou plantas (HENKEL et al., 2012). Entretanto, o termo é mais frequentemente utilizado para referir-se a compostos de origem microbiana que apresentam propriedades surfactantes (CAMEOTRA; MAKKAR, 1998; HASHIM et al., 2011; HENKEL et al., 2012).

Os biossurfactantes podem ser produzidos por um elevado número de tipos e espécies de micro-organismos, como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (MULLIGAN et al., 2001; BARROS et al., 2007; MARTINS et al., 2008; CASTIGLIONI et al., 2009; DAS et al., 2009). Apresentam uma diversidade de estruturas químicas, podendo ser classificados em vários grupos: glicolipídeos, lipopeptídeos, lipopolissacarídeos,

fosfolipídeos e ácidos graxos/lipídeos neutros (ASÇI et al., 2008). Outra classificação está baseada no peso molecular destes compostos, sendo geralmente agrupados em: (1) biossurfactantes de baixo peso molecular, incluindo entre estes lipopeptídeos, glicolipídios, flavolipídios, fosfolipídios e ácidos graxos; (2) faz alusão aos biossurfactantes de alto peso molecular, que referem-se aos bioemulsificantes e são compostos por polissacarídios, proteínas, lipopolisacarídeo e lipoproteínas. O primeiro grupo é capaz de diminuir a tensão superficial e interfacial como efeito primário. Já o grupo de bioemulsificantes forma emulsões estáveis do óleo na água e da água no óleo e não apresenta significativa redução da tensão superficial e interfacial (DASTGHEIB et al., 2008; DARVISHI et al., 2011).

Na Tabela 9 são apresentadas as principais classes de biossurfactantes, bem como os micro-organismos produtores.

Tabela 9 Principais classes de biossurfactantes e micro-organismos produtores.

| TIPO DE BIOSURFACTANTE | MICRO-ORGANISMOS |
|--------------------------------|--|
| | Glicolipídios |
| - Ramnolipídios | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| - Soforolipídios | <i>Torulopsis bombicola, T. apicola</i> |
| - Trehalolipídios | <i>Rhodococcus erythropolis</i> |
| | Lipopeptídios e lipoproteínas |
| - Peptídio-lipídio | <i>Bacillus licheniformis</i> |
| - Serrawetina | <i>Serratia marcescens</i> |
| - Subtilisina | <i>Bacillus subtilis</i> |
| - Viscosina | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| - Surfactina | <i>Bacillus subtilis</i> |
| - Polimixina | <i>Bacillus polymyxa</i> |
| - Gramicidina | <i>Bacillus brevis</i> |
| | Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos |
| - Ácidos graxos | <i>Corynebacterium lepus</i> |
| - Lipídeos neutros | <i>Nocardia erythropolis</i> |
| - Fosfolipídios | <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> |
| | Surfactantes poliméricos |
| - Emulsan | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |
| - Biodispersan | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |
| - Liposan | <i>Candida lipolytica</i> |
| - Carboidrato-lipídio-proteína | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| - Manana-lipídio-proteína | <i>Candida tropicalis</i> |

Fonte: Nitschke e Pastore (2002)

Recentemente, os biossurfactantes têm aumentado suas aplicações em diversos ramos, podendo-se citar a indústria cosmética, alimentar, farmacêutica e a agricultura, além da remediação de áreas contaminadas por metais pesados e/ou óleos. Estes biossurfactantes também têm sido utilizados na recuperação de combustível em poços de petróleo (NITSCHKE; PASTORE, 2002; SATPUTE et al., 2010).

Os biossurfactantes apresentam grande potencial econômico a longo prazo devido ao seu apelo ambiental em relação aos surfactantes sintéticos (CAMEOTRA; MAKKAR, 2004). Além disso, apresentam também algumas outras vantagens como biodegradabilidade, maior habilidade para complexar metais pesados, baixa toxicidade, produção a partir de fontes renováveis, funcionalidade sob condições extremas de pH e

temperatura, estabilidade, entre outros (NITSCHKE; PASTORE, 2002; COLLA; COSTA, 2003; DASTGHEIB et al., 2008; DARVISHI et al., 2011).

No processo de remediação de áreas contaminadas, a possibilidade do uso de agentes mobilizantes de poluentes mais biocompatíveis que os surfactantes químicos comerciais torna atrativo o uso dos surfactantes produzidos por micro-organismos (BODOUR; MILLER-MAIER, 1998; BERSELLI et al., 2006).

Assim como os surfactantes sintéticos, os biossurfactantes, em geral, incluem em sua estrutura uma porção hidrofílica composta de aminoácidos, peptídeos, ânions ou cátions, mono-, di- ou polissacarídeos, e uma porção hidrofóbica composta por ácidos graxos saturados ou insaturados (ASÇI et al., 2008).

Fatores como fonte de carbono, concentração de nitrogênio (N), fósforo (P), magnésio (Mg), ferro (Fe) e manganês (Mn), assim como condições específicas de crescimento do micro-organismo, influenciam o tipo, a qualidade e a quantidade de biossurfactante produzido (GEORGIOU et al., 1992; BANAT, 1995).

2.3.1.1 Saponina

As saponinas pertencem a um grupo diverso de compostos tensoativos que ocorrem naturalmente. Elas ocorrem em diferentes tecidos de um grande número de espécies de plantas pertencentes a cerca de 100 famílias. Predomina em angiospermas, porém também pode estar presente em algas, e em certos organismos marinhos inferiores. Eles podem ser encontrados em diferentes partes de plantas, incluindo raízes, brotos, flores e sementes (OLESZEK; HAMED, 2010).

Segundo Hong *et al.* (2002), a saponina é um biossurfactante que apresenta grupo carboxílico em sua estrutura, é biodegradável, apresenta baixa toxicidade, possibilidade de reutilização e é facilmente isolada de plantas. É classificada como um biossurfactante do tipo não-iônico (KJELLIN; JOHANSSON, 2010).

2.3.1.2 Ramnolipídio

Ramnolipídios são surfactantes microbianos intensamente estudados e pertencem ao grupo dos glicolipídios. Este pode conter uma ou duas unidades de L-rhamnose ligadas a um ou dois β -hidroxi de ácidos graxos e são principalmente conhecidos por serem produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* (HENKEL et al., 2012).

Ramnolipídios são conhecidos por serem capazes de formar micelas em concentrações acima da concentração micelar crítica (CMC), aumentando, assim, tanto a mobilidade de contaminantes orgânicos quanto de metais em solos ou sedimentos (MULLIGAN, 2005; MULLIGAN; WANG, 2006; WANG; MULLIGAN, 2009; DAS et al., 2009).

valores abaixo de $0,01 \text{ mN m}^{-1}$, com concentração micelar crítica (CMC) variando entre 11 e 180 mg L^{-1} (MORIKAWA et al., 2000; BARROS et al., 2007; LIMA, 2008).

Batista (2008), também ao avaliar a ação dos biossurfactantes produzidos por linhagens de *Bacillus subtilis*, observaram que estes foram capazes de reduzir a tensão superficial de $54,9 \text{ mN m}^{-1}$ para $26,2 \text{ mN m}^{-1}$ e $28,4 \text{ mN m}^{-1}$. Além dessas características, a surfactina também apresenta atividade antimicrobiana, efeitos antitumorais, antibióticos imunomoduladores ou inibidores de enzimas e toxinas (BARROS et al., 2007; BUENO, 2008; SEYDLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008). Vários experimentos têm demonstrado que a surfactina é bastante estável quando submetida a diversas condições, podendo-se citar concentrações de NaCl de 2 a 3%, e limites variados de pH e temperaturas (BARROS et al., 2007).

Os biossurfactantes produzidos por *Bacillus subtilis* possuem estrutura química similar, porém há evidências de diferenças quanto aos seus aminoácidos e ácidos graxos, o que pode afetar a atividades desses compostos (MORIKAWA et al., 2000). Na revisão sobre este tipo de biossurfactante, Shaligram e Singhal (2010) apresentam as diferentes isoformas da surfactina (A, B, C e D) (Figura 15).

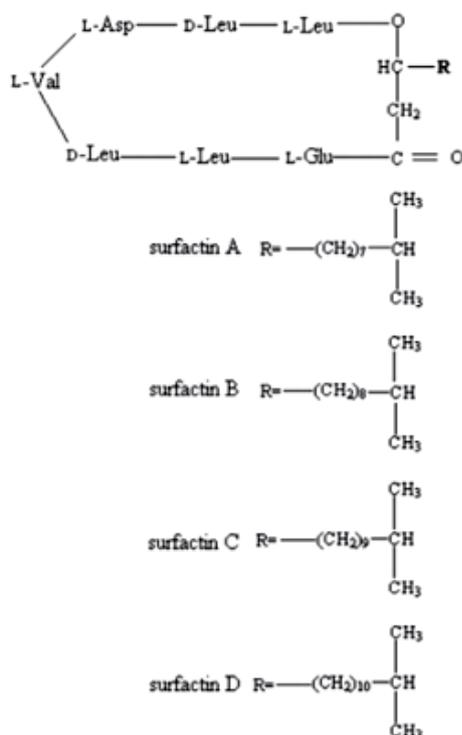


Figura 15 Principais isoformas da surfactina.

Fonte: Shaligram e Singhal (2010)

2.3.2 Concentração micelar crítica (CMC)

As moléculas de surfactante a uma determinada concentração formam agregados micelares e, dependendo da polaridade do solvente onde estão inseridos e da estrutura do próprio surfactante, estas podem apresentar-se de formas diferentes (Figura 16). Esta

associação das moléculas de surfactantes ocorre para que haja uma diminuição da área de contato entre a zona liofóbica do surfactante e a solução, podendo estas estarem melhor distribuídas pela solução (COSTA, 2011).

A formação de micelas ocorre quando a concentração de biossurfactante excede a CMC, condição em que os monômeros de biossurfactantes, associados entre si, formam as micelas, as quais apresentam uma configuração que assegura a manutenção da porção hidrofóbica no seu interior (BATISTA, 2008) (Figura 16).

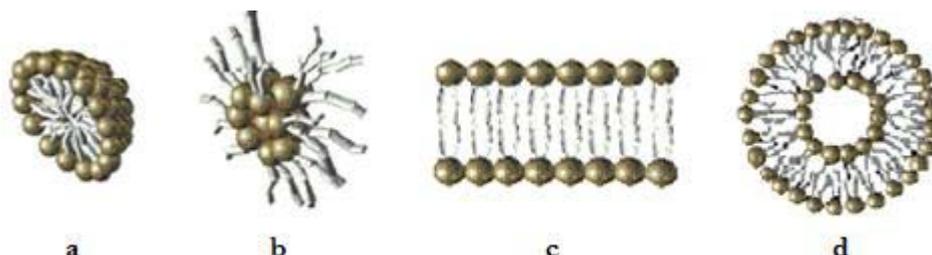


Figura 16 Exemplos de algumas estruturas típicas de uma micela: a) micela esférica normal; b) micela esférica invertida; c) micela lamelar; d) vesículo.

Fonte: Costa (2011)

Essa formação de micelas confere grande importância aos surfactantes, pois uma das suas propriedades mais importantes é a capacidade de solubilizar solutos de diferentes características através de forças eletrostáticas e do efeito hidrofóbico, ou seja, ao interagirem com o soluto, as moléculas hidrofóbicas são capturadas para dentro da micela onde são solubilizadas (COSTA, 2011).

Durante a micelização ocorrem alterações das propriedades físico-químicas. A título de exemplo, as propriedades físicas tais como: condutividade elétrica, pressão osmótica, turbidez, tensão superficial ou fluorescência apresentam um comportamento distinto na gama de concentrações pré e pós CMC (Figura 17) (COSTA, 2011).

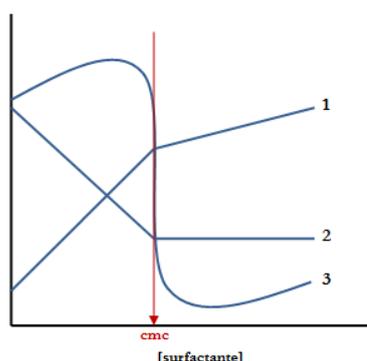


Figura 17 Variação de algumas propriedades físico-químicas em função da concentração do surfactante: 1) Condutividade elétrica; 2) Tensão superficial; 3) Fluorescência.

Fonte: Costa (2011)

A CMC varia na solução aquosa em função da estrutura do tensoativo, temperatura da solução, pH, presença de eletrólitos e compostos orgânicos (MESQUITA, 2004). O tamanho da fração apolar da molécula de tensoativo é um fator importante e geralmente a

CMC decresce com o aumento da hidrofobicidade da molécula, isto é, quanto maior a cadeia carbônica da fração apolar do tensoativo, maior a tendência das moléculas de se adsorverem entre a interface ar-água, diminuindo assim a tensão superficial da solução (MESQUITA, 2004).

No caso da condutividade elétrica (Figura 17 – linha 1), a variação da condutividade iônica específica em função da concentração diminui após a CMC, em consequência da ocorrência de espécies iônicas de maiores dimensões e, portanto, de menor mobilidade; concomitantemente, o empacotamento dos monômeros na micela implica a condensação de contra-íons (COSTA, 2011).

A eficácia de um surfactante é determinada pela sua capacidade de diminuir a tensão superficial, que é uma medida da energia superficial livre (entalpia da superfície livre) por unidade de área requerida para trazer a molécula para a superfície, ou seja, a força que age na superfície de um líquido promovendo a minimização da área superficial (CHRISTOFI; IVSHINA, 2002; MESQUITA, 2004).

A tensão superficial está correlacionada com a concentração micelar crítica. Surfactantes eficientes possuem uma baixa CMC, ou seja, uma menor quantidade de surfactante é necessária para o decréscimo da tensão superficial e o aumento da remoção de metais (MULLIGAN, 2005; DAHRAZMA; MULLIGAN, 2007). É importante observar que, no caso da tensão superficial (Figura 17 – linha 2), a quantidade de monômeros do surfactante presente na interface da solução torna-se, para concentrações superiores à CMC, constante e, portanto, independentemente do aumento da concentração do mesmo.

Devido à presença de um surfactante, requer-se pouco trabalho para trazer uma molécula para a superfície e, conseqüentemente, a tensão superficial é reduzida, pois esta pode levar a um aumento da concentração de compostos hidrofóbicos na fase aquosa e isto é alcançado pela formação de uma emulsão e solubilização óleo/água acima da CMC (CHRISTOFI; IVSHINA, 2002).

2.3.3 Resíduos agroindustriais e a produção de biossurfactantes

Nos últimos anos, os biossurfactantes ganharam mais atenção, já que os processos de produção sustentáveis tornaram-se mais significativos. No entanto, a aplicação de surfactantes produzidos biotecnologicamente é restrita a certas áreas, uma vez que o processo de produção não é economicamente competitivo com os surfactantes sintéticos derivados de fontes petroquímicas (HENKEL et al., 2012).

A produção de biossurfactantes em escala industrial é usualmente limitada pelo alto custo dos componentes do meio para o cultivo dos micro-organismos, associados a métodos ineficientes de recuperação e a rendimentos relativamente baixos do produto (PANDEY et al., 2000; NITSCHKE; PASTORE, 2002; HENKEL et al., 2012). A utilização de substratos agroindustriais como meio de cultura básico para a produção desses compostos

tem sido sugerida como alternativa para viabilizar o processo (MAKKAR; CAMEOTRA, 2002; NITSCHKE; PASTORE, 2002; COLLA; COSTA, 2003; BARROS et al., 2007; BEZERRA et al., 2012; HENKEL et al., 2012), uma vez que milhões de toneladas de resíduos danosos ao meio ambiente são gerados e então poderiam ser utilizados em processos biotecnológicos (PANDEY et al., 2000). Bezerra *et al.* (2012) também frisam que os substratos alternativos para a produção de biossurfactantes apresentam dificuldades em sua padronização devido às variações naturais de composição, bem como aos custos de transporte, armazenagem e tratamentos prévios necessários.

O sucesso para produção de biossurfactantes depende do desenvolvimento de processos baratos e do uso de matérias-primas de baixo custo, o qual diminui de 10 a 30% o custo total do processo (CAMEOTRA; MAKKAR, 1998; NITSCHKE; PASTORE, 2002). De acordo com Mulligan e Gibbs (1993), o custo com as matérias-primas (como a fonte de carbono e de nitrogênio) pode representar até 50% do custo total da produção de biossurfactantes. Açúcares e óleos são fontes de carbono adequadas para a produção de biossurfactantes ecologicamente seguros e com boas propriedades surfactantes (SARUBBO et al., 2006). Resíduos agroindustriais com alto conteúdo de carboidratos e lipídeos são necessários para o uso como substratos na produção de biossurfactantes (NITSCHKE et al., 2004).

Há vários trabalhos que utilizam diferentes resíduos, podendo-se citar: resíduos de óleo de fritura (HABA et al., 2000), efluentes da produção de óleo de oliva (MERCADÉ et al., 1993), melaço de cana (RASHEDI et al., 2006), okara – resíduo sólido da extração aquosa da soja (BUGAY, 2009; SLIVINSKI et al., 2012), bagaço de cana (SLIVINSKI, 2012) e soro de leite (DUBEY; JUWARKAR, 2001).

O processamento industrial da mandioca gera resíduos que exigem diferentes formas de disposição e tratamento e que são condicionados ao nível tecnológico e econômico de cada empresa. O resíduo líquido, a manipueira, é gerada no processo de prensagem da massa ralada para fabricação de farinha, extração e purificação da fécula (CAMILI, 2007). Estes resíduos gerados durante o processamento são responsáveis por graves problemas de poluição ambiental, devido à elevada concentração de carboidratos remanescentes que são lançados ao meio ambiente (PINTO; CABELLO, 2007).

O estado do Paraná destaca-se no plantio da mandioca e já ocupa o terceiro lugar na produção nacional desta raiz, estando seu cultivo presente em todas as regiões do Estado, especialmente oeste e noroeste (SEAB, 2008). Segundo dados de Ponte (2001), para cada tonelada de mandioca processada, 250 L de manipueira são gerados. Para este resíduo, normalmente não há qualquer tipo de aproveitamento, sendo necessário que as empresas disponham de estações de tratamento de efluentes para poder alcançar valores aceitáveis para posterior lançamento em corpo hídrico. Importante ressaltar que apesar da disponibilidade de sistemas para tratamento, a indústria da mandioca ainda faz parte de um

segmento que não permite grandes investimentos no tratamento de seus resíduos (PINTO, 2008).

Uma das alternativas viáveis para o aproveitamento da manipueira consiste na recuperação de carboidratos, lipídios e proteínas, entre outros compostos, e sua utilização em outros sistemas (CAMILI, 2007). O fato deste resíduo agroindustrial apresentar elevados teores de diversos micronutrientes importantes para desenvolvimento microbiano, o coloca como um importante e promissor meio de cultura, tendo em vista o fato de não ser necessária sua suplementação para a produção de surfactantes (BARROS, 2007; BEZERRA et al., 2012).

Sendo assim, a manipueira pode ser considerada um substrato interessante na produção de biossurfactantes, pois além de apresentar composição físico-química adequada para a produção deste tensoativo, também é matéria-prima de baixo custo para a condução do processo. Dessa forma, valorizando-se os resíduos, reduz-se a poluição e são gerados subprodutos de valor agregado (CAMILI, 2007). Mesquita (2004) reforça que dentre os fatores que devem ser considerados na escolha de um produto para aplicar no ambiente, são a eficiência na remoção do contaminante, custo, biodegradabilidade do composto e dos produtos de degradação, baixa dispersão no solo, efeitos tóxicos em seres humanos, animais e plantas e reciclagem.

Cabe ressaltar que segundo as conclusões de Nitschke e Pastore (2002), com o aumento dos esforços no desenvolvimento de novas tecnologias de aplicação, no melhoramento das linhagens e dos processos de produção e devido à sua versatilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade, os biossurfactantes poderão se tornar compostos de uso comum nas indústrias em um futuro próximo.

2.3.4 Equilíbrio e cinética de adsorção

A adsorção é um fenômeno de superfície, com ocorrência de interações entre as duas fases em contato. O “adsorvente” é o sólido sobre o qual ocorre o fenômeno, pode-se denominar “adsortivo” à substância ou mistura na fase móvel em contato com o adsorvente capaz de ser adsorvida e “adsorvato” (ou adsorbato), a espécie retida pelo adsorvente na fase adsorvida (Figura 18) (BUARQUE, 1999). Quando um único componente está sendo adsorvido na superfície do sólido, diz-se estar ocorrendo adsorção monocomponente. Entretanto, na prática, é pouco frequente a ocorrência deste tipo de sistema, sendo mais comuns casos em que diferentes espécies competem pela superfície do sólido, denotando-se adsorção multicomponente. Na Figura 19 estão ilustrados os dois tipos de adsorção que ocorrem na superfície de um sólido.

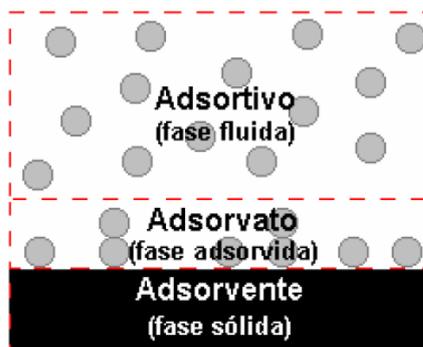


Figura 18 Representação das fases que compõem o processo de adsorção.
Fonte: VIEIRA (2008)

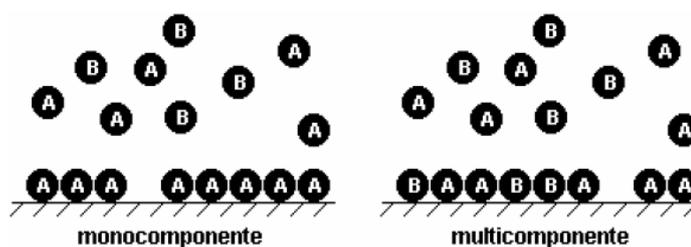


Figura 19 Adsorção monocomponente e multicomponente.
Fonte: VIEIRA (2008)

2.3.4.1 Bioadsorção

A bioadsorção é um processo alternativo aos métodos convencionais de tratamento de soluções aquosas com baixas concentrações metálicas. Entretanto, a natureza das diferentes interações no fenômeno de bioadsorção é ainda pouco conhecida. Diferentes mecanismos físicos, químicos e biológicos podem estar associados, como a adsorção, a precipitação, a complexação e os fenômenos de transporte. Pode ser influenciada por diferentes fatores experimentais como pH, força iônica, concentração da biomassa, temperatura e diferentes íons metálicos na solução (VIEIRA, 2008).

Os bioadsorventes apresentam composições químicas diversas, que dependem tanto de sua origem quanto do modo de preparação. A afinidade e a especificidade dos bioadsorventes em relação às espécies metálicas vão depender de suas propriedades químicas. Os grupos amino ($-NH_2$), carboxílico ($-CO_2H$), fosfato ($-PO_4^{3-}$) e sulfato ($-SO_4^{2-}$) constituem os principais grupos funcionais responsáveis pela fixação das espécies metálicas (VIEIRA, 2008).

Entre os bioadsorventes, podem-se citar os polissacarídeos, tais como a quitina e a quitosana (CHU, 2002; GUIBAL, 2004; BARRIADA et al., 2007). A quitosana é um tipo de polissacarídeo linear obtido através da desacetilação da quitina, que tem sido utilizado como um biopolímero para remoção de metais pesados a partir de efluentes industriais (VIEIRA, 2008), devido à presença de grupos amino e hidroxilas em suas estruturas.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste ítem são apresentados os procedimentos e metodologias utilizadas para a produção do biossurfactante a partir do resíduo líquido da agroindústria de farinha de mandioca, manipueira, além dos testes de caracterização realizados. Os procedimentos experimentais foram realizados principalmente nas dependências do Laboratório de Bioaromas da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (FEA-UNICAMP).

Além disso, também é apresentada a metodologia de avaliação da adsorção dos metais pelo biossurfactante. Esta etapa foi realizada na Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Curitiba (UTFPR-CT), sendo as leituras dos metais realizadas na Universidade Estadual do Oeste do Paraná Câmpus Cascavel (UNIOESTE).

2.4.1 Produção do biossurfactante

O biossurfactante foi produzido a partir de isolados de *Bacillus subtilis* LB5a pertencentes à coleção de culturas de micro-organismos do Laboratório de Bioaromas da UNICAMP. O substrato utilizado para a produção foi o resíduo líquido da indústria de farinha de mandioca, a manipueira. Esta manipueira foi previamente tratada (aquecida a 100° C, resfriada e centrifugada) para então ocorrer o processo de produção via biotecnológica em um biorreator piloto (Pilot New Brunswick 8000 MP 80) (Figura 20), conforme condições experimentais detalhadas em Barros (2007). Esta etapa foi realizada no laboratório de Bioaromas da UNICAMP.



Figura 20 Biorreator piloto utilizado no processo de produção do biossurfactante.

2.4.1.1 Caracterização do substrato

A manipueira foi caracterizada através das análises de nitrogênio total (AOAC, 1995), açúcares totais (DANIELS et al., 1994) e redutores (SOMOGYI, 1945), fração mineral (P, K, Ca, Mg, S, Al, B, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, Cr, Ni e Pb) (USEPA, 1994), amônia (BREMNER et al., 1965) e pH.

Os resultados podem ser visualizados na Tabela 10.

Tabela 10 Composição da manipueira utilizada como substrato no processo de produção do biossurfactante.

| | P | K | Ca | Mg | B | Cu | Fe | Mn | Zn | Al |
|------------|--------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | <i>mg L⁻¹</i> | | | | | | | | | |
| Manipueira | 0,4 | 2,8 | 0,3 | 0,7 | 0,7 | 0,4 | 6,7 | 2,7 | 0,6 | 0,01 |

| | C | Relação | pH | N | Amônia | Açúcares | |
|------------|--------------------------|---------|----|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------|
| | Orgânico | C/N | | | | Redutores | Totais |
| | <i>mg L⁻¹</i> | | | <i>g L⁻¹</i> | <i>mg L⁻¹</i> | <i>mg mL⁻¹</i> | |
| Manipueira | 14,3 | 20,5 | 6 | 0,7 | 54,3 | 15,8 | 16,9 |

2.4.1.2 Extração do surfactante

O processo de extração do surfactante foi realizado conforme Barros *et al.* (2007). A espuma foi recolhida de 12 em 12 horas e a cada fração procedeu-se de acordo com o exposto a seguir. Após a liquefação de cada uma das frações de espuma recolhidas durante o processo de produção, esta foi centrifugada a 12.700 G durante 20 minutos para eliminação da biomassa, o pH foi ajustado para 2 com solução de HCl, e então mantida sob repouso por aproximadamente 12 h para decantação. Em seguida, o líquido foi novamente centrifugado a 12.700 G por 20 minutos, o precipitado foi recolhido e neutralizado com solução de NaOH, sendo colocado para secar em estufa de secagem a 50°C (MAKKAR; CAMEOTRA, 1997; MAKKAR; CAMEOTRA, 1999). Em seguida, o sólido, denominado “biossurfactante bruto”, foi triturado em almofariz e armazenado em local seco para análises posteriores.

2.4.2 Estudo da atividade superficial nos extratos

Foram medidas a tensão superficial (TS), a diluição micelar crítica 1/10 (CMD⁻¹) e 1/100 (CMD⁻²) (MAKKAR; CAMEOTRA, 1997; COSTA, 2005) dos extratos recolhidos ao longo do processo de produção com o objetivo de verificar a produção do biossurfactante. Foi utilizado o tensiômetro modelo K12 (A. KRÜSS Optronic GmbH), pertencente ao Laboratório de Bioaromas da UNICAMP (Figura 21).



Figura 21 Tensiômetro para determinação da tensão superficial dos extratos recolhidos ao longo do processo de produção via biotecnológica.

2.4.3 Índice de emulsificação do surfactante

Visando avaliar o potencial do biossurfactante em adsorver ao solo e não proporcionar o efeito de remoção dos metais pesados do solo, utilizou-se como experimento alternativo o teste de índice de emulsificação (COOPER; GOLDENBERG, 1987). Além da solução de biossurfactante na concentração 48 mg L⁻¹ (4xCMC), também foi avaliado um surfactante sintético, o dodecil sulfato de sódio (SDS) na mesma concentração. Entretanto, a CMC não é equivalente, uma vez que este surfactante apresenta CMC igual a 2,3 g L⁻¹.

As soluções entraram em contato com dois tipos de solos, sendo o solo A classificado como de textura muito argilosa e o Solo B de textura arenosa. 6 g de solo foram colocados em contato com 20 mL da solução (24h, agitação de 200 rpm, temperatura ambiente) e então o material foi centrifugado e com o sobrenadante realizou-se o teste de índice de emulsificação. Como forma de controle, também foi realizado o teste na solução de biossurfactante que não entrou em contato com o solo, o que assim permitiria uma comparação entre os resultados. O teste consistiu em adicionar 6 mL de compostos hidrofóbicos a 4 mL do sobrenadante contendo biossurfactante, em tubo de ensaio com tampa rosqueável. Os compostos hidrofóbicos utilizados foram óleo de girassol, óleo de soja e gasolina. Após agitação vigorosa em vórtex por 2 minutos, a emulsão formulada foi deixada em repouso à temperatura ambiente. Nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas contadas a partir do momento da homogeneização, foram efetuadas medidas da altura da camada emulsificada (CE) e da altura total (AT) dos líquidos no tubo. O índice de emulsificação (IE) foi obtido através da fórmula apresentada na Equação 9 (COOPER; GOLDENBERG, 1987).

$$IE (\%) = (CE/AT)*100 \quad \text{Eq. 9}$$

2.4.4 Caracterização do biossurfactante por espectroscopia de infravermelho

Caracterizou-se o biossurfactante obtido por espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR), em equipamento Shimadzu IR Prestige 21 com detector DTGS, pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). As amostras, de 2 a 5 mg, foram pesadas e diluídas em 100 mg de KBr e analisadas pela técnica de transmissão.

As atribuições orgânicas para as bandas observadas nos espectros de FTIR foram feitas pelo método comparativo com os dados disponíveis em Silverstein *et al.* (2007) e buscou-se trabalhos na área para confirmar as associações, que foram apresentadas ao longo da discussão dos resultados obtidos.

2.4.5 Caracterização do biossurfactante por cromatografia líquida de alta eficiência

O biossurfactante obtido pelo bioprocesso foi identificado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando um cromatógrafo líquido da marca SHIMADZU, modelo LC 20 AT. Utilizou-se uma coluna Kromasil C18. As condições cromatográficas utilizadas foram: fluxo de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ e fase móvel acetonitrila (80%) com ácido trifluoroacético ($3,8 \text{ mmol L}^{-1}$) (20%).

Como forma de confirmar a suspeita do tipo de surfactante, foi utilizado como padrão amostra de surfactina Sigma-Aldrich. Tanto o biossurfactante quanto a amostra padrão foram preparadas por meio da diluição em acetonitrila:metanol (1:1, v/v) (2 mg mL^{-1}) e $20 \mu\text{L}$ foram usados para a injeção. Esta metodologia de injeção baseou-se em Slivinski *et al.* (2012).

2.4.6 Isotermas de adsorção para os íons Cu, Zn e Pb

Para obtenção dos dados de adsorção utilizou-se o método de adsorção em batelada, no qual uma série de soluções (20 mL) com diferentes concentrações do íon metálico foram postas em contato com uma certa quantidade do adsorvente (0,0500 g), a uma temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$, sob agitação (200 rpm) e $\text{pH} \sim 6,3$. O pH da solução metálica foi ajustado usando NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e não foi corrigido ao longo dos experimentos de adsorção. Não se utilizou solução tampão, objetivando-se não aumentar o efeito competitivo das diferentes espécies aos sítios de adsorção. As soluções metálicas foram preparadas a partir de padrões analíticos comerciais de 1.000 mg L^{-1} e então diluídos de acordo com a concentração requerida. A concentração inicial dos íons metálicos variou de 50 a 750 mg L^{-1} para Zn e de 20 a 200 mg L^{-1} para Cu e Pb. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Após 24h de agitação para atingir o equilíbrio, as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos e então filtradas em papel filtro faixa preta. As concentrações dos metais foram então medidas por espectrometria de absorção atômica (AAS). Todas estas medidas foram realizadas na UNIOESTE utilizando o espectrômetro SHIMADZU modelo AA 6030. Aos dados obtidos foram aplicados os modelos de isothermas de Langmuir e Freundlich.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1 Atividade superficial

Os resultados apresentados na Figura 22 representam a tensão superficial das espumas recolhidas ao longo do cultivo. É possível verificar que esta espuma apresenta tensão superficial inferior à da água e com valores que indicam a presença de agentes tensoativos, uma vez que os valores da diluição micelar crítica (CMD) estão inferiores ao valor médio da água (72 mN m^{-1}). Estes resultados permitem afirmar que ocorreu a produção de biossurfactante até o final do cultivo. A tensão superficial (TS) manteve-se praticamente constante, variando de 27,3 a 29,44 mN m^{-1} . Rossmann (2008) também encontrou valores estáveis ao longo do processo quando igualmente trabalhou com manipueira e *Bacillus subtilis*, porém em condições distintas.

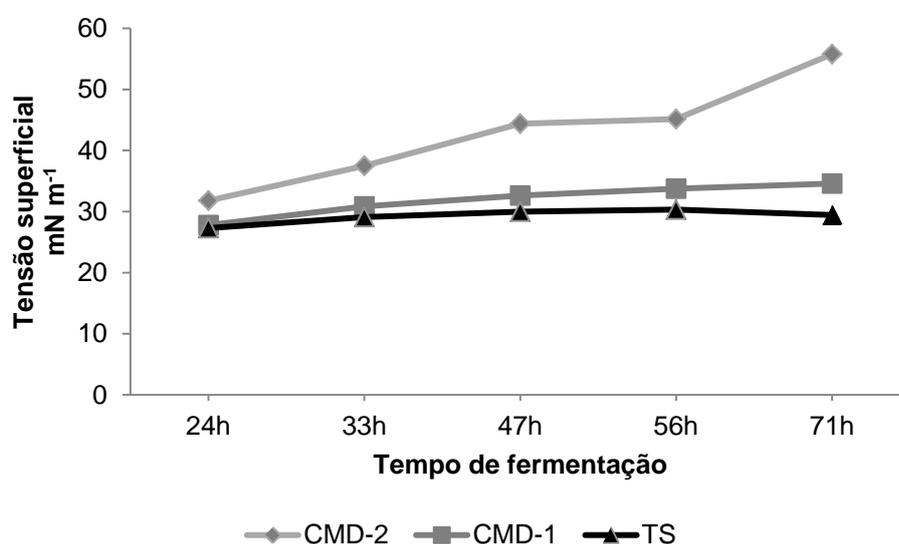


Figura 22 Tensão superficial nas amostras de espuma coletadas ao longo do período de produção do biossurfactante.

TS: tensão superficial da espuma sem diluição; CMD⁻¹: tensão superficial da espuma diluída 10 vezes; CMD⁻²: tensão superficial da espuma diluída 100 vezes

Fazendo-se a comparação entre os vários trabalhos pesquisados, o biossurfactante obtido se mostrou muito eficiente em diminuir a tensão superficial. A surfactina é considerada um dos mais poderosos e mais ativos em termos de CMC e TS mínima (SILVA, 2013). Barros *et al.* (2008) obtiveram valores de TS semelhantes ao presente trabalho. Bezerra *et al.* (2012), que avaliaram a manipueira como substrato para *Pseudomonas aeruginosa* produzir biossurfactante e acabaram por produzir ramnolipídio, obtiveram valores médios da TS de 33 mN m^{-1} . Nos estudos realizados por Nitschke e Pastore (2006) utilizando manipueira como substrato e *Bacillus subtilis* na síntese do biossurfactante (surfactina), foram obtidas reduções da tensão superficial de 37% em relação ao ponto inicial, alcançando índices abaixo de 30 mN m^{-1} .

A diluição micelar crítica 1/10 (CMD^{-1}) apresentou comportamento muito semelhante à TS. Neste caso, os valores encontrados mostram que a espuma recolhida, mesmo tendo sido diluída 10 vezes, permanece com os valores de tensão superficial ainda muito próximos ao original, o que comprova a presença de surfactante nestas amostras. Quando é avaliado o comportamento da diluição micelar crítica 1/100 (CMD^{-2}), é possível perceber que os valores de tensão vão aumentando à medida que o tempo de cultivo aumenta, porém os valores ainda são bastante inferiores ao valor de tensão da água, confirmando que a diluição de 100 vezes ainda mantém propriedades tensoativas daquele extrato.

Visualmente observou-se que a maior produção de espuma ocorreu nas primeiras 24 horas de reação. Na Figura 23 é possível visualizar a produção de espuma.



Figura 23 Fração de espuma recolhida após 24 horas de cultivo.

2.5.2 Índice de emulsificação

Na Tabela 11 estão apresentados os valores obtidos para índices de emulsificação (IE) do biossurfactante bruto e do dodecil sulfato de sódio (SDS) com diferentes tipos de óleos antes e após contato com os solos argiloso (Solo A) e arenoso (Solo B).

O IE_{24h} , tanto da solução de biossurfactante quanto da solução de SDS, foi de aproximadamente 60% para os três tipos de óleos avaliados. Observa-se que a camada emulsificada apresentou-se estável nas primeiras 72h (Tabela 11). Bezerra *et al.* (2012) obtiveram os índices de emulsificação da solução de biossurfactante com querosene variando de 50 a 68% para as primeiras 24 horas, sendo que muitos deles permaneceram estáveis por 72h ou mais. Batista *et al.* (2006) também conseguiram valores de 50% para o índice de emulsificação para o querosene comercial. Barros *et al.* (2008) obtiveram emulsões estáveis até 72h e encontraram valores de IE_{24h} próximos a 70% quando analisaram o biossurfactante obtido por metodologia semelhante ao presente trabalho. Esta diferença provavelmente deve-se ao fato de que no trabalho desses autores, o biossurfactante foi previamente purificado, o que o tornou mais concentrado. Além disso, esses mesmos autores quiseram relacionar o tamanho das cadeias carbônicas dos ácidos graxos que compõem os óleos testados e os IE_{24h} das emulsões com biossurfactante e não identificaram relação entre o tipo e o tamanho.

Tabela 11 Índice de emulsificação (IE) de diferentes emulsões de hidrocarbonetos com biossurfactante de *Bacillus subtilis* LB5a (BS) e dodecil sulfato de sódio (SDS).

| Condição experimental | Óleo | IE _{24h} | IE _{48h} | IE _{72h} |
|-----------------------|----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | -----%----- | | |
| BS | Soja | 59,4 | 59,4 | 59,4 |
| | Girassol | 59,7 | 59,7 | 59,7 |
| | Gasolina | 60,3 | 60,3 | 60,3 |
| Solo A + BS | Soja | 60,6 | 60,6 | 60,6 |
| | Girassol | 57,6 | 57,6 | 57,6 |
| | Gasolina | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Solo B + BS | Soja | 57,8 | 57,8 | 57,8 |
| | Girassol | 54,9 | 54,9 | 54,9 |
| | Gasolina | 5,0 | 1,8 | 1,8 |
| SDS | Soja | 60,9 | 60,9 | 60,9 |
| | Girassol | 58,7 | 59,7 | 59,7 |
| | Gasolina | 60,6 | 60,6 | 60,6 |
| Solo A + SDS | Soja | 57,8 | 57,8 | 57,8 |
| | Girassol | 60,3 | 60,3 | 60,3 |
| | Gasolina | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Solo B + SDS | Soja | 60,0 | 60,0 | 60,0 |
| | Girassol | 56,3 | 60,6 | 60,6 |
| | Gasolina | 1,7 | 0,0 | 0,0 |

BS= biossurfactante; SDS= dodecil sulfato de sódio; IE_{24h} = índice de emulsificação após 24 h de contato com o composto hidrofóbico; IE_{48h} = índice de emulsificação após 48 h de contato; IE_{72h} = índice de emulsificação após 72 h de contato

Neste estudo, o SDS e o biossurfactante apresentaram resultados bastante próximos do IE_{24h} nos três óleos analisados. Quando foram comparados os resultados de estabilidade de emulsão, ambos apresentaram a mesma estabilidade. Os resultados comparativos entre o biossurfactante e o SDS também estão apresentados em Barros *et al.* (2008), que observaram valores muito próximos entre eles.

Quando as soluções de surfactantes entraram em contato com os solos, os valores de IE mantiveram-se semelhantes, com exceção para a gasolina. Neste caso, após ter entrado em contato com o solo argiloso, a solução não foi capaz de formar emulsão com a gasolina. Já a solução após contato com o solo arenoso formou uma pequena camada emulsificada (IE_{24h} = 5% e IE_{24h} = 51,7% para biossurfactante e SDS, respectivamente) que foi ficando ainda menor com o passar das horas. Esta situação pode indicar a presença de algum composto na solução que antes estava presente no solo e com o processo de agitação desorveu e então impossibilitou a formação de emulsão com a gasolina. Pode-se atribuir tal comportamento à possível presença de sais, tais como Na⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺. Segundo Lida *et al.* (2007), a presença de sais na água emulsionada pode aumentar a estabilidade de uma emulsão ou não, dependendo do mecanismo de estabilização da mesma. Santos (2011) avaliou o efeito da presença de Ca²⁺ no meio líquido contendo biossurfactante do tipo ramnolípido e verificou que quanto maior a concentração deste

elemento, menor foi o IE formado com querosene. O valor máximo alcançado foi 29% para uma solução $4,0 \text{ g L}^{-1}$ do biossurfactante puro adicionada de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ de CaCO_3 . Ghannan (2005) mostrou que o aumento da força iônica pode reduzir a atração eletrostática entre as gotículas de água e que, portanto, impedem a floculação e o coalescimento dessas gotículas.

