



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUIMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DENISE PERES DOS SANTOS SARDINHA

**PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE DE *Bacillus subtilis* E SUA APLICAÇÃO NA
FLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS PROVENIENTES DO
BENEFICIAMENTO DE CAULIM**

BELEM 2014

DENISE PERES DOS SANTOS SARDINHA

**PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE DE *Bacillus subtilis* E SUA APLICAÇÃO NA
FLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS PROVENIENTES DO
BENEFICIAMENTO DE CAULIM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPEQ), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.
Área de concentração: desenvolvimento de processos.

Orientadora: Prof^a. D^a. Samira Maria Leão de Carvalho.

BELÉM 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Sardinha, Denise Peres dos Santos

Produção de Biofloculante de *Bacillus subtilis* e sua aplicação na floculação de suspensões de resíduos provenientes do beneficiamento de caulim /Denise Peres dos Santos Sardinha_ Belém – 2014.

Orientadora, Samira Maria Leão de carvalho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2010

1. Coagulação 2. Caulim - Belém (PA) 3. Resíduos industriais
I. Título

CDD 22.ed. 628.1622

DENISE PERES DOS SANTOS SARDINHA

**PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE DE *Bacillus subtilis* E SUA APLICAÇÃO NA
FLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS PROVENIENTES DO
BENEFICIAMENTO DE CAULIM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPEQ), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.
Área de concentração: desenvolvimento de processos.

Julgado em: 27 / 09 / 2010

Conceito: APROVADO

Banca Examinadora:

Samira M^{te} Leão de Carvalho Orientador

Profa. Dr^a Samira Maria Leão de Carvalho,
PPEQ/ITEC/UFPA

Roberto Neves Membro

Prof^o Dr Roberto de Freitas Neves,
PPEQ/ITEC/UFPA

Lúcia Beckmann de Castro Menezes Membro

Prof. Dr^a Lúcia Beckmann de Castro Menezes,
Professora do Centro de Ensino Superior do Pará/CESUPA.

Aos meus pais, Maria de Fátima e Carlos Alberto
pelo apoio e incentivo para realização deste presente trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter abençoado meu caminho

A minha orientadora, Profa. Dra. Samira Maria Leão de Carvalho, pela excelente orientação, incentivo, paciência, dedicação, e-mails trocados, oportunidade de aprendizado e, principalmente, por todo o imensurável conhecimento transmitido.

Aos meus pais, Maria de Fátima e Carlos Alberto pelo apoio incondicional.

Ao meu esposo e companheiro Edson Rodrigues, pela presença sempre constante, estimulando-me nos momentos mais difíceis a seguir no objetivo que traçamos.

A minha grande amiga Louise, pelo auxílio na obtenção das análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), realizadas no Laboratório de Tecnologias do Hidrogênio (LABTECH) da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

A minha amada amiga Cláudia, pela ajuda na obtenção das determinações de cátions, realizadas no laboratório *Chemyka* Consultoria Química (Manaus, AM).

Ao professor Prof. Dr. Roberto Neves, pelo auxílio na obtenção dos resíduos de caulim proveniente da operação de centrifugação

Ao engenheiro Gleydson Souza, pela ajuda na obtenção do Efluente Industrial.

A técnica Vitória do Laboratório de Controle Ambiental (Grupo de Processos Ambientais, GPA/FEQ/ITEC) da Universidade Federal do Pará por ser uma amiga tão prestativa nas horas mais urgentes.

A FAPESPA pelo auxílio financeiro concedido.

Obrigada a todos aqueles que contribuíram de algum modo para a conclusão deste trabalho.

“O ser humano só cresce quando recebe um desafio superior à sua capacidade atual”.

Vicente Falconi Campos

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a floculação de suspensões de resíduos de caulim provenientes do processo de beneficiamento de caulim empregando biofloculante produzido a partir de células e produtos extracelulares de *Bacillus subtilis*. Os ensaios foram realizados em escala de bancada em equipamento *Jar test*. O estudo foi realizado em três etapas. 1) produção de biofloculante, 2) biofloculação de suspensões de resíduo de caulim, otimização do processo empregando planejamento estatístico e 3) biofloculação e coagulação/floculação química de efluente industrial líquido (EIL) proveniente da bacia de rejeito do processo de beneficiamento de caulim. O biofloculante foi obtido a partir do cultivo de *B. subtilis*, cepa liofilizada (certificada) em meio de cultura TSB (*Tryptic Soy Broth*). O cultivo e a determinação da densidade de células na suspensão bacteriana (biofloculante) foram realizados, conforme metodologias padronizadas. Como resultados obtiveram-se 50 mL de biofloculante ($8,7 \times 10^8$ UFC/mL de suspensão). Na segunda etapa da pesquisa foram realizados ensaios de biofloculação em suspensões de um resíduo de caulim proveniente da operação de centrifugação. O ponto de carga zero (PCZ) do resíduo foi determinado por titulação potenciométrica de massa (TPM) e técnica de imersão (TI). O processo de biofloculação foi estudado empregando-se um delineamento estatístico composto central rotacional (DCCR), com e sem a adição de eletrólito indiferente (solução de KNO_3), variáveis independentes: *CS* (g/L); *VB* (mL) e *pH* (suspensões); variável dependente: razão de floculação (*RF*, %). Por MEV foram obtidas imagens dos flocos do resíduo de caulim (após a floculação) para a verificação da forma de adesão entre as partículas minerais e o biofloculante. O valor do PCZ do resíduo foi cerca de (3,0). Resultados do planejamento experimental estatístico (DCCR): ensaios com a adição de eletrólito, as variáveis: *CS*, *VB* e *pH* (lineares e quadráticas) e as interações lineares *VB* e *CS*; *CS* e *pH* são significativos, em nível de confiança de 95% para o processo de floculação estudado; ensaios sem a adição de eletrólito, as variáveis: *pH* e *VB*, formas lineares e quadráticas são estatisticamente significativas, para a eficiência do processo (*RF*, %). Resultados satisfatórios para a floculação foram obtidos, ponto ótimo de floculação, em torno de 80 %, no intervalo de *pH* (2,4 a 3,6) e *VB* (3,7 a 8,4 mL), para o nível inferior de *CS* (g/L). Realizaram-se as determinações de parâmetros físico-químicos do (EIL) por metodologias padronizadas: pH, turbidez, alcalinidade total (AT), oxigênio dissolvido (OD), sólidos (ST, SST, SD), cátions e ânions (Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} e Mn^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+}). Posteriormente, empregando-se a técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM) determinou-se o valor de PCZ do resíduo obtido a partir da desidratação do (EIL). Os ensaios de biofloculação do EIL foram realizados, em condições experimentais, conforme resultados obtidos da etapa de otimização do processo, determinação de PCZ e condições naturais do efluente industrial. O processo de coagulação/floculação foi aplicado sob condições experimentais, normalmente utilizadas no tratamento de efluentes industriais e intervalo de pH ótimo de coagulação para o sulfato de alumínio. Comparando-se os resultados obtidos a partir da biofloculação e coagulação/floculação: para o efluente (EIL-B203), a biofloculação foi mais eficiente, *RF* = 80 (%). A partir da biofloculação foram obtidas taxas de sedimentação significativas, em um tempo de processo de 2 min.; tempo de sedimentação de 5 min. Condições experimentais que podem ser consideradas um bom atrativo para um processo industrial.

ABSTRACT

The objective was to study the flocculation of residue kaolin suspension using bioflocculant produced from cells and extracellular products of *Bacillus subtilis*. The assays were carried out at laboratory bench scale and was employed a jar test apparatus. The study was conducted in three stages. 1) production of bioflocculante, 2) bioflocculation of kaolin residue suspensions, optimization using statistical experimental design and 3) bioflocculation and coagulation/flocculation of industrial wastewater generated from the kaolin processing. The bioflocculante was produced from a lyophilized and certified strain of *B. subtilis* in culture medium TSB (Tryptic Soy Broth). The culture and determination of the cell density in the suspension (bioflocculante) were performed by standard procedures. As results were obtained 50 mL bioflocculant suspension (8.7×10^8 CFU/mL). The point of zero charge (PZC) of the kaolin residue was determined by potentiometric mass titration (PMT) and immersion technique (IT). Bioflocculation process was studied using central composite design (CCD), with and without addition of background electrolyte. Independent variables: *KS* (g/L), *BV* (mL) and suspensions *pH*; dependent variable: flocculating rate (*FR*, %). SEM images were obtained of kaolin residue flocs, after bioflocculation for checking the mode of adhesion between the mineral particles and bioflocculante. The of PZC value of the kaolin residue was, around (3.2). The results obtained from the CCR: assays with addition of electrolyte, the variables: *KS*, *BV* and *pH* (linear and quadratic forms) and linear interactions, *BV* and *KS*; *KS* and *pH* are significant at a confidence level of 95(per cent) for the bioflocculation process; assays without addition of electrolyte, the variables: *pH* and *BV*, linear and quadratic forms are statistically significant for the (*FR*, per cent). Satisfactory results were obtained from the bioflocculation, maximum flocculating rate, around 80% at experimental conditions of pH (2.4 - 3.6), *BV* (3.7 - 8.4 mL) and lower level of *KS* (g/L). Physicochemical parameters of industrial wastewater were determined by standard procedures: pH, turbidity, total alkalinity, dissolved oxygen, solids, cations and anions (Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ , Ba^{2+} and Mn^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+}). The PZC of kaolin residue obtained from industrial wastewater was determined by potentiometric mass titration (TPM) technique. Bioflocculation assays of samples of the industrial wastewater were carried out, under experimental conditions, obtained from later stages of this work. The bioflocculation process was more efficient and a value of flocculating rate, around (80%) was obtained for (IE-B203). From bioflocculation settling rate significant was obtained at process time of 2 min and settling time of 5 min., experimental conditions that may be considered a good draw for an industrial process.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1:	Diagrama simplificado do beneficiamento de caulim via úmida.....	21
Figura 3.2:	Bombeamento de efluente líquido proveniente do beneficiamento de caulim para as lagoas de sedimentação no estágio inicial.....	24
Figura 3.3:	Lagoa de sedimentação do efluente industrial, após a evaporação da água excedente.....	25
Figura 3.4:	Presença de vegetação após colocação de camada orgânica sobre a superfície da lagoa de sedimentação do efluente industrial, após a evaporação da água excedente.....	26
Figura 3.5	Formação da dupla camada elétrica (DCE) de uma partícula coloidal.....	31
Figura 3.6	Arranjo espacial da folhas octaédricas e tetraédricas da caulinita.....	34
Figura 3.7	Curvas de potencial zeta do caulim Coat 90 em função do pH, com adição de eletrólito indiferente cloreto de potássio (KCl), $pH_{PIE} = 3,5$	35
Figura 3.8	Conformação da parede celular de bactérias contendo ácido micólico.....	36
Figura 3.9	Células de <i>Bacillus subtilis</i>	38
Figura 3.10	Medida do potencial zeta (PZ) de <i>B. subtilis</i> , eletrólitos indiferente, solução de nitrato de potássio (KNO_3) e em função do pH.....	39
Figura 3.11	Representação esquemática do DCCR rotacional.....	42
Figura 4.1	Produção de biofloculante (incubação a 36,5 °C por 48 horas em estufa de cultura bacteriológica).....	46
Figura 4.2	Fluxograma dos ensaios de biofloculação.....	52
Figura 5.1	Curvas experimentais de determinação de PCZ (ponto de carga zero), técnica de imersão (TI) para o caulim P.A. (a): concentração de	

	eletrólito KNO ₃ 0,1 N; (b): concentração de eletrólito KNO ₃ 0,001 N....	59
Figura 5.2	Curva experimental de determinação de <i>PCZ</i> (ponto de carga zero), titulação potenciométrica de massa (TPM), resíduo de caulim (centrifugação). $pH = pH_{equilíbrio}$	60
Figura 5.3	Curva experimental de determinação de <i>PCZ</i> (ponto de carga zero), técnica de imersão (TI), resíduo de caulim (centrifugação). $\Delta pH = (pH_{equilíbrio} - pH_{inicial})$	60
Figura 5.4	Ensaio preliminar realizado para a determinação de valores do potencial hidrogeniônico (pH) para a biofloculação. Da direita para a esquerda, valores de pH: 2,0; 2,5; 2,9; 3,5 e 4,0.....	62
Figura 5.5	Ensaio preliminar de variação do volume das suspensões de resíduo de caulim.....	62
Figura 5.6	Diagrama de Pareto _ Efeitos padronizados, referentes aos efeitos das variáveis independentes e suas interações na variável resposta (<i>RF, %</i>). a) com adição de eletrólito, b) sem adição de eletrólito.....	65
Figura 5.7	Representação gráfica da influência das variáveis independentes na variável resposta (<i>RF, %</i>), a partir da biofloculação das suspensões de resíduo de caulim. a) variáveis independentes: CS (g/L) e VB (mL); b) variáveis independentes: pH e CS (g/L).....	67
Figura 5.8	Curvas experimentais de determinação de <i>PCZ</i> (ponto de carga zero), técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM), EIL-B203. $pH = pH_{equilíbrio}$	72
Figura 5.9	Curva experimental de teste de sedimentação em proveta, efluente industrial líquido (EIL-B203).....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1	Condições experimentais do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), variáveis codificadas.....	51
Tabela 4.2	Valores das variáveis independentes empregados no planejamento estatístico (DCCR).....	51
Tabela 4.3	Parâmetros físico-químicos e químicos determinados para a caracterização do efluente industrial líquido (EIL-B203) e metodologias analíticas.....	55
Tabela 4.4	Condições experimentais dos ensaios de biofloculação, EIL-B203.....	56
Tabela 4.5	Condições experimentais da aplicação de coagulação/floculação aos EIL.....	57
Tabela 5.1	Condições experimentais do planejamento estatístico (DCCR) e seus respectivos resultados, ensaios realizados com e sem a adição de eletrólito indiferente.....	63
Tabela 5.2	Resultados dos parâmetros físico-químicos.....	70
Tabela 5.3	Resultados da determinação de cátions.....	71
Tabela 5.4	Parâmetros físico-químicos determinados para o (EIL-B203) submetido aos processos de biofloculação e coagulação/floculação.....	73
Tabela 5.5	Valores de Eficiência do Processo (RF , %) dos ensaios de biofloculação, (EIL-B203).....	74
Tabela 5.6	Resultados de razão de floculação (RF ,%) dos ensaios de coagulação/floculação química para o (EIL-B203).....	74

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Microorganismos usados na floculação de partículas minerais.....	21
Quadro 2	Valores de PIE para diferentes espécies de bactérias.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ANA - Agência Nacional de Águas

CADAM - Caulim da Amazônia S/A

CNRH - Conselho Nacional de Recursos Hídricos

CONAMA – Conselho nacional de meio ambiente

CS - concentração da suspensão de resíduo de caulim

DBO - demanda bioquímica de oxigênio

DCCR - Delineamento composto central rotacional

EIL - Efluentes industriais líquidos

FEQ - Faculdade de engenharia Química

FTIR - *Fourier Transform Infrared Spectrometry*

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

PCZ - Ponto de carga zero

PIE - ponto isoelétrico

PPSA - Pará Pigmentos S/A

PZ - potencial zeta

RC - resíduo de caulim

SINGREH - Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos

SRC - Suspensão de resíduo de caulim

TI - técnica de imersão

TPM - Titulação potenciométrica de massa

TSB - *Tryptic Soy Broth* (Caldo Caseína de Soja)

Produção de biofloculante de *Bacillus subtilis* e sua aplicação na floculação de suspensões de resíduos provenientes do beneficiamento de caulim

SUMÁRIO

	AGRADECIMENTOS.....	i
	RESUMO.....	ii
	ABSTRACT.....	iii
	LISTA DE FIGURAS.....	iv
	LISTA DE TABELAS.....	v
	LISTA DE QUADROS.....	vi
	LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVOS GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1	O CAULIM	20
3.1.1	Beneficiamento do caulim	22
3.1.2	Efluente líquido gerado a partir do beneficiamento de caulim	24
3.2	LEGISLAÇÃO AMBIENTAL PARA O LANÇAMENTO DE EFLUENTES NO RECURSO HÍDRICO.....	26
3.3	BIOFLOCULAÇÃO.....	28
3.3.1	Suspensão coloidal.....	30
3.3.1.1	<i>Potencial Zeta (PZ) e Ponto de Carga Zero (PZC).....</i>	32
3.3.1.2	<i>Carga da superfície de caulim.....</i>	33
3.3.2	Características do Microorganismo para adesão à partícula mineral	35
3.3.2.1	<i>Presença de grupos funcionais e configuração da parede celular de microorganismos.....</i>	35
3.3.2.2	<i>Carga elétrica superficial dos microrganismos.....</i>	36
3.3.3	<i>Bacillus subtilis</i>.....	37
3.4	COAGULAÇÃO E FLOCULAÇÃO.....	39

3.5	PLANEJAMENTO FATORIAL ESTATÍSTICO E A METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	41
4	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	44
4.1	EQUIPAMENTOS E MATERIAIS UTILIZADOS.....	44
4.1.1	Equipamentos.....	44
4.1.2	Materiais.....	44
4.2	PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE.....	46
4.2.1	Obtenção da biomassa da bactéria (cultivo de <i>Bacillus subtilis</i>)....	46
4.2.2	Preparação da biomassa bacteriana (<i>Bacillus subtilis</i>).....	47
4.2.3	Determinação da densidade de <i>Bacillus subtilis</i>).....	47
4.3	BIOFLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS DE CAULIM (RESÍDUO SÓLIDO DA OPERAÇÃO DE CENTRIFUGAÇÃO).....	47
4.3.1	Determinação do ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim.....	
<i>4.3.1.1</i>	<i>Titulação potenciométrica de massa (TPM).....</i>	<i>48</i>
<i>4.3.1.2</i>	<i>Técnica de imersão (TI).....</i>	<i>48</i>
4.3.2	Biofloculação de suspensões de resíduos de caulim, planejamento estatístico.....	49
4.3.3	Ensaio preliminares de biofloculação para a definição das variáveis independentes e dos intervalos de valores (níveis) das variáveis independentes empregados no planejamento estatístico (DCCR).....	52
4.3.4	Determinação de turbidez.....	53
4.3.5	Cálculo da razão de floculação (<i>RF, %</i>).....	53
4.4	APLICAÇÃO DE BIOFLOCULAÇÃO E COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO QUÍMICA AOS EFLUENTES INDUSTRIAIS LÍQUIDOS.....	54
4.4.1	Caracterização físico-química do efluente industrial líquido.....	54
4.4.2	Determinação do ponto de carga zero (PCZ) de sólido resíduo obtido a partir do efluente industrial líquido.....	55
4.4.3	Biofloculação do efluente industrial líquido.....	56
4.4.4	Estudo de sedimentação.....	56

4.4.5	Coagulação/floculação química do efluente industrial líquido.....	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	58
5.1.	PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE.....	58
5.2.	BIOFLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS DE CAULIM (RESÍDUO SÓLIDO DA OPERAÇÃO DE CENTRIFUGAÇÃO).....	
5.2.1	Determinação do ponto de carga zero (PCZ).....	58
5.2.2	Biofloculação de suspensões de resíduos de caulim.....	61
5.3	APLICAÇÃO DE BIOFLOCULAÇÃO E COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO QUÍMICA AO EFLUENTE INDUSTRIAL LÍQUIDO.....	70
5.3.1	Caracterização físico-química do (EIL-B203).....	70
5.3.2	Determinação do ponto de carga zero (PCZ) de resíduo sólido obtido a partir do efluente industrial líquido.....	72
5.3.3	Biofloculação dos efluentes industriais líquidos.....	73
5.3.4	Estudo de sedimentação do efluente industrial líquido (EIL-B203).....	75
6	CONCLUSÕES.....	76
7	REFERÊNCIA.....	78

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de caulim do mundo. As reservas brasileiras desse mineral são, de aproximadamente 14% e o Nordeste do estado do Pará (região do Rio Capim) possui algumas das maiores reservas de caulim para a cobertura de papel (JORDÃO; PEREIRA; PEREIRA, 2001).

O beneficiamento de caulim gera dois tipos de resíduos principais: o primeiro, proveniente da etapa de desareamento, é basicamente constituído de quartzo, correspondendo cerca de 10% da produção bruta e o outro, procedente das etapas da centrifugação, separação magnética, branqueamento e filtração, em torno de 26% é constituído principalmente de caulinita, sendo este armazenado em grandes lagoas de sedimentação (MAIA; ANGÉLICA; NEVES, 2008). Até o ano de 2005, a quantidade do resíduo caulínico gerada era de 7,8 milhões de toneladas e o de quartzo, em torno de 5,9 milhões de toneladas (BARATA, 2007).

Esses resíduos são finos de minério com granulometria muito pequena e que por este motivo apresentam baixa taxa de sedimentação, quando dispostos em lagoas de sedimentação. As lagoas de sedimentação são construídas próximas ao local das usinas e requer o desmatamento de grandes áreas além de investimentos em obras de terraplanagem, tornando-se assim um problema não só financeiro como também ambiental (MARTELLI, 2006).

A eficiência de diferentes operações de separação sólido-líquido, como a sedimentação, pode ser substancialmente aumentada por agregação das partículas (HAAS *et al*, 1999). Agentes coagulantes e floculantes são extensivamente utilizados em processos industriais, incluindo o tratamento de águas residuárias.

Os coagulantes e floculantes podem ser classificados em três grupos (SALEHIZADEH; SHOJAOSADATI, 2002): a) coagulantes inorgânicos (tais como sulfato de alumínio e cloretos de alumínio, entre outros); b) floculantes inorgânicos, polímeros sintéticos como os derivados de poliacrilamida, ácidos poliacrílicos e polióxido de etileno; c) floculantes de ocorrência natural: quitosana, alginato de sódio e floculantes microbiológicos. Os derivados de poliacrilamidas são os mais utilizados, devido a sua ação efetiva como floculante e seu baixo custo. Porém, há evidências que monômeros de poliacrilamidas têm propriedades neurotóxicas e carcinogênicas para seres humanos (DEARFIELD; AMBERMATHY, 1988). Além disso, algumas pesquisas mostraram que o alumínio pode induzir a doença de

Alzheimer. Neste sentido, o desenvolvimento de substâncias floculantes de ocorrência natural (SALEHIZADEH; SHOJAOSADATI, 2002).

Segundo Partha e Natarajan (2006), a utilização de microorganismos em biorremediação teve um grande desenvolvimento nas últimas décadas, principalmente com relação às novas aplicações. Microorganismos podem ser utilizados em lixiviação de minerais, reagentes para flotação e como floculantes. De acordo com Zhang *et al.* (2002), o interesse no desenvolvimento de biofloculantes está na possibilidade de utilização de uma grande diversidade de microorganismos e nas suas aplicações no tratamento de águas residuárias industriais e domésticas. Biofloculantes são importantes do ponto de vista ambiental por causa de sua biodegradabilidade.