Tendo em vista os resultados, esta avaliação experimental não permitiu concluir sobre a ocorrência ou não de adsorção do biossurfactante ao solo. Esta adsorção pode ocorrer devido ao caráter aniônico da surfactina, cujas cargas sofreram atrações de diferentes tipos pelas cargas positivas presentes no solo. Os resultados do IE obtidos para os testes com gasolina fizeram com que continuasse a dúvida, uma vez que há a possibilidade de ocorrência do exposto acima ou a adsorção de certa quantidade de surfactante ao solo. Esta adsorção pode ter feito com que a solução remanescente não estivesse em concentração capaz de formar emulsão quando em contato com a gasolina.

Na Figura 24 é possível observar o aspecto da emulsão formada entre a solução de biossurfactante com o óleo de girassol.

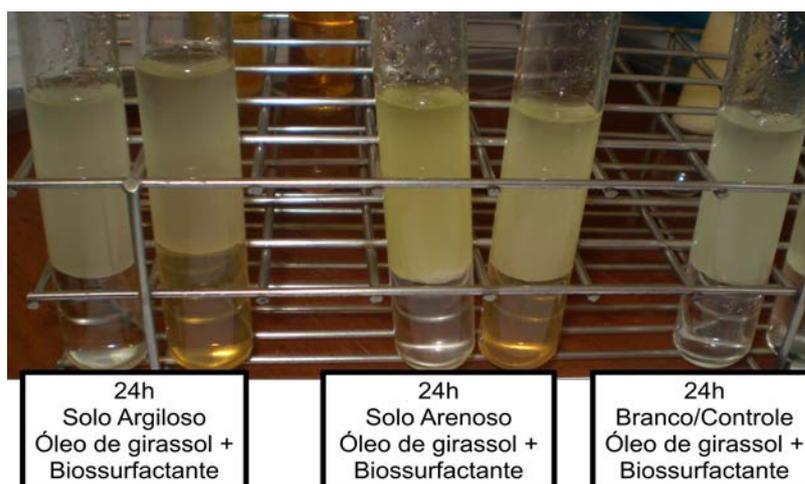


Figura 24 Aspecto das camadas formadas após as primeiras 24 horas de contato entre a soluções de biossurfactante e óleo de girassol.

2.5.3 Caracterização do biossurfactante por espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma importante técnica qualitativa de caracterização de materiais, baseada na absorção (ou reflexão) de radiação eletromagnética entre 10^3 e 10^6 nm , resultando na variação da energia vibracional da molécula, sendo muito utilizada na identificação da natureza química de vários tipos de materiais (COSTA, 2011; SANTOS, 2011).

Esta é uma metodologia que detecta similaridades ou diferenças nas estruturas químicas dos compostos (SANTOS, 2011). Segundo Silverstein *et al.* (2007), as vibrações moleculares permitem distinguir os diversos grupos funcionais e estruturas, como por exemplo: COOH , OH -fenólico, OH -alcoólico, OH -enólico, cetonas, $-\text{NH}_2$, componentes

aromáticos, alifáticos e alguns grupos funcionais. Pode ser usada para a identificação dos biossurfactantes, pois a grande maioria possui um radical carbonila, ligação éster ou ácido carboxílico, os quais absorvem energia na região infravermelha do espectro eletromagnético (GARTSHORE et al., 2000).

O espectro de absorção na região do infravermelho obtido para a caracterização do biossurfactante pode ser visto na Figura 25. Nesta mesma figura também estão apresentados os espectros obtidos por OLIVEIRA et al. (2013), sendo um deles referente ao biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* LAMI005, tendo como substrato suco de caju clarificado, e o outro é o espectro da surfactina padrão Sigma-Aldrich.

O espectro de infravermelho do biossurfactante obtido foi comparado também aos encontrados por Teixeira (2007), Parreira (2009) e Felix (2012). Nestes trabalhos, também foi obtido surfactante do tipo surfactina, porém a partir de diferentes fontes de carbono. Felix (2012) obteve a partir de suco de caju clarificado, já Parreira (2009) e Teixeira (2007) a partir de caldo nutriente mineral artificial.

Pode-se afirmar que o biossurfactante obtido neste trabalho trata-se realmente de surfactina, uma vez que as bandas são muito semelhantes ao padrão de surfactina padrão (Sigma-Aldrich) e também aos demais trabalhos pesquisados com surfactina.

É possível observar uma absorção em 3.282 cm^{-1} , característico da deformação axial de ligação N-H presente em peptídeos; absorção em 2.952 cm^{-1} correspondente a estiramento assimétrico da ligação C-H de grupamento CH_3 (de ácidos graxos); banda em 2.922 cm^{-1} característico de estiramento assimétrico da ligação C-H de grupamento CH_2 ; banda de deformação axial C=O em 1.720 cm^{-1} de ácido carboxílico. Esta banda foi observada em todos os trabalhos utilizados como comparação, sendo que também em todos esta deformação é discreta (TEIXEIRA, 2007; FELIX, 2012; OLIVEIRA et al., 2013). Há duas absorções, uma em 1.647 cm^{-1} , que caracteriza grupo amida I (C=O; C=N), e outra em 1.535 cm^{-1} característica de amida II. Felix (2012) também obteve espectro muito semelhante, atribuindo tais bandas igualmente aos grupos amida. Na região de 1.230 a 1.200 cm^{-1} é possível a vibração de C=O em anel aromático ou deformação de CH_2 em carboxilas alquílicas. A deformação em 1.056 cm^{-1} pode representar o estiramento de C-O de polissacarídeos.

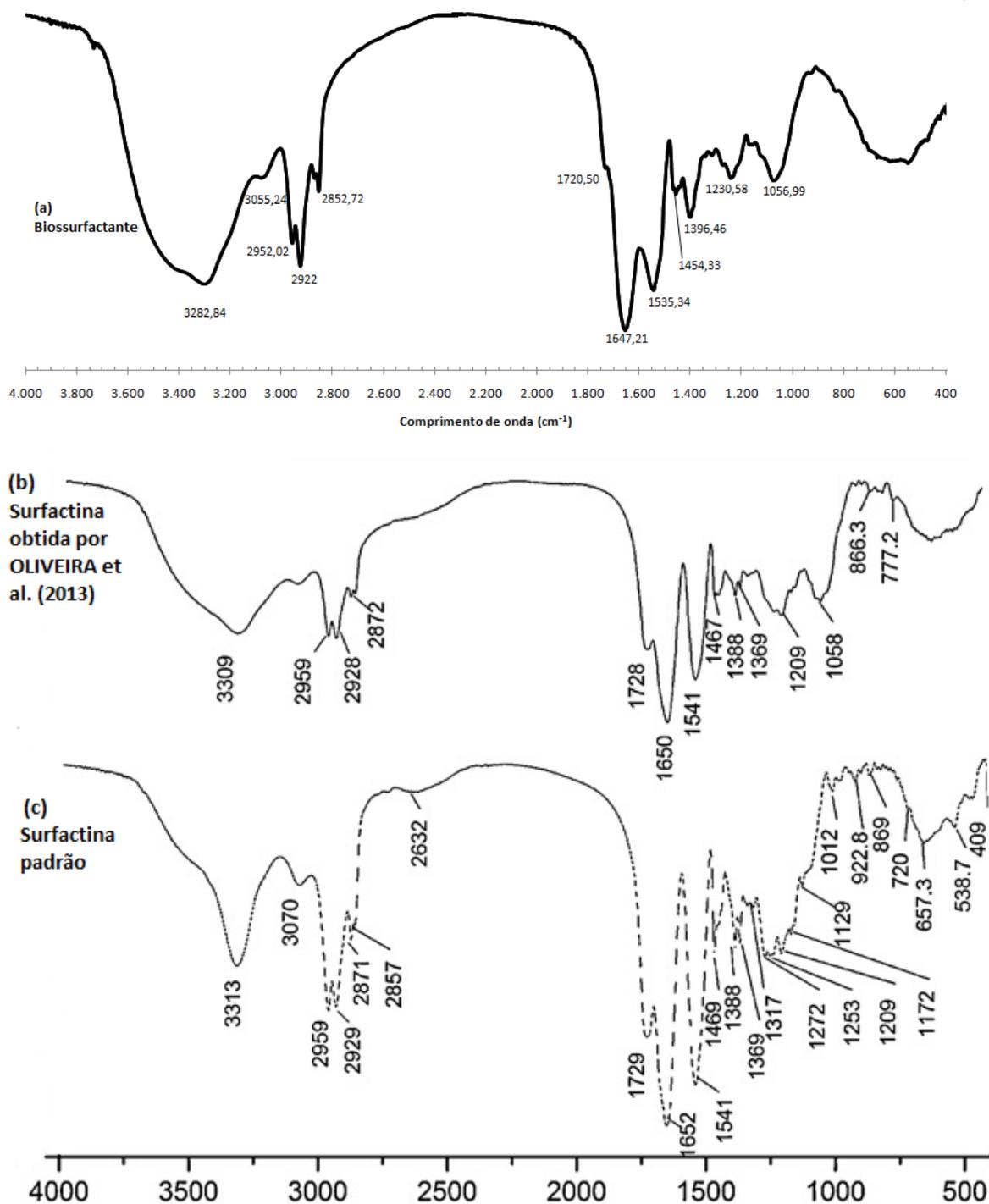


Figura 25 Espectro de infravermelho do biossurfactante obtido pelo bioprocesso (a), surfactina obtida por Oliveira *et al.* (2013) (b) e surfactina padrão Sigma-Aldrich (c).

2.5.4 Caracterização do biossurfactante por HPLC

A concentração da surfactina no biossurfactante foi calculada pela integração da área total dos 5 picos dos homólogos. O valor de área obtido foi aplicado na equação de regressão calculada através da curva de calibração ($R^2 = 0,9904$), fornecendo a concentração de surfactina.

O cromatograma da surfactina padrão Sigma-Aldrich pode ser visualizado na Figura 26, na qual se observam várias linhas coloridas. Estas representam as concentrações 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mg mL⁻¹ de surfactina.



Figura 26 Cromatograma da surfactina padrão Sigma-Aldrich.

Fazendo-se a comparação do cromatograma obtido para o biossurfactante produzido com o cromatograma da amostra padrão Sigma-Aldrich, observou-se que o biossurfactante produzido realmente tratava-se da surfactina. O perfil de eluição em HPLC dos homólogos do lipopeptídeo produzido apresentaram tempos de retenção equivalentes aos obtidos para a surfactina padrão.

Foram identificados 5 picos, sendo estes detectados em 6, 14, 18, 25 e 27 minutos. A avaliação dos resultados, por meio da integração das áreas dos 5 picos, mostrou que o biossurfactante possui 0,28 mg mL⁻¹. Considerando-se a diluição, sabe-se, portanto, que a concentração de surfactina no biossurfactante é de 28% (0,28 mg de surfactina/ mg de biossurfactante). Cabe ressaltar que após o processo de cultivo, o biossurfactante não foi purificado, o que justifica a presença de impurezas. Felix (2012), que avaliou a produção de biossurfactante por *Bacillus subtilis* a partir de suco de caju, obteve concentração de surfactina no biossurfactante já semi-purificado na ordem de 11,17%. Santos (2011) produziram biossurfactante por *Pseudomonas aeruginosa* EQ 109 a partir de glicerol e obteve baixos rendimentos de produção, sendo que o processo de purificação resultou em aproximadamente 6,57% de ramnolipídio no biossurfactante. Kronemberger (2007), que produziu ramnolipídio a partir de *Pseudomonas aeruginosa*, obteve 44,89% de ramnose no biossurfactante.

Cabe ressaltar que, tendo em vista o uso pretendido para este biossurfactante, a etapa de purificação não foi realizada por julgar-se desnecessária a remoção destas impurezas para o processo de remediação de solos. Além disso, no procedimento usual são

usados muitos solventes, o que acaba gerando resíduos químicos e encarecendo a obtenção do biossurfactante, o que não era objetivo deste trabalho.

2.5.5 Adsorção dos metais pelo biossurfactante

Na Figura 27 são apresentados os dados experimentais, bem como as isotermas obtidas pelos modelos de Langmuir e Freündlich para adsorção de Zn, Cu e Pb pelo biossurfactante. Os parâmetros de adsorção também estão disponíveis na Tabela 12.

Tabela 12 Parâmetros de adsorção das isotermas de Langmuir e Freündlich para adsorção de Zn, Cu e Pb no biossurfactante estudado.

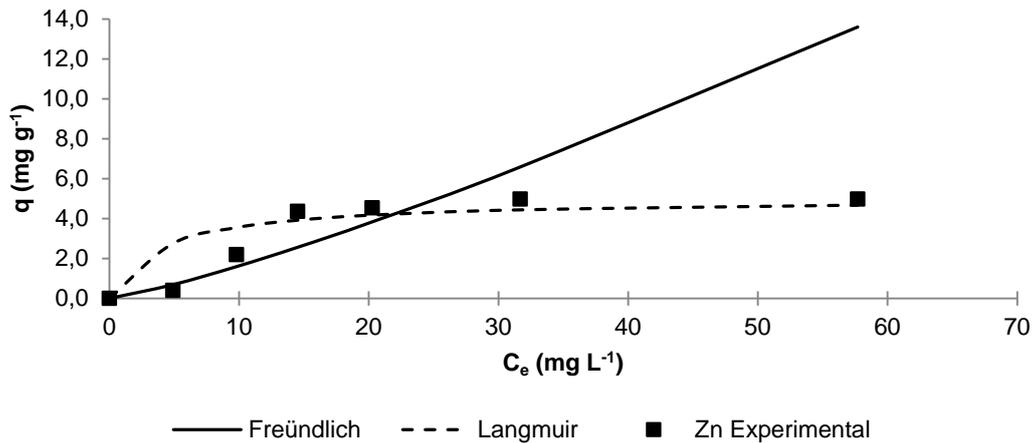
| Parâmetro | Langmuir | | | Freündlich | | |
|---------------|---------------------|--------------------|--------|---------------------|-------|--------|
| | K_L | b | R^2 | K_F | $1/n$ | R^2 |
| | $L \text{ mg}^{-1}$ | mg g^{-1} | | $L \text{ mg}^{-1}$ | | |
| Zinco | 0,25 | 5,00 | 0,9981 | 100,79 | 1,21 | 0,8710 |
| Cobre | 0,11 | 10,00 | 0,9879 | 303,53 | 1,04 | 0,8230 |
| Chumbo | 0,05 | 3,33 | 0,5355 | 32,02 | 2,08 | 0,8125 |

K_L - constante relacionada à afinidade do adsorvente pelo adsorvato; b - capacidade máxima de adsorção; R^2 - coeficiente de determinação; K_F - constante de adsorção de Freündlich

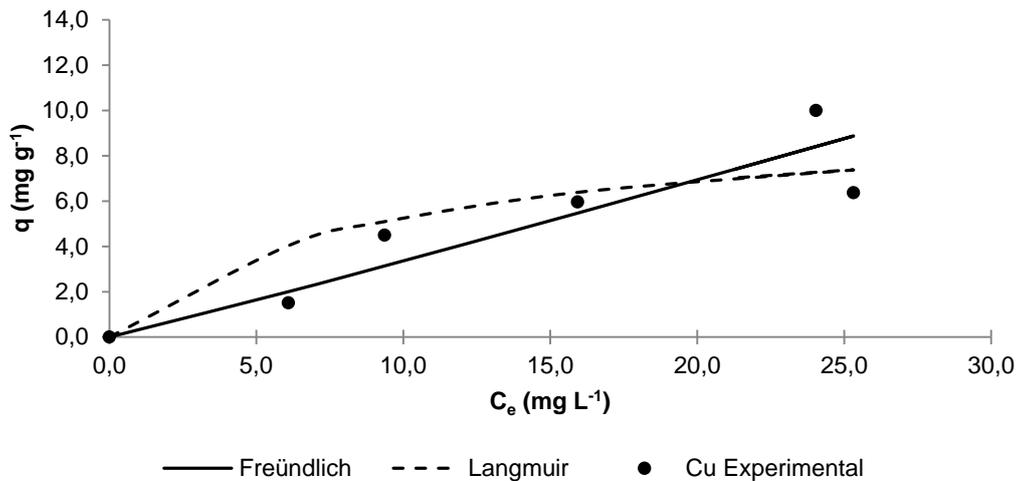
Os elevados coeficientes de correlação, obtidos a partir das equações linearizadas de Langmuir e Freündlich (Tabela 12) indicam que os dois modelos de adsorção apresentaram-se significativamente capazes em demonstrar a adsorção de Zn e Cu pelo biossurfactante estudado.

É possível observar (Figura 27) que o modelo de Langmuir foi o que melhor representou o comportamento de adsorção do Zn no biossurfactante. Observa-se que o modelo de Freündlich superestima os valores experimentais. Os valores de b obtidos pela isoterma de Langmuir estimam a capacidade máxima de adsorção (CMA) e pelos resultados é possível afirmar que este biossurfactante possui elevada afinidade pelos metais estudados (Tabela 12). O valor para Cu foi o mais alto, sendo de 10 mg g^{-1} , seguido do Zn (5 mg g^{-1}). Para o Pb, as curvas determinadas mostraram que o sistema não se ajusta ao modelo de Langmuir na faixa de concentração estudada, sendo desaconselhável a observação do valor de CMA. Já o modelo de Freündlich mostrou-se adequado para este elemento.

(a)



(b)



(c)

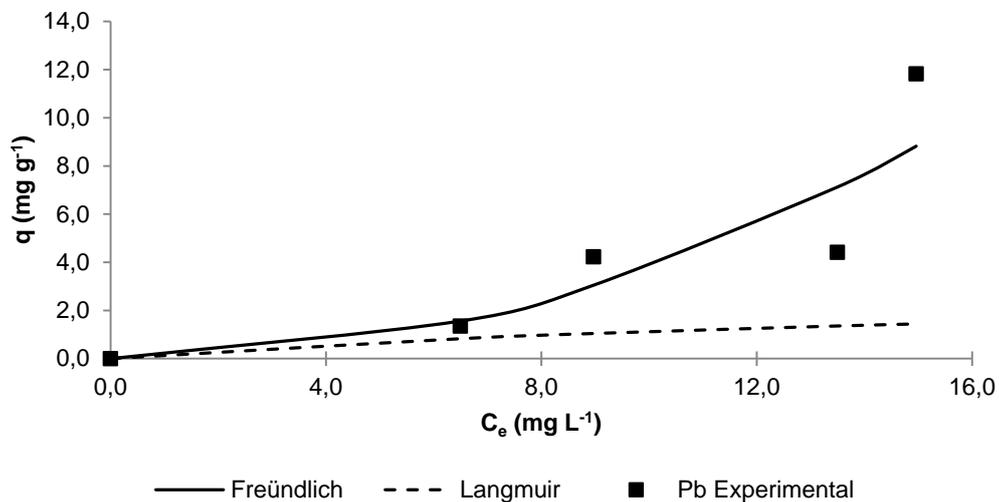


Figura 27 Isothermas obtidas a partir do ajuste das equações de adsorção aos dados obtidos experimentalmente para os valores de Zn (a) Cu (b) e Pb (c) na solução de equilíbrio.

Observando-se os valores experimentais, independente do ajuste ou não aos modelos físico-químicos avaliados, estes resultados são importantes para confirmar que o biossurfactante produzido a partir do resíduo da manipueira é capaz de adsorver metais. Esta capacidade deve-se especialmente à sua natureza aniônica, que permite a interação entre as cargas negativas presentes no composto e as cargas positivas dos íons metálicos.

Além disso, é importante destacar que esta natureza aniônica deve-se à presença de grupos funcionais, como grupos amina e ácidos carboxílicos. De acordo com Piron e Domard (1997 e 1998), que estudaram a adsorção de Urânio a diferentes tipos de quitosanas, a capacidade de adsorção aumenta com o grau médio de desacetilização (GD). Este mede o percentual de grupos amino disponíveis nas cadeias da quitosana e é um dos principais parâmetros que afetam as propriedades de adsorção. Além disso, os resultados mostraram que os grupos amino estão prioritariamente envolvidos no processo de complexação do metal.

Colla *et al.* (2012), em estudo que comparou a remoção de Cd em meio líquido contendo biossurfactante e diferentes espécies de fungos filamentosos, concluíram que naqueles meios onde havia biossurfactante, a remoção do metal foi maior. Esta chegou a 100% quando na presença de fungos do tipo *Aspergillus*. Os autores chegaram à conclusão de que a presença de biossurfactantes em meio líquido melhora a eficiência de remoção de metais em meio líquido.

A diferença entre o potencial de adsorção para os três metais estudados deve-se às propriedades de cada um deles. De acordo com Vieira (2008), concentração, pH e força iônica da solução, além do efeito de íons competidores, influenciam largamente as propriedades de adsorção, além de contribuir para a protonação dos grupos amino dos biopolímeros. Deste modo, o conhecimento de como estas espécies metálicas se comportam em solução pode contribuir para o entendimento do mecanismo de adsorção (troca iônica, atração eletrostática, quelação etc).

Segundo Miller *et al.* (1995), os biossurfactantes apresentam potencial para aumentar as eficiências de remoção de metais em solos por facilitarem processos de sorção, transferência de massa e resistência ao transporte em fase aquosa. A adição de biossurfactantes pode promover a dessorção de metais pesados de fases sólidas através da complexação das formas livres dos metais em solução ou pela acumulação dos biossurfactantes na interface líquido-sólido causada pela redução das atividades interfaciais, o que promove um contato direto entre os biossurfactantes e os metais. Ainda, Valdman *et al.* (2005) demonstraram que um exopolissacarídeo extraído do micro-organismo *Serratia* sp, com atividade biossurfactante, apresentou elevada eficiência na remoção de Cd de meios líquidos. Os experimentos foram realizados com 50 mg L⁻¹ de Cd²⁺ e 0,1 g L⁻¹ do biossurfactante previamente purificado, obtendo-se remoções da ordem de 170 mg de Cd g⁻¹ de biossurfactante.

2.6 CONCLUSÕES

- O processo de produção de biossurfactante ocorreu durante todo o período (72 h), sendo a maior produção de espuma nas primeiras 24 h;
- O biossurfactante produzido apresenta propriedades emulsificantes e estabilidade, sendo que o índice de emulsificação ficou em torno de 60% mesmo após 72 h de formação da emulsão;
- As análises de FTIR e HPLC permitem afirmar que o biossurfactante produzido é composto fundamentalmente de surfactina, sendo que esta representa 28% da composição total;
- O biossurfactante produzido a partir do resíduo líquido manipueira é capaz de adsorver Cu, Zn e Pb em sua estrutura;
- O modelo de adsorção de Langmuir ajustou-se bem ao Cu e Zn, sendo a capacidade máxima de adsorção estimada em 10 e 5 mg g⁻¹, respectivamente;
- No processo de adsorção do Pb, o biossurfactante apresentou-se como um bom adsorvente, porém não se ajustou satisfatoriamente ao modelo de Langmuir, sendo o melhor modelo o de Freundlich;
- O biossurfactante produzido apresenta potencial de uso como adsorvente no tratamento de efluentes líquidos contendo metais pesados.

2.7 REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official method of analysis** (16th ed.). Virginia: AOAC International, 1995.
- ASÇI, Y.; NURBAS, M.; AÇIKEL, Y.S. Removal of zinc from a soil component Na-feldspar by a rhamnolipid biosurfactant. **Desalination**, online, v. 223, p. 361-365, 2008.
- BANAT, I.M. Characterization of biosurfactants and their use in pollution removal state of the art, **Acta Biotechnologica**, online, v. 15, p. 251–267, 1995.
- BARRIADA, J.L.; HERRERO, R.; PRADA-RODRIGUEZ, D; Waste spider crab shell and derived chitin as low-cost materials for cadmium and lead for removal. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, online, v. 82, p. 39-46, 2007.
- BARROS, F.F.C. **Estudo das variáveis de processo e ampliação de escala na produção de biossurfactante por *Bacillus subtilis* em manipueira**. 2007. 117p. Dissertação (Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2007.
- BARROS, F.F.C.; QUADROS, C.P.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p. 409-414, 2007.
- BARROS, F.F.C.; QUADROS, C.P.; PASTORE, G.M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 979-985, 2008.
- BATISTA, F.M. **Produção de biossurfactante por *Bacillus subtilis* com elevada eficiência na mobilização de óleo pesado**. 2008. 54p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2008.
- BATISTA, S.B.; MOUNTEER, A.H.; AMORIM, F.R.; TÓTOLA, M.R. Isolation and Characterization of Biosurfactant/Bioemulsifier-Producing Bacteria from Petroleum Contaminated Sites. **Bioresource Technology**, online, v. 97, p. 868-875, 2006.
- BERSELLI, S.; BENITEZ, E.; FEDI, S.; ZANNONI, D.; MEDICI, A.; MARCHETTI, L.; FAVA, F. Development and Assessment of an Innovative Soil- Washing Process Based on the Use of Cholic Acid-Derivatives as Pollutant- Mobilizing Agents. **Biotechnology and Bioengineering**, online, v. 93, p. 761-770, 2006.
- BEZERRA, M. S.; HOLANDA, V. C. D.; AMORIM, J. A.; MACEDO, G. R.; SANTOS E. S. Produção de biotenssoativo utilizando *Pseudomonas aeruginosa* (P.A.) e resíduo agroindustrial (manipueira) como substrato. **Holos**, Natal, v. 1, p.14-27, 2012.
- BODOUR, A.A.; MILLER-MAIER, R.M. Application of a Modified Drop-Collapse Technique for Surfactant Quantitation and Screening of Biosurfactant-Producing Microorganisms. **Journal of Microbiological Methods**, online, v. 32, p. 273- 280, 1998.
- BREMMER, J.M.; KEENEY, D.R. Steam-distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. **Analytica Chimica Acta**, online, v. 32, p. 485-495, 1965.
- BUARQUE, H.L.B. **Adsorção multicomponentes de xilenos em zeólita Y no equilíbrio**. 1999. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 1999.
- BUENO, S.M. **Bactérias produtoras de biossurfactantes**: isolamento, produção, caracterização e comportamento num sistema modelo. 2008. 99 p. Tese (Programa de pós-

- graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. 2008.
- BUGAY, C. **Biossurfactantes produzidos por Bacillus sp.:** estudos de produção e caracterização. 2009. 83 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009.
- CAMEOTRA S.S.; MAKKAR, R.S. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. **Current Opinion in Microbiology**, online, v. 7, p. 262-266, 2004.
- CAMEOTRA, S.S.; MAKKAR, R.S. Synthesis of biosurfactants in extreme conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, online, v. 50, p. 520–529, 1998.
- CAMILI, E.A. **Tratamento da maniveira por processo de flotação sem o uso de agentes químicos.** 2007. 78p. Dissertação (Programa de pós-graduação em Agronomia/Energia na Agricultura), Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2007.
- CASTIGLIONI, G.L.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V. Produção de biossurfactante por *Aspergillus fumigatus* utilizando resíduos agroindustriais como substrato. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 292-295, 2009.
- CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I.B. A review: Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, online, v. 93, p. 915–929, 2002.
- CHU, K.H. Removal of copper from aqueous solution by chitosan in prawn shell: adsorption equilibrium and kinetics. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 90, p. 77-95, 2002.
- COLLA, L.M.; COSTA, J.A.V. Obtenção e aplicação de biossurfactantes. **Vetor**, Rio Grande, v. 13, p. 85-103, 2003.
- COLLA, L.M.; HEMKEMEIER, M.; GIL, A.S.L. Biossorção de cádmio e produção de biossurfactantes por fungos filamentosos em fermentação submersa. **Revista CIATEC – UPF**, Passo Fundo, v. 4, p. 1-10, 2012.
- COOPER D.G.; GOLDENBERG, B.G. Surface-active agents from two *Bacillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 53, p. 224-229, 1987.
- COSTA, G.A.N. **Produção biotecnológica de surfactante de *Bacillus subtilis* em resíduo agroindustrial, caracterização e aplicações.** 2005. 87p. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.
- COSTA, P. B. A. **Síntese e propriedades de surfactantes di-aniónicos: interação com íons trivalentes.** 2011. 67p. Dissertação. (Programa de Pós-graduação em Química). Universidade de Coimbra, Coimbra. 2011.
- DAHRAZMA, B.; MULLIGAN, C.N. Investigation of the removal of heavy metals from sediments using rhamnolipid in a continuous flow configuration. **Chemosphere**, online, v. 69, p. 705-711, 2007.
- DANIELS, L.; HANSON, R.; PHYLLIPS, J.A. Chemical analysis. In: GERHARDT, P.; MURRAY, R.G.E.; WOOD, W.A.; KRIEG, N.R. (Eds.). **Methods for General and Molecular Bacteriology**. American Society for Microbiology. p. 518-519, 1994.
- DARVISHI, P.; AYATOLLAHIA, S.; MOWLAA, D.; NIAZID, A. Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium, ERCPP1-2. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, online, v. 84, p. 292–300, 2011.

- DAS, P.; MUKHERJEE, S.; SEN, R. Biosurfactant of marine origin exhibiting heavy metal remediation properties. **Bioresource Technology**, online, v. 100, p. 4887-4890, 2009.
- DASTGHEIB, S.M.M.; AMOOZEGAR, M.A.; ELAHI, E.; ASAD, S.; BANAT, I.M. Bioemulsifier production by a halothermophilic *Bacillus* strain with potential applications in microbially enhanced oil recovery, **Biotechnology Letters**, online, v. 30, p. 263–270, 2008.
- DUBEY, K.; JUWARKAR, A. Distillery and curd whey wastes as viable alternative sources for biosurfactant production. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, online, v. 17, p. 61–9, 2001.
- FELIX, A.K.N. **Caracterização e estudo da aplicabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* LAMI005 a partir do suco de caju**. 2012. 103p. Dissertação. (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2012.
- GARTSHORE, J.; LIM, Y.C.; COOPER, D.G. Quantitative Analysis of Biosurfactants Using Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. **Biotechnology Letters**, online, v. 22, p. 169–172, 2000.
- GEORGIU, G.; LIN, S.C.; SHARMA, M.M. Surface-Active Compounds from Microorganisms. **Biotechnology**, online, v. 10, p. 60-65, 1992.
- GHANNAN, M. T. Water-in-crude oil emulsion stability investigation. **Petroleum Science and Technology**, online, v. 23, p. 649-667, 2005.
- GOUVEIA, E.R.; LIMA, D.P.A.; DUARTE, M.S.; LIMA, G.M.S.; ARAÚJO, J.M.; Bactérias produtoras de biossurfactantes. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, p. 39-45, 2003.
- GUIBAL, E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: A Review. **Separation Purification Technology**, online, v. 38, p. 43-74, 2004.
- HABA, E.; ESPUNY, M.J.; BUSQUETS, M.; MANRESA, A. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. **Journal of Applied Microbiology**, online, v. 88, p. 379–87, 2000.
- HASHIM, M.A.; MUKHOPADHYAY, S.; SAHU, J.N.; SENGUPTA, B. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. **Journal of Environmental Management**, online, v. 92, p. 2355-2388, 2011.
- HENKEL, M.; MÜLLER, M.M.; KÜGLER, J.H.; LOVAGLIO, R.B.; CONTIERO, J.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. Rhamnolipids as biosurfactants from renewable resources: Concepts for next-generation rhamnolipid production. **Process Biochemistry**, online, v. 47, p. 1207–1219, 2012.
- HONG, K.J.; TOKUNAGA, S.; KAJIUCHI, T. Evaluation of remediation process with plant-derived biosurfactant for recovery of heavy metals from contaminated soils. **Chemosphere**, online, v. 49, p. 379-387, 2002.
- IIDA, P.H.; SCHEER, A.P.; WEINSCHUTZ, R.; SANTOS, B.M. Estudo do efeito da água em emulsões de petróleo. IV Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás - 4º PDPETRO, **Anais...** Campinas, SP. 21-24 de Outubro de 2007.
- KJELLIN, M.; JOHANSSON, I. Surfactants from renewable resources. John Wiley & Sons, Ltd. 2010. 343p. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/45873333/69/Saponins-as-Emulsi%EF%AC%81ers-and-Surfactants>> Acesso em 24 jul. 2013.

KRONEMBERGER, F.A. **Produção de ramnolipídeos por *Pseudomonas aeruginosa* PA1 em biorreator com oxigenação por contactor de membranas.** 2007. 153p. Tese (Programa de Pós-Graduação de Engenharia). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2007.

LANG, S. Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 7, p. 12-20, 2002.

LIMA, T.M.S. **Determinação estrutural, toxicidade, biodegradabilidade e eficácia de biosurfactantes na remoção de fenantreno e cádmio do solo.** 2008. 172p. Tese (Programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2008.

MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. An update on the use of unconventional substrates for the Biosurfactant production and their new applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, online, v. 58, p. 428-434, 2002.

MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. Biosurfactant production by a thermophilic *Bacillus subtilis* strain. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, online, v. 18, p. 37-42, 1997.

MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. Structural characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* at 45°C. **Journal of Surfactants and Detergents**, online, v. 2, p. 367-372, 1999.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 87-93, 2001.

MARTINS, V.G.; KALIL, S.J.; COSTA, J.A.V. Co-produção de lipase e biosurfactante em estado sólido para utilização em biorremediação de óleos vegetais e hidrocarbonetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 1942-1947, 2008.

MERCADE, M.E.; MANRESA M.A.; ROBERT, M.; ESPUNY, M.J.; DEANDRES, C.; GUINEA, J. Olive oil mill effluent (OOME) – new substrate for biosurfactant production. **Bioresource Technology**, online, v. 43, p. 1-6, 1993.

MESQUITA, A.C. **Uso das Técnicas de Oxidação Química e Biodegradação na Remoção de Alguns Componentes Recalcitrantes.** 2004. 158 p. Tese (Programa de pós-graduação em Ciências de Engenharia Civil), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2004.

MILLER, R.M. Biosurfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils. **Environmental Health Perspectives**, online, v. 103, p. 59–62, 1995.

MILLIOLI, V.S. **Avaliação da potencialidade da utilização de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo.** 2009. 200 p. Tese (Programa de pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.

MORIKAWA, M.; HIRATA, Y.; IMANAKA, T. A Study on the Structure - Function Relationship of Lipopeptide Biosurfactants. **Biochimica et Biophysica Acta**, online, v. 1488, p. 211-218, 2000.

MULLIGAN, C.; GIBBS, B. Factors influencing the economics of biosurfactants. In: Kosaric, N. (ed.). **Biosurfactants: production–properties–applications**, vol. 48. NY: Marcel Dekker Inc.; 1993. p. 329–71.

MULLIGAN, C.N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, online, v. 133, p. 183-198, 2005.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N.; GIBBS, B.F. Heavy metal removal from sediments by biosurfactants. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 85, p. 111-125, 2001.

MULLIGAN, C.N.; WANG, S. Remediation of a heavy metal-contaminated soil by a rhamnolipid foam. **Engineering Geology**, online, v. 85, p. 75-81, 2006.

NAKANO, N.M.; ZUBER, P. Anaerobic Growth of a "Strict Aerobe" (*Bacillus subtilis*). **Annual Review of Microbiology**, online, v. 52, p. 165–190, 1998.

NITSCHKE, M.; FERRAZ, C.; PASTORE, G.M. Selection of Microorganisms for Biosurfactant Production Using Agroindustrial Wastes. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, p. 81-85, 2004.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. Biosurfactantes: Propriedades e Aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 772-776, 2002.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. **Bioresource Technology**, online, v. 97, p. 336-341, 2006.

OHNO, A.; ANO, T.; SHODA, M. Production of a lipopeptide antibiotic surfactin with recombinant *Bacillus subtilis*, **Biotechnology Letters**, online, v. 14, p. 1165–1168, 1992.

OLESZEK, W.; HAMED, A. Saponin-Based Surfactants. In: KJELLIN, M.; JOHANSSON, I. (Ed.) **Surfactants from renewable resources**. John Wiley & Sons, Ltda. p. 239-250. 2010.

OLIVEIRA, D.W.F.; FRANÇA, I.W.L.; FÉLIX, A.K.N.; MARTINS, J.J.L.; GIRO, M.E.G.; MELO, V.M.M.; GONÇALVES, L.R.B. Kinetic study of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* LAMI005 grown in clarified cashew apple juice. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, online, v. 101, p. 34-43, 2013.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, R.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, online, v. 6, p. 153-162, 2000.

PARREIRA, A.G. **Produção de biossurfactantes e recuperação de óleo pesado em meios porosos não-consolidados**. 2009. 98p. Tese (Programa de pós-graduação em Microbiologia agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2009.

PINTO, P.H.M. **Tratamento da manipueira de feccularia em biodigestor anaeróbio para a disposição em corpo receptor, rede pública ou uso em fertirrigação**. 2008. 101p. Dissertação (Programa de pós-graduação em Energia na Agricultura), Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2008.

PINTO, P.H.M.; CABELLO, C. Tratamento de efluentes líquidos de feccularia em biodigestores anaeróbios de fluxo ascendente. **Revista raízes e amidos tropicais**, Botucatu, v. 3, p. 1-4, 2007.

PIRON, E.; DOMARD, A. Interaction between chitosan and uranyl ions Part 1. Role of physicochemical parameters. **International Journal Biological Macromolecules**, online, v. 21, p. 327-335, 1997.

PIRON, E.; DOMARD, A. Interaction between chitosan and uranyl ions. Part 2. Mechanism of interaction. **International Journal Biological Macromolecules**, online, v. 22, p. 33-40, 1998.

PONTE, J.J. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. Fundação Cargill. v. 4, p. 80-93, 2001.

RASHEDI, H.; JAMSHIDI, E.; ASSADI, M.M.; BONAKDARPOUR, B. Biosurfactant production with glucose as a carbon source. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, online, v. 20:99–106, 2006

RODRIGUES, L.R.; BANAT, I.M.; TEIXEIRA, J.A.; OLIVEIRA, J. R. Biosurfactants: Potential applications in medicine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, online, v. 57, p. 609-618, 2006.

ROSSMANN, M. **Otimização da Produção e Propriedades tensoativas de biosurfactantes em meios à base de melão e manipueira**. 2008. 112f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2008.

SANTOS, F.P.B. dos. **Produção de Biosurfactante por *Pseudomonas aeruginosa* EQ109 a Partir de Glicerol**. 2011. 122f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2011.

SARUBBO, L.A.; LUNA, J.M.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Production and stability studies of the bioemulsifier Obtained from a New Strain of *Candida glabrata* UCP 1002. **Eletronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, v. 9, p. 400-406, 2006.

SATPUTE, S.K.; BANAT, I.M.; DHAKEPHALKAR, P.K.; BANPURKAR, A.G.; CHOPADEV, B.A. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms, **Biotechnology Advances**, online, v. 28, p. 436-450, 2010.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Análise da conjuntura agropecuária safra 2008/2009. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Departamento de Economia Rural**. p. 318, 2008.

SEYDLOVÁ, G.; ČABALA, R.; SVOBODOVÁ, J. Surfactin – Novel Solutions for Global Issues. In: Olsztyńska, S. (Ed.). **Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies**. InTech, p.305-330. 2011. ISBN 978-953-307-514-3. Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/12830/InTech-Surfactin_novel_solutions_for_global_issues.pdf>. Acesso em 27 out. 2013.

SEYDLOVÁ, G.; SVOBODOVÁ, J. Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications, **Central European Journal of Medicine**, online, v. 3, p. 123–133, 2008.

SHALIGRAM, N.S.; SINGHAL, R.S. Surfactin - A Review on Biosynthesis, Fermentation, Purification and Applications. **Food Technology and Biotechnology**, online, v. 48, p. 119-134, 2010.

SIGMA-ALDRICH. **Ficha de informações de segurança de produtos químicos - Versão 5.1** Data de revisão 30.11.2011. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=BR&language=pt&productNumber=S3523&brand=SIGMA&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Fsigma%2Fs3523%3Flang%3Dpt>> Acesso em 24 jul. 2013.

SILVA, M.T.S. da. **Produção e concentração integrada de surfactina a partir de *Bacillus sp itp-001* em fracionamento com espuma em semi-batelada.** 2013. 79p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processo), Universidade Tiradentes, Aracaju. 2013.

SILVERSTEIN, R.M; WEBSTER, F.X. **Spectrometric identification of organic compounds.** 7ed. LTC, Rio de Janeiro, Brasil. 490 p. 2007.

SLIVINSKI, C. **Produção de surfactina por *Bacillus pumilus* UFPEDA 448 em fermentação em estado sólido utilizando bagaço de cana e okara como substrato.** 2021. 143 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências – Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2012.

SLIVINSKI, C.T.; MALLMANN, E.; ARAÚJO, J.M.; MITCHELL, D.A.; KRIEGER, N. Production of surfactin by *Bacillus pumilus* UFPEDA 448 in solid-state fermentation using a medium based on okara with sugarcane bagasse as a bulking agent. **Process Biochemistry**, online, v. 47, p. 1848-1855, 2012.

SOMOGYI, M. A new reagent for determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, online, v. 160, p. 61-68, 1945.

TEIXEIRA, M.L. **Purificação e caracterização de um peptídeo antimicrobiano produzido por *Bacillus liqueniformis*.** 2007. 80p. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.

VALDMAN, E.; LEITE, S.G.; CALDAS, S.M. Effect of biosurfactant concentration on cadmium biosorption by *Serratia sp* isolated from tropical soil. In: **Proceedings of XIII International Conference on Heavy Metals in the Environment**, Rio de Janeiro, Brasil, 2005.

VAZ, D.A.; GUDIÑA, E.J.; ALAMEDA, E.J.; TEIXEIRA, J.A.; RODRIGUES, L.R. Performance of a biosurfactant produced by a *Bacillus subtilis* strain isolated from crude oil samples as compared to commercial chemical surfactants. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, online, v. 89, p.167-174, 2012.

VIEIRA, R.S. **Adsorção competitiva dos íons cobre e mercúrio em membranas de quitosana natural e reticulada.** 2008.162p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

WANG, S.; MULLIGAN, C.N. Rhamnolipid biosurfactant-enhanced soil flushing for the removal of arsenic and heavy metals from mine tailings. **Process Biochemistry**, online, v. 44, p. 296-301, 2009.