As indústrias beneficiadoras de Caulim geram uma grande quantidade de resíduos. Em resposta a esse cenário de deterioração procura-se desenvolver processos de tratamento para minimizar o impacto ambiental dessa atividade, causada ao ambiente e as populações. Dentro desse contexto, neste trabalho foi estudada a produção de biofloculante a partir de *Bacillus subtilis* e sua aplicação na floculação de suspensões de resíduos provenientes do beneficiamento de caulim.

O trabalho de pesquisa foi executado em três etapas: 1) produção de biofloculante a partir de uma cepa pura liofilizada (certificada) de *Bacillus subtilis*; 2) biofloculação, avaliação das variáveis de processo empregando um planejamento experimental estatístico baseado na metodologia de superfície de resposta (delineamento composto central rotacional – DCCR). Nesta etapa empregaram-se suspensões de resíduo de caulim. O resíduo de caulim utilizado foi proveniente da operação de centrifugação do beneficiamento de caulim; 3) biofloculação e coagulação/floculação química (coagulante sulfato de alumínio) de efluente industrial líquido da bacia de rejeitos do processamento de caulim, para a comparação de resultados a partir dos processos, com relação ao desempenho da floculação de sólidos em suspensão.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a floculação de suspensões de resíduos de caulim empregando um biofloculante obtido a partir de células e produtos extracelulares produzidos pelo microorganismo *Bacillus subtilis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Produzir biofloculante (células e produtos extracelulares) a partir do microorganismo selecionado, *Bacillus subtilis*;
- II. Estudar as variáveis de processo que influenciam a biofloculação de suspensões de um tipo de resíduo de caulim (proveniente da operação de centrifugação), empregando um planejamento experimental estatístico baseado na metodologia de superfície de resposta;
- III. Determinar o ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim proveniente da operação de centrifugação;
- IV. Caracterizar efluentes industriais líquidos (EIL) provenientes das bacias de rejeitos (beneficiamento de caulim) com relação à carga de sólidos, à presença de íons mono e multivalentes, potencial poluidor e comparação com a legislação nacional vigente (Res. nº 357/2005 do CONAMA);
- V. Determinar o ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim obtido do efluente industrial líquido (EIL) proveniente do beneficiamento de caulim;
- VI. Comparar o desempenho da aplicação da biofloculação e coagulação/floculação química, com relação à floculação de sólidos em suspensão de efluente industrial líquido (EIL) proveniente do beneficiamento de caulim.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O CAULIM

Caulim é um material argiloso constituído basicamente de caulinita com granulometria fina e cor branca. Os caulins são silicatos de alumínio hidratado, cuja composição química aproxima-se de $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, contendo outros elementos como impureza (COSTA, 2006).

O caulim é uma rocha constituída de caulinita, haloisita- $4\text{H}_2\text{O}$, haloisita- $2\text{H}_2\text{O}$ ou metahaloisita, nacrita e diquita (UNESP, 2004). Os primeiros indícios do uso do caulim foram observados na China há mais de três mil anos na produção de porcelanas (ROSKIL, 1996 *apud* LUZ; CHAVES 2000).

Para Luz *et al.* (2000) caulins são produtos de alteração de silicatos de alumínio, principalmente dos feldspatos (caulinita e haloisita) e podem ocorrer em dois tipos de depósito: primário ou residual (aluvial) e secundário.

Os caulins primários como sendo o resultado da alteração de rochas *in situ*, e dependendo da sua origem são classificados em: intemperizados e hidrotermais (BRISTOW 1987a *apud* LUZ e CHAVES, 2000).

Os caulins secundários são resultantes da deposição de materiais transportados por corrente de água doce, estes depósitos são formados por processos sedimentares nos quais as rochas caulinizadas constituem a fonte primária, (KUMAYAMA, 2007)

O caulim é um mineral amplamente utilizado nos diversos setores industriais cabendo destacar o de papel (cobertura e enchimento), que consome cerca de 45% da produção mundial, cerâmica (porcelana, cerâmica branca e produtos refratários) 31% e o restante, 24% divididos entre tinta, borracha, plásticos e outros, (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2008).

Luz e Chaves (2000) consideram que o amplo campo de aplicação industrial do caulim deve-se às suas características tecnológicas: quimicamente inerte; branco ou quase branco; tem capacidade de cobertura quando usado como pigmento e reforçador para aplicações como carga; possui baixa condutividade térmica e elétrica; macio e pouco abrasivo e competitivo com os materiais alternativos.

A produção brasileira de caulim beneficiado, dados do ano 2007 foi superior 2,45 milhões de toneladas. Entre as principais empresas produtoras, a Imerys Rio Capim Caulim S/A – IRCC mantém a liderança da produção nacional respondendo por 40%, sendo seguida pela empresa Caulim da Amazônia S/A (CADAM) com 32%, Pará Pigmentos S/A (PPSA) com 24% e outros com 4%. Todas as empresas apresentaram ligeira ampliação de sua produção visando abastecer suas fatias no comércio internacional, com exceção da Imerys que apresentou ligeira queda.

No caso da PPSA, desde o ano anterior, esta evolução positiva teve base principal em investimentos em P&D, que resultaram no desenvolvimento de novos produtos, que poderão, inclusive, gerar aumentos de capacidade instalada. Além do Amapá e Pará que produzem caulim para revestimento e cobertura de papel, são estados produtores: São Paulo, Paraná, Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Santa Catarina utilizados, principalmente no setor de cerâmicas brancas (vasos em geral, porcelanas, etc.) (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2008).

As reservas mundiais de caulim são bastante abundantes e de ampla distribuição geográfica, com destaque para o tamanho e qualidade do caulim secundário encontradas nos Estados Unidos e Brasil e de caulim primário do Reino Unido, localizadas no sudoeste da Inglaterra. Esse tipo de caulim tem seu uso direcionado, principalmente, para usos nobres, como o de enchimento e cobertura na indústria de papel (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2008).

Segundo os dados fornecidos pelo DNPM (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2008) das reservas brasileiras (medidas e indicadas), aproximadamente 97% encontram-se na região norte do País, nos estados do Pará (Imerys S/A e PPSA), Amapá (CADAM) e Amazonas (Mineração *Horboy Clays* Ltda). O mercado produtor de caulim apresenta-se concentrado e competitivo. Os Estados Unidos juntamente com a Comunidade dos Estados Independentes, Coréia do Sul, República Tcheca, Brasil e Reino Unido são responsáveis por 62% do caulim produzido no mundo. É importante ressaltar que, apenas o Brasil disponibiliza o minério já beneficiado para o mercado interno e externo a ser utilizado na indústria de papel, que responde a 7% da produção mundial.

3.1.1 Beneficiamento do caulim

Segundo Castro (2008) existem dois processos de beneficiamento de caulim: por via seca e por via úmida (Figura 3.1).

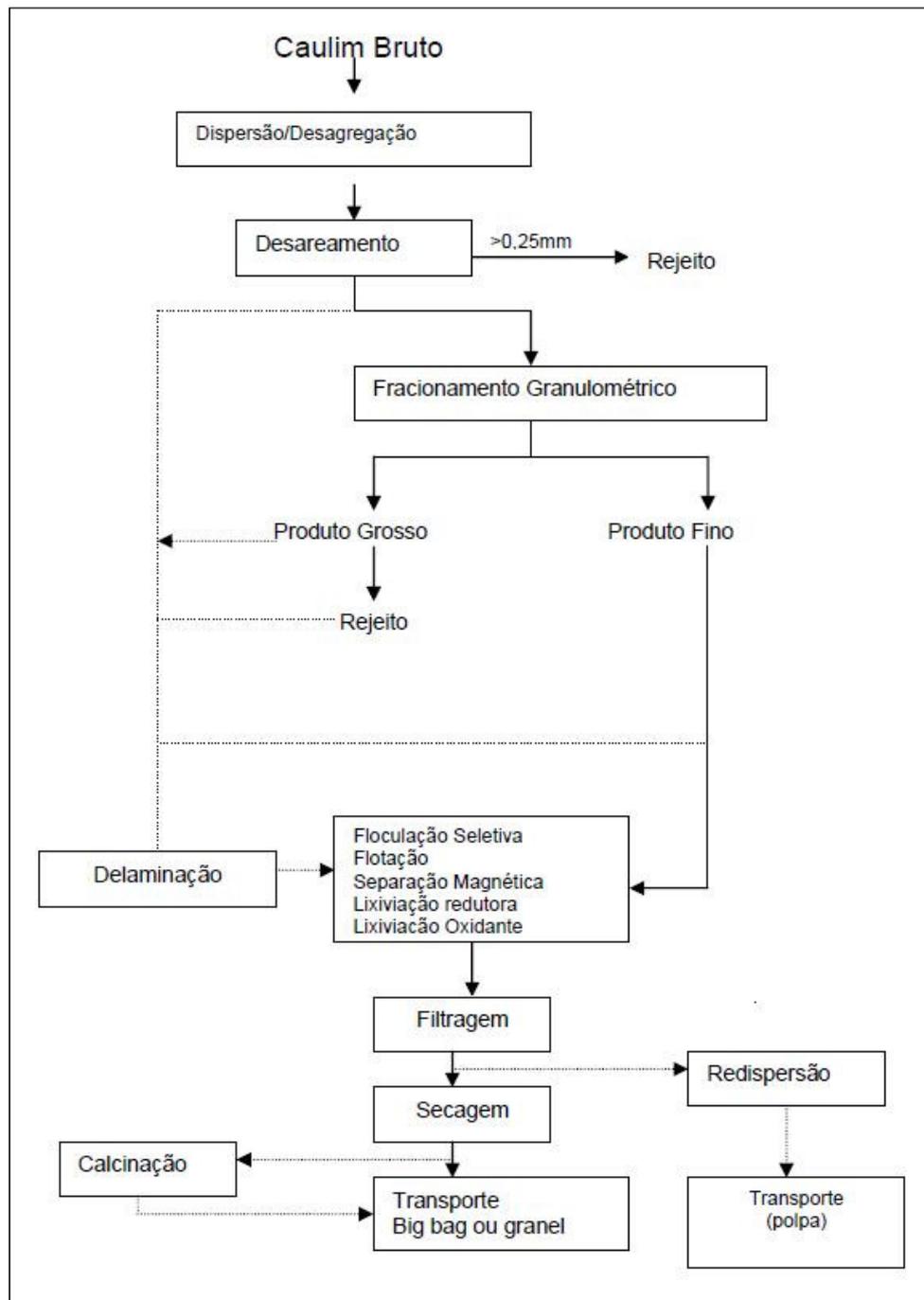


Figura 3.1: Diagrama simplificado do beneficiamento de caulim via úmida.
Fonte: LUZ *et al.* 2005

O beneficiamento por via seca é usado para caulins que já apresentam alvura e distribuição granulométrica adequada, bem como, baixo teor de quartzo (LUZ, 1995). No processo por via seca, ou de separação ao ar, o caulim bruto é levado à usina de beneficiamento em grandes pedaços, onde é fragmentado em moinhos de rolos desintegradores e em seguida alimenta um moinho de bolas com um separador de ar tipo ciclone. As partículas finas são recolhidas em um coletor e ensacadas, enquanto que as mais grossas voltam ao moinho (CASTRO, 2008).

O processo mais comum é por via úmida que envolve as etapas de dispersão/desagregação, desareamento, fracionamento em hidrociclones ou centrífuga, separação magnética, secagem e filtração.

O beneficiamento a úmido, em geral envolve as etapas de desareamento, separação granulométrica em hidrociclone ou centrífuga, separação magnética, floculação seletiva, alveamento químico, filtração e secagem (MONTE *et al*, 2001).

A primeira etapa do beneficiamento por via úmida inicia-se com a adição de água ao caulim bruto e a desagregação do mesmo em um misturador. Em seguida, a polpa é transportada por gravidade para etapa de peneiramento. Nesse transporte ocorre o desareamento, no qual são sedimentados os materiais mais grosseiros (impurezas), constituídos por mica, quartzo, feldspato, entre outros (CABRAL; FILHO; ARAÚJO, 2009). O material resultante é submetido a um fracionamento em um hidrociclones ou centrífugas. Nessa etapa ocorre um ganho de alvura do produto resultante da remoção de óxidos de ferro e titânio presentes na fração grosseira (TERRELL, 2007).

O material peneirado é bombeado, por gravidade, através de tubulações, para um sistema de tanques onde se inicia a fase de decantação e sedimentação (CABRAL; FILHO; ARAÚJO, 2009). É nessa etapa que o caulim é alveado através da lixiviação química.

A lixiviação química consiste na etapa mais importante do processo, porque além de ser a fase mais complexa do beneficiamento, é também nessa etapa que são gerados os resíduos potencialmente poluidores do meio ambiente (TERRELL, 2007). Nessa etapa são removidas impurezas como óxidos de ferro e titânio (substâncias químicas coloridas) que afetam a alvura do caulim (AMPIAM, 1979 *apud* SILVA, 2001). Isto pode ser feito pela redução de ferro férrico (Fe^{+3}) para ferro ferroso (Fe^{+2}) com zinco metálico (LUZ e CHAVES, 2000). Para que a reação seja mais eficiente, a polpa de caulim tem o seu pH diminuído para a faixa de 3,0 a 4,5, para aumentar a estabilidade do ferro ferroso (Fe^{+2}). O controle do pH é realizado por adição de ácido sulfúrico ou ácido clorídrico e de sulfato de alumínio (CETEM, 2005).

O material sedimentado em cada tanque é destinado para um tanque de vazamento e, posteriormente para a etapa de filtração (CABRAL; FILHO; ARAÚJO, 2009).

Na etapa de filtração retira-se a água do material sedimentado através de filtros-prensa ou filtros rotativos, dependendo do tipo de produto a ser obtido, resultando na torta de caulim (CASTRO, 2008).

3.1.2 Efluente líquido gerado a partir do beneficiamento de caulim

O beneficiamento de caulim produz dois tipos de resíduos principais: o primeiro, oriundo da etapa de desareamento, é basicamente constituído de quartzo, correspondendo, a cerca de 10% da produção bruta e o segundo é proveniente das etapas da centrifugação, delaminação, separação magnética, branqueamento e filtração, aproximadamente 26%, constituído principalmente de caulinita, sendo este armazenado em grandes lagoas de sedimentação (bacias de rejeitos) (Figura 3.2) (MAIA; ANGÉLICA; NEVES, 2008).



Figura 3.2: Bombeamento de efluente líquido proveniente do beneficiamento de caulim para as lagoas de sedimentação no estágio inicial.

Fonte: Barata (1998).

Até o ano de 2005, a quantidade do resíduo caulínico gerada era de 7,8 milhões de toneladas e o de quartzo, em torno de 5,9 milhões de toneladas (BARATA, 2007).

Os efluentes líquidos possuem uma levada quantidade de finos de minério (resíduo sólido) com granulometria muito pequena e que por este motivo sedimentam muito lentamente. Desta forma, a excessiva produção desses efluentes industriais requer construções de grandes lagoas (bacias) de sedimentação próximas ao local de instalação das usinas de beneficiamento. Necessitando, para isso, o desmatamento de grandes áreas e custos com obras de terraplanagem, tornando-se assim um problema não só financeiro como também ambiental, considerando-se o risco de rompimento ou transbordamento dessas lagoas (bacias) (MARTELLI, 2006 *apud* MORAES, 2008).

A Figura 3.3 mostra uma lagoa de sedimentação de efluente líquido, após a evaporação da água excedente e a espera da cobertura vegetal.



Figura 3.3: Lagoa de sedimentação do efluente industrial, após a evaporação da água excedente
Fonte: Barata (1998).

Os resíduos sólidos que compõem o efluente industrial lançados nas lagoas de sedimentação são constituídos de areia e material caulínico e não apresentam consistência que permita a cobertura da superfície convencional. Para tanto, estudos foram desenvolvidos e prevêem a cobertura da superfície com material de origem vegetal sobre a qual será espalhada fina camada de solo orgânico. O passo seguinte é o plantio controlado de espécies adaptadas ao meio pantanoso como mungubeira, paxiuba e outras espécies nativas da região (SILVA, 2003). A Figura 3.4 mostra a fotografia de uma lagoa de sedimentação de fluente industrial com a presença de vegetação.



Figura 3.4: Presença de vegetação após colocação de camada orgânica sobre a superfície da lagoa de sedimentação do efluente industrial, após a evaporação da água excedente
Fonte: Barata (1998).

3.2 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL PARA O LANÇAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS NO RECURSO HÍDRICO

A gestão dos recursos hídricos no Brasil começou quando entrou em vigor o Código de Águas, estabelecido pelo Decreto Federal nº 24.643, de 10 de julho de 1934 (BRASIL, 1934), que assegurava o uso gratuito de qualquer corrente ou nascente de água para as primeiras necessidades da vida e impedia a derivação das águas públicas para aplicação na agricultura, indústria e higiene, sem a existência da concessão e da autorização nos outros casos.

Com a nova Constituição Federal de 1988 (BRASIL, 1998), foi estabelecida a diferenciação entre águas de domínio federal e estadual. Conferiu, ainda, a competência da União para instituir o sistema nacional de gerenciamento de recursos hídricos e definir critérios de outorga de direitos de seu uso (AZEVEDO *et al*, 2003).

Baseada nos conceitos da nova Constituição Federal foi instituída a Política Nacional de Recursos Hídricos, Lei Federal Nº 9.433, de 08 de Janeiro de 1997 (BRASIL, 1997), que criou o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos e tem por objetivo coordenar a gestão integrada das águas; arbitrar administrativamente os conflitos relacionados com os recursos hídricos; implementar a Política Nacional de Recursos Hídricos; planejar, regular e controlar o uso, a preservação e a recuperação dos recursos hídricos; e promover a cobrança pelo uso dos recursos hídricos (PEREIRA; SOUZA; CHIMELLI, 2007).

A Agência Nacional de Águas (ANA), criada pela Lei Nº 9.984, de 17 de julho de 2000 (BRASIL, 2000), tem por finalidade principal implementar a Política Nacional de Recursos Hídricos, em articulação com os órgãos públicos e privados integrantes do SINGREH, destacando-se, entre suas diversas atribuições, a supervisão, o controle e a avaliação das ações e das atividades decorrentes do cumprimento da legislação federal sobre as águas, bem como a outorga e a fiscalização dos usos dos recursos hídricos de domínio da União, provendo, em articulação com os comitês de bacia hidrográfica, a cobrança pelo uso desses recursos e ainda exercerá a função de Secretaria Executiva do respectivo comitê da Bacia Hidrográfica (MORENO, 2006).

O Conselho Nacional de Recursos Hídricos tem por objetivos: promover a articulação do planejamento de recursos hídricos com os planejamentos nacional, regional, estadual e dos setores usuários; deliberar sobre os projetos de aproveitamento de recursos; acompanhar a execução do Plano Nacional de Recursos Hídricos e estabelecer critérios gerais para a outorga de direitos de uso dos recursos hídricos e para cobrança pelo seu uso (MORENO, 2006).

Os Comitês de Bacias Hidrográficas se responsabilizam, entre outras ações, por promover o debate das questões relacionadas aos recursos hídricos da bacia e articular a atuação das entidades intervenientes (MORENO, 2006).

Conforme o inciso III do Artigo 12 da Política Nacional de Recursos Hídricos (BRASIL, 2009), “lançamento em corpo de água de esgotos e demais resíduos líquidos ou gasosos, tratados ou não, com o fim de sua diluição, transporte ou disposição final” está sujeito à outorga pelo Poder Público. O artigo 13 desta lei estabelece que “toda outorga estará condicionada às prioridades de uso estabelecidas nos Planos de Recursos Hídricos e deverá respeitar a classe em que o corpo de água estiver enquadrado e a manutenção de condições adequadas ao transporte aquaviário, quando for o caso” (BRASIL, 2009).

No artigo 15 da Resolução Nº 16/01 do CNRH (BRASIL, 2009), diz que “a outorga de direito de uso da água para o lançamento de efluentes será dada em quantidade de água necessária para a diluição da carga poluente, que pode variar ao longo do prazo de validade da outorga, com base nos padrões de qualidade da água correspondentes à classe de enquadramento do respectivo corpo receptor e/ou em critérios específicos definidos no correspondente plano de recursos hídricos ou pelos órgãos competentes”.

A Resolução Nº 219, de 6 de junho de 2005 da Agência Nacional de Águas (ANA) (BRASIL, 2009) decidiu que na “análise técnica para emissão de outorga de direito de uso de recursos hídricos para fins de lançamento de efluentes em cursos de água de domínio da União, a Superintendência de Outorga e Cobrança somente avaliará os parâmetros relativos à

temperatura, à demanda bioquímica de oxigênio – DBO e, em locais sujeitos à eutrofização, ao fósforo ou ao nitrogênio”.

A resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) N° 357, de 17 de março de 2005 (BRASIL, 2005), dentre outras, dispõe sobre diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. No parágrafo 1° do artigo 32 dessa resolução é estabelecido que “o lançamento de efluentes deverá, simultaneamente atender às condições e padrões de lançamento de efluentes e não ocasionar a ultrapassagem das condições e padrões de qualidade de água, estabelecidos para as respectivas classes, nas condições da vazão de referência”.

Assim, as análises técnicas referentes à emissão de outorga de lançamento de efluentes devem atender aos limites estabelecidos nas classes de uso que os corpos hídricos estão enquadrados, conforme Resolução N° 357 do CONAMA (BRASIL, 2005) ou outros limites, como no caso de existência de um plano de despoluição na Bacia em questão, ou com base nas metas progressivas do enquadramento da bacia.

3.3 BIOFLOCULAÇÃO

Agentes floculantes são amplamente utilizados em processos industriais, como em tratamento de águas residuais (NAKAMURA *et al*, 1976a). Floculantes podem ser geralmente classificados em três grupos: (a) floculantes inorgânicos como o sulfato de alumínio e cloreto de polialumínio; (b) orgânicos sintéticos floculantes poliméricos, tais como os derivados de poliácridamida e imina polietileno; e (c) que ocorre naturalmente floculantes como quitosana e alginato de sódio, e uma gama de microrganismos floculantes (SALEHIZADEH; SHOJAOSADATI, 2001).

Os floculantes inorgânicos e os sintéticos são comumente utilizados em virtude de sua eficácia e baixo custo. Por outro lado esses floculantes sintéticos como, por exemplo, os derivados poliácridamida são cancerígenos e neurotóxicos aos seres humanos (DEARFIELD *et al*, 1988 *apud* SALEHIZADEH; SHOJAOSADATI, 2001). Além disso, alguns relatórios indicaram que o alumínio, como o principal componente de cloreto de polialumínio, pode induzir a doença de Alzheimer (MASTERS *et al*, 1985 *apud* ZHANG, 2008). Devido a estas preocupações, a utilização de biofloculantes tem atraído a atenção mundial (SALEHIZADEH; SHOJAOSADATI, 2001).

Um método que se mostrou bastante eficiente foi a utilização de microrganismos para flocular partículas de pequenas densidade de diversos minerais. Outro aspecto importante, com relação à utilização de microrganismos como floculante é sua biodegradabilidade, uma vez que, a adição de reagentes químicos em larga escala nas lagoas de sedimentação pode ocasionar problemas de contaminação ambiental em virtude do excesso de reagentes químicos no meio (VIJAYALAKSHMI; RAICHUR, 2003). Partículas finamente divididas de minerais podem ser floculadas por microrganismos (HAAS *et al*, 1999), pois microrganismos aderem, seletivamente à superfície de certos minerais e exercem uma ação efetiva sobre as propriedades de superfície do mineral (MESQUITA *et al*, 2003).

Pesquisas desenvolvidas apontam a viabilidade técnica no emprego de microrganismos para o aumento da eficiência da formação de flocos de diversas suspensões minerais, conforme mostradas no Quadro 3.1.

Mineral	Microrganismos	Função do Reagente	Fonte
Caulim	<i>Bacillus sp</i> PY 90	Produção de biopolímeros	Yokoi et al. (1996)
Caulim	<i>Bacillus sp</i> AS -101	Produção de biopolímeros	Salehizadeh, Vossoughi e Alemzadeh (2000)
Hematita	<i>Mycobacterium phei</i>	Floculação	Dubel et al. (1992)
Hematita/quartzo	<i>Bacillus polymyxa</i>	Depressor para hematita	Dubel et al. (1992)
Pirita de óxidos minerais (pirita, quartzo, pirita, calcite)	<i>Bacillus polymyxa</i>	Depressor para hematita	Patra e Natarajan (2003)
Hematita/quartzo	<i>Rhodococcus opacus</i>	Coletor para hematita	Mesquita (2000)
Partículas finas de carvão	<i>B. subtilis</i>	Adesão à partícula	Vijayalakshmi e Raichur (2003)
Pirita/calcopirita	<i>Acidithiobacillus ferroxidans</i> , <i>Acidibacillus thioxidans</i>	Coletor para galena	Natarajan e Das (2003)
Dolomita/apatita	<i>Mycobacterium phei</i> , <i>B. subtilis</i>	Depressora para dolomita	Sheng et al. (2000)
Pirita/ Esfalerita	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Produção de biopolímeros	Patra e Natarajan (2004a)
Calcopirita/ quartzo/calcita	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Produção de biopolímeros	Patra e Natarajan (2004b)
Pirita/calcopirita, sulfeto de cobre	<i>Acidithiobacillus ferroxidans</i>	Coletor de sulfeto de cobre	Hosseine (2004)
Pirita/Galena	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Produção de biopolímeros	Patra e Natarajan (2006)
Magnesita/calcita	<i>Rhodococcus opacus</i>	Coletor	Botero et al. (2007)

Quadro 3.1: Microrganismos usados na floculação de partículas minerais.

3.3.1 Suspensão Coloidal

Suspensão é a denominação dada a um sistema coloidal de um sólido em um líquido. Apresenta-se como um sistema homogêneo, pelo fato da partícula em menor quantidade (equivalente ao soluto de uma solução e definida como fase dispersa) estar dispersa no solvente e se apresentar em dimensões muito pequenas a ponto de ser vista com um microscópio ou espalhar luz ao ser observada a 90° do raio incidente. A partícula coloidal está estabilizada e por isso não se separa como uma fase distinta (CARBERRY, 1990).

Os fatores que caracterizam todos os sistemas coloidais e determinam suas propriedades são: o tamanho e a elevada relação área da superfície/massa das partículas (área específica). Partículas coloidais têm um tamanho de partícula entre ($10^{-3} - 1,0 \mu\text{m}$). Sólidos coloidais adquirem carga na sua superfície, tornando-se eletricamente carregados em contato com um meio polar (aquoso, por exemplo), resultante de um ou mais mecanismos: ionização de moléculas da superfície, dissociação de grupos da superfície, adsorção iônica e defeitos da estrutura cristalina (CARBERRY, 1990).

Os principais sistemas coloidais envolvidos no tratamento de águas residuárias são os sólidos dispersos em líquidos (sois) e líquidos dispersos em líquidos (emulsões). Quando suspensos em água a matéria orgânica, tais como os microorganismos e matéria inorgânica, como as argilas, são exemplos de partículas coloidais dispersos em líquidos (sois). A característica mais importante dos sistemas coloidais é que a partícula sólida não sedimenta sobre a ação da força da gravidade (REYNOLDS; RICHARDS, 1995).

Podem ser classificados como hidrofílicos ou hidrofóbicos de acordo com sua afinidade pela água. Colóides hidrofílicos, como as proteínas e os microorganismos têm afinidade pela água por causa da existência de grupos solúveis em água na superfície coloidal. Alguns dos principais grupos são o amino, carboxílico, sulfônico e hidroxílico.

São usualmente substâncias orgânicas que têm características polares, similares a da água. Colóides hidrofóbicos, como as argilas têm pouca, ou nenhuma afinidade pela água. Minerais coloidais, como as argilas, têm mais átomos não metálicos do que átomos metálicos dentro da sua estrutura cristalina, resultando em uma carga líquida negativa na superfície do sólido. Usualmente, a maioria dos colóides hidrofóbicos, de ocorrência natural, como as argilas, são materiais inorgânicos e têm carga líquida da superfície negativa (REYNOLDS; RICHARDS, 1995).

Nas dispersões coloidais as partículas permanecem em suspensão (estabilizadas) como resultados de forças eletrostáticas. O sinal e a magnitude da carga dependem do tipo de material coloidal e do meio de dispersão. Partículas coloidais hidrofóbicas carregadas negativamente permanecem estáveis em uma dispersão por causa da ação de forças repulsivas (REYNOLDS; RICHARDS, 1995). As partículas coloidais atraem uma grande quantidade de íons de carga oposta (Contra-íons) presentes na solução, porém devido às dimensões das superfícies das partículas, apenas um número limitado de íons positivos consegue ser adsorvido. Esta adsorção faz com que os íons adsorvidos permaneçam rigidamente atados à superfície da partícula, dando origem à denominada camada compacta ou camada de Stern. Quando íons negativos (Co-íons) se aproximam da camada compacta, atraem alguns íons positivos, resultando na formação da camada difusa (PAVANELLI, 2001). O conjunto das camadas, compacta e difusa, resulta na Dupla Camada Elétrica (DCE) (Figura 3.5).

A espessura da DCE depende do tipo e concentração de íons em solução. As duas camadas representam a região ao redor da partícula onde há um potencial eletrostático (REYNOLDS; RICHARDS, 1995). O pH da suspensão determina as cargas da superfície, pois este afeta a natureza dos grupos funcionais presentes na superfície das partículas coloidais e controla as interações eletrostáticas entre as partículas e o meio de dispersão, que podem ter efeitos significativos na estabilidade da suspensão (CASTILLA, 2004).

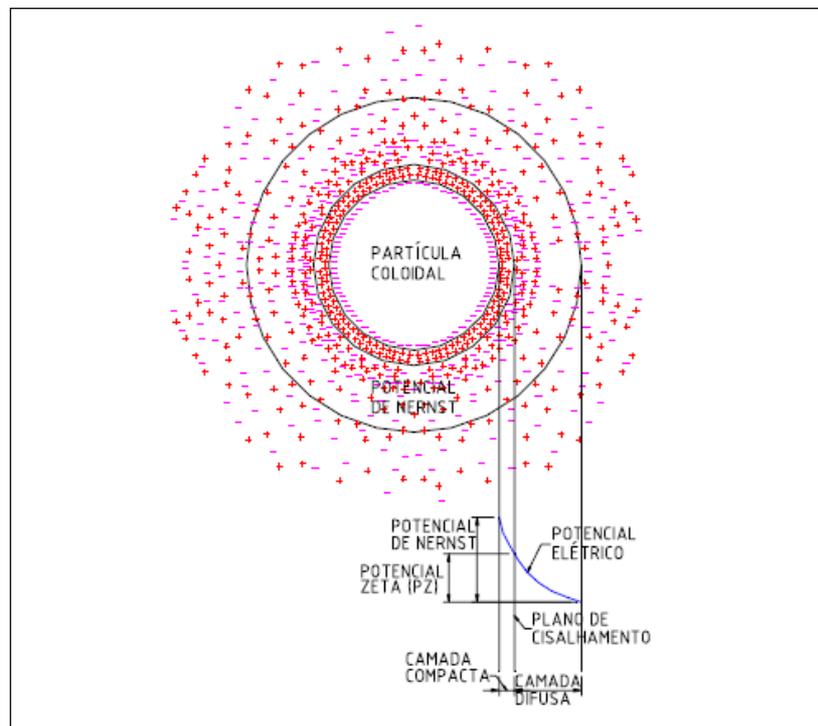


Figura 3.5: Formação da dupla camada elétrica (DCE) de uma partícula coloidal.

Fonte: Yoshida (2005)

3.3.1.1 Potencial zeta (PZ) e Ponto de carga zero (PZC)

O potencial zeta (PZ) é o potencial eletrostático no plano de cisalhamento (fronteira entre a camada de Stern e a camada difusa), da ordem de milivolts. O potencial zeta é uma medida utilizada para avaliar a estabilidade da suspensão coloidal, uma vez que pode ser considerado um parâmetro razoável para medir a magnitude das interações repulsivas entre as partículas coloidais (DI BERNARDO *et al*, 2002).

O potencial zeta da maioria das partículas carregadas é dependente do pH da solução, comprimento iônico (adição de eletrólitos), tipos de espécies iônicas presentes em solução, temperatura e tipo de partícula em suspensão. A determinação do potencial zeta em diferentes valores de pH permite a obtenção das curvas de potencial zeta e, conseqüentemente, a determinação do ponto isoelétrico (PIE) e avaliação da carga superficial das partículas em estudo. O ponto isoelétrico (PIE) é definido como o logaritmo negativo da atividade determinadora de potencial no plano de cisalhamento que é correspondente ao potencial zeta nulo na presença de um eletrólito (AL-AMDAN; REDDY, 2005).

Ponto de carga zero (PCZ) ou pH de ponto de carga zero (pH_{PCZ}) é o valor de pH da suspensão, no qual, as cargas superficiais do sólido se encontram neutralizadas (GUEDES *et al*, 2004). Quando uma partícula coloidal (carga líquida negativa), como no caso das argilas, está em contato com soluções aquosas de pH abaixo do ponto de carga zero (PZC), essa superfície adquire carga positiva, devido à protonação dos grupos funcionais presentes na superfície sólida. Quando em contato com soluções de pH acima do ponto de carga zero (PCZ), a superfície sólida adquire carga negativa devido à desprotonação desses grupos funcionais (BUENO, 2003).

O PZC é um parâmetro muito importante para muitas aplicações, adsorção, interações entre partículas em suspensões coloidais, coagulação, floculação, dissolução de minerais, fenômenos eletroquímicos, preparação de suportes catalíticos (BOURIKAS *et al*, 2003).

O ponto de carga zero (PZC) pode ser determinado por métodos clássicos que se baseiam em titulações potenciométricas ou por eletroforese (a partir desta técnica o PZC é denominado de potencial zeta). As técnicas de determinação do PZC mais utilizadas são: técnica de titulação potenciométrica (*potentiometric titrations*, PT), técnica de titulação de massa (*mass titration*, MT) e técnica de imersão (*immersion technique*, IT). A técnica de imersão, geralmente fornece baixa precisão na determinação do PZC (± 1 uni. de pH); a técnica de titulação de massa demanda a utilização de uma grande quantidade do sólido; a

técnica de titulação potenciométrica é a mais utilizada, contudo, a mudança do comprimento iônico da solução, em alguns casos, influencia a solubilidade da superfície das partículas (principalmente de óxidos) e conseqüentemente promove alterações das características das partículas sólidas (VAKROS *et al*, 2002).

De acordo com Reed (1995), não somente a adição de eletrólitos (denominados eletrólitos indiferentes), íons capazes de promover o aumento da concentração de contra-íons na suspensão, assim como, a valência dos íons afetam a estabilidade da suspensão coloidal. Uma vez que, aumentando-se a concentração de eletrólitos ocorre à compressão da camada difusa e conseqüentemente a diminuição da espessura da dupla camada elétrica. Neste caso, a repulsão entre as partículas decresce, pois o valor do potencial zeta diminui. Para valores de potencial zeta, em torno do ponto isoelétrico das partículas sólidas ocorre a desestabilização da partícula coloidal (floculação).

3.3.1.2 Carga da superfície do caulim

A caulinita, $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, é um argilomineral do tipo 1:1, com estrutura filossilicatada, formado pelo empilhamento regular de folhas de tetraedros de Si (superfície siloxana) e octaedros de Al (superfície gibbsítica) (Figura 3.6). A ligação das laminas se dá por pontes de hidrogênio, o que limita o mineral à possibilidade de expandir-se e expor suas superfícies internas (FONTES *et al*, 2001).

A carga superficial da caulinita resulta da existência de dois tipos de cargas: permanentes e não-permanentes. As cargas permanentes são produtos da substituição isomórfica do Si (+4) pelo Al (+3) nas posições tetraédricas do cristal e que resultam, unicamente, em cargas negativas, enquanto as cargas não permanentes são conseqüências de reações que ocorrem entre os grupamentos superficiais ionizáveis localizados, tanto nas laterais, quanto na base das partículas e os íons presentes na solução aquosa (CUNHA; TOREN; D'ABREU, 2007).

Segundo Fontes (1996), o grupo Al-OH-Al da face gibbsítica já está com suas cargas balanceadas de tal modo que a possibilidade da hidroxila receber um H^+ adicional é muito pequena, o que explicaria além do não desenvolvimento da carga positiva nessa superfície, o acréscimo da carga negativa com o aumento do pH, mais que a possibilidade de desenvolvimento de carga nas bordas. Por outro lado, Stumm (1992) *apud* Fontes, Camargo e

Sposito (2001) discutiram a diferenciação das faces em relação às bordas dos cristais de caulinita e como essa diferenciação pode provocar o aparecimento de diferentes grupamentos hidroxila de superfície, o que, definitivamente, influi no desenvolvimento das cargas.

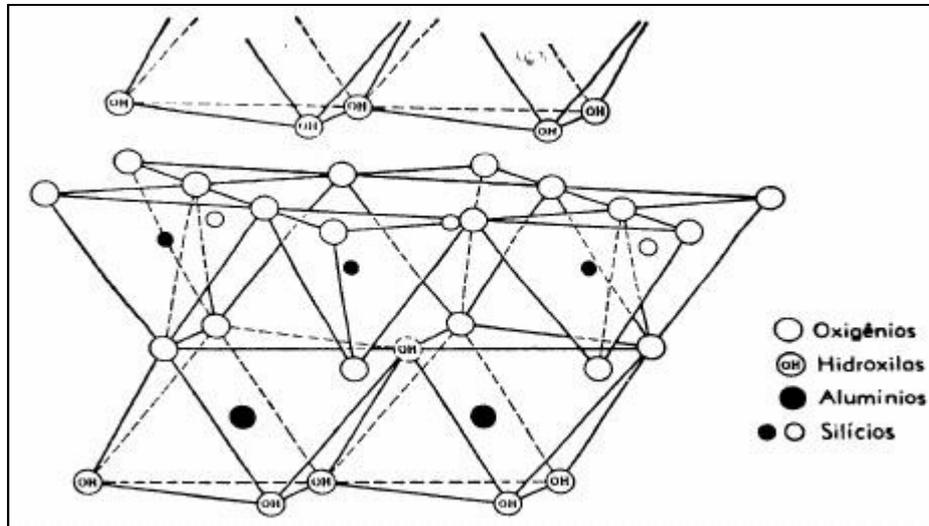


Figura 3.6: Arranjo espacial da folhas octaédricas e tetraédricas da caulinita.
Fonte: Grim (1963).

Em pH aproximadamente igual a (7,0) cerca de 50% das cargas negativas da caulinita podem ser a consequência de desprotonação de oxigênio e hidroxilas terminais (EVANGELOU, 1998). No entanto, Ma e Eggleton (1999) mostraram que a carga das arestas quebradas e os planos de hidroxilas (OH^-) expostos são o que determinam as cargas superficiais totais da caulinita, e não a substituição Al/Si. Sendo assim, as cargas negativas de desprotonação de oxigênio e hidroxilas terminais, seguramente seriam em maior proporção que 50%.

A Figura 3.7 mostra o resultado da determinação do ponto isoelétrico (PIE) de um caulim, empregando-se medidas de potencial zeta em diferentes valores de pH e na presença de um eletrólito indiferente (solução de cloreto de potássio, KCl). Segundo a Figura 3.7, a carga da superfície do caulim muda de positiva para negativa acima de $\text{pH} = 3,5$, ou seja, o ponto isoelétrico do caulim Coat 90 é 3,5.

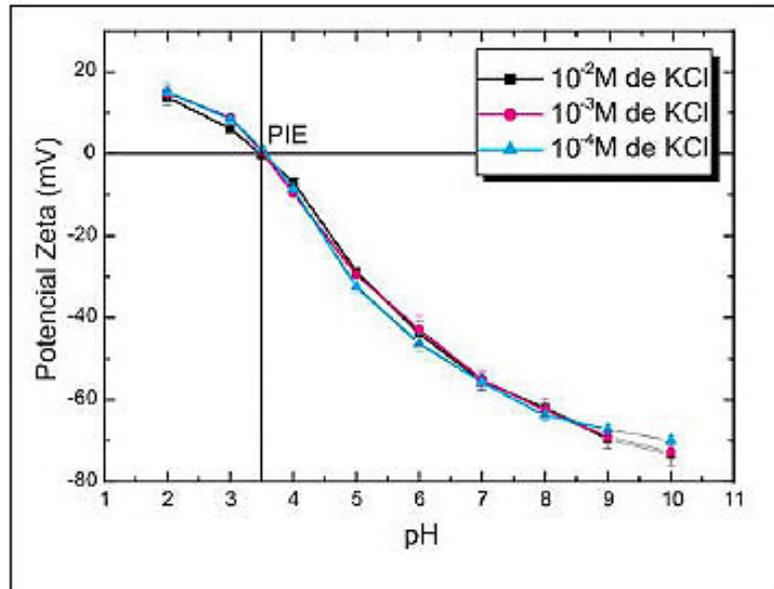


Figura 3.7: Curvas de potencial zeta do caulim Coat 90 em função do pH, com adição de eletrólito indiferente cloreto de potássio (KCl), $pH_{PIE} = 3,5$.

Fonte: CUNHA *et al*, 2007

3.3.2 Características do Microorganismo para adesão à partícula mineral

3.3.2.1 Presença de grupos funcionais e configuração da parede celular de microorganismos

A parede celular de um microorganismo é composta, principalmente, de polímeros como peptídeoglicana, além de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), fosfoglicerídeos, fosfolipídeos, proteínas e ácidos orgânicos como ácido micólico (NORDE *et al*, 1997). É esta composição que vai determinar a capacidade de microorganismos de se aderirem aos diferentes tipos de superfícies (BOTERO; TOREN; MESQUITA, 2008). Desta forma, essas macromoléculas têm afinidade por diferentes sistemas minerais, modificando as propriedades da superfície, cumprindo as mesmas funções dos reagentes (floculantes) convencionais na floculação de partículas minerais (NAMITA; NATARAJAN, 1999).

A origem das cargas na superfície microbiana também depende dos grupos funcionais presentes nas estruturas da membrana celular, parede celular ou algum outro envoltório (MESQUITA; LINS; TOREN, 2003). Os compostos encontrados na superfície celular de microorganismos podem ser manipulados dependendo das condições nutricionais na cultura do microorganismo. A carência de alguns nutrientes essenciais no meio de crescimento, assim

como a presença de alguns compostos específicos, pode ativar o metabolismo dos microorganismos para a produção de diferentes moléculas na parede celular (ANAND *et al*, 1996; PELCZAR, 1993).

Células de *Paenibacillus polymyxa* foram adaptadas com o uso de subculturas repetidas em presença de pirita e calcopirita (SHARMA; RAO, 1999). Os estudos empregando FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectrometry*) e FT-Raman revelaram que as células adaptadas geravam mais proteínas em sua superfície do que as células não adaptadas. Células adaptadas em pirita excretam quantidades maiores de polissacarídeos do que as células adaptadas em calcopirita (MESQUITA; LINS; TOREN, 2003). A Figura 3.8 mostra a conformação da parede celular de uma bactéria contendo ácido micólico.

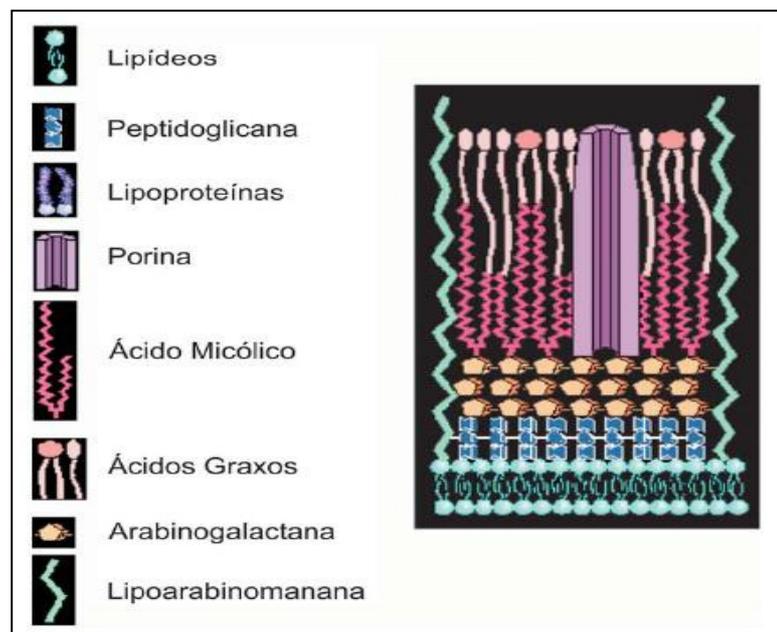


Figura 3.8: Conformação da parede celular de bactérias contendo ácido micólico.

Fonte: Pelczar (1993).

3.3.2.1 Carga elétrica superficial dos microrganismos

Os microrganismos possuem um tamanho que varia de 1,0 a 10,0 (μm) e em solução aquosa, igualmente as partículas minerais, adquirem carga elétrica. É através de medidas do

potencial zeta (PZ) que esta carga é determinada experimentalmente (MESQUITA; LINS; TOREN, 2002). Semelhante às superfícies minerais, o PIE das superfícies microbianas varia em função do ambiente químico, nos quais estas estão submetidas (pH, força iônica, entre outros) e a adição de íons multivalentes, que em determinadas condições, podem causar uma reversão de carga (TAYLOR; BOSMANN, 1981; RAO *et al*, 1995).

O comportamento total da carga de superfície dos microrganismos depende da presença de determinados grupos funcionais presentes na parede celular. Essa característica vai depender da espécie e das condições de cultivo. Tem-se verificado que a presença de polissacarídeos determina um comportamento mais aniônico devido aos grupos fosfatos. A presença de átoaminas confere um comportamento mais catiônico à superfície (MOZES *et al.*, 1989). Geralmente, devido à predominância dos grupos fosfatos sobre os grupos amidos presentes na parede celular as cargas de superfície de células de microorganismo é negativa (MOZES *et al.*, 1989). O Quadro 3.2 mostra diferentes espécies de bactérias e seus, respectivos valores de PIE (WALTERMANN *et al*, 2005).