ZERAIK, A.E. **Biossurfactantes como agentes inibidores da adesão de patógenos em superfícies de poliestireno.** 2009. 135p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade de São Paulo, São Carlos. 2009.

CAPÍTULO 3 – REMOÇÃO DE METAIS PESADOS COM BIOSURFACTANTE PELO MÉTODO DE LAVAGEM DO SOLO

RESUMO

A poluição do solo por metais pesados é um problema existente ao longo de todo o mundo e é uma preocupação crescente devido aos riscos de saúde para as pessoas e animais. Embora tenha havido um substancial progresso na redução de emissões industriais, a poluição por metais tóxicos ainda ocorre a partir de inúmeras atividades, como processos industriais, metalúrgicos e a própria agricultura. Cobre, chumbo e zinco são metais listados pela Agência Nacional de Proteção Ambiental dos Estados Unidos como poluentes perigosos e prioritários. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de uso de um biosurfactante na remediação de solos contaminados por metais pesados. Para isto, foram adotados os procedimentos de lavagem do solo, tanto pelo método “soil flushing” quanto “soil washing”. Foram avaliados solos de origens distintas e contaminados pelos elementos cobre, zinco e chumbo, tanto em sistema monometálico quanto multimetálico. O biosurfactante utilizado trata-se de composto resultante do processo de produção biotecnológico da manipueira pela ação das bactérias *Bacillus subtilis* e caracterizado como do tipo surfactina. O primeiro planejamento foi feito por meio do delineamento composto central rotacional (DCCR) com planejamento fatorial 2^2 . As variáveis independentes foram pH (3,6; 4,0; 5,0; 6,0 e 6,4) e concentração do biosurfactante (7; 12; 24; 36 e 41 mg L⁻¹) e como variáveis resposta obtiveram-se as remoções (%) dos metais. Em seguida foram realizados novos planejamentos experimentais tendo como variável apenas a concentração do biosurfactante (pH constante igual a 6,5), porém ampliou-se a faixa de avaliação de 0 a 1000 mg L⁻¹. Os resultados foram analisados estatisticamente por ANOVA, sendo as médias comparadas pelo Teste de Tukey (5% de significância) e análises de regressão linear, quando avaliada as diferentes doses. Também foram conduzidos experimentos em coluna visando avaliar o método de lavagem “soil flushing”. Após as diferentes condições experimentais de lavagem do solo, foram realizadas também análises de extração sequencial com o objetivo de verificar de quais frações do solo o biosurfactante era capaz de atuar. Os experimentos mostraram que, embora tenha ocorrido remoção dos metais do solo, o biosurfactante não apresentou ação significativa na remoção, pois a lavagem apenas com água pura apresentou resultados semelhantes. Este comportamento foi atribuído à ocorrência de adsorção do biosurfactante ao solo, fenômeno este confirmado por meio de análises em cromatografia líquida de alta eficiência. No solo argiloso contaminado com os três metais concomitantemente, as concentrações acima de 100 mg L⁻¹ mostraram, inclusive, queda na remoção, ou seja, o biosurfactante em altas doses foi capaz de dificultar a remoção dos metais neste solo. Além disso, foi possível concluir que a eficiência do método de lavagem depende das características do solo, do tipo de metal e se estes estão presentes em condições competitivas ou não no solo. De modo geral, a sequência de remoção dos metais seguiu a seguinte ordem: Zn > Cu > Pb, e em condições competitivas a remoção é sempre maior. O tipo de solo também é condição que deve sempre ser avaliada, pois em solos arenosos a remoção do metal é maior do que em solos argilosos e com matéria orgânica.

PALAVRAS-CHAVE: zinco, cobre, chumbo, surfactina, remediação.

REMOVAL OF HEAVY METALS BY SOIL WASHING WITH BIOSURFACTANT

ABSTRACT

Soil pollution by heavy metals is a problem that exists throughout the world and is a growing concern due to health risks to humans and animals. Although there has been substantial progress in reducing industrial emissions, pollution by toxic metals still occurs from numerous activities, such as industrial processes, metallurgy and agriculture. Copper, lead and zinc are elements listed by the National Environmental Protection Agency of the United States as dangerous and priority pollutants. The aim of this study was to evaluate the potential use of a biosurfactant on the remediation of soils contaminated by heavy metals. Thus, two soil washing procedures were adopted, "soil flushing" and "soil washing". Soils of different origins were evaluated and contaminated by copper, zinc and lead, both in monometallic as multimetallic system. The biosurfactant used is resulting from the fermentation process of cassava water by *Bacillus subtilis* and it is characterized as the type surfactin. The first design was done by the central composite rotational design with 2^2 factorial design. The independent variables were pH (3.6, 4.0, 5.0, 6.0 and 6.4) and concentration of the biosurfactant (7, 12, 24, 36 and 41 mg L⁻¹) and the removal (%) of metals was considered as response variables. Then new experimental designs having as variable only the biosurfactant concentration were performed, but amplified the range of evaluation from 0 to 1000 mg L⁻¹. The results were statistically analyzed by ANOVA and the means were compared by Tukey test (5% significance) and linear regression analyzes when evaluating different doses. Experiments were also conducted to evaluate the column washing method with "soil flushing". The experiments showed that, although there was removal of metals from the soil, the biosurfactant showed no significant action on the removal since washing only with pure water showed similar results. This behavior was attributed to the occurrence of adsorption of the biosurfactant to the soil, a phenomenon confirmed by analyzes of high efficiency liquid chromatography. In the clay soil contaminated with the three metals concomitantly, concentrations of biosurfactants above 100 mg L⁻¹ showed a reduction in the removal, i.e., the biosurfactant in high doses was able to impede the removal of the metals in the soil. In addition, it was concluded that the efficiency of the washing method depends on the characteristics of the soil, the type of metal and if they are present or not in competitive soil conditions. In general, the sequence of removal of metals followed the order: Zn > Cu > Pb and in competitive conditions the removal is always higher. The soil type is also a condition which must always be evaluated, cause in sandy soils the removal of metal is higher than in clay soils and with organic matter.

KEY WORDS: zinc, copper, lead, surfactin, remediation.

3.1 INTRODUÇÃO

A poluição do solo geralmente é consequência da atividade humana e transformou-se em grande problema porque nas últimas décadas têm sido geradas, no mundo todo, milhões de toneladas de resíduos contendo altas concentrações de substâncias indesejáveis.

Entre os contaminantes, destacam-se os metais pesados. Concentrações elevadas de metais pesados podem afetar a sustentabilidade dos ecossistemas (solo, águas superficiais e subterrâneas, ar, fauna e vegetação) e também a saúde dos seres humanos, pois são cumulativos no organismo humano e de animais. Devido à deposição em locais inadequados, bem como a técnicas ineficientes de manejo desses resíduos, tem-se hoje, inúmeros locais contaminados com metais pesados, os quais requerem técnicas adequadas para descontaminação.

O solo, por ser um importante compartimento do ambiente com capacidade de acumular esses metais, apresenta grande risco de contaminação, uma vez que se o seu poder tampão for excedido, as águas subterrâneas e a biosfera passam a ter riscos mediante à transferência dos poluentes (AMARAL SOBRINHO et al., 2009).

Visto que os metais pesados, mesmo em baixas concentrações, podem tornar-se tóxicos para os seres vivos, pesquisas vêm sendo realizadas a fim de encontrar meios de remediar ambientes poluídos, que sejam eficientes, de custos financeiros baixos e rápidos. Devido a estes fatores limitadores, dentre os quais o custo do tratamento é o mais significativo, tem-se como resultado inúmeras áreas abandonadas.

Nos últimos anos, a lavagem do solo com surfactante tem sido apresentada como um método promissor de remediação com pequeno ou nenhum efeito sobre as características físico-químicas e microbiológicas do solo; porém, os custos de obtenção deste biosurfactante ainda são altos, pois a maioria dos fabricantes utiliza meios artificiais para sua obtenção. Perante esta problemática, a utilização de resíduos agroindustriais como substrato para produção desses biosurfactantes tem sido uma tendência.

O resíduo líquido do processamento da mandioca para a obtenção da farinha, a manipueira, tem sido utilizada como substrato, com grande sucesso para a produção de surfactina, biosurfactante do tipo lipopeptídico (BARROS et al., 2008). Este material é resultado do metabolismo de bactérias do gênero *Bacillus*, especialmente *Bacillus subtilis*.

Os surfactantes são compostos com propriedades tensoativas que possuem grupos hidrofílicos e hidrofóbicos. Em decorrência de sua natureza anfifílica, são compostos caracterizados pela capacidade de alterar as propriedades interfaciais de um líquido. Outra propriedade dos surfactantes é a capacidade de formarem, em meio aquoso, agregados denominados micelas. Os biosurfactantes apresentam vantagens sobre os surfactantes sintéticos, como baixa toxicidade, biodegradabilidade, possibilidade de produção a partir de

substratos renováveis e efetividade em uma ampla faixa de temperatura, pH e salinidade (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Esse capítulo trata, em especial, da aplicação deste biossurfactante em solos contaminados com metais pesados, visando à remediação destes. Serão apresentadas as diversas dificuldades no desempenho da remediação, visto que cada biossurfactante apresenta características distintas e a interação com solos brasileiros não é a mesma que em solos do hemisfério norte, nos quais a ampla revisão bibliográfica mostrou tratar-se dos locais mais pesquisados com a aplicação desta técnica de remediação.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial do biossurfactante produzido a partir de resíduo agroindustrial na remediação de solos contaminados por metais pesados.

3.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência do pH e concentração da solução de biossurfactante na eficiência de remoção dos metais;
- Determinar o percentual de remoção dos metais Cu, Zn e Pb após os ensaios de dessorção com biossurfactante;
- Verificar o comportamento de dessorção dos metais quando em sistema metálico competitivo e não-competitivo;
- Comparar o desempenho de dessorção dos metais entre solos com diferentes composições química, granulométrica e mineralógica;
- Verificar a influência do aumento do pH do solo na remoção dos metais pesados;
- Avaliar a adsorção do biossurfactante ao solo;
- Avaliar o efeito da aplicação de biossurfactante na lixiviação de Cu, Zn e Pb em solo argiloso por meio da realização de testes em coluna de solo;
- Fracionar os metais pesados presentes nos solos após os ensaios de dessorção com biossurfactante para identificar sob quais frações do solo o biossurfactante foi capaz de atuar.

3.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.3.1 Contaminação do solo por metais pesados

Os metais pesados compreendem 40 elementos com densidade superior a 5 g cm^{-3} . Estes metais representam um grupo de poluentes que requer tratamento especial, pois não são degradados biologicamente ou quimicamente (HONG et al., 2002; SINGH; CAMEOTRA, 2004). Podem acumular-se no solo e tornarem-se ainda mais perigosos quando interagem com alguns componentes do solo (PIERANGELI et al., 2004; AMARAL SOBRINHO et al., 2009). Alguns são considerados essenciais do ponto de vista biológico, enquanto outros não o são. Entretanto, mesmo aqueles essenciais podem, sob condições específicas, causar impactos negativos a ecossistemas terrestres e aquáticos, constituindo-se assim, em contaminantes ou poluentes de solo e água (GUILHERME et al., 2005). Os metais pesados cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) são micronutrientes essenciais para plantas, porém, em excesso são tóxicos, como os metais pesados não-essenciais cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb). Outro micronutriente essencial ao metabolismo das plantas é o níquel (Ni), pois tem um importante papel na assimilação do nitrogênio (N), uma vez que interfere na atividade e estrutura da urease das plantas (DUARTE et al., 2007).

Resíduos de metais são produzidos por numerosas atividades industriais, tais como mineração, produção de baterias automobilísticas, emissão de veículos, desperdício industrial, cinzas dispersas nos processos de incineração, aparelhos eletrônicos e outras manufaturas como pinturas, tubulações metálicas e munição (HONG et al., 2002; SINGH; CAMEOTRA, 2004; BRAUD et al., 2006). Além destas fontes industriais, a contaminação do solo pode também ser resultado da aplicação de resíduos urbanos e industriais e do uso de fertilizantes e pesticidas na agricultura (SUN et al., 2001; MELO et al., 2008; TORRES et al., 2012).

A preocupação com o teor de metais pesados advém da capacidade de sua retenção pelo solo, da sua movimentação ao longo do perfil, da possibilidade de atingirem o nível hidrostático e, sobretudo, da sua absorção pelas plantas, podendo atingir, assim, a cadeia alimentar (ALLOWAY, 1990; PIERANGELI et al., 2004; SATYAWALI et al., 2011).

Estudos de mobilidade de metais pesados no solo têm demonstrado que as espécies Pb, Cr e Cu apresentam baixa mobilidade, acumulando-se superficialmente nos solos contaminados, enquanto que Zn, Mn, Ni e principalmente Cd são relativamente mais móveis, apresentando maior risco de contaminação da água subterrânea (WELCH; LUND, 1989). A mobilidade dos metais é geralmente maior em solos arenosos e ácidos, com baixa capacidade de troca catiônica (CTC) e com baixo teor de matéria orgânica e de argila (HASHIM et al., 2011).

Uma determinada área é considerada contaminada se, entre outros fatores, as concentrações de elementos ou substâncias de interesse ambiental estão acima de um

dados limite denominado valor de intervenção. Acima desse limite, há um risco potencial de efeito deletério sobre a saúde humana, havendo necessidade de uma ação imediata na área (ZEITOUNI et al., 2007). Concentrações elevadas de metais no solo podem afetar a produtividade, a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas, constituindo risco para a saúde de seres humanos e animais (SUN et al., 2001; MELO et al., 2008). Cd, Cu, Pb, Hg, Ni e Zn são considerados os metais pesados mais perigosos e estão incluídos na lista da Agência Norte Americana de Proteção Ambiental (USEPA) como poluentes prioritários (USEPA, 2002).

Recentemente, no ano de 2009, foi editada e publicada, pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), a resolução CONAMA nº 420/09 (BRASIL, 2009) que trata sobre os valores orientadores de metais em solos brasileiros. Esta determina valores de prevenção e intervenção para zonas agrícola, residencial e industrial. Desta forma, esta resolução torna-se guia para a avaliação de áreas contaminadas, facilitando o seu diagnóstico. Os valores estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 Valores orientadores de metais pesados em solos de acordo com a Resolução CONAMA nº 420/2009.

| Metal | Prevenção | Investigação | | |
|---------------------|-----------|--------------|-------------|------------|
| | | Agrícola | Residencial | Industrial |
| mg kg ⁻¹ | | | | |
| Cádmio | 1,3 | 3 | 8 | 20 |
| Cromo | 75 | 150 | 300 | 400 |
| Chumbo | 72 | 180 | 300 | 900 |
| Cobre | 60 | 200 | 400 | 600 |
| Zinco | 300 | 450 | 1000 | 2000 |
| Níquel | 30 | 70 | 100 | 130 |

Fonte: adaptado de BRASIL (2009)

O teor de Pb no solo, principalmente no horizonte superficial, é muito influenciado por atividades antropogênicas e pelo transporte do metal através do ar, oriundo de várias fontes (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

O Pb pode interferir em diversas partes do metabolismo e causar intoxicações, como o saturnismo ou plumbismo, decréscimo na capacidade de aprendizado e desenvolvimento neurológico em crianças (MOREIRA; MOREIRA, 2004; GUILHERME; MARCHI, 2005). Nos dias atuais, o principal uso do Pb é na fabricação de baterias de chumbo-ácido, utilizadas em veículos automotivos. O efeito dos resíduos de Pb derivado da produção e da reciclagem de baterias sobre o ambiente pode ser ocupacional, devido à contaminação do interior da fábrica, e ambiental, pela emissão de efluentes para regiões externas à fábrica, constituindo-se riscos de contaminação de Pb e outros metais associados para o solo e para

o homem (MATTOS et al., 2003).

Cd é um elemento não-essencial nos processos metabólicos em plantas e animais e pode se acumular em níveis que são tóxicos para os organismos (SHENG et al., 2008). Mesmo o teor de 1 a 10 ppm de Cd afeta o desenvolvimento das plantas e sua fitotoxidez inibe a fotossíntese, perturba a respiração e a fixação de CO₂ e altera a permeabilidade das membranas (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Uma simples exposição a elevadas concentrações de óxido de Cd pode causar graves irritações pulmonares ou mesmo a morte (LEMOS et al., 2008).

O Cr se encontra no meio ambiente nos números de oxidação: cromo (0), cromo (III) e cromo (VI). O cromo (III) apresenta ocorrência natural no meio ambiente, enquanto o cromo (0) e o cromo (VI) são gerados por alguma atividade industrial. O Cr na forma trivalente é considerado essencial para a nutrição humana em limites de concentração toleráveis. Por outro lado, o Cr hexavalente apresenta solubilidade e mobilidade grandes e características tóxicas e mutagênicas para os animais superiores, plantas e micro-organismos. Os principais sintomas observados pela exposição aguda do Cr no organismo humano são: diarreia, danos ao fígado e aos rins, hemorragias internas, bronquite, rinite e pneumonia (CARDOSO et al., 2004). Compostos formados por Cr são altamente tóxicos e podem causar severos danos às plantas e aos seres humanos (CHEUNG; GU, 2007). O elemento Cr afeta o processo fotossintético dos vegetais levando à diminuição do crescimento e do desenvolvimento (SHANKER et al., 2005).

O elemento Ni quando solúvel na solução do solo é prontamente absorvido pelas raízes e acumula-se nas folhas e nas sementes (MANCILHA, 2007). A fitotoxidez causa clorose e o desenvolvimento das raízes, absorção de nutrientes e o metabolismo são retardados. Elevadas concentrações desse elemento nos tecidos vegetais inibem a fotossíntese e a transpiração (ZEITOUNI, 2003).

O Zn é considerado um elemento essencial para a saúde do ser humano, participando de diversos processos metabólicos; porém, caso presente em excesso, poderá gerar toxicidade gastrointestinal devido a uma constante acumulação deste metal no corpo humano (WALSH et al., 1994). Nas plantas, os maiores teores de Zn são encontrados nas raízes do que nas partes aéreas, porém, em excesso é translocado das raízes e se acumula nas partes aéreas das plantas. Os sintomas da acumulação são clorose em folhas jovens e redução do crescimento (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

O Cu é usado intensivamente como catalisador, branqueador na indústria petrolífera, mordente em tinturaria e agente oxidante em corantes. Apresenta também aplicação como fungicida, na pintura de cascos de navios, de madeira ou aço; como inseticida e aditivo dos solos, para evitar que as deficiências de Cu afetem as colheitas. O metal é utilizado na cunhagem de moedas, fabricação de tubos de canalização e peças decorativas (LEMOS et al., 2008). A ingestão excessiva de compostos como o sulfato de cobre pode causar

vômitos, câibras, convulsões ou mesmo a morte (FONTES et al., 2009).

Os metais podem estar presentes naturalmente no solo e podem ser desorvidos dos solos com a mudança de pH. Em geral, os metais encontram-se mais livres em baixos valores de pH, uma vez que, em condições básicas, os metais ficam menos ionizáveis, e portanto, menos disponíveis (HASHIM et al., 2011; TORRES et al., 2012). Chlopecka *et al.* (1996) observaram que os metais originados de fontes antropogênicas são relativamente mais móveis que os presentes no material de origem dos solos.

A Figura 28 ilustra resumidamente os processos que controlam a solubilidade, disponibilidade e mobilidade de elementos no solo. Esses processos são influenciados por diferentes atributos, sendo o pH, o potencial redox e a complexação por ligantes (orgânicos e inorgânicos) os mais relevantes (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001), pois além de afetarem diretamente a adsorção/dessorção e a precipitação/dissolução (McBRIDE, 1994; PIERANGELI et al., 2001), são também os principais fatores que controlam a especiação dos elementos-traço em solução, afetando, assim, sua reatividade (solubilidade, biodisponibilidade e mobilidade) (ALLEONI et al., 2005; HASHIM et al., 2011).

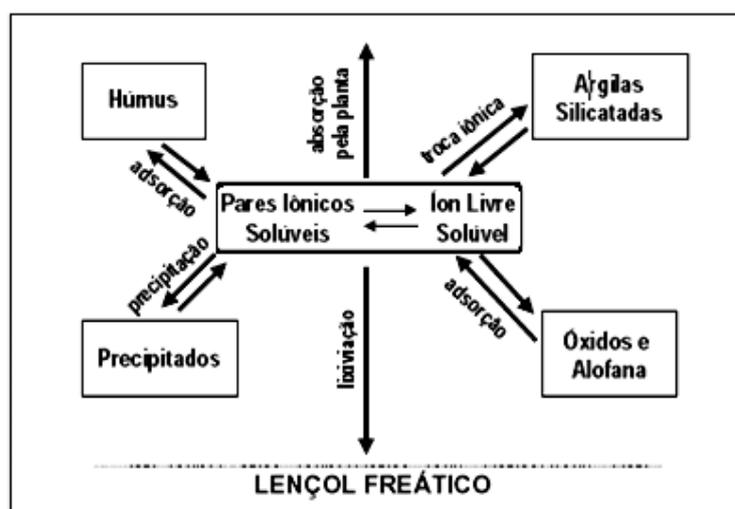


Figura 28 Processos dinâmicos interativos que governam a solubilidade, disponibilidade e mobilidade de elementos nos solos.

Fonte: McBride (1994)

O conhecimento das reações e da cinética envolvidas nesses processos é de vital importância no controle das concentrações de metais pesados e de suas mobilidades nos solos para que se tenha uma boa capacidade preditiva de sua toxicidade para plantas, de sua entrada na cadeia trófica humana e de seu potencial de contaminação de aquíferos, rios, lagos e mares (ALLOWAY, 1990; ALLEONI et al., 2005; HASHIM et al., 2011).

As reações que ocorrem no solo são influenciadas por diversos fatores, como tipo de solo, clima, cultura, teor de matéria orgânica e forma química dos elementos (COOKER; MATTHEWS, 1983; HASHIM et al., 2011). Dentre as propriedades do solo que influenciam as reações dos metais e sua mobilidade incluem-se a superfície específica, a textura, a

temperatura, o pH, o potencial redox, a CTC, a quantidade de matéria orgânica, a quantidade e o tipo de minerais de argila, o tipo e a quantidade de metais e a competição iônica (MATOS et al., 1996; HASHIM et al., 2011).

3.3.2 Técnicas de remediação do solo

Em vista dos males que o excesso de alguns metais podem ocasionar, solos contaminados por metais pesados exigem ação remediadora que diminua os teores desses poluentes em níveis ambientalmente seguros (MELO et al., 2006; ROMEIRO et al., 2007).

Diversas são as tecnologias disponíveis atualmente para a descontaminação de solos e águas. Todas apresentam vantagens e limitações, além de eficiência variável em função das características do meio e do poluente. Frequentemente, mais de uma tecnologia precisa ser utilizada para uma descontaminação efetiva. Além disso, os custos envolvidos são geralmente elevados. A escolha da técnica dependerá de uma série de fatores relacionados com a utilização futura prevista das áreas alvo de remediação, quer para atividades industriais ou de uso público, e em considerações técnicas, bem como econômicas e legais (CICCU et al., 2003). Dependem também de vários fatores, como tipo, concentração do poluente e suas características, como solubilidade, biodegradabilidade e volatilidade, assim como das características próprias do solo (DAHRAZMA; MULLIGAN, 2007).

Os tratamentos são basicamente de dois tipos: 1) “ex situ”, realizado fora do local onde ocorreu a contaminação e, por isso, é um tratamento que requer a escavação e a remoção do solo contaminado para outro local. A adoção deste procedimento pode resultar em um aumento considerável do custo do processo, porém, não obstante a essa desvantagem, é possível controlar, com maior facilidade, as condicionantes do meio, que são consideradas os fatores-chave utilizados no tratamento dos solos; 2) “in situ”, tratamento feito no próprio local da contaminação. Normalmente, essa opção de remediação torna o processo mais atrativo e economicamente viável, quando comparado ao tratamento citado anteriormente. Além disso, o tratamento “in situ”, normalmente, acarreta em menores impactos ambientais advindos da remediação da área contaminada (TAVARES, 2009; ANDRADE et al., 2010).

A seguir serão apresentados os métodos mais utilizados de remediação de solo contaminado por metais pesados.

A solidificação/estabilização refere-se a um grupo de métodos de remediação de áreas contaminadas, os quais previnem ou diminuem a liberação de elementos-traço tóxicos de solos ou resíduos contaminados. A tecnologia de solidificação é uma encapsulação física do contaminante em uma matriz sólida e é mais utilizada para tratamento “ex situ”, o que a torna uma tecnologia mais onerosa. Monômeros líquidos que polimerizam, tais como betume, cinzas e cimento são injetados para encapsular o solo. A estabilização, por outro

lado, inclui a indução de reações químicas para reduzir a mobilidade ou toxicidade do contaminante. Entre os aditivos possíveis de serem utilizados, os mais pesquisados são zéolitas, beringita, hidroxiapatita e calcário. A aplicação dessa tecnologia “in situ” é mais viável em solos rasos. Entretanto, o uso das técnicas de solidificação/estabilização tem que ser avaliado com cuidado, pois mudanças nas condições ambientais podem levar a remobilização dos metais (CICCU et al., 2003).

A vitrificação é um processo de solidificação/estabilização que requer energia térmica para a fusão do material sólido contaminado. Essa técnica envolve a inserção de eletrodos no solo, o qual precisa ser apto a conduzir uma corrente elétrica e se solidificar. Essa tecnologia resulta na fundição do solo contaminado, a temperaturas de 1600 °C a 2000 °C, o que é suficiente para fundir a grande maioria dos minerais presentes no solo. Os metais são encapsulados dentro da estrutura vítrea de compostos silicatados modificados. É considerado um processo de remediação de alto custo, mas é uma alternativa aplicável ao tratamento de solos contaminados por múltiplos poluentes, tendo sido utilizada em casos onde há poucas alternativas de tratamento disponíveis (MULLIGAN et al., 2001; MOURA, 2006).

A eletrocinética baseia-se na passagem de uma corrente de baixa intensidade entre um cátodo e um ânodo introduzidos no solo contaminado, sendo íons metálicos atraídos pelos eletrodos. Para que o transporte ocorra, é necessário que os íons estejam em solução aquosa. São utilizadas soluções para manter o pH no poço onde estão localizados os eletrodos e assim evita-se a precipitação e os prejuízos à operação do sistema (MOURA, 2006; HASHIM et al., 2011). Teoricamente, metais sob a forma de íons solúveis e ligados ao solo como óxidos, hidróxidos e carbonatos, são passíveis de serem removidos por esta técnica, mesmo em solos argilosos, e tem se mostrado mais eficiente para solos saturados (MULLIGAN et al., 2001).

As técnicas de separação magnética e separação física também podem ser utilizadas. A separação magnética é uma tecnologia que separa e concentra as partículas de acordo com a sua susceptibilidade magnética, o que é feito empregando-se um gradiente de energia magnética (BRUM, 2010). Já a separação física utiliza-se de outras propriedades dos materiais, tais como, densidade, tamanho de partículas, viscosidade, etc. Esta técnica pode ser utilizada em associação com outras, a fim de otimizar a descontaminação do meio. Assim, se o solo requer posterior tratamento para reduzir o teor dos metais, então a separação física pode ser seguida de lavagem ácida, a qual remove pequenas partículas do metal, bem como espécies moleculares ou iônicas ligadas à matriz do solo (BRUM, 2010).

O tratamento químico já é uma tecnologia que envolve, tipicamente, reações de redução/oxidação que, quimicamente, convertem contaminantes perigosos em não perigosos ou em compostos mais estáveis, menos móveis ou inertes. Os agentes oxidantes geralmente usados para o tratamento de contaminantes perigosos são ozônio, peróxido de

hidrogênio, hipocloritos, cloro e dióxido de cloro (BRUM, 2010).

A fitorremediação refere-se ao uso direto de plantas em locais contaminados para remoção ou estabilização dos contaminantes (elementos-traço, pesticidas, solventes orgânicos, etc.). Pode ser dividida em fitoextração, fitotransformação, fitovolatilização, rizofiltração, fitoestimulação/rizodegradação e fitoestabilização (COUTINHO; BARBOSA, 2007). Para a remoção de metais pesados, a técnica mais adequada é a fitoextração ou fitoacumulação, a qual envolve o cultivo de plantas que absorvem os metais pelas raízes e posteriormente fazem a translocação para a parte aérea das plantas (KRÄMER, 2005; NASCIMENTO; XING, 2006). Certas plantas, chamadas hiperacumuladoras, absorvem grandes quantidades de metais em comparação a outras, sem que isto lhes cause prejuízo. Para a remediação de áreas contaminadas, uma ou mais espécies de plantas, de acordo com o metal e condições edafoclimáticas, são selecionadas e cultivadas na área. Depois de algum tempo, elas são colhidas e incineradas. Esse processo é repetido até que o local seja descontaminado. Deve-se ter em mente que o resíduo das plantas remediadoras é perigoso e deve ser disposto ou destinado de maneira adequada. Os desafios para esta técnica é ainda sua baixa eficiência e o longo tempo requerido para a descontaminação quando comparado com outros métodos (SHENG et al., 2008; ANDRADE et al., 2009). A maioria das hiperacumuladoras identificadas até o momento não são adequadas para aplicações de fitorremediação em campo devido à sua pequena biomassa e seu crescimento lento (SHEN; LIU, 1998). Além disso, a baixa biodisponibilidade de metais pesados em solos podem também limitar a eficiência da fitorremediação (SHENG et al., 2008). Para o avanço desta técnica ainda são necessárias pesquisas visando aumentar a extração de metal pelas plantas e o melhoramento de espécies de crescimento rápido e adaptadas a várias condições climáticas (COUTINHO; BARBOSA, 2007).

A contenção passiva é outro método que consiste em isolar/conter os contaminantes, de modo a prevenir o seu movimento ou facilitar a sua recuperação. Esta tecnologia envolve o uso de barreiras ou paredes, “in situ”, as quais agem como zonas de tratamento químico. Estas barreiras podem ser verticais ou horizontais, que restringem o movimento descendente do contaminante. Vários materiais podem ser usados nas barreiras, tais como calcário, bentonita, lamas, aço, etc (SOARES et al., 2005).

Outro método considerado como remediação de solos, é a “atenuação natural”. O termo tem sido empregado para descrever a remediação passiva de solo, que tem a capacidade em atenuar naturalmente os impactos, por meio de processos biológicos, químicos e físicos, como a biodegradação, a volatilização, a dispersão, a diluição e a adsorção, promovidos na subsuperfície (ANDRADE et al., 2010). Os micro-organismos são capazes de afetar a especiação dos metais, por causa de sua capacidade ativa ou mediadora nos processos de mobilização ou imobilização, que influenciam o equilíbrio das espécies metálicas entre as fases líquida e sólida (GADD, 2004).

Entre os procedimentos de remediação atualmente mais populares, tanto para extrair poluentes orgânicos persistentes (POPs), quanto metais pesados, é a lavagem do solo. A lavagem do solo é um método que fundamenta-se no princípio tecnológico da transferência de um contaminante do solo para um sequestrador (ou captador) na fase líquida ou gasosa (GUEDES et al., 2010; ANJOS et al., 2010). Água, com ou sem aditivos (ácidos, surfactantes, agentes quelantes, etc.), é empregada para solubilizar os contaminantes (HASHIM et al., 2011; RIVERO-HUGUET; MARSHALL, 2011). O uso de aditivos reduz sensivelmente o tempo necessário para tratamento do local (MULLIGAN et al., 2001). A técnica promove a mobilidade de metais pesados e a migração para a fase líquida por dessorção e solubilização. Esta tecnologia de remediação é vista como uma solução permanente, proporcionando a reutilização destes solos e, assim, uma melhor opção de uso da terra no futuro (HONG et al., 2002).

Existem duas formas de aplicação desta técnica, no próprio local (“in situ”) ou em reatores. A forma “in situ” não é muito aplicada, devido à dificuldade de estabelecer condições operacionais seguras. A lavagem do solo “in situ” ou “soil flushing” consiste na extração dos contaminantes do solo fazendo passar água ou uma solução aquosa adequada através das camadas contaminadas, mediante um processo de injeção ou infiltração. Os contaminantes são arrastados até o lençol freático, procedendo-se, depois, ao bombeamento da água subterrânea e seu respectivo tratamento (ANJOS et al., 2010). O esquema do tratamento de lavagem do solo “in situ” utilizando solução de surfactante pode ser visualizado na Figura 29.

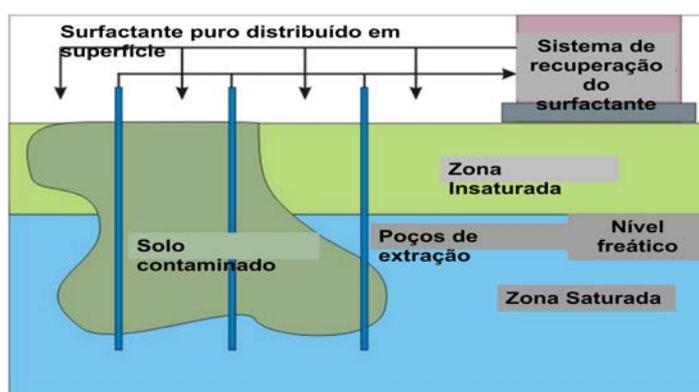


Figura 29 Sistema de lavagem do solo com biossurfactante “in situ”.
Fonte: adaptado de Hashim *et al.* (2011)

A performance de um sistema de lavagem do solo “in situ” depende muito do contato entre a solução de lavagem e o contaminante, bem como da solubilidade do contaminante. Assim, a adequação da solução de limpeza, o coeficiente de adsorção do contaminante e a permeabilidade dos solos são fatores chaves para o sucesso do processo de descontaminação, sendo os melhores resultados alcançados com solos altamente permeáveis.

A alternativa “ex situ” envolve a remoção do solo ou do sedimento contaminado e o seu processamento em uma unidade de tratamento. Esta tecnologia oferece a possibilidade de recuperação de metais e consegue mobilizar uma grande variedade de contaminantes orgânicos e inorgânicos em solos de granulometria grosseira (MOURA, 2006). Rivero-Huguet e Marshall (2011) frisam que a lavagem do solo tem um potencial muito grande, já que pode ser adaptado para massas de solo variáveis e diferentes concentrações de contaminantes, sendo necessário somente alterar a composição do fluído de lavagem do solo.

Após a lavagem, o solo pode retornar à área sob intervenção ou receber outra destinação. A água de lavagem, que contém os íons metálicos, pode ser tratada através de processos físico-químicos tradicionais (precipitação, oxidação) ou de processos mais avançados (por exemplo, membranas), decisão que depende da viabilidade ou não da recuperação dos metais presentes (MOURA, 2006).

Os processos de lavagem de solo com surfactantes apresentam resultados relativamente rápidos e já vêm sendo utilizados há muito tempo. Entretanto, a utilização de biosurfactantes em lavagem de solo é uma prática relativamente nova (MILLIOLI, 2009).

Importante destacar que, de modo geral, cada técnica de tratamento é dependente de vários fatores, a saber: 1) condições físicas, químicas e biológicas do local contaminado; 2) concentração do contaminante; e 3) tempo requerido para a degradação ou a remoção do composto alvo, conforme a técnica empregada. Em todos os processos de tratamento existe uma correlação direta entre o tempo requerido para a remediação da área e o custo total (ANDRADE et al., 2010). Sendo assim, a adoção da técnica deve ser precedida de um estudo criterioso que inclua a previsão da evolução das plumas de contaminação, a metodologia de avaliação de risco e o monitoramento durante o período necessário para que se atinjam as metas de remediação desejáveis (ANDRADE et al., 2010).

3.3.3 Biosurfactantes e remediação de áreas contaminadas

De acordo com Song *et al.* (2008), o aprimoramento da técnica de dessorção do solo/lavagem é uma tecnologia promissora para a remediação dos solos contaminados com potencial aplicabilidade e viabilidade econômica.

Atualmente, muitos trabalhos de lavagem do solo fazem a aplicação de soluções ácidas ou de hidróxidos (HCl, H₂SO₄, HNO₃), bem como de agentes quelantes (como EDTA e ácido cítrico) para remover metais de solos contaminados (MOUTSATOU et al., 2006; JEAN et al., 2007; ZHANG et al., 2007). No entanto, o uso de soluções básicas ou ácidas apresenta inúmeras desvantagens para a lavagem do solo, levando à diminuição da produtividade do solo e a mudanças adversas na estrutura física e química dos solos devido à dissolução de minerais (HONG et al., 2002). Os valores de pH muito altos ou baixos no processo, promovem a dissolução dos metais, incluindo elementos contaminantes e não

contaminantes. Além disso, valores extremos de pH podem afetar outras características do solo como os teores de nutrientes, vida macro e microbiana, substâncias húmicas, etc (TORRES et al., 2012).

Uma solução potencial para a remediação do solo contaminado tanto por petróleo quanto por metal, é o emprego de surfactantes, os quais solubilizam e dispersam os contaminantes, limpando o solo, retornando-o a seu estado original (MULLIGAN et al., 1999a, b; JUWARKAR et al., 2007; ASÇI et al., 2010). A extração química utilizando estes compostos, tanto “in situ” quanto “ex situ”, é vista como um método promissor para remover metais pesados e arsênio de solos contaminados, reduzindo assim o risco ambiental (WANG; MULLIGAN, 2009).

Recentemente, muitos autores têm apresentado o uso da lavagem do solo com biosurfactantes como uma técnica de remediação interessante (MULLIGAN et al., 1999a, b; MULLIGAN et al., 2001; MULLIGAN; WANG, 2006; JUWARKAR et al., 2007; DAS et al., 2009; WANG; MULLIGAN, 2009; ASÇI et al., 2010; TORRES et al., 2012) devido a sua maior compatibilidade ambiental do que os surfactantes químicos/sintéticos (SONG et al., 2008; WAN et al., 2011). Além disso, esta técnica tem sido apresentada como um processo com pequeno ou nenhum efeito sobre as características físico-químicas e microbiológicas do solo (ITURBE et al., 2008).

Produtos como ramnolipídios, surfactina, saponina e soforolipídios têm sido empregados (MULLIGAN et al., 2001; MULLIGAN; WANG, 2006; JUWARKAR et al., 2007; SONG et al., 2008; WANG; MULLIGAN, 2009; ASÇI et al., 2010).

Outra solução biotecnológica descrita por alguns autores seria a adição de células e/ou exopolímeros bacterianos, que também podem remover os metais. Entretanto, o grande tamanho e massa das células bacterianas e dos exopolímeros (massa molecular de aproximadamente 10^6) faria com que os complexos formados metal-célula e metal-exopolímero fossem filtrados pelo solo durante a lavagem (ASÇI et al., 2010). Assim, os biosurfactantes apresentam uma vantagem com relação às células e exopolímeros devido ao seu pequeno tamanho (geralmente massa molecular menor que 1500).

3.3.3.1 Ação dos surfactantes sobre os metais pesados

Os surfactantes, assim como os biosurfactantes são usados para a remoção de metais pesados, porém o mecanismo de remoção ainda não é totalmente elucidado (FRANZETTI et al., 2009; SINGH; TURNER, 2009).

Uma importante característica dos surfactantes é quanto à presença de cargas em suas estruturas. Os surfactantes podem ser classificados como catiônicos, aniônicos ou não-iônicos ou anfóteros (DALVIN, 2011). Esta classificação merece ser destacada, uma vez que os mecanismos de remoção dos metais pelos tipos de surfactantes é fortemente influenciada por estas características (LIMA, 2008). Os surfactantes aniônicos possuem

cargas negativas em seu grupo polar. Os grupos polares mais comuns são: carboxilato, sulfato, sulfonato e fosfato. Estes representam a categoria com maior volume de produção entre as categorias citadas, pois aí estão incluídos os sabões (DALTIM, 2011).

Segundo Ramamurthy *et al.* (2008), os maiores efeitos de mobilização dos metais são observados por surfactantes aniônicos. Os surfactantes aniônicos em soluções aquosas apresentam uma carga superficial, que é balanceada pelos contra-íons devido à condição de eletroneutralidade. A presença de íons metálicos em solução poderá originar uma forte ligação destes metais aos ânions do surfactante (COSTA, 2011). Alguns estudos têm sido realizados para comprovar a interação entre íons de Al e Cr trivalentes com surfactantes aniônicos convencionais (GHIACI, 2004; PEREIRA *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2010; COSTA, 2011).

De acordo com Asçi *et al.* (2008), biossurfactantes do tipo aniônico, por possuírem carga negativa, formam ligações iônicas com os metais de natureza mais forte do que a ligação do metal com o solo. Algumas pesquisas têm mostrado que íons metálicos, tais como Pb e Cd, têm maior afinidade pelo ramnolipídio (aniônico) do que pelos componentes do solo aos quais estavam ligados (FRAZER, 2000). Entretanto, este mesmo autor afirma que o tipo de solo e a presença de vários componentes, tais como argilas e óxidos de ferro, exercem um papel importante no desempenho de remoção dos íons metálicos pela ação do biossurfactante do tipo ramnolipídio.

Os metais de valência elevada em soluções aquosas são suscetíveis de sofrer hidrólise, e a interação com o surfactante irá depender da capacidade do íon metálico substituir as moléculas de água por moléculas do surfactante (COSTA, 2011). Sendo assim, o uso de surfactantes aniônicos podem levar à dessorção do metal da superfície. A combinação metal-biossurfactante precisa então ser recuperada da matriz do solo (CHRISTOFI; IVSHINA, 2002).

A solubilização é o caminho para aumentar a solubilidade de uma substância insolúvel ou fracamente solúvel num determinado meio. Este fenômeno pode envolver a presença de moléculas de surfactante que tenham a capacidade de incorporar totalmente a substância insolúvel nas suas micelas (TESTARD; ZEMB, 2002). Os biossurfactantes reduzem a tensão interfacial entre fluidos imiscíveis ou entre um fluido e um sólido, o que faz com que aumente a área superficial de compostos insolúveis, levando a um aumento da sua mobilidade, biodisponibilidade e conseqüente biodegradação (RHAMAN *et al.*, 2003). Assim, o surfactante, diminuindo a tensão superficial da água (solução do solo), faz com que os metais pesados fiquem mais disponíveis para a remediação em solos contaminados (RON; ROSENBERG, 2001).