Bactéria	PIE (pH_{PIE})
<i>Arthobacter sp</i>	1,7
<i>Pseudomona olecorants</i>	1,7
<i>Pseudomona sp</i>	2,2
<i>Pseudomona putida</i>	3,2
<i>Corynefor sp</i>	2,6
<i>Rhodococcus sp</i>	2,8
<i>Rhodococcus sp</i>	3,0
<i>Gordona sp</i>	3,4

Quadro 3.2: Valores de PIE para diferentes espécies de bactérias
Fonte: Waltermann *et al*, (2005)

3.3.3 **Bacillus Subtilis**

O *Bacillus subtilis* é uma espécie de bactéria gram-positiva, que é uma saprófita comum do solo e da água. Organismo na forma de bastonete, esporulado, não patogênico, (BOSCARIOL, 2006). Células de *B. subtilis* são mostradas na Figura 3.9.

O *Bacillus subtilis* produz uma grande variedade de proteases e outras enzimas que permitem a degradação de uma variedade de substratos naturais e contribui para a ciclagem de nutrientes. Porém sob determinadas situações, a célula vegetativa não permanece biologicamente ativa, mas existe sob a forma de esporos (ALEXANDER, 1977).

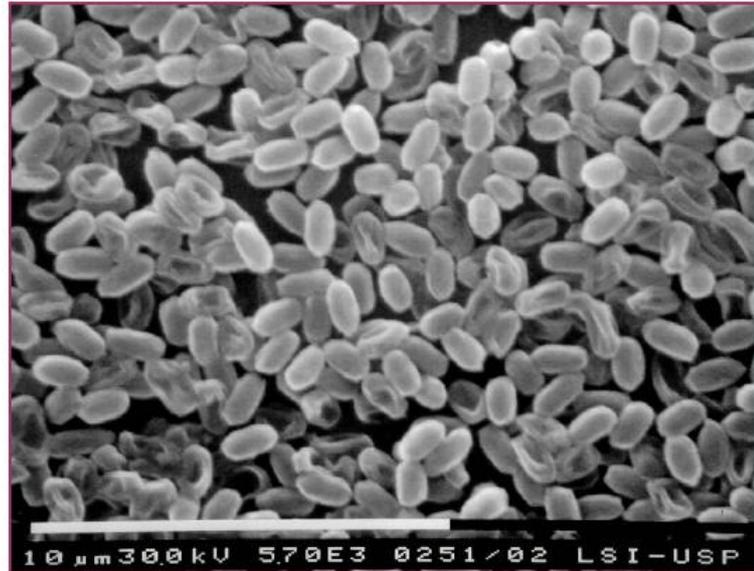


Figura 3.9: Células de *Bacillus subtilis*
Fonte: Boscariol (2006)

B. subtilis não é considerado um patogênico ou toxigênico para seres humanos, animais ou plantas. Este microorganismo tem a capacidade de crescer em um grande intervalo de temperatura, incluindo a temperatura do corpo humano (aproximadamente 37 °C) (CLAUS; BERKELEY, 1986). Porém, *B. subtilis* não apresenta os mecanismos de crescimento, tipicamente encontrados em outros microorganismos capazes de colonizar os seres humanos (EDBERG, 1991).

É uma das bactérias mais utilizadas para a produção de enzimas e substâncias químicas especiais. As aplicações industriais desse microorganismo incluem: a produção de proteases, amilases, aminoácidos, antibióticos, anti-fúngicas, entre outros. As proteases são utilizadas como agentes de limpeza na indústria de beneficiamento de couro (ERIKSON, 1976).

Vijayalakshmi e Raichur (2003) estudaram o desempenho de metabólicos (produtos extra-celulares) *B. subtilis* na floculação de partículas abióticas (finos de carvão). Como parte dessa pesquisa, eles realizaram o estudo das cargas elétricas presentes na superfície da célula do microorganismo (medida do potencial zeta). Os resultados mostraram que, a carga elétrica

presente na superfície da célula é uma função do pH, conforme mostrado na Figura 3.10. Em torno de $\text{pH} = 4,8$ (pH_{PIE} correspondente ao ponto isoelétrico) a carga da superfície da célula muda de negativa para positiva, ou seja, acima de $\text{pH} = 4,8$ as cargas são negativas e abaixo do referido valor as cargas são positivas. Caso a interação eletrostática seja o mecanismo predominante na desestabilização das cargas elétricas do mineral, este estudo é bastante relevante para a determinação das condições operacionais da floculação.

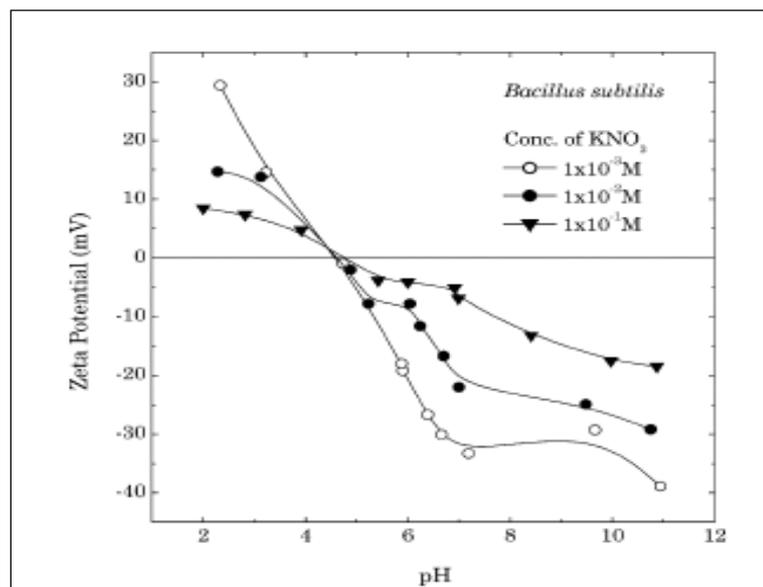


Figura 3.10: Medida do potencial zeta (PZ) de *B. subtilis*, eletrólitos indiferente, solução de nitrato de potássio (KNO_3) e em função do pH.

Fonte: Vijayalakshmi; Raichur (2003).

3.4 COAGULAÇÃO E FLOCULAÇÃO

A coagulação e a floculação são processos comumente utilizados para promover a remoção de cor e turbidez de águas naturais e de efluentes industriais, provocadas, na maior parte dos casos, pela presença de substância húmicas, além de outras partículas coloidais (LUIZ, 2005). Atualmente, os floculantes químicos mais utilizados no tratamento de água são sais de ferro, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ e FeCl_3 , ou alumínio, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (alumen), WAC (cloro-sulfato de alumínio parcialmente hidrolisado) e o mais largamente empregado é o PAC (policloreto básico de alumínio) (MASION, 1993 *apud* Guedes *et al.* 2004).

Segundo Soares *et al.* (2004), a coagulação é o efeito produzido pela adição de um produto químico sobre uma dispersão coloidal. A coagulação é dependente do pH, temperatura, quantidade de impurezas do meio líquido e dosagem de coagulante. É um processo que tem início assim que o coagulante é adicionado no efluente e dura fração de segundos, ocorre sob condições de forte agitação (AMIRTHARAJAH; O'MELIA, 1990).

Segundo Di Bernardo e Dantas (2005) existem quatro principais formas de desestabilização de partículas coloidais: a) compressão da camada difusa, b) adsorção e neutralização, c) varredura, d) adsorção e formação de pontes.

a) Compressão da camada difusa

É um mecanismo que ocasiona a desestabilização das partículas coloidais por adição de íons de carga contrária e que resulta na formação de partículas maiores a partir da floculação pericínética (METCALF; EDDY, 2003).

b) Adsorção e neutralização de cargas

Ao adicionar o coagulante na dispersão coloidal ocorrem interações entre coagulante-colóide e colóide-solvente (PAVANELLI, 2001). Algumas espécies hidrolisadas solúveis e insolúveis com cargas contrárias são capazes de neutralizar e adsorver na superfície das partículas coloidais, permitindo a coagulação (FABRETI, 2006).

c) Varredura

A formação de precipitados poderá ocorrer dependendo da quantidade adicionada de coagulantes, do pH da mistura e da concentração de alguns tipos de íons na água. As partículas coloidais presentes comportam-se como núcleos de condensação para estes precipitados (VOLTAN, 2007).

O mecanismo de varredura é intensamente utilizado nas estações de tratamento, pois os flocos resultantes são de maior tamanho e apresentam velocidades de sedimentação relativamente maiores do que os dos flocos obtidos com a coagulação realizada no mecanismo de adsorção-neutralização (PAVANELLI, 2001).

d) Adsorção e formação de pontes

Este mecanismo ocorre por intermédio da utilização de compostos orgânicos sintéticos ou naturais, utilizados como coagulantes; pode apresentar sítios ionizáveis ao longo de suas grandes cadeias moleculares (FABRETI, 2006). Esses polímeros podem ser classificados como catiônicos, aniônicos e anfóteros (DI BERNARDO, 1993).

Korbutowicz-Kabsch (2006) e Shi *et al.* (2007) analisaram o desempenho de diferentes tipos de coagulantes e concluíram que a eficiência do processo estava diretamente relacionada à faixa de pH e dosagem de coagulante utilizada.

A floculação é um processo, no qual, as partículas coloidais são colocadas em contato umas com as outras, de modo a permitir o aumento do seu tamanho físico, alterando, desta forma, a sua distribuição granulométrica (FURLAN, 2008). Na floculação, procura-se o maior número possível de encontros e a formação de agregados maiores através da agitação lenta (FABRETI, 2006). A colisão entre partículas em suspensão pode ocorrer devido a três mecanismos de transporte distinto (FABRETI, 2006): a) movimento Browniano das partículas (floculação pericinética); b) gradientes de velocidade devido à agitação (floculação ortocinética); e c) diferenças na velocidade de sedimentação das partículas individuais (sedimentação diferencial).

3.5 PLANEJAMENTO FATORIAL ESTATÍSTICO E A METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

O planejamento fatorial de experimentos é uma ferramenta que permite variar todas as variáveis de interesse possibilitando desta forma avaliar suas influências num determinado processo.

Para realizar um planejamento fatorial o pesquisador deve determinar quais serão as variáveis e os seus níveis. Essa escolha deve ser feita a partir de um conhecimento prévio do processo. Os níveis são identificados como (-1) para o nível baixo, (0) para o intermediário (ponto central) e (+1) para o nível alto (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2003). Existem diferentes tipos de planejamentos como: fatorial fracionado, fatorial completo, estrela, repetição no ponto central e central composto (BRERETON, 2002 e BOX, HUNTER e HUNTER, 2005 *apud* COSTA, 2008). Para a escolha do planejamento deve-se buscar a

combinação do menor número de ensaios com o maior número de informações extraídas (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2003).

O tipo do planejamento experimental escolhido depende, principalmente do número de variáveis independentes a serem estudadas, inicialmente. No caso de duas ou três variáveis independentes, o planejamento fatorial fracionado não é indicado. O mais recomendado é um planejamento (ou delineamento) “composto central rotacional (DCCR)” ou planejamento fatorial com pontos axiais ou planejamento estrela (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

O delineamento composto central rotacional (DCCR), segundo Box (1954); Cochran; Cox (1957); Medeiro *et al.* (2005) é o método de análise que proporciona um número maior de informações, conforme mostrado na Figura 3.11.

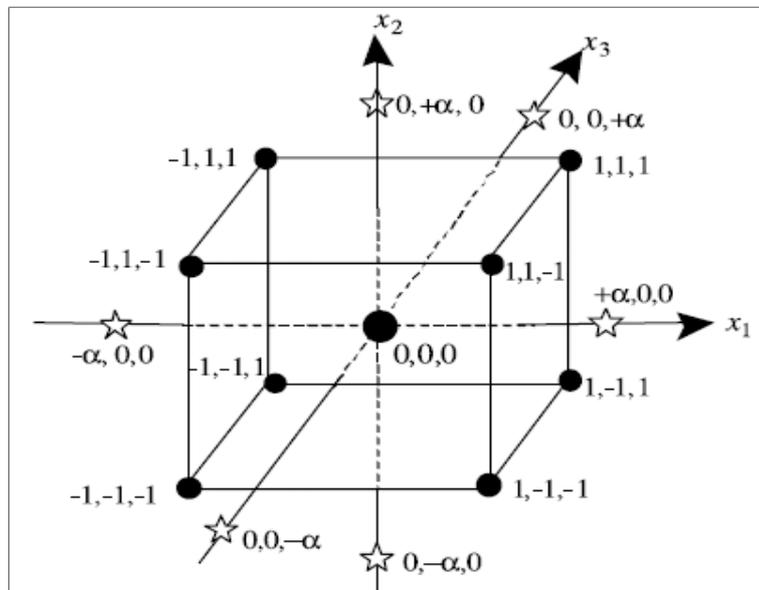


Figura 3.11: Representação esquemática do planejamento estatístico (Delineamento Composto Central Rotacional -DCCR).

Fonte: Ezzoug e Capart (2003)

Na Figura 3.11 os oito vértices do cubo correspondem aos níveis -1 e +1, o ponto central corresponde ao nível zero e os pontos axiais ($-\alpha$ e $+\alpha$) correspondem aos pontos estrela.

Para o caso de três variáveis o modelo mais adequado é o modelo polinomial quadrático:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (3)$$

Onde

X_1 , X_2 e X_3 são as variáveis independentes

β_0 (ponto de interseção)

β_1 , β_2 e β_3 (referentes aos efeitos lineares),

β_{11} , β_{22} e β_{33} (referentes aos efeitos quadráticos)

β_{12} , β_{13} e β_{23} (referentes aos efeitos de interação dupla), são os coeficientes de regressão obtidos pelo método de mínimos quadráticos;

A partir do modelo matemático é possível obter os gráficos das superfícies de respostas, que permitem analisar as condições do processo otimizadas, conhecendo-se a significância estatística das respostas.

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais. A MSR é essencialmente um conjunto de técnicas estatísticas, compostas por planejamento e análise de experimentos, que procura relacionar respostas com os níveis de fatores quantitativos e suas interações (CUSTÓDIO, 2000).

4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Controle Ambiental (Grupo de Processos Ambientais, GPA/FEQ/ITEC) da Universidade Federal do Pará.

A relação de equipamentos, materiais e metodologias utilizadas no desenvolvimento deste trabalho encontram-se descritos a seguir:

4.1 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS UTILIZADOS

4.1.1 Equipamentos

Agitador vórtex: marca: BIOMIXER; Autoclave vertical: marca PHOENIX; Balança Analítica: marca: METTLER TOLEDO; Centrífuga: marca FANEM; Estufa de cultura bacteriológica: marca FANEM; Estufa de secagem: marca FANEM; *Jar Test*: marca: NOVA ÉTICA; Espectrofotômetro: marca BIOSPECTRO; Mesa agitadora: marca B. BRAUN BIOTECH INTERNATIONAL; pH-metro: marca: HANNA; pH-metro: marca: SCHOTT; Turbidímetro: marca LICIT (TB); entre outros.

4.1.2 Materiais

Neste trabalho de pesquisa foram utilizados:

- 1) Biofloculante produzido a partir de células e produtos extracelulares de *Bacillus subtilis*.
- 2) Suspensões de resíduos de caulim, resíduo sólido da operação de centrifugação, uma das etapas o processo de beneficiamento de caulim, proveniente de uma empresa localizada na Região Nordeste do estado do Pará. A partir destas suspensões foram realizados os estudos de otimização do processo de biofloculação: a) determinação do ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim; b) avaliação do processo de biofloculação de suspensões de resíduo de

caulim (ensaios de biofloculação, em equipamento *Jar Test*, empregando técnicas de planejamento estatístico, um delineamento composto central rotacional -DCCR e ensaios preliminares de biofloculação para a definição dos níveis das variáveis de processo); c) microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos flocos do resíduo de caulim, após biofloculação, para verificação do mecanismo de adesão do biofloculante às partículas minerais.

3) Efluentes Industriais Líquidos: (EIL-B203) efluente industrial líquido da bacia de rejeitos, proveniente da operação de filtração. A partir dos quais se realizaram os seguintes estudos: a) caracterização físico-química, para a verificação de contaminantes ambientais, entre outros parâmetros; b) determinação do ponto de carga zero (PCZ) dos resíduos obtidos dos (EIL); c) aplicação do processo de biofloculação aos (EIL); e d) aplicação do processo de coagulação e floculação aos (EIL).

a) Biofloculante

O biofloculante foi preparado empregando-se uma cepa pura liofilizada de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) fabricada pela CEFAR.

b) Meio de Cultura

Para o crescimento da biomassa (*Bacillus subtilis*) foi empregado: *Tryptic Soy Broth* _ TSB (Caldo Caseína Soja) Merck, produto resultante da digestão da caseína do feijão de soja, que fornece às células compostos que funcionam como fontes de C (Carbono) e de N (Nitrogênio). Na determinação da densidade de *Bacillus subtilis* foi empregado: *Plate Count Agar* (Agar Triptona Glicose Extrato de Levedura) Merck. Os meios de cultura foram preparados de acordo com as especificações dos fabricantes.

c) Materiais diversos e reagentes

Vidrarias diversas e soluções de reagentes químicos como: soluções de ácido nítrico (HNO_3 0,1, 1,0 e 2,0 N); solução de ácido sulfúrico (HSO_4 0,1 N); soluções de hidróxido de potássio (KOH 0,1 e 1,0 N); soluções de hidróxido de sódio (NaOH 0,1 e 1,0 N); soluções de nitrato de potássio (KNO_3 0,001 e 0,1 M); solução hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) 10.000 (mg/L) e solução de sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 10.000 (mg/L).

4.2 PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE

4.2.1 Obtenção da Biomassa de *Bacillus subtilis*

Para a obtenção da biomassa da bactéria, a cepa pura liofilizada de *Bacillus subtilis* foi inoculada em *Tryptic Soy Broth* - TSB (Caldo Caseína de Soja) e incubada a 36,5 °C por 48 horas em uma estufa de cultura bacteriológica (Fanem) (Figura 4.1). A cultura bacteriana obtida foi transferida para balões (125 mL) na proporção 20:30 mL (cultura e caldo TSB). O balão foi incubado novamente a temperatura de 36,5 °C por 48 horas. Foram produzidos 200 mL de cultura bacteriana.

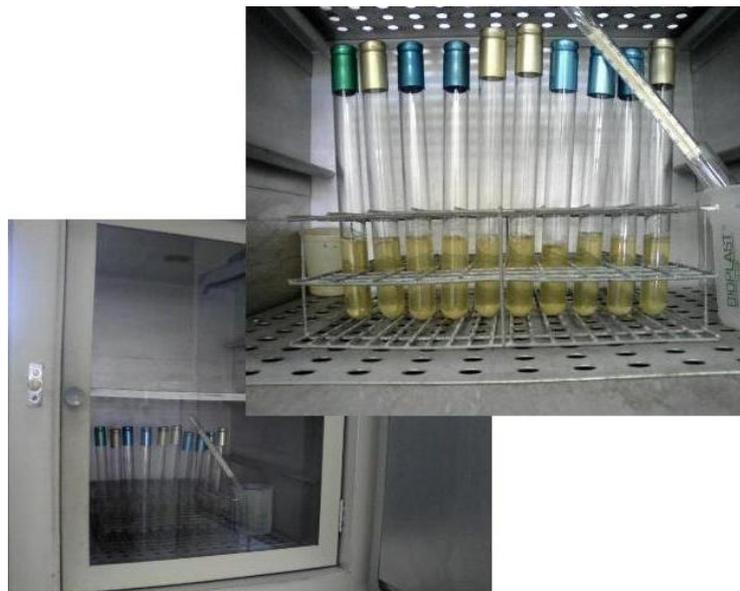


Figura 4.1: Produção de biofloculante (incubação a 36,5 °C por 48 horas em estufa de cultura bacteriológica).

4.2.2 Preparação do biofloculante

O volume total de cultura bacteriana produzida (200 mL) foi submetido à centrifugação (3.600 rpm/15 minutos). As células foram lavadas com três porções de água destilada esterilizada e então foram centrifugadas novamente (3.600 rpm/15 minutos). A biomassa obtida foi suspensa em água destilada e esterilizada. Obtiveram-se 50 mL de suspensão da biomassa de *B. subtilis* (água destilada esterilizada + células do microorganismo). A metodologia empregada foi uma modificação dos procedimentos realizados por Patra e Natarajan (2006; 2004).

4.2.3 Determinação da densidade de *B. subtilis* no biofloculante

Para a determinação da densidade da bactéria *B. subtilis* (unidades formadoras de colônias por mL, UFC/1 mL) empregou-se a técnica “*pour plate*” (APHA, 1995) e diluições até 10^{-8} . As amostras foram semeadas em meio de cultura *Plate Count Agar*, incubadas em estufa bacteriológica (Fanem) a temperatura de 35°C durante 48 h. O número de células foi determinado empregando-se um aparelho contador de colônias (Quimis).

4.3 BIOFLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS DE CAULIM (RESÍDUO SÓLIDO DA OPERAÇÃO DE CENTRIFUGAÇÃO)

4.3.1 Determinação do ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim

Neste estudo foram utilizadas as técnicas de titulação potenciométrica de massa (TPM), proposta por Vakros *et al.* (2002) e a técnica de imersão (TI) utilizada por Fiol e Villaescusa (2008) para a determinação do ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim e de uma amostra de referência (caulim P.A., reagente analítico utilizado em laboratório).

Inicialmente, foram realizados testes preliminares para a definição dos volumes de base, solução de (KOH 1N) para ajustar o valor de pH inicial da suspensão do resíduo de caulim para um valor, em torno de (pH=11,0), bem como, os volumes de ácido (12 pontos de titulação) empregando-se uma solução de (HNO₃ 0,1N) para a neutralização parcial das cargas de superfície das partículas minerais em suspensão.

Antes da realização dos ensaios o resíduo foi submetido à secagem em estufa (Fanem) 110 °C por 24 horas,

4.3.1.1 Titulação potenciométrica de massa (TPM)

Suspensões de três massas diferentes do SRC (0,1 g; 0,15 g; 0,25 g) foram preparadas empregando-se solução de nitrato de potássio (KNO₃ 0,001 M), eletrólito indiferente, e adição de solução de hidróxido de potássio (KOH 1 N) até pH igual a 11,0. Para cada massa de resíduo de caulim (RC) foram realizados 12 ensaios, empregando-se 100 mL de suspensão. As suspensões foram submetidas à agitação por 24, em uma mesa agitadora (140 rpm) até pH constante. Após o equilíbrio as suspensões foram tituladas por adição de solução de ácido nítrico (HNO₃ 0,1 N), volumes entre (0,1 mL - 3,1 mL), sob agitação contínua em agitador magnético (Quimis) por 5 minutos até pH constante. Após cada adição de solução de ácido (HNO₃ 0,1 N) e equilíbrio da suspensão, o valor do pH era medido em pH-metro (Schott) calibrado empregando-se soluções tampão (Merck). Os mesmos procedimentos foram realizados para a amostra em branco, 100 mL de solução de nitrato de potássio (KNO₃ 0,001 M). Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente.

4.3.1.2 Técnica de imersão (TI)

A técnica de imersão foi uma metodologia utilizada com a finalidade de ratificar os resultados obtidos a partir da técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM).

Suspensões do (RC), 0,1 g / 100 mL foram preparadas empregando-se solução de nitrato de potássio (KNO₃ 0,1 M). Foram realizados 14 ensaios. O pH de cada suspensão foi ajustado em diferentes valores por adição de solução de ácido (HNO₃ 0,01 N). As suspensões

foram submetidas à agitação por 24 h, em mesa agitadora (140 rpm) até pH de equilíbrio. O valor do pH das suspensões foi medido empregando-se pHmetro (Schott) calibrado com soluções tampão (Merck), após cada adição da solução de ácido (HNO_3 0,01 N) e após o equilíbrio. A variação do pH (ΔpH), relativa ao valor inicial e de equilíbrio das suspensões foi calculada e o PCZ foi determinado. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente.

4.3.2 Biofloculação de suspensões de resíduos de caulim, planejamento estatístico

Para estudar o a biofloculação de suspensões de resíduos de caulim (SRC) utilizou-se um Delineamento Estatístico Composto Central Rotacional (DCCR), com base na metodologia de superfície de resposta (MSR) (RODRIGUES; IEMMA, 2005): um fatorial completo 2^3 , 6 pontos axiais e 6 repetições no ponto central, totalizando 20 ensaios. As variáveis independentes estudadas foram: concentração da suspensão de resíduo de caulim, (CS, g/L); volume de biofloculante (VB, mL) e potencial hidrogeniônico (pH); a variável dependente: razão de floculação (RF, %).

O Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) foi definido de acordo com as equações 4.1 e 4.2 (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

$$n = 2^k + 2.k + m \quad (4.1)$$

Onde: $2^k \rightarrow$ Números de pontos fatoriais; $2.k \rightarrow$ Números de pontos axiais; $m \rightarrow$ Números de replicações no ponto central; $\alpha = F^{1/4} \rightarrow$ Onde F é o número de pontos fatoriais; $F = 2^k \rightarrow$ Quando o experimento fatorial é completo.

Os níveis das variáveis foram codificados conforme a equação (4.2):

$$x_i = \frac{X_i - X_i^*}{q} \quad (4.2)$$

Onde: $x_i \rightarrow$ Número codificado; $X_i \rightarrow$ Valor real dos níveis; $\bar{X}_i \rightarrow$ Média dos níveis; $q \rightarrow$ Diferença entre os níveis sucessivos das variáveis.

A Tabela 4.1 mostra as condições experimentais do delineamento composto central rotacional. A partir de ensaios preliminares de biofloculação (descrição no item 4.3.2) foram definidas as variáveis e os intervalos de valores das variáveis (níveis) independentes, conforme mostrados na Tabela 4.2

Para cada ensaio (Tabela 4.1) foi realizado um ensaio em branco (suspensão de caulim sem o biofloculante) totalizando a execução de 40 ensaios experimentais. O planejamento estatístico (DCCR) mostrado na Tabela 4.1 foi executado para duas condições: 1) empregando eletrólito indiferente, solução de nitrato de potássio (KNO_3 0,001 M), um total de 40 ensaios e 2) sem adição eletrólito indiferente (empregando água destilada) (40 ensaios).

Em cada ensaio experimental foram utilizados 500 mL de SRC e foram realizados em aparelho *Jar Test* (Nova Ética). A amostra teste (AT) consistiu de: suspensões do resíduo de caulim (resíduo + solução de KNO_3 0,001 M) ou suspensões de resíduo de caulim (resíduo + água destilada) com a adição de biofloculante; a amostra em branco ou de controle (AB) consistiu de: suspensões do resíduo de caulim (resíduo + solução de KNO_3 0,001 M) ou suspensões de resíduo de caulim (resíduo + água destilada) sem a adição do biofloculante. O valor do pH da amostra teste (AT) e amostra em branco (AB) foram ajustados por adição de soluções de ácido nítrico HNO_3 (1,0 N) e hidróxido de potássio, KOH (0,1 N) empregando-se pH-metro digital (Hanna) calibrado com soluções tampão (Merck). Após o ajuste do pH a amostra teste (AT) era submetida à mistura rápida em um aparelho *Jar Test* (180 rpm / 2 minutos), imediatamente ao início da agitação adicionava-se o biofloculante. Para a amostra em branco (AB) foram executados os mesmos procedimentos, porém sem a adição do biofloculante. Cessada a agitação a amostra era transferida para uma proveta de 500 mL para sedimentação por 5 minutos. Uma alíquota de 30 mL do clarificado era submetida à análise de turbidez em turbidímetro TB (Licit). A Figura 4.2 mostra o fluxograma dos procedimentos realizados nesta etapa.

Tabela 4.1: Condições experimentais do delineamento composto central rotacional (DCCR), variáveis codificadas.

Ensaio	<i>VB</i> (mL)	<i>CS</i> (g/L)	<i>pH</i>
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	$-\alpha$	0	0
10	$+\alpha$	0	0
11	0	$-\alpha$	0
12	0	$+\alpha$	0
13	0	0	$-\alpha$
14	0	0	$+\alpha$
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

Tabela 4.2: Valores das variáveis independentes empregados no planejamento estatístico (DCCR).

Variáveis	Valores das variáveis independentes				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
<i>VB</i> (mL)	2,0	3,7	6,0	8,4	10,0
<i>CS</i> (g/L)	2,0	2,6	3,5	4,4	5,0
<i>pH</i>	2,0	2,4	3,0	3,6	4,0

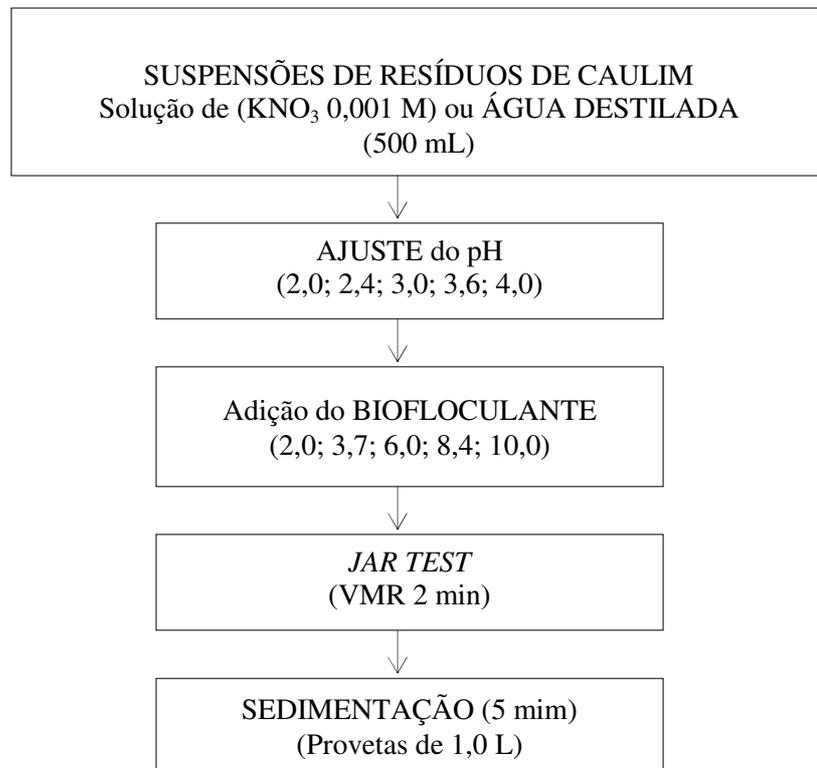


Figura 4.2: Fluxograma dos ensaios de biofloculação.

4.3.3 Ensaios preliminares de biofloculação para a definição das variáveis independentes e dos intervalos de valores (níveis) das variáveis independentes empregados no planejamento estatístico (DCCR)

Com o objetivo de definir as variáveis independentes e seus respectivos níveis empregados no planejamento estatístico (DCCR) foram realizados os seguintes ensaios:

Influência do *pH* - foram adicionados 20 mL de SRC (CS, 2,0 g/L) em um tudo de ensaio, o *pH* da suspensão foi ajustado para os valores (2,0; 2,5; 2,9; 3,5 e 4,0) e 2,0 mL de bioflocculante foram adicionados. O tubo de ensaio foi submetido à agitação empregando-se um agitador vórtex (Biomixer) por 15 segundos.

Influência do volume de bioflocculante e do volume da suspensão - o volume de bioflocculante e a velocidade de mistura rápida (VMR) foram mantidas constantes, respectivamente nos valores 2,0 mL e 180 rpm. O volume da SRC (CS, 2,0 g/L) foi variado

entre 200 mL a 500 mL. Paralelamente, foi realizado o teste, no qual, mantiveram-se constantes o volume da SRC (500 mL) e a VMR (180 rpm) e variou-se o volume de biofloculante (2,0 mL a 10,0 mL). Em seguida variou-se o volume da SRC (200 mL a 500 mL) e o volume de biofloculante (2,0 mL a 10,0 mL), mantendo-se constante a VMR (180 rpm). Os ensaios foram realizados em aparelho *Jar Test* (Nova Ética) a temperatura de 25 °C.

Influência da velocidade de mistura rápida (VMR) - neste teste a VMR foi estudada em valores de 180, 200 e 250 rpm, mantendo-se constantes o volume de biofloculante e o volume de SRC (CS, 2 g/L), respectivamente em 2,0 mL e 500 mL. Os ensaios foram realizados em aparelho *Jar Test* (Nova Ética) a temperatura de 25 °C.

4.3.4 Determinação de turbidez

Turbidez foi o parâmetro utilizado para a verificação da eficiência dos processos de biofloculação e coagulação/floculação. Este parâmetro possui uma relação direta com os sólidos em suspensão, sendo um ensaio de fácil e rápida realização. Após a sedimentação das amostras (5 minutos), uma alíquota de cerca de 30 mL do clarificado foi submetida à análise de turbidez empregando-se turbidímetro de bancada TB (Licit), cujo princípio de determinação está baseado no princípio Nefelométrico. A medida foi obtida em UNT (Unidade Nefelométrica de Turbidez).

4.3.5 Cálculo da razão de floculação (RF, %)

Para o cálculo da variável resposta, razão de floculação (RF, %) foi utilizada a seguinte equação:

$$RF \quad (\%) = \left(\frac{T_{AB} - T_{AT}}{T_{AB}} \right) \times 100 \quad (4.3)$$

Onde: RF , representa a eficiência de remoção dos sólidos em suspensão (%); T_{AB} , medida da turbidez da amostra em branco (AB) após sedimentação (UNT); T_{AT} , medida de turbidez da amostra teste (AT) após a sedimentação (UNT).

4.4 APLICAÇÃO DE BIOFLOCULAÇÃO E COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO QUÍMICA AO EFLUENTE INDUSTRIAL LÍQUIDO

Nesta etapa do trabalho o biofloculante foi utilizado na floculação de sólidos em suspensão de efluente industrial líquido (EIL) proveniente da indústria de beneficiamento de caulim. Realizou-se a caracterização físico-química do (EIL), aplicação de biofloculação e aplicação dos processos de coagulação/floculação química, empregando-se como coagulante sulfato de alumínio e auxiliar de coagulação hidróxido de cálcio.

4.4.1 Caracterização físico-química do efluente industrial líquido

O efluente industrial líquido (EIL) foi coletado em tambor de 20 L, pela indústria de beneficiamento de caulim e foi enviada para o Laboratório de Processos Ambientais (LPA) da FEQ/UFPA para a realização da caracterização físico-química. Na Tabela 4.3 são mostrados os parâmetros físico-químicos e químicos determinados, bem como as metodologias analíticas utilizadas.

Imediatamente, após o recebimento do EIL, alíquotas foram submetidas às determinações de: pH, turbidez, alcalinidade total, oxigênio dissolvido e sólidos decantáveis. Alíquotas de amostras de EIL foram tratadas por sedimentação e filtração a vácuo, para a remoção de partículas em suspensão e preservadas (refrigeração a 4 °C) para as determinações de sulfato e cloreto. Alíquotas tratadas foram preservadas (refrigeração a 4 °C e pH < 2,0 por adição de HNO₃ concentrado) para a determinação de cátions (cálcio, magnésio, cobalto, estrôncio, alumínio, bário, zinco, manganês, ferro total, cromo total, chumbo, níquel, cobre, cádmio, arsênio, prata, potássio, lítio e níquel). Alíquotas foram preservadas (refrigeração a 4 °C) para a determinação de sólidos (ST, SDT e SST).

As determinações de cátions foram realizadas conforme a técnica de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (Sigla inglesa, ICP-OES), plasma de argônio, conforme metodologias padronizadas (APHA, 2005). As determinações foram realizadas em Espectrômetro de Emissão de Plasma (marca: Varian; modelo: Vista Pro) no laboratório *Chemyka* Consultoria Química (Manaus, AM).

Tabela 4.3: Parâmetros físico-químicos e químicos determinados para a caracterização do efluente industrial líquido (EIL-B203) e metodologias analíticas.

Parâmetro	Metodologia analítica
Turbidez (UNT)	Método nefelométrico (APHA, 1995)
pH	Método eletrométrico (APHA, 1995)
Sólidos totais (ST) (mg/L)	Método gravimétrico (APHA, 1995)
Sólidos dissolvidos totais (SDT) (mg/L)	Método gravimétrico (APHA, 1995)
Sólidos em suspensão totais (SST) (mg/L)	Método gravimétrico (APHA, 1995)
Sólidos decantáveis (SD) (mL/L)	Método do Cone de Imhoff (APHA, 1995)
Alcalinidade total (AT) (mg/L)	Método potenciométrico (APHA, 1995)
Cloreto (mg/L)	Método argentométrico (APHA, 1995)
Oxigênio Dissolvido (OD) (mg/L)	Método de Winkler modificado pela azida (APHA, 1995)
Sulfato (mg/L)	Método turbidimétrico (APHA, 1995)
Cálcio, magnésio, alumínio, bário, zinco, manganês, ferro total, sódio e potássio. (mg/L)	Técnica da emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (APHA, 2005)

4.4.2 Determinação do ponto de carga zero (PCZ) de sólido resíduo obtido a partir do efluente industrial líquido

Nesta determinação empregou-se a técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM), proposta por Vakros *et al.* (2002) para a determinação do ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim.

O (EIL-B203) foi desidratado em estufa a 110 °C até massa constante. Em seguida desaglomerado (empregando gral e pistilo) e classificado por peneiramento, em peneira série ASTM N° 42 (abertura de 350 µm). Antes da realização dos ensaios o resíduo foi submetido à secagem em estufa (Fanem) a 110 °C por 24 horas,

4.4.3 Biofloculação do efluente industrial líquido

As condições experimentais empregadas nos ensaios de biofloculação do EIL-B203 foram: volume de efluente de 500 mL, velocidade de mistura rápida de 180 rpm, tempo de mistura rápida de 2 minutos e tempo de sedimentação igual a 5 minutos. As demais condições experimentais são mostradas na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Condições experimentais dos ensaios de biofloculação do EIL-B203.

		VB (mL)	CS (g/L)	pH
EIL- B203	Ensaio 11 (Tabela 4.1)	6,0	2,0	3,0
	Amostra em Branco	0	2,0	3,0
	Ensaio (CS natural)	6,0	3,3	3,0
	Amostra em Branco	0	3,3	3,0
	Ensaio (pH e CS naturais)	8,4	3,3	3,1
	Amostra em Branco	0	3,3	3,1

Ensaio 11 (Tabela 4.1): ensaio realizado empregando-se condições experimentais do DCCR (suspensão do resíduo da operação de centrifugação); **Ensaio (CS natural):** ensaio realizado empregando-se a concentração de sólidos em suspensão presente no EIL; **Ensaio (pH e CS naturais):** ensaio realizado empregando-se a concentração de sólidos em suspensão e o pH do EIL.

4.4.4 Estudo de sedimentação

O ensaio de sedimentação foi realizado em proveta de 1.000 mL, nas seguintes condições experimentais: 500 mL do EIL – B203, concentração de sólidos de 2,0 g/L, volume de biofloculante de 6,0 mL, VMR (180 rpm) e tempo de mistura rápida (2 minutos).

Durante o ensaio foi acionado um cronômetro digital e em seguida, foram feitas leituras da posição da interface superior (limite entre a suspensão e o líquido límpido) e o tempo correspondente. Os dados de leitura de posição da interface superior (cm) *versus* tempo (s) foram graficados. A velocidade de sedimentação do sólido foi determinada a partir da inclinação da reta na região linear do referido gráfico.

4.4.5 Coagulação/floculação química do efluente industrial líquido

Como coagulante empregou-se uma solução de sulfato de alumínio P.A. $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (14 a 18 H_2O) 10.000 mg/L. Os ensaios de coagulação/floculação foram similares aos

procedimentos tradicionais realizados em equipamento *Jar Test* para o tratamento de efluentes industriais (AHMAD; ISMAIL; BHATIA, 2003). As condições experimentais dos ensaios foram: velocidade de mistura rápida (VMR) de 180 rpm por 2 min, velocidade de mistura lenta de 40 rpm por 30 min. Os ensaios de sedimentação foram realizados em provetas de 1.000 mL por 1 hora. Foram adicionadas dosagens crescentes do coagulante, sulfato de alumínio (40; 80; 120; 150 e 200 mg/L de efluente) em béqueres de 500 mL contendo volumes de 250 mL de EIL, em diferentes valores de pH inicial (5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0) (Tabela 4.6). Para os ajustes de pH empregou-se pH-metro Schott calibrado com soluções tampão (Merck) e soluções de ácido sulfúrico (H_2SO_4 0,1 N) e hidróxido de cálcio $Ca(OH)_2$ (10.000 mg/L. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente.

Após a sedimentação (1 h) as alíquotas do sobrenadante foram coletadas e os valores de turbidez (NTU) das amostras teste e das amostras em branco foram lidos em Turbidímetro TB (Licit).

Tabela 4.5: Condições experimentais da aplicação de coagulação/floculação aos EIL.

Concentração do Coagulante(mg/L de efluente)	Valor de pH				
Amostra em Branco	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
40	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
80	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
120	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
150	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
200	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PRODUÇÃO DE BIOFLOCULANTE

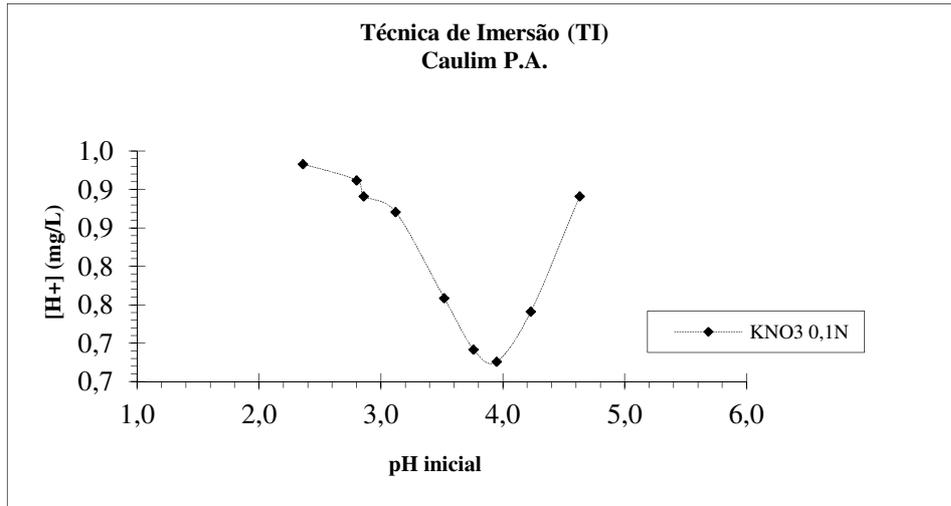
Foram obtidos 200 mL de suspensão bacteriana (biofloculante), conforme as etapas de cultivo empregadas. Após a lavagem da biomassa e posterior ressuspensão em água destilada e esterilizada obteve-se 50 mL de suspensão bacteriana. A densidade de microorganismos obtida nesta suspensão foi de $8,7 \times 10^8$ UFC/1mL.

5.2 BIOFLOCULAÇÃO DE SUSPENSÕES DE RESÍDUOS DE CAULIM (RESÍDUO SÓLIDO DA OPERAÇÃO DE CENTRIFUGAÇÃO).

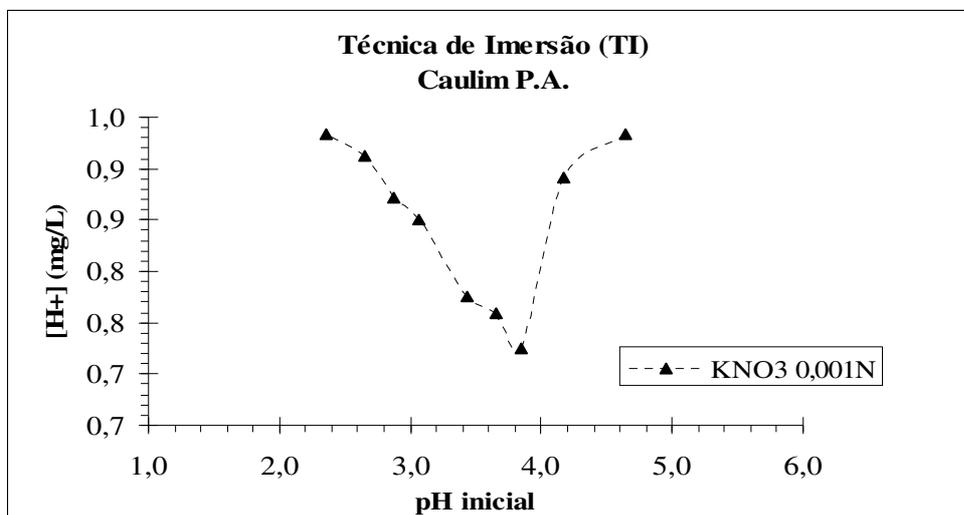
5.2.1 Determinação do ponto de carga zero (PCZ)

Conforme a técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM), o ponto de carga zero (PCZ) ou pH do ponto de carga zero (pH_{PCZ}) é determinado a partir da interseção entre as curvas de titulação das suspensões ((0,1 g; 0,15 g; 0,25 g) e da amostra em branco, obtidas em um valor constante de concentração de eletrólito indiferente (VAKROS *et al*, 2002). Segundo a metodologia de técnica de imersão (TI), o ponto de carga zero (PCZ) ocorre no valor mínimo da variação do pH da suspensão do resíduo, ΔpH (pH_2 da suspensão após o equilíbrio - pH_1 da suspensão após a adição de ácido) (FIOL; VILLAESCUSA, 2008).

Inicialmente foi determinado o PCZ de uma amostra de referência, caulim P.A. O PCZ da amostra de referência foi determinado pela técnica de imersão empregando-se duas condições de comprimento iônico da suspensão, solução de (KNO_3 0,001 N e 0,01 N), conforme mostrado na Figura (5.1). Os resultados obtidos para a amostra de referência indicam que o valor encontrado para o pH_{PCZ} foi de aproximadamente 4,0, valor este esperado segundo a literatura (ARAÚJO; GALERY, 1987 *apud* FALCUCCI, 2007).