Os mecanismos propostos de remoção dos íons metálicos da superfície do solo pelas micelas do biossurfactante são: ligação de íons de cargas contrárias, substituição com íons de mesma carga, ou complexação com agentes, formando quelatos na superfície da

micela (ASÇI et al., 2010). Como o grupo da cabeça polar da micela liga-se ao metal, tornam-se mais solúveis na água. A micela movimenta o íon metálico pela solução, fazendo com que seja facilmente recuperado por lavagem ou bombeamento (MILLER, 1995; FRAZER, 2000; MULLIGAN, 2005; ASÇI et al., 2007). Asçi *et al.* (2010) salientam que metais na forma não-iônica formam complexos com biossurfactantes, aumentando a remoção de superfície, de acordo com o Princípio de Le Chatelier.

É importante destacar que na estrutura molecular de vários biossurfactantes existem grupos carboxílicos e/ou hidroxilas que podem formar complexos com os metais pesados (SONG et al., 2008). Hong *et al.* (2002) fizeram a análise da saponina no equipamento de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e identificaram grupo carboxílico na sua estrutura e atribuíram a complexação dos metais à presença deste grupo. Song *et al.* (2008) testaram saponina para remover Cd de solo e atribuíram a remoção (87,7%) também devido ao grupo carboxílico na parte hidrofílica da saponina, o qual pode formar complexo com o Cd em solução aquosa.

Cabe ressaltar que o fenômeno inverso é também possível, isto é, a adição de moléculas de surfactante pode possibilitar a insolubilização de algumas substâncias previamente dissolvidas em solução aquosa. Este fenômeno ocorre, por exemplo, através da interação de metais pesados com surfactantes aniônicos em concentrações pré ou pós-micelares (VALENTE et al., 2008; PEREIRA et al., 2009), de onde a densidade de carga positiva dos íons metálicos é neutralizada pelas cabeças aniônicas dos surfactantes (COSTA, 2011).

Segundo os resultados obtidos por Doong *et al.* (1998), a adição de surfactantes aniônicos e não-iônicos pode melhorar a eficiência de extração de Cd, Pb e Zn, enquanto que a adição de surfactantes catiônicos diminui a eficiência de extração de metais pesados.

Burrows *et al.* (2010) referiram a acidez do surfactante como fator determinante para a maior ou menor interação destes com os metais, sendo mais forte para os carboxilatos fracamente ácidos, do que para os sulfatos ou sulfonatos. Embora estas interações se devam em grande parte por efeitos eletrostáticos, esta é também, em alguns casos, acompanhada de um aumento da entropia resultante da perda das águas de hidratação do cátion.

Segundo Stalikas (2002), a interação de espécies metálicas com surfactantes ocorre através de interações eletrostáticas com a cabeça polar do surfactante, ou por interações hidrofóbicas dos quelatos do metal com a cadeia hidrofóbica das micelas, podendo esta ser uma estratégia para, por exemplo, promover a remoção dos íons metálicos de um efluente (COSTA, 2011).

De acordo com os resultados obtidos por Wang e Mulligan (2009), a ação de biossurfactante do tipo ramnolípido, por exemplo, a solos e/ou resíduos contendo metais pesados pode ocorrer devido a uma série de fatores, como redução da tensão interfacial,

formação de complexos solúveis ou micelas em razão da habilidade deste em transformar os metais em fase orgânica aquosa pela formação de micelas ou complexos. Miller (1995) também acrescenta que além da habilidade em formar complexos, a natureza aniônica já é responsável pela remoção de íons metálicos do solo.

Outra conclusão importante quanto à ação dos ramnolipídios é que este biossurfactante inibe a formação de precipitados de hidróxidos de ferro (Fe), o que reduz a adsorção e co-precipitação dos metais pesados com hidróxidos de Fe, aumentando, assim, a remoção dos metais (WANG; MULLIGAN, 2009).

Na Figura 30 é possível observar um mecanismo de remoção dos metais pesados por ação da surfactina, proposto por Mulligan *et al.* (1999a). De acordo com o observado por esses autores, a surfactina removeu os metais pesados Cd, Cu, Pb e Zn após sua adsorção à superfície do solo, seguida pela solubilização do metal causada por redução da tensão superficial e atração eletrostática e, finalmente, incorporação do metal nas micelas do biossurfactante.

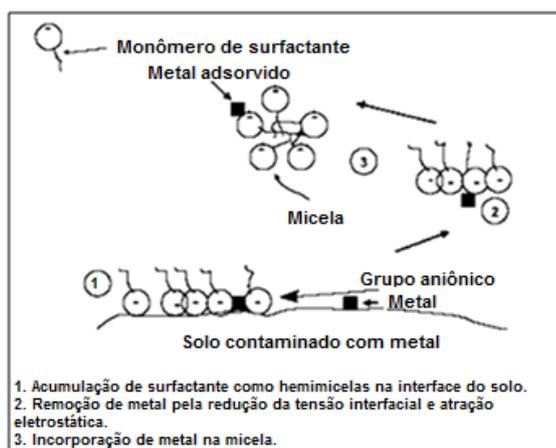


Figura 30 Mecanismo de remoção dos metais pesados por ação da surfactina.

Fonte: Lima (2008), adaptado de Mulligan *et al.* (1999).

Na Tabela 14 estão apresentadas algumas características de três surfactantes aniônicos bastante citados neste trabalho, sendo dois de origem biológica (ramnolipídio e surfactina) e um de origem química (dodecil sulfato de sódio – SDS). Nota-se a elevada CMC do surfactante sintético comparada às dos biossurfactantes. Isto indica a eficiência do biossurfactante em reduzir as tensões superficiais e interfaciais com menor concentração do produto (CIAPINA, 2008).

O interesse do uso dos biossurfactantes em descontaminação de solos decorre de suas vantagens, em comparação com surfactantes sintéticos, como menor toxicidade, maior biodegradabilidade, melhor biocompatibilidade e também devido à capacidade de ser sintetizado a partir de fontes renováveis (GUSIATIN *et al.*, 2009).

Tabela 14 Características dos surfactantes ramnolipídio, surfactina e dodecil sulfato de sódio.

| Nome | Classificação | Tipo (carga) | Massa molecular $g\ mol^{-1}$ | CMC $mg\ L^{-1}$ | Tensão superficial $mN\ m^{-1}$ |
|---------------------------------------|---------------|--------------|----------------------------------|---------------------|------------------------------------|
| Ramnolipídio | Glicolipídio | aniônico | 650,0 | 75 a 150 | 29 |
| Surfactina | Lipopeptídeo | aniônico | 1.036,3 | 12 a 23 | 27 |
| Dodecil sulfato de sódio (SDS) | - | aniônico | 288,4 | 2120 a 2300 | 37 |

Fonte: elaborado pelo autor.

Referências utilizadas: Christofi e Ivshina (2002); Wang *et al.* (2007); Chrzanowski *et al.* (2009); Shaligram e Singhal (2010); Chrzanowski *et al.* (2012)

Salienta-se também que a aplicação desta técnica pode ser usada como pré tratamento para métodos contínuos de tratamento, como estabilização/solidificação, biorremediação e processos de atenuação natural, ou ainda como enriquecimento de tecnologias de remediação eletrocinéticas (WANG; MULLIGAN, 2009). Segundo Gusiatin *et al.* (2009), a diversidade de formas químicas produzidas oferece a possibilidade dos biossurfactantes serem selecionados para diferentes metais. No entanto, os experimentos sobre remediação de solo, especialmente solos contaminados multi-metálicos, com biossurfactantes ainda são escassos.

3.3.3.2 Influência do pH e do tipo de surfactante

Segundo Mulligan e Wang (2006) os tensoativos aniônicos oferecem bons resultados na remediação de locais contaminados por metais pesados porque os metais catiônicos apresentam afinidade com a superfície carregada negativamente, e também o biossurfactante poderia permitir a remoção do metal devido à redução da tensão superficial interfacial mais eficaz. Hong *et al.* (2002) afirmam que a eficiência de remoção dos metais depende do pH. Segundo Mulligan e Wang (2006), soluções com valores de pH altos parecem funcionar melhor. Estes autores avaliaram a ação do ramnolipídio sob diferentes valores de pH e concluíram que a remoção dos metais Cd e Ni em solo arenoso foi mais eficiente com a aplicação de soluções mais alcalinas (pH 10). Eles indicam que estes resultados, provavelmente, podem ser consequência da combinação da solubilidade do metal estar aumentando e também do aumento da atividade surfactante com o aumento do valor de pH da solução. Dahrazma e Mulligan (2007), quando adicionaram NaOH nas soluções contendo o biossurfactante ramnolipídio, obtiveram maior eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Ni. Estes autores concluem que a adição de OH^- pode solubilizar a matéria orgânica e, assim, aumentar a disponibilidade do metal, tornando o tratamento com o biossurfactante mais efetivo.

Já Gusiatin *et al.* (2009), que testaram a aplicação do biossurfactante do tipo saponina, observaram que a remoção dos metais (Ni e Cu) aumentou com o decréscimo

dos valores de pH na solução de biossurfactante, sendo as melhores taxas de remoção obtidas em pH entre 3 e 4. Estes autores atribuíram a remoção e mobilização dos metais à formação de micelas.

Song *et al.* (2008) também estudaram o efeito da saponina na remoção de Cd e verificaram que este biossurfactante, derivado de plantas, apresentou excelente ação quando comparado com ácido cítrico e com o surfactante artificial Triton X-100. Na concentração de 3.750 mg L^{-1} e pH 5,0-5,5, a saponina apresentou taxa de remoção de 87,7% do Cd presente no solo. Os autores atribuíram esta remoção à complexação do Cd com a parte externa do grupo carboxílico da micela. Hong *et al.* (2002) também avaliaram a remoção do Cd e Zn pela saponina, chegando a resultados superiores a 90% de remoção para ambos os metais. Estes autores testaram valores de pH variando de 3 a 7 e observaram que os melhores resultados de remoção foram em pH igual a 3. Maity *et al.* (2013) avaliaram a remoção de Mn, Cr e Ni por saponina em valores de pH que variaram de 5 a 8 e também observaram que a melhor eficiência de remoção dos metais foi no menor pH, sendo que a uma concentração de $0,150 \text{ g L}^{-1}$ do biossurfactante, as eficiências de remoção foram de 99, 73 e 25% para Ni, Cr e Mn, respectivamente. Estes autores avaliaram também o efeito de diferentes concentrações da saponina ($0,015$ a $0,150 \text{ g L}^{-1}$), porém concluíram que embora a concentração tenha tido efeito sobre a remoção, a variação de pH foi a que proporcionou maiores diferenças entre os resultados.

Das *et al.* (2009) testaram biossurfactante produzido por *Bacillus circulans* sob diferentes CMC e concluíram que à medida que a concentração do surfactante aumenta, também cresce a remoção do metal (Cd e Pb) do meio, chegando a remover todo o conteúdo dos metais (Pb e Cd) de um efluente líquido quando em concentração correspondente a $5 \times \text{CMC}$.

Mulligan *et al.* (2001) avaliaram a remoção de Cu e Zn de sedimentos pelo processo de lavagem com surfactina produzida por *Bacillus subtilis* sob diferentes concentrações e pH, e observaram que para o Zn, a remoção foi maior quando aplicado a pH 8 e concentração 2% de surfactina, já para o Cu, a melhor remoção foi a pH 10 (tanto com surfactina a 2% quanto a 0,25%). Na mesma pesquisa destes autores, quando avaliando o biossurfactante soforolipídio, a conclusão foi que a melhor remoção de Zn ocorreu quando o pH estava ácido (5,4). Desta forma, é possível inferir que o valor de pH, tipo e a concentração do surfactante devem ser levados em consideração para o tratamento de solos e/ou sedimentos contaminados, de acordo com o tipo de metal ao qual quer se remediar.

3.3.3.3 Influência do tipo de solo e da combinação de metais no solo

São vários os fatores que desempenham um papel importante na remoção de íons de metais pesados do solo por diferentes tipos de biossurfactante. Dentre eles, pode-se citar

o tipo de solo e a presença de vários componentes, tais como argilas e óxidos de ferro (FRAZER, 2000).

Gusiatin *et al.* (2009) observaram que a ação da saponina foi diferenciada quando compararam a eficiência de remoção de Ni em solos do tipo arenoso e argiloso, sendo a melhor remoção neste último. Estes mesmos autores também identificaram que existe influência de eficácia de remoção se o solo está contaminado por apenas um ou mais metais. Para o Cu, independentemente do tipo de solo, a melhor eficácia de remoção (49,2-53,0%) foi quando este metal estava sozinho no solo e não em conjunto com o Ni (33,0-36,6%). Já uma tendência oposta foi verificada para o Ni, uma vez que este teve melhor remoção quando em conjunto com o Cu (24,1-50,8%) do que quando sozinho (14,0-23,4%).

Hong *et al.* (2002) também aplicaram a saponina em diferentes tipos de solos e encontraram maior dificuldade de remoção naqueles com maior conteúdo de matéria orgânica, atribuindo esta dificuldade à sua alta capacidade sorviva. Estes mesmos autores observaram que os metais Cd e Zn foram os que tiveram melhores resultados de remoção quando comparados ao Cu e ao Pb. Atribuíram esta diferença à eletronegatividade dos metais pesados e à forte quimiossorção destes últimos a argilas, óxidos e matéria orgânica.

Quanto à afinidade dos metais pelo ramnolípido, Ochoa-Loza *et al.* (2001), através de experimentos de constantes de estabilidade, mostraram que a sequência foi: $Al^{3+} > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{3+} > Hg^{2+} > Ca^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+} > K^+$. Assim, pode-se dizer que quando não houver mais Cu disponível para o ramnolípido, o Pb passará a ter maior prioridade de se ligar ao ramonolípido do que o Cd e assim por diante.

Mulligan *et al.* (2001) avaliaram sedimentos (70% de silte, 20% de argila e 10% de areia) contaminados pelo descarte de resíduos industriais contendo Cu (110 mg kg^{-1}), Zn (3300 mg kg^{-1}), Pb (410 mg kg^{-1}) e Cd (5 mg kg^{-1}). Adotaram o processo de lavagem, separadamente, com ramnolípido, surfactina e soforolípido, e observaram que para o Cu, a melhor remoção foi pelo ramnolípido (65%), enquanto que, para o Zn, o melhor biossurfactante foi o soforolípido (60%).

Sem *et al.* (2009) avaliaram o efeito da remoção de Cd e Pb pela ação do biossurfactante produzido por *Bacillus circulans* em meios contendo concentrações variando de 100 a 1000 mg kg^{-1} destes metais e confirmaram que o biossurfactante foi capaz de remover os metais com eficiência de até 100% quando em concentração de 100 mg kg^{-1} e a 5xCMC. Mesmo na concentração de 1000 mg kg^{-1} , a eficiência de remoção chegou a até 86 e 87% para os metais Cd e Pb, respectivamente.

O método de aplicação de solução contendo o biossurfactante ramnolípido já foi estudado por Wang e Mulligan (2009) em resíduo de mineração. Estes autores verificaram que para a mobilização do Cu, foi necessário um fluxo de 70 volumes de poro para estabilizar a lixiviação do metal, alcançando uma remoção de 74 mg kg^{-1} . Para o Pb e Zn, com o mesmo fluxo, uma quantidade bem superior foi retirada do solo, 2.379 mg kg^{-1} e 259

mg kg⁻¹, respectivamente. As maiores concentrações dos metais Cu, Pb e Zn foram obtidas nos extratos resultantes após 18 volumes de poros (14, 441 e 54 mg L⁻¹ respectivamente). Já em experimento conduzido em solo arenoso (MULLIGAN; WANG, 2006), as taxas de remoção de Cd e Ni chegaram a 73,2 e 68,1%, respectivamente, após volume de descarga de 20 volumes de poros.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Origem dos solos

Para a avaliação do potencial de remediação do biossurfactante produzido a partir da manipueira foram utilizadas 8 amostras de solo contaminadas por metais pesados. Na Tabela 15 estão apresentadas as características destes solos, bem como os teores dos metais Cu, Pb e Zn, metais estes de interesse no presente estudo.

Tabela 15 Propriedades químicas e físicas das amostras de solo utilizadas nos experimentos de lavagem do solo.

| Solo | Areia | Silte | Argila | pH H ₂ O | CTC ¹ | MO ² | Cu | Zn | Pb |
|--------------------------|-------------|-------|--------|------------------------|------------------|-----------------|---------|---------|---------|
| | -----%----- | | | | | | | | |
| <i>Solo A - Argiloso</i> | | | | | | | | | |
| Solo A – Cu | 4,90 | 36,10 | 69,00 | 3,87 | 13,69 | 33,51 | 1834,78 | - | - |
| Solo A – Zn | 4,90 | 36,10 | 69,00 | 4,36 | 13,69 | 33,51 | - | 1558,44 | - |
| Solo A – Pb | 4,90 | 36,10 | 69,00 | 4,45 | 13,69 | 33,51 | - | - | 2621,14 |
| Solo A – Cu + Zn + Pb | 4,90 | 36,10 | 69,00 | 3,91 | 13,69 | 33,51 | 1495,66 | 985,47 | 1531,61 |
| <i>Solo B - Arenoso</i> | | | | | | | | | |
| Solo B - Cu | 86,60 | 4,00 | 9,40 | 4,00 | 6,68 | 10,72 | 673,80 | - | - |
| Solo B – Zn | 86,60 | 4,00 | 9,40 | 4,56 | 6,68 | 10,72 | - | 795,86 | - |
| Solo B - Pb | 86,60 | 4,00 | 9,40 | 4,17 | 6,68 | 10,72 | - | - | 1732,22 |
| Solo B - Cu + Zn + Pb | 86,60 | 4,00 | 9,40 | 4,00 | 6,68 | 10,72 | 603,97 | 437,79 | 1410,56 |

¹ CTC – capacidade de troca catiônica; ² MO – matéria orgânica

O solo A tem como origem rochas basálticas e foi coletado no município de Francisco Beltrão (PR). O solo B foi coletado no município de São Pedro do Paraná (PR), nas proximidades do município de Paranavaí, região esta que tem como formação geológica o Arenito Caiuá (Figura 31). Estes solos foram escolhidos justamente em função das suas origens distintas, o que confere a eles características químicas, físicas e mineralógicas diferentes. Uma característica visivelmente distinta é com relação à análise textural, uma vez que o solo A é argiloso e o solo B é arenoso.

Após a coleta destas duas amostras de solos, estas foram então divididas em parcelas para passarem pelo processo de contaminação artificial. As amostras foram contaminadas isoladamente com somente um metal, e também com os três metais juntos (Cu+Zn+Pb). A este tipo de contaminação, denominou-se sistema monometálico ou não-competitivo (SNC) e sistema competitivo (SC), respectivamente. A metodologia de contaminação está descrita neste mesmo trabalho, no capítulo 1. Com isso, resultaram-se em 8 amostras de solos contaminadas com diferentes concentrações de cada metal e que foram utilizadas nos experimentos do presente capítulo.

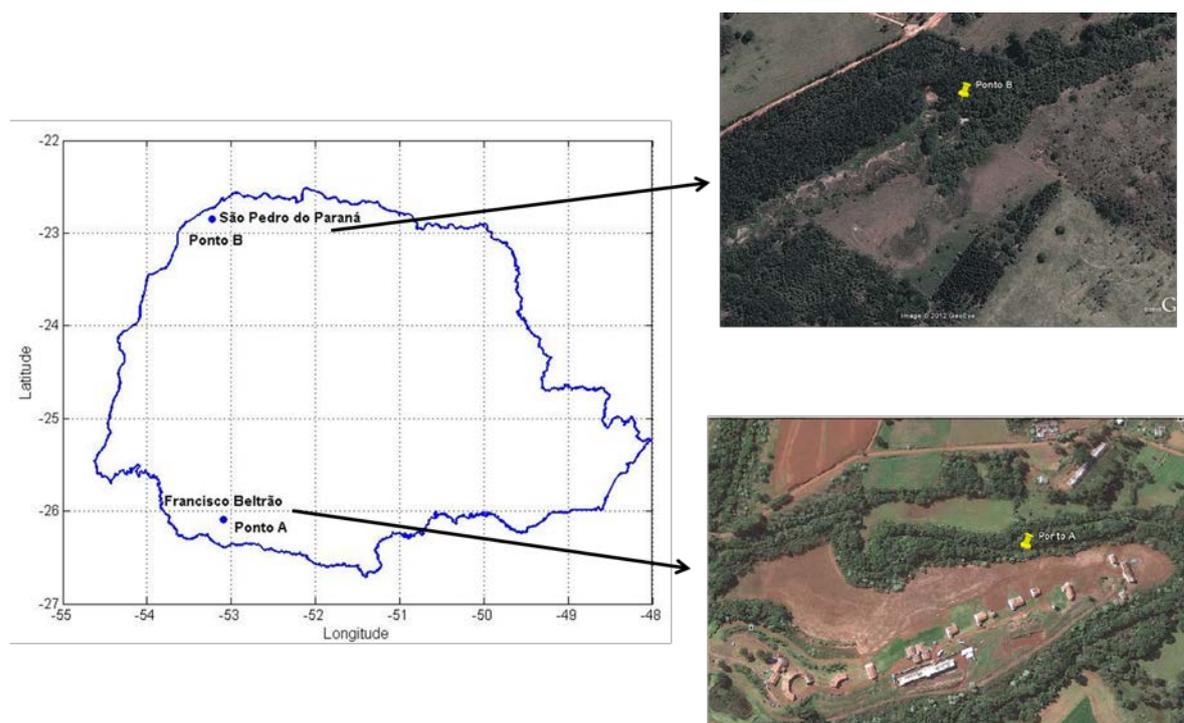


Figura 31 Localização de origem dos solos utilizados neste trabalho.

3.4.2 Origem do biossurfactante

O biossurfactante utilizado neste estudo de remediação de solos foi produzido a partir de isolados de *Bacillus subtilis* LB5a pertencentes à coleção de culturas de microrganismos do Laboratório de Bioaromas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O substrato utilizado para a produção foi o resíduo líquido da indústria de farinha de mandioca, a manipueira. Esta manipueira foi previamente tratada (aquecida a 100° C, resfriada e centrifugada) para então ocorrer o processo em um biorreator piloto (Pilot New Brunswick 8000 MP 80), conforme condições experimentais detalhadas em Barros (2007). Esta etapa foi realizada no laboratório de Bioaromas da UNICAMP.

Como resultado, obteve-se o biossurfactante na forma de pó, o qual foi utilizado nos experimentos de lavagem do solo. Este biossurfactante foi caracterizado previamente e classificado como do tipo surfactina, pertencente ao grupo dos lipopeptídeos. A concentração de surfactina no biossurfactante é de 28%. Sua concentração micelar crítica (CMC) também foi determinada, sendo de 12 mg L⁻¹.

3.4.3 Experimentos de lavagem do solo

Foram realizados experimentos com o objetivo de se avaliar o procedimento de remediação por lavagem do solo “ex situ”, no qual é necessário retirar o solo de local contaminado para posterior descontaminação. Esta metodologia recebe o nome de “soil washing”. Foram adotados diferentes planejamentos experimentais, sendo os detalhes de cada um deles explicado nos respectivos itens.

A eficiência de remoção do metal foi determinada pela divisão do conteúdo de metal no sobrenadante pelo conteúdo inicial de metal no solo multiplicado por 100% (MULLIGAN; WANG, 2006) (Equação 10).

$$ER (\%) = (\text{mg de metal no efluente} \div \text{mg inicial no solo}) \times 100 \quad \text{Eq. 10}$$

3.4.3.1 Planejamento experimental nº I

No planejamento experimental nº I, dois gramas de solo foram lavados com 20 mL da solução contendo o biossurfactante nas concentrações e pH ajustados previamente, conforme o delineamento experimental apresentado na Tabela 16. Como experimento controle, foi adicionado somente água ultra pura. As amostras foram colocadas em tubos de plástico com capacidade de 50 mL (tipo Falcon) e dispostas em mesa horizontal, onde foram agitadas por um período de 24 h a 200 rpm, a temperatura ambiente. Após esse período, os tubos foram centrifugados e a fase líquida foi filtrada para posteriormente ser digerida pelo método de digestão ácida com HNO₃ e HCl (1:3 – água régia) durante 2 horas a 150 °C (5 mL do sobrenadante + 3 mL de HCl + 1 mL de HNO₃). A seguir foi então realizada a determinação da concentração dos metais nos extratos por leitura em espectrometria de absorção atômica (AAS) (adaptado de TORRES et al., 2012).

Com o objetivo de se determinar os valores ótimos de pH e concentração da solução de biossurfactante (variáveis independentes) para remoção dos metais pesados do solo, foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), método estatístico que permite a variação das variáveis independentes ao mesmo tempo (SEN; SWAMINATHAN, 2004).

Foi aplicado um delineamento composto central rotacional (DCCR), tipo estrela ($\alpha = 45^\circ$), que compreende um fatorial (2^2) com os níveis (-1 e +1), os pontos axiais (-1,414 e +1,414) e mais três repetições no ponto central (0), totalizando 11 ensaios experimentais. O ponto central fornece uma média para estimar o erro experimental e a falta de ajuste, os pontos axiais estimam a curvatura do modelo (BARROS NETO et al., 2007).

Os níveis das variáveis independentes utilizadas, em ordem crescente (-1, 0, +1), foram 4, 5 e 6 para o pH e 12, 24 e 36 mg L⁻¹ para concentração da solução de biossurfactante (Tabela 16), que correspondem a CMC, 2xCMC e 3xCMC, respectivamente. Como variáveis resposta (dependentes) foram avaliadas as eficiências de remoção (%) dos metais Cu, Zn e Pb.

Este mesmo delineamento foi utilizado tanto para as amostras de solo argiloso (Solo A), quanto de solo arenoso (Solo B) em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC), o que totalizou 8 tratamentos.

Os valores das variáveis independentes estudadas estão mostrados na Tabela 16 e a matriz do delineamento é apresentada na Tabela 17.

Tabela 16 Valores das variáveis independentes avaliadas nos experimentos de lavagem do solo contaminado artificialmente – Planejamento experimental nº I.

| Variáveis | -1,41 | -1 | 0 | +1 | +1,41 |
|---|-------|----|----|----|-------|
| Concentração do biossurfactante (mg L ⁻¹) | 7,03 | 12 | 24 | 36 | 40,97 |
| pH da solução | 3,59 | 4 | 5 | 6 | 6,41 |

Tabela 17 Matriz do planejamento fatorial (2)² com os fatores (codificados e reais), utilizado no estudo de remediação dos solos contaminados artificialmente – Planejamento experimental nº I.

| Variáveis | Níveis codificados | | Níveis reais | |
|-----------|--------------------|----------------|--|------|
| | x ₁ | x ₂ | Concentração Biossurfactante (mg L ⁻¹) | pH |
| Ensaio | | | | |
| 1 | -1 | -1 | 12 | 4 |
| 2 | +1 | -1 | 36 | 4 |
| 3 | -1 | +1 | 12 | 6 |
| 4 | +1 | +1 | 36 | 6 |
| 5 | 0 | 0 | 24 | 5 |
| 6 | 0 | 0 | 24 | 5 |
| 7 | 0 | 0 | 24 | 5 |
| 8 | -α | 0 | 7,03 | 5 |
| 9 | +α | 0 | 40,97 | 5 |
| 10 | 0 | -α | 24 | 3,59 |
| 11 | 0 | +α | 24 | 6,41 |

O software STATISTICA, versão 8.0 (StatsoftTM, USA), foi utilizado para a determinação dos efeitos das variáveis independentes, análises de regressão, análise de variância (ANOVA) e a obtenção dos gráficos de superfícies de resposta e de contorno, ao nível de 5% de significância. A significância dos modelos foi testada pela análise de variância (ANOVA), usando-se o teste de distribuição F.

Tendo em vista que todos os tratamentos foram realizados em triplicata, não limitando-se apenas ao ponto central, os resultados de eficiência de remoção (%) dos metais também foram analisados pelo Teste de Tukey com significância ao nível de 5% ($p < 0,05$), utilizando-se o Software SISVAR versão 5.3.

3.4.3.2 Planejamento experimental nº II

Em virtude dos resultados obtidos do planejamento experimental nº I, o planejamento experimental nº II foi realizado visando avaliar o efeito de concentrações mais elevadas do biossurfactante na remoção dos metais e retirando-se a variação do pH. No estudo desenvolvido por Chen *et al.* (2011), que avaliaram diferentes variáveis na remoção de Hg utilizando surfactina, foi a concentração do surfactante a variável que apresentou maior influência nos resultados.

Para alcançar este objetivo, os tratamentos foram realizados com o pH das soluções em faixa constante (pH = 6,5). Neste experimento foi avaliado somente a dessorção no solo argiloso (Solo A), contaminado simultaneamente com os metais Cu, Zn e Pb (Solo A – SC). Pesou-se 0,5 g do solo em tubos de centrífuga com capacidade de 50 mL, que receberam

15 mL da solução de biossurfactante (relação 1:30) nas seguintes concentrações (em triplicata): 0, 100, 500 e 1000 mg L⁻¹. Os tubos foram então agitados mecanicamente (200 rpm) por período de 24 horas e centrifugados (5000 rpm, 10 minutos). O sobrenadante foi recolhido e feita a leitura de pH dos extratos imediatamente após a centrifugação. A concentração dos metais Pb, Cu e Zn no sobrenadante após a etapa de lavagem foi determinada após passar por digestão ácida pelo método da água régia, já descrito anteriormente. Os extratos então foram analisados por AAS (Figura 32).



Figura 32 Esquema representativo das etapas realizadas no teste de lavagem do solo – Planejamento experimental nº II.

Após o término do ensaio, o solo foi seco em estufa (60 °C) e guardado para posteriormente ser analisado por espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR).

Nestes experimentos de lavagem/dessorção, realizou-se ANOVA em delineamento inteiramente casualizado, sendo as médias de eficiência de remoção dos metais comparadas pelo Teste de Tukey (5% de significância) entre os tratamentos. Esta análise foi realizada com o software SISVAR versão 5.3. Além disso, também foi realizada análise de regressão para avaliar o comportamento de remoção dos metais em consequência das diferentes doses de biossurfactante, por meio do software STATISTICA 8.0.

3.4.3.3 Planejamento experimental nº III

O terceiro planejamento foi aplicado em todos os tipos de solos já inicialmente testados no Planejamento nº I, porém com a inclusão de duas novas amostras (totalizando 10 tipos de solos). Estas amostras correspondem ao solo argiloso contaminado com Pb e solo arenoso contaminado com Cu, ambos com valores de pH próximos a 6,5. Este aumento do pH ocorreu devido à adição de CaCO₃ como forma de calagem, que após período de incubação foi capaz de aumentar o pH. Os demais solos também receberam calagem, porém a capacidade tampão destes solos não permitiu o aumento de pH na mesma proporção que os outros dois.

O objetivo deste planejamento foi testar novas faixas de concentração (doses de 0, 60, 80, 120, 160 e 200 mg L⁻¹), que fossem intermediárias entre os Planejamentos I e II, e

também avaliar o efeito do aumento do pH do solo na eficiência de remoção dos metais pelo biossurfactante. Desta forma, estes ensaios poderiam mostrar se era o pH ácido dos solos que não estava permitindo a ação do biossurfactante como agente de remoção dos metais.

Nestes experimentos, a eficiência de remoção dos metais também foi analisada estatisticamente por ANOVA, sendo as médias comparadas pelo Teste de Tukey (5% de significância) entre os tratamentos. Além disso, também foi realizada análise de regressão linear para avaliar o comportamento de remoção dos metais em consequência das diferentes doses de biossurfactante, pois, de acordo com Santos *et al.* (1998), nos casos em que os fatores são de natureza quantitativa com mais de dois níveis, o emprego da análise de regressão é a alternativa apropriada e que, em termos gerais, consiste em ajustar uma função entre a resposta e os fatores em estudo.

3.4.3.4 Planejamento experimental nº IV

Estes experimentos seguiram exatamente a mesma metodologia de lavagem dos experimentos I e III. Foram realizados somente com as amostras de solo argiloso e arenoso contaminados unicamente com Cu (SNC). As concentrações de biossurfactante foram 0, 24, 48 e 96 mg L⁻¹ a pH próximo a 6,3. O principal objetivo foi, além de avaliar a remoção do metal, avaliar também a possibilidade de adsorção do biossurfactante ao solo por meio da análise de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) nos extratos que tiveram contato com o solo. A metodologia desta análise está descrita a seguir.

3.4.4 Caracterização do biossurfactante por cromatografia líquida de alta eficiência

O biossurfactante obtido pelo bioprocessamento foi identificado por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando um cromatógrafo líquido da marca SHIMADZU, modelo LC 20 AT. Utilizou-se uma coluna Kromasil C18. As condições cromatográficas utilizadas foram: fluxo de 0,6 mL min⁻¹ e fase móvel acetonitrila (80%) com ácido trifluoroacético (3,8 mmol L⁻¹) (20%). A injeção foi de 20 µL. Estas condições basearam-se no trabalho de Slivinski *et al.* (2012).

Primeiramente, injetou-se a amostra padrão de surfactina Sigma-Aldrich e em seguida foram injetados os extratos das soluções de biossurfactante que foram utilizadas no experimento de lavagem do solo (antes e após contato com o solo). Todas as análises foram feitas em triplicatas.

3.4.5 Espectroscopia de infravermelho em solos lavados com biossurfactante

As amostras de solo que passaram pelo processo de lavagem do Planejamento Experimental nº II foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) em equipamento Shimadzu IR Prestige 21 com detector DTGS, pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Estas amostras

foram preparadas buscando-se mostrar se o biossurfactante estava ficando preso ao solo. O biossurfactante também foi caracterizado para possibilitar a comparação entre os espectros. Tanto as amostras de solo quanto de biossurfactante foram preparadas pesando-se de 2 a 5 mg do material seco em estufa e então diluídas em 100 mg de KBr para posterior análise pela técnica de transmissão.

3.4.6 Ensaio de lixiviação em colunas de solo

O deslocamento dos metais Cu, Pb e Zn foi caracterizado por ensaios em colunas de solo que representa o método de lavagem do solo pelo método “*soil flushing*”. Para esta etapa foi utilizado o solo argiloso contaminado com os três metais, em sistema competitivo. Os tratamentos foram a aplicação de (i) solução de biossurfactante a 500 mg L^{-1} (42xCMC) e (ii) água ultra pura (controle).

As colunas utilizadas foram de PVC com diâmetro interno de 4,7 cm e 5,5 cm de comprimento. O empacotamento do solo na coluna foi realizado pela adição de porções de solo, que foram compactadas com igual força, para obter colunas uniformes e também para a expulsão do ar, dificultando a formação de caminhos preferenciais. Na extremidade inferior foram colocados tela e tecido fino para evitar perda de material. As colunas foram previamente saturadas com CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e então fixadas, na vertical, em suporte universal com braçadeiras metálicas e o sistema de alimentação foi interligado à extremidade superior da coluna, possibilitando o início do movimento vertical descendente. A coleta do material percolado foi realizada a cada 25 mL (Figura 33). Na coluna de solo em que passou somente água foram recolhidas 13 frações (total de 325 mL), e na coluna de biossurfactante somente 7 frações (total de 175 mL), devido ao selamento que ocorreu superficialmente.

Os lixiviados também foram digeridos em bloco digestor com solução ácida de HNO_3 e HCl (água régia), conforme metodologia já explicada anteriormente, e a leitura dos metais foi realizada em AAS.

A partir dos valores de concentração dos metais nos lixiviados, foram construídas as curvas de eluição dos metais em função do tipo de tratamento aplicado ao solo.

Realizou-se o teste estatístico de comparação de retas ao nível de 5% de significância com os valores referentes à massa do metal acumulado (mg) ao longo do volume lixiviado. Realizou-se também o teste de correlação de Pearson para verificar a relação entre a concentração de cada metal (mg L^{-1}) e os valores de pH.

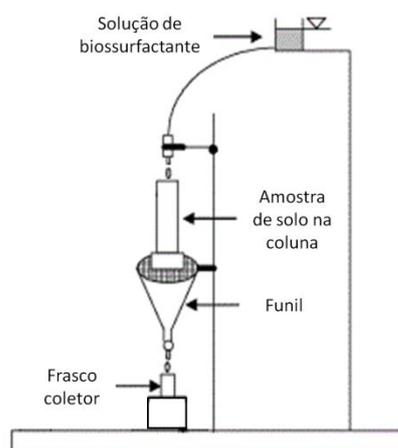


Figura 33 Esquema para a coleta de solução que atravessa a coluna de solo.

3.4.7 Fracionamento de metais nos diferentes constituintes do solo

O objetivo de realizar os estudos de extração sequencial é avaliar as formas químicas de metais pesados no solo (HONG et al., 2002) e, assim, determinar a presença dos metais nas frações solúvel, trocável, carbonatos, óxidos, orgânica e residual. Este procedimento foi adotado para os solos argilosos e arenosos contaminados com os metais Cu, Zn e Pb, em sistema competitivo e não-competitivo, além dos solos que receberam carbonato de cálcio. Escolheram-se também algumas amostras, aleatoriamente, que passaram pelo processo de dessorção por meio da lavagem com biossurfactante. Esta etapa justifica-se, pois poucos estudos têm correlacionado os resultados das extrações sequenciais com os resultados da lavagem do solo, sendo considerado um estudo importante (MULLIGAN et al., 2001).

O método de extração aplicado baseou-se na metodologia descrita por Tessier *et al.* (1979). As extrações foram realizadas em triplicatas, em tubo de centrífuga de polietileno de 50 mL. Os extratos, após cada etapa de extração, foram estocados em frascos de polietileno, para evitar a adsorção dos metais às paredes dos frascos, como alertado por Kim e Hill (1993).

Os resultados foram apresentados em função da concentração dos metais em cada fração e também a contribuição percentual de cada fração em relação ao conteúdo total. Os detalhes metodológicos estão descritos a seguir e podem também ser visualizados por fluxograma (Figura 34).

Fração solúvel: alíquotas de 1,0 g de TFSA foram colocadas em tubos de centrífuga com capacidade de 50 mL. Em seguida, foram transferidos 8 mL de água ultra pura em cada tubo e procedeu-se agitação em agitador horizontal a 200 rpm por 1 hora. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante reservado em um frasco.

Fração trocável: 8 mL de solução de $MgCl_2$ 1,0 mol L^{-1} (pH 7) foi adicionado a cada tubo contendo o resíduo da etapa anterior e procedeu-se agitação em agitador horizontal a 200

rpm por 1 hora. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante reservado em um frasco. O resíduo foi ressuspensionado com 5 mL de água ultra pura para lavagem do material, centrifugado novamente (10 minutos, 5000 rpm) e o sobrenadante descartado.

Fração ligada aos carbonatos: 8 mL de solução de acetato de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5 ajustado com ácido acético), foram adicionados ao tubo de centrífuga contendo o resíduo anterior, que foi ressuspensionado, e procedeu-se à agitação em agitador horizontal a 200 rpm por 6 horas. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante reservado em frasco. O resíduo foi lavado com 5 mL de água ultra pura para lavagem do material, centrifugado novamente (10 minutos, 5000 rpm) e o sobrenadante descartado.

Fração ligada aos óxidos de ferro e manganês: ao tubo de centrífuga contendo o resíduo anterior foram adicionados 20 mL de solução de cloridrato de hidroxilamina $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ em 25% (v/v) de ácido acético. O material foi levado ao banho-maria a $96 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ por 6 horas, com agitação ocasional. O material foi centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante colocado em balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com água ultra pura. O procedimento de lavagem também foi realizado, conforme descrito anteriormente.

Fração ligada à matéria orgânica: 3 mL de solução de HNO_3 $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e 5 mL de H_2O_2 30% (pH 2) foram adicionados ao tubo de centrífuga contendo o resíduo anterior, que foi ressuspensionado e levado a banho-maria a $85 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 horas, com agitação ocasional. Em seguida, adicionou-se mais uma alíquota de 2 mL de H_2O_2 30% (pH 2) e deixou-se por mais 3 horas no banho-maria. Após esfriar, adicionou-se 5 mL de acetato de amônio $3,2 \text{ mol L}^{-1}$ em 20% (v/v) de HNO_3 e levou-se para agitação durante 30 minutos. O material foi então centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm, e o sobrenadante colocado em balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com água ultra pura. Procedeu-se em seguida a lavagem do material residual, conforme já descrito e então o material foi seco em estufa para seguir-se na etapa posterior.

Fração residual: 0,5 g do resíduo seco foi pesado e colocado em tubo de vidro para proceder-se à digestão. Foram adicionados 3 mL de HCl e 1 mL de HNO_3 e levados para bloco digestor por 2 horas, a $150 \text{ }^\circ\text{C}$. Depois de frio, o conteúdo foi filtrado e recolhido o seu extrato em balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume completado com água ultra pura.