(a)



(b)

Figura 5.1: Curvas experimentais de determinação de PCZ (ponto de carga zero), técnica de imersão (TI) para o caulim P.A. (a): concentração de eletrólito KNO_3 0,1 N; (b): concentração de eletrólito KNO_3 0,001 N.

As Figuras 5.2 e 5.3 mostram, respectivamente, as curvas experimentais correspondentes à determinação do PZC do resíduo de caulim pelas técnicas: titulação potenciométrica de massa (TPM) e técnica de imersão (TI).

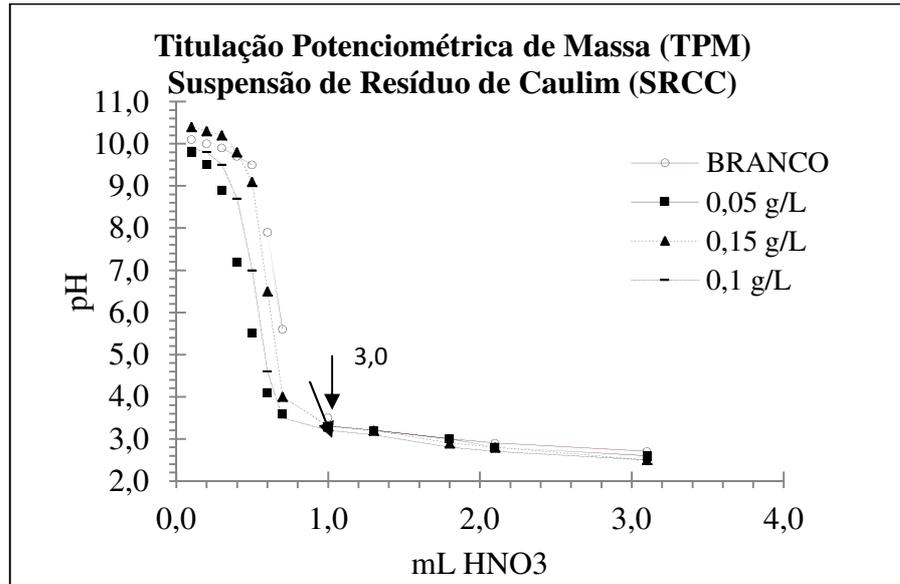


Figura 5.2: Curva experimental de determinação de *PCZ* (ponto de carga zero), titulação potenciométrica de massa (TPM), resíduo de caulim (centrifugação). $pH = pH_{equilíbrio}$.

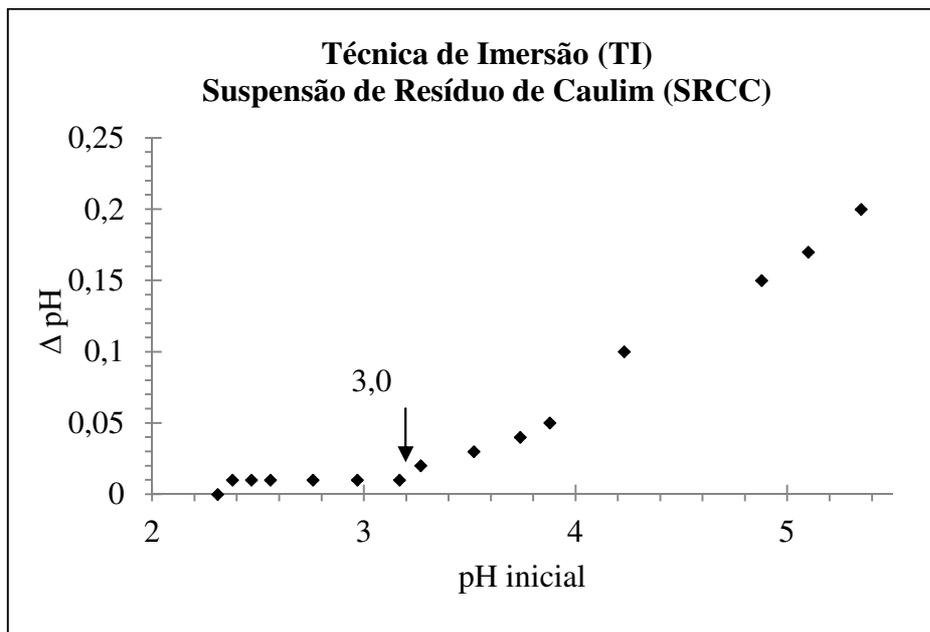


Figura 5.3: Curva experimental de determinação de *PCZ* (ponto de carga zero), técnica de imersão (TI), resíduo de caulim (centrifugação). $\Delta pH = (pH_{equilíbrio} - pH_{inicial})$

Conforme a técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM) o ponto de carga zero (*PCZ*) ou pH de carga zero (pH_{PCZ}) é determinado a partir da intersecção das curvas de titulação das suspensões de três diferentes massas do sólido, obtidas em um mesmo valor de

concentração de eletrólito indiferente (VAKROS *et al*, 2002). Segundo a metodologia da técnica de imersão utilizada, o ponto de carga zero (PCZ) ocorre no valor mínimo da variação do pH da suspensão do resíduo, ΔpH (pH da suspensão após a adição de ácido e pH da suspensão após o equilíbrio) (FIOL; VILLAESCUSA, 2008). Nas Figuras 5.2 e 5.3 conforme as técnicas de determinação usadas obtiveram-se valores, em torno de: TMP, $pH = 3,0$ e TI, $pH = 3,0$. Resultado similar foi observado por Cunha, Toren, D' Abreu (2007). Desta forma, para valores de pH das SRC menores do que 3,0 as cargas da superfície das partículas minerais encontram-se carregadas positivamente. Para valores de pH das SRC maiores do que 3,0 as cargas da superfície das partículas minerais são negativas. Valor do pH da SRC em torno do valor do PCZ do resíduo aumenta a razão de floculação das partículas minerais.

De acordo com Menéndez *et al.* (1995). O PCZ (ponto de carga zero), determinado por titulação potenciométrica é representativo da carga total líquida da partícula na suspensão (interna e externa). O PCZ das partículas de argilas sofrem influência do pH da solução, comprimento iônico, tipos de espécies iônicas, temperatura e tipo de argila mineral. O potencial zeta é geralmente negativo para argilas dentro de um intervalo (-10 a -100 mv). O valor de PCZ determinado neste estudo para o resíduo de caulim é comparável aos valores determinados para alguns tipos de caulim, em torno de 3,0 e 3,5 (CUNHA *et al*, 2007; AL-HAMDAN; REDDY, 2005).

5.2.2 Biofloculação de suspensões de resíduos de caulim

Os resultados obtidos a partir dos ensaios preliminares de biofloculação para a definição das variáveis independentes e seus respectivos níveis foram, conforme segue:

Influência do pH na biofloculação - conforme a avaliação dos resultados obtidos (Figura 5.4) observou-se que a floculação ocorria até $pH = 4,0$. Desta forma, para os ensaios de biofloculação, o pH da suspensão foi fixado nos valores entre 2,4 a 4,0.

Influência da velocidade de mistura rápida (VMR) - a VMR foi mantida constante no valor de 180 rpm, pois durante a realização dos ensaios a eficiência do processo (RF , %) permaneceu constante com a variação da velocidade de agitação.

Influência do volume de biofloculante e do volume da suspensão - observou-se que quanto maior o volume de SRC, menor era a eficiência do processo (*RF*, %) (Figura 5.5). Além disso, quanto maior o volume de biofloculante, maior era a eficiência do processo (*RF*, %). Portanto, a variável *CS* foi definida entre (2,0 g/L e 5,0 g/L) e *CB* entre 2,0 mL e 10,0 mL.

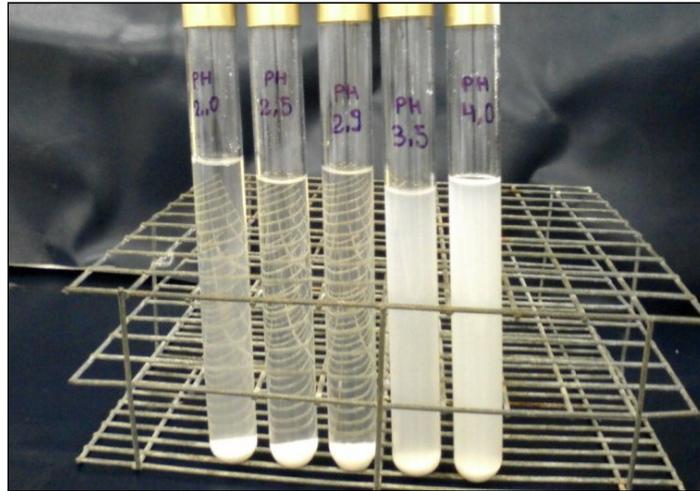


Figura 5.4: Ensaios preliminares realizados para a determinação de valores do potencial hidrogeniônico (*pH*) para a biofloculação. Da direita para a esquerda, valores de pH: 2,0; 2,5; 2,9; 3,5 e 4,0.

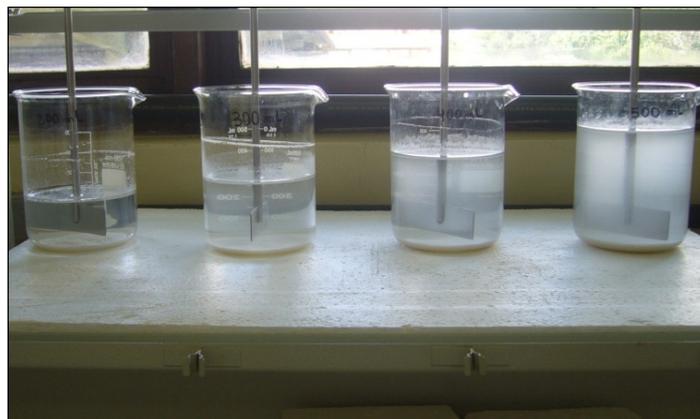


Figura 5.5: Ensaios preliminares de variação do volume das suspensões de resíduo de caulim.

A Tabela 5.1 mostra a matriz do planejamento estatístico (DCCR), variáveis reais, e os resultados para a variável resposta (*RF*, %) obtidos a partir dos ensaios de biofloculação com e sem a adição de eletrólito indiferente.

Tabela 5.1: Condições experimentais do planejamento estatístico (DCCR) e seus respectivos resultados, ensaios realizados com e sem a adição de eletrólito indiferente.

Ensaio	VB (mL)	CS (g/L)	pH	RF (%)	
				Com eletrólito	Sem eletrólito
1	3,7	2,6	2,4	89,0	79,0
2	8,4	2,6	2,4	95,0	91,5
3	3,7	4,4	2,4	48,5	44,5
4	8,4	4,4	2,4	91,5	88,5
5	3,7	2,6	3,6	69,5	43,0
6	8,4	2,6	3,6	87,0	13,0
7	3,7	4,4	3,6	11,5	42,0
8	8,4	4,4	3,6	52,0	55,0
9	2,0	3,5	3,0	44,0	20,0
10	10,0	3,5	3,0	88,0	78,0
11	6,0	2,0	3,0	92,0	89,0
12	6,0	5,0	3,0	32,0	31,0
13	6,0	3,5	2,0	84,0	39,0
14	6,0	3,5	4,0	22,5	6,0
15	6,0	3,5	3,0	87,5	88,3
16	6,0	3,5	3,0	87,9	89,8
17	6,0	3,5	3,0	87,5	89,0
18	6,0	3,5	3,0	87,9	88,5
19	6,0	3,5	3,0	88,4	89,1
20	6,0	3,5	3,0	88,5	88,1

De acordo a Tabela 5.1 o valor máximo da variável (*RF*, %), para os ensaios com adição de eletrólito (95 %) e sem eletrólito (91,5 %) ocorreram para o volume de floculante de 8,4 mL, concentração de suspensão de 2,6 g/L e *pH* de 2,4. Comparativamente, para cada um dos ensaios realizados (com e sem adição de eletrólito), a eficiência da floculação com a adição do eletrólito foi ligeiramente melhor.

Ressalta-se que, cada um dos valores de (*RF*, %), conforme, mostrados na Tabela 5.1 foi calculado comparando-se a suspensão submetida à floculação com adição de biofloculante (amostra teste) e sem a adição de biofloculante (amostra de controle). Uma consequência prática da utilização de eletrólito indiferente na floculação de suspensões de partículas minerais é facilitar a desestabilização de cargas. Os íons do eletrólito interagem com a dupla camada elétrica que se desenvolve em torno da partícula sólida. A presença de eletrólitos indiferente reduz a espessura da dupla camada elétrica, pois comprime a camada difusa e como consequência dessa ação ocorre uma diminuição do potencial de superfície da partícula. Quanto maior a concentração do eletrólito indiferente menor o potencial de superfície e menor será a repulsão entre partículas. Conforme os resultados obtidos e mostrados na Tabela 5.1, valores de eficiência de processo (*RF*, %) foram similares para as duas condições estudadas,

com adição e sem adição de eletrólito. Quanto à eficiência do processo, não houve melhoria significativa para a condição com adição de eletrólito indiferente. Tal fato não está relacionado ao tipo de íons utilizados, pois segundo a literatura consultada soluções de nitrato de potássio (KNO_3), até cerca de 1,0 M foram muito eficientes na floculação de suspensões de caulim (KOSMULSKI; DAHLSTEN, 2006). No entanto, o fato pode estar relacionado à concentração do eletrólito utilizada (0,001M), quanto maior essa variável maior o efeito na floculação.

Os resultados do DCCR são mostrados nas Figuras 5.6 e 5.7. A intensidade dos efeitos das variáveis independentes e suas interações com e sem adição de eletrólito são mostradas na Figura 5.6. Na Figura 5.7 mostra-se a representação gráfica da influência das variáveis independentes na variável resposta (RF , %). Concentração da SRC (CS , g/L) *versus* volume de biofloculante (VB , mL) (Figura 5.7a) e pH *versus* concentração da SRC (CS , g/L) (Figura 5.7b). Os resultados foram obtidos em um nível de probabilidade de 0,05.

Conforme os resultados mostrados no Diagrama de Pareto (Figura 5.6a) para os ensaios de biofloculação, com adição de eletrólito as variáveis: concentração de suspensão (CS , g/L), (pH) e volume de biofloculante (VB , mL), formas lineares e quadráticas e as interações (VB , mL) e (CS , g/L); (CS , g/L) e (pH) são significativas, em nível de confiança 95 (%).

Observa-se que as variáveis (CS , g/L), (pH) e (VB , mL) lineares são os efeitos mais significativos para o processo.

O efeito da variável concentração da suspensão (CS , g/L) a partir do nível inferior para o nível superior é negativo de (-10,12). O aumento da concentração de sólidos na suspensão aumenta a repulsão entre as partículas. Segundo Alkan *et al.* (2005), a concentração de sólido em solução é considerada, um dos parâmetros mais significativos, responsável pela geração de cargas de superfície. Isso significa que, as espécies iônicas produzidas na interface sólido-líquido aumentam quando ocorre um aumento da concentração da suspensão. Considerando que a forma quadrática desta variável, também foi significativa, as interações desta variável com as demais consideradas no estudo do processo de biofloculação devem ser observadas.

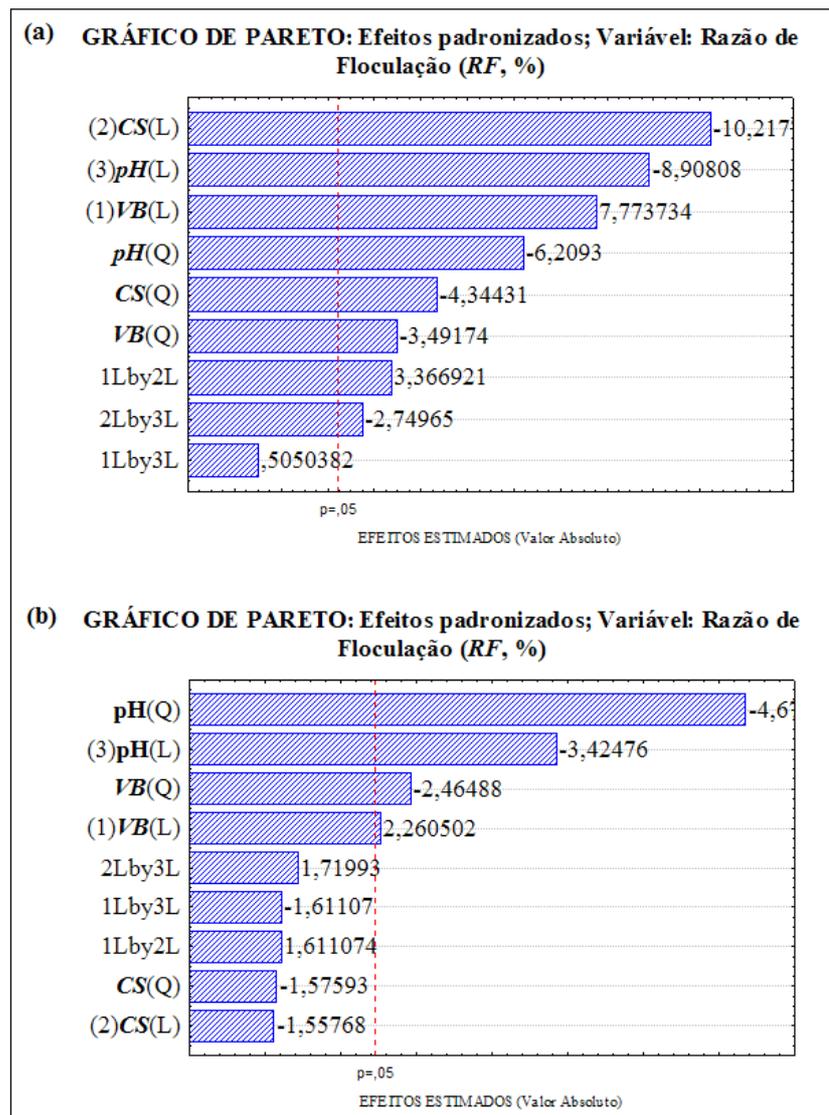


Figura 5.6: Diagrama de Pareto _ Efeitos padronizados, referentes aos efeitos das variáveis independentes e suas interações na variável resposta (RF, %). a) com adição de eletrólito, b) sem adição de eletrólito.

A partir da variável *pH* observou-se efeito negativo igual a (-8,90). Para o resíduo de caulim sob estudo determinou-se um valor de PCZ, em torno de 3,0. Considerando a elevada densidade de carga existente na suspensão, uma vez que, obteve-se um efeito negativo da variável (*CS*, g/L), o processo de biofloculação, em torno do valor do PCZ foi mais eficiente, conforme mostrado na (Figura 5.7). Neste caso, o efeito negativo do *pH* no sentido do menor para o maior valor da variável pode ser atribuído ao fato do *pH* da suspensão se afastar do PCZ das partículas sólidas. A forma quadrática desta variável foi significativa, o que significa efeito de interação entre as variáveis consideradas no processo de biofloculação.

A eficiência da floculação da suspensão (RF , %) aumenta no sentido do nível superior da variável volume de biofloculante (VB , mL), pois o efeito observado foi positivo de (+7,77). O mecanismo de neutralização de cargas é significativo para o processo, considerando que este efeito é linear e positivo. Contudo, a forma quadrática foi significativa e seu efeito negativo (-3,49). Esse resultado indica que o excesso de biofloculante pode aumentar a quantidade de material disperso na solução.

Os resultados das interações entre (VB , mL e (CS , g/L) e entre (CS , g/L) e (pH) podem ser observados a partir dos gráficos de superfície de resposta (Figura 5.7).

O Diagrama de Pareto para os ensaios de biofloculação, sem eletrólito (Figura 5.6b) mostra que as variáveis (pH) e o volume de biofloculante (VB , mL), formas lineares e quadráticas são estatisticamente significativas, em nível de confiança 95 % para a eficiência do processo (RF , %). Nessa condição experimental estudada, os valores dos efeitos das formas quadráticas das variáveis foram negativos e maiores do que aqueles obtidos para a forma linear, respectivamente de (-4,67) e (-2,46).

Estes resultados indicam que essas variáveis sofreram influência de outros fatores. No caso do pH, houve uma significativa dependência dessa variável, com relação ao valor do PCZ das partículas minerais, uma vez que, na direção do aumento do nível inferior para o nível superior, o efeito quadrático foi maior do que o efeito linear. Com relação à variável (VB , mL) os fatores influentes podem ter sido: o mecanismo de adesão (partícula/biofloculante) ou mudança de carga do biofloculante, uma vez que não houve interações entre as variáveis. A predominância do mecanismo de neutralização de carga é representada pelo efeito linear.

Observa-se na Figura (5.6b) que a interação entre as variáveis (pH e VB , mL) e a variável concentração da suspensão (CS , g/L) não foram significativas para o processo de biofloculação (em nível de probabilidade de 0,05).

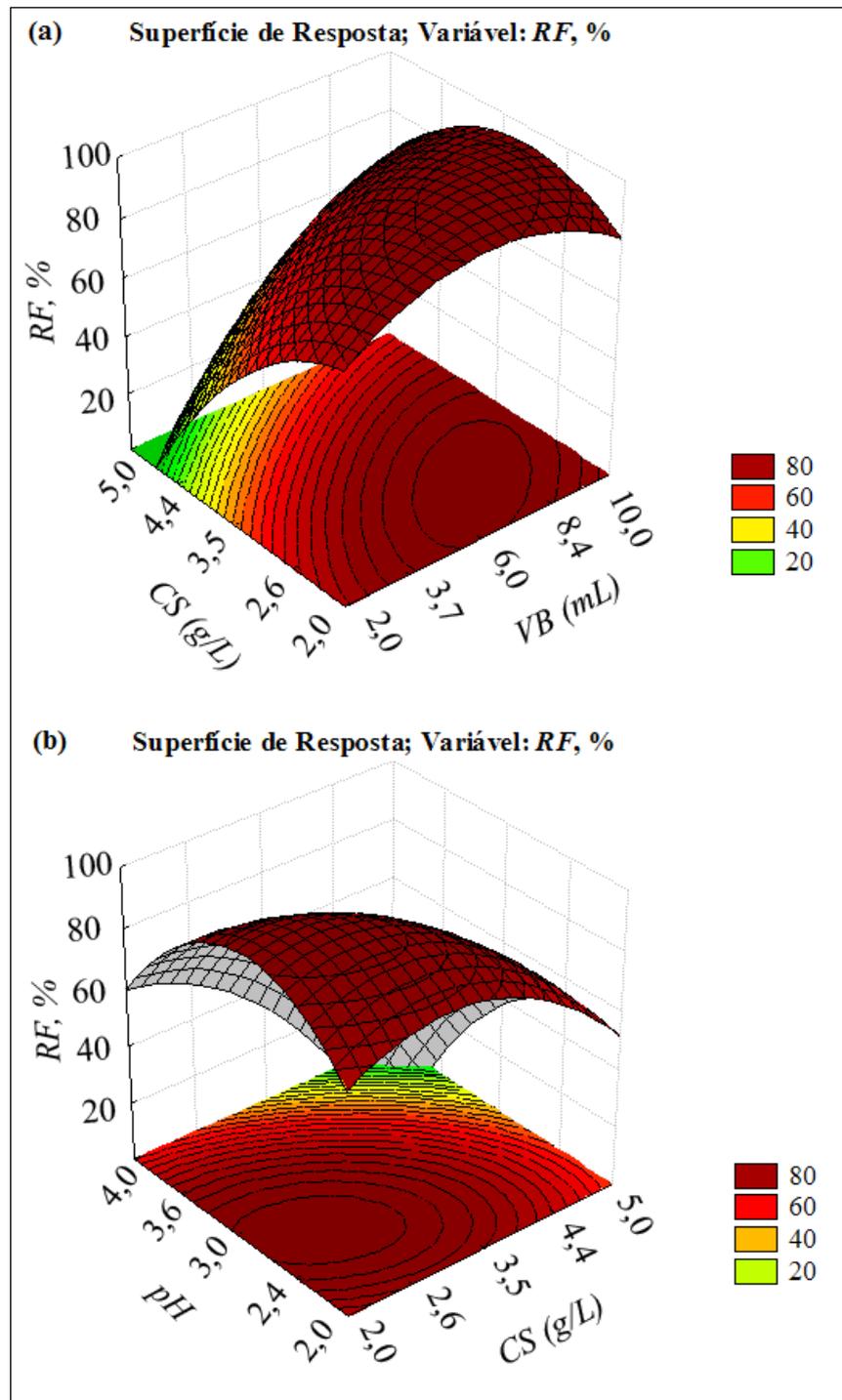


Figura 5.7: Representação gráfica da influência das variáveis independentes na variável resposta ($RF, \%$), a partir da biofloculação das suspensões de resíduo de caulim. a) variáveis independentes: CS (g/L) e VB (mL); b) variáveis independentes: pH e CS (g/L).

Os resultados a partir da interação entre (VB, mL) e ($CS, g/L$), Figura 5.7a, mostram que houve contribuição significativa do mecanismo de neutralização de cargas, pois a interação linear foi positiva (+3,36). Na (Figura 5.7a) observa-se que para o intervalo de (3,7 – 8,4) da

variável volume de biofloculante ocorre o aumento da eficiência do processo (FR , %), nessa condição o valor do pH da suspensão é igual a (3,0). A concentração de sólidos na suspensão foi um fator limitante para o processo.

Da interação entre (CS , g/L) e (pH) verificou-se, que a densidade de carga e consequentemente o potencial de superfície das partícula minerais foi mais afetado pelo pH da suspensão do que a densidade de carga do biofloculante, resultando em um efeito negativo (-2,74). Enquanto que, a interação (VB , mL e pH) não foi significativa. A superfície de reposta (Figura 5.7b) mostra uma tendência para um ponto ótimo, em torno de 80 (%), no intervalo de pH (2,4 a 3,6) para o nível inferior da variável CS (g/L).

Segundo Wu e Ye (2007); Salehizadeh e Shojaosadati (2001); Levy *et al.* (1992) biofloculantes podem promover a agregação de partículas e de células de microorganismos por dois mecanismos: formação de pontes e neutralização de carga. Na formação de pontes a ação do biofloculante estende-se a partir da superfície das partículas a uma distância maior do que aquela, na qual atua a força de repulsão interpartículas. Desta maneira, o biofloculante adsorve outras partículas para formar flocos. A efetividade da formação de pontes depende do peso molecular do biofloculante, carga de superfície do biofloculante e partícula sólida e comprimento iônico da suspensão. No mecanismo de neutralização de cargas o biofloculante possui cargas de superfície contrárias às cargas da superfície das partículas minerais. Neste caso a densidade de carga da superfície da partícula é reduzida, devido à adsorção do floculante, desta maneira as partículas podem se aproximar o suficiente, uma vez que as forças atrativas tornam-se efetivas, assim há a formação de flocos.

De acordo com Haas *et al.* (1999) o mecanismo inicial de floculação de finos de minério por microorganismos é o de formação de pontes. Este mecanismo ocorre quando o floculante (sintético ou natural) apresenta uma grande diversidade de sítios ionizáveis na sua superfície (catiônicos, aniônicos, não iônicos). Esse mecanismo é, especialmente eficiente quando as partículas são muito pequenas ou têm tamanhos similares (HAAS; SCHNEIDER, 1998). Porém, interações a partir de adsorção específica (presença de cargas contrárias, dando origem à neutralização de cargas; presença de substâncias específicas que promovem a adesão da biomassa à partícula abiótica, entre outras) não podem ser negligenciados, pois bactérias com comportamento eletrocinético similares não são capazes de flocular finos de minério. Algumas bactérias gram-negativas têm mecanismos de adsorção específica à superfície de partículas sólidas associados a sua superfície constituída de lipopolissacarídeos (constituintes da parede celular de microorganismos) e tais tipos de interações, também são possíveis de ocorrer com bactérias gram-positivas (*B. subtilis*). Conforme Haas *et al.* (1999), a suspensão

de biomassa de microorganismos (biofloculante) assemelha-se a um polímero que promove a floculação de finos de minério, de forma similar à adição de um polímero sintético. promover

Estudos sobre a produção e aplicação de biofloculantes de diferentes cepas de *B. subtilis* foram publicados na literatura (WU; YE, 2007; VIJAYALAKSHMI; RAICHUR, 2003; SUH *et al.*, 1997), porém sob as mesmas condições experimentais utilizadas neste trabalho, principalmente quanto à produção do biofloculante não foram encontradas referências na literatura consultada.

Considerando os resultados obtidos, a presença de eletrólito indiferente na suspensão (Figura 5.5a) potencializou a influência das variáveis de processo, com relação à suas magnitudes, intensidade dos efeitos; influência significativa de todas as variáveis de processo estudadas e o aumento de interações entre as variáveis. Na condição de processo, sem adição do eletrólito indiferente a variável (CS , g/L) e as interações entre as variáveis de processo não foram significativa (Figura 5.6b). Os resultados apontam para uma maior complexidade do sistema, na presença de eletrólitos indiferentes.

A biofloculação, sem a adição de eletrólito indiferente, pode ser considerada uma situação ideal, mesmo tendo sido utilizado um resíduo de caulim de elevada pureza. Para a aplicação em uma situação real, floculação de efluente industrial proveniente do beneficiamento de caulim empregando-se biofloculante, o meio reacional (ou suspensão) assemelha-se à condição, com adição de eletrólito indiferente, pois os efluentes industriais possuem uma maior quantidade de impurezas (íons), que podem melhorar ou não a eficiência do processo, como a presença de cátions polivalentes que desestabilizam as cargas das superfícies das partículas por adsorção específica. Íons Ca^{2+} e Mg^{2+} , normalmente aumentam a eficiência do processo, enquanto que os íons trivalentes Fe^{3+} e Al^{3+} podem diminuir a eficiência do processo (ALKAN *et al.*, 2005). Os íons monovalentes (eletrólitos indiferentes) promovem a compressão da dupla camada elétrica. Contudo, a observação do efeito das variáveis, a partir da condição experimental, sem adição de eletrólito fornece informações importantes sobre o fenômeno da biofloculação, conforme os resultados obtidos, neste trabalho.

5.3 APLICAÇÃO DE BIOFLOCULAÇÃO E COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO QUÍMICA AO EFLUENTE INDUSTRIAL LÍQUIDO

5.3.1 Caracterização físico-química do (EIL-B203)

As Tabelas 5.2 e 5.3 mostram, respectivamente, os resultados da determinação de parâmetros físicos e químicos obtidos a partir da análise do efluente industrial.

A caracterização do efluente industrial foi realizada com os objetivos de avaliar e quantificar os sólidos presentes nos efluentes (turbidez, ST, SDT SST e SD); a presença de íons mono e multivalentes, incluindo metais pesados, que interferem na floculação de partículas coloidais (Cl^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Fe^{+3} , Zn^{+2} , entre outros) e avaliar o potencial poluidor (pH , OD, SST, Zn^{+2} , Ba^{+2} e Mn^{+2}).

Tabela 5.2: Resultados dos parâmetros físico-químicos.

Parâmetro	EIL-B203
Turbidez (NTU)	8.290
pH	4,3
Sólidos Totais, ST (mg/L)	954
Sólidos em suspensão, SST (mg/L)	296
Sólidos decantáveis, SD (mL/L)	15
Oxigênio dissolvido, OD (mg/L)	5,1
Cloreto, Cl^- (mg/L)	4,0
Sulfato, SO_4^{-2} (mg/L)	290,6

Tabela 5.3: Resultados da determinação de cátions.

Cátions (mg/L)	EIL-B203	Valor de referência (CONAMA N° 357/2005)
Ba ²⁺	0,059	5,0 mg/L Ba
Ca ²⁺	4,856	Não mencionado
Mg ²⁺	0,546	Não mencionado
K ¹⁺	1,329	Não mencionado
Na ¹⁺	13,33	Não mencionado
Fe (total)	6,127	15,0 mg/L Fe
Mn ²⁺	0,219	1,0 mg/L Mn
Al ³⁺	4,290	Não mencionado
Zn ²⁺	0,154	5,0 mg/L Zn

Com relação aos resultados de sólidos obtidos e os valores de turbidez, respectivamente 8.290 (UNT) e os parâmetros (ST, SST, SDT), estes não são citados na legislação de referência, resolução CONAMA n° 357 (BRASIL, 2005). Os valores de SD (sólidos decantáveis) para o efluente (EIL-B203) foi superior, pelo menos 15 vezes ao valor preconizado na legislação de referência, igual a 1,0 mL/L. O valor do pH de 4,3 não atende aos valores de referência pH (5,0 – 9,0). Os valores das concentrações dos metais (Ba, Fe, Mn e Zn) estão de acordo com os valores de referência da Resolução CONAMA n° 357 (BRASIL, 2005).

Os resultados para a determinação de íons mono e multivalentes foi significativa, (EIL-B203) possui íons monovalentes como Na¹⁺, K¹⁺ e Cl¹⁻, que podem atuar como eletrólitos indiferentes. Eletrólitos indiferentes modificam o potencial zeta das cargas de superfície do mineral e do biofloculante em suspensão, porém não podem promover a neutralização de cargas de superfície, fato este que pode ocorrer devido a presença de cátions multivalentes como: Ca⁺², Mg⁺², Mn⁺², Ba⁺² e Zn⁺², entre outros), também presentes no efluente industrial sob estudo.

5.3.2 Determinação do ponto de carga zero (PCZ) de resíduo sólido obtido a partir do efluente industrial líquido

A Figura 5.8 mostra o resultado de determinação do ponto de carga zero (PCZ) do resíduo sólido obtido a partir do EIL-B203 por titulação potenciométrica de massa (TPM).

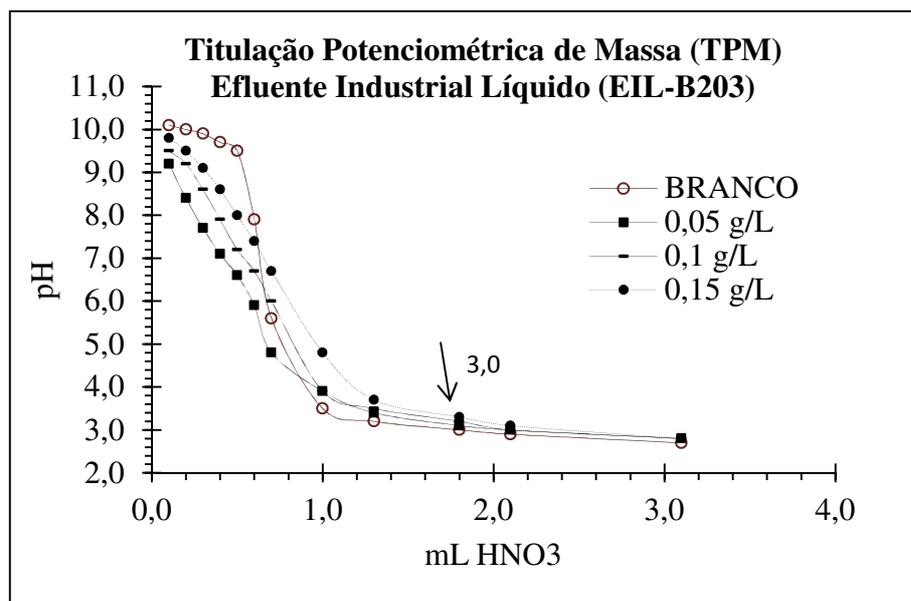


Figura 5.8: Curvas experimentais de determinação de PCZ (ponto de carga zero), técnica de titulação potenciométrica de massa (TPM), EIL-B203. $pH = pH_{equilíbrio}$

Os resultados obtidos apontam para um valor de PCZ, em torno de $pH=3,0$. A informação sobre o ponto de carga zero (PCZ) do resíduo sólido do (EIL) foi considerada na execução dos ensaios de biofloculação, conforme mostrado na Tabela 5.5. Efluente (EIL-B203) - **ensaio 11, ensaio (CS natural) e ensaio (pH e CS naturais)**, valores de pH igual a 3,0 e 3,1, respectivamente. Além disso, o pH natural deste efluente era de (3,1). A partir da biofloculação observou-se uma sedimentação natural dos sólidos em suspensão do (EIL), que se tornou mais rápida com a adição do biofloculante.

5.3.3 Biofloculação e coagulação/floculação química do efluente industrial líquido

A Tabela 5.4 mostra os resultados da determinação dos parâmetros: turbidez, pH, ST, SST e SD determinados para o EIL-B203 submetido à biofloculação e coagulação/floculação química. A batelada do efluente industrial líquido (EIL-B203), a partir da qual se procedeu a caracterização físico-química (item 5.3.1) sofreu intensa deterioração, mesmo sob refrigeração. Além disso, após 8 dias os sólidos presentes em efluentes industriais sofrem modificações significativas, segundo a APHA (1995). Por isso, efluente industrial, recém-produzido no processo de beneficiamento de caulim foi adquirido. As variações dos valores dos parâmetros determinados mostrados na Tabela (5.2) são comuns à geração de efluentes líquidos, contudo observa-se que os dados mantêm o mesmo perfil, elevados valores de turbidez e altas concentrações de sólidos e valor de pH é ácido de (3,1).

Tabela 5.4: Parâmetros físico-químicos determinados para o (EIL-B203) submetido aos processos de biofloculação e coagulação/floculação.

Parâmetro	EIL-B203
Turbidez (NTU)	6.775
pH	3,1
Sólidos Totais, ST (mg/L)	5.676
Sólidos em suspensão, SST (mg/L)	3.344
Sólidos decantáveis, SD (mL/L)	58

As Tabelas 5.5 e 5.6 mostram os resultados obtidos a partir da biofloculação e coagulação/floculação química aplicados ao (EIL-B203). Os ensaios de coagulação/floculação estudados foram realizados, considerando a faixa ótima de pH do coagulante sulfato de alumínio e concentrações de coagulante, normalmente utilizadas para o tratamento de efluentes industriais líquidos (AHMAD, ISMAIL e BHATIA, 2003; MACEDO, 2003).

Tabela 5.5: Valores de Eficiência do Processo (*RF*, %) dos ensaios de biofloculação, (EIL-B203).

		<i>VB</i> (mL)	<i>CS</i> (g/L)	<i>pH</i>	<i>RF</i> (%)
EIL- B203	Ensaio 11 (Tabela 4.2)	6,0	2,0	3,0	82
	Branco	0	2,0	3,0	
	Ensaio (<i>CS</i> natural)	6,0	3,0	3,0	82
	Branco	0	3,0	3,0	
	Ensaio (<i>pH</i> e <i>CS</i> naturais)	8,4	3,0	3,1	86
	Branco	0	3,0	3,1	

Tabela 5.6: Resultados de razão de floculação (*RF*,%) dos ensaios de coagulação/floculação química para o (EIL-B203).

<i>pH</i> (EIL-B203)	Concentração $Al_2(SO_4)_3$ (mg/L)				
	40	80	120	150	200
	<i>RF</i> (%)				
6,0	SR	SR	SR	SR	SR
7,0	42	44	67	74	51
8,0	27	13	17	27	16
9,0	49	53	66	69	80

SR: sem rendimento; EIL: efluente industrial líquido.

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 5.5 as eficiências obtidas foram ligeiramente superiores a 80%, o que significa um resultado satisfatório para o processo. O EIL-B203 é proveniente da operação de filtração (etapa final para a obtenção de polpa de caulim), em sua condição natural (sem adição de produtos químicos), este apresentava discreta floculação. Entretanto, percebe-se que na presença de biofloculante houve a formação de flocos maiores e a floculação ocorreu de maneira muito mais rápida, isto é, o biofloculante no meio favoreceu a floculação, conforme mostram os resultados.

Conforme os resultados obtidos do processo de coagulação/floculação, a partir do ensaio (concentração de 200 mg/L de sulfato de alumínio e *pH*=9,0) obteve-se um valor de razão de floculação de 80 %, resultado satisfatório e comparável àqueles obtidos a partir da biofloculação. Para as demais condições experimentais estudadas os valores de razão de floculação (*RF*) foram inferiores a 80 %. Em *pH*=6,0 o processo de coagulação/floculação não foi eficiente para nenhuma das concentrações de coagulante utilizadas.

Comparando-se os resultados de biofloculação e coagulação/floculação aplicados ao efluente industrial (EIL-B203), o tratamento por biofloculação foi mais eficiente. Além disso,

o efluente denominado EIL-B203, efetivamente é aquele a partir do qual o clarificado é lançado no corpo receptor. Para o tratamento por biofloculação, características do efluente como o valor do pH e a concentração de sólidos em suspensão favorecem o referido tratamento, sem adição de reagentes químicos.

Há que se considerar que a biofloculação de efluentes reais, ainda precisa ser melhor estudada (estudar a variação da carga de sólidos, amostragens em períodos diferentes; estudar a influências de interferentes, íons mono e multivalentes; melhorar a metodologia de determinação do PCZ, particularmente desse resíduo, pois a metodologia empregada está sujeita ao erro, à medida que a composição do material sólido torna-se complexa).

5.3.4 Estudo de sedimentação do efluente industrial líquido (EIL-B203)

A Figura 5.9 mostra a curva experimental correspondente ao ensaio de sedimentação em proveta do efluente industrial líquido (EIL-B203), para o qual, obteve-se êxito na floculação do efluente industrial.

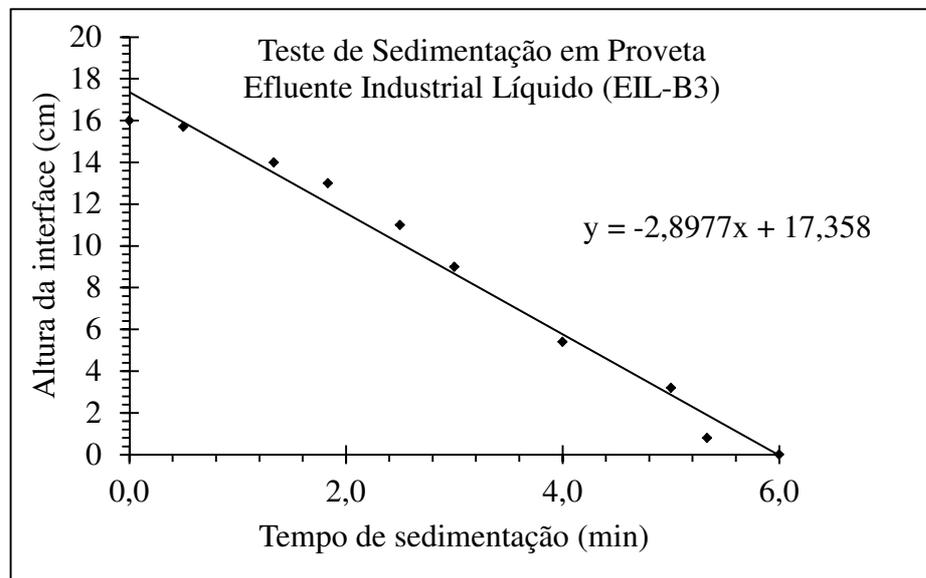


Figura 5.9: Curva experimental de teste de sedimentação em proveta, efluente industrial líquido (EIL-B203)

O ensaio realizado para o efluente EIL-B203 mostra que todas as partículas sólidas sedimentam por volta dos 6 minutos. A partir da curva obtida, dados de leitura da altura da interface (cm) em função do tempo (s) determinou-se a velocidade de sedimentação do sólido de 2,9 cm/min.

6 CONCLUSÕES

As metodologias utilizadas para o cultivo de células de *Bacillus subtilis* foram apropriadas, a partir das quais se obteve um bom rendimento em termos de número de células viáveis por mL de suspensão e, principalmente a atividade floculante.

O valor de ponto de carga zero (PCZ) do resíduo de caulim determinado pelas duas metodologias empregadas, técnica de titulação potenciométrica de massa e técnica de imersão foi convergente para um valor, em torno de 3,0.

A partir do planejamento estatístico utilizado (DCCR), para a condição experimental, com adição de eletrólito indiferente todas as variáveis independentes foram significativas (formas lineares e quadráticas) e as interações lineares (CB) e (CS); (CS) e (pH). Para a condição experimental, sem a adição de eletrólito indiferente somente as variáveis independentes (pH) e (VB) foram significativas, cujas intensidades quadráticas foram mais significativas do que as formas lineares. Contudo, essas diferenças não se refletiram na eficiência do processo, uma vez que, os valores de razão de floculação (RF,%) foram praticamente os mesmos, nas duas condições experimentais estudadas.

Obtiveram-se resultados satisfatórios para a razão de floculação (RF) de, até 95% em condições experimentais específicas (pontuais) do planejamento estatístico empregado. Um valor ótimo de razão de floculação (RF), em torno de 80 %, para o processo de biofloculação estudado, obteve-se a partir da condição experimental, com adição de eletrólito, O referido valor de (RF) ocorreu, em valores de pH de suspensão próximos ao valor do PCZ do resíduo de caulim. O que ressalta a importância dessa variável para o processo de floculação. Porém, a variável (CS) foi um fator limitante na biofloculação.

Das imagens de microscopia eletrônica de varredura do resíduo de caulim, após biofloculação observaram-se as partículas de caulinita e flocos agregados, porém a forma de adesão entre o material biológico e as partículas de caulim não foi evidenciada.

Com relação à caracterização dos efluentes industriais, parâmetros como o pH e sólidos decantáveis apresentaram valores, em não conformidade com os valores de referência preconizados na legislação brasileira vigente para o lançamento de efluentes líquidos em corpos receptores. As concentrações dos metais (Ba^{2+} , Fe , Mn^{2+} e Zn^{2+}) determinados a partir da análise do efluente industrial, estão de acordo com os valores de referência.

O efluente industrial possui em sua composição íons monovalentes como Na^{1+} , K^{1+} e Cl^{1-} e cátions multivalentes como Ca^{+2} , Al^{+3} , Fe (total), entre outros, que podem modificar o potencial e as cargas de superfície das partículas minerais e do biofloculante.