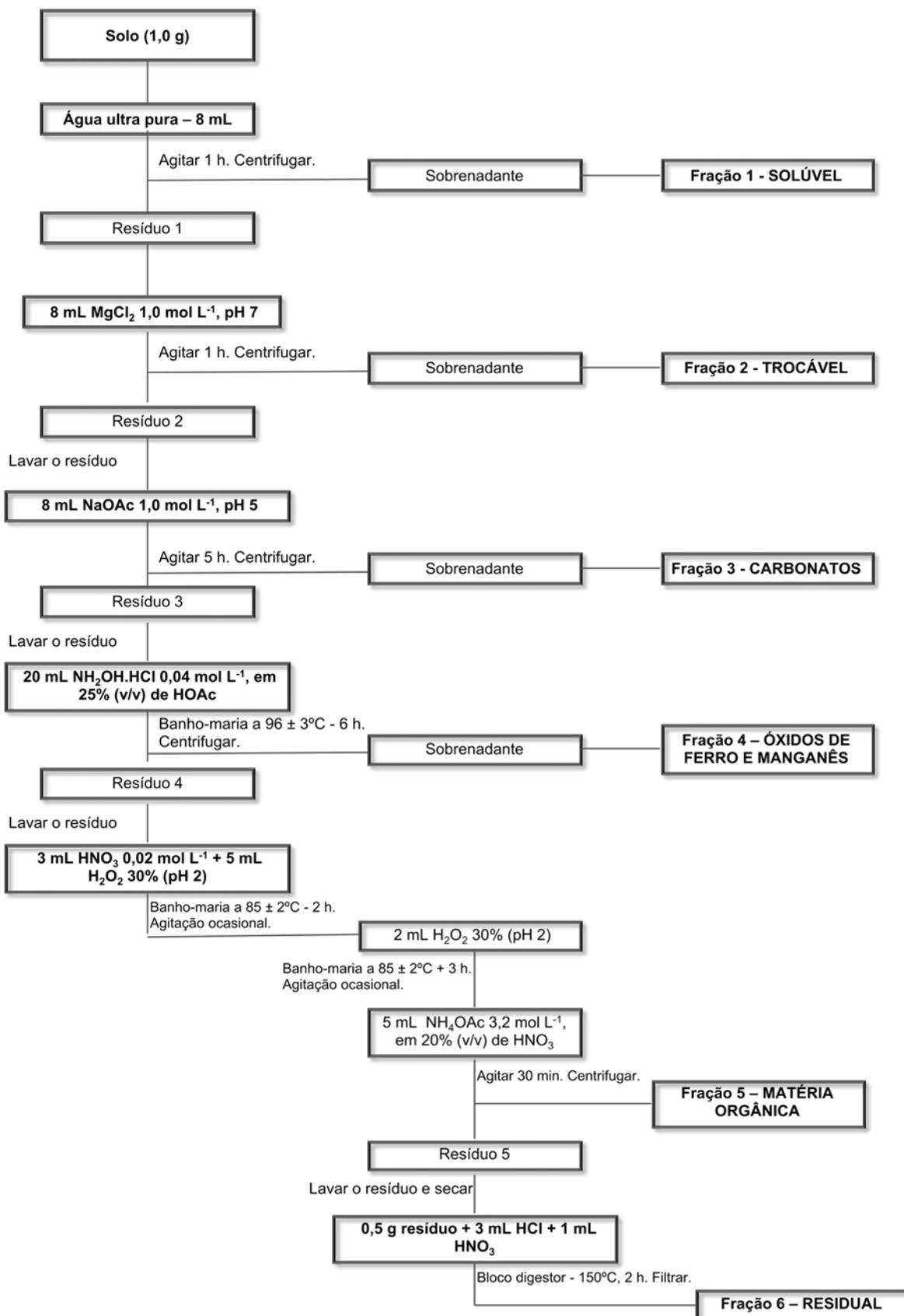


Figura 34 Esquema do método de extração sequencial aplicado.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Planejamento Experimental nº I

Os dados de remoção dos metais (%) foram analisados em relação aos efeitos lineares (L), quadráticos (Q) e efeitos de interação (1 x 2) para todas as respostas através da análise de variância dos resultados. Em todos os gráficos de Pareto apresentados, os índices L e Q entre parênteses são os efeitos Lineares e Quadráticos para os ensaios, respectivamente. Este gráfico apresenta de forma rápida e clara os efeitos que são estatisticamente importantes, sendo eles os que tiverem o retângulo à direita da linha divisória ($p=0,05$), indicando que esses efeitos são significativos a um nível de confiança de 95%.

Os resultados encontrados para a eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no sistema multimetálico (SC) e monometálico (SNC) do solo argiloso estão apresentados nas Tabela 18 e Tabela 20, respectivamente. Já os resultados para o solo arenoso estão nas Tabela 22 e Tabela 24.

Tabela 18 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no solo argiloso, contaminado com os três metais (SC).

| Ensaio | Fatores | | Variáveis resposta | | |
|---------------|--|-------------------|--------------------|----------------|----------------|
| | Concentração Biossurfactante ($mg L^{-1}$) | pH | Remoção Cu (%) | Remoção Zn (%) | Remoção Pb (%) |
| 1 | -1 (12) | -1 (4) | 28,23 a | 55,01 a | 16,88 a |
| 2 | +1 (36) | -1 (4) | 18,61 a | 45,05 a | 15,09 a |
| 3 | -1 (12) | +1 (6) | 25,66 a | 61,07 a | 16,49 a |
| 4 | +1 (36) | +1 (6) | 27,19 a | 64,32 a | 16,80 a |
| 5 | 0 (24) | 0 (5) | 27,75 a | 63,05 a | 17,03 a |
| 6 | 0 (24) | 0 (5) | 26,10 a | 60,39 a | 17,09 a |
| 7 | 0 (24) | 0 (5) | 25,51 a | 57,96 a | 16,15 a |
| 8 | - α (7,03) | 0 (5) | 22,13 a | 54,42 a | 15,15 a |
| 9 | + α (40,97) | 0 (5) | 20,59 a | 53,66 a | 16,98 a |
| 10 | 0 (24) | - α (3,59) | 25,51 a | 64,13 a | 15,87 a |
| 11 | 0 (24) | + α (6,41) | 14,32 a | 42,36 a | 15,06 a |
| Controle/água | - | - | 18,72 a | 50,89 a | 16,58 a |

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A análise estatística por comparação de médias (Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade) não mostrou diferença entre os tratamentos com relação à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb do solo A (SC) (Tabela 18). As maiores eficiências de remoção observadas foram para o Zn, seguido do Cu e Pb. Esta sequência coincide com a sequência crescente de eletronegatividade destes metais, que indica que os metais com maior afinidade de ligação ao solo são aqueles de maior valor de eletronegatividade (ALLEONI et al., 2009). Li *et al.* (2009) e Hong *et al.* (2002) obtiveram a mesma sequência.

Ao avaliar os gráficos de Pareto para este solo (Figura 35), observa-se interação entre as duas variáveis independentes, concentração de biossurfactante e pH, sendo

significativa e positiva apenas para a remoção de Cu. Isto indica que, se conservadas as tendências individuais das variáveis em ordem de prioridade, o resultado é o aumento da remoção de Cu deste solo. Observou-se também que a variável pH apresentou efeito quadrático (Q) significativo e negativo, ou seja, à medida que este diminui, aumenta-se a remoção de Cu. Em condições de pH baixo, os metais pesados são relativamente móveis no solo, pois encontram-se na forma iônica (SHIN et al., 2005).

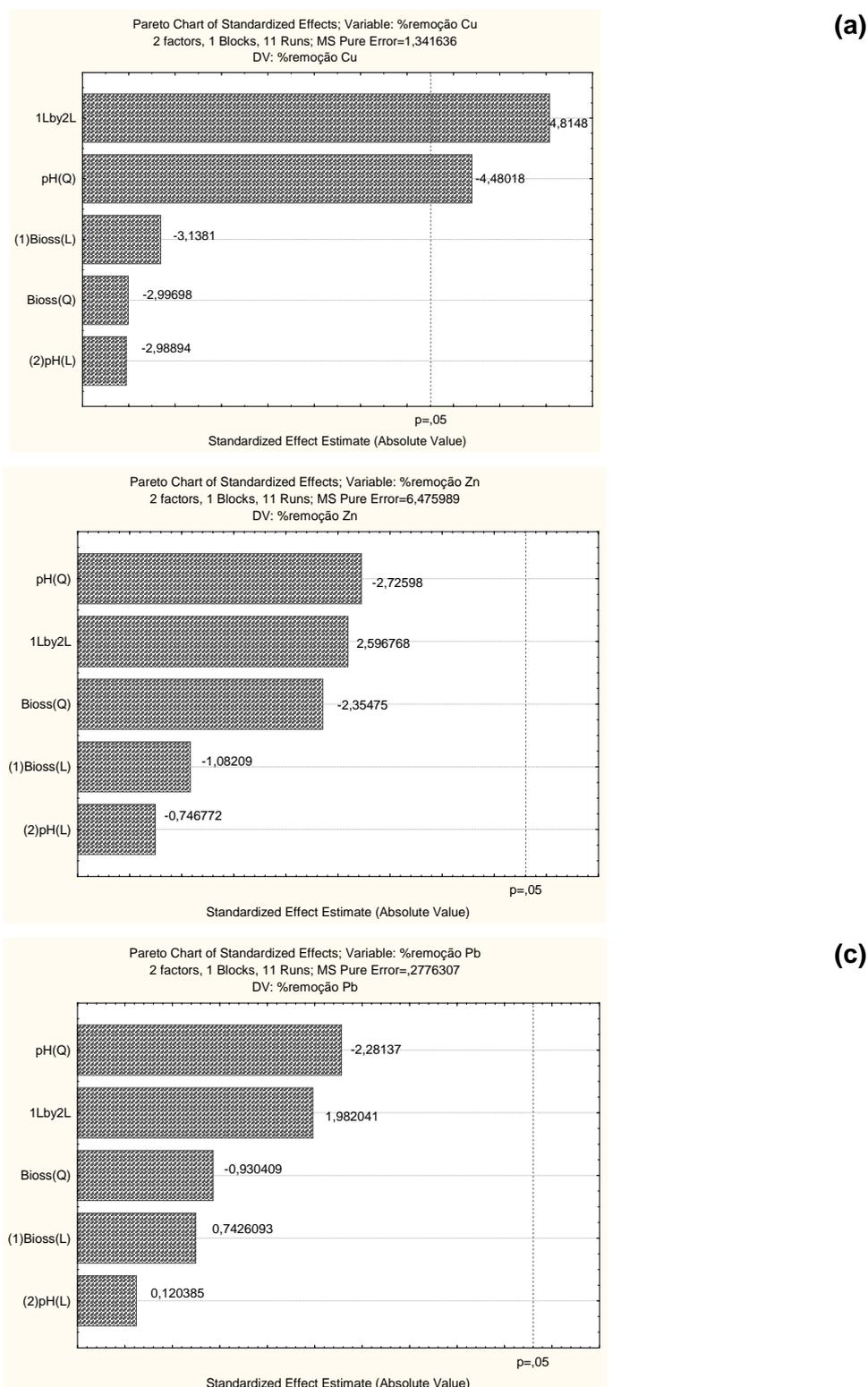


Figura 35 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a), Zn (b) e Pb (c) do solo argiloso, SC.

Ao observar os valores de F calculado (F_{cal}) e F tabelado (F_{tab}), consegue-se determinar se o modelo de regressão é significativo ou não. Caso o valor da relação $F_{\text{cal}} / F_{\text{tab}} > 1,0$, então diz-se que o modelo é significativo. Isto significa que existe diferença entre escolher o nível maior ou menor para estes fatores. Com relação à falta de ajuste, faz-se a mesma análise. Neste caso, observa-se que o modelo de regressão não foi significativo e a falta de ajuste foi significativa (Tabela 19). Sendo assim, não recomenda-se a utilização deste modelo pois os erros seriam grandes. De qualquer forma, o gráfico de superfície de resposta deste comportamento está apresentado nos Apêndices (Figura 45).

Para os metais Pb e Zn, o diagrama de Pareto mostrou que as variáveis pH e concentração de biossurfactante, dentro da faixa aplicada, não tiveram efeito sobre a remoção (%) neste tipo de solo.

Tabela 19 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo argiloso, sistema competitivo (SC).

| | Fonte de variação | SQ | GL | MQ (Quadrado Médio) | F_{calc} | F_{tab} | $F_{\text{cal}}/F_{\text{tab}}$ | % R^2 |
|----------------------------------|------------------------|--------|----|------------------------|-------------------|------------------|---------------------------------|---------|
| % Remoção de Cu (Solo A - SC) | <i>Regressão</i> | 87,43 | 5 | 17,49 | 0,84 | 5,05 | 0,17 | 0,46 |
| | <i>Resíduo</i> | 103,80 | 5 | 20,76 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 101,12 | 3 | 33,71 | 25,15 | 19,16 | 1,31 | |
| | <i>Erro puro</i> | 2,68 | 2 | 1,34 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 191,23 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Zn (Solo A - SC) | <i>Regressão</i> | 120,22 | 5 | 24,04 | 0,28 | 5,05 | 0,06 | 0,22 |
| | <i>Resíduo</i> | 425,87 | 5 | 85,17 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 412,92 | 3 | 137,64 | 21,26 | 19,16 | 1,11 | |
| | <i>Erro puro</i> | 12,95 | 2 | 6,48 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 546,09 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Pb (Solo A - SC) | <i>Regressão</i> | 2,72 | 5 | 0,54 | 0,68 | 5,05 | 0,13 | 0,40 |
| | <i>Resíduo</i> | 4,01 | 5 | 0,80 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 3,45 | 3 | 1,15 | 4,11 | 19,16 | 0,21 | |
| | <i>Erro puro</i> | 0,56 | 2 | 0,28 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 6,72 | 10 | - | - | - | - | |

No caso do solo argiloso, porém em SNC, o teste de médias também mostrou que os tratamentos não tiveram diferença entre si (Tabela 20). Assim, conclui-se que o tratamento controle (somente com água) teve a mesma eficiência de remoção que os demais tratamentos. Neste caso, a remoção foi muito semelhante para o Cu e Zn, sendo quase inexistente para o Pb. Os gráficos de Pareto apresentados na Figura 36 confirmam a falta de efeito das variáveis na eficiência de remoção. Ressalta-se que o gráfico de Pareto referente à remoção de Pb não está apresentado, pois como em alguns tratamentos a remoção foi nula, não é possível a composição deste gráfico pelo software.

Tabela 20 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção de cada metal (Cu, Zn e Pb) no solo argiloso, em sistema não-competitivo (SNC).

| Ensaio | Fatores | | Variáveis resposta | | |
|----------|--|------------------|--------------------|----------------|----------------|
| | Concentração Biossurfactante ($mg L^{-1}$) | pH | Remoção Cu (%) | Remoção Zn (%) | Remoção Pb (%) |
| 1 | -1 (12) | -1 (4) | 18,61 a | 15,97 a | 0,15 a |
| 2 | +1 (36) | -1 (4) | 16,49 a | 11,95 a | 1,98 a |
| 3 | -1 (12) | +1 (6) | 16,34 a | 15,49 a | 0,00 a |
| 4 | +1 (36) | +1 (6) | 12,61 a | 12,17 a | 0,00 a |
| 5 | 0 (24) | 0 (5) | 11,26 a | 13,68 a | 0,00 a |
| 6 | 0 (24) | 0 (5) | 15,51 a | 8,95 a | 0,00 a |
| 7 | 0 (24) | 0 (5) | 17,63 a | 13,49 a | 0,00 a |
| 8 | $-\alpha$ (7,03) | 0 (5) | 17,01 a | 12,17 a | 0,00 a |
| 9 | $+\alpha$ (40,97) | 0 (5) | 11,40 a | 12,13 a | 0,39 a |
| 10 | 0 (24) | $-\alpha$ (3,59) | 18,67 a | 12,73 a | 0,83 a |
| 11 | 0 (24) | $+\alpha$ (6,41) | 16,77 a | 13,19 a | 1,23 a |
| Controle | - | - | 13,08 a | 12,89 a | 0,46 a |

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

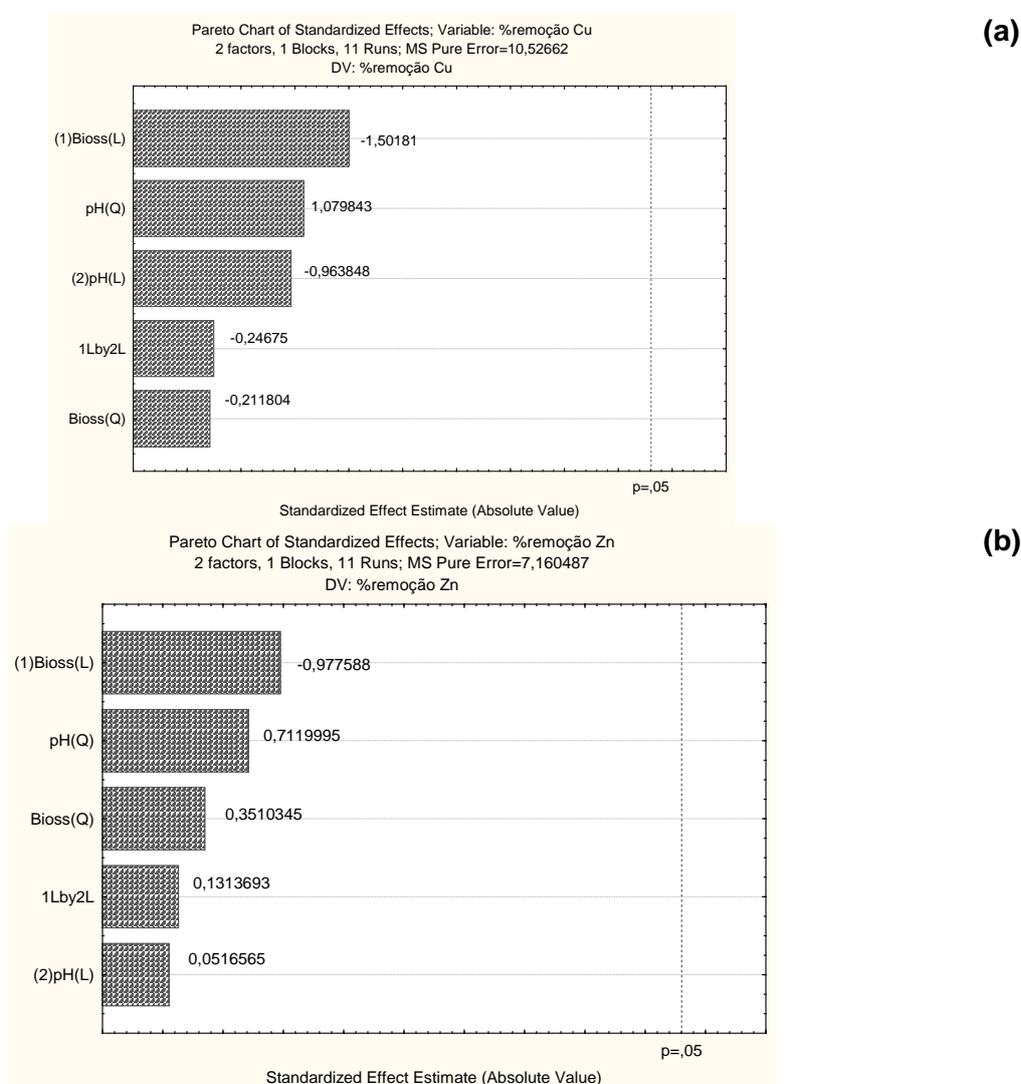


Figura 36 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a) e Zn (b) do solo argiloso, SNC.

Tabela 21 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo argiloso, sistema não-competitivo (SNC).

| | Fonte de variação | SQ | GL | MQ (Quadrado Médio) | F _{calc} | F _{tab} | F _{calc} /F _{tab} | % R ² |
|--------------------------------|------------------------|-------|----|---------------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|------------------|
| % Remoção de Cu (Solo A - SNC) | <i>Regressão</i> | 49,62 | 5 | 9,92 | 2,15 | 5,05 | 0,43 | 0,68 |
| | <i>Resíduo</i> | 23,10 | 5 | 4,62 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 2,05 | 3 | 0,68 | 0,06 | 19,16 | 0,00 | |
| | <i>Erro puro</i> | 21,05 | 2 | 10,53 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 72,72 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Zn (Solo A - SNC) | <i>Regressão</i> | 10,74 | 5 | 2,15 | 0,44 | 5,05 | 0,09 | 0,30 |
| | <i>Resíduo</i> | 24,60 | 5 | 4,92 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 10,28 | 3 | 3,43 | 0,48 | 19,16 | 0,02 | |
| | <i>Erro puro</i> | 14,32 | 2 | 7,16 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 35,34 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Pb (Solo A - SNC) | <i>Regressão</i> | 3,28 | 5 | 0,66 | 2,90 | 5,05 | 0,57 | 0,74 |
| | <i>Resíduo</i> | 1,13 | 5 | 0,23 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 1,13 | 3 | 0,38 | * | 19,16 | * | |
| | <i>Erro puro</i> | 0,00 | 2 | 0,00 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 4,41 | 10 | - | - | - | - | |

* Não é possível calcular devido ao erro puro ser zero.

A ANOVA mostrou diferença entre os resultados dos tratamentos no solo arenoso, tanto em sistema competitivo quanto não-competitivo (Tabela 22 e Tabela 24, respectivamente). Ocorreram diferenças apenas entre os extratores que utilizavam biossurfactante, porém em todas as ocasiões o tratamento controle (sem biossurfactante) apresentou eficiência de remoção igual a algum dos tratamentos que utilizou biossurfactante como agente de remoção. Desta forma, não é possível afirmar que, havendo presença de biossurfactante, haverá obrigatoriamente aumento na remoção dos metais.

Tabela 22 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no solo arenoso, contaminado com os três metais (SC).

| Ensaio | Fatores | | Variáveis resposta | | |
|----------|--|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| | Concentração Biossurfactante (mg L ⁻¹) | pH | Remoção Cu (%) | Remoção Zn (%) | Remoção Pb (%) |
| 1 | -1 (12) | -1 (4) | 20,41 b | 42,30 b | 11,26 ab |
| 2 | +1 (36) | -1 (4) | 19,05 b | 44,87 b | 13,54 ab |
| 3 | -1 (12) | +1 (6) | 56,25 a | 90,19 a | 14,53 a |
| 4 | +1 (36) | +1 (6) | 18,01 b | 43,45 b | 10,79 b |
| 5 | 0 (24) | 0 (5) | 14,01 b | 37,67 b | 10,74 b |
| 6 | 0 (24) | 0 (5) | 12,61 b | 34,27 b | 12,06 ab |
| 7 | 0 (24) | 0 (5) | 16,90 b | 43,07 b | 13,14 ab |
| 8 | -α (7,03) | 0 (5) | 23,50 b | 52,79 ab | 13,46 ab |
| 9 | +α (40,97) | 0 (5) | 24,80 b | 54,98 ab | 11,62 ab |
| 10 | 0 (24) | -α (3,59) | 32,97 b | 41,28 b | 11,41 ab |
| 11 | 0 (24) | +α (6,41) | 22,31 b | 31,92 b | 10,94 ab |
| Controle | - | - | 34,18 b | 48,59 b | 10,66 b |

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

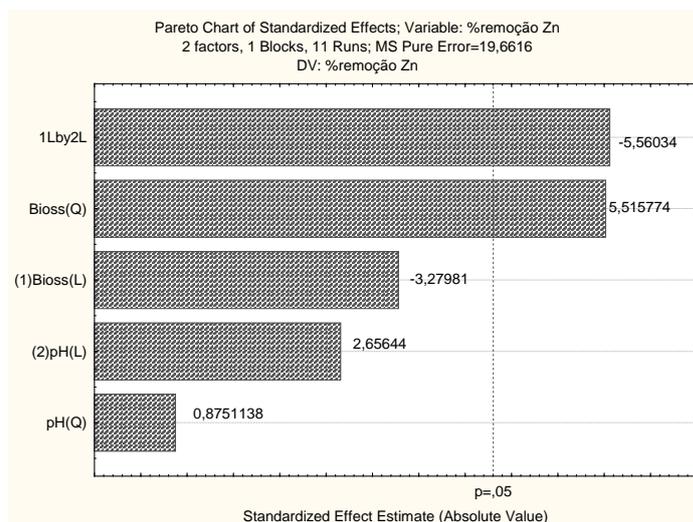
Tabela 23 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo arenoso, sistema competitivo (SC).

| | Fonte de variação | SQ | GL | MQ (Quadrado Médio) | F _{calc} | F _{tab} | F _{calc} /F _{tab} | % R ² |
|----------------------------------|------------------------|---------|----|------------------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|------------------|
| % Remoção de Cu (Solo B - SC) | <i>Regressão</i> | 930,19 | 5 | 186,04 | 1,70 | 5,05 | 0,34 | 0,63 |
| | <i>Resíduo</i> | 546,33 | 5 | 109,27 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 536,73 | 3 | 178,91 | 37,27 | 19,16 | 1,95 | |
| | <i>Erro puro</i> | 9,60 | 2 | 4,80 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 1476,52 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Zn (Solo B - SC) | <i>Regressão</i> | 1567,83 | 5 | 313,57 | 1,64 | 5,05 | 0,32 | 0,62 |
| | <i>Resíduo</i> | 958,45 | 5 | 191,69 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 919,12 | 3 | 306,37 | 15,58 | 19,16 | 0,81 | |
| | <i>Erro puro</i> | 39,32 | 2 | 19,66 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 2526,27 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Pb (Solo B - SC) | <i>Regressão</i> | 13,10 | 5 | 2,62 | 3,19 | 5,05 | 0,63 | 0,76 |
| | <i>Resíduo</i> | 4,11 | 5 | 0,82 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 1,23 | 3 | 0,41 | 0,28 | 19,16 | 0,01 | |
| | <i>Erro puro</i> | 2,88 | 2 | 1,44 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 17,21 | 10 | - | - | - | - | |

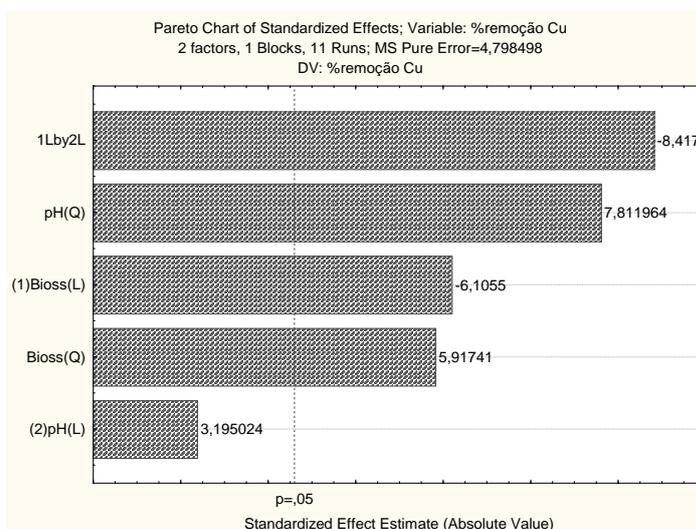
No solo arenoso é interessante observar que, assim como no solo argiloso, o metal que teve maior remoção foi o Zn, seguido do Cu e Pb. Isto ocorreu tanto em condições competitivas quanto não-competitivas. Para a situação de solo arenoso, nos quais os três metais estão presentes (SC), observa-se que o tratamento que melhor removeu os metais foi quando o surfactante estava em concentração 12 mg L⁻¹ e em pH 6. Este tratamento foi o melhor para os três metais (Tabela 22). A remoção chegou a 90,19%, 56,25% e 14,53% para o Zn, Cu e Pb, respectivamente. Esta remoção foi muito maior que os demais tratamentos. Além da já discutida questão de eletronegatividade, cabe ressaltar que alguns estudos também mostram que as maiores eficiências de remoção dos metais por ação dos extratores de lavagem, podendo incluir os surfactantes, são nos meios com menores teores do metal (MOUSSAVI; JAVIDNEJAD, 2007; CHEN et al., 2011). Neste caso, quando comparam-se os teores totais dos metais (Tabela 15), verifica-se que coincide com tal condição.

Na Figura 37 estão apresentados os gráficos de Pareto obtidos para o solo arenoso, em SC. A análise de variância mostrou que para a remoção do Cu, houve efeito significativo negativo da interação entre as variáveis, efeito positivo do pH (Q) e efeitos lineares e quadráticos da concentração do biossurfactante. Para a remoção de Zn, também houve efeito negativo da interação entre as duas variáveis e efeito positivo do biossurfactante (Q). Já para a remoção de Pb, nenhuma das variáveis apresentou efeito neste tipo de solo sob condições competitivas. Na Tabela 23 são apresentados os resultados da análise de variância deste solo e estes mostram que, embora tenha havido efeito das variáveis, o modelo de regressão gerado não é significativo. Os gráficos de superfície de resposta estão apresentados nos Apêndices (Figura 46).

(a)



(b)



(c)

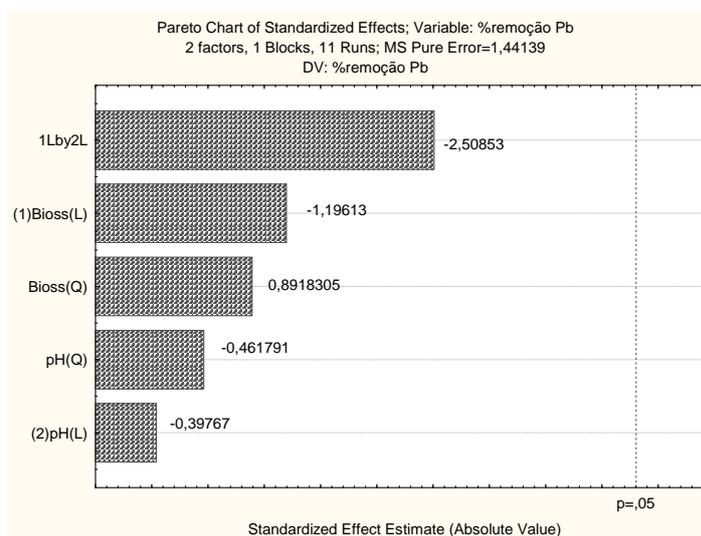


Figura 37 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a), Zn (b) e Pb (c) do solo arenoso, SC.

Os gráficos de Pareto obtidos para o solo arenoso, SNC, estão na Figura 38 e a análise de variância na Tabela 25. Esta análise mostrou que embora tenha havido efeito de algumas variáveis sobre as remoções dos metais, nenhum modelo de regressão foi

considerado significativo. Os gráficos de superfície de resposta estão apresentados nos Apêndices (Figura 46).

Tabela 24 Delineamento experimental com valores codificados e respostas quanto à eficiência de remoção dos metais Cu, Zn e Pb no solo arenoso, em sistema não-competitivo (SNC).

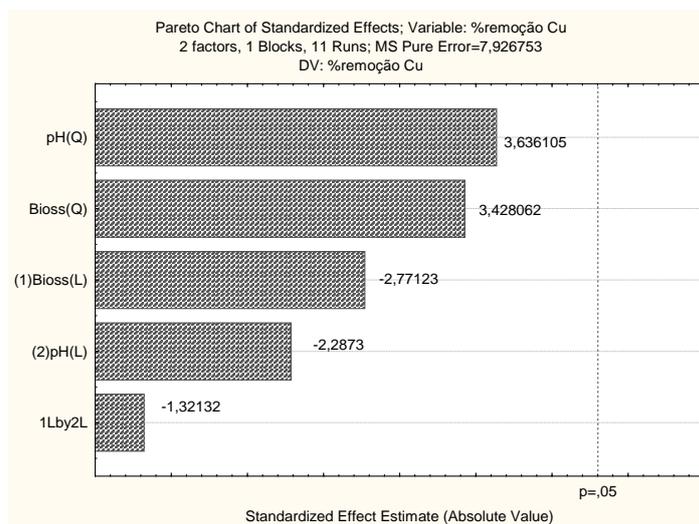
| Ensaio | Fatores | | Variáveis resposta | | |
|----------|--|-------------------|--------------------|----------------|----------------|
| | Concentração Biossurfactante ($mg L^{-1}$) | pH | Remoção Cu (%) | Remoção Zn (%) | Remoção Pb (%) |
| 1 | -1 (12) | -1 (4) | 58,71 a | 70,80 abc | 10,30 a |
| 2 | +1 (36) | -1 (4) | 58,74 a | 49,13 c | 7,81 ab |
| 3 | -1 (12) | +1 (6) | 54,93 ab | 92,92 a | 7,42 ab |
| 4 | +1 (36) | +1 (6) | 47,52 ab | 53,71 bc | 6,67 ab |
| 5 | 0 (24) | 0 (5) | 37,74 b | 67,47 abc | 7,09 ab |
| 6 | 0 (24) | 0 (5) | 42,31 ab | 64,70 abc | 7,32 ab |
| 7 | 0 (24) | 0 (5) | 42,87 ab | 80,22 ab | 6,27 ab |
| 8 | - α (7,03) | 0 (5) | 48,56 ab | 83,18 ab | 5,01 b |
| 9 | + α (40,97) | 0 (5) | 38,16 b | 52,51 c | 5,93 b |
| 10 | 0 (24) | - α (3,59) | 44,97 ab | 93,23 a | 7,24 ab |
| 11 | 0 (24) | + α (6,41) | 42,72 ab | 64,96 abc | 4,72 b |
| Controle | | | 41,03 ab | 67,77 abc | 7,14 ab |

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

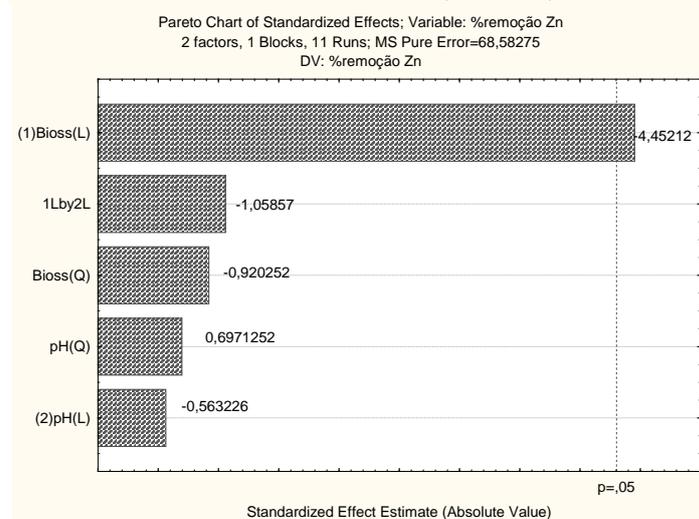
Tabela 25 Análise de variância para remoção (%) dos metais no solo arenoso, sistema não-competitivo (SNC).

| | Fonte de variação | SQ | GL | MQ (Quadrado Médio) | F _{calc} | F _{tab} | F _{calc} /F _{tab} | % R ² |
|--------------------------------|------------------------|---------|----|---------------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|------------------|
| % Remoção de Cu (Solo B - SNC) | <i>Regressão</i> | 269,58 | 5 | 53,92 | 0,91 | 5,05 | 0,18 | 0,48 |
| | <i>Resíduo</i> | 296,42 | 5 | 59,28 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 280,57 | 3 | 93,52 | 11,80 | 19,16 | 0,62 | |
| | <i>Erro puro</i> | 15,85 | 2 | 7,93 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 566,01 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Zn (Solo B - SNC) | <i>Regressão</i> | 1585,92 | 5 | 317,18 | 1,92 | 5,05 | 0,38 | 0,66 |
| | <i>Resíduo</i> | 824,06 | 5 | 164,81 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 686,90 | 3 | 228,97 | 3,34 | 19,16 | 0,17 | |
| | <i>Erro puro</i> | 137,17 | 2 | 68,59 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 2409,99 | 10 | - | - | - | - | |
| % Remoção de Pb (Solo B - SNC) | <i>Regressão</i> | 8,68 | 5 | 1,74 | 0,62 | 5,05 | 0,12 | 0,38 |
| | <i>Resíduo</i> | 14,02 | 5 | 2,80 | - | - | - | |
| | <i>Falta de ajuste</i> | 13,40 | 3 | 4,47 | 14,41 | 19,16 | 0,75 | |
| | <i>Erro puro</i> | 0,62 | 2 | 0,31 | - | - | - | |
| | <i>Total</i> | 22,69 | 10 | - | - | - | - | |

(a)



(b)



(c)

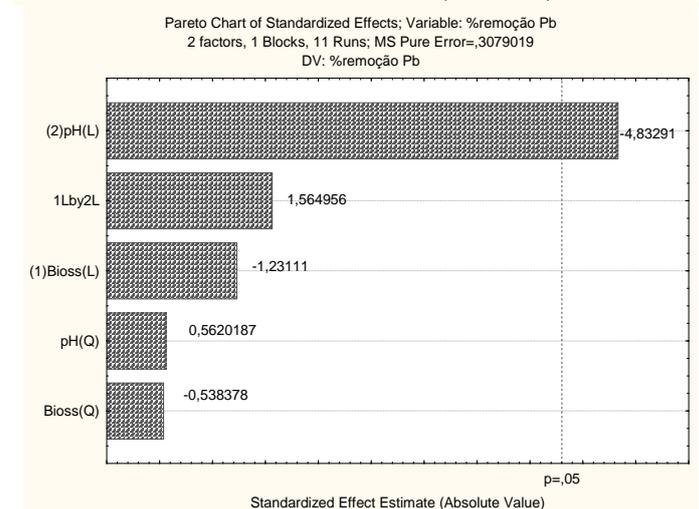


Figura 38 Diagramas de Pareto para a variável remoção (%) de Cu (a), Zn (b) e Pb (c) do solo arenoso, SNC.

Do planejamento experimental n^o I, concluiu-se que as variáveis pH e concentração da solução de biossurfactante, nos intervalos de condições aplicadas e nos solos avaliados, não apresentaram efeito sobre a remoção dos metais. De modo geral, os resultados de eficiência de remoção obtidos quando da aplicação de água pura como solução extratora não foram muito diferentes daqueles nos quais foi utilizada solução contendo o

biossurfactante em diferentes concentrações e valores de pH. De acordo com Silva (2012), a mudança no pH pode ter afetado as moléculas deste surfactante, principalmente por este conter grupos carboxilados. Neste caso, a mudança no pH pode ter convertido o surfactante em uma molécula neutra, capaz de adsorver somente por ligação de hidrogênio ou forças de dispersão.

Outros dados interessantes que foram coletados e acabaram por colaborar na análise da eficiência de remoção foram os valores de pH medidos após o período de contato entre as soluções extratoras (contendo o biossurfactante ou não) e os solos. Esta situação está elucidada na Tabela 26, na qual são apresentados os valores de pH dos extratos após contato com o solo e posterior centrifugação. Mesmo as soluções de biossurfactante tendo sido inicialmente ajustadas para valores de pH acima dos valores de pH dos solos, os extratos ficaram com pH próximos aos valores de pH do solo correspondente. Estes valores indicam que os solos, tanto o argiloso quanto o arenoso, apresentaram capacidade tampão quando da aplicação das soluções de biossurfactante em diferentes concentrações e valores de pH.

Esta capacidade tampão encontra-se ligada aos constituintes do solo. Os pontos de troca dos colóides orgânicos e minerais funcionam como receptores e fornecedores de H^+ , mantendo o pH do solo sem grandes alterações (LUCHESE, 2002). Segundo Luchese (2002), quanto maior a capacidade de troca, maior a capacidade de tamponamento de um solo. Este poder tampão dos solos estudados pode ter sido o responsável pela não-observação de efeito do pH da solução de surfactina sobre a remoção dos metais. Esta situação ocorreu tanto para o sistema competitivo (SC) quanto para o não-competitivo (SNC).

Tabela 26 Valores de pH nos extratos antes e após contato com o solos argiloso e arenoso.

| Tratamento [bioss] ¹ | Solo A | | | | | Solo B | | | |
|------------------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| | pH inicial solução | SNC | | | SC | SNC | | | SC |
| | | Cu pH _{sol} =3,9 | Zn pH _{sol} =4,4 | Pb pH _{sol} =4,5 | Cu+Zn+Pb pH _{sol} =3,9 | Cu pH _{sol} =4,0 | Zn pH _{sol} =4,6 | Pb pH _{sol} =4,2 | Cu+Zn+Pb pH _{sol} =4,0 |
| | | pH após contato com solo | | | | | | | |
| [bioss] = 12 | 3,9 | 4,27 | 4,98 | 4,63 | 4,06 | 4,41 | 4,90 | 4,51 | 4,33 |
| [bioss] = 36 | 3,9 | 4,29 | 4,94 | 4,63 | 4,06 | 4,38 | 4,90 | 4,54 | 4,32 |
| [bioss] = 12 | 6,0 | 4,31 | 5,01 | 4,77 | 4,07 | 4,46 | 4,91 | 4,67 | 4,39 |
| [bioss] = 36 | 6,0 | 4,29 | 5,01 | 4,75 | 4,07 | 4,43 | 5,12 | 4,66 | 4,37 |
| [bioss] = 24 | 4,5 | 4,27 | 4,99 | 4,67 | 4,07 | 4,51 | 5,07 | 4,55 | 4,36 |
| [bioss] = 7 | 5,0 | 4,27 | 4,98 | 4,72 | 4,03 | 4,42 | 4,98 | 4,58 | 4,40 |
| [bioss] = 40 | 5,0 | 4,30 | 4,99 | 4,74 | 4,08 | 4,46 | 5,12 | 4,55 | 4,48 |
| [bioss] = 24 | 3,6 | 4,27 | 4,95 | 4,64 | 4,09 | 4,34 | 4,80 | 4,47 | 4,27 |
| [bioss] = 24 | 6,4 | 4,30 | 4,94 | 4,69 | 4,04 | 4,42 | 5,06 | 4,67 | 4,44 |
| [bioss] = 0 (Controle) | 6,1 | 4,30 | 5,02 | 4,64 | 4,01 | 4,35 | 5,02 | 4,58 | 4,42 |

¹ Concentração do biossurfactante em mg L⁻¹

Com relação à não-observação do efeito da concentração do biossurfactante na remoção dos metais, dois fatores podem ainda ser considerados, sendo um deles a possibilidade de precipitação do surfactante quando em contato com o solo ácido e o outro a adsorção do surfactante ao solo.

Barros *et al.* (2008), que produziram o biossurfactante pela mesma cepa e condições experimentais utilizadas neste trabalho, analisaram algumas propriedades e estabilidade deste material. Quando avaliaram as propriedades deste em solução a pH variando de 2 a 13, verificaram que a tensão superficial aumentou quando o pH foi reduzido de 6 para 4. Atribuíram tal fato à possibilidade de precipitação do biossurfactante. Resultado semelhante foi encontrado por outros autores. Vaz *et al.* (2012) produziram biossurfactante a partir de cultura de *Bacillus subtilis* EG1 e, fazendo testes de estabilidade do produto obtido, constataram que este precipitava-se abaixo de pH 5,0. Os autores, por meio de análises em HPLC, compararam o biossurfactante obtido com padrões de surfactina e concluíram que o produto obtido era do tipo surfactina, porém com menor pureza que o padrão. Felix (2012), trabalhando com biossurfactante (surfactina) produzido a partir de suco de caju também verificou que a melhor atividade do biossurfactante produzido era entre pH 6 e 8. Abaixo ou acima destes valores, a atividade emulsificante diminuiu drasticamente, bem como houve aumento da tensão superficial. Antunes (2007) observou que baixos valores de pH alteram as forças eletrostáticas envolvidas na formação das emulsões, o que acaba por promover a floculação seguida da sedimentação destes flocos, levando à instabilidade. Chen *et al.* (2011) avaliaram diferentes valores de pH (6, 7, 8 e 9) na remoção de Hg com o uso de surfactina e observaram que os melhores rendimentos foram nos valores de pH mais elevados. Estes autores também consideram a possibilidade de ocorrência de precipitação da surfactina quando em condições ácidas.

Lima (2008), que produziu diversos biossurfactantes a partir de diferentes cepas de micro-organismos, avaliou a estabilidade destes biossurfactantes frente à variação de pH e na maioria dos casos observou que a atividade tensoativa dos biossurfactantes foi mantida na faixa de pH de 5 a 9. Tendo em vista que a maioria dos valores de pH das soluções variaram entre 4 e 5 (Tabela 26), pode ter ocorrido o aumento da tensão superficial e então o mecanismo proposto por Mulligan *et al.* (1999a) pode não ter sido completado. Estes autores sugerem que a remoção dos metais do solo pela surfactina ocorre após sua sorção à superfície do solo, seguida pela solubilização do metal causada pela redução da tensão superficial e atração eletrostática e, finalmente, incorporação do metal nas micelas do biossurfactante. Com isso, a etapa de solubilização do metal não ocorreu, ficando o metal e o surfactante presos ao solo.

Asçi *et al.* (2008) aplicaram solução de ramnolipídio em feldspato sódico e testaram diferentes valores de pH (5,0 a 7,6) da solução de biossurfactante 25 mM. Obtiveram resultados semelhantes de remoção de Zn entre pH 5,0 e 6,8, sendo a melhor eficiência na

remoção (83,87%) em pH igual a 6,8. Acima deste pH ocorreu queda na remoção do metal, chegando a valores próximos de 50%. Os autores colocam que este fato pode ser explicado também pela possibilidade de precipitação do metal nesta faixa de pH.

Hernández-Soriano *et al.* (2011) observaram que, em um solo básico (pH = 7,6), as maiores ocorrências de precipitação ou adsorção ocorreram quando o surfactante estava presente em menores doses, sendo que mais de 80% do surfactante adicionado inicialmente ficou adsorvido e/ou precipitado. Estes mesmos autores observaram que a presença de cálcio pode proporcionar a precipitação dos surfactantes quando estes estão em baixas concentrações. Além disso, também avaliaram sete tipos de solos e concluíram que a adsorção do surfactante, quando em altas concentrações (aproximadamente 10 CMC), ocorreu mais fortemente nos solos com maiores teores de matéria orgânica, o que indica uma interação entre a cauda hidrofóbica do surfactante com a matéria orgânica do solo.

Além disso, Amirianshoja *et al.* (2013), por meio de análises da tensão superficial, mostraram que quando a solução de surfactante entra em contato com alguma superfície adsorvente, são necessárias quantidades maiores de surfactante para que seja alcançada a mesma CMC, se comparado ao surfactante em meio livre. Para o surfactante aniônico Triton X-100, a quantidade de surfactante para atingir a CMC era de 0,025 m/v quando sozinho em solução e quando passou a estar presente com quartzo e montmorilonita, mudou para 0,5 m/v. Este novo valor de CMC que compensa a adsorção do surfactante é chamado de CMC efetiva e varia de acordo com a natureza do adsorvente e do surfactante, bem como com a relação adsorvente/surfactante (GRZADKA, 2012).

Na presença de adsorventes sólidos pode ocorrer a adsorção dos monômeros de surfactante, quando a concentração deste no meio aquoso é abaixo da CMC. Entretanto, à medida que a concentração do surfactante aumenta, começam a se formar agregados na superfície sólida. Estes agregados superficiais têm propriedades físicas semelhantes às micelas que estão em solução (LEVITZ *et al.*, 1984) e podem começar a formar admicelas ou hemimicelas. Estas diferem pelo número de camadas de monômeros agregados, sendo a primeira formada somente por uma camada e a segunda por duas camadas de monômeros de surfactante (MUHEREI *et al.*, 2009). De acordo com Harwell *et al.* (1985), ocorre um equilíbrio termodinâmico com os monômeros que estão em solução e então, há competição entre as micelas em solução e os agregados de superfície, pelos monômeros de surfactante que são adicionados no sistema.

Em virtude disto, há a possibilidade que neste primeiro planejamento o biossurfactante tenha sido todo adsorvido, explicando por que não houve ação efetiva na remoção dos metais do solo. Nas concentrações de biossurfactante utilizadas, embora algumas estivessem acima da CMC do biossurfactante puro (12 mg L⁻¹), quando entrou em

contato com o solo, esta concentração não foi suficiente para formar as micelas e o surfactante ficou preso ao solo por meio de adsorção dos seus monômeros.

3.5.2 Planejamento experimental nº II

O segundo planejamento experimental foi realizado visando avaliar a ação do biossurfactante em uma faixa mais ampla de concentração e eliminar a variação do pH (mantido em 6,5). Este planejamento foi aplicado somente no solo argiloso contaminado com os três metais ao mesmo tempo (SC). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) e regressão linear, sendo os resultados apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 Teste de médias da eficiência de remoção dos metais no solo argiloso contaminado com Zn, Cu e Pb (SC) e coeficientes de determinação da regressão linear.

| Dose de biossurfactante mg L ⁻¹ | Remoção de Cu | Remoção de Zn % | Remoção de Pb |
|---|---------------|--------------------|---------------|
| 0,0 | 74,40 aA | 80,38 aA | 44,50 aB |
| 100,0 | 35,90 bB | 65,03 bA | 5,31 bC |
| 500,0 | 27,83 cB | 61,84 bA | 3,94 bC |
| 1000,0 | 19,54 dB | 55,96 cA | 4,53 bC |
| Coeficiente de determinação linear (R²) | 0,6187 (ns) | 0,701 (ns) | 0,358 (ns) |

Obs.: Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(ns) não significativo a 5% pelo teste F; * Significativo a 5% pelo Teste F.

Cabe ressaltar que os valores de remoção (%) não podem ser comparados aos demais Planejamentos (I e III), pois as condições experimentais foram diferentes, especialmente a relação solo:solução (0,5:15 neste caso e nos demais 1:10), o que faz com que a remoção tenha sido maior neste planejamento. Outros autores também colocam que esta relação solo:solução é uma das variáveis que interfere no processo (FRANZETTI et al., 2009).

Observa-se pelo Teste de Tukey que houve diferença na remoção dos metais entre a lavagem com água e os demais tratamentos que utilizaram biossurfactante (Tabela 27), sendo que esta condição ocorreu para os três metais. Os resultados mostraram que à medida que a concentração do biossurfactante aumentou, houve menor remoção dos metais. Este comportamento mostrou-se inicialmente contrário ao que se esperava, porém após ampla revisão de literatura encontraram-se vários autores que também observaram este comportamento (HONG et al., 2002; ASÇI et al., 2007; ASÇI et al., 2008; HERNÁNDEZ-SORIANO et al., 2011; CHEN et al., 2011).

O experimento controle, no qual foi aplicado somente água destilada durante o processo de lavagem, apresentou maior capacidade de remoção dos metais do que as soluções que continham biossurfactantes em diferentes concentrações. Os metais que estavam na fração solúvel do solo e que, portanto, poderiam ser removidos apenas com a adição de água (SHUMANN, 1985; TESSIER et al., 1979), não foram removidos totalmente quando entraram em contato com o surfactante. De acordo com Costa (2011), a adição de

moléculas de surfactante pode possibilitar a insolubilização de algumas substâncias, previamente dissolvidas em solução aquosa. Este fenômeno ocorre, por exemplo, através da interação de metais pesados com surfactantes aniônicos em concentrações pré ou pós-micelares (VALENTE et al., 2008; PEREIRA et al., 2009), em que a densidade de carga positiva dos íons metálicos é neutralizada pelas cabeças aniônicas dos surfactantes.

Asçi *et al.* (2008) também verificaram tal comportamento quando aplicaram biossurfactante do tipo ramnolipídio a feldspato sódico (mineral componente do solo). Acima da concentração 25 mmol L⁻¹ (equivalente a 250xCMC) ocorreu diminuição da remoção de Zn. De acordo com Asçi *et al.* (2007), altas concentrações de biossurfactante podem resultar em selamento dos poros do solo pela dispersão de materiais finos, ou pela formação de emulsões viscosas. Hong *et al.* (2002) avaliaram a eficiência de remoção dos metais Cd, Cu, Zn e Pb pela saponina em concentrações que variaram de 0,1% a 10% e observaram que a melhor eficiência ocorreu na concentração 3%.

Chen *et al.* (2011), que verificaram a eficiência de remoção de Hg por três tipos de surfactantes, encontraram resultados mostrando que para a surfactina, quando em concentração acima de 10xCMC, havia queda na eficiência de remoção do metal. O outro surfactante aniônico, SDS, já mostrou que acima de 5xCMC havia esta queda de eficiência, enquanto o surfactante Tween-80 (não-iônico) precisou de maiores concentrações para ter a mesma eficiência, não apresentando queda até a concentração estudada (30xCMC). Os autores colocam que os surfactantes aniônicos tiveram melhor eficiência já em baixas concentrações devido à interação eletrostática entre as cargas negativas dos grupos funcionais dos surfactantes (carboxilato na surfactina e sulfato no SDS) e os íons de mercúrio (Hg²⁺), formando um complexo na forma de micela. Os autores também referem-se ao fato de que com o aumento da concentração de surfactante em concentrações múltiplas da CMC, formam-se vesículas que ultrapassam em número as micelas e com isso a estrutura e agregação também mudam, o que pode alterar o mecanismo de remoção.

Além disso, também foram comparados os resultados encontrados entre os três metais e em todas as concentrações de biossurfactante, a sequência decrescente de remoção foi: Zn > Cu > Pb. Hong *et al.* (2002) também obtiveram a mesma sequência quando avaliaram a remoção destes metais de três diferentes tipos de solos do Japão, por ação do biossurfactante saponina.

Os solos que passaram por estes tratamentos foram analisados também por FTIR com o objetivo de comprovar se existia a possibilidade do biossurfactante ter ficado preso ao solo e então não ocorrer a dessorção dos metais do solo, formando inclusive um complexo entre o metal:biossurfactante:solo.

Os espectros de infravermelho obtidos para os solos estão apresentados na Figura 39. A região de 3.750-3.400 cm⁻¹ é característica de estiramento e deformações de ligações O-H e Si-O, ou seja, caracterizada pela presença de impurezas minerais (RUSSEL, 1987,

citado por BERTONCINI, 2002). A presença do grupamento $-CH_2-$ é sempre acompanhada de picos característicos da deformação axial de C-H alifático na região de absorção de $1450-1460\text{ cm}^{-1}$ (DIAS et al., 2009).

Ao observar-se o espectro, é possível perceber que o solo que não recebeu o biossurfactante (linha vermelha – Figura 39) apresenta algumas diferenças em relação aos demais que receberam o surfactante em diferentes concentrações. Consegue-se perceber que à medida que a concentração da solução de lavagem é maior, começa a melhorar a identificação de algumas bandas, especialmente na região entre $2900-3000\text{ cm}^{-1}$. Esta região, juntamente com a próxima a $1400-1600$, são típicas da surfactina. Na região próxima a $2300-2400\text{ cm}^{-1}$ também é possível perceber similaridade entre o espectro do biossurfactante e dos solos que receberam a solução de biossurfactante.

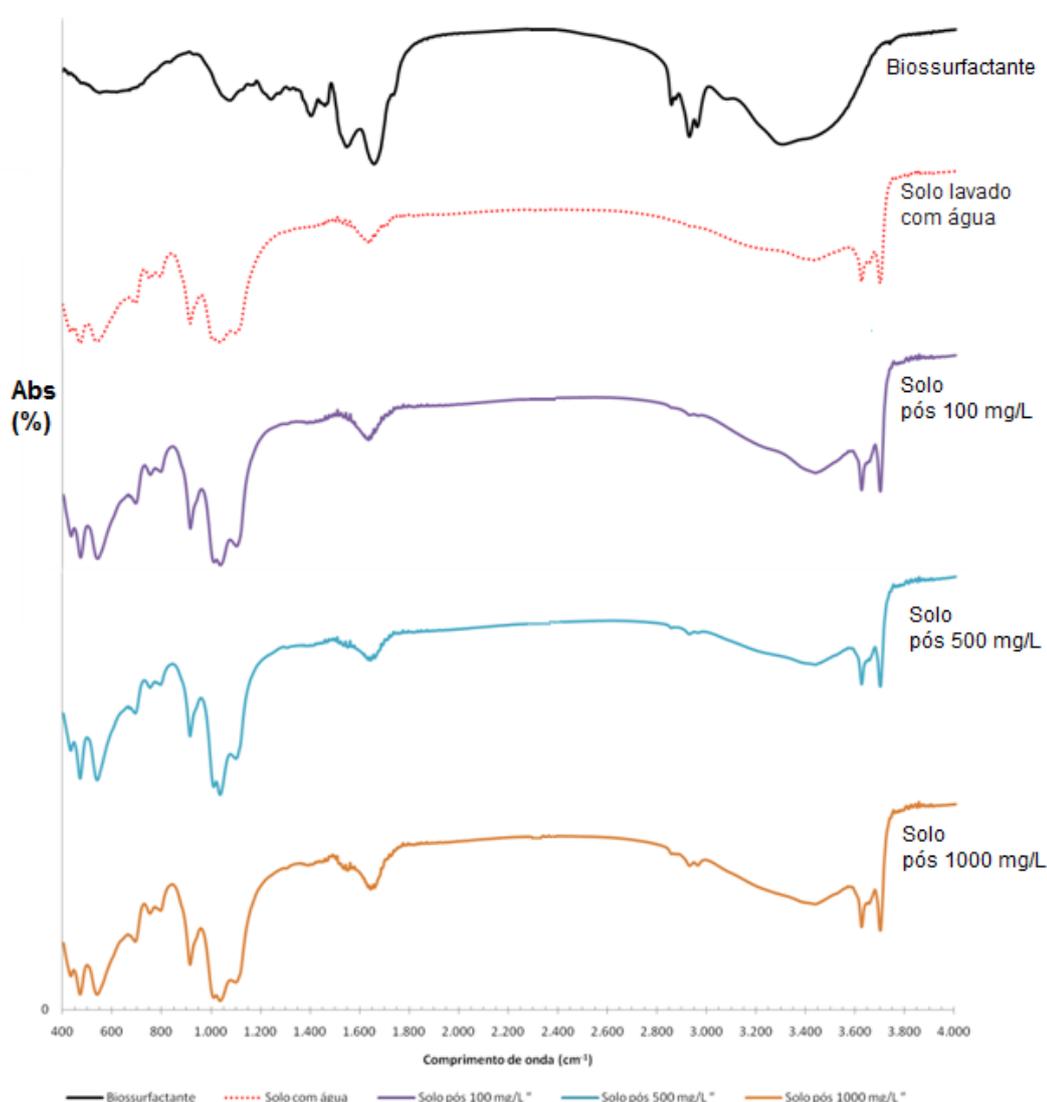


Figura 39 Espectros de infravermelho do biossurfactante puro e das amostras de solo obtidas após os procedimentos de lavagem com biossurfactante ou água.

Desta forma, os espectros de FTIR permitiram indícios reais de que o surfactante estava ficando adsorvido ao solo, porém a técnica não permite afirmar se este está

adsorvido ao solo e aos metais, ou se está precipitado. Os surfactantes podem ser imobilizados no solo por processos de adsorção e/ou precipitação (RODRIGUEZ-CRUZ et al., 2005; HERNÁNDEZ-SORIANO et al., 2011). A extensão destes processos depende das propriedades do solo, tais como conteúdos de matéria orgânica e carbonato e também do tipo de surfactante (RODRIGUEZ-CRUZ et al., 2005).

Várias pesquisas estão sendo desenvolvidas visando avaliar o comportamento adsorptivo de diferentes tipos de surfactantes em substratos com capacidade de adsorção, sendo o carvão ativado um dos mais estudados (ZOR, 2004; AHN et al., 2009; SCHOUTEN et al., 2009; SILVA, 2012). Há algumas pesquisas que tem avaliado a adsorção de surfactantes a elementos puros, tais como alumina, caulinita, sílica, ilita, montmorilonita (HUANG et al., 1996; SOMASUNDARAN; HUANG, 2000; AMIRIANSHOJA et al., 2013), porém a pesquisa em solos ainda é incipiente, o que limita a comparação entre resultados.

Haigh (1996) e Jensen (1999) afirmam que pouco se sabe sobre os modos de interação de surfactantes e componentes de solo, porém alegam que quase todas as funções naturais do solo podem ser alteradas por tensoativos, não descartando efeitos negativos dos surfactantes sintéticos. Segundo Ou (2000), a adição de surfactantes em um sistema solo/água faz com que parte das moléculas (monômeros) sejam adsorvidas pelas partículas do solo e o restante forme uma monocamada na interface ar/água. No estudo de Amirianshoja *et al.* (2013), a adsorção do surfactante não iônico Triton X-100 a uma mistura de minerais de argila foi atribuída às ligações de hidrogênio e também ligações hidrofóbicas.

Ou *et al.* (1996) avaliaram a adsorção do surfactante aniônico LAS (alquilbenzeno sulfonato linear) em diferentes tipos de solos e atribuíram o fenômeno de adsorção, principalmente, às interações de superfície (como ligações eletrostáticas, troca de ânions, adsorção por troca de ligantes, etc) e ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio podem ocorrer entre os grupos sulfonados da molécula de LAS com grupos polares (como grupos hidroxilas e fenol) da matéria orgânica do solo ou com grupos -OH das superfícies dos minerais ou óxidos. As interações específicas de superfície incluem ligações eletrostáticas dos grupos sulfonados do surfactante carregados negativamente, com pontos carregados positivamente na superfície do solo (como -NH₃⁺ da matéria orgânica ou óxidos). Pelos resultados encontrados, os autores também afirmaram que, em solos com baixo conteúdo de matéria orgânica (<1%), não ocorre o fenômeno de interação hidrofóbica. Hong *et al.* (2002) observaram adsorção da saponina em três diferentes tipos de solos e concluíram que à medida que o pH da solução diminuía, aumentava o fenômeno de adsorção ao solo. Os autores atribuíram tal comportamento ao aumento da atração eletrostática entre a saponina e a superfície do solo.

Ou *et al.* (1996) afirmam que a capacidade de adsorção dos solos depende principalmente do conteúdo de argila, não observando efeito significativo da matéria

orgânica. Já Urano *et al.* (1984) observaram correlação entre o teor de matéria orgânica de sedimentos e a adsorção de surfactante.

Rao e He (2006) avaliaram a adsorção conjunta de dois tipos de surfactantes (SDS e $A_{12}E_9$) e observaram que, após a adsorção máxima do surfactante no solo, ocorre um decréscimo desta adsorção. Os autores indicam a possibilidade de ocorrência de dissolução mineral e posterior precipitação. Os resultados também mostraram que o surfactante do tipo não-iônico ($A_{12}E_9$) teve maior capacidade de adsorção quando comparado ao SDS.

Rodriguez-Cruz *et al.* (2005) avaliaram a adsorção de SDS em diferentes tipos de solos e encontraram correlação positiva entre os solos que continham mais caulinita em sua constituição e a adsorção deste surfactante aniônico. Já a relação foi inversa quando comparado aos solos que continham mais illita e/ou montmorilonita. Os autores justificaram este comportamento devido à predominância de adsorção do ânion por atração eletrostática ou troca de ligantes. Importante ressaltar que a caulinita é um mineral que contém íons que não estão totalmente coordenadas nas bordas, da mesma forma como a superfície de óxidos. Estas arestas podem adsorver H^+ e/ou OH^- para formar a superfície hidroxilada, que, por sua vez, desenvolvem uma carga elétrica dependente do pH. De acordo com isto, a superfície da caulinita pode ser positiva ou negativa, dependendo do pH em que se encontra (PCZ da caulinita = 7,3). Além disso, os autores também observaram forte influência do conteúdo de matéria orgânica na adsorção deste surfactante, atribuindo à interação hidrofóbica.

De acordo com Silva (2012), existem diferentes mecanismos pelos quais as moléculas de um surfactante podem adsorver sobre o substrato sólido a partir de soluções aquosas. Em geral, a adsorção é governada por diferentes tipos de forças, como ligações covalentes, atrações eletrostáticas, pontes de hidrogênio ou interações não polares entre as espécies adsorvidas, bem como interações laterais associativas, solvatação e desolvatação (ZHANG; SOMASUNDARAN, 2006; AMIRIANSHOJA *et al.*, 2013). Segundo Liu *et al.* (1992), comumente a adsorção envolve íons (simples) e não as micelas. Dentre os diferentes mecanismos, Paria e Khilar (2004) citam alguns: troca iônica, pareamento de íons (emparelhamento de íons), ligação hidrofóbica, adsorção por polarização de elétrons π e adsorção por forças de dispersão.

Desta forma, são vários os fatores que afetam a adsorção dos surfactantes. De acordo com Attwood e Florence (1983) e Silva (2012), pode-se citar o comprimento da cadeia carbônica do surfactante, a adição de eletrólito, o pH, a temperatura e a natureza do substrato sólido (adsorvente). Além disso, a adsorção total é usualmente resultado da combinação de algumas das forças citadas ou de todas (ZHANG; SOMASUNDARAN, 2006).

No caso deste trabalho, atribui-se principalmente ao pH e ao tipo de substrato (solo) a ocorrência do fenômeno de adsorção do surfactante ao solo. Segundo Silva (2012), uma

mudança no pH da fase aquosa pode afetar o processo de adsorção em função do seu efeito na carga da superfície do adsorvente ou no grau de ionização do surfactante. À medida que o pH da fase aquosa diminui, a superfície sólida se torna mais positiva em função da adsorção de sítios carregados de prótons da solução, com consequente aumento na adsorção de surfactantes aniônicos. De acordo com Attwood e Florence (1983), esses efeitos são fortemente marcados em óxidos minerais como sílica, alumina e poliamidas. Esta mudança de pH pode afetar principalmente aqueles que contém grupos carboxilados ou grupos amônios não quaternários. Neste caso, uma mudança de pH pode converter um surfactante contendo um grupo iônico, capaz de uma adsorção significativa em sítios de cargas opostas, em uma molécula neutra, capaz de adsorver somente por ligação de hidrogênio ou forças de dispersão. Zhang e Somasundaran (2006) salientam que a adsorção por ligações de hidrogênio só pode ocorrer quando a ligação entre o grupo funcional do surfactante e a superfície mineral é mais forte que a ligação formada entre o mineral e as moléculas interfaciais de água.

No presente estudo, após o contato do solo com a solução de biossurfactante, observou-se que os valores de pH da solução ficaram abaixo dos valores iniciais. A esta situação atribui-se o poder tampão do solo, que foi capaz de alterar o pH da solução inicial para valores próximos aos valores de pH do solo. Com isso, pode ter ocorrido o fenômeno descrito acima.

Não se pode deixar de salientar que o tipo de substrato é muito importante para a avaliação dos resultados, porém de difícil previsão por tratar-se de uma matriz complexa formada por inúmeros grupos funcionais. Desta forma, reforça-se a idéia de que cada solo possui comportamento distinto em função de sua composição física, química e mineralógica.

A composição do solo influencia sobremaneira a adsorção de surfactantes. Em solos com illita e caulinita, assume-se que a illita interage mais fortemente com os monômeros de surfactante por meio de ligações de hidrogênio. Isto ocorre devido às cargas não balanceadas resultantes das substituições isomórficas nas lâminas octaédricas e tetraédricas (MURRAY, 2007). No caso de solos com montmorilonita, o estudo de Amirianshoja *et al.* (2013) indica que este mineral adsorve mais o surfactante do que a illita e caulinita. Tais resultados são atribuídos à presença de maior número de substituições isomórficas neste mineral.

Devido à escassez de trabalhos que comparam a adsorção de surfactante ao solo, principalmente com a presença de metais, o trabalho de Silva (2012) é importante para elucidar o comportamento de um surfactante aniônico na presença de metal (Cromo) e um adsorvente (carvão ativado). Na pesquisa, o objetivo foi verificar o potencial de adsorção de surfactante e metais a um carvão ativado, simulando-se uma técnica de tratamento de efluentes que contém estes dois tipos de substâncias. Os resultados mostraram que o

surfactante teve alta capacidade de adsorção pelo carvão (aprox. 99% de remoção). A este resultado atribuiu-se a formação de interação hidrofóbica entre o adsorvente e o surfactante.

No presente estudo, no qual a adição de surfactante proporcionou menor remoção dos metais do solo do que o experimento controle (somente água ultra pura), além de ter sido observado efeito das diferentes doses de biossurfactante, pode-se inferir que também ocorreu a adsorção do surfactante por interações hidrofóbicas ao solo. Este tipo de adsorção ocorre quando o surfactante é adsorvido por sua porção hidrofóbica (calda constituída da cadeia carbônica) e orienta a sua porção hidrofílica em direção ao meio aquoso. Desta forma, como o biossurfactante utilizado neste trabalho trata-se de um surfactante aniônico, tem-se como resultado desse tipo de adsorção um aumento de carga negativa na superfície do adsorvente (SCHOUTEN et al., 2009). Com este aumento de cargas negativas, os metais (Cu, Zn e Pb) que antes estavam na solução do solo, são adsorvidos pelos sítios ionizáveis do surfactante, o que dificulta a remoção dos metais (AHN et al., 2009). Silva (2012) observou este fenômeno quando analisou a adsorção de surfactante aniônico (LAS) a carvão ativado na presença de cromo.

Os resultados encontrados nesta etapa podem sugerir que em solo argiloso semelhante ao estudado, a adição de surfactante aniônico pode ser usada como uma técnica de remediação de metais por estabilização. Desta forma, ocorre a remediação “in situ”, na qual há aumento da fixação do elemento tóxico que está potencialmente móvel ou biodisponível, pela adição de um estabilizante (surfactante) (FUNGARO et al., 2004). Cabem estudos complementares e aprofundados a respeito desta possibilidade, já que seria necessário avaliar este efeito ao longo do tempo, uma vez que o biossurfactante tem como característica o potencial de biodegradação maior que os surfactantes sintéticos (HERNÁNDEZ-SORIANO et al., 2011).

3.5.3 Planejamento experimental nº III

As doses de biossurfactante utilizadas neste planejamento foram selecionadas com o objetivo de se alcançar valores intermediários entre os anteriormente testados, para verificar se as concentrações seriam adequadas para aumentar a eficiência de remoção. Os experimentos de lavagem foram realizados nos 10 tipos de solos (solos do planejamento nº I + 2 solos que receberam calagem).

Esta escolha foi feita porque há pesquisas que mostram que concentrações de biossurfactante muito elevadas podem diminuir a eficiência de remoção dos metais (CHEN et al., 2011) e outras que mostram que baixas concentrações podem não ser efetivas devido ao fenômeno de adsorção ao solo (ASÇI et al., 2007; ASÇI et al., 2008). Além disso, Dahrazma e Mulligan (2007) observaram que a remoção dos metais pesados do solo aumentou linearmente com o aumento da concentração de ramnolipídio.

Neste novo planejamento, entretanto, novamente o biossurfactante não apresentou efeito no aumento da remoção dos metais em relação à água ultra pura (tratamento controle). O Teste de Tukey mostrou pequenas diferenças estatísticas entre as doses, mas não é possível afirmar que houve realmente aumento ou diminuição da eficiência de remoção dos metais (Tabela 28 e Tabela 29).

Tabela 28 Teste de médias e coeficiente de determinação linear da eficiência de remoção dos metais no solo argiloso contaminado com Zn, Cu e Pb em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC).

| Dose de biossurfactante mg L ⁻¹ | Remoção de Cu | Remoção de Zn % | Remoção de Pb |
|---|---------------|--------------------|---------------|
| Solo A - SC | | | |
| 0,0 | 25,68 a | 16,36 ab | 10,44 a |
| 60,0 | 24,87 ab | 16,44 a | 10,64 a |
| 80,0 | 24,44 bc | 16,27 ab | 8,72 ab |
| 120,0 | 23,91 bc | 16,29 ab | 7,58 b |
| 160,0 | 22,59 d | 16,14 b | 6,95 b |
| 200,0 | 23,53 cd | 16,27 ab | 9,39 ab |
| Coeficiente de determinação linear (R²) | 0,805* | 0,428 (ns) | 0,343 (ns) |
| Solo A - SNC | | | |
| 0,0 | 18,30 a | 9,15 a | 0,16 b |
| 60,0 | 17,83 a | 9,41 a | 0,08 b |
| 80,0 | 17,47 a | 9,17 a | 0,00 b |
| 120,0 | 16,58 a | 9,16 a | 0,24 b |
| 160,0 | 16,51 a | 9,28 a | 5,84 a |
| 200,0 | 17,56 a | 8,95 a | 0,00 b |
| Coeficiente de determinação linear (R²) | 0,406 (ns) | 0,183 (ns) | 0,139 (ns) |

Obs.: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(ns) não significativo a 5% pelo teste F; * Significativo a 5% pelo Teste F.

Ao se fazer uma comparação geral entre os valores das remoções dos metais, observa-se que a remoção é sempre maior no solo arenoso, quando comparado ao argiloso. Hong *et al.* (2002) também obtiveram as melhores eficiências de remoção no solo arenoso, quando compararam com outros dois solos argilosos.

Outra observação interessante é que ao se fazer a comparação entre os resultados de remoção dos metais, em SC e SNC, observa-se que a remoção dos metais foi sempre maior quando em SC. Pierangeli *et al.* (2007), quando realizaram testes de dessorção de metais em solos contaminados, também observaram situação semelhante.

No solo argiloso, SC, o metal que apresentou maior remoção foi o Cu, seguido do Zn e do Pb (Tabela 28). Esta diferença de sequência em relação ao Planejamento nº I pode ser resultado da redistribuição dos metais nas diferentes frações do solo com o tempo, visto que os solos utilizados neste trabalho foram contaminados artificialmente e sabe-se que pode haver readsorções com a passar dos dias (FREITAS *et al.*, 2009; MELO *et al.*, 2006).

No caso do solo arenoso, tanto em SC quanto SNC (Tabela 29), chegou-se à mesma conclusão, ou seja, o biossurfactante não foi capaz de melhorar a eficiência de remoção dos metais.

Tabela 29 Teste de médias e coeficiente de determinação linear da eficiência de remoção dos metais no solo arenoso contaminado com Zn, Cu e Pb em sistema competitivo (SC) e não-competitivo (SNC).

| Dose de biossurfactante | Remoção de Cu | Remoção de Zn | Remoção de Pb |
|---|---------------|---------------|---------------|
| mg L ⁻¹ | | % | |
| Solo B - SC | | | |
| 0,0 | 52,54 a | 33,32 a | 18,80 a |
| 60,0 | 37,30 b | 31,13 a | 14,47 ab |
| 80,0 | 39,93 b | 32,75 a | 12,78 b |
| 120,0 | 41,50 ab | 32,87 a | 13,23 ab |
| 160,0 | 44,83 ab | 33,27 a | 11,77 b |
| 200,0 | 39,14 b | 32,23 a | 11,12 b |
| Coeficiente de determinação linear (R²) | 0,234 (n.s.) | 0,00 (n.s.) | 0,831* |
| Solo B - SNC | | | |
| 0,0 | 42,88 a | 18,30 a | 7,10 a |
| 60,0 | 38,91 a | 17,94 a | 3,83 a |
| 80,0 | 34,88 a | 17,71 a | 1,75 a |
| 120,0 | 34,22 a | 18,07 a | 1,19 a |
| 160,0 | 32,50 a | 17,98 a | 4,06 a |
| 200,0 | 35,61 a | 17,97 a | 5,46 a |
| Coeficiente de determinação linear (R²) | 0,628 (n.s.) | 0,126 (n.s.) | 0,041 (n.s.) |

Obs.: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(n.s.) não significativo a 5% pelo teste F; * Significativo a 5% pelo Teste F.

Chen *et al.* (2011) concluíram que a eficiência de remoção de metais por meio do uso de surfactantes é melhor em solução aquosa do que em solos, pois considera a possibilidade de adsorção destes ao solo, o que afeta a eficácia de remoção. Franzetti *et al.* (2009) avaliaram a eficiência de remoção de metais por ação do surfactante ramnolipídio (2% m/v) em solo contaminado com Cu, Cd, Pb, Zn e Ni, porém os resultados indicaram que o experimento controle foi melhor para todos os elementos. Entretanto, cabe ressaltar que os autores não fizeram o experimento de lavagem apenas com água, sendo que como experimento controle foi considerado solução de citrato de potássio.

Nos solos que receberam calagem (Solo A com Pb e Solo B com Zn, SNC) (Tabela 30), observa-se que o aumento do pH para 6,5 alterou a eficiência de remoção dos metais destes solos. O pH é o principal fator que governa as reações de adsorção de metais por colóides orgânicos e inorgânicos do solo (UREN, 1992). Com a elevação do pH, há aumento das cargas negativas, diminuindo a competição entre os metais e o íon hidrogênio pelo mesmo sítio de troca, aumentando assim a adsorção deste metal (CHRISTENSEN, 1984; JENNE, 1998).

No caso do solo argiloso, o aumento do pH impossibilitou a dessorção do Pb pela ação do solvente. Este comportamento pode ser resultado da precipitação deste metal na faixa de pH 6,0-6,5 ou também devido à ocorrência de adsorções mais fortes aos constituintes do solo, o que impossibilitou a ação da solução de biossurfactante. Já com relação ao Zn, a remoção do solo arenoso ocorreu, mas em menor proporção que neste mesmo solo quando em pH original (Tabela 28).

Tabela 30 Teste de médias da eficiência de remoção nos solos que receberam calagem: Zn no solo arenoso e Pb no solo argiloso, teste de Tukey.

| Dose de biossurfactante mg L ⁻¹ | Solo B (SNC) | Solo A (SNC) |
|--|---------------|---------------|
| | Remoção de Zn | Remoção de Pb |
| 0,0 | 13,80 a | 0,00 a |
| 60,0 | 10,36 b | 0,00 a |
| 80,0 | 10,48 b | 0,00 a |
| 120,0 | 13,34 a | 0,00 a |
| 160,0 | 13,01 a | 0,00 a |
| 200,0 | 13,46 a | 0,00 a |
| Coefficiente de determinação linear (R²) | 0,063 (n.s.) | - |

Obs.: Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(n.s.) não significativo a 5% pelo teste F; * Significativo a 5% pelo Teste F.

Na Figura 40 está apresentado o resultado do fracionamento químico obtido pela extração sequencial, o que confirma a ocorrência de mudança das ligações metálicas aos diferentes constituintes do solo.

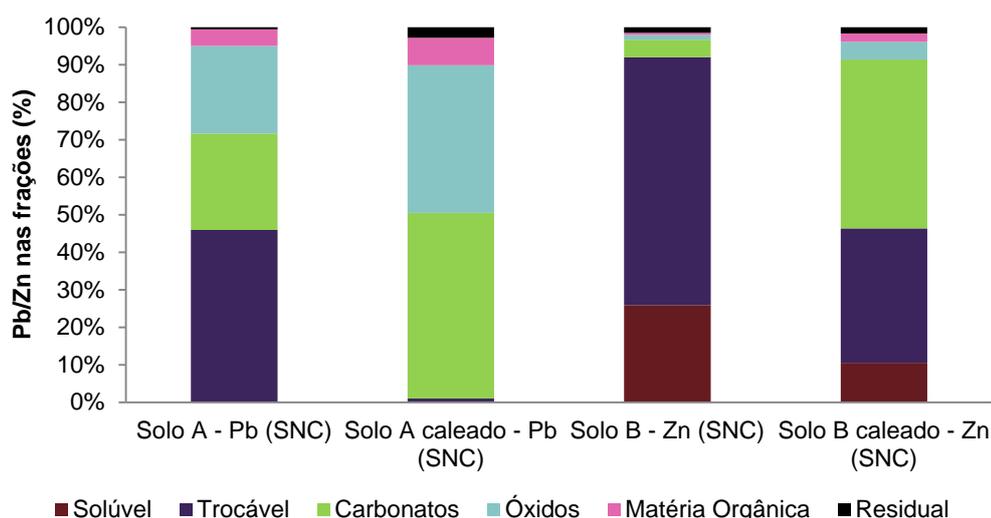


Figura 40 Fracionamento do Pb no solo argiloso e do Zn no solo arenoso antes e após a adição de calagem Ca(CO₃)₂.

É possível observar que o processo de adição de Ca(CO₃)₂ ao solo argiloso contaminado com Pb ocasionou mudança na distribuição do metal nas frações do solo. A mudança mais perceptível é com relação à fração trocável. Esta originalmente correspondia a cerca de 1.100 mg kg⁻¹ e após o processo de calagem passou a menos de 25 mg kg⁻¹ (redução média de 98%). A aplicação de calagem e o conseqüente aumento do pH (de 3,9 para 6,4) fizeram com que o Pb se redistribuísse principalmente para as frações ligadas aos carbonatos e óxidos de Fe e Mn, sendo o aumento da concentração nestas frações de 92,7% e 67%, respectivamente. Melo *et al.* (2008) também observaram a redistribuição semelhante do Pb quando aplicaram calagem em Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico.

Esta redistribuição ocorre em função da estabilidade do Pb e formação de complexos de esfera interna, quando em faixas de pH mais elevadas (McBRIDE, 1994).

O comportamento do Zn no solo arenoso que recebeu calagem foi semelhante ao obtido para o Pb no solo argiloso. Houve intensa redução dos teores das frações mais disponíveis (solúvel e trocável, 56 e 42% respectivamente) com a elevação do pH (4,5 para 6,3). Pelo gráfico obtido na Figura 40 é possível afirmar que a maior parte do Zn anteriormente presente nas frações solúvel e trocável passou para a fração ligada aos carbonatos. Os resultados confirmam que a disponibilidade dos metais diminui quando há aumento de pH. Mellis (2006) avaliou a dessorção do Zn em solos com diferentes pHs e encontrou, com o aumento do pH, uma tendência quadrática de diminuição dos valores de Zn dessorvidos. Para ele, solos com pH acima de 5,5 já praticamente não dessorviam metais pela aplicação do extrator $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,01 mol L⁻¹.

De acordo Alloway (1990), o efeito da calagem sobre a disponibilidade dos metais catiônicos se deve, principalmente, ao aumento da CTC do solo e à precipitação com carbonatos. Bar-Yosef *et al.* (1980) atribui o decréscimo da dessorção devido a adsorção do metal pelos constituintes da fase sólida. Segundo alguns autores, quando o pH do solo aumenta, o Zn é mais adsorvido pelos óxidos e hidróxidos de Fe, de Al e de Mn (STAHL; JAMES, 1991). De acordo com Zhang *et al.* (1997), o aumento do pH do solo causa a precipitação dos cátions metálicos sobre óxidos de Mn e de Fe cristalinos e amorfos, decrescendo, por sua vez, a forma trocável e ligada à matéria orgânica. Sims (1986), ao trabalhar com solo arenoso com baixo teor de matéria orgânica verificou que, numa variação de pH de 4,8 a 7,7, o Zn ligado aos óxidos de ferro amorfos aumentou de 4 para 26%, enquanto o Zn trocável diminuiu de 42 para 1%, respectivamente. De acordo com Moraghan e Mascagni (1991), acima de pH 5,5, o Zn é adsorvido a hidróxidos de Al, de Fe e de Mn. Em testes de adsorção, o aumento de uma unidade no valor de pH entre 5 e 7 causa diminuição de 30 vezes na concentração de Zn em solos ácidos. Porém, Malavolta (2006) lembra que em alguns solos, a elevação do valor de pH pode incrementar a disponibilidade de Zn devido à dissolução da matéria orgânica ou à formação de $\text{Zn}(\text{OH})^+$. Além disso, a precipitação de compostos específicos de Zn com o aumento do pH pode também explicar o decréscimo na disponibilidade desse elemento em altos valores de pH, embora a natureza de tais compostos não seja bem conhecida (LINDSAY, 1979).

3.5.4 Planejamento Experimental nº IV

Estes experimentos foram realizados tendo como principal objetivo avaliar a adsorção do biossurfactante aos solos. Na Tabela 31 estão apresentados os resultados de remoção de Cu no solo argiloso (SNC) e no solo arenoso (SNC). Observa-se novamente, em ambos os solos, que o biossurfactante não apresentou melhora na eficiência de remoção do Cu. No caso do solo arenoso inclusive ocorreu a tendência de menor remoção

do metal quando o biossurfactante esteve nas concentrações de 48 e 96 mg L⁻¹. Esta condição de perda de eficiência de remoção quando usadas maiores concentrações de surfactante já foi discutida anteriormente e corrobora com outros autores (HONG et al., 2002; ASÇI et al., 2007; ASÇI et al., 2008; CHEN et al., 2011).