Com relação aos ensaios de biofloculação e coagulação/floculação química aplicados ao efluente industrial (EIL-B203), os resultados mostraram que o tratamento por biofloculação foi mais eficiente, para valores de razão de floculação, em torno de 80 (%).

A partir da biofloculação de suspensões de resíduo de caulim empregando biofloculante (suspensão de células de *B. subtilis*), resultados satisfatórios da variável razão de floculação (*FR*) foram obtidos para o intervalo de *pH* ácido. O tempo de processo, biofloculação propriamente dito foi de 2 minutos e o tempo de sedimentação após o processo foi de 5 minutos, condições experimentais que podem ser consideradas um bom atrativo para um processo industrial.

As pesquisas sobre floculação, as quais utilizam microrganismos como floculante têm como principal objetivo adequar às condições de processamento do minério sem mudanças significativas nos locais de produção, tanto do ponto de vista do processo de extração e beneficiamento, como do ponto de vista ambiental. Contudo, estudos nessa área estão em estágios considerados iniciais. Normalmente, são utilizadas suspensões de caulim puro e testes em tubos de ensaios (não por falta de produção significativa do biofloculante, mas provavelmente por problemas de mudança de escala). Várias etapas, ainda precisam ser otimizadas como a purificação e estabilidade do biofloculante. As investigações continuam sendo realizadas por vários pesquisadores em vários países.

7 REFERÊNCIAS

ALEXANDER, M. Introduction to Soil Microbiology. 2. ed. John Wiley and Sons. New York. 1977.

AL-HAMDAN, A. Z.; REDDY, K. R. Surface Speciation Modeling of Heavy Metals in Kaolin: Implications for Electrokinetic Soil Remediation Processes. Adsorption Journal, v. 11, n. 5-6, 2005, p. 529-546

AHMAD, A. L.; ISMAIL, S.; BHATIA, S. Water recycling from palm oil mill effluent (POME) using membrane technology. Desalination, v. 157, p. 87-95, 2003.

ALKAN, M.; DEMIRBAS, O; DOGAN, M. Electrokinetic properties of kaolinite in mono- and multivalent electrolyte solutions. Microporous and Mesoporous Materials, v. 83, p. 51-59, 2005.

AMIRTHARAJAH, A.; O'MELIA, C. R. Coagulation processes: Destabilization, mixing and flocculation. Water quality and treatment. 1. ed. Toronto: Ed. McGraw-Hill, 1990.

AMPIAM, S. G. Clays. Bureau of mines, mineral commodity profiles. USA. July, 1979. 16 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods for the examination of water and wastewater. 19. ed. Washington: APHA, 1995.

ANAND, B. MODAK J. M., NATARAJAN K. A. Biobeneficiation of bauxite using *Bacillus polymyxa*: calcium and iron removal. International Journal of Mineral Processing, v. 48, p. 51-60, 1996.

ARAÚJO, A.C.; GALERY, R., Técnicas para analisar dispersão/agregação. In: IIMEETING OF THE SOUTHERN HEMISPHERE ON MINERAL TECHNOLOGY, 1987, Rio de Janeiro. Proceedings of the II Meeting of the Southern Hemisphere on Mineral Technology. Rio de Janeiro: Recitec, v. 1, p. 234-248, 1987.

AZEVEDO, L. G. T.; BALTAR, A. M.; RÊGO, M.; PORTO, R. L. L. Sistemas de Suporte à Decisão para Outorga de Direitos de Uso da Água no Brasil. Série Água Brasil 2. Banco Mundial, Brasília, 2003.

BARATA, M. S. Concreto de Alto Desempenho no Pará: Estudo da viabilidade técnica e econômica de produção de concreto de alto desempenho com os materiais disponíveis em Belém através do emprego de adições de sílica ativa e metacaulim. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, Porto Alegre. 1998. 165 p.

BARATA, M. S. Aproveitamento dos resíduos caulínicos das indústrias de beneficiamento de caulim da região amazônica como matéria-prima para fabricação de um material de construção (pozolanas). Tese (Doutorado em Geoquímica), Universidade Federal do Pará, Instituto de Geociências, Programa de Pós- Graduação em Geologia e Geoquímica, Belém. 2007.

BARATA, M. S. Concreto de Alto Desempenho no Pará: Estudo da viabilidade técnica e econômica de produção de concreto de alto desempenho com os materiais disponíveis em Belém através do emprego de adições de sílica ativa e metacaulim. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1998. 164 p.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. Planejamento e Otimização de Experimentos. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. 299 p.

BOSCARIOL M. R. Estudo da esterilização por plasma de acoplamento indutivo e análise comparativa por esterilização com óxido de etileno. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos, Área de Produção e Controle Farmacêutico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BOTERO, C. A. E.; TOREM, M. L. MESQUITA, L. M. S. Fundamental studies of *Rhodococcus opacus* as a biocollector of calcite and magnesite. *Minerals Engineering*, v. 20, p. 1026-1032, 2007.

BOURIKAS, K.; VAKROS, J.; KORDULIS, C.; LYCOURGHOTIS, A. Potentiometric Mass Titrations: Experimental and Theoretical Establishment of a New Technique for Determining the Point of Zero Charge (PCZ) of Metal (Hydr)Oxides. *J. Phys. Chem.* v. 107, p. 9441- 9451, 2003.

BOX, G. E. P. The exploitation and exploitation of response surfaces: some general conditions and examples. *Biometrics, Texas*, v. 10, n.1, p. 16-60, 1954.

BOX, G.E.P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. *Statistics for experiments*. 2. ed. Hoboken: Wiley – Interscience, 2005. 633 p.

BRASIL. Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília: Senado. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Constituicao/Constituicao.htm>. Acesso em 05 jan. 2010.

BRASIL. Decreto nº 24.643, de 10 de julho de 1934. Decreta o Código de Águas do Brasil. Disponível em: <www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/d24643.htm>. Acesso em 05 jan. 2010.

BRASIL. Lei nº 9.433, de 08 de janeiro de 1997. In: Casa Civil – Presidência da República. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/19433.htm>. Acesso em 05 jan. 2010.

BRISTOW, C. M. Kaolin paper underpins current demand. *Industrial Minerals*, p. 62-67, July, 1987.

BUENO, B. Y. M. Aspectos Cinéticos da Remoção de Cromo (III) por Flotação de Precipitados. Dissertação de Mestrado, Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 2003.

CABRAL, E. da S.; FILHO, E. M. L.; ARAÚJO, R. B. Uma Abordagem das Atividades de Beneficiamento de Caulim na Região Borborema/Seridó na Paraíba. Centro Científico Conhecer - Enciclopédia Biosfera, Goiânia, v. 5, n. 8, 2009

CARBERRY, J. B. Environmental Systems and Engineering. USA: Sanders College Publishing, 1990.

CASTILLA, C. M. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. Carbon. v. 42, p. 83-94, 2004.

CASTRO, W. A. de M. Incorporação de resíduos de caulim em argamassas para uso na construção civil. Dissertação, Curso de pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL (CETEM). Série Rochas e Minerais Industriais. Rio de Janeiro: CETEM, 2005.

CLAUS, D.; BERKELEY, R. C. W. Genus *Bacillus* Cohn. In: SNEATH, P.H.A. *et al.* (eds.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore, v. 2, p. 1105-1139, 1986.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. Experimental designs. New York: John Wiley and Sons, 1957. 661 p.

COSTA, C. G. Incorporação do Resíduo Oriundo do Beneficiamento de Caulim em Concreto Asfáltico. Dissertação (Mestre em engenharia sanitária), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2006.

COSTA, J. P. C. L. da. Análise da produção do antitumoral retamicina em cultivos contínuos de *Streptomyces olindensis* ICB20 utilizando planejamento fatorial. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade de São Paulo, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, São Paulo, 2008. 194 p.

CUNHA, F. O.; TOREM, M. L.; D'ABREU, J. C.; A influência do pH na reologia de polpas de caulim. *Revista Escola de Minas (Rem)*, Ouro Preto, v. 60, n. 3, 2007.

CUSTÓDIO, T. N.; MORAIS, A. R. de; MUNIZ, J.A. Superfície de resposta em experimento com parcelas subdivididas. *Ciência Agrotécnica*. v. 24, n. 4, 2000, 1008 p.

DEARFIELD, K. L.; AMBERMATHY, C. O. Acrylamide: Its Metabolism, Developmental and Reproductive Effects, Genotoxicity, and Carcinogenicity. *Mutant Res.*, n. 195, p. 45-77, 1988.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. *Métodos e Técnicas de Tratamento de Água*. Rima: São Carlos, 2005, 1566 p

DI BERNARDO, L; DI BERNARDO, A; CENTURIONE FILHO, P. L. *Ensaio de tratabilidade de água e de resíduos gerados em Estações de Tratamento de Água*. 1. ed. São Carlos-SP: Rima, 2002, 236 p.

EDBERG, S.C. U.S EPA human health assessment: *Bacillus subtilis*. Unpublished, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C, 1991.

ERIKSON, R. J. Industrial applications of the bacilli: A review and prospectus. In: SCHLESINGER, D. (ed.). *Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1976.

EVANGELOU, V.P. *Environmental soil and water chemistry: principles and applications*. New York: John Wiley and Sons, 1998. 564 p.

FALCUCCI, A. A influência de flocculantes poliméricos na formação de pastas minerais. *Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007*

FABRETI, A. A. Pós-tratamento de efluente de lagoa de estabilização através de processo físico-químico. Dissertação (Mestre em engenharia), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FONTES, M. P. F.; CAMARGO, O. A. de; SPOSITO, G. Eletroquímica das partículas coloidais e sua relação com a mineralogia de solos altamente intemperizados. *Sci. agric.*, v. 58, n. 3, p. 627-646, 2001.

FONTES, M. P. F.; WEED, S. B. Phosphate adsorption by clays from Brazilian Oxisols: relationships with specific surface area and mineralogy. *Geoderma*, v. 72, p. 37-51, 1996.

FURLAN, F. R. Avaliação da Eficiência do Processo de Coagulação-Floculação e Adsorção no Tratamento de Efluentes Têxteis. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, 2008. 151 p.

GRIM, R. E. *Clay Mineralogy*. New York: McGraw-Hill. Geological Science Series. 1958. 29 p.

GUEDES; C. D.; PEREIRA, J. G.; LENA, J. C. de; PAIVA, J. F. de; LIMA, R. M. F. Coagulação/floculação de suspensões ricas em óxidos de ferro por sulfato de alumínio. *Química Nova*. v. 27, n. 5, p. 715-719, 2004.

GONG, W .X.; WANG, S. G.; SUN X. F. LIU, X. W.; YUE, Q. Y.; GAO, B. Y. Biofloculant production by culture of *Serratia ficaria* and its application in wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 4668-4674, 2008.

HAAS, S. R.; NASCIMENTO, F. R.; SCHNEIDER, I. A. H.; GAYLARDE, C. Flocculation Of Fine Fluorite Particles With *Corynebacterium Xerosis*. *Revista de Microbiologia*, v. 30, p. 225-230, 1999.

HU, Y; LIU, X. Chemical composition and surface property of kaolins. *Minerals Engineering*, v. 16, p. 1279-1284, 2003

JORDÃO, C. P.; PEREIRA, M. G.; PEREIRA, J. L. Effects of Kaolin Processing Plants on the Water Quality of Streams in Brazil. *Toxicological and Environmental Chemistry*. v. 82, p. 139-158, 2001.

KOSMULSKI, M.; DAHLSTEN, P. High ionic strength electrokinetics of clay minerals. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. v. 291, p. 212-218, 2006.

KORBUTOWICZ-KABSCH, M. Impact of pre-coagulation on ultrafiltration process performance. *Desalination*, v. 194, p. 232-238, 2006.

KUMAYAMA, D. M. Caracterização comparativa de caulins para formulações de engobes e esmaltes cerâmicos. Dissertação (Mestre em Geologia Regional), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro (SP), 2007. 118 p.

LEVY, N.; MAGDASI, S.; BAR-OR, Y. Physico-chemical aspects in flocculation of bentonite suspensions by acyano-bacterial. *Water. Res.*, v. 26, p. 249-54, 1992.

LUZ, A. B. Beneficiamento dos Caulins do Rio Capim e do Jari, Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral), Departamento de Engenharia de Minas da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

LUZ, A. B.; CAMPOS, A. R.; CARVALHO, E. A., BERTOLINO, L. C., 2005. Caulim - Usos e Especificações. In: LUZ A. B. e LINS F. F (eds) *Rochas e Minerais Industriais*, 1. ed., cap. 11, Rio de Janeiro, Brasil, Centro de Tecnologia Mineral.

LUZ, A. B. da; CHAVES, A. P. Tecnologia do caulim: ênfase na indústria de papel. Convênio CETEM/MCT. *Série Rochas e Minerais Industriais*, v. 1, 2000. 72 p.

LUZ, A. B., YILDIRIM, I., YOON, R. H., BASÍLIO, C. I. Purification of Brazilian Kaolin Clay by Flotation. In: XXI International Mineral Processing Congress, Rome, Italy, July 2000.

LUZ, A. B. Beneficiamento dos Caulins do Rio Capim e do Jari, Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral), Departamento de Engenharia de Minas da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

MA, C., EGGLETON, R. A. Cation exchange capacity of kaolinite. *Clays and Clay Minerals*, v. 47, p. 174-180. 1999.

MACÊDO, J. A. B. *Águas & Águas*. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

MAIA, A. A. B., ANGELICA R.S, NEVES, R. F. Thermal stability of the zeolite A synthesized after kaolin wast from Amazon region. *Cerâmica*, v. 54, p. 345-350, 2008.

MARTELLI, M. C. Transformações térmicas e propriedades cerâmicas de resíduos de Caulins das regiões do Rio Capim e do Rio Jarí – Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Para, Belém, 2006.

Masion, A.; Tese de Doutorado, Institut National Polytechnique de Lorraine, França, 1993.

MEDEIRO, C. M. Índice Térmico Ambiental de Produtividade para Frangos de Corte. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 9, p. 660-665, 2005.

MENÉNDEZ, J. A.; ILLÁN-GÒMEZ M. J.; C. A. LÉON, L.; RADOVIC, L. R. On the difference between the isoelectric point and the point of zero charge of carbons. *Carbon*, v. 33, n. 11, p. 1655-1659, 1995.

MESQUITA, L. M. S. Bioflotação de Hematita e Quartzito – Um Estudo de Seletividade. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia (DCMM), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000, 93 p.

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

METCALF; EDDY. Inc. Wastewater Engineering treatment Disposal Reuse. 4. ed. New York, McGraw - Hill Book, 2003, 1815 p.

MONTE, M. B. M., CARVALHO, E. A., FERREIRA, O., CABO, S. S., "Caulim CADAM". In: SAMPAIO, J. A., LUZ, A. B., LINS, F. F. (eds), Usinas de beneficiamento de minérios do Brasil, Centro de Tecnologia Mineral, 1. ed., cap. 01, Rio de Janeiro, 1815 p.

MORAES, M. C. de. Adsorção de cromato em materiais sintetizados a partir de rejeito de caulim do rio capim. Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação em Geologia e Geoquímica, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

MORENO, J. I. Uma experiência de gestão de recursos hídricos: A implantação de uma proposta para o estado do Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE – COPPE/UFRJ, 2006. 226 p.

MOZES, N.; AMORY, D.; LEONRD, A.; ROUXHET. Surface Properties of Microbial Cells and their Role in Adhesion and Flocculation. Colloids and Surfaces, v. 42, p.313-329, 1989.

NAMITA, D. E. O, NATARAJAN, K. A. Role of Corundum - Adapted Strains of Bacillus polymixa in the separation of hematite and alumina. Minerals & Metallurgical Processing, v. 16, n. 4, p. 29-34, 1999.

NORDE A.; A. J. B; ZEHNDER, B.; LYKLEMA J. A. Determination of the total charge In the cell walls of grampositive bacteria. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 9, p. 81-100, 1997.

PATRA, P.; NATARAJAN, K.A. Microbially induced flocculation and flotation for separation of chalcopyrite from quartz and calcite. International Journal of Mineral Processing, n. 74, p. 143-155, 2004b.

PATRA, P.; NATARAJAN, K.A. Microbially induced flotation and flocculation of pyrite and sphalerite. Colloids and Surfaces. n. 36, p. 91-99, 2004a.

PATRA, P.; NATARAJAN, K.A. Surface chemical studies on selective separation of pyrite and galena in the presence of bacterial cells and metabolic products of *Paenibacillus polymyxa*. *Journal of Colloid and Interface Science*. n. 298, p. 720-729, 2006.

PAVANELLI, G. Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com cor ou turbidez elevada. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2001.

PELCZAR, M. J., CHANG, E., KRIEG, N. *Microbiology concepts and application*. New York: Mc Graw Hill, 1993. 897 p.

PEREIRA, A. C. SOUZA, L. F. de, CHIMELLI, M. A. O gerenciamento dos recursos hídricos do Estado do Rio de Janeiro e o poder de fiscalização do Tribunal de Contas. Trabalho de Conclusão de Curso, Pós-Graduação em Administração Pública – CIPAD, Fundação Getúlio Vargas, Rio de Janeiro, 2007. 132 p.

PINHEIRO, P. G.; FABRIS, J. D.; MUSSEL, W. N.; MURAD, E.; SCORZELLI, R. B. Caracterização química, ocorrência e distribuição do ferro em minerais de um caulim de Mar de Espanha (MG). In: 24^a Reunião da Sociedade Brasileira de Química, A Química na América Latina - Livro de Resumos, Poços de Caldas, Minas Gerais, v. 1, p. FQ062-FQ062, 2001.

RAO, Y. M. K.; SOMASUNDARAN, P.; SCHILLING, K. M.; CARSOM, R.; ANANTHAPADMANABHAN, K. P. Electrokinetic properties of *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces naeslundii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 4, p. 87, 1995.

REED S. J. *Principles of Ceramics Processing*, 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1995.

REYNOLDS, T. D.; RICHARDS, P. A. *Unit Operations and Processes in Environmental Engineering*. 2. ed. Boston: PWS Publishing Company, 1995.

RIJNAARTS, H. H. M.; NORDEB, W.; BOUWERC, E. J.; LYKLEMAB, J.; ZEHNDER A. J. B. Reversibility and mechanism of bacterial adhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 4, p. 5-22, 1995.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos. 1. ed. Campinas: Casa do Pão - Editora, v. 3000, 2005. 326 p.

ROSKIL INFORMATION SERVICE LIMITED, The economic of Kaolin, 2 Clapham Road, London, SW9 OJA, UK, 9. ed., p. 7, 1996.

SALEHIZADEH H.; SHOJAOSADATI S.A. Isolation and characterisation of a bioflocculant produced by *Bacillus firmus*. Biotechnology Group, Chemical Engineering Department, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran, 2001.

SHARMA, P. K.; HUNUMANTHA RAO K. Adhesion of *Paenibacillus polymixa* on chaocopyrite and pyrite: surface thermodynamics and extended DLVO theory. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 29, p. 21-38, 2003.

SHARMA, P. K.; HUNUMANTHA RAO K. Adhesion of *Paenibacillus polymixa* on chaocopyrite and pyrite: surface thermodynamics and extended DLVO theory. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* v. 29, p. 21-38, 2003.

SHENG, Y.; ZHANG, Q.; SHE, Y.; LI, C.; WANG, H. Screening and flocculating properties of bioflocculant-producing microorganisms. *Journal of University of Science and Technology Beijing*. v. 13, n. 4, p. 289, 2006.

SHI, B.; LI, G.; WANG, D.; FENG, C.; TANG, H. Removal of direct dyes by coagulation: The performance of preformed polymeric aluminum species. *Journal of Hazardous Materials*, v. 143, p. 567-574, 2007.

SILVA, A. C.; VIDAL, M.; PEREIRA, M. G., Impactos Ambientais causados pela mineração e beneficiamento de caulim. *Revista Escola de Minas*, v. 54, n. 2, p. 133-136, 2001.

SILVA, M. E. da, O Caulim do Rio Capim. Dissertação (Mestrado em Economia Empresarial), Universidade Candido Mendes. Rio de Janeiro, 2003. 113 p.

STUMM, W. Chemistry of the solid-water interface. New York: John Wiley & Sons, 1992. 428 p.

SUH, H. H.; KWON, G. S.; LEE, C. H.; KIM, H. S.; OH, H. M.; YOON, B. D. Characterization of biofloculant produced by *Bacillus* sp. DP-152. *J. Ferment. Bioeng*, v. 84, p. 108-112, 1997.

SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO (2008), Brasília, DNPM. Disponível em: <http://www.dnpm.gov.br/conteudo.asp?IDSecao=68&IDPagina=1165>. DOC. Acesso em 05 jan. 2010.

TAYLOR, D. H.; BOSMANN, H. B. The electrokinetics properties of reovirus type 3: Electrophoretic mobility and zeta potential in dilute electrolytes. *Journal of Colloid Interface and Science*, v. 83, p. 153, 1981.

TERREL, B. Avaliação da qualidade água subterrânea em área de mineração de caulim: impactos e perspectivas de remediação, município de Mogi das Cruzes, SP. Dissertação (Mestrado em Recursos Minerais e hidrogeologia), Universidade de São Paulo, Instituto de Geociências, São Paulo. 2007.

TOMBÁ CZ, E.; SZEKERES, M. Surface charge heterogeneity of kaolinite in aqueous suspension in comparison with montmorillonite. *Applied Clay Science*, v. 34, p.105-124, 2006.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP), Campus de Rio Claro, Departamento de Petrologia e Metalogenia – DPM/IGCE/UNESP. Museu Virtual “Heinz Ebert”. Disponível em: <<http://www.rc.unesp.br/museudpm/banco/silicatos/filossilicatos/caulinita.html>> Acesso em: 30 set. 2010.

UVIJAYALAKSHMI, S. P.; RAICHUR, A. M. The utility of *Bacillus subtilis* as a biofloculant for fine coal. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* . n. 29, p. 265-275, 2003.

VAKROS, J.; KORDULISAB, C.; LYCOURGHOTIS, A. Potentiometric mass titrations: a quick scan for determining the point of zero charge. *Chem. Commun*, p. 1980-1981, 2002.

VOLTAN, P. E. N. Avaliação da ruptura e do recrescimento de flocos na eficiência de sedimentação em água com turbidez elevada. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

WÄLTERMANN *et al.* Mechanism of lipidbody formation in prokaryotes: how bacteria fatten up. *Molecular Microbiology*, v. 55, n. 3, p. 63, 2005.

WU, J. Y.; YE, F. H. Characterization and flocculating properties of an extracellular Biopolymer produced from a *Bacillus subtilis* DYU 1 isolate. *Process Biochemistry*, v. 42, p. 1114-1123, 2007.

YOKOI, H.; ARIMA T.; HIROSE J.; HAYASHI S.; TAKASAKI Y. Flocculation Properties of Poly(γ -Glutamic Acid) Produced by *Bacillus subtilis*. *Journal of fermentation and bioengineering*. v. 82, n. 1, p. 84-87, 1996.

YOSHIDA, F. Remoção de matéria orgânica e fósforo de efluente de tratamento anaeróbio por processo físicoquímico. Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.