Tabela 31 Teste de médias e coeficiente de determinação linear da eficiência de remoção do Cu nos solos argiloso e arenoso contaminados (SNC).

| Dose de biossurfactante mg L ⁻¹ | Remoção de Cu % | Remoção de Cu % |
|---|--------------------|--------------------|
| | Solo A (argiloso) | Solo B (arenoso) |
| 0,0 | 20,38 a | 45,08 ab |
| 24,0 | 19,50 a | 50,54 a |
| 48,0 | 15,72 a | 27,41 c |
| 96,0 | 19,34 a | 31,94 bc |
| Coeficiente de determinação linear (R²) | 0,073 (*) | 0,468 (*) |

Obs.: Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(n.s.) não significativo a 5% pelo teste F; * Significativo a 5% pelo Teste F.

A solução de biossurfactante utilizada para a lavagem dos solos foi analisada por HPLC, sendo avaliada antes de entrar em contato com o solo e após o período de contato e posterior centrifugação. Os resultados confirmaram a suspeita inicial, ou seja, realmente o biossurfactante foi adsorvido ao solo e, portanto, não foi capaz de atuar efetivamente na remoção dos metais adsorvidos ao solo. Conforme colocado por Rufino *et al.* (2011), um surfactante para ser efetivo na remoção dos metais deve permanecer em sua maior parte na solução aquosa, embora saiba-se que parte pode ser adsorvido ao solo. Portanto, quando da escolha pelo surfactante para remediação de áreas contaminadas, deve-se levar em conta a mínima interação sortiva deste com o solo.

Os cromatogramas mostraram que nos extratos que passaram pelo processo de lavagem não havia mais surfactina. A surfactina foi detectada somente nas soluções iniciais, ou seja, que não tiveram contato com o solo.

A adsorção de surfactantes em rochas, solos, materiais adsorventes e minerais de argila foi pesquisada para permitir a discussão dos resultados encontrados nesta tese.

Baseado nesta ampla revisão de literatura, pode-se afirmar que o biossurfactante produzido a partir do resíduo manipueira e classificado como surfactina foi adsorvido ao solo durante os experimentos de lavagem e então não apresentou efeito na remoção dos metais Cu, Zn e Pb dos solos estudados. Os resultados obtidos pelas análises em HPLC confirmaram que o biossurfactante foi adsorvido.

Com isso, mesmo o mecanismo proposto por Ryan e Gschwend (1994), não mostrou-se efetivo para aumentar a remoção dos metais quando comparado ao controle (água pura). Estes autores propuseram que as hemimicelas dos surfactantes aniônicos que ficam adsorvidas sobre a superfície do solo iriam proporcionar a liberação dos metais contidos nos colóides do solo por meio de forças fracas, tais como repulsão estérica.

Liu *et al.* (2002) esclarece que a natureza do modelo de adsorção do surfactante depende do tipo de surfactante, das características morfológicas e mineralógicas das rochas, dos tipos de eletrólitos presentes na solução e da presença de co-surfactantes e alcoóis. Desta forma, a adsorção dos surfactantes pode ser influenciada pelas cargas de superfície das rochas e interfaces do fluido.

Levando em conta a falta de eficiência dos diversos tratamentos com aplicação do biosurfactante, faz-se aqui algumas considerações e comparações com outros autores de pesquisas semelhantes.

Alguns estudos têm mostrado que o surfactante isolado não tem apresentado eficiência significativa na remoção dos metais de solos. Como forma de melhorar a eficiência, autores têm proposto a combinação com um ligante. Shin *et al.* (2000) demonstraram que o surfactante não-iônico Triton X-100, em combinação com um ligante inorgânico [iodeto (I^-) ou tiocianato (SCN^-)], propiciou a remoção de Cd, Cu e Zn de um solo contaminado com metais pesados e PCB's. Os autores propuseram que o ligante forma um complexo com o íon metálico na solução de surfactante, reduzindo seu caráter hidrofílico e permitindo sua adsorção no interior da micela do surfactante. O mecanismo sugerido para o aumento da eficiência de remoção de Cd pela presença do I^- na solução de lavagem é o da formação de uma molécula resultante da complexação do metal alvo com o ligante, seguida da sua solubilização na micela de surfactante (UMEBAYASHI *et al.*, 1997). Esse comportamento pode levar à dessorção simultânea de metais pesados e compostos orgânicos hidrofóbicos adsorvidos às partículas de solos e sedimentos (SHIN *et al.*, 2000).

Lima (2008) avaliou a remoção de Cd por diferentes tipos de biosurfactantes de um Latosolo Vermelho-amarelo contaminado concomitantemente com fenantreno e verificou que a remoção do Cd aumentou significativamente, para a maioria dos surfactantes avaliados, com o número de lavagens e com a concentração do ligante. Quando o biosurfactante estava puro (em concentração equivalente a $2xCMC$), a combinação de 5 lavagens foi responsável pela eficiência acumulada de remoção em torno de 70%, já com o ligante e também seguido de 5 lavagens consecutivas, a remoção chegou a 99,2%. Para este mesmo elemento, a lavagem somente com água foi responsável pela remoção de 15% do total presente no solo. Cabe ressaltar, entretanto, que quando se observa o efeito do ligante e das sucessivas lavagens, percebe-se que foi o aumento do número de lavagens o principal responsável pelos altos valores de remoção. Quando se analisa a eficiência de remoção do Cd somente após a primeira lavagem, os valores variaram entre 5,69 a 8,54%. Estes mesmos autores também verificaram a eficiência de surfactante sintético Triton X-100 e concluíram que, sem a adição do ligante, este surfactante não é efetivo na remoção de Cd do solo. Este efeito também foi observado por Shin *et al.* (2005), que obtiveram remoção de apenas 10% do Cd presente no solo por Triton X-100 na ausência do ligante I^- .

Maity *et al.* (2013) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações do biossurfactante saponina (0,015 a 0,150 g L⁻¹) em diferentes pH's (5 a 8) na remoção de Mn, Cr e Ni de solo arenoso contaminado há mais de 10 anos por estes metais (pH do solo = 7,8). Embora os autores tenham observado que as maiores doses de biossurfactante influenciaram na maior remoção dos metais (99, 73 e 25% para Ni, Cr e Mn a 0,150 g L⁻¹ do biossurfactante e pH 5), os mesmos afirmam que a variação de pH foi o que proporcionou maiores diferenças entre os resultados, sendo que as maiores remoções ocorreram no pH mais ácido (pH = 5). Os autores não realizaram as análises de fracionamento que poderiam indicar de qual fração do solo os metais estavam sendo removidos. Outra falha observada em vários trabalhos, inclusive no trabalho de Maity *et al.* (2013), é a não realização do teste de lavagem somente com água. Assim, a falta de comparação dos resultados com o meio livre de surfactante, indicam uma falha de metodologia na qual põe em dúvida a eficiência do surfactante testado. Além disso, os autores não apresentam as análises estatísticas de comparação dos resultados, o que impossibilita afirmar que não ocorreu diferença entre os resultados, estando inclusive na faixa de variação.

Li *et al.* (2009) também estudaram a eficiência de remoção da solução de saponina (7% em massa) e obtiveram remoção de Pb, Cd, Zn e Cu na ordem de 6,74%, 42,38%, 13,07% e 8,75%, respectivamente. Segundo estes autores, a saponina pode remover os metais solúveis em ácido e os metais redutíveis, o que pode diminuir os riscos ao meio ambiente. Neste trabalho os autores também não apresentaram os dados de remoção dos metais lavados apenas com água.

Dados interessantes que fazem refletir sobre os mecanismos de remoção dos metais por ação dos surfactantes são apresentados por Hernández-Soriano *et al.* (2011) e Singh e Turner (2009). Singh e Turner (2009) sugerem que a mobilização do metal por surfactante aniônico (SDS) em sedimentos de estuário ocorreu por duas vias: complexação dos metais com o surfactante e solubilização da matéria orgânica do solo, liberando, assim, mais metais. Hernández-Soriano *et al.* (2011) estudaram diferentes tipos de surfactantes aniônicos em 8 tipos de solos visando avaliar os mecanismos que ocasionavam o aumento da solubilidade de metais pesados (Cu, Cd, Ni e Zn). Os resultados mostraram que o aumento da solubilização dos metais esteve mais relacionado à solubilização da matéria orgânica do que à complexação dos metais pelo surfactante. Entretanto, cabe ressaltar que estes autores haviam proposto inicialmente 4 mecanismos que poderiam estar atuando simultaneamente durante a remoção dos metais, os quais são: (i) os surfactantes complexam os metais, (ii) o surfactante solubiliza ou imobiliza a matéria orgânica do solo que está complexada com o metal, (iii) outras propriedades da composição da solução (como Ca e pH) que afetam a distribuição do metal poderiam ser afetadas pela adição do surfactante, (iv) sorção do surfactante na fase sólida alteraria as características desta fase sólida (como cargas) e então afetaria a sorção do metal.

Para o elemento Cu, os autores (HERNÁNDEZ-SORIANO et al., 2011) compararam os resultados com o solo que foi lavado somente com água e observaram que na dose nominal correspondente a 10xCMC, os aumentos relativos foram de 8, 15 e 42% para os surfactantes Biopower, SDS e Aerosol 22, respectivamente. É interessante observar que estes autores também realizaram outro experimento no qual adicionaram surfactante ao solo e deixaram em repouso durante 72 dias. Após 14 dias do início do período de incubação, fizeram análises dos metais extraíveis por CaCl_2 e observaram uma imperceptível diferença entre o controle (sem surfactante) e os tratamentos com as diferentes doses de biossurfactante. Foi significativa a diminuição das concentrações de surfactante. Estes resultados indicaram que os surfactantes, quando deixados em repouso no solo, precipitam, degradam e/ou adsorvem ao solo e não foram capazes de aumentar a remoção dos metais. Desta forma, os autores concluíram que os surfactantes aniônicos avaliados só foram capazes de remover os metais do solo quando em altas concentrações e isso devido à dissolução da matéria orgânica. Aliado a isto, considerações análogas foram apresentadas também por Peters (1999) e Nascimento *et al.* (2006). Na comparação de um surfactante contendo grupo carboxílico em sua estrutura com outro baseado em sulfonados, os resultados mostraram que aquele com grupos carboxílicos mostrou-se mais efetivo na complexação do metal. Outra questão que deve ser levada em conta é que já foi observado que ácidos carboxílicos podem afetar a estrutura da matéria orgânica e ocasionar a dispersão dos agregados húmicos (OADES, 1984) por formarem complexos com íons de metais polivalentes, tais como Ca, Mg, Al e Fe.

No presente estudo, o biossurfactante pode ter tido pequeno efeito sobre a dissolução da matéria orgânica, uma vez que as concentrações são muito baixas. Nos estudos realizados com outros surfactantes sintéticos, é comum a utilização de concentrações maiores em função da elevada CMC destes, tais como SDS. Cabe ressaltar que os valores de surfactante utilizados neste estudo basearam-se na capacidade deste formar as micelas (CMC), porém os valores são muito diferentes entre os surfactantes sintéticos e os biossurfactantes.

3.5.5 Experimentos de lixiviação

Experimentos em coluna de solo incluem mecanismos relevantes que ocorrem em campo não encontrados em experimentos de batelada, tais como a biodegradação do surfactante e a limitação das taxas de reação de adsorção e dessorção (VOEGELIN et al., 2003; HAUSER et al., 2005).

Os resultados de concentração dos metais nos lixiviados foram analisados por Correlação de Pearson, o que mostrou que existe forte correlação entre as concentrações de Zn, Pb e Cu nos extratos lixiviados (Tabela 32), tanto para a coluna em que foi aplicado água, quanto na coluna em que foi aplicado o biossurfactante.

O pH dos percolados foi medido regularmente e situou-se entre 4,8 e 5,4 para o tratamento controle e entre 4,6 e 2,9 para a coluna em que foi aplicado biossurfactante (Figura 41). Foram observados efeitos dos tratamentos sobre o pH.

Tabela 32 Coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de metais pesados e pH nos lixiviados das colunas por onde passou biossurfactante e água.

| | pH | [Cu] mg L ⁻¹ | [Zn] mg L ⁻¹ | [Pb] mg L ⁻¹ |
|-----------------------------------|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>Coluna com biossurfactante</i> | | | | |
| pH | - | - | - | - |
| [Cu] mg L ⁻¹ | 0,66 | - | - | - |
| [Zn] mg L ⁻¹ | 0,34 | 0,85* | - | - |
| [Pb] mg L ⁻¹ | 0,62 | 0,99* | 0,88* | - |
| <i>Coluna com água</i> | | | | |
| pH | - | - | - | - |
| [Cu] mg L ⁻¹ | -0,88* | - | - | - |
| [Zn] mg L ⁻¹ | -0,92* | 0,93* | - | - |
| [Pb] mg L ⁻¹ | -0,85* | 0,98* | 0,94* | - |

* significativo a 5% ($p < 0,05$)

Na Figura 41 verifica-se que ocorreu predominância da capacidade tampão do solo, uma vez que os valores de pH dos lixiviados foram próximos aos valores de pH do solo e não ao pH das soluções extratoras (pH 6,5). A capacidade tampão encontra-se ligada aos constituintes do solo, uma vez que os pontos de trocas dos coloides orgânicos e minerais funcionam como receptores e fornecedores de H⁺, mantendo o pH do solo sem grandes alterações (LUCHESE et al., 2002).

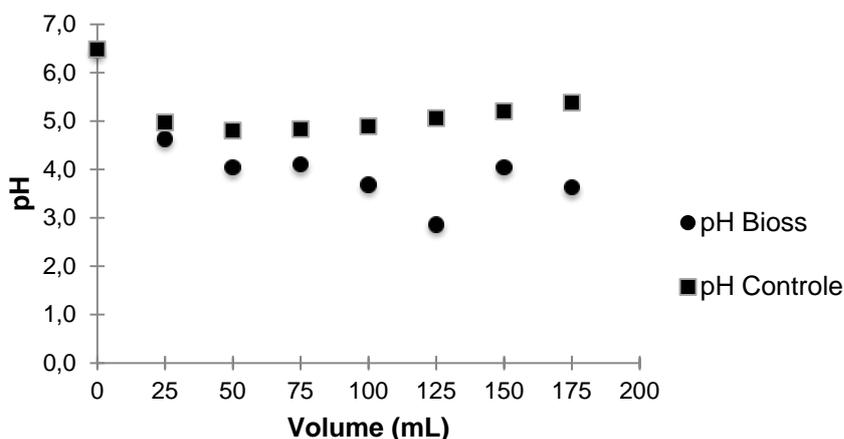


Figura 41 Leituras de pH nos lixiviados da coluna lavada com biossurfactante e apenas com água (controle).

Pode-se também observar que à medida que o solo vai sendo lavado com água, ocorre um progressivo aumento do pH. Este fato indica a perda de bases, ficando o extrato com pH próximo ao pH da solução de lavagem. Isso não ocorreu na coluna lavada com biossurfactante, indicando que as lavagens não foram suficientes para retirar as bases do

solo. Segundo Juwarkar *et al.* (2007), o pH dá uma indicação do grau de remoção de metal, porque o mecanismo de retenção/ mobilização é fortemente dependente do pH.

Observou-se também que os extratos de lixiviado na coluna com biossurfactante ficaram mais ácidos que os extratos da coluna percolada apenas com água. Estes resultados coincidem com os apresentados por Juwarkar *et al.* (2007), que realizaram lixiviação com biossurfactante do tipo di-ramnolipídio.

Hernández-Soriano *et al.* (2011) avaliaram o efeito da percolação de surfactante aniônico (Aerosol 22) em colunas de solo com baixas concentrações de metais pesados (Cu, Cr, Ni e Zn). Com relação aos valores de pH dos percolados, não observaram diferença entre o tratamento controle e a coluna que passou surfactante. Os valores de pH ficaram entre 7,5 e 8. Interessante observar que estes pHs ficaram próximos aos valores de pH do solo (pH = 7,0). Os autores atribuíram o pequeno aumento no pH devido ao contato prolongado do efluente com a atmosfera. Estes autores verificaram que ocorreu precipitação e/ou adsorção do surfactante ao solo, uma vez que avaliaram a concentração de carbono orgânico nos lixiviados e também observaram a precipitação do surfactante pela visível obstrução da coluna quando em altas concentrações. Esta obstrução ocorreu após percolados cerca de 5 volumes de poros em fluxo acelerado, e após 2 volumes de poros quando em fluxo mais lento. No presente estudo, também foi possível visualizar esta obstrução, uma vez que ocorreu uma espécie de selamento na camada superior da coluna que recebia a solução de biossurfactante.

Em relação aos teores de metais lixiviados, Hernández-Soriano *et al.* (2011) observaram que a concentração dos metais nos primeiros lixiviados foi aumentando (correspondente a 2 ou 3 volumes de poros) e então passou a ser praticamente constante, em ambas as colunas (tratamento com surfactante e controle). Para o Cu, os autores verificaram que a mobilização ocorreu em função da liberação do carbono orgânico do solo.

Estes autores também quiseram avaliar o efeito de diferentes doses de surfactante na remoção dos metais e verificaram que a remoção de Zn foi significativa somente utilizando a dose mais alta de surfactante, sendo o resultado atribuído à direta complexação do metal pelo surfactante. Não foi observado, assim como para o Cu, correlação entre os teores de Zn e carbono orgânico do solo, podendo-se explicar devido à baixa afinidade do Zn pela matéria orgânica, quando comparado ao Cu ou Cr.

Ao observar os resultados apresentados na Figura 42, nota-se que o metal que menos desorveu foi o Pb, seguido do Cu. A sequência de remoção (%) com relação aos teores iniciais dos metais é, em ordem decrescente Zn > Cu > Pb, para ambos os tratamentos (8,30; 4,82 e 2,89% – coluna com biossurfactante e 9,78; 8,98 e 2,72% para a coluna com água, respectivamente). Isso se deve às características de ligação desses elementos aos constituintes do solo. Possivelmente há formação de complexo de esfera interna, o que resulta em uma maior força de ligação dos metais às partículas de solo. Uma das principais

dificuldades na extração do Pb é a manutenção de elevados teores do metal na solução do solo, devido à baixa solubilidade natural do metal (PEREIRA et al., 2009). O comportamento do Zn é diferente. Para este elemento, há predominância de ligação do tipo não específica e ocorre formação de complexo de esfera externa. Com isso, este metal consegue se desligar das partículas de solo com mais facilidade.

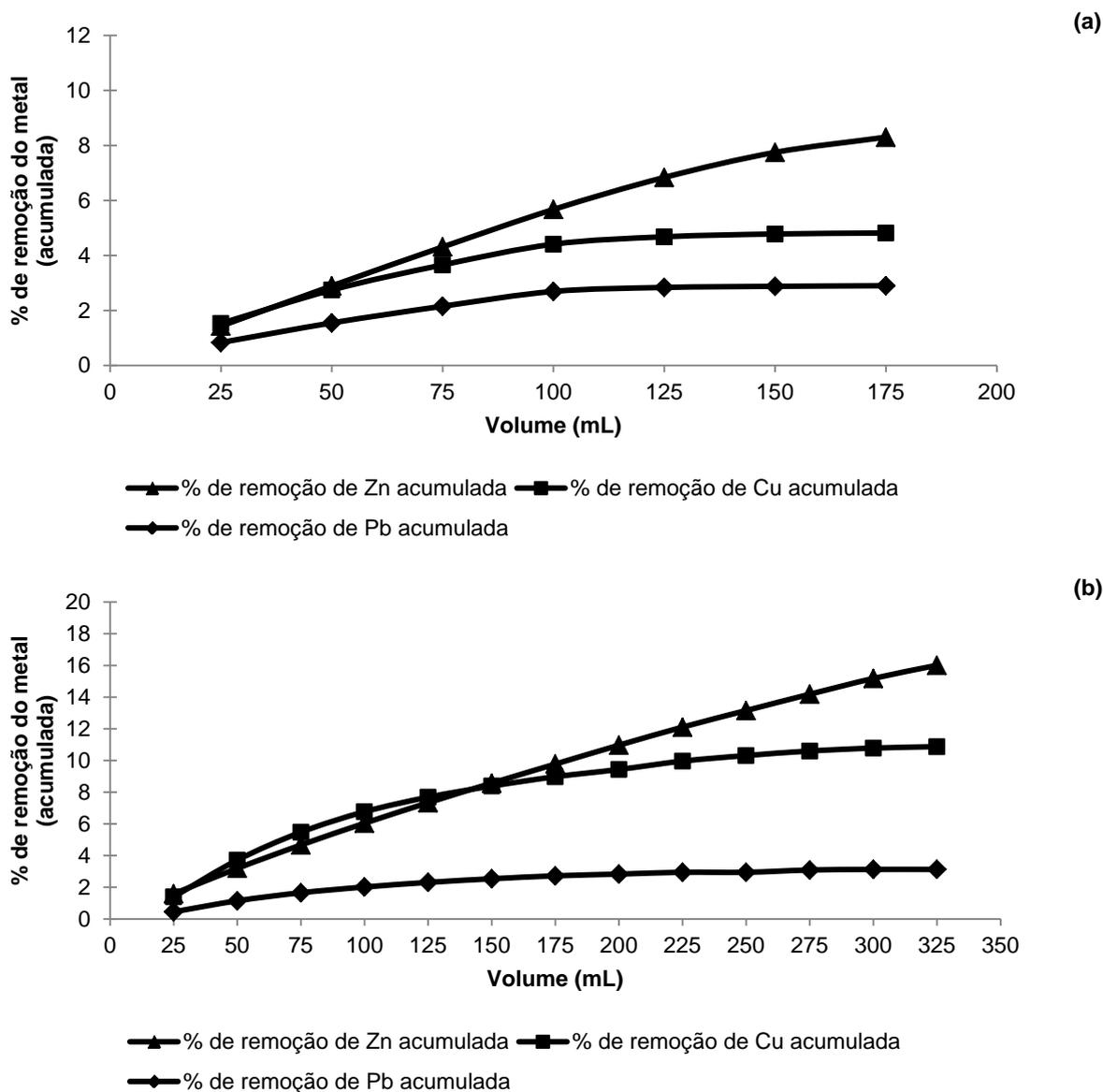


Figura 42 Porcentagem acumulada de remoção dos metais na coluna percolada com solução de biossurfactante (a) e com água (controle) (b).

Analisando as lavagens (controle e biossurfactante), pode-se perceber que a partir do volume de 100 mL há uma estabilização na remoção acumulada de Cu e Pb, enquanto que o Zn continua sendo lixiviado. A diferença de comportamento entre os metais deve-se às características de cada um deles, principalmente quanto ao tipo de interação existente entre as partículas do solo. Estudos de mobilidade de metais pesados no solo têm demonstrado que as espécies Pb, Cr e Cu apresentam baixa mobilidade, acumulando-se

superficialmente nos solos contaminados, enquanto que o Zn, Mn, Ni e principalmente Cd são relativamente mais móveis, apresentando maior risco de contaminação da água subterrânea (WELCH; LUND, 1989).

Observa-se que o experimento controle, no qual foi aplicado somente água destilada durante o processo de lavagem do solo, apresentou maior capacidade de remoção dos metais Cu e Zn do que a solução que continha biossurfactante (Figura 42). Já para o Pb, segundo os testes de comparação de retas de regressão (Tabela 33), não ocorreu diferença entre os tratamentos.

Tabela 33 Equações de regressão da lixiviação de Cu, Zn e Pb.

| Tratamento | Equação ¹ | R ² | p-valor |
|--|---------------------------|----------------|---------|
| <i>Remoção de Cu - Biossurfactante</i> | $y = 2,59 + 0,033x$ (a) | 84,7% | 0,003 |
| <i>Remoção de Cu - Controle</i> | $y = 1,64 + 0,0695x$ (b) | 94,1% | 0,000 |
| <i>Remoção de Zn - Biossurfactante</i> | $y = 0,637 + 0,0482x$ (a) | 98,2% | 0,000 |
| <i>Remoção de Zn - Controle</i> | $y = 0,420 + 0,0508x$ (b) | 99,7% | 0,000 |
| <i>Remoção de Pb - Biossurfactante</i> | $y = 1,44 + 0,0218x$ (a) | 84,2% | 0,004 |
| <i>Remoção de Pb - Controle</i> | $y = 0,533 + 0,0213x$ (a) | 94,7% | 0,000 |

¹ Letras distintas, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de comparação de duas retas de regressão, ao nível de 5% de significância.

3.5.6 Extração sequencial

Serão apresentados nesta seção os resultados do fracionamento dos metais de dois solos que passaram pelo processo de lavagem com biossurfactante, bem como o resultado do fracionamento destes solos antes de passar pelo processo de lavagem. Estes ensaios foram realizados com o objetivo de auxiliar a discussão dos resultados referentes à possível ação dos surfactantes na remoção dos metais dos solos. Entretanto, como já discutido anteriormente, as soluções de lavagem contendo biossurfactante não foram mais eficientes que as amostras controle. Desta forma, são apresentados apenas dois destes resultados com o objetivo de elucidar a razão do emprego da metodologia. Os resultados completos de fracionamento dos solos estão apresentados no apêndice (Tabela 34).

3.5.6.1 Cobre no solo arenoso

Na Figura 43 está apresentado o comportamento do Cu no solo arenoso (SNC) antes e após o processo de lavagem com biossurfactante a 60 mg L^{-1} , pH 6,5 (remoção de Cu igual a 38,9%). A eficiência de recuperação (%) de Cu neste resíduo é igual a 61,2% da concentração inicial do elemento no solo, o que significa um resultado satisfatório, visto que a remoção ocasionada pelo processo de lavagem com biossurfactante foi de 39,9% ($61,2 + 39,9 = 101,1\%$).

Neste caso, é possível perceber que inicialmente o Cu ficou, em ordem decrescente, nas seguintes frações: Trocável > Óxidos > Carbonatos > Solúvel > Matéria orgânica > Residual. Após o contato com o biossurfactante, a sequência passou a ser: Carbonatos > Trocável > Óxidos > Residual > Solúvel > Matéria orgânica.

Amaral Sobrinho *et al.* (1997) verificaram em um Argissolo com baixos teores de matéria orgânica que o Cu adicionado via resíduo siderúrgico, estava em sua maioria ligado à fração residual e óxidos de ferro. A baixa afinidade pela matéria orgânica deve-se ao fato desta estar presente em baixíssima concentração no solo arenoso ($10,72 \text{ g kg}^{-1}$), dificultando a interação que normalmente o elemento Cu apresenta com este componente do solo. O Cu é um metal que apresenta grande afinidade por ligantes orgânicos (SAUVÉ *et al.*, 2000). De acordo com Polo *et al.* (1999), esta afinidade do metal formar complexos com a matéria orgânica é um dos mecanismos mais efetivos de retenção do elemento pelo solo.

Pelos teores de Cu em cada fração, pode-se inferir que o processo de lavagem foi responsável pela remoção do Cu anteriormente presente nas frações solúvel e trocável, e também pela retirada ou remobilização da fração óxidos, uma vez que a concentração nesta passou de 223,7 para apenas $49,16 \text{ mg L}^{-1}$.

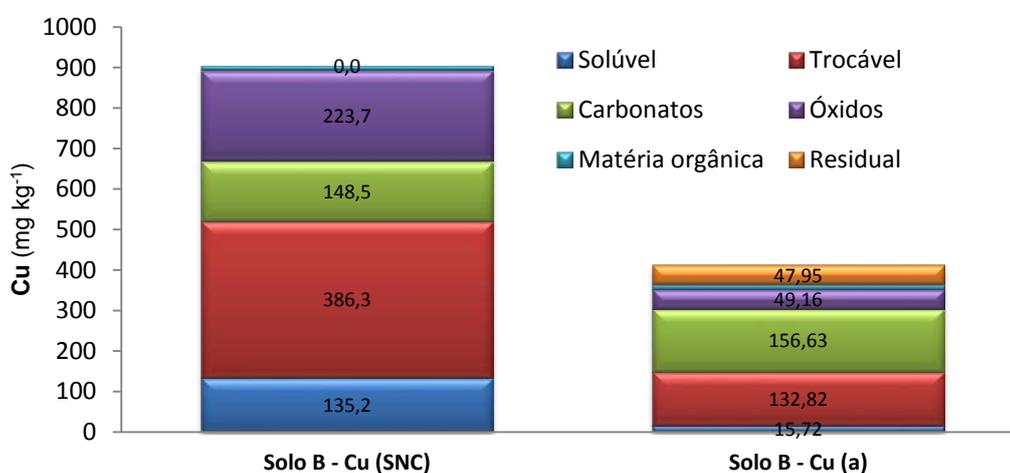


Figura 43 Fracionamento do Cu em solo arenoso (SNC), antes e após o processo de lavagem com biossurfactante: (a) [bioss] = 60 mg L^{-1} , pH = 6,5.

3.5.6.2 Zinco no solo arenoso

No caso do Zn em solo arenoso (SNC), a eficiência de recuperação (%) do metal pelo método de extração sequencial não se mostrou satisfatório, uma vez que foi apenas de 73,3% em relação ao total extraído pela metodologia de pseudo-total ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$).

A diferença observada entre o somatório das frações com o teor obtido pela extração com “água régia” deve-se ao percentual de recuperação da técnica de extração. Melo *et al.* (2008), que utilizaram a metodologia de fracionamento proposto por Shuman (1985) e Chao e Zhou (1983), no qual houve a distribuição em somente 4 frações: trocável, ligados à matéria orgânica, óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino, obtiveram baixa recuperação dos metais. Para Cd, Cu e Zn, esses valores foram de 50, 59 e 29%, respectivamente. O valor mais alto foi de 85% para o Pb. Os autores sugeriram que parte desses metais foi transferida para a fração residual (não determinada no trabalho), mas que também havia a possibilidade de estarem ligados aos óxidos de alumínio, visto que estes

são frações importantes para solos tropicais. Como não usaram extratores específicos para esta fração, os autores sugeriram que esta etapa fosse adicionada quando aplicada em solos tropicais.

De qualquer forma, é possível perceber que este metal predominou nas frações solúvel e trocável (Figura 44). Com o objetivo de verificar a distribuição do metal após o procedimento de lavagem com biossurfactante, foi realizado o mesmo procedimento de extração sequencial para a amostra que passou por lavagem e teve redução de 17,71% de Zn sob a seguinte condição: biossurfactante = 80 mg L⁻¹, pH = 6,5 (Tabela 29). Pela comparação entre os resultados (Figura 44), é possível perceber que, após a adição do biossurfactante, houve somente remoção significativa da fração solúvel, o que sugere que o biossurfactante nas condições testadas, não apresentou efeito sobre a redistribuição do metal. Provavelmente, ocorreu somente a extração do Zn devido ao biossurfactante estar em solução aquosa e esta ter habilidade em remover a fração prontamente solúvel.

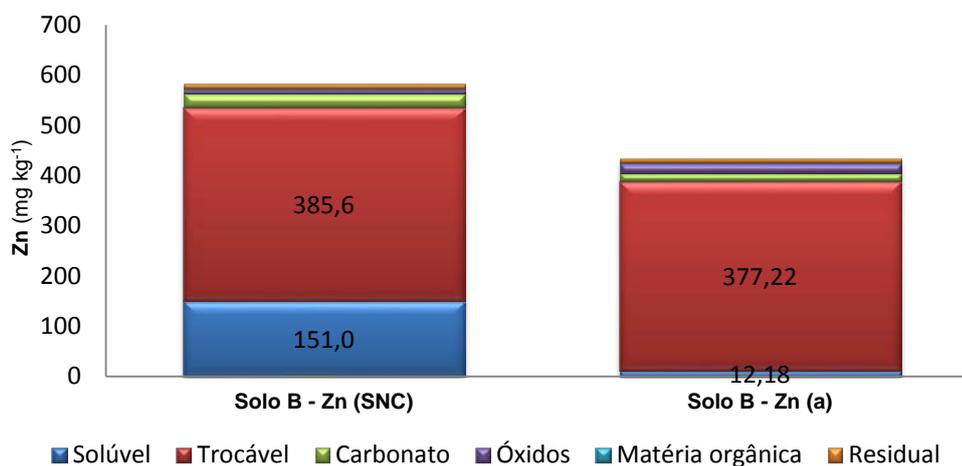


Figura 44 Fracionamento do Zn em solo arenoso (SNC), antes e após o processo de lavagem com biossurfactante: (a) [bioss] = 80 mg L⁻¹, pH = 6,5.

3.6 CONCLUSÕES

- O processo de remediação de solos contaminados com metais pesados pelo método de lavagem com biossurfactante do tipo surfactina não se mostrou efetivo nos tipos de solos analisados;
- A eficiência do método de lavagem depende das características do solo, do tipo de metal e se estes estão presentes em condições competitivas ou não no solo. De modo geral, a sequência de remoção dos metais apresentou a seguinte ordem: Zn > Cu > Pb; em condições competitivas a remoção foi sempre maior, independente do tipo de metal;
- A granulometria do solo interferiu nos resultados, uma vez que no solo arenoso o método de lavagem foi capaz de remover com maior facilidade os metais presentes;
- Para a utilização do método de lavagem do solo com surfactantes há a necessidade da realização de estudos de interação destes com o solo, a fim de buscar condições que permitam a menor interação sortiva entre eles;
- O biossurfactante foi adsorvido pelo solo por diferentes mecanismos de interação, o que não possibilitou a sua ação como agente de remoção dos metais. Devido ao solo ser uma matriz complexa, existe dificuldade em afirmar os mecanismos que ocorrem durante o processo de lavagem do solo com o biossurfactante, pois diferentes mecanismos de adsorção podem ter atuado simultaneamente;
- O biossurfactante obtido pelo processo de produção biotecnológica não deve ser aplicado em solos ácidos, uma vez que a capacidade tampão destes solos pode inativar o biossurfactante por meio de precipitação. Além disso, em virtude do baixo pH dos solos, há predominância de sítios carregados positivamente, com o consequente aumento na adsorção de surfactantes aniônicos;
- No planejamento experimental no qual foram avaliados diferentes valores de pH e concentrações da solução de lavagem de biossurfactante, a mudança no pH pode ter afetado as moléculas do surfactante, principalmente por este conter grupos carboxilados. Neste caso, a mudança no pH pode ter convertido o surfactante em uma molécula neutra, o que altera o mecanismo de interação entre os metais e o surfactante;
- A calagem provocou redução nos teores de Pb e Zn trocáveis e aumento nas frações ligadas a carbonatos e óxidos de ferro e manganês;
- Altas concentrações de biossurfactante foram capazes de demonstrar tendência a diminuir a remoção dos metais pela metodologia de lavagem do solo. A adição de surfactante aniônico pode ser uma técnica de remediação de metais por estabilização. Desta forma, ocorre a remediação “in situ”, na qual há aumento da

fixação do elemento tóxico, que está potencialmente móvel ou biodisponível, pela adição de um estabilizante;

- Nos ensaios de lixiviação, o biossurfactante também não apresentou efeito sobre a remoção dos metais, sendo que removeu concentrações de Pb, Cu e Zn próximas às removidas pelo experimento controle;
- Dentre os metais avaliados pelo experimento de lixiviação em coluna, o Pb foi o metal que menos lixiviou em ambos os tratamentos, comportamento este resultante da característica do metal de estar fortemente ligado ao solo;
- Os extratos percolados por ambas as colunas de lixiviação encontravam-se mais ácidos do que na solução inicial, ficando próximos ao pH do solo, evidenciando a capacidade tampão do solo.

3.7 REFERÊNCIAS

- AHN, C.K.; PARK, D.; WOO, S.H.; PARK, J.M. Removal of cationic heavy metal from aqueous solution by activated carbon impregnated with anionic surfactants. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 164, v.2-3, p. 1130-1136, 2009.
- ALLEONI, L.R.F., MELLO, J.W.V., ROCHA, W.S.D. Eletroquímica, adsorção e troca iônica no solo. In: MELO, V.F., ALLEONI, L.R.F. (Eds.). **Química e Mineralogia do Solo** – volume 2, Aplicações. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2009. p.69-129.
- ALLEONI, L.R.F.; IGLESIAS, C.S.M.; MELLO, S.C.; CAMARGO, O.A; CASAGRANDE, J.C.; LAVORENTI, N.A. Atributos do solo relacionados à adsorção de Cd e Cu em solos tropicais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, p. 729-737, 2005.
- ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1990. 339p.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; BARRA, C.M.; LÃ, O.R. Química dos metais pesados no solo. In: MELO, V.F.; ALLEONI, L.R.F. (Eds.). **Química e mineralogia do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009. 685p.
- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; OLIVEIRA, C. Solubilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.21, p.9-16, 1997.
- AMIRIANSHOJA, T.; JUNIN, R.; IDRIS, A.K.; RAHMANI, O. A comparative study of surfactant adsorption by clay minerals. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, online, v. 101, p. 21-27. 2013.
- ANDRADE, J.A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010.
- ANDRADE, M.G.; MELO, V.F.; GABARDO, J.; SOUZA, L.C.P.; REISSMANN, C.B. Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo: I - Fitoextração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1879-1888, 2009.
- ANJOS, J.A.S.A.; SÁNCHEZ, L.E.; BERTOLINO, L.C. Remediação de áreas contaminadas: proposições para o sítio da Plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA. In: FERNANDES, F.R.C.; BERTOLINO, L.C.; EGLER, S. (Eds.) **Projeto Santo Amaro – BA**: aglutinando ideias, construindo soluções – diagnósticos. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2012, cap. 10, p. 103-130.
- ANTUNES, M.S. Estudo à microscopia eletrônica da estabilidade física de emulsões lipídicas utilizadas em misturas 3 em 1. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 22, n.1, p. 45-53, 2007.
- ASÇI, Y.; NURBAS, M.; AÇIKEL, S.Y. Investigation of sorption/desorption equilibria of heavy metal ions on/from quartz using rhamnolipid biosurfactant. **Journal of Environmental Management**, online, v. 91, p. 724–731, 2010.
- ASÇI, Y.; NURBAS, M.; AÇIKEL, Y.S. Removal of zinc ions from a soil component Na-feldspar by a rhamnolipid biosurfactant. **Desalination**, online, v. 223, p. 361–365, 2008.
- ASÇI, Y.; NURBAS, M.; AÇIKEL, Y.S. Sorption of Cd (II) onto kaolin as a soil component and desorption of Cd(II) from kaolin using rhamnolipid biosurfactant, **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 139, p. 50–56, 2007.

ASÇI, Y.; NURBAS, M.; AÇIKEL, Y.S. Sorption of Cd(II) onto kaolin as a soil component and desorption of Cd(II) from kaolin using rhamnolipid biosurfactant. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. B139, p. 50–56, 2007.

ATTWOOD, D.; FLORENCE, A.T. **Surfactant Systems**. London: Chapman and Hall, 1983, p.25.

BARROS NETO, B; SCARMINIO, I.S; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos. Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 3. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2007.

BARROS, F.F.C. **Estudo das variáveis de processo e ampliação de escala na produção de biosurfactante por *Bacillus subtilis* em manipueira**. 2007. 117p. Dissertação (Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2007.

BARROS, F.F.C.; PONEZI, A.N.; PASTORE, G.M. Production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* LB5a on a pilot scale using cassava wastewater as substrate. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, online, v. 35, p. 1071–1078, 2008.

BAR-YOSEF, B.; FIXMEN, S.; TALPAZ, H.A. A model of zinc movement to single roots in soils. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 44, p. 1272-1279, 1980.

BERTONCINI, E.I. **Comportamento de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn em latossolos sucessivamente tratados com biossólidos: Extração sequencial, fitodisponibilidade e caracterização de substâncias húmicas**. 2002. 191p. Tese (Programa de Pós-graduação em Agronomia). Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2002.

BRASIL – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. **Resolução CONAMA n. 420 de 28 de dezembro de 2009**. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas.

BRAUD, A.; JÉZÉQUEL, K.; LÉGER, M.; LEBEAU, T. Siderophore Production by Using Free and Immobilized Cells of Two Pseudomonads Cultivated in a Medium Enriched with Fe and/or Toxic Metals (Cr, Hg, Pb). **Biotechnology and Bioengineering**, online, v. 94, p. 1080-1088, 2006.

BRUM, T. **Remediação ambiental de áreas contaminadas por explosivos**. 2010. 124p. Dissertação. (Programa de pós-graduação em Engenharia de Defesa). Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro. 2010.

BURROWS, H.D.; CHIMAMKPAM, T.O.; ENCARNAÇÃO, T.; FONSECA, S.M.; PEREIRA, R.F.P.; RAMOS, M.L.; VALENTE, A.J.M. Trivalent metal ion binding to surfactants and polyelectrolytes: a review. **Journal of Surface Science and Technology**, online, v. 26, p. 197-212, 2010.

CARDOSO, A.A; ROSA, A.H.; ROCHA, J.C. **Introdução à Química Ambiental**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

CHAO, T. T.; ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 47, p. 224-232, 1983.

CHEN, H.R.; CHEN, C.C.; REDDY, A.S.; CHEN, C.H.; LI, W.R.; TSENG, M.J.; LIU, H.T.; PAN, W.; MAITY, J.P.; ATLA, S.B. Removal of Mercury by Foam Fractionation Using

Surfactin, a Biosurfactant. **International Journal of Molecular Sciences**, online, v. 12, p. 8245-8258, 2011.

CHEUNG, K.H.; GU, J.D. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, online, v. 59, p. 8-15, 2007.

CHLOPECKA, A.; BACON, J.R.; WILSON, M.J.; KAY, J. Forms of cadmium, lead and zinc in contaminated soils from southwest Poland. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 25, p. 69-79, 1996.

CHRISTENSEN, T.H. Cadmium soil sorption at low concentrations. I Effect of time, cadmium load, pH and calcium. **Water, Air and Soil Pollution**, online, v. 21, p. 105-0114, 1984.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I.B. Microbial Surfactants and Their Use in Field Estudies of Soil Remediation. **Journal of Applied Microbiology**, online, v. 93, p. 915-929, 2002.

CHRZANOWSKI, L.; WICK, L.Y.; MEULENKAMP, R.; KAESTNER, M.; HEIPIEPER, H.J. Rhamnolipid biosurfactants decrease the toxicity of chlorinated phenols to *Pseudomonas putida* DOT-T1E. **Letters in Applied Microbiology**, online, v. 48, p. 756-762, 2009.

CHRZANOWSKI, L.; ŁAWNICZAK, L.; CZACZYK, K. Why do microorganisms produce rhamnolipids? **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, online, v. 28, p. 401-419, 2012.

CIAPINA, E.M.P. **Produção de biossurfactante por *Rhodococcus erythropolis* em biorreator de bancada e avaliação do seu efeito na biodegradação de borra oleosa da indústria do petróleo**. 2008. 139p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

CICCU, R.; GHIANI, M.; SERCI, A.; FADDA, S.; PERETTI, R.; ZUCCA, A. Heavy metal immobilization in the mining-contaminated soils using various industrial wastes. **Minerals Engineering**, online, v. 16, p. 187-192, 2003.

COOKER, E.G.; MATTHEWS, P.J. Metals in sewage sludge and their potential effects in agriculture. **Water Science and Technology**, online, v. 15, p. 209-225, 1983.

COSTA, P.B.A. **Síntese e propriedades de surfactantes di-aniónicos: interação com íões trivalentes**. 2011. 67p. Dissertação. (Programa de Pós-graduação em Química). Universidade de Coimbra, Coimbra. 2011.

COUTINHO, H.D.; BARBOSA, A.R. Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de Utilização. **Silva Lusitana**, Oeiras, v. 15, p. 103-117, 2007.

DAHRAZMA, B.; MULLIGAN, C.N. Investigation of the removal of heavy metals from sediments using rhamnolipid in a continuous flow configuration. **Chemosphere**, online, v. 69, p. 705-711, 2007.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2011. 327p.

DAS, P.; MUKHERJEE, S.; SEN, R. Biosurfactant of marine origin exhibiting heavy metal remediation properties. **Bioresource Technology**, online, v. 100, p. 4887-4890, 2009.

DIAS, B.O.; SILVA, C.A.; SOARES, E.M.B.; BETTIOL, W.; GUERREIRO, M.C.; BELIZÁRIO, M.H. Infravermelho na caracterização de ácidos húmicos de latossolo sob efeito de uso

contínuo de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 885-894, 2009.

DOONG, R.A.; WU, Y.W.; LEI, W.G. Surfactant Enhanced Remediation of Cadmium Contaminated Soils. **Water Science and Technology**, online, v. 37, p. 65-71, 1998.

DUARTE, B.; DELGADO, M.; CAÇADOR, I. The role of citric acid in cadmium and nickel uptake and translocation, in Halimione portulacoides. **Chemosphere**, online, v. 69, p. 836-840, 2007.

FELIX, A.K.N. **Caracterização e estudo da aplicabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* LAMI005 a partir do suco de caju**. 2012. 103p. Dissertação. (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2012.

FONTES, I.B.M.; ARAUJO, Q.R.; SEVERO, M.I.G. OLIVEIRA, A.H. Avaliação dos micropoluentes inorgânicos da estação de tratamento de esgoto de Ilhéus (Bahia). **Geografia**, Londrina, v. 18, p. 33-44, 2009.

FRANZETTI, A.; CAREDDA, P.; RUGGERI, C.; LA COLLA, P.; TAMBURINI, E.; PAPACCHINI, M.; BESTETTI, G. Potential applications of surface active compounds by *Gordonia* sp. strain BS29 in soil remediation technologies. **Chemosphere**, online, v. 75, p. 801-807, 2009.

FRAZER, L. Innovations. Lipid lather removes metals. **Environmental Health Perspectives**, online, v. 108, p. 320-323, 2000.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; BIONDI, C.M.; SILVA, J.P.S.; SOUZA, A.P. Dessorção e lixiviação de chumbo em espodossolo tratado com agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 517-525, 2009.

FUNGARO, D.A.; FLUES, M.S.M.; CELEBRONI, A.P. Estabilização de solo contaminado com zinco usando zeólitas sintetizadas a partir de cinzas de carvão. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, p. 582-585, 2004.

GADD, G.M. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. **Geoderma**, online, v. 122, p. 109-119, 2004.

GHIACI, M.; KIA, R.; ABBASPUR, A.; SEYEDEYN-AZAD, F. Adsorption of chromate by surfactant-modified zeolites and MCM-41 molecular sieve. **Separation and Purification Technology**, online, v. 40, p. 285-295, 2004.

GRZADKA, E. The adsorption layer in the system: carboxymethylcellulose/ surfactants/ NaCl/ MnO₂. **Journal of Surfactants and Detergents**, online, v. 15, p. 513-521. 2012.

GUEDES, C.L.B.; CORRER, C.J.; LOBO, I.; ABI-SAAB, O.J.G. Tratamento de Solo Contaminado com Petróleo Utilizando Tensoativos e Peróxido de Hidrogênio. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 87-100, 2010.

GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.; PIERANGELI, M.A.P.; ZULIANI, D.Q.; CAMPOS, M.L. MARCHI, G. Elementos-traço em solos, sedimentos e águas. In: TORRADO-VIDAL, P.; ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M.; SILVA, A.P. (Eds.) **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. v.4. p.345-390.

GUILHERME, L.R.G.; MARCHI, G. Os metais pesados no solo. **Revista DBO Agrotecnologia**, São Paulo, v. 2, p. 20-21, 2005.

GUSIATIN, Z.; KLIMIUK, E.; POKÓJ, T.; KULIKOWSKA D. Biosurfactant using in soil remediation highly contaminated with heavy metals. **New Biotechnology**, online, v. 25, p. 287-287, 2009.

HAIGH, S.D. A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil, **Science of the Total Environment**, online, v. 185, p. 161-170, 1996.

HARWELL, J.H.; SCHECHTER, R.S.; WADE, W.H. Surfactant chromatographic movement: an experimental study. **AIChE Journal**, online, v. 31, p. 415-427, 1985.

HASHIM, M.A.; MUKHOPADHYAY, S.; SAHU, J.N.; SENGUPTA, B. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. **Journal of Environmental Management**, online, v. 92, p. 2355-2388, 2011.

HAUSER, L.; TANDY, S.; SCHULIN, R.; NOWACK, B. Column extraction of heavy metals from soils using the biodegradable chelating agent EDDS. **Environmental Science and Technology**, online, v. 39, p. 6819-6824, 2005.

HERNÁNDEZ-SORIANO, M.D.C.; DEGRYSE, F.; SMOLDERS, E. Mechanisms of enhanced mobilization of trace metals by anionic surfactants in soil. **Environmental Pollution**, online, v. 159, p. 809-816, 2011.

HONG, K.J.; TOKUNAGA, S.; KAJIUCHI, T. Evaluation of remediation process with plant-derived biosurfactant for recovery of heavy metals from contaminated soils. **Chemosphere**, online, v. 49, p. 379-387, 2002.

HUANG, L.; MALTESH, C.; SOMASUNDARAN, P. Adsorption behavior of cationic and nonionic surfactant mixtures at the alumina-water interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, online, v. 117, p. 222-228. 1996.

ITURBE, R.; LOPEZ, J.; TORRES, L.G. Microbiological and physicochemical changes occurring in a contaminated soil after surfactant-enhanced soil washing. **Environmental Geosciences**, online, v. 15, n. 4, p. 1-9, 2008.

JEAN, L.; BORDAS, F.; BOLLINGER, J.C. Chromium and nickel mobilization from a contaminated soil using chelants. **Environmental Pollution**, online, v. 147, p. 729-736, 2007.

JENNE, E.A. Adsorption of metals by geomedia: Data analysis, models, controlling factors, and related issues. In: JENNE, E.A. (Ed.) **Adsorption of metals by geomedia: variables, mechanisms, and model applications**. San Diego: Academic Press, 1998, cap.1, p.1-73.

JENSEN, J. Fate and effects of linear alkylbenzene sulphonates (LAS) in the terrestrial environment, **Science of the Total Environment**, online, v. 226, p. 93-111, 1999.

JUWARKAR, A.A.; NAIR, A.; DUBEY, K.V.; SINGH, S.K.; DEVOTTA, S. Biosurfactant technology for remediation of cadmium and lead contaminated soils. **Chemosphere**, online, v. 68, p. 1996-2002, 2007.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3.ed. Boca Raton, Florida: CRC, 2001. 413p.

KIM, N.D.; HILL, S.J. Sorption of lead and thallium on borosilicate glass and polypropylene: implications for analytical chemistry and soil science. **Environmental Technology**, online, v. 14, p. 1015-1026, 1993.

- KRÄMER, U. Phytoremediation: Novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinions in Biotechnology**, online, v. 16, p. 1-9, 2005.
- LEMONS, J.L.S.; CARLOS, M.C.; FARIAS, Y.P.T.M.M.; SANTOS, R.L.C. **Revisão acerca da utilização de microrganismos na biorremediação de rejeitos industriais contendo metais pesados**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 65p. (Série Tecnologia Ambiental, 43)
- LEVITZ, P.; VAN DAMME, H.; KERAVIDIS, D. Fluorescence decay study of the adsorption of non-ionic surfactants at the solid-liquid interface. 1. Structure of the adsorbed layer on a hydrophilic solid. **Journal of Physical Chemistry**, online, v. 88, p. 2228-2235. 1984.
- LI, G.D.; ZHANG, Z.W.; JING, P.; ZHOU, N.N.; LIN, L.; YUAN, Y.F.; YU, M. Leaching remediation of heavy metal contaminated fluvio-aquatic soil with tea-saponin. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, online, v. 25, n.10, p. 231-235, 2009.
- LIMA, T.M.S. **Determinação estrutural, toxicidade, biodegradabilidade e eficácia de biossurfactantes na remoção de fenantreno e cádmio do solo**. 2008. 172p. Tese (Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2008.
- LINDSAY, W.L. **Chemical equilibria in soil**. New York: John Wiley, 1979. 439p.
- LIU, Z.; EDWARDS, D.A.; LUTHY, R.G. Sorption of non-ionic surfactants onto soil. **Water Research**, online, v. 26, p. 1337-1345. 1992.
- LUCHESE, E.B.; FAVERO, L.O.B.; LENZI, E. **Fundamentos da química do solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos Editora, 2002. 182p.
- MAITY, J.P.; HUANG, Y.M.; FAN, C.W.; CHEN, C.C.; LI, C.Y.; HSU, C.M.; CHANG, Y.F.; WU, C.I.; CHEN, C.Y.; JEAN, J.S. Evaluation of remediation process with soapberry derived saponin for removal of heavy metals from contaminated soils in Hai-Pu, Taiwan. **Journal of Environmental Sciences**, online, v. 25, p. 1180-1185, 2013.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Ceres, 2006. 638p.
- MANCILHA, J.C. **Estudo do comportamento químico do ferro micro e nanoparticulado na despoluição de solos contaminados com metais pesados**. 2007. 85p. Tese. (Programa de Pós-graduação em Engenharia e Tecnologia Espaciais). Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos. 2007.
- MATOS, A.T.; FONTES, M.P.F.; JORDÃO, C.P.; COSTA, L.M. Mobilidade e formas de retenção de metais pesados em latossolo vermelho-amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 20, p. 379-386, 1996.
- MATTOS, U.A. O.; FORTES, J.D.N.; SHUBO, A.M.R.; PORTELA, L.F.; TABALIPPA, M.; SHUBO, T. Avaliação e diagnóstico das condições de trabalho em duas indústrias de baterias chumbo-ácidas no Estado do Rio de Janeiro. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 8, p.1047-1056, 2003.
- McBRIDE, M.B. **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1994. 406p.
- MELLIS, E.V. **Adsorção e dessorção de Cd, Cu, Ni e Zn, em solo tratado com lodo de esgoto**. 2006. Tese (Agronomia). Piracicaba, SP. ESALQ/USP. 174 p.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; SANTOS, A.C.Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 1051-1060, 2006.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; SANTOS, A.C.Q.; SILVA, A.S. Disponibilidade e fracionamento de Cd, Pb, Cu e Zn em função do pH e tempo de incubação com o solo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 776-784, 2008.

MILLER, R.M. Biosurfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils. **Environmental Health Perspectives**, online, v. 103, p. 59–62, 1995.

MILLIOLI, V.S. **Avaliação da potencialidade da utilização de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo**. 2009. 200 p. Tese (Programa de pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.

MORAGHAN, J.T.; MASCAGNI JR., H.J. Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities. In: MORTVEDT, J.J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M.; WELCH, R.M. (Ed.) **Micronutrients in agriculture**. 2.ed. Madison: SSSA, 1991. p. 371-425.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 15, n. 2, 2004, p. 119-129.

MOURA, A.N. **Remediação de áreas contaminadas com metais pesados utilizando *Acidithiobacillus sp.*** 2006. 251p. Tese (Programa de pós-graduação em Engenharia Hidráulica e Sanitária). Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

MOUSSAVI, M.; JAVIDNEJAD, M. Separation of Hg(II) by foam fractionation in the acidic range: Effect of complexation. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 144, p. 187–193, 2007.

MOUSATOU, A.; GREGOU, M.; MATSAS, D.; PROTONOTARIOS, V. Washing as a remediation technology applicable in soils heavily polluted by miningmetallurgical activities. **Chemosphere**, online, v. 63, p. 1632–1640, 2006.

MUHEREI, M.A.; JUNIN, R.; MERDHAH, A.B. Adsorption of sodium dodecyl sulfate, Triton X100 and their mixtures to shale and sandstone: a comparative study. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, online, v. 67, p. 149–154. 2009.

MULLIGAN, C.N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, online, v. 133, p. 183-198, 2005.

MULLIGAN, C.N.; WANG, S. Remediation of a heavy metal-contaminated soil by a rhamnolipid foam. **Engineering Geology**, online, v. 85, p. 75-81, 2006.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N.; GIBBS, B.F. Heavy metal removal from sediments by biosurfactants. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 85, p. 111-125, 2001.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N.; GIBBS, B.F. Removal of heavy metals from contaminated soil and sediments using the biosurfactant surfactin. **Soil and Sediment Contamination**, online, v. 8, p. 231–254, 1999 (a).

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N.; GIBBS, B.F. On The Use of Biosurfactants for The Removal of Heavy Metals from Oil-Contaminated Soil. **Process Safety Progress**, online, v. 18, n. 1, p. 50-54, 1999 (b).

- MURRAY, H. **Applied Clay Mineralogy**: Occurrences, Processing, and Application of Kaolins, Bentonites, Palygorskite–Sepiolite, and Common Clays. Elsevier, Amsterdam. 2007.
- NASCIMENTO, C.W.A.; AMARASIRIWARDENA, D.; XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, online, v. 140, p.114-123. 2006.
- NASCIMENTO, C.W.A.; XING, B. Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and accumulation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p. 299-311, 2006.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. Biosurfactantes: Propriedades e Aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 772-776, 2002.
- OADES, J.M. Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. **Plant and Soil**, online, v. 76, p. 319-337, 1984.
- OCHOA-LOZA, F.J.; ARTIOLA, J.F.; MAIER, R.M. Stability constants for the complexation of various metals with a rhamnolipid biosurfactant. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, p. 479-485, 2001.
- OU, Z. **Separate and combine environmental behavior of surfactants and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)**. Tese de doutorado. Technische Universität München. Alemanha. Programa de Pós-graduação em Química Ecológica e Análise Ambiental. 2000. 272f. Disponível em: <<http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/ww/2000/ou.pdf>> Acesso em 22 jul. 2013.
- OU, Z.; YEDILER, A.; HE, Y.; JIA, L.; KETTRUP, A.; SUN, T. Adsorption of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on soils. **Chemosphere**, online, v. 32, p. 827-839, 1996.
- PARIA, S.; KHILAR, K.C. A review on experimental studies of surfactant adsorption at the hydrophilic solid-water interface. **Advances in Colloid and Interface Science**, online, v. 110, p. 75-95, 2004.
- PEREIRA, R.F.P.; VALENTE, A.J.M.; BURROWS, H.D. Thermodynamic analysis of interaction between trivalent metal ions and sodium dodecyl sulfate: An electrical conductance study. **Journal of Molecular Liquids**, online, v. 156, p. 109-114, 2010.
- PEREIRA, R.F.P.; VALENTE, A.J.M.; BURROWS, H.D.; RAMOS, M.L.; RIBEIRO, A.C.F.; LOBO, V.M.M. Flocculation and micellization of sodium dodecyl sulfate solutions in the presence of aluminium nitrate: effect of concentration and temperature. **Acta Chimica Slovenica**, Ljubljana, v. 56, p. 45-52, 2009.
- PETERS, R.W., Chelant extraction of heavy metals from contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 66, 151-210. 1999.
- PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; ANDERSON, S.J.; LIMA, J.M. Adsorção e dessorção de cádmio, cobre e chumbo por amostras de Latossolos pré-tratadas com fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, p. 377-384, 2004.
- PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; COSTA, E.T.S.; LIMA, J.M.; MARQUES, J.J.G.S.M.; FIGUEIREDO, L.F. P. Comportamento sortivo, individual e competitivo, de metais pesados em Latossolos com mineralogia contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, p. 819-826, 2007.
- PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; SILVA, M.L.N.; OLIVEIRA, L.R.; LIMA, J.M. Efeito do pH na adsorção-dessorção de chumbo em Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 269-277, 2001.

POLO, M.J.; ORDONEZ, R. GIRALDEZ, J.V. Copper and zinc adsorption by sewage sludge-treated soil in southern Spain. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 30, p. 1063-1079, 1999.

RAHMAN, K.S.M.; RAHMAN, T.J.; KOURKOUTAS, Y.; PETSAS, I.; MARCHANT, R.; BANAT, I.M. Enhanced bioremediation of *n*-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. **Bioresource Technology**, online, v. 90, p. 159–168, 2003.

RAMAMURTHY, A.S.; VO, D.; LI, X.J.; QU, J. Surfactant-enhanced removal of Cu (II) and Zn (II) from a contaminated sandy soil. **Water, Air, and Soil Pollution**, online, v. 190, p. 197-207, 2008.

RAO, P.; HE, M. Adsorption of anionic and nonionic surfactant mixtures from synthetic detergents on soils. **Chemosphere**, online, v. 63, p. 1214–1221, 2006.

RIVERO-HUGUET, M.; MARSHALL, W.D. Scaling up a treatment to simultaneously remove persistent organic pollutants and heavy metals from contaminated soils. **Chemosphere**, online, v. 83, p. 668–673, 2011.

RODRIGUEZ-CRUZ, M.S.; SANCHEZ-MARTIN, M.J.; SANCHEZ-CAMAZANO, M. A comparative study of adsorption of an anionic and a non-ionic surfactant by soils based on physicochemical and mineralogical properties of soils. **Chemosphere**, online, v. 61, p. 56–64, 2005.

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A.; FURLANI, P.R.; ABREU, C.A.; PEREIRA, B.F.F. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p. 327-334, 2007.

RON, E.Z.; ROSENBERG, E. Natural roles of biosurfactants. **Environmental Microbiology**, online, v. 3, p. 229-236, 2001.

RUFINO, R.D.; RODRIGUES, G.I.B.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; SARUBBO, L.A.; FERREIRA S.R.M. Application of a Yeast Biosurfactant in the Removal of Heavy Metals and Hydrophobic Contaminant in a Soil Used as Slurry Barrier. **Applied and Environmental Soil Science**, online, v. 2011, p. 1-7, 2011.

RYAN, J.N.; GSCHWEND, P.M. Effect of solution chemistry in clay colloid release from an iron-oxide coated aquifer sand. **Environmental Science and Technology**, online, v. 28, p. 1717-1726, 1994.

SANTOS, J.W.; MOREIRA, J.A.N.; BELTRÃO, N.E.M. Avaliação do emprego dos testes de comparação de médias na revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) de 1980 a 1994. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 225-230, 1998.

SATYAWALI, Y.; SEUNTJENS, P.; VAN ROY, S.; JORIS, I.; VANGEEL, S.; DEJONGHE, W.; VANBROEKHOVEN, K. The addition of organic carbon and nitrate affects reactive transport of heavy metals in sandy aquifers. **Journal of Contaminant Hydrology**, online, v. 123, p. 83-93, 2011.

SAUVÉ, S.; NORVELL, W.A.; McBRIDE, M.; HENDERSHOT, M. Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 34, p. 291-296, 2000.

SCHOUTEN, N.; HAM, L.G.J.V.D.; EUVERINK, G.W.; HAAN, A.B. Kinetic analysis of anionic surfactant adsorption from aqueous solution onto activated carbon and layered double

- hydroxide with the zero length column method. **Separation and Purification Technology**, online, v. 68, p. 199-207, 2009.
- SEN, R.; SWAMINATHAN, T. Response surface modeling and optimization to elucidate and analyze the effects of inoculum age and size on surfactin production. **Biochemical Engineering Journal**, online, v. 21, p. 141–148, 2004.
- SHALIGRAM, N.S.; SINGHAL, R.S. Surfactin - A Review on Biosynthesis, Fermentation, Purification and Applications. **Food Technology and Biotechnology**, online, v. 48, p. 119-134, 2010.
- SHANKER, A.K.; CERVANTES, C.; LOZA-TAVERA, H.; AVUDAINAYAGAM, S. Chromium toxicity in plants. **Environment Internacional**, online, v. 31, p. 739-753, 2005.
- SHEN, Z.G.; LIU, Y.L. Progress in the study on the plants that hyperaccumulate heavy metal. **Plant Physiology**, online, v. 34, p. 133-139, 1998.
- SHENG, X.; HE, L.; WANG, Q.; YE, H.; JIANG, C. Effects of inoculation of biosurfactant-producing *Bacillus* sp. J119 on plant growth and cadmium uptake in a cadmium-amended soil. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 155, p. 17-22, 2008.
- SHENG, X.F.; XIA, J.J. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria, **Chemosphere**, online, v. 64, p. 1036–1042, 2006.
- SHIN, M.; BARRINGTON, S.F.; MARSHALL, W.D.; KIM, J.W. Simultaneous soil Cd and PCB decontamination using a Surfactant/ligand solution. **Journal of Environmental Science and Health**, online, v. 39, p. 2783-2798, 2005.
- SHIN, M.; UMEBAYASHI, Y.; KANZAKI, R.; ISHIGURO, S.I. Formation of copper(II) thiocyanato and cadmium(II) iodo complexes in micelles of nonionic surfactants with varying poly(ethylene oxide) chain lengths. **Journal of Colloid and Interface Science**, online, v. 225, p. 112-118, 2000.
- SHUMAN, L. M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, Baltimore, v. 140, p. 11-22, 1985.
- SILVA, M.V.R. **Adsorção de Cromo Hexavalente por Carvão Ativado Granulado Comercial na Presença de Surfactante Aniônico (LAS)**. 2012. 80f. Dissertação. (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química), Universidade Federal do Pará, Belém. 2012.
- SIMS, J.T. Soil pH effects on the distribution and plant availability of manganese, copper, and zinc. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 50, p. 367-373, 1986.
- SINGH, A.; TURNER, A. Surfactant-induced mobilisation of trace metals from estuarine sediment: implications for contaminant bioaccessibility and remediation. **Environmental Pollution**, online, v. 157, p. 646-653, 2009.
- SINGH, P.; CAMEOTRA, S.S. Enhancement of Metal Bioremediation by Use of Microbial Surfactants. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, online, v. 329, p. 291-297, 2004.
- SLIVINSKI, C.T.; MALLMANN, E.; ARAÚJO, J.M.; MITCHELL, D.A.; KRIEGER, N. Production of surfactin by *Bacillus pumilus* UFPEDA 448 in solid-state fermentation using a medium based on okara with sugarcane bagasse as a bulking agent. **Process Biochemistry**, online, v. 47, p. 1848-1855, 2012.

SOARES, P.S.M.; YOKOYAMA, L.; FREIRE, D.D.C. **Transporte de metais pesados no solo no contexto da disposição de resíduos sólidos** – Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2005. 45p. (Série Tecnologia Ambiental, 33)

SOMASUNDARAN, P.; HUANG, L. Adsorption/aggregation of surfactants and their mixtures at solid–liquid interfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, online, v. 88, p. 179–208, 2000.

SONG, S.; ZHU, L.; ZHOU, W. Simultaneous removal of phenanthrene and cadmium from contaminated soils by saponin, a plant-derived biosurfactant. **Environmental Pollution**, online, v. 156, p. 1368-1370, 2008.

STAHL, R.S.; JAMES, B.R. Zinc sorption by iron-oxide-coated sand as a function of pH. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 55, p. 1287-1290, 1991.

STALIKAS, C.D. Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, online, v. 21, p. 343-355, 2002.

SUN, B.; ZHAO, F.J.; LOMBI, E.; McGRATH, S.P. Leaching of heavy metals from contaminated soils using EDTA. **Environmental Pollution**, online, v. 113, p. 111-120, 2001.

TAVARES, S.R.L. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. 2009. 415p. Tese (Programa de pós-graduação em Engenharia Civil) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.

TESSIER A.; CAMPBELL P. G. C.; BISSON M. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. **Analytical Chemistry**, online, v. 51, p. 844 – 851, 1979.

TESTARD, F.; ZEMB, T. Understanding solubilisation using principles of surfactant self-assembly as geometrical constraints. **Comptes Rendus Geoscience**, online, v. 334, p. 649-663, 2002.

TORRES, L.G.; LOPEZ, R.B.; BELTRAN, M. Removal of As, Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn from a highly contaminated industrial soil using surfactant enhanced soil washing. **Physics and Chemistry of the Earth**, online, v. 37-39, p. 30-36, 2012.

UMEBAYASHI, Y.; SHIN, M.; ISHIGURO, S.I. Thiocyanato and iodo complexation of cadmium(II) ions in micellar solutions of a nonionic surfactant Triton X-100. **Journal of Colloid and Interface Science**, online, v. 191, p. 391-397, 1997.

URANO, K.; SAITO, M.; MURATA, C. Adsorption of surfactants on sediments. **Chemosphere**, online, v. 13, p. 293–300. 1984.

UREN, N.C. Forms, reactions and availability of nickel in soils. **Advances in Agronomy**, New York, v. 48, p. 141-203, 1992.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - **TOXNET** 2002. Disponível em: <www.toxnet.nlm.nih.gov> Acesso em 22 de out. 2011.

VALENTE, A.J.M.; BURROWS, H.D.; CRUZ, S.M.A.; PEREIRA, R.F.P.; RIBEIRO, A.C.F.; LOBO, V.M.M. Aggregation and micellization of sodium dodecyl sulfate in the presence of Ce (III) at different temperatures: A conductometric study. **Journal of Colloid and Interface Science**, online, v. 323, p. 141-145, 2008.

VAZ, D.A.; GUDIÑA, E.J.; ALAMEDA, E.J.; TEIXEIRA, J.A.; RODRIGUES, L.R. Performance of a biosurfactant produced by a *Bacillus subtilis* strain isolated from crude oil samples as compared to commercial chemical surfactants. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, online, v. 89, p. 167-174, 2012.

VOEGELIN, A.; BARMETTLER, K.; KRETZSCHMAR, R., Heavy metal release from contaminated soils: comparison of column leaching and batch extraction results. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, p. 865-875. 2003.

WALSH, C.T.; SANDSTEAD, H.H.; PRASAD, A.S.; NEWBERNE, P.M.; EFFRAKER, P.J. Zinc: health effects and research priorities from the 1990's. **Environmental Health Perspectives**, online, v. 102, p. 5-46, 1994.

WAN, J.; CHAI, L.; LU, X.; LIN, Y.; ZHANG, S. Remediation of hexachlorobenzene contaminated soils by rhamnolipid enhanced soil washing coupled with activated carbon selective adsorption. **Journal of Hazardous Materials**, online, v. 189, p. 458-464, 2011.

WANG Q, FANG X, BAI B, LIANG X, SHULER PJ, GODDARD WA, III, TANG Y. Engineering bacteria for production of rhamnolipid as an agent for enhanced oil recovery. **Biotechnology and Bioengineering**, online, v. 98, p. 842-853, 2007.

WANG, S.; MULLIGAN, C.N. Rhamnolipid biosurfactant-enhanced soil flushing for the removal of arsenic and heavy metals from mine tailings. **Process Biochemistry**, online, v. 44, p. 296-301, 2009.

WELCH, J.E.; LUND, L.J. Zinc movement in sewage-sludge-treated soil as influenced by soil properties, irrigation water quality, and soil moisture level. **Soil Science**, Baltimore, v.147, p. 208-214, 1989.

ZEITOUNI, C.F. **Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico**. 2003. 91 f. Dissertação (Programa de pós-graduação em Agricultura Tropical), Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2003.

ZEITOUNI, C.F.; BERTON, R.S.; ABREU, C.A. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 649-657, 2007.

ZHANG, M.; ALVA, A.K.; LI, Y.C.; CALVERT, D.V. Chemical association of Cu, Zn, Mn and Pb in selectec sandy citrus soils. **Soil Science**, Baltimore, v. 162, p. 181-188, 1997.

ZHANG, R., SOMASUNDARAN, P. Advances in adsorption of surfactants and their mixtures at solid/solution interfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, online, v. 123-126, p. 213-229. 2006.

ZHANG, W.; TSANG, D.C.W.; LO, I.M.C. Removal of Pb and MDF from contaminated soils by EDTA- and SDS-enhanced washing. **Chemosphere**, online, v. 66, p. 2025-2034, 2007.

ZOR, S. Investigation of the adsorption of anionic surfactants at different pH values by means of active carbon and the kinetics of adsorption. **Journal of the Serbian Chemical Society**, online, v. 69, p. 25-32, 2004.

CONCLUSÕES GERAIS

Os ensaios de adsorção de metais em solo mostraram que este fenômeno ocorre por diferentes mecanismos de interação e que as características físicas, químicas e mineralógicas de cada solo interferem nesta adsorção. Além disso, a presença de mais de um metal no meio contaminante acaba por influenciar a quantidade de metal adsorvida em cada tipo de solo. Devido às diferentes forças de adsorção que ocorrem entre o metal e o solo, há influência também na consequente eficiência de remoção destes metais por métodos de lavagem do solo.

Dentre os metais avaliados, Cu, Zn e Pb, o Pb foi o que apresentou menor capacidade de remoção pelos métodos de lavagem, seja com o uso de água pura ou com solução de biossurfactante.

Os modelos físico-químicos de Langmuir e Freundlich mostraram-se, de maneira geral, melhor adequados para representar a adsorção dos metais no solo argiloso; porém, para alguns metais foram também aplicáveis no solo arenoso.

O biossurfactante produzido a partir da manipueira foi caracterizado como do tipo surfactina e mostrou-se capaz de adsorver Cu, Zn e Pb, tanto em meio líquido, quanto no solo. O potencial de seu uso no tratamento de efluentes deve ser aprofundado, uma vez que pode vir como alternativa de tratamento.

Embora a aplicação do biossurfactante em diferentes doses não seja viável na remoção dos metais pelos métodos de lavagem, tanto “soil washing” quanto “soil flushing”, os diferentes ensaios indicaram potencial de uso deste biocomposto como agente estabilizante de metais em remediação “in situ”. Esta alternativa deve ser considerada, uma vez que este biossurfactante, estando presente no solo, gera aumento da fixação do elemento tóxico no meio, o que diminui seu potencial de disponibilização para o ambiente.

RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Sugere-se a condução dos experimentos de avaliação da capacidade de remoção de metais pelo biossurfactante obtido, em matrizes menos complexas que o solo. Podem ser utilizadas matrizes simples, tais como caulinita, ilita, montmorilonita, feldspato sódico ou potássico, além de outros minerais puros para verificar o comportamento individual. Devido ao solo ser uma matriz complexa, existe dificuldade em afirmar os mecanismos que ocorrem durante o processo de lavagem do solo com o biossurfactante, pois diferentes mecanismos de adsorção podem estar atuando simultaneamente;
- Na avaliação dos extratos após contato com o solo, sugere-se fazer o acompanhamento da tensão superficial com tensiômetro e também a análise em HPLC, para verificar presença ou ausência do surfactante no meio líquido;
- Recomenda-se o uso de surfactantes em combinação com um ligante inorgânico, a exemplo do iodeto ou tiocianato, pois a literatura mostra que este ligante pode melhorar a complexação dos surfactantes com os íons metálicos. O íon ligante forma um complexo com o íon metálico na solução de surfactante, reduzindo seu caráter hidrofílico e permitindo a sua adsorção dentro da micela;
- Avaliar o potencial de aplicação da surfactina como agente de remediação por estabilização e para isto realizar também os ensaios de biodegradabilidade do biossurfactante em solo;
- Recomenda-se evoluir nas pesquisas de aplicação do biossurfactante como adsorvente de metais em meio líquido, tais como efluentes industriais;
- Avaliar o potencial de utilização deste biossurfactante em solos visando a remediação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos derivados de petróleo.

APÊNDICES

Tabela 34 Fracionamento dos metais Cu, Zn e Pb nas frações solúvel, trocável, óxidos de Fe e Mn, matéria orgânica e residual dos solos contaminados.

| Amostra | Teor total | | | Solúvel | | | Trocável | | | Carbonatos | | | Óxidos | | | Matéria orgânica | | | Residual | | |
|--------------------------------------|------------|--------|--------|---------|-------|-------|----------|-------|--------|------------|-------|--------|--------|-------|-------|------------------|------|-------|----------|------|-------|
| | Cu | Zn | Pb | Cu | Zn | Pb | Cu | Zn | Pb | Cu | Zn | Pb | Cu | Zn | Pb | Cu | Zn | Pb | Cu | Zn | Pb |
| ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SNC - sistema não-competitivo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Argiloso Cu | 1834,78 | - | - | 261,7 | - | - | 550,7 | - | - | 431,6 | - | - | 486,0 | - | - | 105,0 | - | - | 190,9 | - | - |
| Argiloso Zn | - | 1558,4 | - | - | 219,4 | - | - | 729,8 | - | - | 150,5 | - | - | 195,3 | - | - | 44,6 | - | - | 99,4 | - |
| Argiloso Pb | - | - | 2621,1 | - | - | 122,8 | - | - | 1237,7 | - | - | 519,1 | - | - | 410,3 | - | - | 132,3 | - | - | 155,8 |
| Argiloso Pb c/ calagem | - | - | 2621,1 | - | - | 0,0 | - | - | 24,8 | - | - | 1185,8 | - | - | 944,5 | - | - | 174,8 | - | - | 67,3 |
| Arenoso Cu | 673,8 | - | - | 135,2 | - | - | 386,3 | - | - | 148,5 | - | - | 223,7 | - | - | 12,3 | - | - | 0,0 | - | 135,2 |
| Arenoso Zn | - | 795,9 | - | - | 151,0 | - | - | 385,6 | - | - | 27,4 | - | - | 7,5 | - | - | 3,3 | - | - | 8,5 | - |
| Arenoso Zn c/ calagem | - | 795,9 | - | - | 65,9 | - | - | 223,7 | - | - | 281,1 | - | - | 29,2 | - | - | 14,1 | - | - | 10,3 | - |
| Arenoso Pb | - | - | 1732,2 | - | - | 96,5 | - | - | 1584,9 | - | - | 203,7 | - | - | 32,1 | - | - | 0,0 | - | - | 0,0 |
| SC - sistema competitivo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Argiloso Pb/Cu/ Zn | 1495,7 | 985,5 | 1531,6 | 329,5 | 524,4 | 122,8 | 307,5 | 383,4 | 1237,7 | 381,7 | 36,0 | 519,1 | 450,1 | 71,4 | 410,3 | 147,0 | 9,5 | 132,3 | 205,2 | 51,9 | 155,8 |
| Arenoso Pb/Cu/ Zn | 604,0 | 437,8 | 1410,6 | 249,0 | 352,2 | 186,0 | 166,9 | 155,4 | 955,6 | 66,1 | 3,5 | 161,6 | 40,4 | 21,0 | 51,4 | 15,8 | 2,6 | 3,5 | 36,7 | 3,7 | 32,2 |

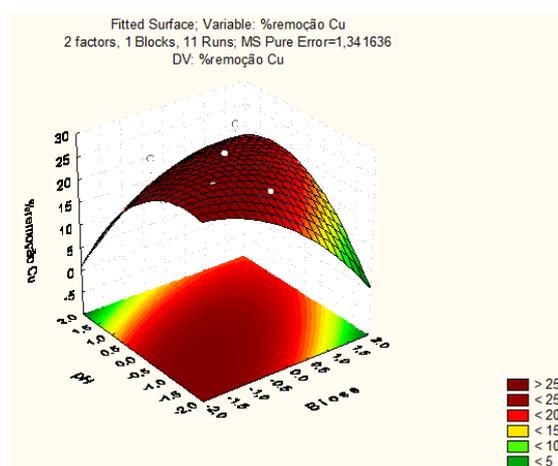
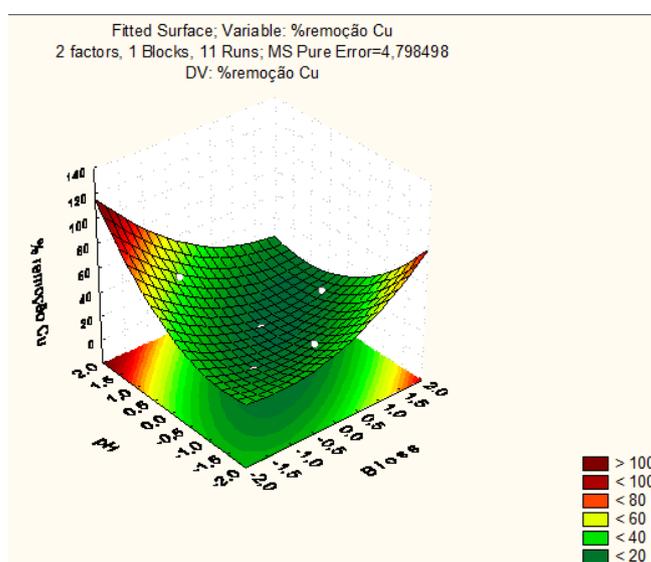
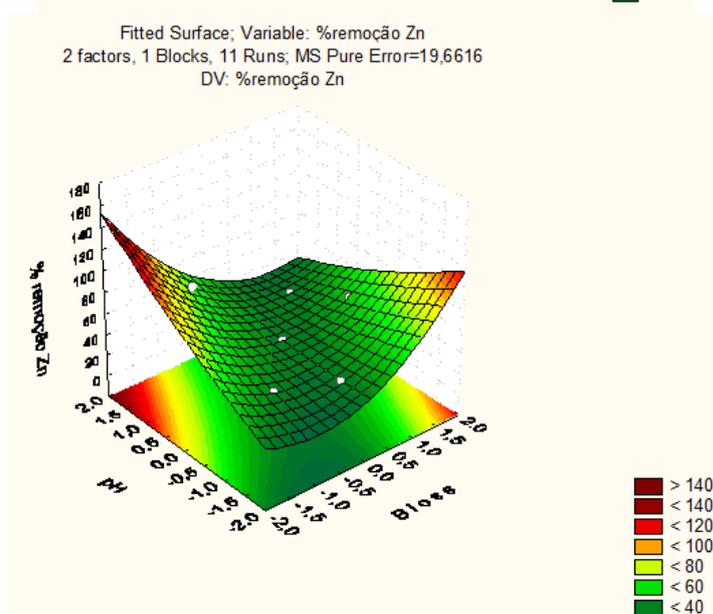


Figura 45 Superfície de resposta para o efeito do pH e da concentração de biosurfactante na remoção (%) de Cu do solo argiloso, SC.



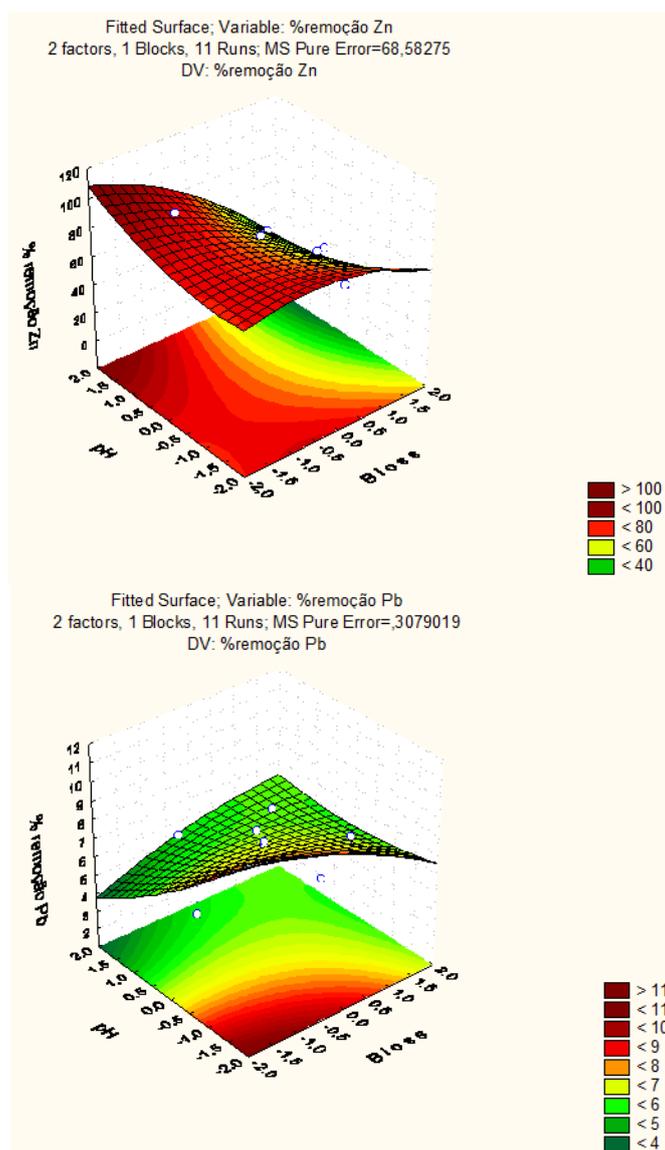
(a)



(b)

Figura 46 Superfície de resposta para o efeito do pH e da concentração de biosurfactante na remoção (%) de Cu (a) e Zn (b) do solo arenoso, SC.

(a)



(b)

Figura 47 Superfície de resposta para o efeito do pH e da concentração de biossurfactante na remoção (%) de Zn (a) e Pb (b) do solo arenoso, SNC.